

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

Adriana Aparecida Feltrin Correa

**FATORES PREDITORES E PROGNÓSTICO DA
AQUISIÇÃO NOSOCOMIAL DE ENTEROBACTÉRIAS
RESISTENTES AOS CARBAPENÊMICOS**

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

Adriana Aparecida Feltrin Correa

**FATORES PREDITORES E PROGNÓSTICO DA
AQUISIÇÃO NOSOCOMIAL DE ENTEROBACTÉRIAS
RESISTENTES AOS CARBAPENÊMICOS.**

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 TÊC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: LUCIANA PIZZANI-CRB 6/6772

Correa, Adriana Aparecida Feltrin.

Fatores preditores e prognóstico da aquisição nosocomial de enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos / Adriana Aparecida Feltrin Correa. - 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. Enterobactérias. 2. Farmacorresistência bacteriana.
3. Antibióticos beta-lactâmicos. 4. Fatores de risco.

Palavras-chave: Carbapenêmicos; Enterobactérias; Fatores preditores; Resistência bacteriana.



EPÍGRAFE

“Quando cria harmonia em si próprio, o Ser Humano provoca harmonia nas coisas à sua volta. A questão é perceber que estamos em rede, que tudo está conectado e que uma atitude benéfica transforma o entorno.”

Monja Coen Roshi



DEDICATÓRIA

爱

Aos meus filhos, Renato Correa Junior e Rafael Feltrin Correa, os quais são a luz de meu caminhar, a razão de minha existência, amor eterno e motivação para continuar sempre!

爱

Ao meu esposo Renato Correa, um ser iluminado, de uma bondade exemplar, companheiro de todos os momentos e cúmplice de toda uma vida, o qual ao longo de 22 anos consegue sempre extrair a melhor parte de mim nesta nossa jornada de vida. Te amo!

爱

Aos meus pais, Maria Inês Legramandi Feltrin e Benedito Constantino Feltrin, os quais não somente me presentearam com minha existência, como sempre se fizeram presentes em minha vida, dando-me força e coragem em todos os momentos, são o sol do meu caminho, sem os quais eu nada seria.

爱

Ao meu querido irmão André Luis Feltrin, meu eterno exemplo de garra e perseverança, assim como sua esposa Ana Claudia Leonel Feltrin e aos meus lindos sobrinhos Gabriel Luis Feltrin e Giovana Feltrin, meus filhos de coração.



AGRADECIMENTOS

感谢

À Força Divina que me fortalece, ilumina e protege todos os meus passos.

感谢

Ao meu orientador, Prof. Dr. Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza, por acolher-me como sua orientada, por abrir as portas que me conduziram à realização deste sonho que configura mais uma etapa vencida, a qual carrega uma história de luta e determinação tanto minha quanto sua. Minha gratidão é para sempre!

感谢

À Banca examinadora por dispensarem seus valiosos momentos para ler, corrigir e para participarem da defesa desta Tese.

感谢

Aos docentes da Faculdade de Medicina de Botucatu e Departamento de Doenças Tropicais, agradeço a oportunidade a mim concedida e por todo conhecimento compartilhado.

感谢

À Coordenadora do curso de Biomedicina da Universidade Paulista (UNIP) Campus Bauru, Profa. Dra. Patrícia Carvalho Garcia, por todo seu apoio, incentivo nos momentos difíceis e por acreditar em meu potencial, assim como aos docentes dos cursos de biomedicina e farmácia, sempre parceiros e ótimos amigos em nossa maravilhosa missão de ensinar.

感谢

À toda equipe de colaboradores do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital de Base de Bauru, representada pelas Encarregadas Biomédica Helita Prieto Trindade, Farmacêutica Ana Carolina Bettoni e pela Líder de Secretaria Mirtes Ap. Rodrigues Stevanatto, por toda dedicação durante minhas ausências e por estarem sempre ao meu lado. Sou grata por vocês fazerem parte desta caminhada, compartilhando dos mesmos objetivos e metas.

感谢

Aos meus queridos tios Osvaldo Legramandi e Berenice Barroso Legramandi, por apresentarem-me, através da Pró-Vida, a conhecimentos que mudaram a forma com que hoje vejo o mundo, trazendo a paz ao coração e desenvolvimento aos meus pensamentos, fico deslumbrada com a vastidão de conhecimentos à minha frente para ainda serem desvendados, tudo em seu devido tempo.

感谢

À minha amiga e sócia Mônica da Silveira, por seu companheirismo, autenticidade e incentivo, atributos sempre presentes nos momentos mais difíceis e críticos, mas também nos mais felizes. Amiga que durante as dificuldades, tornou-se uma irmã.

感谢

Ao meu amigo José Claudio Simão, por toda colaboração e por compartilhar de nossos momentos difíceis, de risos, tristezas e alegrias, sempre solícito o qual faz parte desta etapa tão importante de minha jornada.

感谢

Ao Hospital Estadual Bauru, representados por sua Diretoria, na pessoa da Dra. Deborah Maciel Cavalcante Rosa, pela oportunidade de realização do presente estudo.



Lista de Abreviaturas

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária;
ATCC	do inglês, <i>American Type Culture Collection</i> .
BGN	Bacilo Gram Negativo;
CCIH	Comissão de Controle de Infecção Hospitalar;
CCIS	Índice de Comorbidade de Charlson;
CDC	Centro para controle e prevenção de doenças (do inglês, <i>Center for Disease Control and Prevention</i>)
CID10	Classificação Internacional de Doenças, 10ª revisão;
CLSI	do inglês, <i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i> ;
CRE	Enterobactéria resistente aos carbapenêmicos (do inglês, <i>Carbapenem-resistant enterobacteriaceae</i>);
CVC	Cateter Venoso Central;
ESBL	Beta Lactamases de Espectro Estendido;
EUA	Estados Unidos da América
FAMESP	Fundação para o Desenvolvimento Médico e Hospitalar;
FDA	food and drug administration;
HEB	Hospital Estadual Bauru;
IMP	Imipenemase
ITU	Infecção do trato-urinário
KPC	Klebsiella pneumoniae carbapenemase;
MBL	Metalo Beta Lactamase
MDRO	Organismos multirresistentes à drogas (do inglês, <i>multidrug resistant organisms</i>);
MIC	Concentração Inibitória mínima (do inglês, <i>minimum inhibitory concentration</i>);
MRSA	Staphylococcus aureus resistentes à meticilina (do inglês, <i>Meticilin-resistant Staphylococcus aureus</i>)
NDM	New Delhi Metallo Beta-lactamase
NPP	Nutrição Parenteral;
OSS	Organização Social de Saúde;

LISTA DE ABREVIATURAS (CONTINUAÇÃO)

PAVM	Pneumonia associada a ventilação mecânica;
RDC	Resolução da diretoria colegiada;
SVD	Sonda Vesical de Demora;
UTI	Unidade de Terapia Intensiva;
VIM	Verona Integron Metallo Beta-lactamase;
VM	Ventilação Mecânica;
VRE	<i>Enterococcus</i> resistentes à vancomicina (do inglês, <i>Vancomycin-resistant Enterococcus</i>);
CRE-IACS	Infecção associada a cuidados em saúde.



Lista de Figuras

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Distribuição global de carbapenemases em <i>Enterobacteriaceae</i> , por país e região;	pág. 37
Figura 2	Proporção de casos autóctones e importados	55
Figura 3	Distribuição proporcional das espécies de CRE identificadas no estudo.	56
Figura 4	Espécimes de culturas clínicas nos 51 sujeitos que progrediram para infecção.	60
Figura 5	Distribuição dos locais de internação dos pacientes que desenvolveram positividade para CRE em culturas clínicas	61
Figura 6	Demais resistências encontradas em isolados de culturas clínicas	62
Figura 7	Curva de Kaplan-Meier para desenvolvimento de infecção em indivíduos colonizados, estratificada para uso de sonda vesical de demora	65
Figura 8	Curva de Kaplan-Meier para desenvolvimento de infecção em indivíduos colonizados, estratificada para uso de carbapenêmicos.	65
Figura 9	Curva de Kaplan-Meier para associação de categorias com óbito.	68



LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Unidades hospitalares em que os casos foram identificados.	pág. 56
Tabela 2	Análises uni e multivariada de fatores de risco para aquisição de CRE.	57
Tabela 3	Fatores de risco para aquisição de CRE, estratificados por ano de aquisição (análise multivariada).	59
Tabela 4	Análises uni e multivariada de Regressão de Cox para fatores preditores de infecção (isolamento em amostra clínica) em coorte de pacientes colonizados por CRE.	63
Tabela 5	Análises uni e multivariada (Regressão de Cox) de preditores de óbito na coorte.	66



RESUMO

Atualmente, estamos diante de uma notável presença de isolados de enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos em um hospital público do município de Bauru-SP desde outubro de 2012. No entanto, não estão disponíveis estudos relacionando a epidemiologia e os fatores associados à aquisição de tais isolados. Este estudo teve como objetivo identificar fatores de risco para aquisição de Enterobactérias Resistentes aos Carbapenêmicos (CRE) em pacientes internados no Hospital Estadual Bauru, os fatores associados ao desenvolvimento de quadro infeccioso em uma coorte de pacientes colonizados por CRE e os fatores preditores de óbito. Foram incluídos pacientes do local de estudo que apresentaram colonização do trato digestório por CRE, de outubro de 2012 a dezembro de 2016, dos quais foram levantados dados clínicos e demográficos. Os isolados foram identificados por métodos fenotípicos e foram testadas as suscetibilidades por concentração inibitória mínima (MIC). Realizamos um estudo de caso-controle que incluiu 427 casos e igual número de controles. Os fatores de risco observados foram queimadura (HR 3,91; IC95% 2,36-6,46; $p < 0,001$), índice de Charlson (HR 1,12; IC95% 1,05-1,20; $p < 0,001$), uso prévio de esteróides (HR 2,79; IC95% 1,94-4,02; $p < 0,001$) e antimicrobianos como as penicilinas/inibidores de beta-lactamases (HR 2,01; IC95% 1,43-2,82; $p < 0,001$), cefalosporinas de 3ª. e 4ª. gerações (HR 2,45; IC95% 1,75-3,44; $p < 0,001$), quinolonas (HR 1,70; IC95% 1,75-2,45; $p = 0,003$) e anaerobicidas (HR 1,63; IC95% 1,04-2,56; $p = 0,03$). O estudo de coorte incluiu 384 sujeitos colonizados por CRE, sendo 269 (70,1%) oriundos de internação em unidade de terapia intensiva (UTI), 51 (13,2%) pacientes evoluíram para positividade em culturas clínicas por CRE. Como fatores associados à progressão para infecção por CRE, identificamos o uso de sonda vesical de demora (HR 5,56; IC95% 1,31-23,63; $p = 0,02$) e os antimicrobianos da classe dos carbapenêmicos (HR 1,96; IC95% 1,06-3,62; $p = 0,03$). Em termos proporcionais, a mortalidade nos grupos foi: Não carreadores, 32,6%; Colonizados, 47,3%; Infectados, 52,9%. Pudemos observar na análise que idade, score de Charlson e as categorias colonizado/infectado foram associadas a maior risco de óbito (essas duas últimas categorias, sem diferença entre si). Por outro lado, o *status* de paciente cirúrgico e o uso de alguns antimicrobianos (notadamente

a Polimixina B) foram associados a melhor prognóstico. Nossos achados sugerem que em setores endêmicos para colonizações e infecções nosocomiais por CRE, como no caso das UTI, a abordagem de rastreamento de isolados pode identificar pacientes com alto risco de infecção por CRE e levar à otimização precoce do tratamento antimicrobiano.

Palavras-chave: *Enterobacteriaceae* resistentes aos carbapenêmicos, CRE, resistência bacteriana, epidemiologia hospitalar.



ABSTRACT

Currently, we are facing a remarkable presence of isolates of carbapenem-resistant enterobacteriaceae in Bauru city public hospital, São Paulo state, Brazil, since October 2012. However no studies are available relating the epidemiology and the factors associated with acquisition of such isolates. The purpose this study was to identify risk factors for acquisition of Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae in patients hospitalized at the Bauru State Hospital, factors associated with the development of infectious disease in a cohort of patients colonized by CLP and factors predicting death. We included patients from the study site who presented colonization of the digestive tract by CRE, from October 2012 to December 2016, from which clinical and demographic data were collected. Isolates were identified by phenotypic methods and susceptibilities were tested by minimum inhibitory concentration (MIC). We performed a case-control study that included 427 cases and an equal number of controls. The risk factors observed were burn (HR 3.91, 95% CI 2.36-6.46, $p = 0.001$), Charlson index (HR 1.12, 95% CI 1.05-1.20, $p = <0.001$), previous use of steroids (HR 2.79, 95% CI 1.94-4.02, $p = <0.001$) and antimicrobials such as penicillins / beta-lactamase inhibitors (HR 2.01, 95% CI, 1.43-2.82, $p = <0.001$), cephalosporins of 3rd. and 4^a. (HR 2.45, IC 95% 1.75-3.44, $p = 0.001$), quinolones (HR 1.70, IC 95% 1.75-2.45, $p = 0.003$) and anaerobicides (HR 1, 63, 95% CI 1.04-2.56, $p = 0.03$). The cohort study included 384 subjects colonized by CLP, 269 (70.1%) of whom were hospitalized in an intensive care unit (ICU), 51 (13.2%) of the patients progressed to clinical cultures by CLP. As factors associated with the progression to CRE infection, we identified the use of urinary catheter (HR 5.56, 95% CI 1.31-23.63, $p = 0.02$), and carbapenem class antimicrobial agents (HR 1, 96, 95% CI 1.06-3.62, $p = 0.03$). In proportional terms, the mortality in the groups was: Non-carriers, 32.6%; Colonized, 47.3%; Infected, 52.9%. We observed in the analysis that age, Charlson's score and the colonized / infected categories were associated with a higher risk of death (these last two categories, with no difference between them). On the other hand, the status of surgical patients and the use of some antimicrobials (notably Polimixin B) were associated with a better prognosis. Our findings suggest that in the endemic sectors for colonization and nosocomial infections by CLP, as in the case of ICUs, the isolate screening approach

may identify patients at high risk for CLP infection and lead to the early optimization of antimicrobial treatment.

Key words: Carbapenem resistant *Enterobacteriaceae*, CRE, bacterial resistance, hospital epidemiology.



SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	28
Resistência bacteriana	28
Enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos	29
Enterobactérias produtoras de carbapenemases	31
Opções terapêuticas	37
Justificativa do estudo	41
OBJETIVOS	43
OBJETIVOS GERAIS	43
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	43
METODOLOGIA	45
LOCAL, PERÍODO E PRINCÍPIOS OPERACIONAIS DO ESTUDO	45
DESENHO DO ESTUDO	45
PROCEDIMENTOS MICROBIOLÓGICOS	46
ESTUDO de CASO-CONTROLE	51
ESTUDO de COORTE DE COLONIZADOS	52
ESTUDO dos FATORES PREDITORES DE ÓBITO	53
RESULTADOS	55
DESCRIÇÃO DOS CASOS	55
ESTUDO CASO-CONTROLE	57
ESTUDO DE COORTE DE COLONIZADOS	60
ESTUDO DOS FATORES PREDITORES DE ÓBITO	66
DISCUSSÃO	70
ESTUDO CASO-CONTROLE	Erro! Indicador não definido.
ESTUDO DE COORTE DE COLONIZADOS	Erro! Indicador não definido.
ESTUDO DOS FATORES PREDITORES DE ÓBITO	Erro! Indicador não definido.
CONSIDERAÇÕES	Erro! Indicador não definido.
CONCLUSÕES	81
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84
ANEXOS	98
Anexo 1 – Declaração e autorização para realização do estudo, emitida pela Instituição Sede da Pesquisa	98
Anexo 2 – Declaração e autorização para realização do estudo, emitida pelo Local de desenvolvimento do estudo	99

Anexo 3 – Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa (página 1-4)	
.....	100
APÊNDICE: ARTIGO SUBMETIDO	107



INTRODUÇÃO

RESISTÊNCIA BACTERIANA

A prevalência de organismos resistentes a múltiplos fármacos (MDRO), tem sido uma grande ameaça à saúde pública, continua a aumentar em níveis globais e está associada a um aumento significativo da morbidade e da mortalidade¹.

Tais MDRO, incluindo *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA), *Enterococcus* spp resistentes à vancomicina (VRE) e certos bacilos gram-negativos (BGN), possuem implicações no âmbito das atividades de controle das infecções relacionadas à assistência em saúde e ao passo que aumenta a experiência com estes organismos, também melhora gradativamente a compreensão das rotas de transmissão e de medidas preventivas eficazes².

Não restam dúvidas de que a descoberta dos antimicrobianos foi um avanço histórico na medicina do século XX, mas a eficácia da maioria deles está diminuindo progressivamente e isso poderá terminar em uma "era pós-antibiótica", na qual infecções comuns podem ser letais, sem opções de tratamento disponíveis³. Neste contexto, tomemos o exemplo da Coreia, onde em agosto de 2016, o Ministério da Saúde e Bem-Estar da Coreia estabeleceu o Plano de Ação Nacional para combater a resistência aos antimicrobianos, o qual tem os seguintes objetivos: promover o uso prudente de medicamentos antimicrobianos para evitar a propagação de resistência aos mesmos; fortalecer o sistema de vigilância para melhorar a conscientização e fortalecer a pesquisa e o desenvolvimento para melhorar a colaboração internacional nos estudos das resistências⁴.

No Brasil, foi dado um importante passo quanto aos cuidados com a disseminação da resistência bacteriana em maio de 2011, com a Resolução da Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, RDC nº 20-2011, a qual dispõe sobre o controle dos antimicrobianos, os quais são de uso sob prescrição médica, com princípios ativos isolados ou em associação. Tal resolução estabelece os critérios para a prescrição, dispensação, controle, embalagem e rotulagem de medicamentos à base de substâncias classificadas como antimicrobianos⁵.

ENTEROBACTÉRIAS RESISTENTES AOS CARBAPENÊMICOS

Entre os microrganismos resistentes aos antimicrobianos, podemos destacar as *Enterobacteriaceae*, uma família de bacilos Gram-negativos (BGN) responsáveis por uma variedade de infecções. Nos BGN, a maior força motriz da resistência é a presença de β -lactamases, uma lista em rápida expansão de enzimas hidrolisantes de antimicrobianos β -lactâmicos¹. Muitos desses organismos transportam genes adicionais transmitidos por plasmídeos ativos contra outras classes de antibióticos, tornando tais bactérias resistentes a múltiplas drogas⁶.

A resistência aos carbapenêmicos encontrada na família *Enterobacteriaceae*, em particular entre as espécies de *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes* e *Escherichia coli* é um problema emergente em todo o mundo, considerando os vários mecanismos de resistência relatados para contornar a eficácia dos carbapenêmicos, pois as carbapenemases são as mais importantes enzimas que neutralizam essa classe de antimicrobianos, as quais apresentam uma amplitude de espectro inigualável comparada à outras β lactamases⁴.

Podemos considerar como origem dessa problemática o fato de que nas duas últimas décadas, a utilização de antimicrobianos da classe dos carbapenêmicos como o imipenem e o meropenem em tratamentos clínicos tornou-se necessária devido à proliferação de patógenos bacterianos multirresistentes em ambientes clínicos⁷. Esse aumento no consumo de carbapenêmicos foi acompanhado pelo surgimento de patógenos Gram-negativos resistentes a carbapenêmicos⁸. De acordo com o relatório do CDC de 2013, as infecções associadas aos cuidados em saúde, as quais são em grande parte representadas por CRE e quase a metade dos pacientes hospitalizados que sofreram de infecções de corrente sanguínea por CRE morreram posteriormente. A cada ano, aproximadamente 600 mortes resultam de infecções causadas pelos dois tipos mais comuns de CRE, a saber, *Klebsiella* spp. e *Escherichia coli*, ambas resistentes aos carbapenêmicos⁹.

