

UNIVERSIDADE DA REGIÃO DE JOINVILLE – UNIVILLE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E MEIO AMBIENTE

ROSENEIDE CAMPOS DEGLMANN

**FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À INFECÇÃO POR BACIOS GRAM-
NEGATIVOS MULTIRRESISTENTES E PREDITORES DE MORTALIDADE EM
UMA COORTE DE PACIENTES INTERNADOS EM UMA UNIDADE DE TERAPIA
INTENSIVA EM JOINVILLE, BRASIL.**

JOINVILLE

2019

ROSENEIDE CAMPOS DEGLMANN

**FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À INFECÇÃO POR BACIOS GRAM-
NEGATIVOS MULTIRRESISTENTES E PREDITORES DE MORTALIDADE EM
UMA COORTE DE PACIENTES INTERNADOS EM UMA UNIDADE DE TERAPIA
INTENSIVA EM JOINVILLE, BRASIL.**

Tese de doutorado apresentada como requisito para obtenção do título de Doutor em Saúde e Meio Ambiente na Universidade da Região de Joinville. Orientador: Prof. Dr. Paulo Henrique Condeixa de França.

JOINVILLE

2019

Catálogo na publicação pela Biblioteca Universitária da Univille

Deglmann, Roseneide Campos

D318f Fatores de risco associados à infecção por bacilos gram-negativos multirresistentes e preditores de mortalidade em coorte de pacientes internados em uma unidade de terapia intensiva em Joinville, Brasil/ Roseneide Campos Deglmann; orientador Dr. Paulo Henrique Condeixa de França. – Joinville: UNIVILLE, 2019.

130 p.: il. ; 30 cm

Tese (Doutorado em Saúde e Meio Ambiente – Universidade da Região de Joinville)

1. Controle de infecção. 2. Bactérias gram-negativas. 3. Fatores de risco. 4. Unidade de tratamento intensivo – Joinville (SC). I. França, Paulo Henrique Condeixa de (orient.). II. Título.

CDD 616.014

Termo de Aprovação

“Fatores de Risco Associados à Infecção por Bacilos Gram-Negativos Multirresistentes e Preditores de Mortalidade em uma Coorte de Pacientes Internados em uma Unidade de Terapia Intensiva em Joinville, Brasil”

por

Roseneide Campos Deglmann

Tese julgada para a obtenção do título de Doutora em Saúde e Meio Ambiente, área de concentração Saúde e Meio Ambiente e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente.

Prof. Dr. Paulo Henrique Condeixa de França
Orientador (UNIVILLE)

Prof. Dr. Paulo Henrique Condeixa de França
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Paulo Henrique Condeixa de França
Orientador (UNIVILLE)

Prof. Dr. Felipe Francisco Bondan Tuon
(PUC/PR)

Prof. Dr. Caio Mauricio Mendes de Cordova
(FURB)

Prof. Dr. Marcelo Pilonetto
(PUC/PR)

Prof. Dr. Glauco Adrieno Westphal
(UNIVILLE)

Joinville, 26 de julho de 2019

DEDICATÓRIA

“Dedico este trabalho com todo meu carinho e amor ao Cesar e aos meus pais. Sem vocês nada disso faria sentido”.

AGRADECIMENTO

À minha família.

Ao meu Pai José (in memória) e a minha Mãe (Nadir), por ensinarem que eu sempre posso, que conhecimento não se perde e pelo orgulho que sempre demonstraram diante das minhas conquistas.

Aos meus irmãos, Glória, Paulo, em especial à Rose e Rosânia, pelos ensinamentos e aprimoramento na construção desta tese, sem o apoio de vocês nada disso faria sentido.

Aos professores.

Em especial ao meu orientador prof. Dr. Paulo Henrique Condeixa de França, por me receber no Laboratório de Biologia Molecular, pelas suas orientações e ensinamentos e por acreditar neste tema.

Ao prof. Dr. Marcelo Pillonetto e toda equipe do LACEN/Paraná, pelo apoio e suporte das análises genéticas.

A toda a equipe do Serviço de Controle de Infecção e à direção do Hospital Regional Hans Dieter Schmidt, em especial à enfermeira Graziela de Alcântara e ao médico Tarcisio Crocomo, por acreditarem e auxiliarem nos dados desta pesquisa, sem vocês não seria possível a sua concretização.

Ao Ghanem laboratório de Análises Clínicas, agradeço o envio dos isolados bacterianos e suporte do laboratório.

À equipe do Laboratório de Biologia Molecular da Univille, que estiveram ao longo desses quatro anos auxiliando nas análises microbiológicas e genotípicas, e por todo o apoio recebido de vocês.

Ao Fundo de Amparo à Pesquisa da Universidade da Região de Joinville (FAP/ UNIVILLE) e ao Fundo de Apoio à Manutenção e Desenvolvimento do Ensino Superior de Santa Catarina (FUMDES/SC), pelo apoio financeiro dado à minha pesquisa.

E aos meus colegas doutorandos e amigos, que estiveram por perto durante esses quatro anos, apoiando e me encorajando, e, principalmente, orgulhando-se de mim!

A todos vocês muito obrigada!!!

“Os benefícios da ciência não são para os cientistas, e sim para humanidade”

Louis Pasteur

RESUMO

As infecções por bacilos Gram-negativos multirresistentes (BGN-MR) aumentam o risco de mortalidade dos pacientes acometidos, a ocorrência de complicações relacionadas com a hospitalização e os custos associados. Este estudo visou investigar os fatores de risco para a aquisição de infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) por BGN-MR e sua associação com a mortalidade em pacientes internados em unidade de terapia intensiva (UTI). Em adição, foram investigados os perfis fenotípico e genotípico de resistência bacteriana. Trata-se de estudo de coorte, prospectivo, realizado em uma UTI de um hospital público, em Joinville, Santa Catarina, entre 1º de janeiro de 2016 e 31 de dezembro de 2017. Pacientes com idade ≥ 18 anos, internação na UTI ≥ 48 horas e com IRAS confirmada laboratorialmente foram incluídos no estudo. A seguir, aqueles com IRAS por BGN foram estratificados em dois grupos: BGN-MR e BGN-não-MR (BGN-NMR). As variáveis de interesse incluíram características demográficas e clínicas, uso de antimicrobianos (ATM), tanto prévio ao diagnóstico da IRAS como para o tratamento, perfil de resistência aos ATM e desfecho clínico (alta ou óbito). A investigação das carbapenemases e do gene *mcr-1* foi realizada via reação em cadeia de polimerase. Os fatores de risco associados à infecção por BGN-MR foram identificados por regressão logística multivariada. Durante o período do estudo, 2.124 pacientes foram admitidos na UTI; destes, 255 (77%) tiveram IRAS confirmada laboratorialmente. A maioria dos casos 176 (69%) teve confirmação de BGN, distribuídos entre BGN-MR (45,5%) e BGN-NMR (54,5%). Não houve diferença entre os grupos quanto ao gênero (masculino = 66,5%) e idade (mediana = 65 anos). A internação hospitalar >4 dias antes da admissão na UTI (OR: 2,19; IC 95%: 1,15-4,16; $p=0,017$) e uso de ATM prévio ao diagnóstico de IRAS (OR: 2,04; IC 95%: 1,02-4,08; $p=0,043$) constituíram fatores de risco independentes para infecção por BGN-MR. As espécies *Klebsiella pneumoniae* (38,8%) e o complexo *Acinetobacter calcoaceticus* – *A. baumannii* (ABC) (36,3%) estavam significativamente mais representados entre os BGN-MR, e *Pseudomonas aeruginosa* (32,3%) foi mais frequente no grupo BGN-NMR ($p<0,001$). Todos os isolados ABC apresentaram os genes *bla*_{OXA-23-like} e *bla*_{OXA-51-like}, enquanto o gene *bla*_{KPC} foi identificado em 74% das *K. pneumoniae*. Dois isolados de *K. pneumoniae* tiveram concomitância com gene *bla*_{VIM} e um isolado de *P. aeruginosa* foi portador do gene *bla*_{VIM}. O gene *mcr-1* não foi detectado. O desenvolvimento de IRAS por BGN-MR associou-se à mortalidade ($p=0,005$). A taxa de óbito entre os pacientes infectados por BGN acompanhados até 30 dias após o diagnóstico de IRAS foi de 64% (72/112). Entre os pacientes que morreram, 53% apresentaram infecção por BGN-MR e os demais por BGN-NMR. Todos os pacientes infectados com BGN dispendo pan-resistência (4 *K. pneumoniae* e 1 *Enterobacter aerogenes*) morreram. Em conclusão, a permanência hospitalar prolongada, assim como o uso prévio de ATM contribuem significativamente para o risco de desenvolver infecção por BGN-MR quando o paciente é internado na UTI, com consequente impacto na mortalidade dos pacientes acometidos. *K. pneumoniae* produtora de KPC e ABC produtor de oxacilinas prevaleceram entre os isolados BGN-MR.

Palavras-chave: Controle de infecção; Resistência antimicrobiana; Fator de risco; Carbapenemase

ABSTRACT

Multidrug-resistant Gram-negative bacilli (MDR-GNB) infections increase the risk of patient mortality, the occurrence of hospitalization-related complications, and associated costs. This study aimed to investigate the risk factors for the acquisition of MDR-GNB related healthcare-associated infections (HAI) and associated mortality in intensive care unit (ICU) patients, as well as to investigate the phenotypic and genotypic resistance profiles. This is a prospective cohort study, performed at an ICU of a public hospital in Joinville, Santa Catarina, between January 1, 2016 and December 31, 2017. Patients aged ≥ 18 years, ICU hospitalization ≥ 48 hours and laboratory-confirmed HAI were included. Next, those with HAI by GNB were stratified into two groups: MDR-GNB and non-MDR-GNB (NMDR-GNB). The variables of interest included demographic and clinical characteristics, antimicrobial (ATM) use, both prior to diagnosis of HAI and for treatment, resistance profile to ATM, and clinical outcome (discharge or death). The investigation of carbapenemases and *mcr-1* gene were carried out by polymerase chain reaction. Risk factors associated with MDR-GNB infections were identified by multivariate logistic regression. During the study, 2,124 patients were admitted to the ICU, of whom 255 (77%) had laboratory-confirmed HAI. Most cases (176; 69%) had confirmed GNB, distributed between 45.5% MDR-GNB and 54.5% NMDR-GNB. There was no difference between groups regarding gender (male = 66.5%) and age (median = 65 years). Hospitalization > 4 days before ICU admission (OR: 2.19; 95% CI: 1.15-4.16; $p = 0.017$) and ATM use prior to the diagnosis of HAI (OR: 2.04; 95% CI: 1.02-4.08; $p = 0.043$) were independent risk factors for MDR-GNB infection. *Klebsiella pneumoniae* (38.8%) and *Acinetobacter calcoaceticus* - *A. baumannii* complex (ABC) (36.3%) were significantly more represented among MDR-GNB, and *Pseudomonas aeruginosa* (32.3%) was more frequent in the NMDR-GNB group ($p < 0.001$). All ABC isolates had the *bla*_{OXA-23-like} and *bla*_{OXA-51-like} genes, while 74% of *K. pneumoniae* were carriers of *bla*_{KPC} gene. Two of these isolates of *K. pneumoniae* had concomitance with *bla*_{VIM} gene. In turn, one *P. aeruginosa* isolate was positive for *bla*_{VIM}. The *mcr-1* gene was not detected. The development of HAI by MDR-GNB was associated with mortality ($p = 0.005$). The death rate among patients followed up to 30 days after the diagnosis of HAI was 64% (72/112). Among patients who died, 53% (38/72) were infected by MDR-GNB and the remaining by NMDR-GNB. All patients infected by pan-resistant GNB isolates (4 *K. pneumoniae* and 1 *Enterobacter aerogenes*) died. In conclusion, prolonged hospital stays, as well as previous ATM use, contribute significantly to the risk of developing MDR-GNB infection when the patient is admitted to the ICU, with a consequent impact on the mortality of affected patients. KPC-producing *K. pneumoniae* and oxacillinase-producing ABC prevailed among MDR-GNB isolates.

Keywords: Infection control; Antimicrobial drug resistance; Risk factor; Carbapenemase

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABC	Complexo <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> - <i>Acinetobacter baumannii</i>
AFB	Ácido Fenilborônico
AMI	Abordagem Multidimensional de Prevenção de IRAS
AMR	<i>Antimicrobial Resistance</i>
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
ATM	Antimicrobiano
AST	<i>Antimicrobial Susceptibility Test</i>
AVC	Acidente Vascular Cerebral
BGN	Bacilo Gram-negativo
BGN-MR	Bacilo Gram-negativo multirresistente
BGN-NMR	Bacilo Gram-negativo não multirresistente
BGNNF	Bacilo Gram-negativo não fermentador
BKC	<i>Brazilian Klebsiella Carbapenemase</i>
BMR	Bactéria Multirresistente
BrCAST	<i>Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing</i>
CCIH	Comissão de Controle de Infecção Hospitalar
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
CNS	Conselho Nacional de Saúde
CNPCIRAS	Comissão Nacional de Prevenção e Controle de IRAS
CP	Controle positivo
CN	Controle negativo
CTX	Cefotaximases
CVC	Cateter Vascular Central
CV	Cateter Vesical
DCA	Doença Crítica Aguda
DCC	Doença Crítica crônica
DoCC	Doente Crítico Crônico
DPOC	Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica

ECDC	<i>European Centre for Disease Prevention and Control</i>
ESBL	<i>Extended-spectrum beta-Lactamase</i> / Beta-lactamase de Espectro Estendido
EUA	Estados Unidos da América
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i> / Ácido desoxirribonucleico
dNTPs	<i>Deoxyribonucleotide triphosphates</i> / Desoxirribonucleotídeos trifosfatados
EDTA	<i>Ethylene diamine tetraacetic Acid</i> / Ácido Etilenodiaminotetracético
GES	<i>Guiana Extended Spectrum</i>
GIM	<i>German imipenemase</i>
GLASS	<i>Global Antimicrobial Resistance Surveillance System</i>
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HR	<i>Hazard ratios</i>
HRHDS	Hospital Regional Hans Dieter Schmidt
HU	Hospital Universitário
IC	Intervalo de Confiança
IH	Infecção Hospitalar
IMI	<i>Imipenem-hydrolyzing-β-lactamases</i>
IMP	Imipenemase
INICC	<i>International Nosocomial Infection Control Consortium</i>
IPCS	Infecção Primária da Corrente Sanguínea
IPCSL	Infecção Primária da Corrente Sanguínea confirmada laboratorialmente
IRAS	Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde
ITU	Infecção do Trato Urinário
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase
LBA	Lavado broncoalveolar
MβL	Metalo β-lactamase
MCR	<i>Mobile Colistin Resistance Gene</i>
MDR	<i>Multidrug resistant</i> / Resistente à múltiplas drogas
mL	mililitro
MR	Multirresistência
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistentes à metilcilina
MS	Ministério da Saúde
NDM	<i>New Delhi metallo-β-lactamase</i>

NMC	<i>Not Metaloenzyme Carbapenemase</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana de Saúde
OR	Odds Ratio
OXA	Oxacilinase
PAV	Pneumonia Associada à Ventilação Mecânica
pb	Pares de bases
PBP _s	proteína ligadora de penicilina
PCIH	Programas de Controle de Infecção Hospitalar
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> / Reação em Cadeia da Polimerase
PNPCIRAS	Programa Nacional de Ação de Prevenção e Controle de IRAS
PNSP	Programa Nacional de Segurança do Paciente
Pan-MDR	<i>Pandrug-resistant to multiple drugs</i> / Pan-resistência a múltiplas drogas
RNA	<i>Ribonucleic Acid</i> / Ácido Ribonucleico
RTI	<i>Research Triangle Institute</i>
SCIH	Serviço de Controle de Infecção Hospitalar
SCoN	<i>Staphylococcus</i> de coagulase negativa
Seg	Segundos
SME	<i>Serratia marcescens enzyme</i>
SHV	<i>Sulphydril reagent variable</i>
SIM	<i>Seoul</i> imipenemase
SPM	São Paulo metalo- β -lactamase
SUS	Sistema Único de Saúde
Ta	Temperatura de anelamento
TEM	Temoniera
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
THG	Transferência horizontal gênica
TSA	Teste de Suscetibilidade aos Antimicrobianos
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UNIVILLE	Universidade da Região de Joinville
UNIFESP	Universidade Federal de São Paulo
USP	Universidade de São Paulo
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
VIM	Verona imipemenase

VM	Ventilação mecânica
XDR	<i>Extensively Drug-resistant / Resistência estendida a drogas</i>
β	Beta
μL	microlitro
μg	micrograma
pMol	picomol
g	Gramas
ng	nanograma
nm	nanômetro
<	menor
>	maior
\leq	menor ou igual
\geq	maior ou igual

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Estrutura química do anel β -lactâmico	37
FIGURA 2 - Estrutura química de uma oximino-cefalosporina	38
FIGURA 3 - Hidrólise do anel β -lactâmico pela ação das serino- β -lactamases	43
FIGURA 4 - Mecanismo de ação de MBLs na inativação de β -lactâmicos	45
FIGURA 5 - Fluxograma dos pacientes para composição dos grupos BGN-MR e BGN-NMR	56

LISTA DE FIGURAS DO ARTIGO

FIGURA 1 - Fluxograma dos pacientes para composição dos Grupos BGN-NMR e BGN-MR	89
FIGURA 2 - Curvas Kaplan-Meier de sobrevida de pacientes com IRAS por BGN-MR vs. BGN-NMR, internados na UTI por 21 dias após a confirmação diagnóstica.	95

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 - Características funcionais e moleculares dos principais grupos de β -lactamases	41
QUADRO 2 - Iniciadores utilizados na detecção dos genes alvos das oxacilinases.	63
QUADRO 3 - Iniciadores utilizados na detecção dos genes alvos das serino, metalo- β -lactamases e <i>mcr-1</i>	64
QUADRO 4 - Cepas padrão de genes codificantes para carbapenemases e <i>mcr-1</i>	64

LISTA DE TABELAS DO ARTIGO

TABELA I - Comparação das características demográficas e clínicas de pacientes dos grupos BGN-MR vs BGN-NMR internados na UTI	90
TABELA II - Regressão logística univariada e multivariada de fatores de risco para aquisição de IRAS por BGN-MR em pacientes internados na UTI	91
TABELA III - Regressão logística univariada e multivariada das variáveis associadas a mortalidade em pacientes com IRAS, internados em UTI	92
TABELA IV - Distribuição dos isolados nos grupos BGN-MDR vs BGN-NMDR.....	93
TABELA V - Perfil de resistência aos ATMs dos BGNs isolados de IRAS de pacientes internados na UTI	94

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 OBJETIVOS	20
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
3 REVISÃO DE LITERATURA	21
3.1 INFECÇÕES RELACIONADAS À ASSISTÊNCIA À SAÚDE (IRAS): ASPECTOS CONCEITUAIS E REGULATÓRIOS	21
3.2 INCIDÊNCIA DE IRAS NO MUNDO	23
3.3 INCIDÊNCIA E IMPACTO DE IRAS NO BRASIL	27
3.4 DEFINIÇÃO DA DOENÇA CRÍTICA CRÔNICA (DCC)	31
3.5 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E IMPACTOS SOBRE A DCC NA SOBREVIVÊNCIA DOS PACIENTES NAS INSTITUIÇÕES DE SAÚDE	32
3.6 BACILOS GRAM NEGATIVOS (BGN) E OS PRINCIPAIS MECANISMOS DE RESISTÊNCIA	34
3.6.1 Principais mecanismos de resistência em BGN	35
3.6.1.1 Hidrólise enzimática pelas β -lactamases	37
3.6.2 Principais carbapenemases de importância epidemiológica no Brasil.....	42
3.6.2.1 Carbapenemases da classe A	42
3.6.2.1.1 <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase.....	43
3.6.2.2 Carbapenemases da classe B.....	44
3.6.2.2.1 Família Imipenemase	45
3.6.2.2.2 Família Verona metalo- β -lactamase	46
3.6.2.2.3 São Paulo Metalo- β -lactamase	47
3.6.2.2.4 New Delhi metalo-beta-lactamase	47
3.6.2.3 Carbapenemases da classe D	49
3.6.2.4 Gene <i>mcr-1</i> (<i>mobile colistin resistance gene</i>).....	50
4 METODOLOGIA	54
4.1 DESENHO DO ESTUDO	54
4.2 LOCAL DO ESTUDO	54
4.3 ASPECTOS ÉTICOS	54
4.4 DEFINIÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO AMOSTRADA.....	55
4.5 COLETA DE DADOS.....	56

4.5.1 Variáveis do estudo	57
4.6 CRITÉRIOS E DEFINIÇÕES DAS VARIÁVEIS	57
4.7 PROCEDIMENTOS ADOTADOS NA INVESTIGAÇÃO DOS AGENTES ETIOLÓGICOS, PERFIL DE SUSCETIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS E MANUTENÇÃO DOS BGN-MR.....	59
4.7.1 Isolamento e identificação fenotípica.....	59
4.7.2 Determinação do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos.....	60
4.7.3 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) da polimixina B	61
4.7.4 Manutenção dos BGN-MR	62
4.8 DETECÇÃO DE CARBAPENEMASES PELA GENOTIPAGEM	62
4.8.1 Obtenção do DNA microbiano	62
4.8.2 Investigação de genes alvos	62
4.8.3 Eletroforese em gel de agarose	65
4.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	65
5 INTERDISCIPLINARIDADE: RELAÇÃO ENTRE MEIO AMBIENTE, SAÚDE E DOENÇA	67
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO - ARTIGO	71
CONCLUSÃO	96
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	98
REFERÊNCIAS	99
APÊNDICE A - artigo intitulado “EARLIEST IDENTIFICATION OF NEW DELHI METALLO-B- LACTAMASE 1 (NDM-1) IN ACINETOBACTER PITTI IN BRAZIL”	119
APÊNDICE B - artigo intitulado “PERFIL FENOTÍPICO DE RESISTÊNCIA À COLISTINA E TIGECICLINA EM UM HOSPITAL PÚBLICO NO BRASIL”.....	120
ANEXO A - Parecer consubstanciado do comitê de ética - UNIVILLE.....	121
ANEXO B - Parecer consubstanciado do comitê de ética- HRHDS.....	123
ANEXO C - Fluxograma para notificação de IPCSL associada a cateter central.....	129

1 INTRODUÇÃO

As Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) constituem um problema de saúde pública, bem como um fenômeno histórico e social, com impactos relevantes na morbidade e mortalidade dos pacientes acometidos, além de interferir de modo significativo nos custos financeiros dos serviços assistenciais (WHO, 2016).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que, de cada 100 pacientes hospitalizados, 7 em países desenvolvidos e 10 em países em desenvolvimento adquirem pelo menos um episódio de IRAS (WHO, 2014). Dados mais recentes, referentes a 2014-2015, mostram que houve um decréscimo nas taxas de IRAS em hospitais americanos, passando de 4,0% para 3,2% (MAGILL *et al.*, 2017). Dados referentes às IRAS em hospitais de um conjunto de países europeus apontam ocorrência anual maior que 4,5 milhões de casos, com acréscimo de 16 milhões de dias de hospitalização e 37.000 óbitos/ano com associação direta (ECDC, 2016). No Brasil, cerca de 720 mil pessoas por ano desenvolvem IRAS nos hospitais; destas, 20% morrem como decorrência dessas infecções (MOREIRA *et al.*, 2012; WATANABE *et al.*, 2015; SANTOS *et al.*, 2016).

Um estudo de revisão sistemática realizado pela OMS avaliou a incidência de IRAS nas unidades de terapia intensiva (UTIs), de 1995 a 2010, em países desenvolvidos e em desenvolvimento. O risco de adquirir IRAS foi significativamente maior nas UTIs, com aproximadamente 30% dos pacientes diagnosticados com pelo menos um episódio de IRAS, estando associado a uma elevada mortalidade. Os autores ainda relataram taxa de IRAS de 7,6% e densidade de incidência de 17 episódios por 1000 pacientes-dia, em adultos, nos países desenvolvidos. Por outro lado, as taxas de IRAS nas UTIs, em pacientes adultos, nos países em desenvolvimento, variaram de 4,4% a 88,9%, e a densidade de incidência foi de 42,7 episódios por 1.000 pacientes-dia (WHO, 2011).

Recentemente, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) publicou dados relativos à incidência de IRAS em UTIs brasileiras, tendo como referência o ano de 2017. Quanto às IRAS de notificação obrigatória, associadas à ventilação mecânica (VM), cateter vascular central (CVC) e cateter vesical de demora (CVD), as densidades foram: pneumonia associada à VM (PAV) - 11,5/1000 VM-dia, infecção primária da corrente sanguínea relacionada ao CVC (IPCS-CVC) - 4,4/1000 CVC-dia e infecção urinária associada ao CVD (ITU-CVD)

- 4,7/1000 CVD-dia (BRASIL, 2019). Contribuindo com as altas taxas de IRAS nas UTIs podem ser citados fatores intrínsecos ao paciente, tais como a gravidade da sua condição clínica, os diversos procedimentos invasivos, o alto grau de dependência (manipulação constante) e os altos índices de bactérias resistentes aos antimicrobianos (ATMs), principalmente os bacilos Gram negativos (BGNs) (ROUTSI *et al.*, 2010; BRUSSELAERS; BOGELAERS; BLOT, 2011; PATEL *et al.*, 2014; MONTERO *et al.*, 2015; WHO, 2016; RESTREPO *et al.*, 2016). As altas taxas de BGNs resistentes a múltiplos ATMs (BGN-MR) causando IRAS, em UTIs, conduziram ao aumento generalizado de prescrição desses medicamentos, principalmente da classe de cefalosporinas de 3^a e 4^a gerações, levando ao aparecimento de novos mecanismos de resistência, principalmente as β -lactamases de espectro estendido (ESBLs), resultando em conseqüente aumento do uso de carbapenêmicos (LYE *et al.*, 2011; MAGIORAKOS *et al.*, 2011; VARDAKAS *et al.*, 2013; QUINTERO *et al.*, 2015; PARAMYTHIOTOU *et al.*, 2016). A disseminação mundial de BGNs portadores de ESBLs e produtores das carbapenemases tem contribuído para o aumento de tempo de internação nas UTIs, uso de terapia empírica inadequada e limitação de recursos para o tratamento das infecções, elevando as taxas de mortalidade acima de 40% (MOLTON *et al.*, 2013; TUON *et al.*, 2012; QUINTERO *et al.*, 2015; BARRASA-VILLAR *et al.*, 2017).