A infecção da corrente sanguínea é um dos tipos mais comuns de infecção associada às CRE, a qual aumenta a taxa de mortalidade em aproximadamente três vezes, em comparação com as infecções por CRE que ocorrem em outros locais¹⁰. A pneumonia associada à ventilação mecânica (PAVM) é uma infecção nosocomial conhecida por complicar o curso de pacientes entubados e uma das principais causas de morte em pacientes graves em todo o mundo, além de ser a primeira causa de prescrição de antibióticos em unidades de terapia intensiva (UTI), apesar do desenvolvimento de “*bundles*” de prevenção. Tais episódios causados por organismos resistentes a múltiplos fármacos (MDRO) e extensivamente resistentes aos carbapenêmicos agravam ainda mais a situação, impondo assim uma considerável carga clínica e econômica, juntamente com a exaustão dos recursos antimicrobianos^{11, 12}.

O manejo de feridas pode estar associado à aquisição ou surgimento de resistência entre bactérias que infectam ou colonizam essas feridas. Frequentemente, as feridas crônicas ocorrem em pacientes que já estão em risco aumentado para o transporte de organismos resistentes a múltiplos fármacos (MDRO), incluindo os resistentes aos carbapenêmicos, devido à presença de comorbidades clínicas, bem como exposições frequentes a cuidados em saúde e à antimicrobianos¹³. Além disso, as feridas crônicas podem favorecer o surgimento e a persistência de MDRO devido ao baixo suprimento vascular e à produção de biofilme, o que limita a capacidade dos antimicrobianos de atingir concentrações terapêuticas dentro do microbioma da ferida^{14,15,16}.

ENTEROBACTÉRIAS PRODUTORAS DE CARBAPENEMASES

Quanto à biologia das Enterobactérias, tratam-se de bacilos Gram-negativos, os quais são habitantes normais da microbiota intestinal e estão entre os patógenos humanos mais comuns, causando infecções que vão desde uma cistite até uma pielonefrite, septicemia, pneumonia, peritonite, meningite e infecções associadas ao uso de dispositivos invasivos¹⁷. A resistência fenotípica aos carbapenêmicos é tipicamente causada por 2 principais mecanismos: (1) atividade das β -lactamases combinada com mutações estruturais e (2) produção de carbapenemases, enzimas que hidrolisam antibióticos carbapenêmicos¹.

As β -lactamases de espectro estendido (ESBL), geralmente são codificadas por plasmídeos, no entanto as cefalosporinases AmpC, exibem expressão em *Enterobacteriaceae* mais frequentemente associado com hiperprodução de enzimas

de genes cromossômicos induzidos ou desreprimidos¹⁸. As ESBL e AmpC são capazes de conferir resistência aos carbapenêmicos quando combinadas com a mutação de porinas, sendo estas, uma família de proteínas da membrana externa dos bacilos Gram negativos que, quando perdida ou alterada, pode retardar a difusão de antibióticos através da membrana a uma taxa lenta o suficiente para facilitar a ação das enzimas ESBL e AmpC¹⁹. As Bombas de efluxo de drogas e as alterações nas proteínas de ligação à penicilina também são mecanismos associados com a resistência aos carbapenêmicos em bacilos Gram negativos²⁰.

As carbapenemases mais importantes são classificadas como três tipos de enzimas: (i) as enzimas do tipo KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase) primeiro descritas em os EUA, mas agora encontradas em todo o mundo; (ii) as metalo- β -lactamases como a VIM (Verona integron metalo- β -lactamase), IMP (imipenemase) e NDM (New Dehli metallo- β -lactamase); e ainda, (iii) as enzimas do tipo OXA-48 que circulam entre os países do Mediterrâneo e, progressivamente, estão disseminando para outras áreas geográficas²¹.

As carbapenemases são classificadas por suas estruturas moleculares e pertencem a 3 classes de β -lactamases: classe A, B e D do sistema de classificação de Ambler²² sendo que, as carbapenemases das classes A e D requerem serina no local ativo, enquanto as classes B, as metalo- β -lactamases (MBL) requerem zinco para hidrólise de β -lactâmicos²³.

O principal tipo de carbapenemase classe A de Ambler é conhecida, entre outros, como enzimas KPC²⁴. No entanto, todos os tipos de enzimas desta classe de carbapenemases hidrolisam uma ampla variedade de β -lactâmicos incluindo penicilinas, cefalosporinas, carbapenêmicos e aztreonam por um mecanismo de

hidrólise envolvendo um sítio ativo de serina na posição 70 da numeração de Ambler da classe A de β -lactamases²².

A primeira linhagem de enterobactérias produtoras de KPC (KPC-1 em *K. pneumoniae*) foi identificada em 1996 na parte oriental dos EUA^{22, 24}. Desde então, 11 variantes KPC foram identificados (KPC-2 para KPC-12)²¹.

Atualmente, os produtores de KPC são encontrados em todo o mundo, com relatos da Grécia, Israel, França, China e América do Sul²⁴. No Brasil, a KPC foi descrita pela primeira vez na região noroeste, em 2006²⁵, e tornou-se um importante mecanismo de resistência aos carbapenêmicos, no entanto, a partir de 2008, os produtores de KPC tornaram-se um desafio e o reconhecimento precoce da epidemiologia dos isolados produtores de tais enzimas tornou-se necessário devido às implicações clínicas e epidemiológicas da presença de tal ameaça ao ambiente hospitalar. A identificação de fatores associados à infecção por isolados produtores de KPC pode auxiliar na terapêutica empírica processo de tomada de decisão e pode ainda, permitir a rápida implementação de medidas de controle de infecção apropriadas²⁶.

O tipo IMP estava entre os primeiros isolados de metalo- β -lactamases identificados e foram detectados em *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp. e enterobactérias²⁷. A primeira grande descrição de um gene para a produção de carbapenemase transmissível em um isolado clínico de *Enterobacteriaceae* ocorreu há mais de duas décadas atrás quando um gene, subsequentemente chamado IMP-1 MBL, foi descoberto em um integron em *Serratia marcescens* em Okazaki, Japão, associado a um surto mediado por plasmídeo em 7 hospitais japoneses seguido de uma disseminação generalizada de *Enterobacteriaceae* *bla*_{IMP-1} em todo o Japão¹.

Atualmente, existem pelo menos 52 variantes dos genes IMP identificados em várias espécies com distribuição mundial; no entanto, até o momento, as *Enterobacteriaceae* contendo IMP tipo MBL são endêmicas apenas no Japão e na Tailândia²⁴. Por exemplo, um estudo tailandês de um hospital de 900 leitos no sul da Tailândia em 2002 avaliou 9082 isolados clínicos de *Enterobacteriaceae* (além das espécies de *Klebsiella*) para genes de MBL e descobriu que 29 de 1261 isolados de *Enterobacter cloacae* (2,9%) abrigaram *bla*_{IMP-8}, uma variante do *bla*_{IMP-2}. As descrições de IMP MBLs em outros países são principalmente de surtos esporádicos ou relatórios únicos¹⁸.

Outra família de metallo- β -lactamases inclui a enzima VIM (Verona integron metalo- β -lactamase). O gene *bla*_{VIM-1} foi identificado pela primeira vez na Itália, em 1997²⁸, e logo após a variante *bla*_{VIM-2} foi relatada na França a partir de um isolado *Pseudomonas aeruginosa*²⁹.

Recentemente, tem ocorrido vários relatos sobre o surgimento de *Klebsiella pneumoniae* produtoras de VIM, principalmente no sul da Europa. O epicentro das *Enterobacteriaceae* do tipo VIM é a Grécia, onde isolados de espécies de *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* contendo *bla*_{VIM-1} predominam³⁰. Um estudo realizado em unidades de terapia intensiva (UTI) de 3 hospitais de ensino em Atenas, Grécia, em 2002 recuperou 17 Isolados de *Klebsiella pneumoniae* albergando *bla*_{VIM-1} durante um período de 3 meses; Pelo menos 12 isolados foram clinicamente relevantes. Desde então, vários outros tipos de VIM foram recuperados de bacilos gram-negativos na Grécia; globalmente, a maioria das regiões relatou surtos com *Enterobacteriaceae* produtoras de VIM³¹.

Foi descoberto em 2008 na Suécia, a partir de um paciente indiano hospitalizado anteriormente em Nova Deli, um isolado de *Enterobacteriaceae* produtora de NDM-1, os quais se tornaram o foco de atenção mundial³². Desde meados de agosto de 2010, isolados produtores de NDM-1 foram identificados em todos os continentes, inclusive na América Central e do Sul com, na maioria dos casos, uma ligação direta com o subcontinente indiano. Poucos casos foram relatados a partir dos Estados Unidos e Canadá. Achados recentes sugerem que os países dos Balcãs e do Oriente Médio podem atuar como reservatórios secundários de isolados produtores NDM-1³³. Em 28 de março de 2013 foram identificados dois casos no estado do Rio Grande do Sul, com confirmação laboratorial pela Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz/RJ), um paciente colonizado e outro infectado, sendo que a partir desse fato, foram instituídas as precauções padrão de segregação espacial e de contato³⁴.

Desde sua primeira detecção, as taxas de colonização por bactérias carreadoras do gene *bla_{NDM}* tem sido crescente em vários hospitais indianos e paquistaneses, onde as taxas de prevalência em UTI variam de 2% a 13,5%³⁵. Além disso, dados do SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (SENTRY) sugerem que o *bla_{NDM}* pode estar circulando em bactérias na Índia desde 2006³⁶.

Uma preocupação adicional específica às MBL do tipo NDM é que esta é disseminada por meio de fontes ambientais, mais especificamente em ambientes comunitários de países de baixa renda. Uma pesquisa de prevalência pontual da água da torneira pública e da água filtrada na Índia em 2011 constatou que impressionantes 4% das amostras de água potável e 30% das amostras de água filtrada continham bactérias positivas para o genótipo *bla_{NDM-1}*³⁷.

A classe D das β -lactamases exibe a OXA-48, a qual possui uma significativa atividade hidrolítica frente aos carbapenêmicos, foi identificada a partir de um isolado de *Klebsiella pneumoniae* resistente aos carbapenêmicos na Turquia, sendo que nesta cepa, o gene *bla*_{OXA-48} era parte do transposon *Tn1999*³⁸. A disseminação mundial das carbapenemases do tipo OXA é atribuída principalmente ao sucesso dos clones produtores de OXA-48 e, em menor grau, ao OXA-181 em certas regiões (por exemplo, o subcontinente indiano)³⁷. O elemento *bla*_{OXA-48} descoberto na Turquia em 2001 em *Klebsiella pneumoniae*, tornou-se endêmico naquele país, mesmo que outros vários países tenham relatado surtos com *Enterobacteriaceae* produtoras de OXA, poucos relataram endemicidade como observado na Turquia e por causa dos perfis de suscetibilidade variável de OXA – 48, como a heterogeneidade da hidrólise de carbapenêmicos, cefalosporinas de amplo espectro e falta de inibição por EDTA ou ácido clavulâmico, a prevalência dessas enzimas pode estar subestimada²⁴.

A **figura 1** mostra, de acordo com Logan and Weinstein, 2017¹, o mapa global que destaca a dramática disseminação mundial dos genes produtores de carbapenemase em *Enterobacteriaceae*, por país e região. Enquanto a primeira identificação de genes de carbapenemase baseados em cromossomos foi em bacilos gram-positivos, em meados da década de 1980, "metaloenzimas", agora conhecidas como MBL, foram reconhecidas em bactérias gram-negativas não lactose, isto foi seguido em breve pela descrição de outro conjunto de enzimas hidrolisadoras de carbapenêmicos (usando serina no seu local ativo) em *Enterobacteriaceae*³⁹.

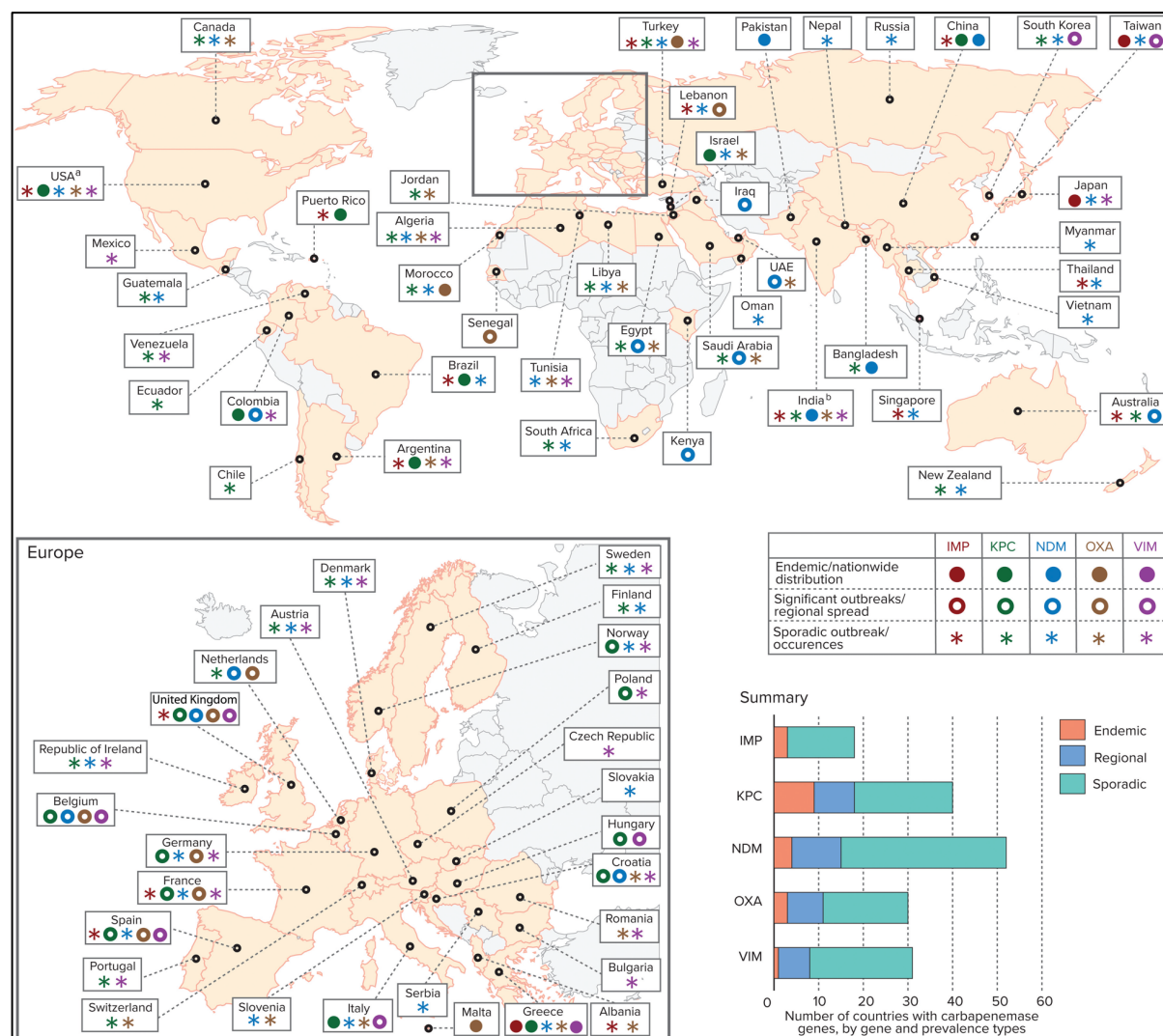


Figura 1. Distribuição global de carbapenemases em Enterobacteriaceae, por país e região (FONTE: Logan & Weinstein, 2017)¹.

OPÇÕES TERAPÊUTICAS

Infecções por organismos CRE são difíceis de tratar e temos como resultado, infecções graves por CRE com significativa morbidade, mortalidade e custos com assistência médica⁴⁰. A escassez de novos antimicrobianos em desenvolvimento aumenta o problema da resistência antimicrobiana, reduzindo severamente as escolhas terapêuticas disponíveis, sendo ainda incerta a escolha do tratamento ideal

de infecções por CRE, já que a maioria dos dados vem de séries de casos retrospectivos e relatos de casos; são poucos os estudos prospectivos ou ensaios clínicos randomizados publicados sobre este tópico. Uma vez que os organismos produtores de carbapenemases são frequentemente resistentes a outras classes de antimicrobianos, além da maioria dos beta-lactâmicos, testes adicionais de sensibilidade a antimicrobianos, tais como colistina, fosfomicina, tigeciclina, aztreonam, e rifampicina é necessária^{41,42}.

A colistina (polimixina E) é um antibiótico bactericida antigo com propriedades detergentes catiônicas. Ele rompe a membrana celular externa dos bacilos Gram-negativos, ligando-se ao componente lipídico A dos lipopolissacarídeos, causando vazamento de conteúdo citoplasmático e morte celular bacteriana⁴³. Estudos recentes sugerem que doses mais altas de antimicrobiano⁴⁴ ou uma dose de ataque inicial, seguida por regimes de manutenção mais elevados, podem ser necessários para melhores resultados clínicos⁴⁵. Relatos de resistência à colistina entre as cepas de *Klebsiella pneumoniae* produtoras de KPC, são preocupantes, especialmente para regimes de tratamento de combinação nos quais a colistina é o principal componente ativo⁴⁶.

A polimixina B difere da colistina por um aminoácido⁴⁷. Em contraste com a colistina, no entanto, ela é administrada como sua forma ativa e, assim, alcança concentrações plasmáticas altas mais rapidamente, tornando a necessidade de uma dose de ataque menos rigorosa⁴⁵. A polimixina B não é depurada pelo rim e, portanto, não requer ajuste da dose em pacientes com doença renal⁴⁸. A experiência clínica com a polimixina B no tratamento de infecções por CRE é limitada a pequenas séries de casos. Lee e colaboradores⁴⁹ descreveram o surgimento de resistência à polimixina

B em três de 12 pacientes tratados com polimixina B de suas infecções por *Klebsiella pneumoniae* produtoras de KPC; em contraste, nenhum dos quatro pacientes tratados com polimixina B em combinação com tigeciclina desenvolveu resistência durante o tratamento⁵⁰.

Os carbapenêmicos têm sido usados, embora contra-intuitivamente, no tratamento de infecções com CRE, geralmente como o componente adjuvante de um regime de drogas combinadas. Esta estratégia é potencialmente útil somente quando as MIC dos organismos resistentes a carbapenêmicos infectantes ainda são relativamente baixas⁵¹.

A tigeciclina demonstrou ter atividade *in vitro* contra isolados de *Enterobacteriaceae* multirresistentes em infecções de pele e partes moles⁵², tem sido usada nesses tratamentos principalmente como uma droga adjuvante em terapia combinada⁵³. No entanto, a experiência clínica com a tigeciclina tem sido um pouco decepcionante, especialmente para infecções graves, como infecções da corrente sanguínea ou pneumonias nosocomiais, para as quais a droga não tem aprovação da Food and Drug Administration (FDA)^{54,55}. A preocupação de segurança do uso da tigeciclina mais forte em 2013, após a análise de 10 ensaios clínicos de uso de tigeciclina para indicações aprovadas pelo FDA, incluindo ensaios conduzidos após a aprovação do medicamento, ainda mostrou um risco maior (0,6%) de morte em pacientes tratados com tigeciclina versus outros antimicrobianos⁵⁶. Como resultado, muitos clínicos escolheram esquemas baseados em tigeciclina somente quando outras terapias não estavam disponíveis. A baixa concentração de tigeciclina na urina limita ainda mais o uso deste antimicrobiano para o tratamento de ITU. A menos que evidências mais convincentes de melhores resultados clínicos em estudos bem

desenhados de tigeciclina em altas doses estejam disponíveis, a monoterapia com tigeciclina não é rotineiramente recomendada para infecções graves, como bacteremias ou pneumonias adquiridas em hospitais⁴⁰.