Estima-se que 700.000 pacientes morrem anualmente por infecções causadas pelas bactérias multirresistentes (BMR) e que até o ano de 2050 haverá incremento para 10 milhões de óbitos em todo o mundo. O impacto financeiro é estimado em US\$100 trilhões, caso não sejam desenvolvidas ações conjuntas de combate a esse problema de saúde pública (O'NEILL, 2016). Outro fator que influencia no aumento dos custos do tratamento das infecções pelas BMR é a necessidade de terapia combinada que, por sua vez, aumenta a taxa de sucesso terapêutico e reduz a mortalidade desses pacientes, principalmente as IRAS causadas por enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos (DAIKOS *et al.*, 2014; TUMBARELLO *et al.*, 2015). No Brasil, as taxas disponíveis de IRAS causadas pelas BMR não retratam ainda a realidade nacional. Diversos estudos, referentes às IRAS em UTIs brasileiras, indicam que a pneumonia é a IRAS de maior frequência e, quando associada à VM, suas taxas variam entre 10% e 30% dos casos, com mortalidade variando entre 25% e 50% dos acometidos (RESENDE *et al.*, 2013; NEPOMUCENO, 2014). Porém, quando ocorre envolvimento de BMR,

as taxas de mortalidade podem se elevar até 76% dos casos (TSENG *et al.*, 2012; RESENDE *et al.*, 2013). Tais taxas podem sofrer variações conforme o perfil epidemiológico de cada UTI e dos agentes etiológicos envolvidos, além do perfil de resistência aos ATMs (MOREIRA *et al.* 2012).

Há que se destacar também os diversos estudos relatando que os pacientes internados em UTIs estão expostos a múltiplos fatores de risco para o desenvolvimento de IRAS, incluindo tempo de internação na UTI, gravidade clínica dos pacientes, diversos procedimentos invasivos, presença de uma ou mais comorbidades e uso frequente de ATMs (TUON *et al.*, 2012; MOLTON *et al.*, 2013; QUINTERO *et al.*, 2015; WHO, 2016; BARRASA-VILLAR *et al.*, 2017). Além desses, outros estudos apontam a idade avançada, gênero masculino, tempo de permanência prolongada prévia à UTI, hipertensão, doenças cardíacas, respiratórias, renais e neurológicas, cirurgia abdominal, terapia empírica inapropriada, internação em quarto coletivo com pacientes colonizados ou infectados por BMR, internação em quarto anteriormente ocupado por pacientes com infecções causadas pelas BMR e exposição aos ATMs nos últimos três meses como fatores de risco (LYE *et al.*, 2011; TUON *et al.*, 2012; JANS *et al.*, 2013; PAPADIMITRIOUS-OLIVGERIS *et al.*, 2013; CORNEJO-JUÁREZ *et al.*, 2015; QUINTERO *et al.*, 2015; PARAMYTHIOTOU *et al.*, 2016; AKGUL *et al.*, 2016; RESTREPO *et al.*, 2016; BARRASA-VILLAR *et al.*, 2017; JARRELL *et al.*, 2018). Notadamente, nos últimos anos ocorreram muitas mudanças na epidemiologia das IRAS causadas pelas BMR, em hospitais e em UTIs, resultando no aumento de falhas terapêuticas no tratamento das infecções, principalmente quando há envolvimento de BGN-MR (LAMBERT *et al.*, 2011; LYE *et al.*, 2011; TUON *et al.*, 2012; VARDAKAS *et al.*, 2013; PARAMYTHIOTOU *et al.*, 2016).

Embora a maioria dos estudos tratem de considerar e apresentar alguns fatores de riscos preditores de aquisição de IRAS pelas BMR, é importante destacar que os fatores inerentes à virulência das bactérias e sua capacidade de inativar múltiplos ATMs são características que têm contribuído para a mortalidade de pacientes em UTIs (JANS *et al.*, 2013; MITCHELL *et al.*, 2014; NOUVENNE *et al.*, 2014; MOGHNIEH *et al.*, 2016; JARRELL *et al.*, 2018). Além disso, os diferentes perfis epidemiológicos dos isolados bacterianos têm direcionado diferentes políticas de uso de ATMs na terapia empírica e no tratamento das infecções nas instituições de saúde (MARTÍN-LOECHES; DIAZ; JORDIM, 2014; BARRASA-VILLAR *et al.*, 2017).

Em síntese, é possível depreender que os BGN-MR figuram como um dos protagonistas nas IRAS nos hospitais brasileiros, principalmente nas UTIs, sendo de maior impacto as enterobactérias portadoras de ESBL e carbapenemases, assim como *Acinetobacter* spp. e *Pseudomonas* spp. resistentes aos carbapenêmicos. Nessa perspectiva, empreender estudos identificando os fatores de risco para aquisição de IRAS por BGN-MR é crucial para a gestão das instituições, seja para potencializar as intervenções no tratamento empírico, quanto para delimitar orientações ou políticas de uso racional dos ATMs.

Ressalta-se, portanto, que estudos que tratem dessa temática são relevantes para a gestão das variáveis potencialmente modificáveis e podem contribuir para ampliar conhecimentos sobre o assunto, condição necessária para intervenções mais qualificadas em saúde pública e aumento da segurança dos pacientes.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar os fatores de risco para aquisição de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde causadas por bacilos Gram-negativos multirresistentes em pacientes em Unidade de Terapia Intensiva, sua associação com a mortalidade e descrever os perfis fenotípico e genotípico de resistência dos isolados.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar os perfis clínico e demográfico de pacientes internados em UTI diagnosticados com IRAS causadas por BGN-MR e não multirresistente (BGN-NMR).
- Avaliar os principais BGNs isolados de IRAS na UTI e o respectivo perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos.
- Investigar a presença de genes codificantes para metalo- β -lactamases, serina- β -lactamases e do gene *mcr-1* (resistência à colistina) nos BGN-MR.
- Verificar as variáveis preditoras para a ocorrência de IRAS por BGN-MR em pacientes críticos internados em UTI.
- Analisar a associação de IRAS por BGN-MR com a mortalidade.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 INFECÇÕES RELACIONADAS À ASSISTÊNCIA À SAÚDE (IRAS): ASPECTOS CONCEITUAIS E REGULATÓRIOS

As Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) constituem-se em um fenômeno histórico e social ligado ao desenvolvimento dos cuidados clínicos. Estas infecções são reconhecidas como dos eventos mais adversos e comuns na assistência à saúde, com elevada incidência nos hospitais, principalmente nas UTIs (WHO, 2002; PADOVEZE, 2014; FORTALEZA, 2017). A Organização Mundial de Saúde considera as IRAS como problema de saúde pública, com impacto relevante na morbidade e mortalidade dos pacientes, além de interferir na sua qualidade de vida e nos custos financeiros dos serviços assistenciais (WHO, 2016).

Em 1998, o Ministério da Saúde publicou a Portaria 2616 de 12/05/1998, apresentando o termo Infecção Hospitalar (IH), como sendo “aquela adquirida após a admissão do paciente e que se manifeste durante sua internação ou após a alta, quando está relacionada com a internação ou procedimentos hospitalares” (BRASIL, 1998). Posteriormente, esse termo foi substituído por Infecção Relacionada à Assistência à Saúde (IRAS), para abranger também as infecções adquiridas em outros serviços de saúde, em nível ambulatorial (WHO, 2002; ECDC, 2017).

Embora infecções hospitalares acompanhem, historicamente, o surgimento e expansão dos hospitais, no Brasil, as primeiras ações governamentais para o controle destas datam da década de 1970, com a publicação do Decreto nº 77.052/1976, que dispôs “sobre a fiscalização sanitária das condições de exercício de profissões e ocupações técnicas e auxiliares, relacionadas diretamente com a saúde” (BRASIL, 1976). Seguiu-se a Lei nº 6437/1977 que delimitou as infrações à legislação sanitária federal, estabelecendo as sanções respectivas a estas (BRASIL, 1977).

Todavia, apenas nas décadas seguintes o governo federal estabeleceu marco regulatório referente à prevenção e controle das IRAS. A Portaria nº 196/1983, estabeleceu a obrigatoriedade – em todos os hospitais, sem distinção de natureza jurídica – de implantação de Comissões de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) (BRASIL, 1983). Posteriormente, em 1997, através da Lei nº 9.431/1997, determinou-se a obrigatoriedade de manutenção de Programas de Controle de Infecção Hospitalar

(PCIH) em todos os hospitais do país, tendo como propósito a redução máxima da incidência e gravidade das IRAS (BRASIL, 1997). No ano seguinte, o Ministério da Saúde, dando encaminhamento a Lei 9431/1997, expediu a Portaria 2616/1998, estabelecendo diretrizes e normas a serem observadas visando à prevenção e controle das infecções hospitalares (BRASIL, 1998).

Nessa perspectiva de prevenção e controle, em 2013, a ANVISA divulgou a Portaria 529/2013, instituindo o Programa Nacional de Segurança do Paciente (PNSP), cujo objetivo geral é contribuir com a “qualificação do cuidado em saúde em todos os estabelecimentos de saúde do território nacional” (BRASIL, 2013). Segue-se a esta Portaria, nova Resolução da Diretoria Colegiada da ANVISA (RDC nº 36/2013), estabelecendo ações para promoção e segurança do paciente e melhoria da qualidade nos serviços de saúde (BRASIL, 2013a).

Apesar das iniciativas governamentais em torno da prevenção e controle das IRAS, a ação das CCIHs nem sempre se mostrou eficaz no que diz respeito aos serviços de controle, aos critérios de diagnósticos e às notificações, limitando conhecimento, acompanhamento e avaliação dos dados epidemiológicos em nível nacional (BRASIL, 2010). Com vistas a melhorar esta situação, em 2010, a ANVISA tornou obrigatória a notificação de Infecções Primárias da Corrente Sanguínea (IPCS) associadas ao Cateter Vascular Central (CVC) para os hospitais que dispunham de 10 ou mais leitos de UTIs (adulto, pediátrica e neonatal) (BRASIL, 2010). Em 2014, essa obrigatoriedade foi estendida a todas as UTIs brasileiras. Note-se que é somente a partir de 2016 que as notificações obrigatórias foram ampliadas para os casos de Pneumonias associadas à Ventilação mecânica (PAV) e Infecções do Trato Urinário associadas ao cateter Vesical (ITU-CV) (BRASIL, 2014; 2016). Diante deste problema – de prevenção e controles, em 2012, o Ministério da Saúde criou a Comissão Nacional de Prevenção e Controle de IRAS (CNCIRAS), responsável pela elaboração do Programa Nacional de Ação de Prevenção e Controle de IRAS (PNPCIRAS), com metas para o período de 2013 a 2015 (BRASIL, 2012; 2013b). Recentemente, a comissão estabeleceu novas metas para o período de 2016 – 2020 (BRASIL, 2016a). Nesse contexto, compreende-se por que dados epidemiológicos de IRAS que expressem a realidade nacional ainda são incipientes e majoritariamente circunscritos a demonstrar realidades locais, sejam de um estado ou região (BRASIL, 2017).

Ressalte-se que o crescimento e a disseminação de bactérias multirresistentes (BMR) parece também se agravar, conforme demonstram estudos, pelo uso

indiscriminado de ATM na medicina humana, veterinária e agropecuária, tornando mais complexo o problema de prevenção e controle das IRAS (KAHN *et al.*, 2013; ROSE *et al.*, 2014; NEYRA *et al.*, 2014).

Esses aspectos evidenciam os desafios colocados para os gestores de saúde quando a questão é a implementação de políticas de prevenção e controle das IRAS, bem como sobre o monitoramento dos mecanismos de resistência das bactérias aos ATMs.

Procurando ampliar a discussão desta problemática, a seguir será abordada a incidência de IRAS e seu impacto nos âmbitos mundial e brasileiro.

3.2 INCIDÊNCIA DE IRAS NO MUNDO

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que, de cada 100 pacientes hospitalizados, 7 em países desenvolvidos e 10 em países em desenvolvimento adquirem pelo menos um episódio de IRAS (WHO, 2014).

Em 2010, nos EUA, cerca de 37 milhões de pessoas foram internadas em hospitais privados e públicos; destas, 1,7 milhão contraíram IRAS. A taxa de IRAS foi entre 3,9% a 4,5%, com uma mortalidade associada de 99.000 pacientes (MARCHETTI *et al.*, 2013). Em outro estudo desenvolvido no mesmo país por Stevens *et al.* (2014), abrangendo os anos de 2008 a 2010, foram realizadas avaliações em 398 pacientes com IPCS-CVC. Os dados revelaram que pacientes com IPCS-CVC (67,5%), quando comparados a pacientes com IRAS em outros sítios, apresentaram maior propensão de agravamento em seu quadro clínico, período de permanência na UTI mais longo e chances de óbito 2,27 vezes maior comparados aos pacientes com infecção da corrente sanguínea não associada ao CVC. Pesquisa realizada em 2011, também verificou a incidência de IRAS em 11.282 pacientes. Desses, 452 pacientes adquiriram pelo menos um episódio de infecção, chegando a uma taxa de incidência de 4%; 25,6% estiveram associadas aos dispositivos invasivos. As infecções mais prevalentes foram pneumonia (PNM) (21,8%), infecção de sítio cirúrgico ISC (21,8%) e gastroenterites (17,1%) (MAGILL *et al.*, 2014).

Ainda no que tange aos dados epidemiológicos estadunidenses, segundo o Relatório do *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) de 2016, as IRAS têm elevado as taxas de morbidade e mortalidade. Nos hospitais americanos, em

cada grupo de 25 pacientes internados, um é diagnosticado com IRAS, sendo sua maioria causada pelas BMR e com evolução para um quadro de sepse e óbito (CDC, 2016). Dados mais recentes, mostram que as taxas de IRAS nos hospitais americanos tendem a diminuir, passando de 4,0% para 3,2% (2014-2015), porém a pneumonia continua sendo a mais prevalente (1,5%), seguido de ISC (0,9%) e ITU (0,9%) (MAGILL *et al.*, 2017).

Já no que diz respeito ao contexto europeu, indicadores referentes ao conjunto de hospitais no período de 2011-2012, apontam a prevalência de pacientes com pelo menos um episódio de IRAS, nos hospitais de cuidados agudos, de 6,0% (intervalo de 2,3% -10,8%), sendo as maiores taxas nas UTIs (19,5%). Do total de 15.000 IRAS notificadas neste período, os sítios mais infectados foram o trato respiratório (PNM 19,4% e outras infecções do trato respiratório inferior 4,1%), sítio cirúrgico (19,6%), trato urinário (19,0%), corrente sanguínea (10,7%) e trato gastrointestinal (7,7%) (ECDC, 2013).

O Relatório do *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC, 2016), com base em dados de 2014 oriundos de UTIs europeias, mostrou que 87.337 pacientes permaneceram em UTI por mais de dois dias. Destes, 6.995, ou seja, 8%, apresentaram pelo menos um episódio de IRAS, assim distribuídas: 6% de PNM, 4% de IPCS e 3% ITU. Dessas, 98% estavam associadas à intubação, 48% relacionados à CVC e 98% à CV, respectivamente. Quanto ao perfil de resistência aos ATMs, os *Staphylococcus aureus* resistentes à metilcilina (MRSA) estiveram presentes em 25% dos casos e *Enterococcus* spp. 2% foram resistentes à vancomicina. Entre os BGNs resistentes às cefalosporinas de 3ª geração, a *Klebsiella* spp prevaleceu (43,7%), *Enterobacter* spp. (43,5%) e *Escherichia coli* (17,3%); já as *Pseudomonas aeruginos* resistentes à ceftazidima foram 24,2%. Quanto a resistência aos carbapenêmicos a *Acinetobacter baumannii* (63,5%), *P. aeruginosa* (27,7%), *Klebsiella* spp. (7,7%), *Enterobacter* spp. (1,5%) e *Escherichia coli* (0,9%) prevaleceram (ECDC, 2016).

Comparando dados fornecidos nos Relatórios do ECDC de 2017 (dados de 2015) e de 2018 (dados de 2016), observa-se que as taxas de IRAS em UTIs sofreram elevação, passando de 8,3% (11.788) para 8,4% (12.735). Entre os pacientes com internação por mais de dois dias na UTI, constatou-se que: as taxas de PNM permaneceram estáveis (6%) mesmo nos índices associadas à VM (97%), a mesma situação ocorrendo nas IPCS (4% para os dois anos); no entanto,

as taxas referentes a infecções associadas ao CVC aumentaram – 43% vs 44%. Situação similar ocorreu nas ITU (2% em 2015 e 2016), todavia, aqui também se observou uma elevação no percentual referente às infecções associadas à CV (de 97% para 99%). Quanto à distribuição de microrganismos isolados de IRAS, no ano de 2016 permaneceu praticamente inalterada quando comparada àquelas de 2015 (ECDC, 2017; 2018).

No que concerne às taxas de resistência aos antimicrobianos de isolados de IRAS em UTIs europeias, percebe-se que foram mais elevadas para algumas espécies, comparados os anos de 2015 e 2016: MRSA aumentou de 23% para 30%; as taxas de *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. e *Escherichia coli*, resistentes às cefalosporinas de 3ª geração diminuíram: 43,% vs 38%; 42% vs 32%; 20% vs 18%, respectivamente. Para os isolados expressando resistência aos carbapenêmicos, ocorreram as seguintes variações: *Acinetobacter baumannii* passou de 69% para 66%; *Pseudomonas aeruginosa* – de 24% para 27% (ECDC, 2017; 2018).

Um estudo de revisão sistemática e meta-análise, realizado por Wang *et al.* (2018), avaliou a prevalência de IRAS nos hospitais para adultos e crianças da China continental, durante os anos de 2006 a 2016. Todos os estudos com metodologia de prevalência pontual e publicados em inglês ou chinês foram incluídos. Do total, 3.021 publicações; 115 foram elegíveis para avaliação de qualidade e abstração de dados. A prevalência total de IRAS, com intervalo de confiança (IC) de 95%, foi 3,12% (2,94%-3,29%); as taxas de incidência, considerando-se o tipo de hospital – Geral, Infantil, Materno-Infantil e Oncologia – foram, respectivamente, de 3,0% (2,79%-3,26%), 4,4% (3,39%-5,47%), 1,8% (1,47%-2,29%) e 3,9% (3,12%-4,79%). Tomando-se do estudo apenas as taxas de IRAS referentes a adultos, internados em hospitais gerais, as taxas mais elevadas ocorreram nas UTIs, com o percentual médio de 26,07% (23,03%-29,12%), seguidas pelo centro cirúrgico, com 3,26% (2,96%-3,57%) e medicina interna 3,06 % (2,67%-3,46%). Com relação à localização das infecções, maior frequência foram no trato respiratório inferior (47,3%); seguidas das ITU (11,3%); infecção do trato respiratório superior (10%); em menor número foram as ISC (8,6%) e IPCS (2,9%). *Pseudomonas aeruginosa* (14,91%) e *Escherichia coli* (12,82%) foram os isolados de maior frequência. De acordo com os autores, os estudos revelam que os índices de IRAS são bem mais elevados quando

comparados com as UTIs dos países europeus e da América do Norte (WANG *et al.*, 2018).

Ainda no que toca à incidência de IRAS, aspecto importante de ser destacado é a subestimação de sua existência em países com recursos limitados, uma vez que os programas básicos de controle de infecção não são implementados sistematicamente. As Taxas de infecção por dispositivos invasivos em UTIs, por exemplo, são de três a cinco vezes mais altas quando comparadas com os países desenvolvidos, conforme relatado pelo *Internacional Nosocomial Infection Control Consortium* (INICC) (ROSENTHAL *et al.*, 2014).

Preocupados com tal situação, o INICC, procurou analisar o impacto de Abordagem Multidimensional de Prevenção de IRAS (AMI) sobre as taxas de PAV em 11 hospitais de cinco cidades da Argentina, no período de janeiro de 2014 a abril de 2017. O estudo multicêntrico, prospectivo, teve como objetivo avaliar a incidência de PAV, antes e depois da implantação de intervenções práticas de prevenção de infecção, tais como: educação, supervisão de resultados e processos, *feedback* sobre as taxas e consequências da PAV e *feedback* de desempenho da vigilância do processo. Foram incluídos no estudo 3.940 pacientes internados em 14 UTIs. Antes da implantação da AMI, a densidade de incidência de PAV era 19,9 casos/1.000 dias de VM; após sua implantação, os indicadores diminuíram fortemente – passou-se a 9,4 casos/1.000 dias de VM, com redução de 52% (ROSENTHAL *et al.*, 2018). Outro estudo realizado pelo mesmo consórcio, tomando como base os dados dos relatórios publicados em 2006, 2008, 2010, 2012, 2014 e 2016, abrangendo o período de janeiro de 2010 a dezembro de 2015. O objetivo foi comparar as taxas de IRAS associadas aos dispositivos invasivos em 703 UTIs, de 50 países situados em diferentes regiões do mundo (América Latina, Europa, Mediterrâneo Oriental, Sudeste Asiático e Pacífico Ocidental). Os resultados demonstraram que as taxas de uso de dispositivos invasivos em UTIs foram similares àquelas relatadas pelo CDC, no entanto, as taxas de IRAS foram mais elevadas (ROSENTHAL *et al.* 2016).

Como visto, as IRAS são um problema mundial de impacto social grave no mundo moderno. Na sequência será abordada a incidência de IRAS, principalmente em UTIs de hospitais brasileiros.

3.3 INCIDÊNCIA E IMPACTO DE IRAS NO BRASIL

No Brasil, estudos relatam que aproximadamente 720.000 pessoas/ano adquirem IRAS e 20% evoluem ao óbito. Em UTIs, a incidência de IRAS varia entre 5% e 35%, com taxa de mortalidade direta de 60% e, quando associada, de 9% a 38%. As taxas diferem de acordo com os perfis de atendimento hospitalar e clínico dos pacientes (OLIVEIRA *et al.*, 2010; BARROS *et al.*, 2012; MOREIRA *et al.*, 2012; WATANABE *et al.*, 2015; SANTOS *et al.*, 2016).

Esses dados são corroborados por Fortaleza *et al.* (2017), em investigação realizada durante 18 meses, entre 2011-2013, visando a identificar a prevalência de IRAS e os recursos investidos no controle dessas infecções nos hospitais (“Projeto “IRAS-Brasil”). Foram incluídos 152 hospitais entre públicos, privados e sem fins lucrativos, localizados nas cinco macrorregiões do Brasil. O número de internações nos hospitais foi de 6.520 pacientes, com taxa total de IRAS de 11% (10,1%-11,6%, IC 95%); destas, 29% ocorreram nas UTIs. A região centro-oeste teve os maiores índices – 13%, e a região sul, o menor percentual – 8,7%. As infecções mais frequentes foram: PNM (3,6%), IPCS (2,8%), ISC (1,5%) e ITU (1,4). As taxas de utilização de dispositivos foram: 16,3% para CVC, 14,7% de CV e 7,3% VM.

Braga *et al.* (2018), também conduziram estudo multicêntrico, prospectivo, nacional, de prevalência de infecção em 28 hospitais, de oito mesorregiões do estado de Minas Gerais, realizada em apenas um dia (Extended Prevalence of Infection in Intensive Care - EPIC II). A investigação foi realizada em 5.027 leitos, incluindo 371 UTIs, com taxa média de ocupação de 81,7%. Dos 303 pacientes internados, 62% (188/303) tiveram um ou mais episódio de infecção, sendo que 82,4% (155/188) foram de origem hospitalar e 17,5% (33/188) origem comunitária. A taxa de IRAS adquiridas nas UTIs foi 79,4% (123/155) e hospitalar de 20,6% (32/155). A média de idade entre os pacientes foi 58,4 anos e a taxa de uso de dispositivos invasivos foi 86,2%. Um total de 217 IRAS ocorreram no dia da investigação, sendo a pneumonia (53,0%) e infecção da corrente sanguínea (27,6%) as mais frequentes, seguida pela ITU (10,2%), a infecção do sítio cirúrgico (7,85) e infecção de pele (1,4%). Dos 217 episódios de IRAS, 119 tiveram confirmação pela cultura microbiológica; sendo os bacilos não fermentadores (58,7%) mais isolados, seguidos de enterobactérias (41,3%), cocos Gram

positivos (38,6%) e *Candida* spp. (8,4%). Entre os BGNs presentes na maioria das IRAS foram *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa*, ambos com 27,1%, seguido pela *E.coli* (19%) e *Klebsiella* spp (12,6%); já entre os cocos Gram positivos os *Staphylococcus* de coagulase negativa foram a maioria (49%) e *Staphylococcus aureus* (39,0%). Em relação ao tratamento, os carbapenêmicos (53,3%) e as cefalosporinas (27%) foram os ATMs mais prescritos.

Outros estudos, também referentes a IRAS em UTIs brasileiras, indicam que a ocorrência de PAV foi a mais frequente, sendo encontrada em 40% a 50% de pacientes internados, com taxa de mortalidade entre 20% e 60%, elevando-se até a 76% quando há envolvimento de BMR. Essas taxas podem sofrer variações conforme o perfil de cada UTI, os agentes etiológicos envolvidos e sua resistência aos ATMs (MOREIRA *et al.* 2012; TSENG *et al.*, 2012; RESENDE *et al.*, 2013; NEPOMUCENO, 2014).

Em 2016, a ANVISA publicou boletim cuja base foram as notificações de IPCS-CVC, referentes ao período de 2011-2015. Os resultados mostraram que as densidades de incidência dessas infecções confirmadas laboratorialmente (IPCSL) nas UTIs vêm diminuindo desde 2011. Nas UTIs de adultos houve redução de 18,6% entre 2011-2015. As densidades (percentil 50) de 2015 mostraram-se menores comparadas ao ano de 2014 (3,3 vs 3,6); já as densidades (percentil 90) foram semelhantes (11 vs 11,8) por 1000 CVC-dia. Comparando a distribuição dos microrganismos observou-se uma alteração: em 2014, os *Staphylococcus* de coagulase negativa (SCoN) (17%) eram mais frequentes; já em 2015, foi *Klebsiella pneumoniae* (16,9%). Também em 2015, o percentual referente à *Candida* spp. (7,6%) superou o número de isolados de *Escherichia coli* – 7,6% e 7,2%, respectivamente, invertendo a situação observada no ano anterior (BRASIL, 2016b). Cabe ressaltar que, no cenário nacional, a frequência dos principais microrganismos pode variar de acordo com a região ou estado. Os dados de 2015 mostram, ainda, altas taxas de resistência à oxacilina em isolados de SCoN (74,9%) e *Staphylococcus aureus* (57,4%); *Enterococcus* spp. resistentes à vancomicina (28,8%). Entre os bacilos Gram-negativos não fermentadores, *Acinetobacter* spp. (77,4%) e *Pseudomonas aeruginosa* (39,1%), apresentaram taxas elevadas de resistência aos carbapenêmicos. E as enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos e às cefalosporinas de 3ª e 4ª geração foram *Klebsiella pneumoniae* (43,3%), *Enterobacter* spp. (21,6%) e *Escherichia coli* (9,7%) (ANVISA, 2016b).