A fosfomicina é outro antibiótico de amplo espectro que inibe a síntese da parede celular bacteriana e tem atividade *in vitro* contra o CRE⁴⁹. A formulação oral alcança altas concentrações na urina e geralmente é eficaz no tratamento de ITU não complicadas⁵⁷.

A combinação recentemente aprovada de ceftazidima e avibactam foi desenvolvida para combater a resistência bacteriana causada por produção de ESBL e de carbapenemases. O avibactam inibe as beta-lactamases de classe A e C de Ambler e alguns membros da classe D. Estudos *in vitro* demonstraram eficácia (até 98%) de ceftazidima / avibactam contra enterobactérias resistentes a carbapenêmicos com carbapenemases de KPC e OXA-48. Estes são os tipos mais frequentes de enterobactérias na Alemanha; alguns patógenos, no entanto, possuem carbapenemases do tipo B (VIM, NDM), que não são inibidos pelo avibactam^{58,59}. A ceftazidima / avibactam também é eficaz contra algumas estirpes de *P. aeruginosa* resistente a carbapenem⁶⁰.

Nenhum dos antimicrobianos atualmente em desenvolvimento tem atividade contra todo o espectro de bactérias Gram-negativas produtoras de carbapenemases. A mortalidade associada às taxas de falha das atuais terapias de resgate destacadas acima é desconcertante. O tratamento de infecções graves com CRE continua sendo um enorme desafio. Um compromisso global para o uso inteligente de antimicrobianos, melhor administração de antibióticos, a implementação de

estratégias eficazes de controle de infecção e o desenvolvimento de terapias mais eficazes são desesperadamente necessários⁴⁰.

JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

Considerando todo o exposto, uma identificação rápida e precisa do carreamento de isolados produtores de carbapenemases, ainda é a melhor e mais eficaz ferramenta disponível. A identificação de fatores associados ao carreamento de tais isolados adicionada da implementação de métodos microbiológicos para a detecção de produtores carbapenemase deve ser considerada uma ferramenta fundamental para qualquer protocolo de vigilância destinado a identificar rapidamente a propagação de enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos, permitindo que sejam reforçadas todas as medidas de controle de infecção, incluindo o treinamento dos profissionais de saúde e melhoria da higiene das mãos.

Atualmente, estamos diante de uma notável presença de isolados de enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos em um hospital público do município de Bauru-SP, desde o primeiro isolado em outubro de 2012, no entanto, não estão disponíveis estudos relacionando a epidemiologia e os fatores associados à aquisição de tais isolados.

A realização de um estudo epidemiológico em busca dos fatores preditores do carreamento de isolados produtores de carbapenemases, contemplando ainda o prognóstico das infecções por CRE, visa facilitar o desenvolvimento de novas estratégias clínicas destinadas a evitar e tratar tais infecções.



OBJETIVOS

OBJETIVOS GERAIS

Investigar os fatores preditores e prognóstico da aquisição de Enterobactérias Resistentes aos Carbapenêmicos (CRE) em pacientes internados no Hospital Estadual Bauru, um hospital público administrado pela Fundação para o Desenvolvimento Médico e Hospitalar – FAMESP, durante o período de outubro de 2012 a dezembro de 2016.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Identificar a incidência dos isolados de CRE no Hospital Estadual Bauru (HEB), um hospital público administrado pela Fundação para o Desenvolvimento Médico e Hospitalar – FAMESP, uma Organização Social de Saúde;
 - ✓ Selecionar pacientes com colonização nosocomial por CRE e observar a ocorrência de infecção clínica contemplando pacientes com internação em UTI e Enfermaria;
 - ✓ Definir os fatores individuais preditores aquisição nosocomial de CRE no hospital de estudo. Analisar a relação entre os dados demográficos, dados de internação, comorbidades e o uso de antimicrobianos com a aquisição nosocomial e o desenvolvimento de infecção clínica por CRE.
-



METODOLOGIA

LOCAL, PERÍODO E PRINCÍPIOS OPERACIONAIS DO ESTUDO

O Estudo foi realizado no Hospital Estadual Bauru (HEB), que possui 335 leitos de internação, sendo 284 em enfermarias e 51 em Unidades de Terapia Intensiva (UTI). É referência de atendimento terciário para uma região de aproximadamente um milhão de habitantes. Possui Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) constituída nos termos da Portaria Ministerial 2.616 de 1998 e laboratório de microbiologia próprio. Culturas de vigilância para identificação de CRE são realizadas por *swabs* retais, coletados nas seguintes circunstâncias: (1) semanalmente nas UTIs; (2) à admissão em UTIs quando o paciente já se encontrava internado em outro setor ou hospital há mais que 48 horas; (3) em unidades de internação, após a identificação de CRE em cultura clínica de pelo menos um paciente, para pacientes contactantes.

DESENHO DO ESTUDO

Três estudos foram realizados. O primeiro teve delineamento tipo caso-controle e objetivo de identificar fatores associados à aquisição de CRE. No segundo, a coorte de pacientes colonizados com CRE foi estudada para analisar fatores associados ao desenvolvimento de infecção. Por fim, no último estudo analisamos uma coorte pareada de sujeitos colonizados/infectados por CRE e grupo de comparação (não portadores de CRE) tendo como desfecho de interesse o óbito.

PROCEDIMENTOS MICROBIOLÓGICOS

A técnicas utilizadas seguiram, principalmente, a ANVISA – Nota Técnica nº. 01/2013, a qual estabelece as medidas de prevenção e controle de infecções por enterobactérias multirresistentes³⁴ e os testes de suscetibilidade aos antimicrobianos seguiram as diretrizes do CLSI (do inglês, *Clinical and Laboratory Standards Institute*) atualizadas para cada ano correspondente⁶¹.

Obtenção das amostras

As amostras das quais foram isoladas as espécies CRE incluídas neste estudo, foram principalmente coletadas através de swabs retais para as culturas de Vigilância do Hospital Estadual Bauru, e ainda, amostras clínicas dos pacientes infectados, como urina, sangue e secreção traqueal, entre outros.

A técnica de coleta das amostras retais para a realização das culturas de vigilância inclui a umidificação do swab com solução fisiológica a 0,9% (técnica estéril) e introdução no esfíncter retal, fazendo movimentos rotatórios. Ao retirar o swab, certifica-se de que existe coloração fecal no algodão, o mesmo foi inserido em meio Stuart e transportado para o Laboratório Clínico do Hospital Estadual Bauru no setor de Microbiologia para a realização de semeadura e procedimentos de detecção e identificação dos microrganismos isolados.

Para as culturas bacteriológicas a partir de espécimes clínicos, foram considerados os seguintes procedimentos:

- Amostras para urocultura foram obtidas, quando através de micção espontânea, após higiene íntima com água e sabão neutro, coleta do jato
-

médio urinário em frasco universal estéril; quando o paciente estava invadido por Sonda Vesical de Demora (SVD), a coleta é realizada diretamente do cateter após desprezar de 5 a 10 ml de urina com o objetivo de desconsiderar o conteúdo urinário que já estava na cânula;

- Para a Hemocultura, as amostras de sangue total foram obtidas por técnica asséptica pela equipe de enfermagem, com os cuidados necessários para evitar principalmente microrganismos contaminantes de pele, em frascos contendo Meio de Cultura Biomerieux - BacT/ALERT® (Marcy-l'Étoile, França);
 - Os espécimes de secreção traqueal foram obtidos por técnica de aspiração, realizada pela equipe de enfermagem ou de fisioterapia, e acondicionados em frascos estéreis específicos para essa finalidade (frascos para coleta de aspirado traqueal);
 - Visando as análises de líquidos cavitários, principalmente líquido pleural e peritoneal, a obtenção das amostras seguiram as técnicas de toracocentese e paracentese, tais amostras foram acondicionadas em tubo falcon estéril e encaminhadas ao laboratório de microbiologia.
-

Triagem bacteriológica de vigilância

No laboratório de bacteriologia as amostras foram inoculadas em meio líquido (caldo TSB) adicionado um disco de ertapenem (10 µg) a 10 ml de caldo imediatamente antes do uso. A seguir as culturas foram incubadas por 18 a 24 horas a 36°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) antes do repique para meio sólido. Os isolados que apresentaram crescimento em TSB na presença de ertapenem foram subcultivados em ágar MacConkey por esgotamento, aplicando sobre a superfície do meio já semeado discos de ertapenem no início e no final das estrias. Houve nova incubação por 18 a 24 horas a 36°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) em ar ambiente (atmosfera de aerobiose)³⁴. Foram identificadas por testes fenotípicos e submetidas a teste de sensibilidade as colônias com características de microrganismo fermentador da lactose em meio diferencial e seletivo ágar MacConkey e que apresentaram crescimento dentro de um halo com diâmetro igual ou menor que 27 mm ao redor do disco de ertapenem⁶².

Triagem bacteriológica de espécimes clínicos

Os espécimes foram semeados em Agar MacConkey, sendo este, um meio seletivo para microrganismos com características tintoriais gram negativas, permitindo a diferenciação de bacilos Gram negativos fermentadores e não fermentadores da lactose⁶³. As colônias com crescimento em ágar MacConkey com características de fermentadores da lactose, foram conduzidas para a realização da identificação fenotípica e teste de sensibilidade aos antimicrobianos.

Caracterização fenotípica dos isolados

Até julho de 2014, os isolados que apresentaram resistência ao ertapenem nos testes de triagem de vigilância ou que apresentaram crescimento nos procedimentos de triagem, foram caracterizadas como Enterobactérias por testes bioquímicos convencionais para tais tipos de isolados, sendo TSI (tríplice açúcar ferro), Ágar Citrato Simmons, Ágar base uréia (christensen), SIM (sulfato/indol/motilidade ágar) e Lisina. O controle de qualidade foi realizado através de cepas *Escherichia coli* (ATCC 24.922)⁶³.

Após julho de 2014, os testes de identificação fenotípica passaram a ser realizados através de metodologia automatizada, equipamento Biomerieux – VITEK® 2 e através de cartões de identificação de bacilos Gram negativos (Biomerieux – VITEK® 2 ID GN cards).

Teste de sensibilidade aos antimicrobianos

Os testes de suscetibilidade aos antimicrobianos foram realizados para todos os isolados identificados fenotipicamente como Enterobactérias, até julho de 2014, através da técnica de Kirby-Bauer (disco difusão) e por Etest® - Biomerieux para ertapenem e imipenem; após esse período, passaram a ser realizados por metodologia automatizada Biomerieux – VITEK® 2. Todas as metodologias seguiram as orientações do CLSI (do inglês, *Clinical and Laboratory Standards Institute*) atualizadas para cada ano correspondente⁶¹.

A técnica de Etest® - Biomerieux, consiste de um gradiente predefinido de concentrações de antibiótico em uma tira de plástico e é utilizada para determinar a Concentração Inibitória Mínima (MIC) através da difusão da droga em ágar.

Para o preparo dos inóculos que foram utilizados para as técnicas de Kirby-Bauer e de Etest®, foram preparadas culturas em caldo BHI (do inglês, *Brain Heart Infusion*), previamente incubadas por 4 a 6 horas e ajustadas com a turbidez da escala 0.5 de Macfarland (corresponde a aproximadamente 15×10^8 Unidades Formadoras de Colônia – UFC/ml). Uma vez ajustada à densidade do inóculo, a semeadura será feita através de swab estéril na superfície de Agar Mueller Hinton, e a seguir aplicada tira de Etest® para ertapenem e imipenem e os discos de imipenem e meropenem impregnados com as drogas⁶³.

As placas foram incubadas a temperatura de 36°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) por 18 a 24 horas sendo a atividade antimicrobiana avaliada após a incubação. No momento do crescimento visível, é realizada a leitura do valor de CIM (ou MIC) para ertapenem e imipenem no ponto de intersecção entre o halo e a fita Etest®. Havendo crescimento ao longo da fita (nenhuma inibição elíptica visualizada), a MIC deve ser reportada como valor máximo da escala, e quando a inibição elíptica está abaixo da fita (zona de inibição não intersecciona), a MIC é reportada como valor mínimo da escala. Quanto ao ertapenem, a leitura é realizada pelo diâmetro do halo de inibição⁶³.

ESTUDO DE CASO-CONTROLE

Para cada sujeito colonizado/infectado por CRE, foi associado um controle selecionado entre pacientes internados na mesma enfermaria. Foram coletados os dados de prontuário e arquivos laboratoriais, incluindo informações demográficas e comorbidades de acordo com o índice de Charlson⁶⁴. Dados sobre procedimentos, dispositivos invasivos e uso de antimicrobianos foram coletados somente para o “tempo sob risco” – definido como o intervalo de dias entre internação e coleta da cultura positiva para CRE (para os casos) e entre internação e saída (para os controles).

Os dados foram analisados no *software* SPSS 20 (©IBM, Armonk, NY, USA). Na etapa univariada, utilizamos os testes do Chi-quadrado ou Exato de Fisher para variáveis dicotômicas, e teste U de Mann-Whitney para variáveis contínuas. Em etapa multivariada, construímos modelos de regressão logística, utilizando estratégia de seleção de variáveis por avanços (*stepwise forward*). Os critérios para entrada e permanência nos modelos foram p-valor de 0,05 e 0,1, respectivamente. Além da análise inicial, realizamos sub-análises estratificadas por ano de aquisição de CRE, utilizando procedimento semelhante.

ESTUDO DE COORTE DE COLONIZADOS

No segundo estudo, foi seguida a coorte de sujeitos colonizados por CRE. O desfecho de interesse foi o desenvolvimento de infecção (definida pela presença de cultura clínica positiva). Os procedimentos de coleta de dados foram semelhantes aos descritos no item anterior, exceto que levamos em consideração os dados (procedimentos, uso de dispositivos e de antimicrobianos) referentes ao período posterior à primeira cultura de vigilância positiva. O tempo de seguimento do estudo foi realizado durante a internação do paciente participante do estudo.

A análise foi realizada em *software* SPSS 20 (©IBM, Armonk, NY, USA) e consistiu em modelos uni e multivariados de Regressão de Cox, com o tempo até evento definido como intervalo de dias entre cultura de vigilância (marcador de colonização) e o diagnóstico de infecção. Também foram utilizadas curvas de Kaplan-Meier, com análise pelo teste de Log-rank. A seleção de variáveis seguiu estratégia de avanços (*stepwise forward*) com p-valores de 0,05 e 0,1 como critérios para entrada e permanência nos modelos.

ESTUDO DOS FATORES PREDITORES DE ÓBITO

Nesta etapa, foram selecionados sujeitos colonizados/infectados por CRE e um grupo de pacientes não portadores dessa bactéria, identificados nas mesmas enfermarias e mesmo período que os demais. A coorte foi acompanhada tendo como desfecho o óbito e como variáveis de exposição as mesmas descritas nas etapas anteriores.

A análise foi realizada em *software* SPSS 20 (©IBM, Armonk, NY, USA) e consistiu em modelos uni e multivariados de Regressão de Cox, com o tempo até evento definido como intervalo de dias entre admissão e saída (alta ou óbito). A seleção de variáveis seguiu estratégia de avanços (*stepwise forward*) com p-valores de 0,05 e 0,1 como critérios para entrada e permanência nos modelos.



RESULTADOS

DESCRIÇÃO DOS CASOS

Ao todo, foram identificados 427 sujeitos colonizados/infectados. A distribuição entre autóctones e importados é mostrada na Figura 2.

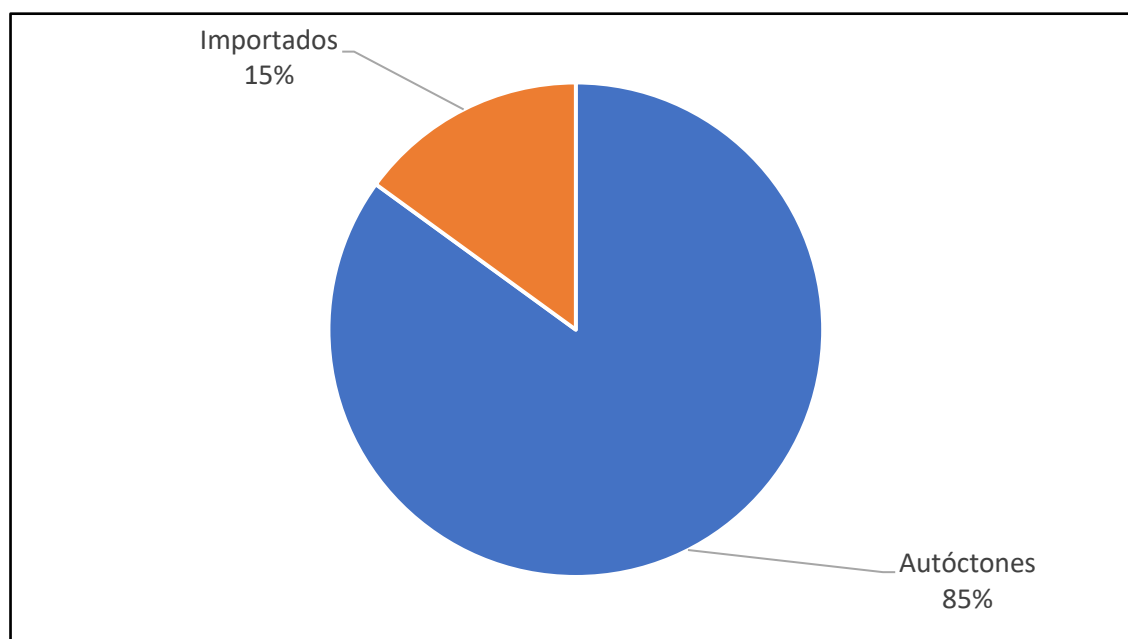


Figura 2. Proporção de casos autóctones e importados de CRE isolados de pacientes internados no HEB durante o período de outubro de 2012 a dezembro de 2016..

Os sujeitos incluídos neste estudo, os quais apresentaram colonização por Enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos foram representados por 255 (59,7%) indivíduos do sexo masculino e 172 (40,3%) do sexo feminino e a idade variou entre 0 a 96 anos.

No que tange aos microrganismos isolados como colonizantes e nos quais foi detectada a resistência aos antimicrobianos da classe do carbapenêmicos, puderam ser distribuídos como mostrado na **Figura 3**.

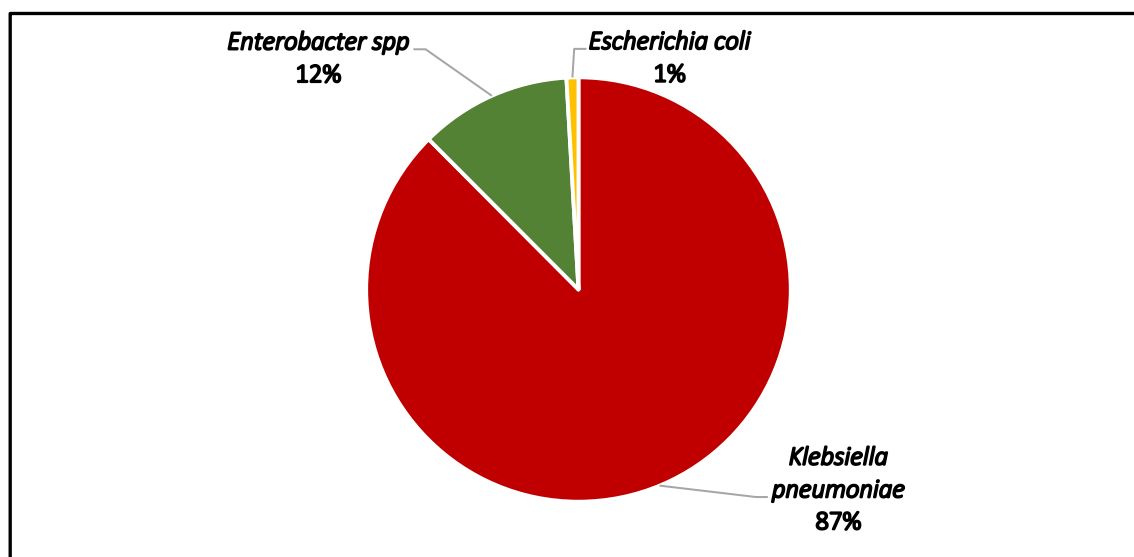


Figura 3. Distribuição proporcional das espécies de CRE identificadas no estudo.

Nota-se claramente que a maior parte dos sujeitos foi identificada nas UTI conforme apresentado na **Tabela 1**.

Tabela 1. Unidades hospitalares em que os casos foram identificados.

Local	Número	%
Enfermarias		
3º Andar Esquerdo	3	0,7%
4º Andar Direito	36	8,4%
4º Andar Esquerdo	20	4,7%
5º Andar Direito	4	0,9%
5º Andar Esquerdo	10	2,3%
Clínica Coronariana	4	0,9%
Clínica Pediátrica	1	0,2%
Clínica de Queimados	50	11,7%
Emergência	21	4,9%
Unidades de Terapia Intensiva		
CTI da Emergência	33	7,7%
UTI de Adultos	173	40,5%
UTI Coronariana	39	9,1%
UTI Pediátrica	13	3,4%
UTI de Queimados	20	4,7%

ESTUDO DE CASO-CONTROLE

Foram incluídos no estudo 427 casos e um número igual de controles. Os resultados de análises uni e multivariada são apresentados na **Tabela 2**. Como se pode observar, os preditores independentes de aquisição de CRE foram: pacientes queimados, índice de comorbidades de Charlson, e o uso de esteroides, penicilinas com inibidores de B-lactamase, cefalosporinas de 3^a/4^a gerações, quinolonas e anaerobicidas.

Tabela 2. Análises uni e multivariada de fatores de risco para aquisição de CRE.

Análise Univariada				Análise Multivariada		
Fatores de Risco	Casos (427)	Controles (427)	OR (IC95%)	P	OR (IC95%)	P
Dados demográficos						
Sexo Feminino	172 (40,3)	170 (39,8)	1,02 (0,78-1,34)	0,89		
Idade, mediana (quartis)	61 (45-73)	60 (44-71)	...	0,22		
Comorbidades						
Doença Cardíaca	131 (30,7)	116 (27,2)	1,19 (0,88-1,60)	0,26		
Doença Pulmonar	221 (51,8)	168 (39,3)	1,65 (1,26-2,17)	<0,001		
Doença Renal	154 (36,1)	109 (25,5)	1,65 (1,23-2,21)	0,001		
Doença Hepática	37 (8,7)	35 (8,2)	1,06 (0,66-1,72)	0,81		
Diabetes mellitus	103 (24,1)	69 (16,2)	1,65 (1,17-2,32)	0,004		
Doença do Sistema Nervoso Central	93 (21,8)	62 (14,5)	1,64 (1,15-2,34)	0,006		
Neoplasia sólida	55 (13,1)	53 (12,4)	1,07 (0,71-1,59)	0,59		
Linfoma/Leucemia	8 (1,9)	6 (1,4)	1,34 (0,46-3,89)	0,59		
AIDS	8 (1,9)	10 (2,3)	0,80 (0,31-2,04)	0,63		
Trauma	12 (2,8)	17 (4,9)	0,70 (0,33-1,48)	0,35		
Queimadura	69 (15,2)	64 (14,0)	1,09 (0,76-1,58)	0,64	3,91 (2,36-6,46)	<0,001
Índice de Charlson, mediana (quartis)	3 (1-5)	2 (1-4)	...	<0,001	1,12 (1,05-1,20)	<0,001
Dados da internação						
Tempo sob risco*, mediana (quartis)	12 (7-18)	18 (9-33)	...	<0,001		
Neutropenia	44 (10,3)	26 (6,1)	1,77 (1,07-2,94)	0,03		
Uso de esteróides	161 (37,7)	77 (18,0)	2,75 (2,01-3,77)	<0,001	2,79 (1,94-4,02)	<0,001
Ventilação Mecânica	238 (55,7)	189 (44,3)	1,59 (1,21-2,08)	0,001		

Cateter Venoso Central	275 (64,4)	222 (52,0)	1,67 (1,27-2,20)	<0,001		
Sonda Vesical de Demora	323 (75,6)	267 (62,5)	1,86 (1,39-2,50)	<0,001		
Nutrição Parenteral	16 (3,7)	16 (13,7)	1,00 (0,49-2,03)	1,00		
Cirurgia	213 (49,9)	276 (65,3)	0,53 (0,40-0,70)	<0,001		
Drenos	23 (5,4)	20 (4,7)	1,16 (0,63-2,14)	0,64		
Uso de antimicrobianos						
Penicilinas	27 (6,2)	23 (5,4)	1,19 (0,67-2,10)	0,56		
Penicilinas+Inibidores de B-lactamase	190 (44,5)	158 (37,0)	1,37 (1,04-1,80)	0,03	2,01 (1,43-2,82)	<0,001
Cefalosporinas de 1a/2a geração	42 (9,8)	46 (10,8)	0,90 (0,58-1,41)	0,65		
Cefalosporinas de 3a/4a geração	210 (24,6)	143 (16,7)	1,92 (1,56-2,53)	<0,001	2,45 (1,75-3,44)	<0,001
Carbapenêmicos	96 (22,5)	80 (18,7)	1,26 (0,90-1,81)	0,18		
Glicopeptídeos	95 (22,2)	85 (19,9)	1,15 (0,83-1,60)	0,4		
Quinolonas	132 (30,9)	117 (27,4)	1,19 (0,88-1,59)	0,26	1,70 (1,25-2,45)	0,003
Anaerobicida	90 (21,1)	57 (13,3)	1,73 (1,21-2,49)	0,003	1,63 (1,04-2,56)	0,03
Aminoglicosídeos	11 (2,6)	22 (5,2)	0,48 (0,23-1,01)	0,05		
Polimixinas	16 (3,7)	41 (9,6)	0,37 (0,20-0,66)	0,001		
Macrolídeos	36 (8,4)	19 (4,4)	1,98 (1,12-3,51)	0,02		
Antifúngicos	40 (9,4)	53 (12,4)	0,73 (0,47-1,13)	0,15		

Nota. Dados em números (%) exceto quando especificado. OR, Odds Ratio; IC, Intervalo de Confiança.

Curiosamente, quando realizamos sub-análises baseadas nos anos de aquisição de CRE, os antimicrobianos variam, enquanto outros fatores de risco permanecem mais estáveis (**Tabela 3**).

Tabela 3. Fatores de risco para aquisição de CRE, estratificados por ano de aquisição (análise multivariada).

Fatores de risco	OR (IC95%)	p
2013		
Internação anterior	0,43 (0,27-0,81)	0,01
Uso de esteróides	3,50 (1,66-7,36)	0,001
Cefalosporinas, 3a/4a geração	2,95 (1,55-5,60)	0,001
Polimixina B	0,06 (0,01-0,72)	0,03
2014		
Transferência imediata	1,88 (1,05-3,36)	0,03
Uso de esteróides	1,93 (1,05-3,53)	0,03
Cirurgia	0,48 (0,27-0,85)	0,01
Anaerobicidas	3,25 (1,51-7,03)	0,003
Polimixina B	0,20 (0,04-0,95)	0,04
2015		
Transferência imediata	3,21 (4,25-8,26)	0,02
Uso de esteróides	3,78 (1,74-8,23)	0,001
Penicilinas+Inibidores de B-lactamase	2,75 (1,45-5,22)	0,002
2016		
Internação anterior	0,27 (0,11-0,78)	0,01
Transferência imediata	3,81 (1,86-7,78)	<0,001
Índice de Charlson	1,33 (1,18-1,59)	<0,001
Cirurgia	0,50 (0,27-0,93)	0,03

ESTUDO DE COORTE DE COLONIZADOS

Nesta análise foram incluídos 384 sujeitos colonizados, dos quais 51 (13,2%) apresentaram alguma cultura clínica com positividade para CRE. Os espécimes são mostrados na **Figura 4**.

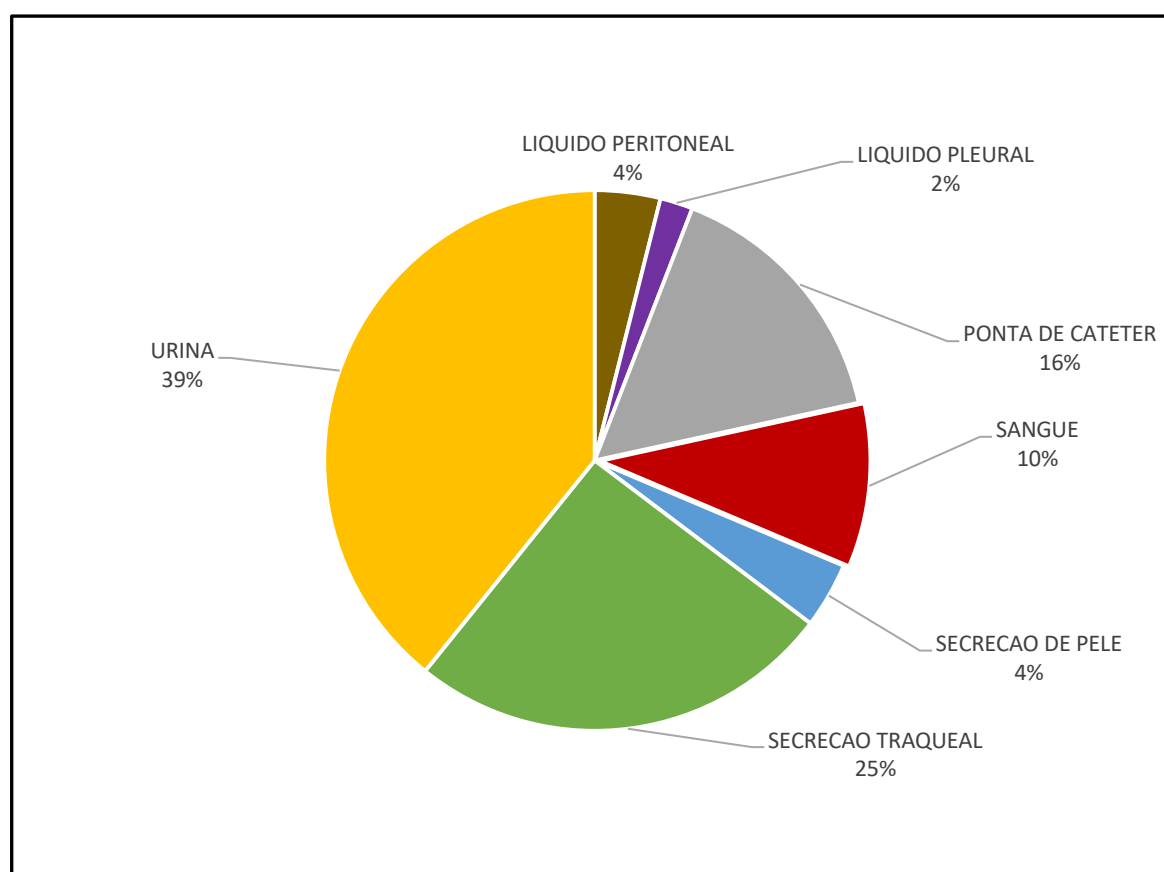


Figura 4. Espécimes de culturas clínicas nos 51 sujeitos que progrediram para infecção.

A **Figura 5** mostra os locais de internação dos pacientes que desenvolveram positividade para CRE em culturas clínicas após a detecção de colonização pelo mesmo tipo de isolado, apenas diferenciando internações em UTI e enfermarias.

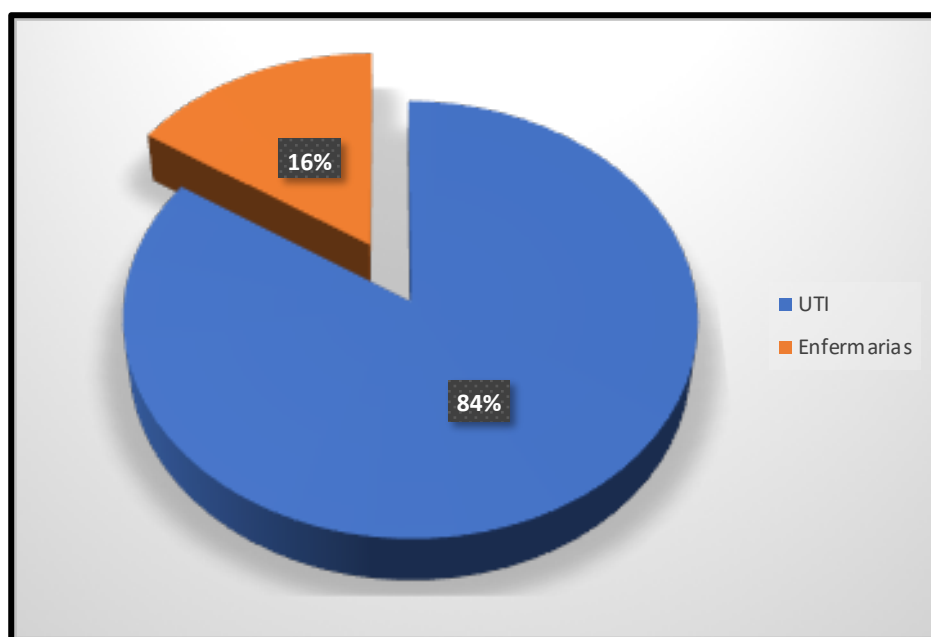


Figura 5. Distribuição dos locais de internação dos pacientes que desenvolveram positividade para CRE em culturas clínicas, apenas diferenciando internações em UTI e enfermarias.

Considerando a importância dos organismos resistentes à múltiplas drogas (MDR) observamos, nos 51 isolados causadores de infecções clínicas, as demais resistências aos antimicrobianos e detectamos que todos os CRE também apresentaram resistência às cefalosporinas de 3^a e 4^a gerações e ainda, foram detectados organismos resistentes à Tigeciclina e à Polimixina B. Tais informações estão exibidas na **Figura 6**.

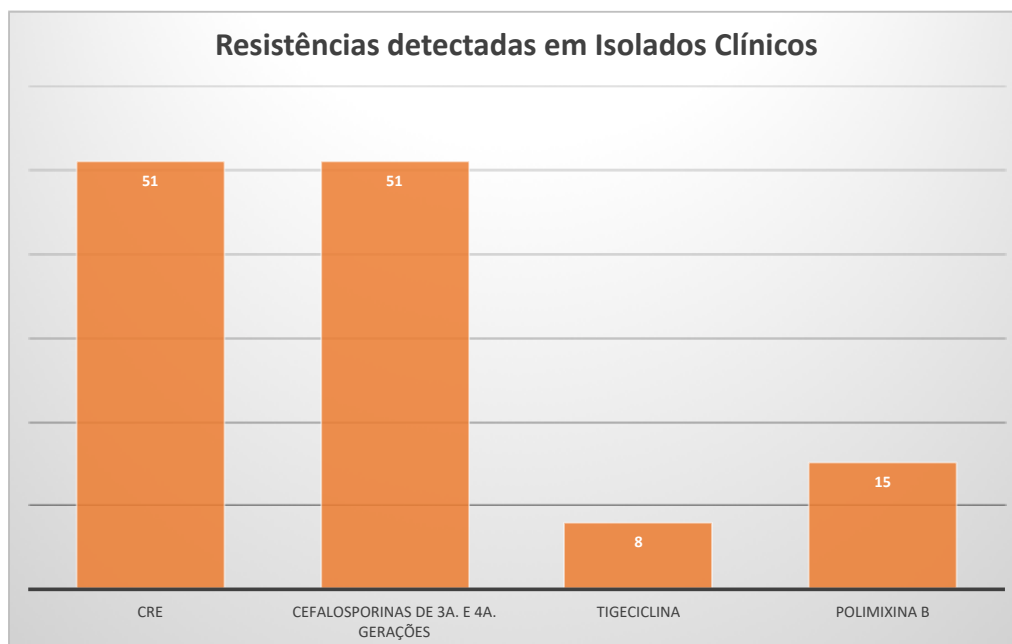


Figura 6. Demais resistências encontradas em isolados de culturas clínicas nos 51 sujeitos que progrediram para infecção.

O estudo dos fatores associados ao desenvolvimento de infecção clínica após a colonização por CRE apresentou os resultados das análises uni e multivariadas demonstrados através da **Tabela 4**.

Tabela 4. Análises uni e multivariada de Regressão de Cox para fatores preditores de infecção (isolamento em amostra clínica) em coorte de pacientes colonizados por CRE.

Fatores de Risco	Características da coorte (384 sujeitos)	Análise univariada		Análise multivariada	
		HR (IC95%)	p	HR (IC95%)	p
Dados demográficos					
Sexo feminino	145 (37,8)	1,41 (0,81-2,44)	0,23		
Idade, mediana (quartis)	61 (45-73)	1,00 (0,99-1,02)	0,60		
Comorbidades					
Doença cardíaca	117 (30,5)	1,52 (0,87-4,23)	0,08		
Doença pulmonar	202 (52,6)	1,52 (0,87-2,66)	0,14		
Doença renal	134 (34,9)	0,91 (0,51-1,64)	0,76		
Doença hepática	29 (7,6)	0,69 (0,21-2,23)	0,53		
Diabetes mellitus	87 (22,7)	1,03 (0,52-2,07)	0,93		
Doença do Sistema Nervoso Central	84 (21,9)	1,10 (0,59-2,05)	0,76		
Neoplasia sólida	51 (13,3)	1,76 (0,89-3,47)	0,10		
Linfoma/Leucemia	7 (1,8)	1,37 (0,19-9,96)	0,76		
AIDS	8 (2,1)	0,64 (0,08-4,66)	0,66		
Trauma	11 (2,9)	0,05 (0,00-178,58)	0,47		
Índice de Charlson, mediana (quartis)	3 (1-5)	1,08 (0,98-1,19)	0,11		
Dados da internação					
Transferência de outro hospital	232 (60,2)	0,89 (0,51-1,70)	0,69		
Tempo prévio de internação, mediana (quartis)*	11 (6-19)	0,99 (0,98-1,01)	0,65		
Admissão a UTI	269 (70,1)	1,99 (0,93-4,23)	0,08		
Neutropenia**	38 (9,9)	1,15 (0,49-2,72)	0,75		
Uso de esteroides	151 (39,3)	0,98 (0,56-1,17)	0,93		
Cirurgias	141 (36,7)	1,60 (0,90-2,84)	0,11		
Drenos cirúrgicos	20 (5,2)	1,37 (0,48-3,35)	0,56		
Ventilação mecânica	203 (52,9)	2,95 (1,47-5,90)	0,002		
Cateter venoso central	252 (65,6)	3,72 (1,47-9,39)	0,005		
Sonda vesical de demora	276 (71,9)	7,57 (1,84-31,21)	0,005	5,56 (1,31-23,63)	0,02
Uso de antimicrobianos					
Penicilinas	6 (1,6)	0,90 (0,12-6,50)	0,91		
Penicilinas+ inibidores de B-lactamase	102 (26,6)	0,68 (0,35-1,30)	0,24		
Cefalosporinas, 1a/2a gerações	12 (3,1)	0,61 (0,08-4,45)	0,63		
Cefalosporinas, 3a/4a gerações	80 (20,8)	1,66 (0,93-2,96)	0,09		
Carbapenems	135 (35,1)	2,49 (1,38-4,50)	0,002	1,96 (1,06-3,62)	0,03
Glicopeptídeos	105 (27,3)	1,61 (0,92-2,82)	0,10		
Quinolonas	33 (8,6)	0,79 (0,28-2,19)	0,65		
Aminoglicosídeos	34 (8,9)	1,95 (1,02-3,72)	0,04		

Anaerobicidas***	37 (9,6)	1,66 (0,80-3,42)	0,17		
Antifúngicos	60 (15,6)	1,81 (1,00-3,27)	0,05		

Nota. Características da coorte apresentadas em número(%) exceto quando especificado. HR, Hazzard Ratio; IC, Intervalo de Confiança. Associações significantes são mostradas em negrito. *Dias de internação prévios à colonização; **Pelo menos uma contagem de neutrófilos abaixo de 500/mm³ durante seguimento; ***Metronidazol e clindamicina.