Recentemente, a ANVISA publicou novos dados referentes a incidência de IRAS em UTIs brasileiras, tendo como base o ano de 2016. Dentre as IRAS notificadas, a pneumonia (13,6) foi a mais frequente, seguida pela ITU (5,1) e IPCS (4,6) por 1000 dispositivos ao dia. Considerando o período de 2015 – 2016, houve uma redução na taxa global das infecções da corrente sanguíneas associadas ao CVC; no entanto, houve um aumento de 7,3% no percentil 90 (BRASIL, 2017a).

Note-se que os dados referentes à pneumonia e infecção urinária associada aos dispositivos invasivos não foram objeto de comparação pela falta de informações nos anos anteriores, visto que a notificação passou a ser obrigatória apenas a partir de 2016. Os microrganismos mais frequentes envolvidos nas IPCSL foram SCoN (18,9%), *Klebsiella pneumoniae* (18,2%), *Staphylococcus aureus* (14,1%), *Acinetobacter baumannii* (12,6%) e *Pseudomonas aeruginosa* (8,5%). A resistência à oxacilina foi observada em 78,7% dos SCoN e em 63,1% dos *Staphylococcus aureus*; já entre os *Enterococcus* spp., 25,8% foram resistentes à vancomicina. As taxas de resistência às cefalosporinas de amplo espectro e carbapenêmicos para as *Klebsiella pneumoniae* (46%), *Enterobacter* spp. (18%) e *Escherichia coli* (9,9%). Entre os bacilos Gram negativos não fermentadores, as espécies de *Acinetobacter baumannii* (85%) e *Pseudomonas aeruginosas* (42,9%) apresentaram maior perfil de resistência aos carbapenêmicos (BRASIL, 2017a).

Rosenthal *et al.* (2016), ressalta que as taxas de IRAS verificadas em UTIs de hospitais brasileiros são superiores às encontradas em UTIs da maioria dos países europeus e dos EUA, porém são próximas às taxas apresentadas nos últimos relatórios do Consórcio (INICC). Quanto aos agentes etiológicos envolvidos nestas infecções observaram que as espécies bacterianas prevalentes são semelhantes às constatadas em UTIs do mundo, assim como, as taxas de resistência às cefalosporinas (3ª e 4ª geração) e carbapenêmicos.

Se, por um lado, verifica-se a melhoria na prevenção e controle das IRAS no Brasil, por outro, o aumento no número de internações de pacientes com mais comorbidades e idade avançada tem sido preocupação das autoridades de saúde, pois o impacto sobre as taxas de mortalidade, principalmente em UTIs, tende a se elevar. Além disso, fatores associados à qualificação dos recursos humanos na prevenção e controle, aliados a estruturas físicas inadequadas, superlotação de UTIs

e poucos investimentos na saúde, tornam este cenário mais grave e preocupante (PADOVEZE & FORTALEZA, 2014).

As correlações evidenciadas nos estudos que tratam da ocorrência de IRAS, segurança do paciente e qualidade dos serviços, mostram que políticas de controle e prevenção implicam na adoção de medidas contínuas de melhorias assistenciais à saúde nos hospitais, principalmente em UTIs e em outros estabelecimentos de saúde. Ressalta-se que sua redução pode ocorrer até 70% dos casos, quando as equipes de saúde conhecem os problemas das infecções e adotam medidas de prevenção e controle (CDC, 2016). De acordo com o ECDC (2016), aproximadamente 20% a 30% das IRAS são consideradas preveníveis, o que faz dos programas de controle e higienização nos serviços de assistência à saúde um requisito indispensável para a eficiência, eficácia e efetividade de qualquer atenção preventiva.

Não obstante os estudos e pesquisas apontarem para a necessidade de prevenção de IRAS em nosso país, o controle dessas infecções ainda é secundarizado pela maioria dos gestores políticos e administradores de instituições de saúde. Associa-se a isso, o fato de que a difusão de informações educativas entre os profissionais de saúde, pacientes, familiares e outras instituições de apoio aos cuidados de pacientes com doenças crônicas, é ainda muito incipiente (PADOVEZE & FORTALEZA, 2014).

Em síntese, como apontam os estudos, sabe-se que a maior incidência de IRAS ocorre em pacientes críticos e internados em UTIs, principalmente aqueles que evoluem para um quadro crítico crônico, conhecido como Doença Crítica Crônica (DCC). Associados a esta doença, temos fatores que contribuem para seu estado de gravidade, como: idade avançada, vulnerabilidade do sistema imunológico, estadia prolongada, diversos procedimentos invasivos e uso de antibioticoterapia de amplo espectro (KELLY *et al.*, 2014). Este cenário tende a se agravar, visto que a crescente expectativa de vida da população no mundo, e a elevada prevalência de pacientes que sofrem de doenças crônicas e diversas comorbidades (AMBROSINO & GABBRIELLI, 2010; KONTIS *et al.*, 2017). Considerando esses fatores, na próxima seção se rão apresentados definição da Doença Crítica Crônica (DCC) e alguns critérios utilizados para a sua identificação em pacientes críticos internados em UTIs.

3.4 DEFINIÇÃO DA DOENÇA CRÍTICA CRÔNICA (DCC)

Os avanços tecnológicos e o sucesso de tratamentos aplicados a pacientes gravemente enfermos têm aumentado sua sobrevida na fase aguda inicial. No entanto, muitos sobreviventes passam a apresentar múltiplas disfunções orgânicas e dependência de cuidados intensivos prolongados, principalmente do suporte ventilatório, surgindo nova síndrome conhecida como DCC (KAHN *et al.*, 2015).

A definição preliminar de DCC foi desenvolvida pelo *Research Triangle Institute* (RTI), e, posteriormente, foi revisada por especialistas clínicos. As condições clínicas necessárias para caracterização esta doença é ter a presença de pelo menos uma das cinco condições clínicas estabelecidas dentro dos critérios elegíveis, a saber: ventilação mecânica prolongada (pelo menos 96 horas em único episódio); traqueostomia, sepse e outras infecções graves; feridas graves; falência de múltiplos órgãos; acidente vascular cerebral isquêmico, hemorragia intercerebral ou traumatismo cranioencefálico. Além desses critérios, permanecer pelo menos 08 dias em UTI de cuidados agudos, durante única internação hospitalar (KANDILOV *et al.* 2014).

Os Doentes Críticos Crônicos (DoCCs) são também caracterizados pela heterogeneidade de dados clínicos, como desnutrição, alterações cognitivas, anormalidades fisiológicas e imunológicas. Essas condições podem evoluir para um estado mais grave, como falência de múltiplos órgãos, conseqüentemente, aumentando a demanda por serviços de cuidados intensivos, no entanto, não refletindo em maior sobrevida à longo prazo (KAHN, *et al.*, 2015).

Considerando os fatores citados acima, a transição dos pacientes críticos da fase aguda para a fase crônica é frequentemente difícil de ser identificada, uma vez que sua condição clínica é complexa (AMBROSINO & GABBRIELLI, 2010). Apesar da gravidade dos DoCCs, as informações sobre seus aspectos epidemiológicos e desfecho dos pacientes, particularmente no Brasil, ainda são limitadas (LEITÃO *et al.*, 2018).

3.5 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E IMPACTOS SOBRE A DCC NA SOBREVIVÊNCIA DOS PACIENTES NAS INSTITUIÇÕES DE SAÚDE

A prevalência da DCC varia de acordo com o tipo de população que o ambiente da terapia intensiva acomoda, bem como os critérios adotados para sua definição. Nos EUA, mais de cinco milhões de pessoas são internadas em UTIs por ano, das quais, aproximadamente, 40% necessitam de suporte ventilatório. Desses, mais de 30% ficam em entilação mecânica por mais de quatro dias, 20% por mais de 7 dias e 1 a 2%, por mais de 30 dias (NELSON *et al.*, 2010; WIENCEK & WINKELMAN, 2010). Também Kahn *et al.* (2015), investigando a prevalência da DCC no período de 2004 e 2009, encontraram uma taxa de 34,4/100.000 pacientes. Entre os pacientes com idade entre 75 e 79 anos, esta taxa aumentou para 82,1/100.000 indivíduos, com mortalidade intra-hospitalar de 30,9%. Na Holanda, estudo desenvolvido entre 2007-2014, num centro de terapia intensiva para adultos, observou-se que de 9.934 pacientes que receberam suporte ventilatório, 6,7% ficaram em VM \geq 14 dias, e a taxa de mortalidade apresentou-se mais elevada (20,3%), quando comparada àquela da enfermagem geral (9,2%) (BUGETO *et al.*, 2016).

Contribuindo com estudo sob esta ótica, Damuth *et al.* (2015) analisaram 124 pesquisas produzidas em 16 países (EUA, Taiwan, Itália, Alemanha, Reino Unido, Austrália, França, Argentina, Canadá, Israel, Espanha, Brasil, Coreia do Sul, Holanda, Arábia Saudita e Emirados Árabes) cujos objetivo era verificar a sobrevivência, a longo prazo, de pacientes críticos submetidos à ventilação mecânica prolongada. Trinta e nove estudos relataram que a taxa de mortalidade dos DoCCs, no período de um ano, foi de 59% (IC 95% 56–62) e 29 estudos, de alta qualidade, apontaram mortalidade para o mesmo período de 62% (IC 95% 57–67). Apenas 19% dos pacientes receberam alta hospitalar, e somente 50% foram liberados com sucesso da VM. Quando a análise se referiu a estudos realizados em hospitais de cuidados pós-agudos, os resultados referentes aos EUA, quando comparados com aqueles procedentes dos demais países, foram piores, nas seguintes situações: a) a mortalidade, no período de um ano, foi de 73% vs 47%; a mortalidade hospitalar foi de 31% vs 18% e a liberação da VM foi de 47% vs 63%, demonstrando diferença significativa para todos os casos ($p < 0,0001$) (DAMUTH *et al.* (2015).

No Brasil, ainda há carência de estudos que reflitam a incidência da DCC e, dentre os realizados, a maioria ocorreu em única unidade hospitalar ou em várias UTIs situadas na mesma instituição e/ou no mesmo território geográfico. Exemplifica esta situação a pesquisa realizado por Nunes *et al.*, (2014), verificando a população dos DoCCs, em UTIs de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Foram acompanhados 3.023 pacientes, durante quatro anos, divididos em três grupos: primeiro, DoCCs em VM \geq 14 dias; segundo, DoCCs em VM \geq 21 dias e terceiro, Doente Crítico Agudo (DoCA) em VM $<$ 14 dias. O resultado mostrou que a maioria dos pacientes ficou em VM por mais de 21 dias sem diferença significativa nas taxas de mortalidade entre os grupos DoCCs e DoCA.

Apesar das diferenças de dados entre os estudos, a incidência da DCC vem se elevando no mundo, e estimativas citam de 5% a 10% dos pacientes com a DCA internados em UTIs, tornem-se um DoCC. A taxa de mortalidade em um ano varia entre 48% e 70% e, quando recebe alta hospitalar, sua condição de vida é satisfatória. No entanto, apenas 10% dos DoCCs sobrevivem com uma qualidade de vida boa; já 70% ficam em suporte ventilatório permanente nos locais de internação domiciliar ou institucionalização (CARSON *et al.*, 2012; LOOS *et al.*, 2015; BUGEDO *et al.* 2016; DETTMER *et al.*, 2017; LEITÃO *et al.*, 2018).

Apesar de serem escassas as publicações e estudos sobre esse tema, fato visível é que a população dos DoCCs está crescendo e se tornando um problema grave para os sistemas de saúde no mundo e no Brasil. Essa população permanece em UTIs por longos períodos, necessita de equipe multiprofissional, tratamentos mais complexos, levando a um aumento dos custos dos serviços de saúde. Países como EUA e Noruega já realizaram provisão futura da necessidade dos serviços de cuidados intensivos e concluíram que os números ainda são incertos para atender às demandas estimadas, devido às mudanças demográficas da população e ao aumento da expectativa de vida. Situação semelhante também foi observada em outros países, embora a maioria ainda não tenha obtido êxito na quantificação precisa do problema. O tempo médio de internação em UTI dos DoCCs, chega a 60 dias, com ocupação de leitos entre 20% e 40% das diárias neste setor (RHODES *et al.*, 2012; ROSE *et al.*, 2014; AMBROSINO & VITACCA, 2018; LEITÃO *et al.*, 2018).

Para enfrentar esse desafio, mais pesquisas são necessárias, seja para mensurar a necessidade de leitos, ou para ampliar as estratégias de intervenções preventivas e terapêuticas antes do paciente tornar-se crônico (ADHIKARI *et al.*, 2010;

SCHULMAN *et al.*, 2012). Além disso, sabe-se que o uso de ATMs de amplo espectro neste ambiente tem contribuído para disseminação de BMR, afetando sua sobrevivência e ocasionando problema emocional aos familiares (SCHULMAN *et al.*, 2012; KAHN *et al.*, 2013; CARRILLO-ESPER *et al.*, 2014; ROSE *et al.*, 2014; LOSS *et al.*, 2015).

Vale registrar também o aumento do número de isolados de BGN resistentes a múltiplas ou todas classes de ATMs, principalmente em UTIs, resultando em crescente falha e/ou limitação terapêutica, assim como o surgimento de surtos inter e intrainstituições (PATEL *et al.*, 2009; GISKE *et al.*, 2011). Dentro dessa realidade, conhecer as principais espécies de BGN-MR isolados de IRAS e os genes codificadores de diferentes mecanismos de resistência é de suma relevância para o serviço de assistência à saúde com qualidade.

3.6 BACILOS GRAM NEGATIVOS (BGN) E OS PRINCIPAIS MECANISMOS DE RESISTÊNCIA

Vários estudos indicam que as infecções adquiridas em hospitais são reconhecidas, há mais de um século, como um problema crítico que afeta a qualidade de vida e a segurança dos pacientes. O crescimento de bactérias expressando multirresistência aos ATMs, trouxe aos serviços maior desafio e responsabilidade na assistência médica, transformando-se, na atualidade, em problema de saúde pública de proporção mundial. Outros agravos são a morosidade dos resultados microbiológicos, as limitações do conhecimento do perfil epidemiológico das IRAS e prescrição excessiva de ATMs que têm limitado o tratamento destas infecções, havendo, muitas vezes, a necessidade de prescrição de fármacos mais caros e tóxicos, como o caso das polimixinas (NORDMANN *et al.*, 2014; QUINTERO *et al.*, 2015; CORNEJO-JUÁREZ *et al.*, 2015; BARRASA-VILLAR *et al.*, 2017; TING *et al.*, 2018).

Atualmente, os BGNs passaram a ter maior incidência dentro dos isolados de IRAS, principalmente em UTIs e nos surtos dos hospitais brasileiros. Na maioria das infecções, como as PNM, as IPCS e as ITU, associadas ou não a dispositivos invasivos, os principais agentes etiológicos envolvidos são: *Acinetobacter baumannii*, a *Klebsiella pneumoniae*, as *Enterobacter* spp., a *Pseudomonas aeruginosa* e a *Escherichia coli*, normalmente expressando alto perfil de resistência (MOLTON *et al.*, 2013; QUINTERO *et al.*, 2015; WHO, 2016; BARRASA-VILLAR *et al.*, 2017).

Diante desse desafio, cabe destacar a família das *Enterobacteriaceae*, que são consideradas como desafio à classificação taxonômica, tendo identificação molecular, em nível das espécies, normalmente baseada no sequenciamento do gene rRNA 16S; porém, para algumas espécies, é necessária a investigação de outros genes de manutenção (*housekeeping genes*), como *gyrB* ou *rpoB* (ABBOTT *et al.*, 2011). As enterobactérias são bacilos Gram negativas, com formato bacilar, aeróbias ou anaeróbias facultativas, que podem apresentar motilidade ou não e fermentam variados açúcares, principalmente a glicose. Algumas espécies habitam, comensalmente, o trato gastrointestinal de vertebrados e estão entre os agentes patogênicos mais comuns que infectam seres humanos e animais (PATERSON, 2012). Outro grupo dentro dos BGNs estão os bacilos Gram negativos não fermentadores (BGNNF), constituído de diversas espécies e caracterizado por serem estritamente aeróbios, com necessidades nutricionais mínimas, utilizam carboidratos como fonte de energia pela via oxidativa e apresentam tolerância às variações físicas. Podem ser encontrados colonizando o trato gastrointestinal de indivíduos hospitalizados e expressam diferentes mecanismos de resistência aos ATMs (DELIBERALI *et al.*, 2011). Dentre estes, as espécies em destaque na clínica médica são a *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter spp.*, *Stenotrophomonas maltophilia* e Complexo *Burkholderia cepacia* (DELIBERALI *et al.*, 2011; BHARGAVA, KAR e SAHA, 2015).

3.6.1 Principais mecanismos de resistência em BGN

A troca de genes entre os procarióticos é um fenômeno natural no ciclo de vida dos microrganismos e normalmente manifestada após mutações ou recombinações genéticas, habilidade essencial para sua sobrevivência. Sua transferência horizontal gênica (THG) é processo importante na troca de material genético entre células ou genomas de espécies não relacionadas, que pode ocorrer através da conjugação, transdução e, principalmente, a transformação (STOKES & GILLINGS *et al.*, 2011). Para bem entender a resistência bacteriana, é fundamental compreender o repertório de processos e elementos genéticos que os procariontes têm à sua disposição e sobre o qual a seleção natural pode agir. Assim, o uso excessivo de ATMs na prática da clínica médica humana e na veterinária, nas áreas do agronegócio, pode promover pressão seletiva sobre as bactérias, contribuindo para o aparecimento de novos clones, dotados de mecanismos de resistência intrínseca ou adquirida, a uma ou mais

classes de antimicrobianos (STOKES & GILLINGS *et al.*, 2011; BAPTISTA, 2013; CARLET *et al.* 2014; BLAIR *et al.*, 2015; FREEMAN *et al.*, 2015). A resistência aos ATMs adquirida pelas bactérias, conforme STOKES & GILLINGS *et al.*, (2011) pode ser:

a) Resistência intrínseca: quando uma espécie bacteriana resiste à ação de um determinado ATM, resultante de uma característica estrutural ou funcional inerente a mesma.

b) Resistência adquirida: quando espécies bacterianas adquirem resistência a um ou mais ATM, por meio de mutações, durante a replicação celular ou por indução de agentes mutagênicos, tais como: radiações ionizantes e não ionizantes, agentes alquilantes.

c) Resistência adquirida pela aquisição de material genético exógeno: quando as espécies bacterianas possuem genes de resistência que são propagados por meio de mecanismos de transferência horizontal gênica, como a conjugação bacteriana, a transformação e a transdução.

A disseminação da resistência antimicrobiana envolve a mobilização de diversos genes, que pode ocorrer: a) pela transmissão horizontal, por meio de plasmídeos e transposons conjugativos; b) quando no mesmo genoma, por recombinação, utilizando transposons, cassetes gênicos em integrons; c) sequência de inserção inseridas em plasmídeos ou transposons. Por esses mecanismos ocorrem a disseminação de múltiplos genes em diferentes espécies (STOKES & GILLINGS *et al.*, 2011). Esses mecanismos de resistência podem ser expressos pelas bactérias de diversas formas (BLAIR *et al.*, 2015):

a) Alteração de permeabilidade da membrana externa, que dificulta ou impede a entrada do ATM na célula;

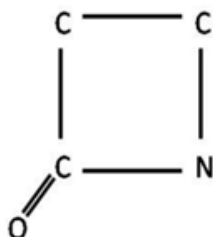
b) Sistema efluxo, onde a bomba de efluxo promove a saída do ATM da célula;

c) Alteração do sítio alvo que dificulta ou impede a ligação do ATM;

d) Produção de enzimas que degradam ou inativam o ATM.

Entre os BGNs os principais mecanismos de resistência estão as enzimas β -lactamases, com capacidade de inativar os ATMs β -lactâmicos, tais como penicilinas, cefamicinas, cefalosporinas, monobactâmicos e carbapenêmicos, figura 1 (LIVERMORE, 1995; 2008; BRADFORD, 2001; BUSH *et al.*, 2010; RAPP *et al.*, 2012).

Figura 1 – Estrutura química do anel β - lactâmico



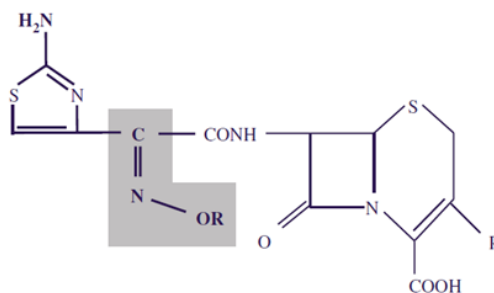
Fonte: Livermore, 1995

3.6.1.1 Hidrólise enzimática pelas β -lactamases

A enzima β -lactamases é dos mecanismos mais importantes, devido sua alta prevalência de aquisição de resistência e perfil hidrolítico dos β -lactâmicos, modificando sua estrutura química e ação bactericida. Entre as enterobactérias, a primeira β -lactamase mediada por plasmídeo foi descrita na década 1960, denominada de TEM-1 (Temoniera), em isolado de *E. coli*, na Grécia. No início da década de 1970, a enzima TEM-1 já havia disseminado de 30% a 50% em isolados de *E. coli* e outras enterobactérias. Na metade desta década, também foi isolada em *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae* e *Neisseria gonorrhoeae*. Durante esta década outra β -lactamase foi descrita em isolados de *Klebsiella pneumoniae* e *E. coli* denominada como SHV-1 (*Sulphydril reagent variable*), codificada no cromossomo na maioria das espécies de *Klebsiella pneumoniae* e no plasmídeo de *E. coli* (BRADFORD, 2001; BUSH *et al.*, 2010). O aumento de prevalência das enzimas TEM-2 e SHV-1 e, com maior destaque, a TEM-1, nas IRAS causadas pelos BGNs, tornaram estas β -lactamases mais prevalentes em pesquisas realizadas nos anos 1970 e início dos anos 1980 (LIVERMORE, 2008; RAPP *et al.*, 2012).

A disseminação das enzimas TEM e SHV mediadas por plasmídeos forneceu grande impulso para o desenvolvimento de novos β -lactâmicos estáveis na presença de β -lactamase, a saber: oximino-cefalosporinas (figura 2), cefamicinas, temocilina, aztreonam e carbapenêmicos (BRADFORD, 2001; LIVERMORE, 2008). Por razões de espectro e segurança, as cefalosporinas: cefuroxima, cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima e cefepima foram amplamente prescritas para o tratamento de infecções graves por BGNs resistentes a vários ATMs, haja vista que são menos nefrotóxicas que aminoglicosídeos e polimixinas (BRADFORD, 2001; LIVERMORE, 2008; BUSH *et al.*, 2010; RAPP *et al.*, 2012).

Figura 2- Estrutura química de uma oximino-cefalosporina.



O Grupo C=N-OR, sombreado, protege o anel β -lactâmico da hidrólise das β -lactamases.
Fonte: Livermore, 2008.

No início da década de 1980, a Alemanha relatou o primeiro isolado produtor de β -lactamase de espectro estendido (ESBL- *extended spectrum β -lactamases*) em *Klebsiella ozaenae*, expressando um potencial de hidrólise sobre as cefalosporinas de terceira e quarta gerações e aztreonam, sendo inativadas por inibidores específicos, isto é, clavulanato, sulbactam e tazobactam. Esta enzima, por sua similaridade com a SHV-1, passou a ser denominada de SHV-2 (BUSCH & JACOBY, 2010). Após dez anos, nova cefalosporinase foi identificada também na Alemanha, agora designada como CTX-M-1 (BAUERNFEIND, 1990).

Estas enzimas foram classificadas pela proposta por Bush-Jacoby-Medeiros (1995), como as ESBL pertencentes ao grupo 2be (enzimas do tipo TEM, SHV e CTX-M) ou ao grupo 2d (ESBL do tipo OXA). O esquema de classificação de Ambler considera a similaridade entre as cadeias de aminoácidos das enzimas, e elas foram agrupadas nos tipos A, B, C e D, de modo que as enzimas do tipo ESBL pertencem à classe A de Ambler, exceto as da família oxacilinasas (OXAs), que pertencem à classe D (AMBLER, 1980, BUSH, JACOBY & MEDEIROS, 1995; BUSCH & JACOBY, 2010; BLAIR *et al.*, 2015).

Desde o final da década de 1990, as enzimas CTX-M se espalharam entre os continentes, tornando-se as mais prevalentes no mundo. Entre o tipo CTX-M, especificamente o CTX-M-15 é o mais amplamente distribuído em *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* (DAMJANOVA *et al.*, 2008; PEIRANO *et al.*, 2010). Particularmente, vários estudos mostram que os isolados de *E. coli* produtores de CTX-M-15 estão intimamente associados com um único clone disseminado em todo o mundo, que é representado pelo tipo de sequência (ST) 131 e sorotipo O25: H4 (NICOLAS-CHANOINE *et al.*, 2008; PEIRANO *et al.*, 2010).

No Brasil, os primeiros estudos moleculares sobre ESBLs surgiram em 2000, com a identificação da enzima CTX-M-8 em *K. pneumoniae*, de origem humana, nos hospitais do Rio de Janeiro (BONNET et al., 2000). O mesmo grupo de pesquisadores também descreveram as enzimas BES-1 e CTX-M-16 em isolados de enterobactérias da mesma cidade (SAMPAIO & GALES, 2016). A partir de 2000, estudos de vigilância evidenciaram uma taxa crescente de enterobactérias produtoras de ESBL isoladas em pacientes hospitalizados, e nas UTIs a taxa de produção de ESBL em *K. pneumoniae* foi de 59,2%, *Enterobacter* spp. e *E. coli* foram 19,5% e 14,6%, respectivamente (SAMPAIO & GALES, 2016). Um estudo investigando a diversidade de tipos de ESBL em *Enterobacteriaceae* no Brasil foi realizado em 1.827 isolados, de origem humana e coletados no período de agosto de 2003 e março de 2008, na cidade de Curitiba/Paraná. A enzima tipo CTX-M esteve presente em 74,8% de todos os isolados positivos para ESBL (292/390), sendo a variante CTX-M-2 a mais frequentemente detectada em todas as enterobactérias investigadas (58,7%), exceto em *E. aerogenes*, onde a variante CTX-M-59 foi predominante. As enzimas tipo CTX-M-15 foi detectada em apenas 4 isolados, a saber *E. coli*, *E. cloacae*, *E. aerogenes*, e *Serratia marcescens*; tipo CTX-M-8 em 5 isolados de *E. coli* e 1 *K. pneumoniae*; e em menor número foram as tipos CTX-M-9 em 9 isolados e CTX-M-14 em 1 isolado de *E. coli* (NOGUEIRA et al., 2015).

A alta variabilidade genética observada entre bactérias produtoras de ESBL indica disseminação policlonal para *K. pneumoniae*, *E. cloacae* e *E. coli* e uma alta taxa de transferência de genes ESBL entre bactérias isoladas de IRAS, sendo a tipo CTX-M-2 detectada no maior número de diferentes espécies de enterobactérias (SAMPAIO & GALES, 2016). De acordo com SILVA & LINCOPAN (2012) e BLAIR et al. (2015), as enzimas CTX-M-14 e CTX-M-15 estão disseminadas em todo o mundo, especialmente em *E. coli* e *Klebsiella pneumoniae* resistentes às cefalosporinas, sendo que estas espécies, produtoras de CTX-M-15, são encontradas com maior frequência nas IRAS e em infecções comunitárias. No Brasil, as ESBLs do tipo CTX-M mais descritas foram CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9 e CTX-M-15 em enterobactérias (SILVA & LINCOPAN, 2012; SAMPAIO & GALES, 2016).

As crescentes taxas de bacilos Gram negativos (BGN), como: *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* spp, *Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp e *Acinetobacter* spp produtores de ESBL, reduziram a disponibilidade de ATMs para tratar infecções graves e, conseqüentemente, levaram ao aumento de prescrição dos carbapenêmicos

(MOLTON *et al.*, 2013; QUINTERO *et al.*, 2015; ANVISA, 2015; TUON *et al.*, 2016; WHO, 2016; BARRASA-VILLAR *et al.*, 2017). Dessa forma, o uso de carbapenêmicos para tratar as infecções por BGN multirresistentes deve-se a sua elevada afinidade pelas proteínas ligadoras de penicilinas tipo 2 (PBPs 2), a sua estabilidade às ESBL e as β -lactamases cromossômicas (AmpC), como também a sua excelente permeabilidade através da membrana externa bacteriana (NORDMANN, 2014; BUSH & BRADFORD, 2016).

Para melhor compreender o heterogêneo grupo das β -lactamases – mais de 1.500 enzimas já foram descritas aos longos dos anos – dois esquemas de classificação são utilizados: um, de acordo com a homologia de aminoácidos proposta por Ambler (1980) e, outro, baseado na atividade enzimática, proposta por Bush *et al.* (1995). Em 2010, a classificação funcional das β -lactamases foi atualizada por Bush & Jacoby, que adicionaram novos subgrupos funcionais ao esquema anterior definido, em decorrência de novas identificações e da expansão das principais famílias de β -lactamase, uma vez que novas variantes continuam a ser identificadas regularmente (AMBLER, 1980, BUSH, JACOBY & MEDEIROS, 1995; BUSH & JACOBY, 2010). Na reclassificação, as enzimas foram alinhadas com base na sua capacidade para hidrolisar classes específicas dos β -lactâmicos e nas propriedades de inativação dos inibidores de β -lactamases, como ácido clavulânico, sulbactam e tazobactam (BUSH & JACOBY, 2010), conforme demonstrado no Quadro 1.

Quadro 01 – Características funcionais e moleculares dos principais grupos de β -lactamases.

Bush & Jacoby, 2010	Classificação ¹ molecular	Substrato preferencial	Inibição por		Enzimas Representativas
			A.C ²	EDTA ³	
1	C	Cefalosporinas	Não	Não	<i>E. coli</i> AmpC, P99, ACT-1, CMY-2, FOX – 1, MIR -1
1e	C	Cefalosporinas	Não	Não	GC1, CMY-37
2a	A	Penicilinas	Sim	Não	PC1
2b	A	Penicilinas e cefalosporinas	Sim	Não	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	A	Cefalosporinas de espectro estendido e monobactâmicos	Sim	Não	TEM-3, SHV-2, CTX-M-15, PER-1, VEB-1
2br	A	Penicilinas	Não	Não	TEM-30, SHV-10
2ber	A	Cefalosporinas de espectro estendido e monobactâmicos	Não	Não	TEM-50
2c	A	Carbenicilinas	Sim	Não	PSE-1, CARB-3
2ce	A	Carbenicilinas, Cefepima	Sim	Não	RTG-4
2d	D	Cloxacilina	Variável	Não	OXA-1 a OXA-10
2de	D	Cefalosporinas de espectro estendido	Variável	Não	OXA-11, OXA-15
2df	D	Carbapenêmicos	Variável	Não	OXA-23, OXA-48
2e	A	Cefalosporinas de espectro estendido	Sim	Não	CepA
2f	A	Carbapenêmicos	Variável	não	KPC-2, IMI-1, SME-1
3a	B	Carbapenêmicos	Não	Sim	IMP-1, VIM-1, CcrA, IND-1
3b	B	Carbapenêmicos	Não	Sim	ChpA, Sfh-1

1-Classificação de Ambler (1980); 2-Ácido clavulânico; 3-EDTA: Ácido etileno diamino tetracético. Adaptação de Bush e Jacoby, 2010.

Resumidamente, a organização das β -lactamases é apresentada, como descritas abaixo: (BUSH; JACOBY, 2010).

a) grupo 1 (classe C): inclui as cefalosporinases;

b) grupo 2 (classes A e D): estão as cefalosporinas de amplo espectro, as resistentes aos inibidores de β -lactamases, as ESBLs e as serino-carbapenemases;

c) grupo 3 (classe B): abrange todas as metalo- β -lactamases (M β LS)

Diante da diversidade das β -lactamases e considerando o objeto proposto nesta pesquisa, a seguir, serão descritas algumas famílias das classes de carbapenemases identificadas em enterobactérias e BGNNF de maior relevância epidemiológica no Brasil, a saber: M β LS (IMP, VIM, SPM-1 e NDM) e serino-carbapenemases (KPC e OXAs), utilizando a classificação de Ambler (1980).

3.6.2 Principais carbapenemases de importância epidemiológica no Brasil

A emergência de carbapenemases, no início dos anos 1990, trouxe novo desafio para o tratamento de infecções causadas pelos BGN produtores de carbapenemases. Essas novas enzimas, na maioria presentes nos plasmídeos, apresentam capacidade de hidrolisar todas as classes de antimicrobianos β -lactâmico, incluindo os inibidores de β -lactamases.

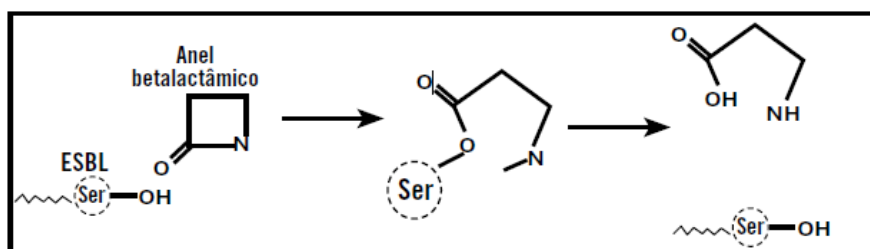
3.6.2.1 Carbapenemases da classe A

As carbapenemases da classe A, pertencentes ao grupo funcional 2f, também denominado de serino-carbapenemase, podem ser de origem cromossômica ou plasmidial e foram identificadas em isolados clínicos há mais de 20 anos. As bactérias portadoras destas enzimas podem apresentar sensibilidade reduzida ou serem totalmente resistentes ao imipenem, o que pode dificultar sua identificação nos testes de sensibilidade antimicrobiano *in vitro* na rotina laboratorial (NORDMANN, 2014). Dentro do grupo serino-carbapenemases estão incluídas as enzimas: NMC (*Not Metalloenzyme Carbapenemase*), SME (*Serratia marcescens enzyme*), IMI (*Imipenem-hydrolyzing- β -lactamases*), localizadas no cromossomo, enquanto KPC (*Klebsiella pneumoniae carbapenemase*) e GES (*Guiana Extended Spectrum*) são as principais carbapenemases plasmidiais (QUEENAM & BUSH, 2007; BUSH, 2010; NORDMANN, 2014).

O mecanismo de ação das serino-carbapenemases caracteriza-se por ligação não covalente ao anel β -lactâmico, onde a hidroxila livre na cadeia lateral do sítio

ativo do resíduo de serina resulta em ligação covalente e formação de grupo acil-éster. A hidrólise libera a enzima ativa e o carbapenêmico hidrolisado inativo, formando água e ácido penicilóico (Figura 3) (LIVERMORE, 1995; QUEENAM & BUSH, 2007; BUSH, 2010; SILVA & LINCOPAN, 2012; NORDMANN, 2014b).

Figura 3 - Hidrólise do anel β – lactâmico pela ação da serino- β -lactamases, adaptado de Livermore (1995).



Fonte: SILVA & LINCOPAN (2012).

As enzimas serino-carbapenemases possuem a habilidade de hidrolisar ampla variedade de β -lactâmicos, incluindo penicilinas, cefalosporinas, aztreonam e carbapenêmicos, e são inibidas melhor pelo tazobactam comparado com ácido clavulânico (BUSH; JACOBY, 2010).

3.6.2.1.1 *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase

A enzima KPC foi isolada pela primeira vez em 1996, em *K. pneumoniae*, na Carolina do Norte (EUA). Esta cepa apresentava perfil de resistência a todos β -lactâmicos, observando-se, porém, que a adição do ácido clavulânico provocava ligeira redução na concentração inibitória mínima (CIM) (YIGIT *et al.*, 2001). Em 2003, quatro isolados identificados no período de 1998-1999, na cidade de Baltimore, identificaram nova variante, denominada agora de KPC-2. Esta enzima foi resultante de mutação pontual da KPC-1, porém sequenciamentos realizados posteriormente mostraram a similaridade de 100% entre os dois genes (QUEENAM; BUSH, 2007; NORDMANN, 2014b).

A circulação de KPC permaneceu rara nos EUA até 2004, quando ocorreu um surto de enterobactérias produtoras de KPC-2 em vários hospitais de Nova York e Nova Jersey (BRADFORD *et al.*, 2004). Em 2012, mais 1.200 cepas de *K. pneumoniae* produtoras de KPC-2 foram isoladas nos hospitais de Nova York, provando sua disseminação em toda a América do Norte (NORDMANN, 2014b). Logo após, vários

isolados de KPC-2 foram referidos em estudos realizados em diferentes países: França (NASS *et al.*, 2005); Israel (NAVON-VENEZIA *et al.*, 2005; LEAVITT *et al.*, 2007); China e Taiwan (WEI *et al.*, 2007; CHUNG *et al.*, 2011). Dentre os países da Europa, foi identificada maior concentração na Grécia e na Itália (CUZON *et al.*, 2008; CANTÓN *et al.*, 2012). Os relatos referentes à América do Sul indicam que a presença de KPC-2 foi isolada na Colômbia, numa cepa de *Pseudomonas aeruginosa* (VILLEGAS *et al.*, 2007) e na Argentina (GOMEZ *et al.*, 2011).

Novas variantes da família KPC foram identificadas e estudos foram publicados em diferentes países, reportando seus resultados, tais como: KPC-3, isolada em *K. pneumoniae*, Nova Iorque (WOODFORD *et al.*, 2004); KPC-4, identificada em amostras de *Enterobacter cancerogenus* na Escócia (PALEPOU *et al.*, 2005); KPC-5 em *P. aeruginosa* em Porto Rico (WOLTER *et al.*, 2009), as variantes KPC-6 e KPC-8 foram descritas em cepas de *K. pneumoniae* provenientes de Porto Rico (ROBLEDO *et al.*, 2008). Ainda em 2010, foi identificada a KPC-10 em *Acinetobacter* spp pertencente ao *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* complex (ABC) em isolados de Porto Rico (ROBLEDO *et al.*, 2010).

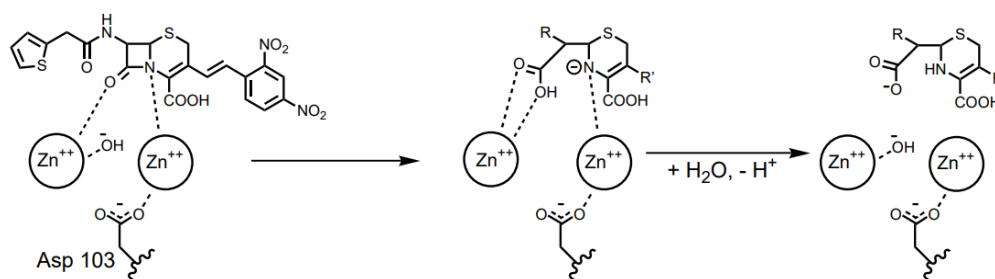
No Brasil, a primeira enzima identificada foi a KPC-2, em quatro amostras de *K. pneumoniae*, na cidade de Recife (MONTEIRO *et al.*, 2009). Desde então, novos isolados de *K. pneumoniae* produtores de KPC-2 foram relatadas em nosso território (MONTEIRO *et al.*, 2009; PEIRANO *et al.*, 2009; CARVALHO-ASSEF *et al.*, 2010; CHAGAS *et al.*, 2011; LEÃO *et al.*, 2011; SEKI *et al.*, 2011). A KPC-2 também foi relatada em outras enterobactérias, como a *Enterobacter cloacae* complex (ZAVASCKI *et al.*, 2009), *Serratia marcescens* (DEL PELOSO *et al.*, 2010) e *Escherichia coli* (CARVALHO-ASSEF *et al.*, 2010; LEÃO *et al.*, 2010). Recentemente, foi identificada nova carbapenemase da classe A de Ambler, *Brazilian Klebsiella Carbapenemase* (BKC), codificada em um plasmídeo de *K. pneumoniae*, na cidade de São Paulo (NICOLETTI *et al.*, 2015).

3.6.2.2 Carbapenemases da classe B

As MBLs são enzimas pertencentes à classe B de Ambler ou classe 3 de Bush, com capacidade de degradar todos β -lactâmicos, exceto o aztreonam, não sendo inibidas pelo ácido clavulânico, sulbactam e tazobactam. A ação destas enzimas é caracterizada pela necessidade de dois íons divalentes – de zinco ou outros cátions – como cofator para atividade catalítica (figura 04). Essas enzimas são também inibidas

por agentes quelantes, como ácido etileno diamino tetracético (EDTA), ou por compostos que alterem a conformação do sítio ativo, como os derivados de tiol e ácido dipicolínico (WALSH, TOLEMAN, POIREL *et al.*, 2005; MENDES *et al.*, 2006; BEBRONE, 2007).

Figura 4 - Mecanismo de ação de MBLs na inativação de β -lactâmicos



Fonte: Wang *et al.*, 1999

A primeira dessas enzimas foi identificada em 1966, produzida pelo *Bacillus cereus*, quando Sabbath e Abraham mostraram que a atividade da cefalosporinase, produzida por esta espécie foi inibida pelo EDTA. Essas enzimas cromossômicas são produzidas, intrinsecamente, em *Stenotrophomonas maltophilia*, *Bacillus cereus*, *Legionella gormanii*, *Aeromonas* spp. e *Elizabethkingia meningosepticum*. Já as MBLs adquiridas, codificadas por genes transportados por plasmídeos entre os BGNs, incluindo as enterobactérias e as espécies de *P. aeruginosa* e *Acinetobacter* spp., tornaram a situação ainda mais preocupante. Além disso, muitos genes codificadores de MBLs estão presentes em espécies ambientais que se constituem, portanto, em reservatórios de genes de resistência aos ATMs β -lactâmicos (WALSH, TOLEMAN, POIREL *et al.*, 2005; MENDES *et al.*, 2006; BEBRONE, 2007; QUEENAN & BUSH, 2007).

As classes de MBLs relatadas em isolados clínicos incluem imipenemase (IMP), Verona imipenemase (VIM), São Paulo metalo- β -lactamase (SPM), German imipenemase (GIM), Seoul imipenemase (SIM) e New Delhi metalo- β -lactamase (NDM) (OSANO *et al.*, 1994; LAURETTI *et al.*, 1999; TOLEMAN *et al.*, 2002; CASTANHEIRA *et al.*, 2004; LEE *et al.*, 2005; YONG *et al.*, 2009). Na sequência são descritas as famílias IMP, VIM, SPM e NDM.

3.6.2.2.1 Família Imipenemase

A enzima IMP foi identificada no Japão, em 1988, em isolados de *P. aeruginosa*, localizados no plasmídeo. No entanto, não recebeu nomeação, uma vez que sua caracterização por meio de sequenciamento não foi realizada. Em 1994, no mesmo país, Osano *et al.* identificaram a mesma enzima em *Serratia marcescens*, de isolados coletados em 1991, quando foi sequenciada e nomeada como IMP-1. Durante a década de 1990, vários isolados IMP-1 foram identificados no país: em *P. aeruginosa*, *Serratia marcescens* e *K. pneumoniae* (SENDA *et al.*, 1998; ITO *et al.*, 1995; HIRAKATA *et al.*, 1998). Durante muitos anos se acreditou que bactérias produtoras de IMP estavam restritas ao Japão, tendo esta convicção mudado com a identificação de novas variantes, IMP-2 e IMP-5, isoladas em *A. baumannii*, na Itália e em Portugal, entre 1997 e 1998, respectivamente (RICCIO *et al.*, 2000; SILVA *et al.*, 2002).

No Brasil, a primeira MBL identificada foi em *K. pneumoniae* produtora de IMP-1, isolada em 2003 no Hospital Universitário da Universidade de São Paulo (HU/USP). Este isolado foi o primeiro da família Enterobacteriaceae relatado na América Latina (LINCOPAN *et al.*, 2005).

No mesmo ano, Gales *et al.*, (2003b) encontrou a primeira IMP-1 em *Acinetobacter baumannii* de um isolado no mesmo hospital. Posteriormente, pela análise de sequenciamento, constatou-se tratar de um gene com 100% de similaridade genética com o gene *bla*_{IMP-6}. Sader *et al.* (2005) investigaram vários isolados de *Pseudomonas* spp. e *Acinetobacter* spp. resistentes aos carbapenêmicos, coletados entre janeiro de 2001 e dezembro de 2003, na América Latina. Os autores observaram a presença de IMP-16 em *P. aeruginosa* isolada em Brasília, no ano 2002, e IMP-1 em *Pseudomonas fluorescens* e *Acinetobacter* sp, ambas isoladas em São Paulo, durante 2001 e 2002. Atualmente, são conhecidas 53 variantes, pertencentes a subfamília IMP (Lahey, 2018), sendo estas identificadas em diferentes espécies de BGNs e em diversos países.

3.6.2.2.2 Família Verona metalo-β-lactamase

A segunda subclasse de MBL adquirida descrita foi a VIM-1 (Verona metalo-β-lactamase codificada por integron) identificada a partir de um isolado de *P. aeruginosa*, na cidade de Verona, Itália (LAURETI *et al.*, 1999) e no Japão (WATANABE *et al.*, 1991). A segunda variante VIM-2, foi descrita a partir de um único isolado de *P. aeruginosa* coletado na França em 1996, com 90% de similaridade com VIM-1 (PORIEL *et al.*, 2000). Em 2001, o gene cromossomal *bla*_{VIM-3} foi identificado em

isolados de *P. aeruginosa* em Taiwan (YAN *et al.*, 2001). Nos anos seguintes, novas variantes de VIM foram identificadas em diversos países da Europa, como também na Ásia, nos EUA, no Chile e na Venezuela (YUM *et al.*, 2002; TOLEMAN *et al.*, 2004; MENDES *et al.*, 2004, LIVERMORE, 2012).

No Brasil, em 2005, Sader *et al.* (2005) realizaram uma investigação sobre a diversidade das MβLs (IMP, VIM e SPM) em *P. aeruginosa* resistentes aos carbapenêmicos em amostras de pacientes internados em hospitais de SP. De um total de 83 isolados, 11 foram produtores de VIM-2 (SADER *et al.*, 2005).

Dentro das MβL, as variantes de VIM predominaram nos BGNNF, principalmente *P. aeruginosa* e, em menor número, nas enterobactérias. Essas enzimas são mais frequentes na Europa, região onde foi originariamente encontrada em 1999 (LIVERMORE, 2012).

3.6.2.2.3 São Paulo Metallo-β-lactamase

Em 2002, foi descrita uma nova subclasse de MβL, a SPM-1 (São Paulo Metallo-β-lactamase) na espécie *P. aeruginosa* obtida de urina de uma paciente com leucemia hospitalizada no Complexo Hospitalar de SP (UNIFESP), em 2001 (TOLEMAN *et al.*, 2002). Essa enzima hidrolisa todos os β-lactâmicos, preferencialmente as cefalosporinas, mas não degrada o aztreonam, ticarcilina e ácido clavulânico (GALES, 2003). A partir dos primeiros isolados de SPM-1 em 2002, novos isolados foram encontrados em outros estados brasileiros, como Bahia, Ceará e Paraná e no Distrito Federal (GALES *et al.*, 2003b).

O gene *bla*_{SPM-1} parece estar mais relacionado à espécie de *P. aeruginosa*, encontrada amplamente e distribuída no território brasileiro, com a presença de um clone predominante. A primeira descrição da produção de SPM-1 fora do Brasil ocorreu em *Pseudomonas aeruginosa*, em um homem de 34 anos, residente na Suíça, em 2010, com histórico de atendimento prévio na atenção primária, em Recife, Brasil (EL SALABI *et al.*, 2010). Atualmente, esta enzima já foi descrita em *Acinetobacter* spp. e em outros países como Uganda e Irã (KATEETE *et al.*, 2016; POURABBAS; FIROUZI; POULADFAR, 2016; SHAHCHERAGHI *et al.*, 2011).

3.6.2.2.4 New Delhi metallo-beta-lactamase

A β-lactamase denominada NDM é a mais nova carbapenemase identificada da classe B, com genes associados a elementos genéticos móveis. Atualmente, a mais

conhecidas é a NDM-1 (*New Delhi metallo-beta-lactamase-1*), identificada em 2008, nas espécies de *K. pneumoniae* e *E. coli* recuperadas de um paciente hospitalizado na Suécia e com história prévia de internação num hospital de *New Delhi*, Índia (YONG *et al.*, 2009). Essa enzima, semelhante à IMP e VIM, degrada todos os β -lactâmicos, com exceção do aztreonam (WALSH *et al.*, 2005). A NDM-1 foi também detectada em várias espécies de enterobactérias, sendo predominante em *K. pneumoniae* e *E. coli*, nos países do Reino Unido, Índia, Paquistão e Bangladesh, entre 2008 e 2009. Na maioria dos casos isolados no Reino Unido, os pacientes tinham histórico de viagem para Índia e Paquistão (KUMARASAMY *et al.*, 2010). Neste mesmo período, foi identificado o primeiro isolado *E. coli* produtora de NDM-1, genótipo ST131, na França. Sua origem foi uma lesão de tumor de mama, em uma mulher que morou muito tempo na Índia, mas nunca foi hospitalizada (POIREL; HOMBROUCK-ALET; *et al.*, 2010). Este relato confirma os estudos que sugerem que o subcontinente indiano é importante reservatório para NDM; além disso, existe a probabilidade desta paciente ter adquirido essa carbapenemase na comunidade (POIREL & HOMBROUCK-ALET; *et al.*, 2010).

A partir deste ocorrido um alerta se difundiu na comunidade científica, pois o genótipo ST131 é responsável pela disseminação mundial de genes de resistência aos β -lactâmicos como à família CTX-M. A diversidade de características genéticas, associadas ao gene *bla*_{NDM-1}, pode explicar a atual situação de elevadas taxas de disseminação em todo o mundo (COQUE *et al.*, 2008; POIREL; HOMBROUCK-ALET; *et al.*, 2010).

No Brasil, o primeiro isolado foi 2013, em *Providencia rettgeri*, no Rio Grande do Sul (CARVALHO-ASSEF *et al.*, 2013). No mesmo ano, Rozales *et al.* (2013) investigaram o gene *bla*_{NDM-1} em isolados de enterobactérias com suscetibilidade reduzida aos carbapenêmicos, em 17 hospitais do mesmo estado. Foram identificados 08 isolados produtores de NDM-1, 06 do *Enterobacter cloacae complex* e 02, *Morganella morganii*. Em nenhum destes isolados os pacientes apresentaram história prévia de viagem internacional. Nos anos seguintes, novos isolados de enterobactérias produtoras de NDM-1 foram identificadas no Rio de Janeiro, São Paulo e Brasília (PEREIRA *et al.*, 2014; Do CARMO JUNIOR *et al.*, 2015; FARIAS JUNIOR, 2016).

A alta prevalência de enterobactérias produtoras de NDM em nível mundial está ligada à alta capacidade conjugativa dos plasmídeos que carregam o gene *bla*_{NDM-1}.

Além disso, estes genes conseguem também transportar outros genes de resistência para outras classes de ATMs (NORDMANN; NAAS; *et al.*, 2011). A mobilidade do plasmídeo carreando o gene *bla*_{NDM-1} trouxe aos BGNNF este novo mecanismo de resistência. Em 2010, a Índia teve o primeiro isolado de *A. baumannii* portadora do NDM-1 e, logo após, outros países tiveram isolados esporádicos, como China, Egito, Alemanha e Israel (KARTHIKEYAN *et al.*, 2010; BONNIN *et al.*, 2014). O Brasil teve seu primeiro isolado de BGNNF produtor de NDM-1 também identificado em *A. baumannii* no Paraná e, em seguida, em *A. bereziniae* em Santa Catarina e *A. pittii*, no Rio Grande do Sul (PILLONETTO *et al.*, 2014; CHAGAS *et al.*, 2014; PAGANO *et al.*, 2015).

Até 2015, tinham sido identificados treze (13) variantes de NDM no mundo, a maioria em enterobactérias, e, dentre os BGNNF, destacam-se o gênero *Acinetobacter* sp (WEI *et al.*, 2015).

3.6.2.3 Carbapenemases da classe D

As enzimas da classe D de Ambler ou β -lactamases do tipo oxacilinas, inicialmente foram assim denominadas devido a sua capacidade de hidrolisar cloxacilina ou oxacilina. A partir da década de 1980, surgiram isolados de *Acinetobacter baumannii* resistentes aos carbapenêmicos, manifestados pelas β -lactamases codificadas por plasmídeos (OXA-23, OXA-40 e OXA-58) e foram categorizadas como Oxacilinas, devido à sua similaridade de sequência com as OXAs anterior (BRADFORD, 2001; BUSH-JACOBY, 2010).

Na classificação de Bush-Jacoby (2010) as OXAs foram divididas em dois subgrupos: grupo 2, são as enzimas com capacidade de inativar a cloxacilina ou a oxacilina, com espectro estendido que inclui oximino- β -lactamases, mas não carbapenêmicos. Já o grupo 2df engloba as enzimas OXAs com atividades de hidrólise aos carbapenêmicos, sendo mais frequentes na espécie de *Acinetobacter baumannii*. São geralmente produzidas por genes, localizados no cromossomo, embora as enzimas OXA-23 e OXA-48 transmitidas pelo plasmídeo tenham sido também identificadas nas enterobactérias (BUSH & JACOBY, 2010; EVANS & AMYES, 2014).

As OXAs compreendem a segunda maior família de β -lactamases, com maior prevalência na espécie de *A. baumannii*, codificada cromossomicamente (tipo OXA-

51), que pode conferir resistência aos carbapenêmicos, quando o ambiente genético ao redor do gene promover sua expressão (EVANS & AMYES, 2014).