Como se pode observar, os fatores independentemente associados com desenvolvimento mais frequente e precoce de infecção (definida como cultura clínica positiva) foram o uso de sonda vesical de demora e de antimicrobianos da classe dos carbapenêmicos. As **Figuras 7 e 8** mostram curvas de Kaplan-Meier dessas variáveis.

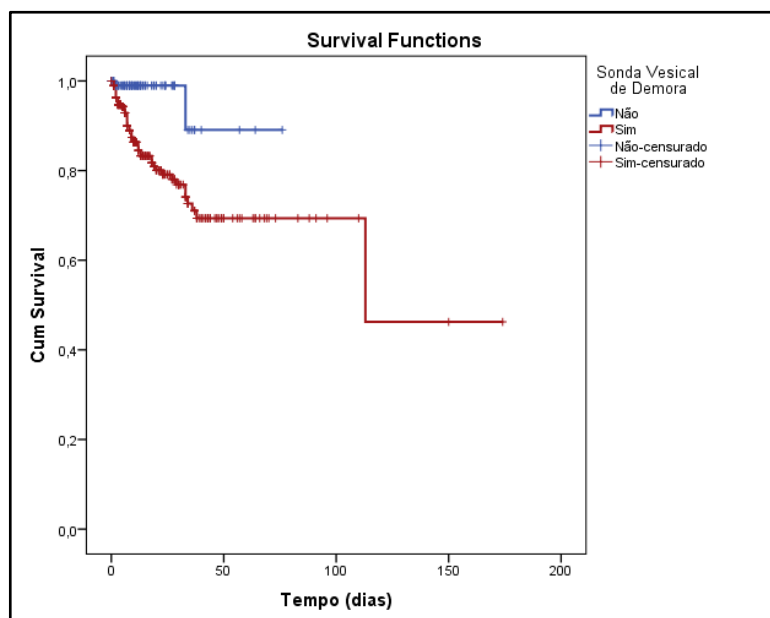


Figura 7. Curva de Kaplan-Meier⁶⁵ para desenvolvimento de infecção em indivíduos colonizados, estratificada para uso de sonda vesical de demora (Log-Rank test, $p=0,001$).

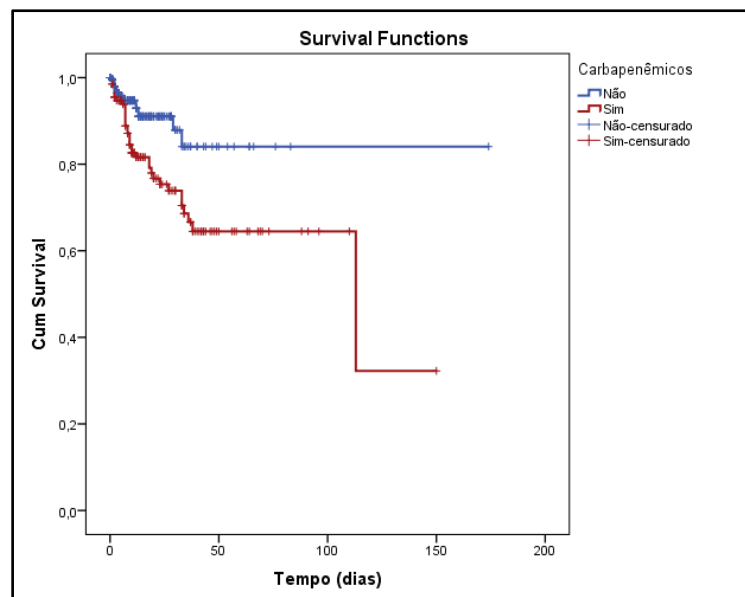


Figura 8. Curva de Kaplan-Meier⁶⁵ para desenvolvimento de infecção em indivíduos colonizados, estratificada para uso de carbapenêmicos (Log-rank test, $p=0,001$).

ESTUDO DOS FATORES PREDITORES DE ÓBITO

A **Tabela 5** apresenta os resultados de preditores de óbito na coorte de 854 sujeitos (50,0% não carreadores, 44,0% colonizados e 6,0% infectados). Em termos proporcionais, a mortalidade nos grupos foi: Não carreadores, 32,6%; Colonizados, 47,3%; Infectados, 52,9%.

Observa-se na análise que idade, score de Charlson e as categorias colonizado/infectado foram associadas a maior risco de óbito (essas duas últimas categorias, sem diferença entre si). Por outro lado, o *status* de paciente cirúrgico e o uso de alguns antimicrobianos (notadamente a Polimixina B) foram associados a melhor prognóstico.

O gráfico de sobrevida (Kaplan-Meier) para categorias, pode ser visto na **Figura 9**.

Tabela 5. Análises uni e multivariada (Regressão de Cox) de preditores de óbito na coorte.

Fatores	Características da Coorte (854 sujeitos)	Análise univariada		Análise multivariada	
		HR (IC95%)	p	HR (IC95%)	p
CRE					
Não-carreadores	427 (50,0)	Referência	...	Referência	...
Colonização	376 (44,0)	2,58 (2,05-3,24)	<0,001	2,13 (1,66-2,72)	<0,001
Infecção	51 (6,0)	2,17 (1,43-3,29)	<0,001	1,74 (1,1-2,66)	0,01
Dados Demográficos					
Sexo feminino	342 (40,0)	1,00 (0,81-1,25)	0,98		
Idade, mediana (quartis)	61 (45-72)	1,03 (1,02-1,03)	<0,001	1,01 (1,01-1,02)	<0,001
Comorbidades					
Doença cardíaca	247 (28,9)	1,51 (1,21-1,87)	<0,001		
Doença pulmonar	389 (45,5)	1,79 (1,43-2,23)	<0,001		
Doença renal	263 (30,8)	2,06(1,67-2,55)	<0,001		
Doença hepática	72 (8,4)	1,23 (0,88-1,73)	0,22		
Diabetes mellitus	172 (20,1)	1,36 (1,06-1,74)	0,02		

Doença do Sistema Nervoso Central	155 (18,1)	1,75 (1,39-2,21)	<0,001		
Neoplasia sólida	109 (12,8)	1,63 (1,25-2,12)	<0,001		
Linfoma/Leucemia	14 (1,6)	2,63 (1,40-4,94)	0,003		
AIDS	18 (2,1)	1,37 (0,68-2,77)	0,38		
Trauma	29 (3,4)	0,94 (0,52-1,72)	0,85		
Queimadura	133 (15,6)	0,13 (0,07-0,22)	<0,001		
Índice de Charlson, mediana (quartis)	3 (1-5)	1,16 (1,12-1,20)	<0,001	1,06 (1,02-1,10)	0,004
<i>Dados da internação</i>					
Internação anterior	690 (80,8)	1,17 (0,90-1,54)	0,25		
Tranferência de outro hospital	446 (52,2)	1,07 (0,87-1,33)	0,53		
Neutropenia	70 (8,2)	1,41 (0,99-2,01)	0,06		
Uso de esteróides	238 (27,9)	1,45 (1,15-1,81)	0,001		
Ventilação mecânica	427 (50,0)	1,99 (1,55-2,56)	<0,001		
Cateter venoso central	497 (58,2)	2,65 (1,96-3,57)	<0,001	1,78 (1,21-2,61)	0,003
Sonda vesical de demora	590 (69,1)	3,88(2,56-5,89)	<0,001	2,36 (1,40-3,98)	0,001
Dreno	43 (5,0)	1,05 (0,69-1,60)	0,82		
Nutrição parenteral	32 (3,7)	1,24 (0,83-1,85)	0,30		
Cirurgia	492 (57,6)	0,27 (0,21-0,34)	<0,001	0,36 (0,28-0,47)	<0,001
<i>Uso de antimicrobianos</i>					
Penicilinas	50 (5,9)	0,18 (0,08-0,37)	<0,001	0,29 (0,13-0,62)	0,001
Penicilinas+Inibidores de B-lactamase	348 (40,7)	0,78 (0,63-0,97)	0,03	0,78 (0,62-0,97)	0,03
Cefalosporinas, 1a/2a geração	88 (10,3)	0,61 (0,40-0,93)	0,02		
Cefalosporinas, 3a/4a geração	353 (41,3)	1,28 (1,03-1,59)	0,03		
Carbapenems	176 (20,6)	0,92 (0,73-1,16)	0,47		
Glicopeptídeos	180 (21,1)	0,83 (0,66-1,06)	0,13		
Quinolonas	249 (29,2)	0,68 (0,54-0,86)	0,001	0,78 (0,62-0,99)	0,04
Anaerobicidas	147 (17,2)	1,24 (0,97-1,59)	0,09		
Aminoglicosídeos	33 (3,9)	0,40 (0,23-0,70)	0,001		
Polimixinas	57 (6,7)	0,39 (0,26-0,58)	<0,001	0,52 (0,33-0,80)	0,003

Nota. Características da coorte são mostradas em número(%), exceto quando especificado.
HR, Hazzar Ratio. IC, Intervalo de Confiança.

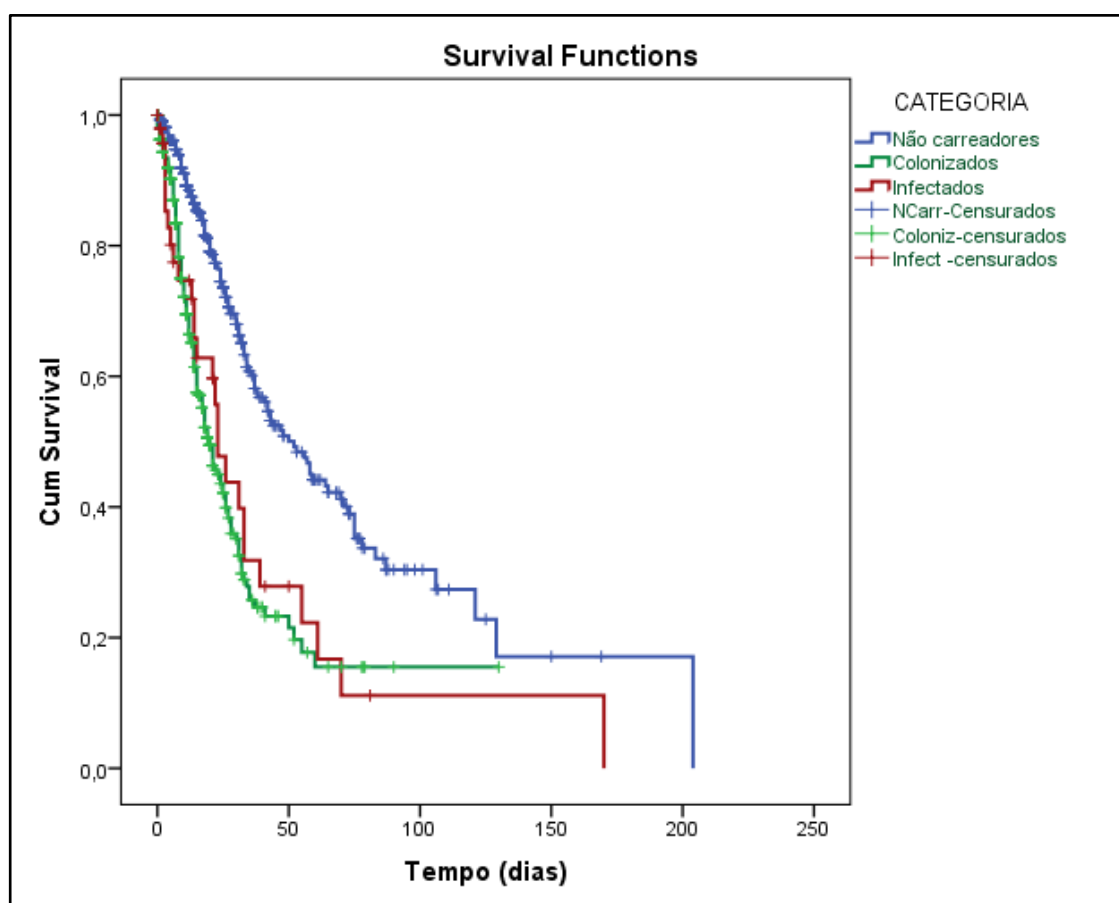


Figura 9. Curva de Kaplan-Meier⁶⁵ para associação de categorias com óbito (Log-rank test, $p < 0,001$).



DISCUSSÃO

O estudo de caso-controle evidenciou diferentes fatores que expõem pacientes ao risco de colonização e/ou infecção por CRE. No que diz respeito à condição clínica do paciente, encontramos a queimadura (médios e grandes queimados) como um dos fatores que favoreceu a aquisição nosocomial de CRE na população estudada. Em nossa busca ativa por evidências na literatura desta condição, encontramos a publicação de Kanamori *et al*, 2016, os quais estudaram um surto prolongado de CRE (*Enterobacter cloacae* e *Klebsiella pneumoniae*) durante um período de 3 anos em um grande centro acadêmico de tratamento de queimaduras e apesar de medidas rigorosas de controle de infecção, vinte e dois isolados clínicos de CRE foram sequenciados e analisados geneticamente. O estudo revelou que este surto, que parecia epidemiologicamente desvinculado, estava de fato ligado geneticamente durante um período prolongado⁶⁶. Este achado em comparação com nosso estudo, reforça que são inúmeros os desafios para prevenção de infecção e medidas de controle contra CRE em pacientes vítimas de extensas queimaduras e submetidos a serviços referenciados neste tipo de assistência em saúde.

Os Índices de Comorbidades de Chalon confirmaram a existência de uma maior vulnerabilidade dos pacientes com índices mais elevados à aquisição de CRE e em algumas vezes, o desenvolvimento de infecções clínicas. Portanto, entendemos que pacientes mais acometidos de comorbidades e com uma condição clínica mais desfavorável, também são mais expostos ao risco da aquisição nosocomial de CRE, tanto que podemos reforçar esse fato com a informação de que 173 (40,5%) dos casos de CRE foram identificados em unidades de terapia intensiva (tabela 1).

Comparativamente, o estudo que avalia o desempenho de drogas associadas a inibidores de beta-lactamases realizado por Katchanov *et al*, 2018, encontrou 55% dos casos de CRE oriundos de UTI⁶⁷, e ainda, o estudo de Lee *et al*, 2013, identificou fatores de risco como exposição aos antimicrobianos da classe dos carbapenêmicos e admissão em UTI⁶⁸.

Em um estudo de caso-controle realizado por Mills *et al*, 2016, com pacientes de um Hospital de cuidados intensivos de longa permanência, de 2008 a 2013, os casos foram definidos como todos os pacientes com culturas clínicas positivas para *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenêmicos (CRKP) e os controles foram aqueles com culturas clínicas positivas para *Klebsiella pneumoniae* suscetível a carbapenêmicos (CSKP). Na análise multivariada, a colonização ou infecção por CRKP associou-se significativamente com as seguintes comorbidades: transplante de órgão sólido ou hematopoiético, ventilação mecânica, comprometimento cognitivo, traqueostomia e incontinência fecal. Houve também uma associação entre CRKP e uso de esteróides, vancomicina, cefepima, meropenem e metronidazol (anaerobicida) nos últimos 30 dias⁶⁹.

Este estudo também demonstrou o uso de esteróides como uma terapêutica que favoreceu a colonização ou a infecção por CRE corroborando com o raciocínio de que drogas supressoras dos processos imunológicos também expõem os pacientes à organismos MDRs.

No que se refere ao uso prévio de antimicrobianos, a análise multivariada de Cox exibiu 4 classes de antimicrobianos como fatores de risco independentes tanto para a colonização quanto para a infecção por CRE, sendo elas, penicilinas associadas a inibidores de beta-lactamases, cefalosporinas de 3^a. e 4^a. geração,

quinolonas e os anaerobicidas. Curiosamente, a população estudada não mostrou qualquer influência do uso prévio de carbapenêmicos na aquisição de CRE no hospital de estudo, como por exemplo, ainda considerando o estudo de Mills *et al*⁶⁹, a administração prévia dos seguintes antibióticos (30 dias anteriores) também foi significativamente associada ao isolamento da CRKP: o carbapenêmico meropenem (OR 3,55; 95% CI, 1,04 - 12,1, P = 0,04), o glicopeptídeo vancomicina (OR, 2,94; IC 95%, 1,18 - 7,32 , P = 0,02) e o anaerobicida metronidazol (OR, 4,22; IC95%, 1,28 - 14,0, P = 0,02).

A estratificação dos fatores risco para aquisição de Enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos por ano de aquisição, mostrou uma maior variabilidade das drogas antimicrobianas a cada ano, enquanto que a detecção de fatores de risco como o uso de esteróides e transferência imediata foram mais consistentes. Mesmo estratificando por ano de aquisição (mais especificamente em 2014 e 2016) ou considerando a análise total dos dados de caso-controle, de forma interessante e até mesmo inesperada, os pacientes submetidos a procedimentos cirúrgicos mostraram uma tendência em não adquirir CRE, seja como colonizante ou agente causador de infecção clínica.

A colonização retal por CRE, de acordo com o recente estudo de McConville *et al*, 2017⁷⁰, pode ser identificada como um importante fator de risco epidemiológico para o desenvolvimento de infecção subsequente por CRE. Em uma metanálise realizada em 2016, os pacientes colonizados tiveram uma taxa cumulativa de infecção de 16,5%⁷¹. Comparativamente, este estudo, encontrou uma taxa de 13,2% de desenvolvimento de infecções associadas aos cuidados de saúde causadas por CRE (CRE-IACS), as quais acometeram pacientes previamente colonizados no trato

digestório por tais isolados, e ainda, foram principalmente internados em unidades de terapia intensiva (UTI), fato que reforça a necessidade de um cuidadoso monitoramento dos pacientes colonizados em UTI.

Nosso estudo foi conduzido em um cenário de recente emergência e rápida progressão para hiperendemicidade - quadro freqüente entre hospitais no Brasil e em outros países⁷². Nossas descobertas podem ser aplicáveis a configurações semelhantes.

Ao considerarmos o uso de dispositivos invasivos como fatores associados ao desenvolvimento de infecções clínicas em pacientes com colonização do trato digestório por CRE, embora na fase de análise univariada, tanto o uso de ventilação mecânica como o de cateter venoso central e sonda vesical de demora tenham apresentado significância estatística, a análise multivariada revelou o uso de sonda vesical de demora como fator que pode favorecer o desenvolvimento de infecção clínica por CRE.

Concomitantemente pudemos observar que dentre as culturas clínicas positivas para CRE no presente estudo de coorte, de forma complementar ao achado supracitado, demonstrou que infecções do trato urinário foram as mais prevalentes. Ora, a infecção do trato urinário (ITU) é a segunda infecção mais prevalente no que diz respeito às infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) em hospitais norte-americanos e no Brasil, a ITU é em média, responsável por 40% das infecções adquiridas em hospitais⁷³.

Considerando que pacientes portadores de Enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos, ao serem submetidos a cuidados hospitalares ou a outros cuidados relacionados à assistência em saúde, muitas vezes necessitam ser invadidos por

sonda vesical de demora (SVD). Considerando ainda que, as características anatômicas humanas exibem uma proximidade importante entre cavidades do sistema digestório e do trato gênito-urinário, as quais favorecem o carreamento de microrganismos entre estes. Embora existam medidas profiláticas de higiene e antisepsia local que antecedem a inserção da SVD ao paciente, esta, pode favorecer o arraste de microrganismos para o interior do trato urinário, causando infecções importantes, principalmente quando se tratam de microrganismos resistentes.

Ao levarmos este cenário para as unidades de terapia intensiva (UTI), as quais aparecem em nosso estudo como o local de internação mais frequente de pacientes com colonização e infecções clínicas por CRE (Tabela 1 e Figura 5), este risco torna-se ainda maior. Kim *et al*, 2016, chegaram a encontrar uma prevalência de CRE de 7,5% de cultura de fezes na UTI de um hospital de referência universitário terciário da Coreia em 2013⁷⁴.

No estudo de Lee *et al*, 2016, os resultados clínicos dos pacientes com CRE mostrou progressão da doença mais grave do que aqueles dos grupos de pacientes com infecção por Enterobactérias sensíveis aos carbapenêmicos (CSE). Apenas 56,3% dos pacientes receberam antibióticos suscetíveis para o CRE quando houve suspeita de infecção. Os pacientes com CRE eram mais propensos a experimentar um nível reduzido de consciência, usar um vasopressor, estar sob tratamento intensivo e sofrer de lesão renal aguda⁷⁵. Neste estudo não houve significância estatística quanto ao ICC (Índice de Comorbidade de Charlson) para estabelecermos a gravidade de pacientes que desenvolveram infecção clínica por CRE, no entanto, houve a maior prevalência de pacientes internados em UTI.

Notavelmente, assim como no estudo de McConville *et al*, 2017⁷⁰, pudemos observar que entre os pacientes colonizados com CRE que passaram a desenvolver uma infecção por CRE, o organismo colonizador e infectante, na maioria das vezes, era da mesma espécie. Isso pode ter implicações importantes para a seleção de antibióticos empíricos em pacientes colonizados.

No que diz respeito ao uso prévio de antimicrobianos, entre os principais mecanismos que causam a resistência aos carbapenêmicos em *Enterobacteriaceae*, a aquisição de genes específicos que codificam as carbapenemases desempenha o papel mais importante¹⁷. Muitos trabalhos de pesquisa mostram que os genes que codificam as carbapenemases são na maioria das vezes localizados em plasmídeos e associados a várias estruturas genéticas móveis, como transposons ou integrons⁷⁶. Esta característica, não somente acelera a disseminação inter e intra-espécies dos genes produtores de carbapenemases, como também tais plasmídeos carregam em si, genes de resistência a múltiplas drogas antimicrobianas. Portanto, a alta prevalência de microrganismos produtores de ESBL e as opções terapêuticas limitadas para infecções por MDR aumentam o consumo de carbapenêmicos.

Podemos afirmar que as espécies de CRE são os produtos “bem sucedidos” quando se refere a pressão seletiva das drogas. Outros fatores, como as viagens internacionais e o turismo médico, a hospitalização prolongada e o uso frequente de dispositivos médicos invasivos como já comentado nesta discussão, também alimentaram o rápido aumento resistência a carbapenêmicos³⁶.

Ao eliminarmos os fatores confundidores através da análise multivariada, somente o uso prévio de carbapenêmicos foi confirmado como fator que está

associado ao desenvolvimento de infecções clínicas por CRE após a colonização nosocomial, na população participante deste estudo.

Os preditores da coorte são coerentes com os locais de infecção. A associação de cateter urinário e infecção clínica por CRE era esperada, uma vez que quase 40% das infecções detectadas foram em UTIs frente à descoberta sobre o uso de carbapenêmicos, a qual é menos direta. Deve-se notar que esta associação foi detectada para o uso de carbapenêmicos após o diagnóstico de colonização e, portanto, não é devido ao fato de os carbapenêmicos serem fatores de risco habituais para a aquisição da CRE^{1,77}. Em vez disso, aponta para um papel dos antimicrobianos na progressão da colonização para a infecção. Uma possível explicação é a eliminação de patógenos concorrentes, levando a um aumento da carga bacteriana e invasividade do CRE⁷⁸. Mas não podemos descartar a possibilidade de que o uso de carbapenêmicos fosse uma proxy da gravidade da doença ou de outro fator de risco não abordado no estudo.

As infecções do trato urinário são um dos motivos mais comuns para o uso de antimicrobianos em idosos, e o uso inadequado de antibióticos leva ao desenvolvimento de organismos resistentes a múltiplos medicamentos (MDRO) considerando, principalmente, os motivos já descritos neste estudo. A alta taxa de bacteriúrias assintomáticas em idosos, particularmente residentes de instituições de cuidados em saúde de longa permanência, muitas vezes leva ao tratamento excessivo com antibióticos e, assim, promove o desenvolvimento de patógenos resistentes nessa população. Um estudo recente em residentes de instituições de cuidados em saúde de longa permanência (conhecidas como “casas de repouso” encontrou uma associação significativa entre o aumento nos episódios de bacteriúrias assintomáticas

e a recuperação de isolados de bacilos gram-negativos resistentes a múltiplos fármacos⁷⁹.

Embora os microrganismos MDR sejam mais comuns em contextos de cuidados de saúde, a prevalência de patógenos urinários resistentes a antibióticos encontrados na comunidade é uma população de microrganismos também está em franco crescimento⁸⁰.

Considerando todo o exposto acima e comparando com este estudo de coorte, podemos observar que a carga do uso excessivo de drogas antimicrobianas desempenha um importante papel no desenvolvimento de resistência bacteriana, a qual tem sido uma importante ameaça à saúde mundial, pois, o crescimento gradativo de tais resistências nos tem levado a pensar em uma iminente era “pós-antibiótica”, onde estamos voltando a nos deparar com a mortalidade como resultado da ineficiência e ineficácia dos antimicrobianos.

Em um estudo de coorte realizado por Kalpoe *et al*, 2012, pacientes submetidos ao transplante hepático em um centro especializado em Nova Iorque (EUA) foram acompanhados por um ano após o transplante. Tal estudo constatou que 71% dos pacientes infectados com *Klebsiella pneumoniae* resistente aos carbapenêmicos (CRE) morreram em comparação com 14% dos pacientes não infectados (log rank $p < 0,001$). Com base na análise multivariada dos fatores preditores, a mortalidade em um ano foi significativamente maior em pacientes que desenvolveram infecções por CRE em comparação com pacientes não infectados⁸¹.

Nosso estudo comparou indivíduos não-carreadores, colonizados e infectados por CRE e mostrou que, tanto a colonização quanto o desenvolvimento de infecção por CRE foram responsáveis por um risco de morte cerca de 2 vezes maior que em

indivíduos não-carreadores. Um estudo multicêntrico (realizado em 8 hospitais da cidade de Detroit – EUA) publicado no *American Journal of Infection Control* por Bogan et al, 2014, os pacientes com e sem infecções foram pareados por hospital, unidade de internação, ano e tempo sob risco (ou seja, da admissão hospitalar à coleta da cultura). E embora os autores encontraram maiores taxas de mortalidade entre os pacientes com CRE em comparação com os controles não infectados, a diferença não foi estatisticamente significativa⁸². No entanto, o estudo de caso-controle de Israel descobriu que, após o ajuste para gravidade da doença, pacientes com infecções por *K. pneumoniae* resistentes aos carbapenêmicos tinham 4 vezes mais risco de morte do que pacientes infectados com *K. pneumoniae* suscetível a carbapenêmicos⁸³.

No estudo de Mills et al, 2016, dentre 93 isolados de CRKP, 16 (17%) tinham uma MIC de meropenem de 1 µg / mL e 17 (18%) de isolados tinham uma MIC de meropenem de 2 µg / mL, os demais 60 isolados de CRKP apresentaram uma MIC > 2 µg / mL. No geral, houve uma taxa relativamente baixa de resistência à amicacina (31%). Cinquenta e dois dos isolados de CRKP foram submetidos ao teste de sensibilidade à tigeciclina, com a maioria (83%) identificada como suscetível. Quarenta e nove (94%) dos 52 isolados de CRKP testados foram suscetíveis a colistina ou polimixina B⁶⁹. Neste contexto e de forma interessante, o presente estudo mostrou o efeito protetor das polimixinas em relação ao óbito, assim como das penicilinas administradas isoladamente ou em associação com inibidores de beta-lactamases e as quinolonas.

É importante salientar que este estudo, apesar de sua importância dentro do contexto ao qual se refere, também apresenta limitações importantes como a necessidade de compararmos com os indivíduos infectados com CRE e que não

apresentaram colonização prévia e principalmente, e ainda, uma limitação foi a falta de tipagem de isolados, como os estudos moleculares epidemiologicamente relevantes *Pulsed Field Gel Electrophoresis* (PFGE) e *Multi-Locus Sequence Typing* (MLST), os quais poderiam associar mais conclusivamente clones causando colonização e infecção. Além disso, as regras para a coleta de swabs retais em nossa instituição podem ter influenciado os resultados, especialmente pela superinclusão de pacientes na UTI.

No entanto, o número de indivíduos incluídos no estudo, o período de estudo que abrange o período de emergência de CRE no hospital de estudo e a definição dos fatores de risco identificados alcançam a importância de contribuir com medidas de contenção do carregamento da resistência bacteriana estudada. E por outro lado, nossa coorte foi maior do que a maioria dos estudos incluídos na revisão sistemática realizada por Tischendorf *et al*, 2016⁷¹, e realizamos uma extensa análise dos fatores de risco potenciais.



CONCLUSÕES

✓ Sumariamente, nosso estudo caso-controle detectou que pacientes vítimas de média e grandes queimaduras apresentam um risco cerca de 4 vezes maior de adquirir Enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos, assim como o Índice de comorbidades de Charlson mais elevados são preditores dessa aquisição na população de estudo. A terapêutica com esteróides e o uso prévio de antimicrobianos como as penicilinas associadas a inibidores de beta-lactamases, cefalosporinas de 3^a. e 4^a. geração, quinolonas e os anaerobicidas.

✓ Através do estudo de coorte detectamos que principalmente em pacientes sob cuidados intensivos em unidade, a colonização do trato digestório por CRE levou parte da população estudada a desenvolver infecção subsequente por CRE e dentre os fatores associados para o desenvolvimento de tais infecções clinicamente relevantes, encontramos o uso de sonda vesical de demora como procedimento invasivo provavelmente carreador de tais isolados resistentes. Quanto ao uso prévio de drogas antimicrobiana e à luz de nossos achados após análise estatística multivariada, o uso de carbapenêmicos puderam ser relacionados como preditores do desenvolvimento da infecção clínica por CRE neste contexto.

✓ Nossos achados do estudo de coorte para análise dos preditores de óbito detectaram que tanto a colonização como o desenvolvimento de infecção por CRE são fatores de risco independentes de morte, a idade e o índice de Charlson foram significantes como preditores de um prognóstico desfavorável, assim como o uso de dispositivos como cateter venoso central e sonda vesical de demora. Pacientes

submetidos a procedimentos cirúrgicos e em uso de antimicrobianos como as polimixinas, assim como das penicilinas administradas isoladamente ou em associação com inibidores de beta-lactamases e as quinolonas, apresentaram prognóstico mais favorável.

✓ Futuramente, mais estudos são essenciais para testar estratégias de descolonização, como novas combinações antimicrobianas ou procedimentos como transplante microbiano fecal, visando a diminuição do risco de infecções e de desfechos indesejáveis em pacientes graves.



Referências Bibliográficas

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Logan LK, Weinstein RA. The epidemiology of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae: the impact and evolution of a global menace. *J Infect Dis.* 2017; 215 (S1):S28-36.
 2. Siegel JD, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L, Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Management of multidrug-resistant organisms in health care settings. *Am J Infect Control* 2007; 35:S165–93.
 3. Kim YA, Park YS. Epidemiology and Treatment of antimicrobial-resistant gram negative bacteria in Korea. *Korean J Intern Med* 2018; 33: 247-55
 4. Ryu S. The new Korean action plan for containment of antimicrobial resistance. *J Glob Antimicrob Resist* 2017;8:70-73.
 5. DOU Nº 87, segunda-feira, 9 de maio de 2011. Seção 1, páginas 39 a 41 RESOLUÇÃO-RDC Nº 20, DE 5 DE MAIO DE 2011.
 6. Prabaker K, Weinstein RA. Trends in antimicrobial resistance in intensive care units in the United States. *Curr Opin Crit Care* 2011; 17:472–9.
 7. Zilberberg, M.D., Shorr, A.F.. Secular trends in gram-negative resistance among urinary tract infection hospitalizations in the United States, 2000–2009. *Infect. Control Hosp. Epidemiol* 2013. 34 (9), 940–946.
-

8. Karaiskos, I., Giamarellou, H. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant Gram-negative pathogens: current and emerging therapeutic approaches. *Expert. Opin. Pharmacother* 2014. 15 (10), 1351–1370.
 9. Yong, D., Toleman, M.A., Giske, C.G., et al.. Characterization of a new metallo-betalactamase gene, bla (NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrob. Agents Chemother* 2009. 53 (12), 5046–5054.
 10. Geng TT et al. High-dose tigecycline for the treatment of nosocomial carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections. *Medicine* 2018; 97:1-8
 11. Chaudhry D, Prajapat B. Intensive care unit bugs in India: how do they differ from the western world? *J Assoc Chest Phys*, 2017;5(1):10.
 12. Lee CR, Cho IH, Jeong BC, Lee SH. Strategies to minimize antibiotic resistance. *Int J Environ Res Public Health*. 2013;10(9):4274–4305.
 13. Henig O et al. A Prospective Observational Study of the Epidemiology, Management, and Outcomes of Skin and Soft Tissue Infections Due to Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae. *O F Infect Dis*, 2017; 4(3): ofx157
 14. Akers KS, Mende K, Cheatle KA, et al. Biofilms and persistent wound infections in United States military trauma patients: a case-control analysis. *BMC Infect Dis* 2014; 14:190.
-

15. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15:167–93.
 16. Vuotto C, Longo F, Balice MP, et al. Antibiotic resistance related to biofilm formation in *Klebsiella pneumoniae*. *Pathogens* 2014; 3:743–58.
 17. Nordmann P, Dortet L, Poirel L. Carbapenem resistance in *Enterobacteriaceae*: here is the storm! *Trends Mol Med*. 2012;18(5):263-72.
 18. Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54:969–76.
 19. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18:657–86.
 20. Patel G, Bonomo RA. “Stormy waters ahead”: global emergence of carbapenemases. *Front Microbiol* 2013; 4:1–17.
 21. Nordmann P, Cuzon G, Naas T. The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase producing bacteria. *Lancet Infect Dis* 2009; 9: 228–36.
 22. Ambler, R.P. et al. A standard numbering scheme for the class A β -lactamases. *Biochem J* 1991; 276: 269–70.
 23. Bush K, Fisher J. Epidemiological expansion, structural studies, and clinical challenges of new β -lactamases from gram-negative bacteria. *Annu Rev Microbiol* 2011; 65:455–78.
-

24. Nordmann P , Naas T, Poirel L. Global Spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerg infect Dis* 2011; 17(10): 1791-8.
 25. Cury AP, Andreazzi D, Maffucci M, Caiaffa-Junior HH, Rossi F. The modified Hodge test is a useful tool for ruling out *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase. *Clin Science* 2012. 67(12):1427-31.
 26. Patel G, et al. Outcomes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection and the impact of antimicrobial and adjunctive therapies. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008; 29: 1099–106.
 27. Arakawa Y, Murakami M, Suzuki K, Ito H, Wacharotayankun R, Ohsuka S, Kato N, Ohta M. A Novel Integron-Like Element Carrying the Metallo-b-Lactamase Gene *bla*IMP. *Antimicrob Agents Chem* 1995. 39(7): 1612-5.
 28. Daikos GL *et al.* Prospective Observational Study of the Impact of VIM-1 Metallo-b-Lactamase on the Outcome of Patients with *Klebsiella pneumoniae* bloodstream Infections. *Antimicrob Agents Chem* 2009. 53(5): 1868–73.
 29. Lauretti L, et al. Cloning and characterization of *bla*_{VIM}, a new integron-borne metallo-b-lactamase gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 1584–90.
 30. Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo-β-Lactamases: the Quiet before the Storm? *Clin Microbiol Rev* 2005; 18:306–25.
-

31. Vatopoulos A. High rates of metallo-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Greece—a review of the current evidence. *Euro Surveill* 2008; 13:8023.
 32. Yong D, Toleman MA, Giske CG, Cho HS, Sundman K, Lee K, et al. Characterization of a new metallo- β -lactamase gene, blaNDM-1, and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53:5046–54.
 33. Nordmann P, Poirel L, Toleman MA, Walsh TR. Does broad-spectrum β -lactam resistance due to NDM-1 herald the end of the antibiotic era for treatment of infections caused by Gram-negative bacteria? *J Antimicrob Chemother*. 2011; 66: 689–92.
 34. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. COMUNICAÇÃO DE RISCO NO 001/2013 - GVIMS/GGTES-ANVISA. Circulação de micro-organismos com mecanismo de resistência denominado "New Delhi Metalobetalactamase" ou NDM no Brasil. ANVISA 2013.
 35. Perry JD, Naqvi SH, Mirza IA, et al. Prevalence of faecal carriage of Enterobacteriaceae with NDM-1 carbapenemase at military hospitals in Pakistan, and evaluation of two chromogenic media. *J Antimicrob Chemother* 2011; 66:2288–94.
 36. Castanheira M, Deshpande LM, Mathai D, Bell JM, Jones RN, Mendes RE. Early dissemination of NDM-1- and OXA-181-producing Enterobacteriaceae in
-

- Indian hospitals: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 2006–2007. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55:1274–8.
37. Poirel L, Naas T, Nordmann P. Diversity, epidemiology, and genetics of class D β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54:24–38.
38. Azimi L, Nordmann P, Lari AR, Bonnin RA. First report of OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* strains in Iran. *Hyg Infect Control* 2014. 9(1): 1-5.
39. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile β -lactamases. *Clin. Microbiol* 2007; 20: 440–58.
40. Yamamoto M, Pop-Vicas AE. Treatment for infections with carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: what options do we still have? *Critical Care* 2014, 18:229
41. Zavascki AP, Barth AL, Gaspareto PB, Goncalves AL, Moro AL, Fernandes JF, Goldani LZ: Risk factors for nosocomial infections due to *Pseudomonas aeruginosa* producing metallo-beta-lactamase in two tertiary-care teaching hospitals. *J Antimicrob Chemother* 2006, 58:882–885.
42. Livermore DM, Warner M, Mushtaq S, Doumith M, Zhang J, Woodford N: What remains against carbapenem-resistant Enterobacteriaceae? Evaluation of chloramphenicol, ciprofloxacin, colistin, fosfomycin, minocycline, nitrofurantoin, temocillin and tigecycline. *Int J Antimicrob Agents* 2011, 37:415–419.
-