Em nível mundial, estudos reportam que as OXAs são encontradas quase exclusivamente em isolados de *A. baumannii* e se dividem em seis (6) subfamílias: OXA-51-like, OXA-23-like, OXA-24-like, OXA-58-like, OXA-143 e OXA-235 (EVANS & AMYES, 2014). Entretanto, em 2001, na Turquia, uma nova variante resistente aos carbapenêmicos foi identificada em *K. pneumoniae*, sendo designada como OXA-48. Logo esta enzima se disseminou dentro do país, sendo encontrada também na Índia e em alguns países do norte da África, Europa e Rússia (LASCOLS *et al.*, 2009; CARRER *et al.*, 2010; LAHLAOU *et al.*, 2012; EVANS & AMYES, 2014). Até muito recente, a OXA-48 estava restrita a esses países, e parecia não estar disseminado nas Américas e no Sudeste Asiático. No entanto, os primeiros relatos dos genes *bla*_{OXA-48} no Japão em *K. pneumoniae* e *E. coli* e, em *K. pneumoniae*, nos EUA foram publicados em 2013 (NAGANO *et al.*, 2013; LASCOLS *et al.*, 2013). Em 2013, a Alemanha, teve o primeiro relato de OXA-48 em *A. baumannii* (GONCALVES *et al.*, 2013).

No Brasil, em 2013, foi descrita a primeira variante da OXA370, cuja sequência de aminoácidos apresentou 99% de similaridade com a OXA48, em um isolado de *Enterobacter hormaechei*, de origem humana de Porto Alegre, RS (SAMPAIO *et al.*, 2014). Entretanto, esta enzima, não está disseminada no território brasileiro, havendo relatos esporádicos em enterobactérias (SAMPAIO *et al.*, 2014).

3.6.2.4 Gene *mcr-1* (*mobile colistin resistance gene*)

O gene *mcr-1*, localizado em plasmídeo e codificante de enzima que confere resistência às polimixinas B e E, foi identificado pela primeira vez por um grupo de pesquisadores chineses em um isolado humano na espécie *E. coli* (LIU *et al.*, 2016). Desde então, diversas publicações apontaram a presença do gene *mcr-1* em diversos países e continentes, presente em alimentos, animais e amostras clínicas (SKOV *et al.*, 2016; ELNAHRIRY *et al.*, 2016; MALHOTRA-KUMAR *et al.*, 2016; PRIM *et al.*, 2016). No Brasil, um estudo retrospectivo de vigilância realizado por Fernandes e colaboradores (2016), identificou 16 isolados bacterianos portadores do gene *mcr-1*, em amostras de animais provenientes das regiões sudeste e sul do país (FERNANDES *et al.*, 2016). Até o presente momento, vários isolados portadores de *mcr-1*, já foram identificados no território brasileiro, especificamente em isolados

clínicos, nas espécies de *Escherichia coli* e, em menor número, em *K. pneumoniae* (AIRES *et al.*, 2017; CONCEIÇÃO-NETO *et al.*, 2017; ROSSI *et al.*, 2017; DALMOLIN *et al.*, 2018; PILLONETTO *et al.*, 2018).

Após a primeira detecção do gene *mcr-1*, outras quatro variantes foram descritas: *mcr-2* (LT598652) encontrado em *E. coli* de origem animal, na Bélgica (XAVIER *et al.*, 2016); *mcr-3* (KY924928), em *E. coli* isolada de suínos, na China (YIN *et al.*, 2017); *mcr-4* (MF543359), em *E. coli* e *Salmonella entérica sorovar Typhimurium* de suínos, na Itália, Espanha e Bélgica (CARATTOLI *et al.*, 2017) e, por último, o *mcr-5* (KY807921), em *Salmonella Paratyphi B* de aves domésticas, na Alemanha (BOROWIAK *et al.*, 2017). As variantes de *mcr-1*, *mcr-3* e *mcr-4* (SKOV *et al.*, 2016; CARRETTO *et al.*, 2016), bem como co-ocorrência de *mcr-1* e *mcr-3*, foram observadas em Enterobacteriaceae (HERNANDEZ *et al.*, 2017). Recentemente, na China, foi identificado novo gene móvel de resistência à colistina, o *mcr-8*, localizado em plasmídeo do tipo IncFII em *Klebsiella pneumoniae* de origem animal. Logo após, também foi encontrada coexistência de *mcr-8* e *bla_{NDM}* em isolados de *Klebsiella pneumoniae* de origem animal e humano (WANG *et al.*, 2018).

O cenário da resistência antimicrobiana tem sido observado de forma dramática no contexto hospitalar, particularmente para pacientes críticos, pela identificação de novos clones expressando resistência estendida a várias classes de ATMs-XDR (*extensively drug-resistant*) e resistentes a todos os ATMs disponíveis - PDR (*pandrug-resistant*). Essas bactérias apresentam diversos mecanismos, isolados ou associados, promotores de resistência a diferentes classes de ATMs, podendo ter implicações no tratamento de doenças infecciosas, a depender de parâmetros farmacocinéticos e farmacodinâmicos (MAGIORAKOS *et al.*, 2012; PICÃO *et al.*, 2012).

Em 2014, a resistência antimicrobiana (*antimicrobial resistance – AMR*) foi reconhecida pela Assembleia Geral das Nações Unidas como uma ameaça aos esforços mundiais de sustentabilidade e desenvolvimento, de alcance aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) (WHO, 2014). Diante de múltiplos problemas relacionados a AMR, em 2015, os estados membros da OMS endossaram o um plano de Vigilância Global de Resistência Antimicrobiana (*Global Antimicrobial Resistance Surveillance System - GLASS*), organizado em em parceria com a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) e a Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), sendo operacionalizado pela OMS na forma da Resolução n. 67.25/2014 (WHO, 2015; 2017).

As BMR atualmente circulam entre seres humanos e animais por meio da alimentação, da água e do meio ambiente, e sua transmissão é influenciada pelo comércio, pelas viagens e pelas migrações humana e animal. A abordagem de Saúde Única (*One Health* approach), dentro da concepção do “Plano de Ação Global”, estabelece a necessidade do envolvimento multissetorial, com o objetivo de assegurar o tratamento da questão sob as perspectivas conjugadas de saúde humana, animal e ambiental (WHO, 2017). Para além disso, como estratégia este plano visa ampliar o estado de atenção e promover mais conhecimento sobre a AMR, fortalecer a vigilância epidemiológica, reduzir a incidência de infecções, otimizar o uso de medicamentos antimicrobianos na saúde humana e animal e garantir investimento sustentável para sua implementação (WHO, 2017).

No Brasil, as ações de prevenção e controle da AMR iniciou-se em 2005, quando o MS e ANVISA, em parceria com a Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS/OMS), e as coordenações gerais dos Laboratórios Centrais de Saúde Pública do país (LACENs) criaram um projeto denominado “Rede Nacional de Monitoramento e Controle da Resistência Microbiana em Serviços de Saúde (Rede RM)” para ampliar a detecção, a prevenção e o controle da emergência de BMR (BRASIL, 2017).

Em, 2013 a ANVISA e MS instituíram, a subrede Analítica de Resistência Microbiana em Serviços de Saúde pautada nos compromissos internacionais e nacionais de fortalecer as ações no país de vigilância e de monitoramento das IRAS causadas por BMR (ANVISA 2013c; 2014). Sua implantação buscou, ao longo do tempo, ter histórico evolutivo dos isolados bacterianos MR envolvidos nas IRAS, objetivando intervir nas medidas de controle de disseminação BMR, de forma a garantir a assistência nos serviços de saúde da população brasileira (ANVISA, 2013c; 2014). Outro destaque no enfrentamento à AMR no Brasil foi a regulamentação da venda de antibióticos (RDC n.º 20, de 5 de maio de 2011), para o controle da dispensação de antimicrobianos de uso humano (BRASIL, 2011).

Apesar de numerosas e bem-sucedidas as ações para controlar a AMR em diferentes aspectos, em território brasileiro, as estratégias pautavam apenas na saúde humana e não atendiam a abordagem de Saúde Única, como preconizada atualmente pelo Plano Global de AMR. Diante disso, iniciou-se diversas discussões e pautada nos compromissos internacionalmente firmados nos fóruns multilaterais correspondentes, o governo brasileiro passou à elaboração do Plano de Ação Nacional de Prevenção e Controle da Resistência aos Antimicrobianos (PAN-BR), envolvendo diretamente o

Ministério da Saúde, a Anvisa e o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, e o apoio do Ministério do Meio Ambiente, da Fundação Nacional de Saúde, e entre outros órgãos (PAN-BR, 2018). Em conformidade com o Plano Global, este documento está estruturado em 14 objetivos principais, 33 intervenções estratégicas e 75 atividades, alinhados aos 5 objetivos estratégicos do GLASS, com vigência de cinco anos, compreendido entre 2018-2022 (PAN-BR, 2018).

Com vistas a melhorar o monitoramento da AMR no Brasil, em 2013, foi firmado um acordo de cooperação técnica entre as Sociedades Brasileiras de Infectologia (SBI), de Análises Clínicas (SBAC), de Microbiologia (SBM) e de Patologia Clínica (SBPC) para criação do Comitê Brasileiro de Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos (BrCAST), com a principal finalidade de padronizar, em âmbito nível nacional, as normas dos testes de sensibilidade aos antimicrobianos para adaptar os conceitos do European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) à realidade dos laboratórios brasileiros (PAN-BR, 2018). Em 2018, o MS através da Portaria nº 64, 11 de dezembro de 2018, determina aos laboratórios da rede pública e rede privada, de todas as Unidades Federadas, a utilização das normas de interpretação para os testes de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA), tendo como base os documentos da versão brasileira do European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Portanto, é fundamental que o esforço conjunto de elaboração do PAN-BR, também se veja refletido no engajamento multissetorial para sua implementação e sua manutenção (PAN-BR, 2018).

4 METODOLOGIA

4.1 DESENHO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo de coorte prospectiva realizada na UTI do Hospital Regional Hans Dieter Schmidt (HRHDS), entre 1º de janeiro de 2016 e 31 de dezembro de 2017.

4.2 LOCAL DO ESTUDO

A pesquisa foi realizada na Unidade Terapia Intensiva (UTI) do HRHDS, em Joinville, Santa Catarina. É uma instituição pública e exclusiva ao Sistema Único de Saúde (SUS), que presta serviços de alta complexidade cardiovascular, vascular, endovascular e urgências tipo III, à população adulta. Possui área construída de 22.400 m², dispendo de 279 leitos de internações, com média de 751 internações/mês e UTI dispendo de 20 leitos, com média de 89 internações/mês.

A instituição possui Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH), conforme normas legais vigentes, atuando na vigilância ativa e no controle das infecções, bem como na educação continuada e na implantação e monitoramento de políticas internas relativas às IRAS e dos indicadores de resistência bacteriana, visando a segurança dos pacientes.

4.3 ASPECTOS ÉTICOS

O estudo foi avaliado e aprovado antes de sua execução, conforme as diretrizes éticas estabelecidas na Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde (CNS), pelos seguintes órgãos (Anexo A):

a) Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade da Região de Joinville (UNIVILLE), conforme Parecer nº 1599756;

b) Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital Regional Hans Dieter Schmidt, conforme Parecer nº 1613535.

Nenhum procedimento realizado exclusivamente para os fins da pesquisa teve qualquer impacto aos pacientes acometidos por IRAS no período de condução do estudo, não influenciando a conduta clínica e o prognóstico. Considerando o exposto e o compromisso com a não divulgação de dados que possam identificar os pacientes cujos dados laboratoriais, clínicos e epidemiológicos foram utilizados, foi obtida a dispensa de aplicação de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

individual. Todos os preceitos éticos e os requisitos preconizados pelo Sistema CEP/Conep, que regulamentam as pesquisas envolvendo seres humanos no Brasil foram estritamente observados pelos pesquisadores.

4.4 DEFINIÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO AMOSTRADA

A população inicial do estudo foi composta por pacientes de ambos os gêneros, internados em UTI e que atenderam os seguintes critérios:

- Idade igual ou maior que 18 anos;
- Diagnóstico de IRAS em tempo igual ou superior a 72 horas de internação na UTI;
- Primeiro episódio de IRAS de cada paciente e um único isolado clínico identificado pela cultura microbiológica.

Os pacientes selecionados foram acompanhados desde o diagnóstico de IRAS até o desfecho (alta, transferência ou óbito) na UTI. Ressalta-se que foram excluídos deste estudo os pacientes com diagnóstico de IRAS apenas pelos critérios clínicos e os pacientes que foram transferidos para outras instituições de saúde (n = 75).

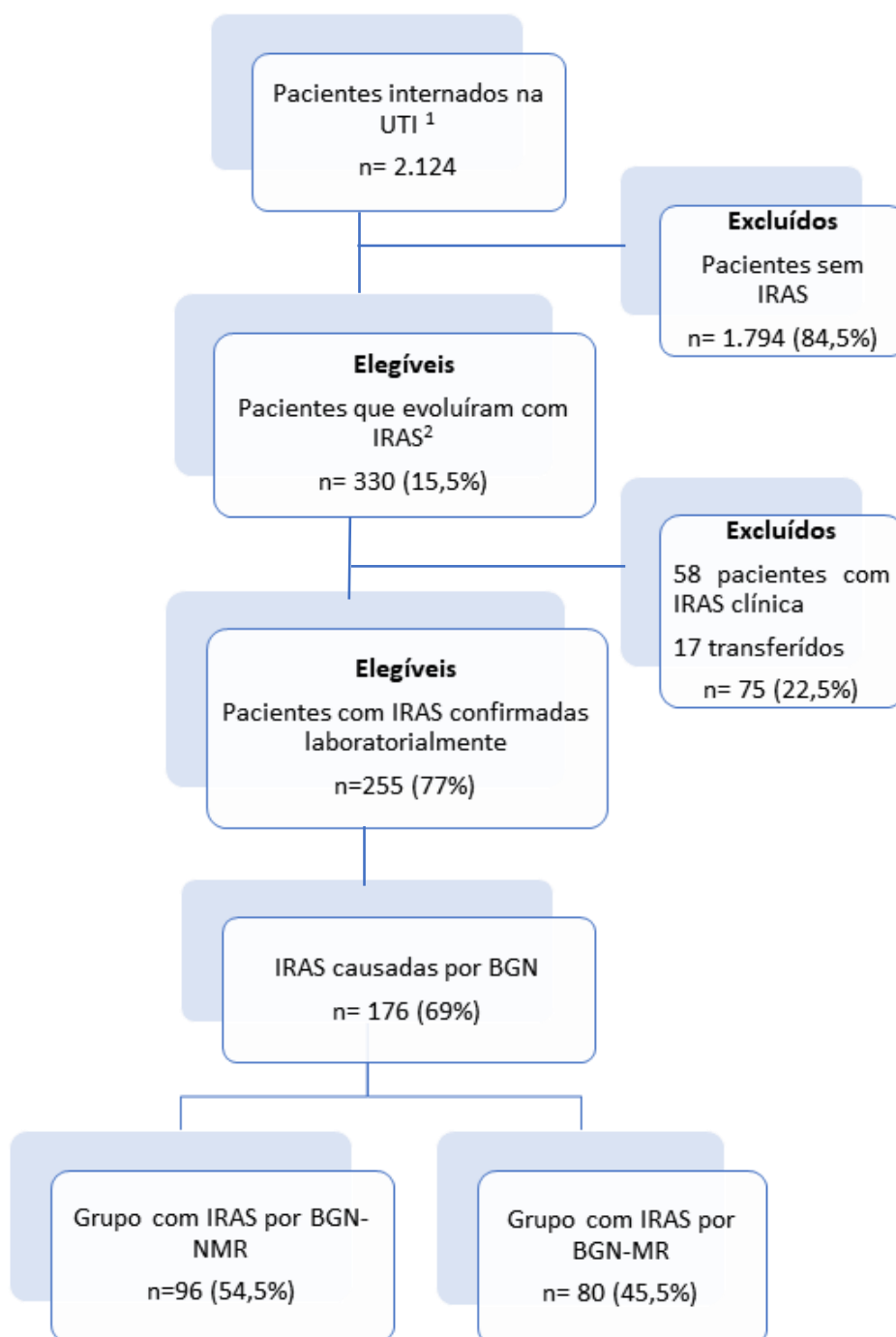
Todos os pacientes que atenderam os critérios acima mencionados e desenvolveram IRAS por BGN compuseram a amostra final estudada, e foram estratificados em dois grupos, como especificado abaixo:

- 1) Grupo BGN-MR = pacientes que evoluíram com IRAS causadas por BGN-MR
- 2) Grupo BGN-NMR = pacientes com IRAS causadas por BGN-não-MR

Para definir a multirresistência dos BGN, adotou-se os critérios conforme Magiorakos *et al.* (2012), que a classifica em três categorias:

- **BGN-MDR** (MDR - *Multidrug-resistant*): BGN que expressa resistência a pelo menos um ATM de três classes diferentes testadas para cada grupo de bactérias ou espécies e/ou produtor de beta-lactamase de espectro estendido (ESBL).
- **BGN-XDR** (XDR - *Extensively drug-resistant*): BGN que expressa resistência a pelo menos um ATM de quase todas (exceto uma ou duas) as classes testadas para cada grupo de bactérias ou espécies.
- **BGN-PDR** (PDR - *Pandrug-resistant*): BGN que expressa resistência a todos os ATM de todas as classes testadas para cada grupo de bactérias ou espécies.

A composição e estratificação da amostra e o percurso da pesquisa, em sua totalidade pode ser visualizada na figura 5.

Figura 5: Fluxograma dos pacientes para composição dos Grupos BGN-NMR e BGN-MR

1: número de pacientes internados na UTI durante o período do estudo; 2: total de IRAS diagnosticadas na UTI (somente pelos critérios clínicos e as IRAS confirmadas pela cultura).

Fonte: elaborado pela autora

4.5 COLETA DE DADOS

A coleta de dados foi realizada pela própria pesquisadora, tendo como fonte as fichas de busca ativa e os prontuários eletrônicos dos pacientes, a partir de

notificações de IRAS realizadas pela equipe do SCIH. A partir dessas informações foi construído um banco de dados com perfis demográficos, clínicos e microbiológicos dos pacientes para os fins específicos do estudo. O provimento de informações e atualização de dados, ou seja, a gestão do banco de dados, foi realizado pela própria pesquisadora.

4.5.1 Variáveis do estudo

Para atender os objetivos propostos neste estudo foram incluídas as variáveis descritas abaixo:

- Idade
- Gênero
- Comorbidades¹
- Tempo de internação hospitalar antes da admissão na UTI
- Tempo de permanência na UTI antes e após o diagnóstico de IRAS
- Uso de dispositivos invasivos (CVC, CV e VM)
- Tempo de VM antes do diagnóstico de IRAS
- Procedimento cirúrgico prévio ao episódio da infecção
- Tipo de IRAS
- Patógeno isolado e seu perfil de suscetibilidade aos ATMs
- Uso de ATMs na UTI antes de adquirir a IRAS
- Esquema terapêutico com ATMs para tratar a infecção (monoterapia ou terapia combinada)
- Desfecho clínico na UTI (alta ou óbito)

4.6. CRITÉRIOS E DEFINIÇÕES DAS VARIÁVEIS

a) **Definição de IRAS:** é qualquer infecção que se manifesta após 72 horas da admissão do paciente no ambiente hospitalar ou após a alta quando está relacionada com os procedimentos realizados durante a internação hospitalar (CDC, 2008; BRASIL, 1998).

¹ Incluindo Doenças Cardíacas Isquêmicas (infarto agudo do miocárdio, revascularização miocárdica ou angioplastia previa); Doença Obstrutiva Crônica - DPOC; Acidente Vascular Cerebral - AVC; diabetes *mellitus*; hipertensão, além desses, tabagismo e etilismo.

b) **CrITÉrios adotados para o diagnóstico das IRAS:** Os critérios adotados para o diagnóstico das infecções (pneumonia, infecção do trato urinário e infecção da corrente sanguínea) foram aqueles recomendados pela *Society for Healthcare Epidemiology of America* (SHEA) (KLOMPAS *et al.*, 2014; LO *et al.*, 2014; MARSCHALL *et al.*, 2014), e adotados pela ANVISA (2013b, 2017).

● **Pneumonia:** Infecção pulmonar identificada pela utilização de uma combinação de critérios:

- Pacientes sem doença pulmonar ou cardíaca prévia;
- Com duas ou mais radiografias de tórax seriadas, apresentando um dos seguintes achados novos: infiltração, opacificação e cavitação.
- Ter pelo menos um dos sinais e sintomas: Febre (temperatura > 38°C), sem outra causa associada; leucopenia (< 4000 cel/mm³) ou leucocitose (> 12000 cel/mm³); Alteração do nível de consciência, sem outra causa aparente em pacientes ≥ 70 anos; presença de secreção purulenta ou modificação do aspecto da secreção purulenta ou aumento da secreção respiratória; início ou piora da tosse ou dispneia ou taquipneia e piora da troca gasosa.
- Cultura quantitativa positiva de secreção pulmonar obtida por procedimento com menor potencial de contaminação, tais como, lavado broncoalveolar (LBA) e escovado protegido.

As culturas foram consideradas positivas para LBA e escovado protegido quando o valor de corte foi ≥ 10⁴ UFC/mL e ≥ 10³ UFC/mL, respectivamente.

● **ITU:** infecção do trato urinário relacionada a procedimento urológico, podendo ser associada ou não ao uso de cateter vesical, atendendo a um dos critérios abaixo:

- Manifestar pelo menos um dos sinais ou sintomas: febre > 38°C, disúria, dor suprapúbica ou lombar.
- Cultura positiva com uma contagem de colônias ≥ 10⁵ UFC/mL e apenas uma espécie microbiana isolada.

A ITU associada a CV foi considerada quando, na data do diagnóstico da infecção, o paciente estava com o cateter instalado por período maior que dois dias ou sua remoção ocorreu no dia anterior a IRAS.

● **IPCSL:** infecção primária da corrente sanguínea foi considerada quando houve uma ou mais hemoculturas positivas e o microrganismo identificado não estava

relacionado com infecção em outro sítio, podendo estar relacionada ou não ao uso de CVC, conforme descrito no Anexo C.

c) **Exposição aos ATMs:** definida quando o paciente foi exposto à antibioticoterapia durante a internação na UTI, antes do diagnóstico da infecção e da coleta da primeira amostra clínica que, subsequentemente, revelou BGN na cultura.

d) **Esquema terapêutico com os ATMs:** monoterapia quando o tratamento da infecção foi realizado com apenas um ATM e terapia combinada, aquele tratamento realizado com a combinação de dois ou mais ATMs, sendo todos prescritos durante a internação na UTI.

4.7. PROCEDIMENTOS ADOTADOS NA INVESTIGAÇÃO DOS AGENTES ETIOLÓGICOS, PERFIL DE SUSCETIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS E MANUTENÇÃO DOS BGN-MR

Nesta seção apresenta-se, de forma específica, os procedimentos utilizados para o estudo/investigação da população amostrada com IRAS causadas por BGNs, foco priorizado nesta pesquisa. Foram estes: isolamento e identificação fenotípica; determinação do perfil de suscetibilidade aos ATMs; determinação da CIM de polimixina B e manutenção dos BGN-MR. Na sequência, detalhamos cada um dos procedimentos.

4.7.1 Isolamento e identificação fenotípica

Os materiais clínicos com solicitação de cultura por indicação médica foram processados na rotina do setor de microbiologia do laboratório de análises clínicas prestador do serviço ao hospital.

O isolamento primário foi realizado de acordo com os materiais biológicos, conforme padrões da microbiologia clínica. Amostras de sangue foram inoculadas no meio de cultura *Fastidious Antimicrobial Neutralization Plus Media* - FAN Plus, específico para o sistema automatizado de hemocultura *Bact Alert* (BioMérieux, Basingstoke, Reino Unido), onde aquelas com crescimento de microrganismos foram ressemeadas. As amostras de urina e LBA foram semeadas pela técnica quantitativa,

utilizando-se alças calibradas descartáveis de 1 µL e 10 µL, em meios padronizados. Todas as placas foram incubadas em estufa a 36±1°C por 24 horas.

As culturas de LBA e urina com crescimento microbiano $\geq 10^4$ UFC/mL e UFC $\geq 10^5$ UFC/mL, respectivamente, foram submetidas à identificação no sistema automatizado VITEK 2 (*BioMérieux*, Basingstoke, Reino Unido). Este sistema utiliza cartões com reagentes colorimétricos, composto de 64 poços com substratos para avaliar as atividades metabólicas dos microrganismos, a saber, alcalinização, hidrólise enzimática e turbidez (BOURBEAU & POHLAN, 2001). A preparação das suspensões bacterianas foi em salina a 40%, acrescida de 2 ou 3 colônias do isolado, a fim de obter turvação equivalente ao tubo 0,5 da escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ células/mL). Após, essas suspensões, foram inoculadas nos cartões para identificação de BGN fermentadores e BGN não fermentadores de glicose (BARENFANGE *et al.*, 1999; SANDERS *et al.*, 2001).

4.7.2 Determinação do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos

A avaliação do perfil de suscetibilidade aos ATMs foi investigada apenas para os BGN no sistema automatizado VITEK 2. A partir da suspensão bacteriana preparada anteriormente foi retirado 125 µL da solução e diluído em 3 mL de salina a 40%. Seguiu-se a inoculação nos cartões para Teste de Sensibilidade Antimicrobiana (TSA), contendo os ATMs padrões de acordo com o grupo de BGN. A interpretação dos resultados seguiu as recomendações do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) (CLSI, 2016; 2017).

As enterobactérias com resistência a um ou mais carbapenêmicos foram submetidas ao método fenotípico de triagem para detecção de carbapenemases, conforme a Nota Técnica nº 01/2013 (ANVISA, 2013c). Este método tem como base a diferença de tamanhos de halos de inibição obtidos entre discos de carbapenêmicos e discos de carbapenêmicos acrescido de bloqueadores enzimáticos, a saber, EDTA e ácido fenilborônico (AFB). Os isolados que apresentaram diferença de diâmetro igual ou superior a 5 mm para os discos de imipenem e meropenem, com e sem EDTA, foram considerados potenciais produtores de metalo-β-lactamases (MβL). Quando tal diferença ocorreu para os carbapenêmicos supracitados, com e sem AFB, considerou-se o isolado provável produtor de KPC. A triagem para a ocorrência da produção de KPC em cepas pertencentes ao grupo CESP (*Citrobacter freundii*, *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Providencia* spp.,

Morganella morganii e *Hafnia alvei*) não foi realizada, pois esta metodologia pode acarretar resultados falsos negativos (ANVISA, 2013c). Para evitar falhas dessa natureza, optou-se pelo método da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Da mesma forma, para os BGNNF também foi realizado a PCR para detecção das carbapenemases.

Todas as bactérias com resistência aos carbapenêmicos (imipenem, meropenem e/ou ertapenem) foram encaminhados ao Laboratório de Biologia Molecular da UNIVILLE para posteriores investigações genotípicas.

4.7.3 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) da polimixina B

Os isolados de enterobactérias com resistência não intrínseca à polimixina B, foram investigados quanto à CIM pelo método de diluição POLICIMBAC (Probac). Este método é composto por uma placa de polietileno com 12 cavidades por linha horizontal, contendo meio ágar Mueller Hinton Cátion ajustado, cloreto de 2,3,3-trifeniltetrazólio, água purificada e polimixina B em concentrações que variam de 64 a 0,125 µg/mL, além de controles de positivos (CP) e negativo (CN) (BARTOLLETTI *et al.*, 2016).

A partir de cultivos com 24 horas de incubação em meio ágar Mueller Hinton (Kasvi), uma parte da colônia foi transferida para o tubo “1”, contendo 5 mL de salina estéril 0,85%, seguido de homogeneização até se obter suspensão bacteriana equivalente a 0,5 (aproximadamente 10^8 UFC/mL) na escala McFarland. A partir dessa suspensão, no tubo “2” transferiu-se 50 µL para 4.950 µL de salina estéril (10^6 UFC/mL), obtendo-se diluição 1:100; em seguida, no tubo “3” adicionou-se 500 µL da suspensão do tubo “2” em 4.500 µL de salina estéril (concentração final a, aproximadamente, 10^5 UFC/mL). Após retirou-se 100 µL da suspensão final (tubo 3) e dispensou nas cavidades contendo a polimixina B. Sempre se observando a inoculação da menor para a maior concentração do ATM e no CP; no controle negativo foi colocado 100 µL de salina estéril. As placas foram lacradas com biofilme e foram incubadas por 24 horas em aerobiose a $36 \pm 1^\circ\text{C}$. Após esse período, para melhor visualização do ponto de corte, foi adicionada em cada cavidade uma gota da solução reveladora e as placas foram reincubadas por mais 20 minutos. Para analisar se houve crescimento bacteriano e não contaminação das placas verificou-se os controles CP e CN. Foi considerado como CIM a diluição

correspondente a primeira cavidade onde não houve crescimento bacteriano, ou seja, na qual a coloração do meio não se tornou vermelha.

Os isolados foram considerados resistentes quando a CIM > 2 µg/mL e sensíveis se CIM ≤ 2 µg/mL, conforme critérios estabelecidos pelo *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST/Br-CAST, 2018). Como controle de qualidade utilizou-se a cepa *E. coli* ATCC – 25922.

4.7.4 Manutenção dos BGN-MR

Os BGN expressando resistência aos carbapenêmicos foram armazenados em tubos criogênicos de 2 mL contendo miçangas de vidro estéreis e meio semi-sólido próprio para congelamento a -80°C. Após, todos os isolados foram incubados em estufa a 36±1°C, durante 24 e 48 horas, resfriados a -20°C por 24 horas, seguido de manutenção em freezer a -80°C.

4.8 DETECÇÃO DE CARBAPENEMASES PELA GENOTIPAGEM

4.8.1 Obtenção do DNA microbiano

Para a obtenção do DNA bacteriano foi utilizado o método de choque térmico descrito por Vaneechoutte *et al.* (1995) e Baratto & Megiolaro (2012), com modificações, a partir de cultivo recente em ágar Mueller Hinton gerado sob incubação a 36±1°C por 24 horas. Primeiramente, duas a três colônias de cultura pura, coletadas com alça estéril de inoculação, foram ressuspensas em 100 µL de água destilada estéril, em microtubo de 1,5 mL. As suspensões foram submetidas a banho fervente por 5 min e, em seguida, a choque térmico em banho de gelo por 5 min. O procedimento de fervura e resfriamento foi repetido, seguido de centrifugação (Eppendorf 5415 R, Hamburgo, Alemanha) a 8.000 x g por 10 min. Ao final do processamento, o sobrenadante foi coletado e o precipitado descartado.

O sobrenadante contendo o DNA bacteriano foi qualificado e quantificado por meio de análise espectrofotométrica (leituras a 260 e 280 nm) em aparelho Epoch (*BioTek Instruments*, Winooski, EUA) e, em seguida, armazenado a -20°C até o uso subsequente.

4.8.2 Investigação de genes alvos

Todas as investigações de genes alvos foram realizadas via PCR em volume final de 50 µL, em aparelho XP Cycler (*BIOER Technology*, Tóquio, Japão). As misturas (mix) de PCR foram preparadas em cabine de uso exclusivo, empregando-se água ultrapura tratada com dietilpirocarbonato (DEPC) (*Invitrogen*, São Paulo, Brasil) e 50 a 500 ng de DNA extraído.

A pesquisa de genes codificantes de oxacilinasas – *bla*_{OXA-23-like}, *bla*_{OXA-24-like}, *bla*_{OXA-51-like}, *bla*_{OXA-58-like} e *bla*_{OXA-143-like}, no complexo *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* foi realizada via PCR Multiplex, empregando-se os iniciadores descritos por Higgins e colaboradores (2010) e Woodford e colaboradores (2006), apresentados no Quadro 2. À mistura de reagentes acrescentou-se 1 U Platinum®Taq DNA Polimerase (*Invitrogen*), 200 µM dNTPs (*GE Healthcare*, Little Chalfont, Reino Unido) 1X PCR Buffer (*Invitrogen*), 20 pmols de cada iniciador (*DNA Express*, São Paulo, Brasil) e 1,5 mM MgCl₂ (*Invitrogen*). Nas termociclagens, tomou-se como base o método de Woodford e colaboradores (2006), com modificações nas etapas iniciais de desnaturação (94°C por 3 min, seguida de 30 ciclos envolvendo 1 min a 94°C, 30 seg a 52°C e 1 min a 72°C). A extensão final foi realizada a 72°C por 10 min.

Quadro 2 - Iniciadores utilizados na detecção dos genes alvos das oxacilinasas

Gene alvo	Oligonucleotídeos (sentido 5' → 3')	Produto (pb)	Referência
<i>bla</i> _{OXA-51-like}	TAATGCTTTGATCGGCCTTG TGGATTGCACTTCATCTTGG	353	Woodford et al. (2006)
<i>bla</i> _{OXA-23-like}	GATCGGATTGGAGAACCAGA ATTTCTGACCGCATTTCAT	501	Woodford et al. (2006)
<i>bla</i> _{OXA-24-like}	GGTTAGTTGGCCCCCTTAAA AGTTGAGCGAAAAGGGGATT	246	Woodford et al. (2006)
<i>bla</i> _{OXA-58-like}	AAGTATTGGGGCTTGTGCTG TGGCACTTTCAGCAGTTCCT	599	Woodford et al. (2006)
<i>bla</i> _{OXA-143-like}	TGGCACTTTCAGCAGTTCCT TGGCACTTTCAGCAGTTCCT	149	Higgins et al. (2010)

Fonte:elaborado pela autora

A investigação dos genes *bla*_{OXA-48-like}, *bla*_{NDM}, *bla*_{KPC}, *bla*_{SPM}, *bla*_{IMP}, *bla*_{VIM} e *mcr-1* foi realizada de modo individual, utilizando-se as mesmas quantidades de DNA, polimerase, dNTPs, tampão e MgCl₂ indicados acima. Os pares de iniciadores, a quantidade de primers podem ser visualizados no Quadro 3.

Quadro 3 - Iniciadores utilizados na detecção dos genes alvos das serino β -lactamases, metalo- β -lactamases e *mcr-1*.

Gene alvo	Oligonucleotídeos (sentido 5' → 3')	Produto (pb)	Referência
<i>bla_{KPC}</i>	TCGCTAAACTCGAACAGG TTACTGCCCGTTGACGCCCAATCC	785	Monteiro et al. (2009)
<i>bla_{NDM-1}</i>	TTGGCCTTGCTGTCCTTG ACACCAGTGACAATATCACCG	661	Monteiro et al. (2009)
<i>bla_{VIM}</i>	GTTTGGTTCGCATATCGCAAC AATGCGCAGCACCAGGATAG	382	Mendes et al. (2007)
<i>bla_{IMP}</i>	GGAATAGAGTGGCTTAAYTCTC GGTTTAAAYAAAACAACCACC	232	Poirel et al. (2011)
<i>bla_{SPM-1}</i>	ACATTATCCGCTGGAACAGG AAAATCTGGGTACGCAAACG	271	Ellington et al. (2007)
<i>bla_{Oxa-48-like}</i>	TGTTTTTGGTGGCATCGAT GTAAMRATGCTTGGTTTCG	177	Monteiro et al. (2012)
<i>mcr-1</i>	CGGTCAGTCCGTTTGTTC CTTGGTCGGTCTGTAGGG	309	Liu et al. (2016)

Fonte: elaborado pela autora

Para a confirmação da efetividade do método de detecção dos genes codificantes de carbapenemases e *mcr-1* foram utilizadas cepas padrão como controles positivos, conforme descritas no Quadro 4.

Quadro 4 - Cepas padrão de genes codificantes de carbapenemases e *mcr-1*.

Gene alvo	Espécies	Identificador	Origem
<i>bla_{OXA-51-like}</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	3174 CCBH	Fiocruz/RJ
<i>bla_{OXA-23-like}</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	3174 CCBH	Fiocruz/RJ
<i>bla_{OXA-24-like}</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	7892 CCBH	Fiocruz/RJ
<i>bla_{OXA-58-like}</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	7740 CCBH	Fiocruz/RJ
<i>bla_{OXA-143-like}</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	10578 CCBH	Fiocruz/RJ
<i>bla_{KPC}</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	Ghanem/SC
<i>bla_{NDM-1}</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	5379 RM	Lacen/ PR
<i>bla_{VIM}</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	13943 RM	Lacen/ PR
<i>bla_{SPM-1}</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12486 RM	Lacen/ PR
<i>bla_{Oxa-48-like}</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	12692 RM	Lacen/ PR
<i>mcr-1</i>	<i>Escherichia coli</i>	12983 RM	Lacen/ PR

Fonte: elaborado pela autora

4.8.3 Eletroforese em gel de agarose

Após realizada a PCR, os produtos gerados foram submetidos à eletroforese submersa em gel de agarose a 1%, contendo 0,5 µg/mL de brometo de etídeo, durante ± 1 hora, a 10 V/cm. Para confirmação dos tamanhos dos produtos correspondentes aos *amplicons* planejados foi utilizado marcador de tamanho molecular de DNA (100 bp Ladder Fermentas, Burlington, Canadá), controles positivo e negativo (água). Na sequência, o gel foi exposto à luz ultravioleta em transiluminador (MiniBis-Pro Photodocumentation System – DNR Bio-Image Systems Ltd., Jerusalém, Israel), seguindo-se o registro digitalizado. Assim, pela análise dos perfis eletroforéticos obtidos foi determinada a ocorrência dos elementos genéticos investigados.

4.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As variáveis contínuas foram expressas pela mediana e variação interquartil, considerando a dispersão das medidas apresentadas. As frequências foram apresentadas pelo número absoluto e porcentagem. A comparação das variáveis contínuas dos pacientes com IRAS por BGN-MR vs por BGN-NMR foi realizada pelo teste Mann Whitney, enquanto para a comparação das frequências aplicou-se o teste qui quadrado ou teste exato de Fischer. O nível de significância foi fixado em $p < 0,05$.

Para avaliar as possíveis variáveis preditoras para o desenvolvimento de IRAS no grupo BGN-MR foi realizada análise de regressão logística de forma univariada entre as variáveis clínicas analisadas no estudo. Todas as variáveis com valor de $p < 0,200$, na análise univariada, foram incluídas no modelo multivariado através de regressão logística, pelo método *backward*, mantendo fixos no modelo a mediana da idade (>65 anos) e o gênero (masculino). A presença ou não de uso de dispositivos invasivos (VM, CVC e CV) para a predição de IRAS por BGN-MR não foi incluída, pois o número de pacientes em uso foi superior a 95%.

Para investigar as variáveis associadas a mortalidade foi utilizado o método de *Cox Regression* de forma univariada, incluindo todas as variáveis potencialmente relacionadas à mortalidade. A seguir, todas as variáveis com valor $p < 0,200$, na análise univariada, foram incluídas na análise multivariada via *Cox Regression*, pelo método *backward*, mantendo-se fixos idade e gênero.

A sobrevida dos pacientes com ocorrência de IRAS por BGN-MR vs BGN-NMR foi avaliada através de curva de sobrevida de Kaplan-Meier, determinadas nos

intervalos ≤ 7 , 8-14 e 15-21 dias, após o diagnóstico de infecção nos pacientes internados na UTI.

Todas as análises estatísticas foram realizadas pelo programa *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) versão 23 (Inc., Chicago, Illinois, EUA).

5 INTERDISCIPLINARIDADE: RELAÇÃO ENTRE MEIO AMBIENTE, SAÚDE E DOENÇA

As bactérias vivem num ecossistema dinâmico e estabelecem interações biológicas de forma a manter o equilíbrio e contribuir com sua própria evolução ao longo de milhões de anos. Porém, para sobreviver em ambientes hostis, buscam mecanismos para se adaptar e, assim, perpetuar as diferentes espécies (BECEIRO; TOMÁS; BOU, 2013). Dessa forma, a resistência antibiótica pode ser vista como fenômeno ecológico que ocorre como defesa das bactérias quando expostas às altas concentrações de ATMs, impactando a vida humana, animal e todos os seres vivos do ecossistema, visto que se multiplicam rapidamente, sofrem mutação e são promíscuas, podendo trocar material genético entre linhagens de mesma espécie ou de espécies diferentes, sendo considerados microrganismos de alta capacidade de adaptação ambiental (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010).

Atualmente, variados estudos relatam a evidência do uso antropogênico extenso de ATMs e o crescente número de bactérias resistentes a diversas classes desses fármacos. A aquisição de resistência antimicrobiana pode ocorrer no meio ambiente como resultado da absorção direta de genes codificadores de resistência aos ATMs por vários mecanismos, como elementos genéticos móveis (plasmídeos, integrons, cassetes gênicos ou transposons), assim como a capacidade das bactérias sobreviverem em ambientes com altas concentrações de biocidas, metais pesados e elementos tóxicos (LEONARD *et al.*, 2018).

O surgimento de bactérias expressando novos genes codificadores de resistência se intensificou nos últimos anos, principalmente como resultado da pressão seletiva (BECEIRO; TOMÁS; BOU, 2013). Estudos apontam crescente número de isolados bacterianos produtores de carbapenamases de fontes não humanas como, por exemplo, a *Salmonella entérica* subsp. *entérica* sorovar *Kentucky*, uma espécie zoonótica (encontrada em frangos, perus e bovinos), isolada em 2010, na Europa em humanos, expressando resistência a ciprofloxacina, cefalosporinas, carbapenêmicos, quinolonas, aminoglicosídeos, sulfametoxazol e azitromicina. Na investigação deste isolado encontrou-se genes codificadores das enzimas OXA-48, VIM-2, CTX, CMY localizados no cromossomo e plasmídeo, e, através da caracterização molecular, foi identificada como novo clone, *S. Kentucky* ST198-X1. Logo após, este clone ST198-X1 foi identificado em animais de corte, ração para

animais, no meio ambiente e em alimentos embutidos. Este achado deixou a comunidade científica em alerta para possíveis surtos de diarreia no mundo e de difícil tratamento. Além disso, esta espécie, na maioria das vezes, apresenta CIM muito baixa, não sendo detectada na rotina do laboratório de microbiologia comum; sendo de fundamental importância para a saúde pública compreender os nichos destas bactérias (HELLO *et al.*, 2013).

As origens dos genes codificadores das carbapenemases adquiridas têm sido alvo de pesquisa para melhor entendimento de sua disseminação. Estudos têm mostrado as enzimas OXA-48 e OXA-181 ocorrem naturalmente em *Shewanella* spp., gênero que habita naturalmente sedimentos de lagos (PORIEL; HERITIER; NORDMANN, 2004; POTRON; PORIEL; NORDMANN, 2011); assim como a enzima OXA-23, que é quase totalmente restrita à espécie *A. baumannii*, cuja origem foi da espécie ambiental *Acinetobacter radioresistens* (PORIEL; FIGUEIREDO; CATTOIR, 2008). Por estas razões, pesquisar genes codificadores de carbapenemases por PCR ou abordagens metagenômicas em amostras ambientais tem valor limitado se a espécie hospedeira não for determinada. Há vários relatos de carbapenemases de isolados de esgotos e águas residuais a jusante de hospitais e em espécies clinicamente relevantes. Este cenário não é surpreendente quando observamos a contaminação do meio ambiente com resíduos sanitários de estabelecimentos de saúde e domiciliar, onde podem disseminar espécies bacterianas resistentes (WOODFORT *et al.*, 2014).

A alta diversidade e a variedade de novos contextos genéticos comprovam que a evolução de novas combinações de genes de resistência está ocorrendo em alta frequência nos rios, onde ocorre a liberação de efluentes das estações de tratamento e repositório de esgoto através do transbordamento de águas pluviais. A identificação de bactérias entéricas altamente resistentes no meio ambiente representa ameaça à saúde humana e animal (AMOS *et al.*, 2014).

Nos últimos anos, pesquisas têm isolado carbapenemases tipo NDM, VIM e OXA-48 em enterobactérias de origem de animais de companhia, animais de produção e meio ambiente (solo e água). Este fato alerta para pesquisas investigatórias centradas na origem e nas formas de disseminação dos clones de resistência. As investigações dos genes de resistência em estudos retrospectivos trazem limitações nas análises dos resultados, devido à dificuldade de identificar sua origem, e dessa forma, controlar a disseminação fica prejudicada (WOODFORT *et al.*,

2014). Exemplificando este fato, pode-se citar a pesquisa de genes de resistência em animais de companhia, a transmissão de única cepa de *K. pneumoniae* com carbapenemase OXA-48 em vários cães em uma clínica veterinária revela que a higienização das mãos na medicina veterinária é tão importante quanto na medicina humana para prevenir e controlar a disseminação de bactérias resistentes (WOODFORT *et al.*, 2014).

Liu *et al.* (2016) descreveram a emergência do gene plasmidial, *mcr-1*, em *E. coli* conferindo resistência à colistina, de origem animal e humana na China. No Brasil, Fernandes *et al.* (2016) também encontraram o gene *mcr-1* em *E. coli* isoladas em suínos e frangos. Neste contexto, o uso de ATMs na criação de animais, como promotor e crescimento, a contaminação das águas e solo pelos resíduos sanitários, têm contribuído para o aumento da disseminação de bactérias resistentes, e se tornado um problema sanitário grave, principalmente em países sem saneamento básico ou com saneamento básico deficiente (LEONARD *et al.*, 2018).

No Reino Unido, dados de vigilância de bactérias multirresistentes presentes em animais, seres humanos e meio ambiente são essenciais para se compreender a movimentação dos genes em diferentes populações bacterianas. Há evidências que genes de resistência aos ATMs presentes em bactérias comensais em animais podem ser transferidos para bactérias patogênicas aos seres humanos, via consumo de produtos de origem animal. (WOODFORT *et al.*, 2014).

A vigilância na medicina veterinária, no Reino Unido, divulgou no relatório de 2018, sobre a resistência aos ATMs e o consumo desses fármacos. O relatório apresenta pela primeira vez dados sobre o uso de antibióticos nas indústrias de carne bovina, truta e salmão, além das indústrias de carnes de aves, suínos, laticínios, aves de caça e galinhas poedeiras. O uso de ATMs em animais caiu acentuadamente mais uma vez e em padrões que refletem o foco no uso responsável (UK-VARSS, 2018). Monitorar o uso e a resistência bacteriana, principalmente dos ATMs de uso na clínica humana, em animais e nos alimentos é atualmente a política de urgência no mundo (WOODFORT *et al.*, 2014).

A resistência microbiana é um problema de saúde pública, humana e animal, associada a diversos fatores no mundo, sendo reconhecida pela OMS como uma das grandes ameaças à saúde humana, tornando-se relevante considerar, de forma multidisciplinar, visto que não há solução definitiva para a resistência microbiana em

função da dinamicidade da evolução biológica dos organismos vivos (BLAIR *et al.*, 2015).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme as normas do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente da UNIVILLE, este capítulo é apresentado na forma de artigo científico, de acordo as normas de publicação do *Journal of Hospital Infection*.

ARTIGO 1 – Infecção por bacilos Gram negativos multirresistentes em unidade de terapia intensiva: Fatores predisponentes e mortalidade associada.

Authors' names and affiliations:

Roseneide Campos Deglmann^{1*}, Helbert do Nascimento Lima^{1,2}, Marcelo Pilonetto^{3,4}, Paulo Henrique Condeixa de França¹

¹Post-graduate Program in Health and Environment, University of Region of Joinville – UNIVILLE, Joinville-SC, Brazil, Zip Code 89.219-710.

²São José Municipal Hospital, Joinville-SC, Brazil, Zip Code 89.202-000.

³Department of Medicine, Pontifical Catholic University of Paraná, School of Medicine, Curitiba, PR, Brazil

⁴Bacteriology Sector, Central Laboratory of Paraná State, São José dos Pinhais, PR, Brazil

Corresponding author:

Roseneide Campos Deglmann

Post-graduate Program in Health and Environment, University of Region of Joinville – UNIVILLE, Joinville-SC, Brazil.

Paulo Malschitzki St., nº 10. Joinville, SC, Brazil. CEP 89.219-710

E-mail: ph.franca@univille.br

Telephone: +55(47) 34619197

Fax: +55(47) 34619000

ORCID: 0000.000156362709

RESUMO

Background: Bacilos Gram-negativos multirresistentes (BGN-MR) tornaram-se um problema de saúde pública relevante no mundo, incluindo o Brasil.

Objetivo: Investigar fatores predisponentes para infecção por BGN-MR e sua associação com mortalidade em unidade de terapia intensiva (UTI).

Método: Coorte prospectiva realizada durante dois anos numa UTI de hospital brasileiro. Pacientes com permanência mínima de 72 horas e que adquiriram Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) foram estratificados em BGN-MR e BGN-não-MR (BGN-NMR). Os dados foram analisados por regressão logística usando-se modelos univariado e multivariado. Genes responsáveis por carbapenemases foram investigados via reação em cadeia de polimerase.

Resultado: Durante o estudo, 176 pacientes desenvolveram IRAS por BGN, sendo 80 (45,5%) por BGN-MR. *Klebsiella pneumoniae* (38,8%) e o complexo *Acinetobacter calcoaceticus* - *A. baumannii* (ABC; 36,3%) estavam significativamente mais representados entre os BGN-MR. Todos os isolados do ABC apresentaram os genes *bla*_{OXA-23-like} e *bla*_{OXA-51-like}, enquanto *bla*_{KPC} foi identificado em 74% das *K. pneumoniae*. Internação hospitalar >4 dias antes da admissão na UTI (OR: 2,19; IC 95%: 1,15-4,16; p=0,017) e uso de antimicrobianos prévio ao diagnóstico de HAI (OR: 2,04; IC 95%: 1,02-4,08; p=0,043) constituíram fatores de risco independentes para infecção por BGN-MR. O desenvolvimento de IRAS por BGN-MR associou-se à mortalidade. Todos os pacientes infectados com BGN pan-resistente (4 *K. pneumoniae* e 1 *Enterobacter aerogenes*) morreram.

Conclusão: Permanência hospitalar prolongada, assim como o uso prévio de antimicrobianos, contribuem significativamente para o risco de desenvolver infecção por BGN-MR quando o paciente é internado na UTI, com conseqüente impacto na mortalidade dos pacientes acometidos.

Palavras-chave: Infecção relacionada à assistência à saúde, Multirresistência, Fatores de risco, Unidade de terapia intensiva

ABSTRACT

Background: Multidrug-resistant Gram-negative bacilli (MDR-GNB) have become a serious and challenging public health problem worldwide, especially in healthcare-associated infections (HAI) at intensive care units (ICU).

Aim: To investigate the risk factors for the acquisition of MDR-GNB and their association with mortality in ICUs and to verify the genotypic resistance profiles of ATMs.

Methods: A prospective cohort study was conducted on ICU patients admitted to a Brazilian public hospital between January 1st, 2016 and December 31st, 2017. Patients who acquired HAI by GNB after 72 hours were stratified into two groups: MDR-GNB and non-MDR-GNB (NMDR-GNB). Carbapenemases and *mcr-1* were investigated via polymerase chain reaction.

Findings: Of the 255 patients included, 176 (69%) developed GNB infection. Of these, 80 (45.5%) had MDR-GNB and 96 (54.5%) NMDR-GNB. In multivariate logistic analysis, hospitalization 4 days before ICU admission ($p=0.017$) and previous use of ATMs ($p=0.043$) were independent risk factors for MDR-GNB acquisition. The factor associated with mortality was the presence of MDR-GNB ($p=0.005$). *Klebsiella pneumoniae* (38.8%) and *Acinetobacter calcoaceticus* – *A. baumannii* complex (ABC; 36.3%) were predominant among MDR-GNB, while *Pseudomonas aeruginosa* (32.3%) among the NMDR-GNB isolates ($p<0.001$). All ABC isolates presented *bla*_{OXA-23-like} and *bla*_{OXA-51-like}; 74% of *K. pneumoniae* or *bla*_{KPC}, of these 02 isolates had *bla*_{KPC} and *bla*_{VIM} and one *P. aeruginosa* isolate with the *bla*_{VIM} gene.

Conclusion: Patient's hospitalization >4 days and previous use of ATM were the main risk factors for MDR-BGN and their association was related to mortality. *K. pneumoniae* – KPC and ABC producer of oxacillinases prevailed in infections in the BGN-MR group.

Keywords: Healthcare-associated infection; Multidrug-resistance; Risk factors; Intensive care units

1. Introdução

As Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) por bactérias multirresistentes são um problema de dimensão global, e de ameaça significativa à saúde humana [1-2]. Essas infecções estão frequentemente relacionadas a aumentos da mortalidade, tempo de hospitalização e custos, principalmente no contexto de unidades de terapia intensiva (UTIs), onde pacientes gravemente doentes, geralmente requerem terapia antibiótica e procedimentos invasivos e apresentam maior risco de desenvolver IRAS [3,4].

Diversas bactérias têm demonstrado diferentes padrões de resistência a variadas classes de antimicrobianos, porém o crescente número de isolados bacterianos MR é uma condição crítica no mundo [3,5,6].