43. Anthony KB, Fishman NO, Linkin DR, et al. Clinical and microbiological outcomes of serious infections with multidrug-resistant gramnegative organisms treated with tigecycline. *Clin Infect Dis* 2008; 46:567–70.
 44. Tzouveleakis LS, Markogiannakis A, Piperaki E, et al. Treating infections caused by carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Clin Microbiol Infect* 2014; 20:862–72.
 45. Roberts JA, Kirkpatrick CM, Roberts MS, et al. Meropenem dosing in critically ill patients with sepsis and without renal dysfunction: intermittent bolus versus continuous administration? Monte Carlo dosing simulations and subcutaneous tissue distribution. *J Antimicrob Chemother* 2009; 64:142–50.
 46. Giamarellou H, Galani L, Baziaka F, Karaiskos I. Effectiveness of a double-carbapenem regimen for infections in humans due to carbapenemase-producing pandrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57:2388–90
 47. Bulik CC, Nicolau DP. Double-carbapenem therapy for carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55:3002–4.
 48. Wiskirchen DE, Crandon JL, Nicolau DP. Impact of various conditions on the efficacy of dual carbapenem therapy against KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Int J Antimicrob Agents* 2013; 41:582–5.
-

49. Lee J, Patel G, Huprikar S, et al. Decreased susceptibility to polymyxin B during treatment for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection. *J Clin Microbiol* 2009; 47:1611–2.
 50. Gales AC, Jones RN, Sader HS. Contemporary activity of colistin and polymyxin B against a worldwide collection of Gram-negative pathogens: results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2006–09). *J Antimicrob Chemother* 2011; 66:2070–4.
 51. Garonzik SM, Li J, Thamlikitkul V, et al. Population pharmacokinetics of colistin methanesulfonate and formed colistin in critically ill patients from a multicenter study provide dosing suggestions for various categories of patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55: 3284–94.
 52. Antoniadou A, Kontopidou F, Poulakou G, et al. Colistin-resistant isolates of *Klebsiella pneumoniae* emerging in intensive care unit patients: first report of a multiclonal cluster. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59:786–90.
 53. Lynch JP 3rd, Clark NM, Zhanel GG. Evolution of antimicrobial resistance among Enterobacteriaceae (focus on extended spectrum beta-lactamases and carbapenemases). *Expert Opin Pharmacother* 2013; 14:199–210.
 54. Hirsch EB, Tam VH. Detection and treatment options for *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases (KPCs): an emerging cause of multidrug- resistant infection. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65:1119–25.
-

55. Balkan I, Aygun G, Aydin S, et al. Blood stream infections due to OXA-48-like carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: treatment and survival. *Int J Infect Dis* 2014; 26C: 51–6.
 56. De Pascale G, Montini L, Pennisi MA, et al. High dose tigecycline in critically ill patients with severe infections due to multidrug-resistant bacteria. *Crit Care* 2014; 18: R90.
 57. Popovic M, Steinort D, Pillai S, Joukhadar C. Fosfomycin: an old, new friend? *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2010; 29:127–42.
 58. Thaden JT, Pogue JM, Kaye KS: Role of newer and re-emerging older agents in the treatment of infections caused by carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *Virulence* 2017; 8: 403–16.
 59. De Jonge BLM, Karlowsky JA, Kazmierczak KM, Biedenbach DJ, Sahm DF, Nichols WW: In vitro susceptibility to Ceftazidime- Avibactam of Carbapenem-nonsusceptible Enterobacteriaceae isolates collected during the INFORM global surveillance study (2012 to 2014). *Antimicrob Agents Chemother* 2016; 60: 3163–9.
 60. Grupper M, Sutherland C, Nicolau DP: Multicenter evaluation of Ceftazidime-avibactam and Ceftolozane-tazobactam inhibitory activity against Meropenem non-susceptible *P. aeruginosa* from blood, respiratory tract and wounds. *Antimicrob Agents Chemother* 2017; 61. pii: e00875–17.
-

61. Patel JB et al. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing M-100. *Clin Lab Stand Inst*, 2017. 27: 1-282.
 62. Lolans K. et al. Direct ertapenem disk screening method for identification of KPC producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in surveillance swab specimens. *J Clin Microbiol*, 2010; 3 (48): 836-41.
 63. Oplustil CP, Zoccoli CM, Tobouti NR, Sinto SI. Procedimentos básicos em microbiologia clínica. *Sarvier*, 2010. 3: 89-100, 315-56, 402.
 64. 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: 373-383.
 65. Stel V, S, Dekker F, W, Tripepi G, Zoccali C, Jager K, J, Survival Analysis I: The Kaplan-Meier Method. *Nephron Clin Pract* 2011;119:c83-c88.
 66. Kanamori H, Parobek CM, Juliano JJ, Van Duin D, Cairns BA, Weber DJ, Rutala WA. A Prolonged Outbreak of KPC-3-Producing *Enterobacter cloacae* and *Klebsiella pneumoniae* Driven by Multiple Mechanisms of Resistance Transmission at a Large Academic Burn Center. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017 Jan 24;61(2).
 67. Katchanov J, Asar L, Klupp EM, Both A, Rothe C, KoÈ C, Rohde H, Kluge S, Maurer FP. Carbapenem-resistant Gram-negative pathogens in a German university medical center: prevalence, clinical implications and the role of novel β -lactam/ β -lactamase inhibitor combinations. *PLoS ONE* 13(4): e0195757.
-

68. Lee GC, Lawson KA, Burgess DS. Clinical epidemiology of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in community hospitals: a case-case-control study. *Ann Pharmacother*. 2013;47:1115–21.
 69. Mills JP, Talati NJ, Alby K, Han JH. The Epidemiology of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Colonization and Infection among Long-Term Acute Care Hospital Residents. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2016; 37(1): 55-60.
 70. McConville TH, Sullivan SB, Gomez-Simmonds A, Whittier S, Uhlemann A-C. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae colonization (CRE) and subsequent risk of infection and 90-day mortality in critically ill patients, an observational study. *PLoS ONE* 2017; 12(10): e0186195.
 71. Tischendorf J, de Avila RA, Safdar N. Risk of infection following colonization with carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: A systematic review. *Am J Infect Control*. 2016. Epub 2016/02/24. PMID: 26899297.
 72. Sampaio JL, Gales AC. Antimicrobial resistance in Enterobacteriaceae in Brazil: focus on β -lactams and polymyxins. *Braz J Microbiol*. 2016;47 (Suppl 1):31-7.
 73. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA(BR). Indicadores nacionais de infecções relacionadas à assistência à saúde. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária; 2010. 17 p.
 74. Kim DK, Kim HS, Pinto N, Jeon J, D'Souza R, Kim MS, Choi JY, Yong D, Jeong SH, Lee K. Xpert CARBA-R assay for the detection of carbapenemase-
-

producing organisms in intensive care unit patients of a Korean Tertiary Care Hospital. *Ann Lab Med* 2016;36:162-5.

75. Lee H-J *et al.* Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: Prevalence and Risk Factors in a Single Community-Based Hospital in Korea. *Infect Chemother* 2016;48(3):166-73.
 76. Cuzon G, Naas T, Nordmann P. Functional characterization of *Tn4401*, a *Tn3*-based transposon involved in *blaKPC* gene mobilization. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55: 5370-3.
 77. Friedman ND, Carmeli Y, Walton AL, Schwaber MJ. Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae*: A Strategic Roadmap for Infection Control. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2017;38: 580-94.
 78. Lipsitch M, Samore MH. Antimicrobial use and antimicrobial resistance: a population perspective. *Emerg Infect Dis.* 2002;8: 347-54.
 79. Das R, Towle V, Van Ness PH, *et al.* Adverse outcomes in nursing home residents with increased episodes of observed bacteriuria. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2011; 32(1):84–6.
 80. Swami SK, Liesinger JT, Shah N, *et al.* Incidence of antibiotic-resistant Adv PSA337 bacteriuria according to age and location of onset: a population-based study from Olmsted County, Minnesota. *Mayo Clin Proc.* 2012; 87(8):753–9.
-

81. Kalpoe JS, Sonnenberg E, Factor SH, et al. Mortality associated with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infections in liver transplant recipients. *Liver Transpl.* 2012;18(4):468–74.
 82. Bogan C, Kaye KS, Chopra T, et al. Outcomes of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* isolation: matched analysis. *Am J Infect Control.* 2014; 42(6):612–20.
 83. Schwaber MJ, Klarfeld-Lidji S, Navon-Venezia S, Schwartz D, Leavitt A, Carmeli Y. Predictors of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* acquisition among hospitalized adults and effect of acquisition on mortality. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008;52(3):1028–33.
-



ANEXOS**Anexo 1 – Declaração e autorização para realização do estudo, emitida pela Instituição Sede da Pesquisa**



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu

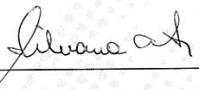
Declaração

DECLARO que tenho CIÊNCIA E AUTORIZO, o desenvolvimento da Pesquisa FATORES PREDITORES E PROGNÓSTICO DA AQUISIÇÃO NOSOCOMIAL DE ENTEROBACTÉRIAS RESISTENTES AOS CARBAPENÊMICOS: ESTUDO DA EMERGÊNCIA DE GENÓTIPOS DE RESISTÊNCIA EM UM HOSPITAL PÚBLICO DO MUNICÍPIO DE BAURU-SP, a ser conduzida pelo Sr(a) Adriana Aparecida Feltrin Correa, orientado (a) pelo Prof. Dr. Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza, junto a esta Entidade, após aprovação do CEP.

Declaro que conheço, cumprirei e farei cumprir os Requisitos da Resolução 466/12 e suas complementares e como esta instituição tem condições para o desenvolvimento deste Projeto, autorizo sua execução.

Por ser verdade, firmo a presente.

Botucatu, 01 de 06 de 2015



Nome, carimbo e assinatura do
Responsável pela Unidade

Prof^a. Titular Silvana Artoli Schellini
Diretora

Faculdade de Medicina de Botucatu
Distrito de Rubião Júnior, s/n CEP 18618-970 Botucatu São Paulo Brasil
Tel 14 3880-1001

Anexo 2 – Declaração e autorização para realização do estudo, emitida pelo Local de desenvolvimento do estudoHOSPITAL ESTADUAL DE BAURU
FAPESP ORGANIZAÇÃO SOCIAL DE SAÚDE**Declaração**

DECLARO que tenho CIÊNCIA E AUTORIZO, o desenvolvimento da Pesquisa
FATORES PREDITORES E PROGNÓSTICO DA AQUISIÇÃO NOSOCOMIAL DE
ENTEROBACTÉRIAS RESISTENTES AOS CARBAPENÊMICOS: ESTUDO DA
EMERGÊNCIA DE GENÓTIPOS DE RESISTÊNCIA EM UM HOSPITAL PÚBLICO DO
MUNICÍPIO DE BAURU-SP, a ser conduzida pelo Sr(a) Adriana Aparecida Feltrin Correa,
orientado (a) pelo Prof. Dr. Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza, junto a esta Entidade,
após aprovação do CEP.

Declaro que conheço, cumprirei e farei cumprir os Requisitos da Resolução 466/12 e suas
complementares e como esta instituição tem condições para o desenvolvimento deste
Projeto, autorizo sua execução.

Por ser verdade, firmo a presente.

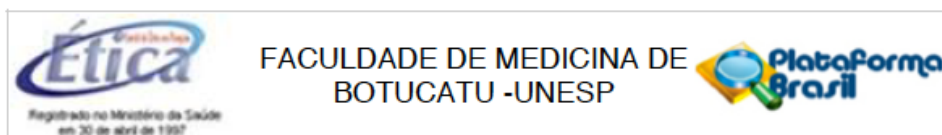
Bauru, 26 de Maio de 2015.

Profª Drª Deborah Maciel Cavalcanti Rosa
Diretora Executiva
Hospital Estadual Bauru



Hospital Estadual de Bauru
"Dr. Arnaldo Prado Curvello"
Av. Eng. Luiz Edmundo Carrijo Coube, 1-100
Cep: 17033-360 - Bauru/SP
Telefone: (14) 3103-7777
www.heb.bauru.unesp.br

GOVERNO DO ESTADO
SÃO PAULO
Secretaria da Saúde

Anexo 3 – Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa (página 1-4)**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: FATORES PREDITORES E PROGNÓSTICO DA AQUISIÇÃO NOSOCOMIAL DE ENTEROBACTÉRIAS RESISTENTES AOS CARBAPENÊMICOS: ESTUDO DA EMERGÊNCIA DE GENÓTIPOS DE RESISTÊNCIA EM UM HOSPITAL PÚBLICO DO MUNICÍPIO DE BAURU-SP

Pesquisador: Adriana Aparecida Feltrin Correa

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 50992715.0.0000.5411

Instituição Proponente: HOSPITAL ESTADUAL BAURU

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

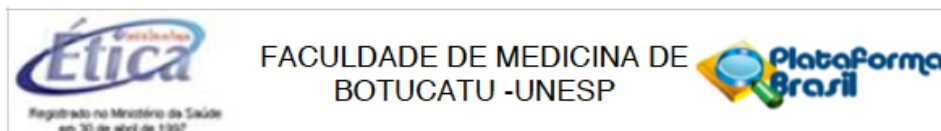
Número do Parecer: 1.375.165

Apresentação do Projeto:

Este estudo tem por objetivo investigar a epidemiologia, identificando os fatores preditores individuais e o desfecho da aquisição nosocomial de enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos (CRE), contemplando as variantes genotípicas relevantes, em pacientes de um hospital público no município de Bauru - SP (Hospital Estadual Bauru - HEB). A amostra será estimada em 500 pacientes com aquisição nosocomial de CRE no período de outubro de 2012 a dezembro de 2015, adicionada da seleção de 2 controles para cada caso (proporção 2:1), totalizando a inclusão de cerca de 1500 pacientes no estudo retrospectivo e 300 pacientes em estudo prospectivo (janeiro de 2016 a dezembro de 2016), totalizando 1800 pacientes no estudo. Trata-se de um estudo de delineamento misto, sendo em parte de "caso-controle", para estudo da epidemiologia, fatores associados e o desfecho da aquisição nosocomial de CER e estudo de "caso-caso", no qual serão investigados fatores preditores para a aquisição dos diferentes genótipos de resistência de microrganismos produtores de carbapenemases. Durante o período prospectivo, a inclusão dos pacientes se dará mediante assinatura do TCLE, pelo próprio paciente ou familiar e o estudo contemplará o acompanhamento dos contactantes domiciliares, após 30 dias da alta hospitalar do paciente

Endereço: Chácara Butignolli, s/n
Bairro: Rubião Junior **CEP:** 18.618-970
UF: SP **Município:** BOTUCATU
Telefone: (14)3880-1608 **E-mail:** capellup@fmb.unesp.br

Anexo 3 (continuação) – Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa (página 2-4)



Continuação do Parecer: 1.375.165

portador de CRE para verificação de carreamento domiciliar e a investigação será realizada através da análise de coproculturas. As amostras das quais são isoladas as cepas de CRE para inclusão neste projeto são principalmente coletadas através de swabs retais da triagem de Vigilância do HEB. Para a análise dos contactantes domiciliares, serão realizadas amostras fecais para realização de coprocultura. As espécies são identificadas por testes laboratoriais de rotina e os testes de suscetibilidade antimicrobiana são realizados para todos os isolados obtidos através da técnica de concentração inibitória mínima. A identificação da resistência será realizada por PCR, considerando a pesquisa de alguns genes e os fenótipos de resistência definidos por PFGE. Serão colhidos em prontuários dados demográficos, tempo de internação, doença de base, comorbidades, procedimentos, uso de dispositivos e uso de antimicrobianos. A análise de prognóstico terá "óbito" como desfecho e "aquisição nosocomial por CRE" como um dos possíveis fatores preditores. Análises estatísticas envolverão modelos uni e multivariados.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo primário: estudar epidemiologia, identificando os fatores preditores individuais e o desfecho da aquisição nosocomial de enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos (CRE), contemplando as variantes genóticas relevantes, em pacientes de um hospital público no município de Bauru - SP.

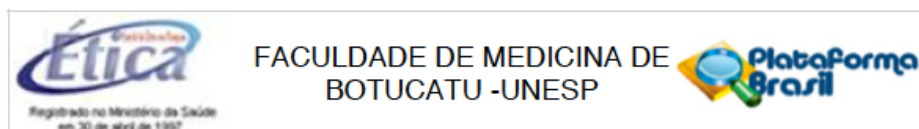
Objetivos secundários: identificar a incidência dos isolados de CRE no Hospital Estadual de Bauru (HEB); selecionar a amostra através da metodologia de amostragem sistemática, para caracterização molecular, contemplando pacientes com internação em UTI e enfermaria; realizar a caracterização genotípica de resistência dos isolados de CRE, identificando os genótipos relevantes por técnica de PCR; identificar fatores individuais associados à aquisição nosocomial de cada genótipo de CRE no hospital de estudo; analisar a relação entre os dados demográficos, dados de internação, comorbidades e o uso de antimicrobianos com a aquisição nosocomial de cada genótipo de resistência de CRE; realizar a caracterização de isolados formadores de clusters por técnica de PFGE para cada genótipo de resistência de CRE, identificando os fatores associados à disseminação por transmissão cruzada e determinar o impacto da aquisição nosocomial de CRE sobre a mortalidade de pacientes internados no hospital do estudo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: mínimos, por se tratar de estudo observacional (nenhum exame será coletado por causa do estudo) e os pesquisadores manterão a confidencialidade.

Endereço: Chácara Butignolli, s/n
 Bairro: Rubião Junior CEP: 18.618-970
 UF: SP Município: BOTUCATU
 Telefone: (14)3880-1608 E-mail: capellup@fmb.unesp.br

Anexo 3 (continuação) – Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa (página 3-4)



Continuação do Parecer: 1.375.165

Benefícios: indiretos, pois a realização de um estudo epidemiológico em busca dos fatores preditores do carregamento de isolados produtores de carbapenemases, contemplando suas variantes genotípicas, visa facilitar o desenvolvimento de novas estratégias clínicas destinadas a instituição de políticas de prevenção.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa apresenta título adequado ao tema, objetivos claros, metodologia bem descrita, avaliação de riscos/benefícios, sendo um estudo clinicamente relevante.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

- Folha de rosto: o número de participantes no estudo foi corrigido para 1800 participantes;
- Projeto: foi corrigido o período prospectivo para janeiro de 2016 a dezembro de 2016 e no cronograma de execução no final do projeto, foi corrigida a data de seleção dos casos e do grupo controle e coleta das amostras para fevereiro de 2016 a dezembro de 2016;
- Declaração de autorização do desenvolvimento da pesquisa no Hospital Estadual Bauru (HEB): anexada;
- Declaração da Comissão Científica da FAMESP: aprovado com pendência de enviar o parecer do CEP à Comissão Científica FAMESP;
- TCLE: foi inserida a garantia do sigilo;
- Cronograma de execução: está adequado.

Recomendações:

Não se aplica

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado sem pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

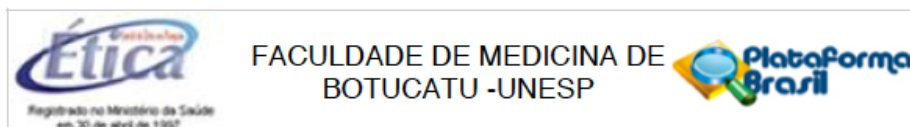
Projeto de pesquisa APROVADO, deliberado em reunião extraordinária do CEP de 18/12/2015, sem necessidade de envio à CONEP.