As infecções por bactérias MR são particularmente comuns em hospitais no mundo. Quase 8% dos pacientes hospitalizados desenvolvem IRAS, e 20% dos quais podem ser causados por um patógeno MR [7]. O *Center for Disease Control and Prevention* relata que quase 1,7 milhão de pacientes hospitalizados nos EUA adquirem IRAS anualmente enquanto recebem tratamento para outros problemas de saúde, e quase 99.000 desses morrem em decorrência dessas infecções [8]. E quando há envolvimento de bactérias MR os índices superam 2 milhões de IRAS e cerca de 23.000 óbitos anualmente [9]. Na União Européia, com base nos dados de 2016, estima-se que mais de 12.000 pacientes adquiriram IRAS anualmente nas UTIs, e cerca de 25.000 óbitos/ano tiveram associação com bactérias MR [10]. Estudos epidemiológicos na Europa e nos Estados Unidos têm relatado o impacto de bacilos gram-negativos MR em pacientes hospitalizados, principalmente nas UTIs, e o aumento de Enterobacteriaceae, *Pseudomonas* spp e *Acinetobacter* spp produtores de carbapenemases responsáveis por inúmeras infecções e surtos nos hospitais [11].

Estudo realizado pelo programa de vigilância antimicrobiana SENTRY aos longos dos 20 anos (1997- 2016), analisou o perfil de resistência das Enterobacteriaceae em 42 países, incluindo a América latina. As taxas de Enterobacteriaceae resistentes a carbapenêmicos (CRE) aumentaram de 0,6% (1997-2000) para 2,9% (2013-2016). Nos EUA, Ásia-pacífico e Europa as taxas de CRE chegaram 1,5%, 1,9% e 2,8%, respectivamente. Os níveis mais elevados foram observados na América Latina, onde as taxas de CRE passaram de 0,8% para 6,4%, sendo o gene *bla*_{KPC} predominante [12]. No Brasil a *K. pneumoniae* produtora de KPC foi descrita pela primeira vez em 2006 [13], e nos últimos anos à incidência aumentou

significativamente. Pereira et al. (2013) observaram que a disseminação do gene *bla*_{KPC-2} em *K. pneumoniae* é devida à dispersão de Tn4401 em diferentes clones e à disseminação de um complexo clonal (CC11), no qual os tipos de sequência (STs) 437 e 11 desempenharam um papel importante [14].

No mundo estima-se que 700.000 pacientes morrem por infecções causadas pelas bactérias MR anualmente, e até o ano de 2050 a estimativa é de 10 milhões de óbitos, com um impacto financeiro de US\$100 trilhões, caso não sejam desenvolvidas ações conjuntas de combate a esse problema de saúde pública [15]. Diante deste cenário, a Organização Mundial de Saúde (OMS) divulgou a lista de prioridades de bactérias MR, as quais destacou a *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e Enterobacteriaceae resistentes aos carbapenêmicos como prioridade crítica (número 1) para pesquisas epidemiológicas e pesquisa & desenvolvimento de novos antimicrobianos [16].

Apesar de serem conhecidos alguns fatores de risco para a ocorrência de infecções por BGN-MR, existem situações inerentes ao paciente, às políticas de uso dos ATMs, ao perfil epidemiológico local e ao padrão de resistência dos patógenos circulantes que diferem entre as instituições de saúde e que precisam ser melhor compreendidas quanto ao impacto nessas infecções [1,3].

Este estudo objetivou investigar os fatores de risco para aquisição de IRAS por BGN-MR e sua associação com a mortalidade, de uma coorte internada na unidade de terapia intensiva (UTI), além de verificar os perfis fenotípico e genotípico dos BGN-MR identificados.

2. Métodos

2.1 Desenho e local do estudo

Um estudo de coorte prospectiva foi realizado entre 1º de janeiro de 2016 e 31 de dezembro de 2017, envolvendo 2.124 pacientes internados na UTI de hospital geral público, no sul do Brasil. O hospital possui 279 leitos (sendo 20 leitos de UTI destinada para pacientes adultos, com uma média de 89 internações/mês) e é um centro de atendimento terciário com aproximadamente 9.000 internações anuais.

2.2 Composição dos grupos de pacientes

Inicialmente, foram incluídos todos os pacientes, com idade igual ou maior que 18 anos, com HAI diagnosticada na UTI após 72 horas de internação e que

tiveram confirmação mediante cultura microbiológica positiva. Após a definição do perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos, aqueles pacientes com infecção causada por BGN compuseram a amostra final do estudo, sendo estratificados em dois grupos: BGN-MR e BGN-NMR quanto à evidência ou não de multirresistência, respectivamente. As HAI foram definidas de acordo com os critérios da *National Healthcare Safety Network* [17]. Pacientes que desenvolveram mais de um episódio de IRAS durante o período avaliado ou que foram transferidos para outras instituições de saúde foram excluídos do estudo. Devido à importância global e à relevância epidemiológica no Brasil, principalmente nas UTIs, somente foram consideradas as HAI causadas por BGN pertencentes à família *Enterobacteriaceae* ou ao grupo dos BGN não fermentadores.

2.3 Fonte de dados e variáveis

Os dados demográficos, clínicos, microbiológicos e desfechos foram coletados de prontuários eletrônicos, das fichas de busca ativa e dos laudos das culturas microbiológicas disponíveis no serviço de controle de infecção do hospital.

As variáveis investigadas foram: idade, gênero, comorbidades, tais como: Doença Cardíaca Isquêmica – DCI (infarto agudo do miocárdio, revascularização miocárdica ou angioplastia previa); Doença Pulmonar Obstrutiva – DPOC; Acidente Vascular Cerebral – AVC; Diabetes Mellitus; Hipertensão Arterial Vascular- HAS; tabagismo; tempo de hospitalização antes da admissão na UTI; tempo de permanência na UTI antes e após o diagnóstico de IRAS; Uso de dispositivos invasivos; Tempo de suporte ventilatório; procedimento cirúrgico e uso de ATMs prévio ao episódio da infecção; tipo de IRAS; patógeno isolado e seu perfil de suscetibilidade aos ATMs; esquema terapêutico (monoterapia ou terapia combinada) e desfecho (alta ou óbito).

2.4 Isolados clínicos e perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos

A identificação dos isolados clínicos e o teste fenotípico de susceptibilidade aos antimicrobianos foram realizados pelo sistema Vitek 2 (bioMérieux, Marcy l'Etoile, França) e a interpretação ocorreu de acordo com os padrões da *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) [18,19]. A susceptibilidade à polimixina B foi definida pela

concentração inibitória mínima (CIM), determinada pelo método de microdiluição em caldo (POLICIMBAC[®], Probac, São Paulo, Brasil), e a interpretação conforme estabelecido pelo *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* [20]. A multirresistência antibiótica foi definida pelos critérios de Magiorakos et al. 2011 [21].

As espécies de BGN resistentes aos carbapenêmicos e apresentando maior frequência nesse estudo foram investigadas quanto à presença de genes codificantes para as metalo- β -lactamases, serino- β -lactamases e oxacilinasas de maior circulação no território brasileiro. Além destes, o gene *mcr-1* foi investigado para todos os isolados resistentes às polimixinas, exceto os isolados com resistência intrínseca. Todos os ensaios foram realizados via Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), em aparelho XP Cyler (BIOER Technology, Tóquio, Japão). O DNA total dos isolados foi extraído via choque térmico e utilizado numa quantidade entre 50 e 500 ng na PCR [22,23]. Para os genes codificadores de oxacilinasas (*bla*_{OXA-23-like}, *bla*_{OXA-24-like}, *bla*_{OXA-51-like}, *bla*_{OXA-58-like} e *bla*_{OXA-143-like}) nos isolados do complexo *Acinetobacter calcoaceticus* – *A. baumannii* utilizou-se PCR Multiplex, empregando-se os iniciadores descritos por Higgins *et al.* [24] e Woodford *et al.* [25]. A desnaturação inicial foi realizada a 94°C por 3 min, seguida de 30 ciclos envolvendo 1 min a 94°C, 30 seg a 52°C e 1 min a 72°C. A extensão final foi realizada a 72°C por 10 minutos. Já a investigação dos genes *bla*_{KPC}, *bla*_{VIM}, *bla*_{IMP}, *bla*_{NDM}, *bla*_{SPM}, *bla*_{OXA-48-like} e *mcr-1* ocorreram em reações individuais, utilizando-se iniciadores específicos e parâmetros de termociclagem para cada sequência alvo, conforme descrito anteriormente [13, 26-30].

2.5 Análise estatística

As variáveis numéricas são apresentadas pela mediana e sua variação interquartil, considerando a dispersão das medidas apresentadas. As variáveis categóricas são apresentadas em números absolutos e porcentagens. O teste t de Student ou teste U de Mann-Whitney foi utilizado para comparar as variáveis numéricas entre os grupos BGN-MR versus BGN-NMR; já para as variáveis categóricas foi utilizado os testes qui quadrado ou teste exato de Fischer para comparação das frequências das variáveis entre os mesmos grupos.

Para avaliar as variáveis preditoras para a presença de BGN-MR durante a internação na UTI foi realizado análise univariada através de regressão logística. Todas as variáveis que na análise univariada apresentaram um valor

de $p < 0,20$ foram incluídos no modelo multivariado através de regressão logística por método *stepwise backward*. No modelo multivariado foi mantido fixo as variáveis idade (mediana da idade, > 65 anos) e o sexo (referência masculino). A utilização de dispositivos médicos (CVC e CV) quanto a predição de HAI por BGN-MR não foi incluída nas análises em razão de sua presença ter sido superior a 95% dos casos. Para ambas as análises foi estimado o intervalo de confiança de 95% e o nível de significância foi definido em um valor de $p < 0,05$. As análises foram realizadas através do programa Statistical Package for Social Sciences (SPSS) versão 23 (Inc., Chicago, Illinois, EUA).

O estudo recebeu aprovação pelos Comitês de Ética em Pesquisa da Universidade da Região de Joinville -Univille (n.1599756) e do Hospital Regional Hans Dieter Schmidt (n. 1613535).

3. Resultados

Durante o período do estudo, 2.124 pacientes foram internados na UTI, tendo 330 (15,5%) adquirido um único episódio de IRAS. Destes, 58 (17,6%) foram diagnosticados somente pelos critérios clínicos e 17 (5,2%) foram transferidos para outras instituições de saúde, totalizando 75 (22,5%) casos excluídos. Dos 255 pacientes que apresentaram IRAS confirmada laboratorialmente, em 176 (69%) casos evidenciou-se envolvimento de BGN, sendo 80 (45,5%) BGN-MR e 96 (54,5%) BGN-NMR, como mostrado no [Suplemento Apêndice A](#).

As características demográficas e clínicas dos pacientes de ambos os grupos estão resumidas na [tabela I](#). A distribuição dos sexos, idade, comorbidades e uso de dispositivos invasivos entre os dois grupos foi semelhante. Quanto aos procedimentos cirúrgicos prévios à IRAS, os pacientes do grupo BGN-MR foram mais frequentemente submetidos a procedimentos abdominais (50%), enquanto cirúrgicas cardíacas (61%) ocorreram mais no grupo BGN-NMR. Houve diferenças significativas entre os grupos para a ocorrência dos diferentes patógenos e quanto ao esquema terapêutico utilizado para tratar a infecção.

3.1 Fatores de risco para o desenvolvimento de IRAS por BGN-MR

As variáveis para identificação dos fatores de risco para aquisição de IRAS por BGN-MR foram primeiramente selecionadas por meio dos resultados da análise univariada ([tabela II](#)). As variáveis apresentando $p < 0,20$ foram incluídas na regressão

logística multivariada, mantendo-se fixos a idade > 65 anos e o sexo masculino. A [tabela II](#) também apresenta os resultados do modelo multivariado, expressos via OR com IC 95%) e valores de P para cada variável independente. O nível de referência para cada categoria é indicado entre parênteses para cada variável. Nesse caso, OR > 1 prevê uma maior probabilidade de adquirir IRAS por BGN-MR em comparação com o nível de referência.

Os fatores de risco preditores identificados como os mais relevantes para aquisição de IRAS causadas por BGN-MR foram a internação hospitalar >4 dias antes da admissão na UTI (OR: 2,19; IC 95%: 1,15 - 4,16) e o uso de antimicrobianos antes do diagnóstico da IRAS (OR: 2,04; IC 95%: 1,02 - 4,08). Os pacientes com doença cardíaca isquêmica apresentaram menor risco para desenvolver IRAS por BGN-MR, fato provavelmente explicado pelo menor tempo de internação na UTI e consequente menor exposição a patógenos nesse ambiente.

3.2 Fatores de riscos associados a mortalidade

Por meio da regressão logística univariada, observou-se que acidente vascular cerebral, tempo de permanência ≥ 8 dias na UTI, tempo de ventilação mecânica > 7 dias prévio ao diagnóstico de IRAS, terapia antimicrobiana combinada e IRAS causada por BGN-MR constituíram fatores de risco preliminarmente associados à mortalidade ([Tabela III](#)). No entanto, quando tais variáveis foram incluídas na análise multivariada através de regressão logística por método *stepwise backward*, a associação à mortalidade foi observada apenas para a presença de BGN-MR (HR=2,28; IC: 1,29 - 4,03; p=0,005). Portanto, os pacientes do grupo BGN-MR apresentaram risco de óbito cerca de duas vezes superior aos sujeitos do grupo BGN-NMR. Por outro lado, a terapia antimicrobiana realizada de forma combinada mostrou-se um fator protetor para a ocorrência de mortalidade (HR=0,53; IC:0,29 - 0,98, p=0,045) ([Tabela III](#)).

A taxa de mortalidade entre os pacientes acompanhados até 30 dias após o diagnóstico de IRAS na UTI avaliada foi de 64% (72/112) vs 36% (40/112) sobreviventes. Entre os pacientes que morreram 53% (38/72) tiveram associado a infecção por BGN-MR e 47% (34/72) por BGN-NMR. Por outro lado, entre os pacientes que sobreviveram 60% (24/40) e 40% (16/40) apresentaram infecção por BGN-NMR e BGN-MR, respectivamente. Todos os pacientes infectados com GNB pan-resistente morreram.

3.3 Detecção do perfil de susceptibilidade de bacilos Gram negativos

As principais espécies isoladas entre os 176 pacientes, considerando apenas um e primeiro isolamento de BGN para cada sujeito foram *Klebsiella pneumoniae* (48 casos; 27.3%), seguido pela *Pseudomonas aeruginosa* (46 casos; 26%) e o complexo *A. calcoaceticus* - *A. baumannii* (ABC) (38 casos; 21.6%), e as demais espécies estão especificadas na tabela I. No grupo BGN-MR, *Klebsiella pneumoniae* (31/80;38.8%), ABC (29/80; 36.2%) e *P. aeruginosa* (12/80; 15%) prevaleceram entre os isolados. Por sua vez, no grupo BGN-NMR as espécies mais isoladas foram *P. aeruginosa* (31/96; 32.3%), *K. pneumoniae* (17/96; 17.7%) e *Serratia marcescens* (14/96; 14.6%), conforme detalhado na tabela IV.

No grupo BGN-MR, todos (n=29) os isolados ABC possuíam os genes *bla*_{OXA-23-like} e *bla*_{OXA-51-like}. Em relação à *K. pneumoniae*, 74% (23/31) eram portadores do gene *bla*_{KPC} e dois isolados apresentaram concomitantemente o gene *bla*_{VIM}. Um único isolado de *P. aeruginosa* foi portador do gene *bla*_{VIM}. Cinco isolados foram identificados pan-resistentes, sendo 04 *K. pneumoniae* e 01 *E. aerogenes*. Outros genes investigados que codificam carbapenemases, assim como o gene *mcr-1*, não foram detectados.

As espécies *K. pneumoniae* portadora de KPC (78%; 18/23) e ABC portadoras de *bla*_{OXA-23-like} e *bla*_{OXA-51-like} (52%;15/29) estiveram associadas a maioria dos óbitos.

4. Discussão

Nos últimos anos, a incidência de IRAS, principalmente as infecções da corrente sanguínea e pneumonias associadas a procedimentos invasivos, causadas por BGN-MR portadores de carbapenemases, aumentou em diversos países, causando grande preocupação quanto ao controle de infecções e à segurança dos pacientes no ambiente hospitalar e na comunidade [31]. Porém, ainda há poucos estudos avaliando os preditores para aquisição de bactérias multirresistentes e decorrentes taxas de mortalidade, especialmente nos países em desenvolvimento. Por isso, esse estudo objetivou analisar os fatores de risco para o desenvolvimento de IRAS causadas pelos BGN-MR durante a permanência na UTI e identificar sua associação com a mortalidade e avaliar as principais carbapenemases presentes nos patógenos mais frequentes.

Um dos fatores de risco observados como significativos para aquisição de BGN-MR na população estudada foi internação hospitalar maior que 4 dias antes da admissão na UTI (OR:2,19; p=0,017). Resultados semelhantes foram observados por

Nseir *et al.*, tendo sido constatado que o risco de infecção por *P. aeruginosa* ou *A. baumannii* multirresistente na UTI era duas (OR:2,3) a quatro vezes (OR:4,3) superior, respectivamente, quando o paciente fez uso de leito de internação que previamente havia sido ocupado por paciente nos quais as mesmas bactérias e perfis de resistência haviam sido identificados [32]. Ajao *et al.* mostraram que o risco de aquisição de BGN produtores de β -lactamases de amplo espectro (ESBL) é 1,39 vezes maior para indivíduos que permaneceram em leitos previamente ocupados por pacientes diagnosticados com *E. coli* e *K. pneumoniae* produtoras de ESBL; além disso, por meio da investigação da relação clonal por *Pulsed-field Gel Electrophoresis* (PFGE) constataram que 18% dos casos apresentavam a mesma filogenia [33]. Por outro lado, estudos comprovaram que a internação de pacientes identificados com bactérias multirresistentes em leito individual contribui significativamente para o controle da transmissão cruzada em UTI [34].

Em nosso estudo, o uso de antimicrobianos antes do diagnóstico de IRAS também constituiu um preditor para aquisição de BGN-MR (OR:2,04; $p=0,043$), tendo sido constatado que carbapenêmicos (41%) e piperacilina/tazobactam (38%) foram os antibióticos mais utilizados entre os pacientes do grupo BGN-MR, enquanto no grupo BGN-NMR a cefepime (29,5%) foi a mais utilizada. Corroborando com estes resultados, no estudo de Nseir *et al.*, o uso de carbapenêmicos, piperacilina/tazobactam e aminoglicosídeos foram fatores de risco para aquisição de enterobactérias produtoras de ESBL, assim como de *P. aeruginosa* e *A. baumannii* multirresistentes [32]. Papadimitriou-Olivgeris *et al.* também identificaram o uso prévio de carbapenêmicos, polimixina (colistina) e aminoglicosídeos como fator de risco para a aquisição de *K. pneumoniae* portadoras de KPC [35], enquanto noutros estudos, o uso de piperacilina/tazobactam, cefalosporinas de 3ª geração e fluoroquinolonas foram fatores de risco para infecção por enterobactérias produtoras de KPC e *A. baumannii* multirresistentes [5, 37].

Sexo, idade e comorbidades não constituíram fatores de risco para a aquisição de IRAS por BGN-MR no presente estudo. Resultados semelhantes foram encontrados em outros estudos [1,32]. Entretanto, em diferentes estudos, outras características como a ocorrência de AVC, demência, câncer, doença cardiovascular, doença renal, diabetes, DPOC, doença cerebrovascular e HAS foram identificadas como preditoras para infecções por BGN-MR em pacientes internados na UTI [6, 31, 32]. Embora essas variáveis não tenham demonstrado significância na análise

multivariada neste estudo, consideramos que podem agregar riscos potenciais para o desenvolvimento de infecção, devendo ser incluídas em novas pesquisas, especialmente quando associadas à gravidade clínica dos pacientes e à circulação de bactérias multirresistentes na UTI.

Infecção por BGN-MR foi confirmada como um fator associado à mortalidade na população estuda (HR:2,28; p=0,005). Barrasa-Villar *et al.* também observaram que os BGN-MR aumentam o risco de mortalidade (HR:1,7) quando comparando com infecções por BGN susceptíveis aos antimicrobianos [36]. Jarrell *et al.* relataram que 34% dos pacientes críticos internados em duas UTIs no hospital *Johns Hopkins*, EUA, que desenvolveram IRAS por BGN-MR morreram antes de receber alta hospitalar [37]. Outro estudo comparando a evolução dos pacientes com IRAS por BGN-MR vs. BGN-NMR, internados em UTIs, evidenciaram taxas de mortalidade variando entre 14% e 92% e entre 4% a 54%, respectivamente [3]. Ou seja, neste aspecto, nossos resultados são consistentes com a maioria dos dados equivalentes já reportados. É relevante destacar que a taxa de mortalidade entre os pacientes acompanhados até 30 dias na UTI, após o diagnóstico da infecção, foi maior naqueles do grupo BGN-MR. Além disso, esses morreram mais cedo, ocorrendo óbito geralmente nos primeiros sete dias após o diagnóstico (24% vs. 18%), o que ressalta a importância de se compreender melhor os fatores associados ao aumento do risco de mortalidade entre pacientes graves internados na UTI para propiciar medidas adequadas de prevenção e controle das infecções.

De acordo com diferentes estudos brasileiros, os BGN como *A. baumannii* e *K. pneumoniae* resistentes aos carbapenêmicos são as espécies mais prevalentes nas infecções nos hospitais em anos recentes, além de responsáveis pela maioria dos surtos [38,39]. Considerando o desafio imposto pela multirresistência bacteriana, em conjunto com fatores inerentes ao paciente e aos serviços de cuidados à saúde, cabe destacarmos que *K. pneumoniae* expressando KPC e ABC produtores de OXA-51 e OXA-23 foram as espécies mais frequentes dentre os casos de óbitos no presente estudo. Além disso, todos os pacientes que apresentaram infecção por BGN resistente a todos os antimicrobianos investigados foram a óbito.

Os dados disponíveis na literatura apontam, persistentemente, para o uso inadequado de antimicrobianos como a principal causa do aparecimento e disseminação de bactérias multirresistentes em UTIs [1,4,5, 35]. Entretanto, permanece em aberto a definição completa dos fatores de risco associados à

aquisição de IRAS por BGN-MR e o subsequente desfecho clínico, pois os resultados reportados variam amplamente em razão dos diferentes desenhos de estudo, e da investigação de apenas uma espécie bacteriana ou algumas poucas espécies relacionadas à infecção específica, além de questões próprias e inerentes ao ambiente investigado [31,34]. Tais constatações reforçam a necessidade de mais investigações considerando-se as condições locais de cada ambiente, de modo a orientar o direcionamento dos protocolos de tratamento, as medidas de prevenção e o controle de IRAS nas UTIs.

Esse estudo tem algumas limitações. A principal limitação diz respeito à impossibilidade de nossos resultados serem extrapolados diretamente para outras instituições de saúde, em razão de ter sido conduzido num único hospital e, portanto, afetado por suas características específicas. Adicionalmente, não foi possível contar com *scores* de gravidade de cada paciente internado, assim como não estavam disponíveis informações sobre o tempo de uso dos antimicrobianos, a adequação da terapia antibiótica e os eventuais atrasos na implementação do tratamento, limitando o número de variáveis independentes que poderiam ser incluídas na predição de risco. Também não determinamos a clonalidade dos isolados clínicos e, portanto, não conseguimos distinguir se os principais BGN-MR identificados são endêmicos ou epidêmicos.

5. Conclusão

Tempo de hospitalização maior que 4 dias e uso prévio de antimicrobianos foram fatores preditores para o desenvolvimento de IRAS causadas por BGN-MR na UTI investigada. Por sua vez, infecção por BGN-MR apresentou-se como fator independente associado à mortalidade. *K. pneumoniae* expressando KPC e ABC produtor de oxacilinases prevaleceram como principais BG-MR nesse estudo.

Agradecimentos

Os autores agradecem as equipes do serviço de controle e prevenção de infecção do Hospital Regional Hans Dieter Schmidt e do Laboratório de Biologia Molecular de Universidade da Região de Joinville.

Conflito de interesses

Os autores declaram que não há conflito de interesses.

Apoio financeiro

Este trabalho recebeu apoio financeiro do Fundo de Apoio à Pesquisa de Universidade da Região de Joinville (FAP / UNIVILLE) e do Fundo de Apoio para a Manutenção e Desenvolvimento do Superior Educação em Santa Catarina (FUMDES / SC).