Lembramos que ao final da execução do projeto, é necessário enviar o "Relatório Final de Atividades". Essa documentação deve ser enviada via Plataforma Brasil na forma de "NOTIFICAÇÃO"

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Endereço: Chácara Butignolli, s/n	CEP: 18.618-970
Bairro: Rubião Junior	
UF: SP	Município: BOTUCATU
Telefone: (14)3880-1608	E-mail: capellup@fmb.unesp.br

Anexo 3 (continuação) – Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa (página 4-4)



Continuação do Parecer: 1.375.165

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMACOES_BASICAS_DO_PROJETO_529973.pdf	09/12/2015 17:05:11		Aceito
Folha de Rosto	FolhaDeRosto_atualizada.pdf	09/12/2015 17:03:53	Adriana Aparecida Feltrin Correa	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoCRE_Atualizado.docx	08/12/2015 15:41:21	Adriana Aparecida Feltrin Correa	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_atualizado.docx	08/12/2015 13:27:57	Adriana Aparecida Feltrin Correa	Aceito
Outros	Consideracoes_pesquisador.docx	08/12/2015 13:27:15	Adriana Aparecida Feltrin Correa	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	ParecerCCFAMESP.pdf	13/11/2015 15:15:31	Adriana Aparecida Feltrin Correa	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	DECLARACAOINSTITUICAOHEB.pdf	13/11/2015 15:14:40	Adriana Aparecida Feltrin Correa	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BOTUCATU, 18 de Dezembro de 2015

Assinado por:
SILVANA ANDREA MOLINA LIMA
(Coordenador)

Endereço: Chácara Butignolli, s/n
Bairro: Rubião Junior CEP: 18.618-970
UF: SP Município: BOTUCATU
Telefone: (14)3880-1608 E-mail: capellup@fmb.unesp.br

Anexo 4 – Notificação de mudança de Título em Projeto de Pesquisa

Campus de Botucatu

MUDANÇA DE TÍTULO EM PROJETO DE PESQUISA*

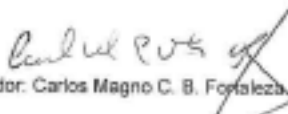
Objetivo Acadêmico: Tese de Doutorado

Título constante no parecer de aprovação:
FATORES PREDITORES E PROGNÓSTICO DA AQUISIÇÃO NOSOCOMIAL DE ENTEROBACTÉRIAS RESISTENTES AOS CARBAPENÊMICOS: ESTUDO DA EMERGÊNCIA DE GENÓTIPOS DE RESISTÊNCIA EM UM HOSPITAL PÚBLICO DO MUNICÍPIO DE BAURU-SP

Título final do trabalho (constante na capa da tese):
FATORES PREDITORES E PROGNÓSTICO DA AQUISIÇÃO NOSOCOMIAL DE ENTEROBACTÉRIAS RESISTENTES AOS CARBAPENÊMICOS.

Data da reunião do CEP que aprovou o parecer inicial: 18/12/2015

Declaramos que o trabalho não sofreu alterações nos objetivos e/ou conteúdo metodológico da época de apresentação para análise do CEP.


 Orientador: Carlos Magno C. B. Fortaleza


 Pós-graduanda: Adriana Aparecida Feltrin Correa

* Projetos submetidos via Plataforma Brasil: preencher o formulário, digitalizar e postar no sistema Plataforma Brasil (em Projeto Aprovado clicar em Notificação); a seguir protocolar o formulário no CEP que emitiu o Parecer inicial de aprovação;

* Projetos submetidos anteriormente a Plataforma Brasil: preencher o formulário em duas vias e protocolar no CEP que emitiu o Parecer inicial de aprovação.

Anexo 5 - Índice de comorbidades de Charlson (ICC)

PESO DO ICC	CONDIÇÃO CLÍNICA (ICC)
1	Infarto do miocárdio Insuficiência cardíaca congestiva Doença vascular periférica Doença cérebro vascular Demência Doença pulmonar crônica Doença do tecido conjuntivo Úlcera Doença crônica do fígado e cirrose Diabetes sem complicação
2	Hemiplegia ou paraplegia Doença renal severa ou moderada Diabetes com complicação Tumor Leucemia Linfoma
3	Doença do fígado severa ou moderada
6	Tumor maligno e metástase AIDS



APÊNDICE: ARTIGO SUBMETIDO

Journal of Hospital Infection
Incidence and predictors of healthcare-associated infections among patients colonized
with Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae.
 --Manuscript Draft--

Manuscript Number:	
Full Title:	Incidence and predictors of healthcare-associated infections among patients colonized with Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae.
Corresponding Author:	Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza, MD, PhD Faculdade de Medicina de Botucatu Botucatu, Sao Paulo State BRAZIL
Article Type:	Short Report
Suggested Reviewers:	
Additional Information:	
Question	Response
Publishing Open Access In addition to publishing subscription content, Journal of Hospital Infection also publishes Open Access Articles which are free to access and reuse by both subscribers and the general public. Authors can choose to publish Open Access. In this case a fee is payable by the author or research funder to cover the costs associated with publication. For information about funding body policies or other mandates that may apply visit www.elsevier.com/fundingbodies Learn about publishing Open Access in this Journal . Please indicate below whether you intend to publish Open Access.	No, I do not intend to publish Open Access

Article type: Short report

Title: Incidence and predictors of healthcare-associated infections among patients colonized with Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae.

Authors:

Adriana Aparecida Feltrin Correa^{1,2}, MSc

Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza¹, MD, PhD

Authors' affiliations:

¹Department of Tropical Diseases, Botucatu Medical School, São Paulo State University (UNESP). City of Botucatu, São Paulo State, Brazil.

²Bauru State Hospital, São Paulo State Health Department. City of Bauru, São Paulo State, Brazil.

Corresponding author:

Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza

Departamento de Doenças Tropicais - Faculdade de Medicina de Botucatu

Distrito de Rubião Júnior, S/N

City of Botucatu, São Paulo State - ZIP CODE: 18618-970

Phone: +55 14 3880 1284; Fax: +55 14 3811 6212

Email: cmfortaleza@uol.com.br

Summary

Colonization with Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) precedes invasive infections. However, neither the actual risk for the latter nor the route between the two stages are completely clear. We studied a non-concurrent hospital-wide cohort of 384 inpatients with CRE colonization diagnosed in surveillance cultures (rectal swabs). The incidence of CRE healthcare-associated infections was 13.2%. Predictors for that outcome were insertion of urinary catheter (Hazard Ratio [HR], 5.56; 95%Confidence Interval[CI], 1.31-23.63) and the use of carbapenems (HR, 1.96; 95%CI, 1.06-3.62). Infection prevention strategies in CRE-colonized patients should include special attention to invasive devices, as well as antimicrobial stewardship.

Introduction

Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) emerged in the past decade and spread worldwide [1]. They are presently one of the most challenging threats to patient safety in many countries, including Brazil [2]. Infections caused by CRE have few therapeutic options and attributable mortality rates reaching 44% [3].

Patients colonized with CRE contribute for the spread of this agent within healthcare settings [4]. They are also at greater risk of developing invasive infections [5]. In hospitals that perform active search through surveillance cultures, those colonized persons can be identified and placed under precautions for contact transmission. Importantly, those cultures also identify cohorts of patients for whom special care should be taken to prevent healthcare-associated infections (HCAIs). The identification of predictors for CRE-HCAIs among colonized patients may be helpful in directing preventive measures for this population.

Methods

We studied a non-concurrent cohort of CRE-colonized patients in Bauru State Hospital (350 beds), a tertiary care facility in the city of Bauru, inner Brazil. In that hospital, CRE was first reported in February 2013. Since then, surveillance cultures (rectal swabs) were collected in the following situations: (i) upon admission and weekly for patients in intensive care units (ICU) and burn wound wards; (ii) upon admission for patients transferred from other hospitals; (iii) for all patients in units where a case of colonization or infection was detected.

The study enrolled patients admitted to the hospital in years 2013 through 2016. Subjects were enrolled in the cohort if they had a positive surveillance culture in the absence of infection (either community or healthcare-associated). Any positivity in clinical cultures within 24-hours of the surveillance culture was a criterium for exclusion of the cohort. The outcome of interest was the acquisition of CRE-HCAI, defined as: a patient meeting National Healthcare Safety Network (NHSN) surveillance definitions [6] for any HCAI *plus* clinical culture from specimens in the infection site positive for CRE (the same species found in surveillance cultures).

An extensive chart review was performed to record demographic data, comorbidities (including the Charlson Comorbidity score [7]), invasive procedures, devices and use of antimicrobials. “Time of follow up” was defined as days counted from the date of first positive surveillance culture up to the day of CRE-HCAI diagnosis or discharge from the hospital. Statistical analysis was performed in SPSS 20 (IBM, Armonk, NY, USA). Univariate and multivariable models of Cox regression were used to identify predictors for the outcome of interest. In the multivariable step, a forward strategy of variable selection was applied, with *P-values* of 0.05 and 0.10 for inclusion

and removal of variables in the models. Kaplan-Meier survival curves (with log-rank test) were used for graphical expression of independent predictors.

Results

We enrolled 384 CRE-colonized patients in the cohort. Microorganisms isolated were *Klebsiella pneumoniae* (85.7%), *Enterobacter* spp (13.3%) and *Escherichia coli* (1.0%). Among those patients, 51 (13.2%) progressed to CRE-HCAIs. The incidence of infection was 16.0% in Intensive Care Units (ICUs) and 7.0% in other wards ($P=0.02$). The median time from colonization to infection was 11 days (range, 2 to 174 days). Infection sites were distributed as follows: urinary tract infections (UTIs), 20 patients; pneumonia, 14; bloodstream infections (BSI), 13; surgical site infections (SSI), 2; skin and Soft tissue infections (SST), 2.

Table I presents univariate and multivariable analysis of predictors of CRE-HAIs in the cohort. Briefly, urinary catheter and the use of carbapenems were independently associated with the outcome of interest. Survival curves for those predictors are presented in **Figure 1**.

Discussion

Colonization has long been recognized as a stage preceding infection [8]. However, neither the actual risk for the latter nor the route between the two stages are completely clear. Actually, those aspects may vary between outbreaks and endemic settings [5,9].

Our study was conducted in a setting of recent emergence and rapid progression to hyperendemicity – a picture that is frequent among hospitals in Brazil and other countries [2]. Our findings may be applicable to similar settings.

The incidence of CRE-HCAIs in the cohort was 13.2%. A recent systematic review reported an aggregate risk of 16.5% [5]. That review is limited by relevant heterogeneity among studies – regarding population characteristics and admission settings. Not surprisingly, the incidence of HCAIs in those studies ranged from zero to 89%. It is worth noting that our result may be underestimated by our outcome definitions. In requiring a clinical culture positive for CRE, we valued specificity over sensitivity.

Predictors in the cohort are coherent with the infection sites. The association of urinary catheter and CRE-HCAIs was expected, since nearly 40% of detected infections were UTIs. The finding regarding use of carbapenems is less straightforward. One should notice that this association was detected for the use of carbapenem *after the diagnosis of colonization*, and therefore it is not due to the fact that carbapenems are usual risk factors for CRE acquisition [1,4]. Instead, it points to a role of antimicrobials in the progression of colonization to infection. A possible explanation is the elimination of competing pathogens, leading to an increase in bacterial load and CRE invasiveness [10]. But we can not rule out the possibility that carbapenem use was a proxy of severity-of-illness or other risk factor not addressed in the study.

One limitation of our study was the lack of strain typing, which could associate more conclusively clones causing colonization and infection. Also, the rules for collecting rectal swabs in our institution may have influenced results, especially by

overinclusion of ICU patients. On the other hand, our cohort was greater than most studies included in the systematic review cited above [5], and we performed extensive analysis of potential risk factors.

In conclusion, a relevant proportion of CRE-colonized patients will progress to infection. Predictors for that outcome were urinary catheter and the use of carbapenems. Infection prevention strategies in CRE-colonized patients should include special attention to invasive devices. Antimicrobial stewardship, preventing overuse of carbapenems, may also contribute to prevent CRE-HCAIs in that population.

Acknowledgements

C.M.C.B.F. received a researcher grant from the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq, process 312149/2015-8), Brazil.

References

1. Logan LK, Weinstein RA. The Epidemiology of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae: The Impact and Evolution of a Global Menace. *J Infect Dis.* 2017;215(suppl 1): S28-36.
 2. Sampaio JL, Gales AC. Antimicrobial resistance in Enterobacteriaceae in Brazil: focus on β -lactams and polymyxins. *Braz J Microbiol.* 2016;47 (Suppl 1):31-7.
 3. Falagas ME, Tansarli GS, Karageorgopoulos DE, Vardakas KZ. Deaths attributable to carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections. *Emerg Infect Dis.* 2014; 20:1170-5.
-

4. Friedman ND, Carmeli Y, Walton AL, Schwaber MJ. Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae: A Strategic Roadmap for Infection Control. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2017;38: 580-94.
 5. Tischendorf J, de Avila RA, Safdar N. Risk of infection following colonization with carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: A systematic review. *Am J Infect Control.* 2016;44: 539-43.
 6. National Healthcare Safety Network. CDC/NHSN Surveillance Definitions for Specific Types of Infections. Atlanta: CDC, 2018.
 7. 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.
 8. Jarvis WR. The epidemiology of colonization. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1996;17: 47-52.
 9. McConville TH, Sullivan S, Gomez-Simmonds A, Whittier S, Uhlemann AC. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae colonization (CRE) and subsequent risk of infection and 90-day mortality in critically ill patients, an observational study. *PLoS One.* 2017;12: e0186195.
 10. Lipsitch M, Samore MH. Antimicrobial use and antimicrobial resistance: a population perspective. *Emerg Infect Dis.* 2002;8: 347-54.
-

Table 1. Univariate and multivariable Cox regression analysis of predictors of progression of Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae colonization to Healthcare-associated infections.

Risk Factors	Cohort characteristics (384 subjects)	Univariate analysis		Multivariable analysis	
		HR (95%CI)	P	HR (95%CI)	P
Demographic data					
Female gender	145 (37.8)	1.41 (0.81-2.44)	0.23		
Age, median (quartiles)	61 (45-73)	1.00 (0.99-1.02)	0.60		
Comorbidities					
Heart disease	117 (30.5)	1.52 (0.87-4.23)	0.08		
Pulmonary disease	202 (52.6)	1.52 (0.87-2.66)	0.14		
Renal disease	134 (34.9)	0.91 (0.51-1.64)	0.76		
Liver disease	29 (7.6)	0.69 (0.21-2.23)	0.53		
Diabetes mellitus	87 (22.7)	1.03 (0.52-2.07)	0.93		
CNS disease	84 (21.9)	1.10 (0.59-2.05)	0.76		
Solid malignancy	51 (13.3)	1.76 (0.89-3.47)	0.10		
Lymphoma/Leukemia	7 (1.8)	1.37 (0.19-9.96)	0.76		
AIDS	8 (2.1)	0.64 (0.08-4.66)	0.66		
Trauma	11 (2.9)	0.05 (0.00-178.58)	0.47		
Charlson comorbidity score	3 (1-5)	1.08 (0.98-1.19)	0.11		
Admission data					
Transfer from other hospital	232 (60.2)	0.89 (0.51-1.70)	0.69		
Previous time of admission*	11 (6-19)	0.99 (0.98-1.01)	0.65		
Admission to ICU	269 (70.1)	1.99 (0.93-4.23)	0.08		
Neutropenia**	38 (9.9)	1.15 (0.49-2.72)	0.75		
Use of steroids	151 (39.3)	0.98 (0.56-1.17)	0.93		
Invasive procedures/devices					
Surgery	141 (36.7)	1.60 (0.90-2.84)	0.11		
Surgical drains	20 (5.2)	1.37 (0.48-3.35)	0.56		
Mechanical ventilation	203 (52.9)	2.95 (1.47-5.90)	0.002		
Central venous catheter	252 (65.6)	3.72 (1.47-9.39)	0.005		
Urinary catheter	276 (71.9)	7.57 (1.84-31.21)	0.005	5.56 (1.31-23.63)	0.02
Use of antimicrobials					
Penicillins	6 (1.6)	0.90 (0.12-6.50)	0.91		
Penicillins+ B-lactamase inhibitors	102 (26.6)	0.68 (0.35-1.30)	0.24		
Cephalosporins, 1st/2nd generations	12 (3.1)	0.61 (0.08-4.45)	0.63		
Cephalosporins, 3rd/4th generations	80 (20.8)	1.66 (0.93-2.96)	0.09		
Carbapenems	135 (35.1)	2.49 (1.38-4.50)	0.002	1.96 (1.06-3.62)	0.03
Glycopeptides	105 (27.3)	1.61 (0.92-2.82)	0.10		
Quinolones	33 (8.6)	0.79 (0.28-2.19)	0.65		
Aminoglycosides	34 (8.9)	1.95 (1.02-3.72)	0.04		
Anti-anaerobe drugs***	37 (9.6)	1.66 (0.80-3.42)	0.17		
Antifungals	60 (15.6)	1.81 (1.00-3.27)	0.05		

Note. Cohort characteristics are presented in number(%), except when specified.

*Time of hospital admission previous to the diagnosis of colonization.

**Any neutrophile count below 500/mm³ during follow up.

***Clindamycin and Metronidazole.

HR, Hazzard Ratio; CI, Confidence Interval; CNS, Central Nervous System; ICU, Intensive Care Unit.

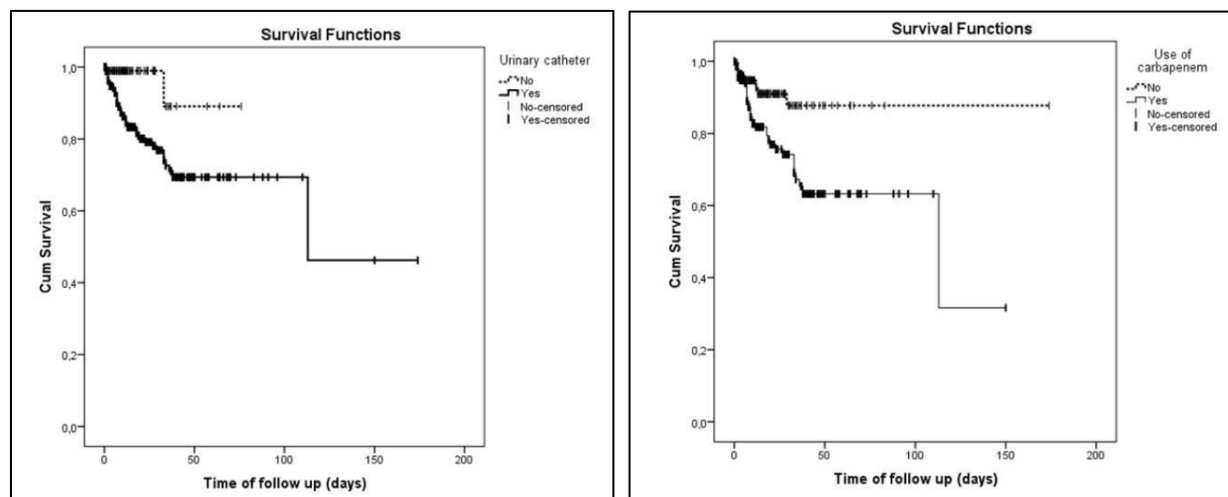


Figure 1a e 1b. Survival curves (Kaplan-Meier) for significant predictors of Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae colonization to Healthcare-associated infections: A-Insertion of urinary catheter; B-Use of carbapenems.

Note. In Log-Rank test, $P=0.001$ for both predictors.