Referências

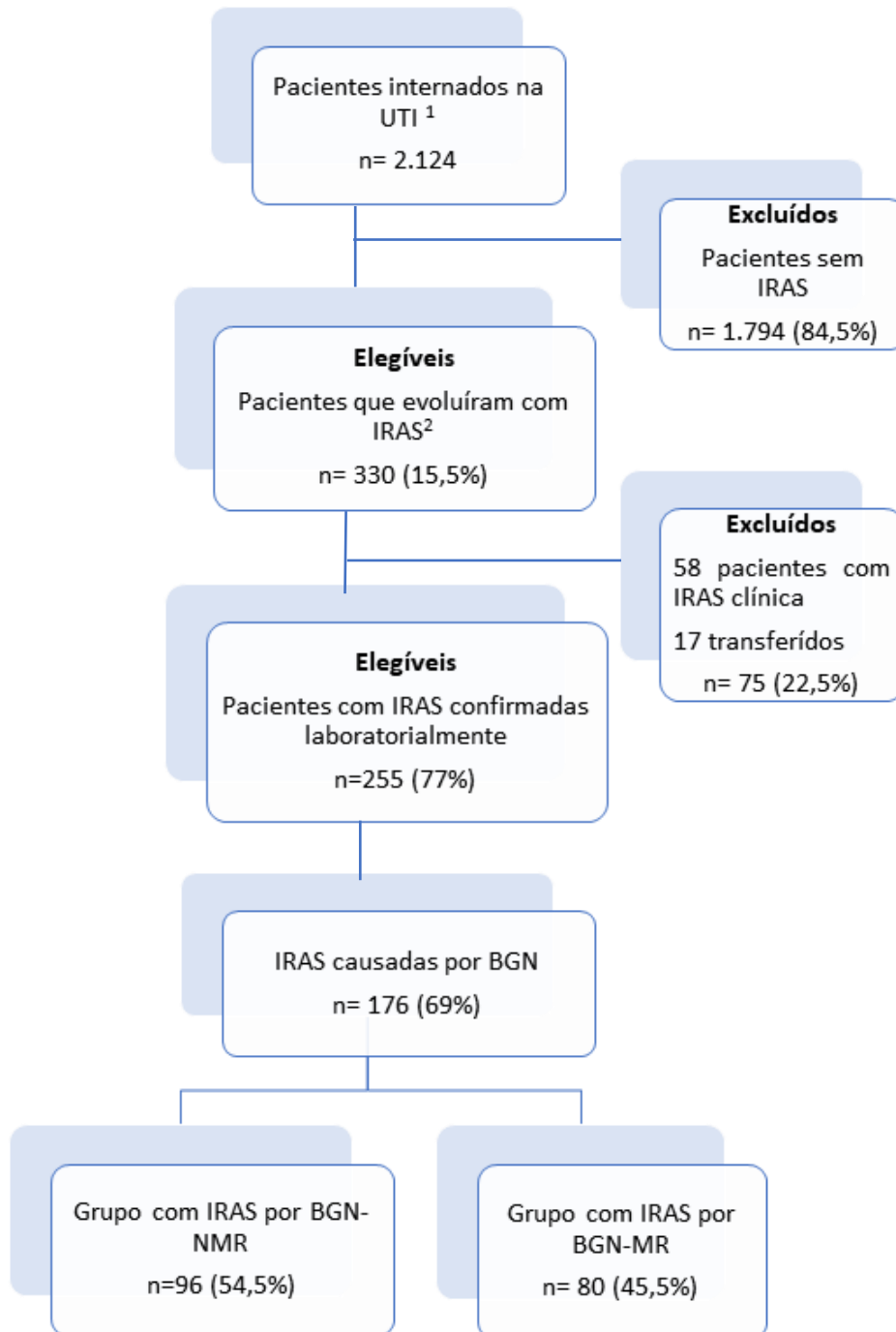
- [1] Quintero ES, Echeverri-toro L, Ospina SO. Factores clínicos asociados a multirresistencia bacteriana en un hospital de cuarto nivel. *Infecto* 2015; 19: 161-7. Doi.org/10.1016/j.infect.2015.04.003
- [2] World Health Organization (WHO). Antimicrobial Resistance - A Manual for developing national action plans. Geneva 2016.
- [3] Vardakas KZ et al. Predictors of mortality in patients with infections due to multi-drug resistant Gram negative bacteria: The study, the patient, the bug or the drug? *J Infect* 2013; 66: 401-14. Doi:10.1016/j.jinf.2012.10.028
- [4] Lambert ML et al. Clinical outcomes of health-care-associated infections and antimicrobial resistance in patients admitted to European intensive-care units: a cohort study. *Lancet Infect Dis* 2011; 11: 30-8. Doi: 10.1016/S1473-3099(10)70258-9
- [5] Akgul F et al. Risk factors and mortality in the carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection: case control study. *Pathog Glob Health* 2016; 110:321-5. Doi:10.1080/20477724.2016.1254976
- [6] Tumbarello M et al. Infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: differences in therapy and mortality in a multicentre study. *J Antimicrob Chemother* 2015;70:2133–43. Doi:10.1093/jac/dkv086
- [7] Sievert DM et al. Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2009-2010. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2013; 34:1-14. Doi: 10.1086/668770
- [8] Marchetti A, Rossiter R. Economic burden of healthcare-associated infection in US acute care hospitals: societal perspective. *J Med Econ*, 2013; 16, 12:1399-1404. Doi: 10.3111/13696998.2013.842922
- [9] Centers for Disease control and Prevention (CDC). Antibiotic Resistance threats in the United States, United States, 2013.
- [10] European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Healthcare-associated infections acquired in intensive care units. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2016, Stockholm, 2018.
- [11] Paramythiotou E, Routsis C. Association between infections caused by multidrug-resistant Gram-negative bacteria and mortality in critically ill patients. *World J Crit Care Med* 2016; 5:111-20. Doi: 10.5492/wjccm.v5.i2.111
- [12] Castanheira M et al. Variations in the Occurrence of Resistance Phenotypes and Carbapenemase Genes Among Enterobacteriaceae Isolates in 20 Years of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Resistance Trends in*

- Enterobacteriaceae · Open Forum Infect Dis 2019; 6S: 23-33. Doi: 10.1093/ofid/ofy347.
- [13] Monteiro J, Santos AF, Asensi MD, Peirano G, Gales AC. First Report of KPC-2 producing *Klebsiella pneumoniae* Strains in Brazil. Antimicrob Agents chemother 2009; 53:333-4. Doi:10.1128/AA.00736-08
- [14] Pereira OS et al. Update of the molecular epidemiology of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* in Brazil: spread of clonal complex 11 (ST11, ST437 and ST340). J Antimicrob Chemother, 2013; 68:312 –16. Doi: 10.1093/jac/dks396
- [15] O'NEILL, J. Tackling Drug-Resistant Infections Globally: final report and recommendations. Reino Unido: Review Antimicrobial Resistance, 2016.
- [16] World Health Organization (OMS). Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics; 2017:1-7.
- [17] Centers for Disease Control and Prevention. National Healthcare Safety Network (NHSN) patient safety component manual, 2019. Disponível em: https://www.cdc.gov/nhsn/pdfs/pscmanual/pscmanual_current.pdf [acesso Apr 2019].
- [18] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 26th ed. CLSI supplement M100S, Wayne, Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2016.
- [19] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 27th ed. CLSI supplement M100. Wayne, Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2017.
- [20] EUCAST (Ed.). Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing – BrCAST: Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos, 2017.
- [21] Magiorakos AP. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clin Microbiol Infect 2011;18:268-281. Doi:10.1111/j.1469-0691.2211.03570.x
- [22] Vaneechoutte M, Dijkshoorn L, Tjernberg I, Elaichouni A, de Vos P, Claeys G et al. Identification of *Acinetobacter* genomic species by amplified ribosomal DNA restriction analysis. J Clin Microbiol 1995;33:11-5.
- [23] Baratto CM, Megiolaro F. Comparação de diferentes protocolos de extração de DNA de bactérias para utilização em RAPD-PCR. Unoesc & Ciência – ACET, Joaçaba 2012;3:121-30.

- [24] Higgins PG, Lehmann M, Seifert H. Inclusion of OXA-143 primers in a multiplex polymerase chain reaction (PCR) for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp. *Int. J antimicrob Agents* 2010;35:305. Doi:10.1016/j.ijantimicag.2009.10.014
- [25] Woodford N et al. Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp. *Int J Antimicrob Agents* 2006;27:351-3. Doi: 10.1016/j.ijantimicag.2006.01.004
- [26] Mendes RE, Kiyota KA, Monteiro J. Rapid Detection and Identification of Metallo- β -Lactamase-Encoding Genes by Multiplex Real-Time PCR Assay and Melt Curve Analysis. *J Clin Microbiol* 2007;45:544–7. Doi:10.1128/JCM.01728-06.
- [27] Poirel L, Walsh TR, Cuviller V, Nordmann P. Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2011;70:119-23. Doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2010.12.002.
- [28] Ellington M J, Kistler J, Livermore DM & Woodford N. Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding acquired metallo- β -lactamases. *J Antimicrob Chemother* 2007;59:321–2. Doi.org/10.1093/jac/dkl481
- [29] Monteiro J, Widen RH, Pignatari ACC. Rapid detection of carbapenemase genes by multiplex real-time PCR. *J Antimicrob Chemother* 2012;9:01-4. Doi:10.1093/jac/dkr563
- [30] Liu Yil-Yun et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism *mcr-1* in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis* 2016;16:161-8. Doi:10.1016/S1473-3099(15)00424-7
- [31] Restrepo JL. Factores de riesgo asociados a infecciones por bacterias multirresistentes derivadas de la atención en salud en una institución Hospitalaria de la ciudad de Medellín 2011-2014. *Infectio* 2016;20:77-83. Doi.org/10.1016/j.infect.2015.09.002.
- [32] Nseir S et al. Risk of acquiring multidrug-resistant Gram-negative bacilli from prior room occupants in the intensive care unit. *Clin Microbiol Infect* 2011;17:1201-08. Doi:10.1111/j.1469-0691.2010.03420.x
- [33] Ajao AO et al. Risk of Acquiring Extended-Spectrum β -Lactamase–Producing *Klebsiella* Species and *Escherichia coli* from Prior Room Occupants in the Intensive Care Unit. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2013;34:453–8. Doi:10.1086/670216
- [34] Halaby T et al. Impact of single room design on the spread of multi-drug resistant bacteria in an intensive care unit. *Antimicrob Resist Infect Control* 2017;6:01-10. Doi:10.1186/s13756-017-0275-z

- [35] Papadimitriou-oliveris M et al. KPC-producing *Klebsiella Pneumoniae* enteric colonization acquired during intensive care unit stay: the significance of risk factors for its development and its impact on mortality. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2013;77:169-173. Doi:10.1016/j.diagmicrobio.2013.06.007
- [36] Barrasa-Villar, J. Ignacio et al. Impact on Morbidity, Mortality, and Length of Stay of Hospital-Acquired Infections by Resistant Microorganisms. *Clin Infect Dis* 2017;65:644-652. Doi:**10.1093/cid/cix411**
- [37] Jarrell AS et al. Factors associated with in-hospital mortality among critically ill surgical patients with multidrug-resistant Gram-negative infections. *J Crit Care* 2018; 43:321-6. Doi:10.1016/j.jcrc.2017.10.035
- [38] Braga IA et al. Multi-hospital point prevalence study of healthcare-associated infections in 28 adult intensive care units in Brazil. *J Hosp Infect.* 2018; 99:318-24. Doi:10.1016/j.jhin.2018.03.003
- [39] Góngora Rubio F, Oliveira VD, Rangel RM, Nogueira MC, Almeida MT. Trends in bacterial resistance in a tertiary university hospital over one decade. *Braz J Infect Dis* 2013; 17:480-2. Doi.org/10.1016/j.bjid.2012.12.004

Suplemento Apêndice A.

Figura 1: Fluxograma dos pacientes para composição dos Grupos BGN-NMR e BGN-MR

1: número de pacientes internados na UTI durante o período do estudo; 2: total de IRAS diagnosticadas na UTI (somente pelos critérios clínicos e as IRAS confirmadas pela cultura).

Fonte: elaborado pela autora

Tabela I – Comparação das características demográficas e clínicas de pacientes dos grupos BGN-MR vs BGN-NMR internados na UTI

características demográficas e Clínicas	BGN-NMR (n=96)		BGN-MR (n=80)		Valor p
Idade, anos, (média ± SD)	65	16,7	66	18,5	0,684
Gênero, n (%)					
Homens	62	64,6	55	68,8	0,673
Comorbidades, n (%)					
Tabagismo	16	16,7	12	15,0	0,925
Diabetes Mellitus	24	25,0	25	31,3	0,452
Hipertensão Arterial Sistêmica	33	34,4	32	40,0	0,540
Doença Cardíaca Isquêmica	15	15,6	7	8,8	0,252
Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica	11	11,5	5	6,3	0,351
Acidente Vascular Cerebral	8	8,3	8	10,0	0,905
Cirurgia Prévia a IRAS, n (%)	31	32,3	26	32,5	1,000
Tipo de cirurgia, n (%)					0,082
Cardíaca	19	61,3	9	34,6	
outras	12	38,7	17	65,4	
Uso de dispositivos invasivos, n (%)					
Cateter Venoso Central	94	97,9	78	97,5	1,000
Cateter Vesical	94	97,9	80	100	1,000
Hospitalização prévia UTI (mediana, VIQ)	3	1,7	5	1,1	0,096
Internação na UTI (mediana, VIQ)	25	14,4	21	13,4	0,952
Internação prévia IRAS (mediana, VIQ)	8	4,1	8,5	5,2	0,367
Tempo de VM (mediana, VIQ)	25	11,4	20	10,5	0,983
Tempo de VM prévia a IRAS (mediana, VIQ)	8	4,1	8	4,2	0,608
Tipo de IRAS					0,637
PAV	68	70,8	52	65,0	
ITU	15	15,6	17	21,3	
IPCS	13	13,6	11	13,7	
Patógenos isolados nas IRAS, n (%)					<0,001
Complexo <i>A. calcoaceticus-A. baumannii</i>	5	5,2	29	36,3	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	17	17,7	31	38,8	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	31	32,3	12	15,0	
outros	43	44,8	8	10,0	
Uso de ATMs prévio à IRAS, n (%)					0,130
Sim	62	64,6	61	76,3	
Terapia ATMs, n (%)					0,008
Monoterapia	68	70,8	40	50,0	

BGN: Bacilo Gram negativo; MR: multirresistente; NMR: não multirresistente; VIQ: variação interquartil; IRAS: infecção relacionada à assistência à saúde; UTI: Unidade de Terapia Intensiva; PAV: pneumonia associada a VM; ITU: infecção do trato urinário; IPCS: infecção primária da corrente sanguínea; ATMs: antimicrobianos; VM: ventilação mecânica.

Tabela II – Regressão logística univariada e multivariada de fatores de risco para aquisição de IRAS por BGN-MR em pacientes internados na UTI

Variáveis	Análise Univariada				Análise Multivariada			
	OR	95% CI	p		OR	95% CI	p	
Idade >65 anos	1,16	0,64	2,11	0,620	1,13	0,61	2,10	0,700
Gênero Masculino	1,21	0,64	2,27	0,560	1,31	0,68	2,54	0,425
Tabagismo	0,88	0,39	1,99	0,764				
DM	0,73	0,38	1,42	0,358				
HAS	0,78	0,42	1,45	0,442				
DCI	0,52	0,2	1,34	0,175	0,35	0,13	0,97	0,044
DPOC	0,51	0,17	1,55	0,238				
AVC	1,22	0,44	3,42	0,702				
Cirurgia Prévia à IRAS	1,01	0,54	1,9	0,977				
Internação prévia à UTI (>4 dias)	1,85	1,05	3,38	0,045	2,19	1,15	4,16	0,017
Internação na UTI prévia à IRAS (≥ 8 dias)	1,29	0,71	2,33	0,408				
Tempo de VM prévia à IRAS (>7 dias)	1,05	0,58	1,9	0,869				
Uso de ATM prévia à IRAS	1,76	0,91	3,42	0,095	2,04	1,02	4,08	0,043

DM: diabetes mellitus; HAS: hipertensão arterial sistêmica; DCI: doença cardíaca isquêmica; DPOC: doença pulmonar obstrutiva crônica; AVC: acidente vascular cerebral; IRAS: infecção relacionada à assistência à saúde; UTI: unidade de terapia intensiva; VM: ventilação mecânica; ATM: antimicrobiano; OR: odd ratio; CI: confidence interval.

Tabela III – Regressão logística univariada e multivariada das variáveis associadas a mortalidade em pacientes com IRAS, internados na UTI

variáveis	Análise Univariada			Análise Multivariada		
	HR	95% CI	p	HR	95% CI	Valor p
Idade	1,00	0,98 1,02	0,803	1,00	0,98 1,02	0,939
Gênero Masculino	1,01	0,55 1,85	0,973	1,02	0,55 1,87	0,948
Cirurgia Prévia à IRAS, sim	0,8	0,43 1,51	0,492			
Tabagismo, sim	0,81	0,38 1,72	0,583			
DM, sim	1,27	0,71 2,28	0,413			
HAS, sim	0,76	0,42 1,37	0,358			
DCI, sim	0,60	0,22 1,67	0,330			
DPOC, sim	0,98	0,39 2,46	0,965			
AVC, sim	0,34	0,08 1,41	0,138			
Internação prévia à UTI (>4 dias)	1,00	0,97 1,03	0,934			
Internação na UTI prévia à IRAS (≥ 8 dias)	0,95	0,9 1,01	0,113			
Tempo de VM prévia à IRAS (> 7 dias)	0,96	0,9 1,02	0,151			
BGN-MR, sim	1,96	1,13 3,42	0,017	2,28	1,29 4,03	0,005
Uso de ATM prévia à IRAS, sim	0,95	0,53 1,69	0,859			
Terapia ATM combinada, sim	0,66	0,36 1,19	0,170	0,53	0,29 0,98	0,045

IRAS: infecção relacionada à assistência à saúde; DM: diabetes mellitus; HAS: hipertensão arterial sistêmica; DCI: doença cardíaca isquêmica; DPOC: doença pulmonar obstrutiva crônica; AVC: acidente vascular cerebral; UTI: unidade de terapia intensiva; VM: ventilação mecânica.; BGN-MR: bacilos Gram negativos multirresistentes; ATM: antimicrobiano; HR: hazard ratio; CI: confidence interval.

Tabela IV– Distribuição dos isolados nos grupos BGN-MDR vs BGN-NMDR

	BGN (176)		BGN-NMR (96)		BGN-MR (80)	
	n	n	%	n	%	
<i>Enterobacteriaceae</i>	92	56	58	36	45	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	48	17	17.7	31	38.8	
<i>Serratia marcescens</i>	14	14	14.6	-	-	
<i>Escherichia coli</i>	9	7	7.3	2	2.5	
Complexo <i>E. cloacae</i>	8	6	6.2	2	2.5	
<i>Enterobacter aerogenes</i>	5	4	4.2	1	1.2	
Outros	8	8	8.3	-	-	
Bacilos Gram negativos não fermentadores	84	40	42	44	55	
Complexo <i>A. calcoaceticus-A. baumannii</i>	34	5	5.2	29	36.2	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	43	31	32.3	12	15	
Complexo <i>Burkholderia cepacia</i>	4	4	4.2	-	-	
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	3	-	-	3	3.8	

Outros: *Proteus mirabilis* (n=5); *Citrobacter Koseris* (n=2); *Klebsiella oxytoca* (n=1)

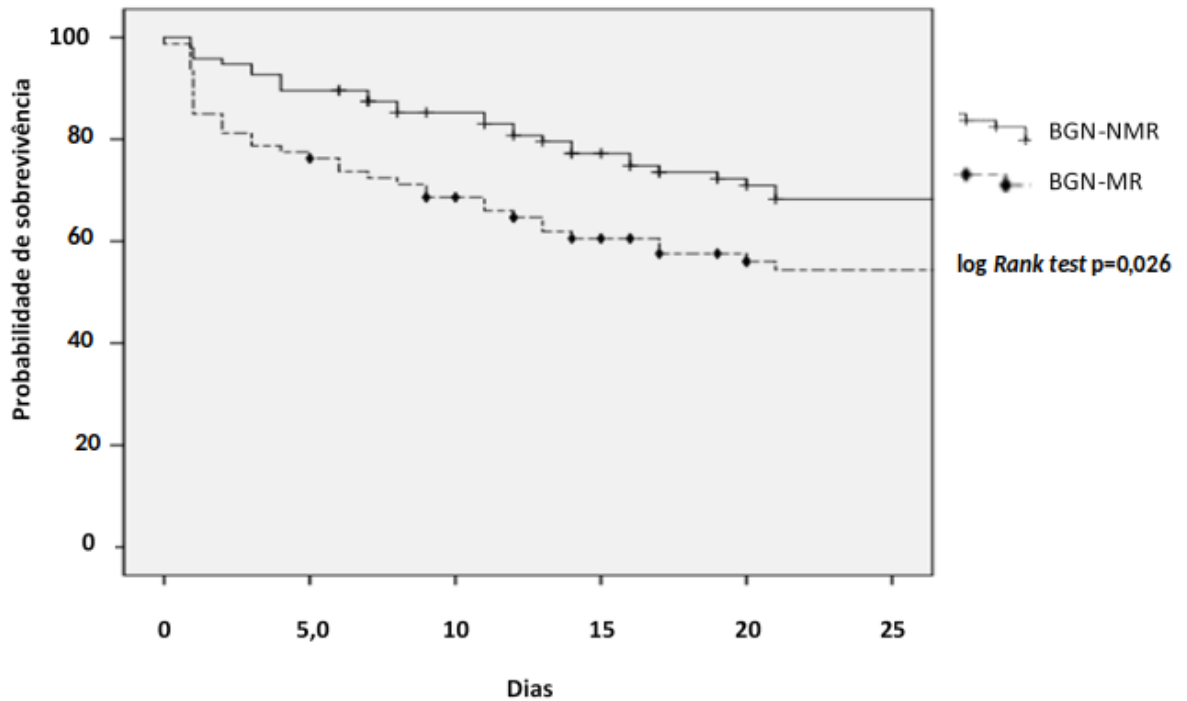
Resultados complementares

Tabela V - Perfil de resistência aos ATMs dos BGN-MR isolados de IRAS em pacientes internados na UTI (n=176)

Bacilos Gram negativos	BGN-MR N (%)
Enterobactérias	36 (45)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	31 (86)
Resistente à cef. 3 ^a e 4 ^a geração	08 (26)
Resistente à cef. 3 ^a e 4 ^a geração e carbapenêmicos	23 (74)
Resistente à fluoroquinolonas	31 (100)
<i>Enterobacter spp</i>	03 (8,3)
Resistente à cef. 3 ^a e 4 ^a geração	02 (67)
Resistente à cef. 3 ^a e 4 ^a geração e carbapenêmicos	01 (33)
Resistente à fluoroquinolonas	02 (67)
<i>Escherichia coli</i>	02 (5,5)
Resistente às cef. 3 ^a e 4 ^a geração	02 (100)
Resistente à fluoroquinolonas	02 (100)
Bacilos Gram negativo não fermentadores	44 (55)*
Complexo <i>Acinetobacter calcoaceticus-A. baumannii</i>	29 (66)
Resistente à carbapenêmicos	29 (100)
Resistente à fluoroquinolonas	29 (100)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12 (27)
Resistente à carbapenêmicos	12 (100)
Resistente às cef 3 ^a e 4 ^a e fluoroquinolonas e carbapenêmicos	07 (58,3)

* 03 isolados foram *S. maltophilia*.

Figura 2 – Curvas Kaplan-Meier de sobrevivência de pacientes com IRAS por BGN-MR vs. BGN-NMR, internados na UTI por 21 dias após a confirmação diagnóstica.



BGN-MR: Bacilo Gram negativo-multirresistente; BGN-NMR: bacilo Gram negativo-não multirresistente; IRAS: infecção relacionada à assistência à saúde; n=149; BGN-MR:n= 66; BGN-NMR:n= 83.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo, a partir dos objetivos propostos, permitiram as seguintes conclusões:

- A distribuição das variáveis gênero, idade, comorbidades e uso de dispositivos invasivos foi semelhante entre os grupos BGN-MR e BGN-NMR, estando os homens mais representados na população investigada, cuja mediana das idades considerando ambos os gêneros foi de 65 anos.
- Nos dois grupos investigados, as infecções do trato respiratório inferior foram as mais frequentes, seguidas pelas infecções do trato urinário e da corrente sanguínea, tendo a espécie *K. pneumoniae* e o ABC causado a maior parte das IRAS no grupo BGN-MR, enquanto *P. aeruginosa* esteve mais presente entre os BGN-NMR.
 - No grupo BGN-MR, as espécies com alto perfil fenotípico de resistência aos ATM foram às pertencentes ao ABC, *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa*.
- Entre os isolados BGN-MR, as carbapenemases mais frequentes foram KPC e as oxacilinases OXA-23 e OXA-51.
- Os fatores de risco para aquisição de IRAS por BGN-MR foram a internação em leito hospitalar superior a 4 dias antes da admissão na UTI e uso prévio de ATMs antes do diagnóstico da infecção;
- As IRAS causadas por BGN-MR apresentaram-se como um fator independente associado à mortalidade dos pacientes acometidos, porém não foi possível confirmar uma relação direta com a mortalidade nesse estudo. Além disso, segundo a estimativa de sobrevida analisada pela curva de Kaplan-Meier, considerando a mediana de tempo de permanência (21 dias) na UTI investigada, os pacientes diagnosticados com IRAS por BGN-MR tiveram menor probabilidade de sobrevida;
- A taxa de mortalidade na UTI entre os pacientes acompanhados até 30 dias após o diagnóstico da infecção foi de 64%, tendo os pacientes do grupo BGN-MR apresentado maior taxa nos primeiros 7 dias após o diagnóstico (24% vs. 18% BGN-NMR);
- Pacientes com IRAS por BGN-MR morreram mais precocemente e as bactérias que predominaram nos casos de óbitos foram *K. pneumoniae* portadoras de KPC

e o ABC apresentando OXA-23 e OXA-51. Todos os pacientes com IRAS por BGN com perfil pan-resistente foram a óbito.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo demonstra a que a mortalidade associada às IRAS causadas pelos BGN-MR é alta em pacientes internados em UTI e, em parte, refletindo falhas no tratamento empírico. Portanto, a administração antimicrobiana apropriada é de suma importância dada a crescente limitação das opções terapêuticas.

Aqui apontamos fatores de risco associados à aquisição de IRAS por BGN-MR e o decorrente impacto na sobrevivência de pacientes internados em UTIs. Assim, reforça-se a necessidade de estudos adicionais equivalentes no território brasileiro, contribuindo para a melhoria dos serviços de assistência à saúde e a garantia da qualidade de segurança dos pacientes.

Esse estudo apresentou algumas limitações, que devem ser reconhecidas na interpretação dos nossos resultados. Primeiramente, os *scores* de gravidade da condição clínica dos pacientes não puderam ser avaliados devido à falta dessa informação no ambiente estudado. Além disso, a taxa de mortalidade em nosso estudo reflete os óbitos ocorridos exclusivamente na UTI, não refletindo a taxa de óbito hospitalar global. Também não foi possível avaliar a adequação antibiótica, tanto nas monoterapias como nas terapias combinadas, assim como eventuais atrasos na implementação dos tratamentos com ATMs, o que pode ter influenciado os resultados apresentados. Adicionalmente, não determinamos a clonalidade dos isolados e, portanto, não conseguimos distinguir se os principais BGN-MR identificados são endêmicos ou epidêmicos. Por fim, reconhecemos que os dados advindos de um único hospital podem contribuir com estratégias a serem adotadas localmente, mas não garantem validade externa.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, S.L. *et al.* **Manual of Clinical Microbiology**. 10th edition, ASM Press, 2011.
- ADHIKARI, N.K. *et al.* Critical care and the global burden of critical illness in adults. **The Lancet**, Gordon, v. 376, n. 9749, p.1339-1346, out. 2010.
- AKGUL, F. *et al.* Risk factors and mortality in the carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection: case control study. **Pathog Glob Health**, v.110, p.321-325, 2016.
- AIRES, C.A.M *et al.* Emergence of the plasmid-mediated mcr-1 gene in clinical KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* sequence type 392 in Brazil. **Antimicrob Agents Chemother**, v.61, n.7 e00317-17, julh. 2017.
- AMBLER, R.P. The structure of beta-lactamases. **Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci**, v.16, n. 289(1036), p. 321-31, may. 1980.
- AMBROSINO, N; GABBRIELLI, L. The difficult-to-wean patient. **Expert Ver Respir Med**, v.4, p.685–92, 2010.
- AMBROSINO, N.; VITACCA, M. The patient needing prolonged mechanical ventilation: a narrative review. **Multidiscip Respir Med**, Montescano, v. 13, n. 1, p.1-10, 26 fev. 2018.
- BAPTISTA, M.G.F.M. Mecanismos de Resistência aos Antibióticos. 2013. Dissertação (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia, Lisboa, 2013
- BARATTO, C.M; MEGIOLARO, F. Comparação de diferentes protocolos de extração de DNA de bactérias para utilização em RAPD-PCR. **Unoesc & Ciência – ACET**, Joaçaba, v. 3, n. 1, p. 121-130, jan./jun. 2012
- BARRASA-VILLAR, J.I. *et al.* Impact on Morbidity, Mortality, and Length of Stay of Hospital-Acquired Infections by Resistant Microorganisms. **Clin Infect Dis**, v. 65, n. 4, p. 644-652, maio 2017.
- BARROS LM *et al.* Prevalência de microrganismo e sensibilidade antimicrobiana de infecções hospitalares em unidade de terapia intensiva de hospital público no Brasil. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Fortaleza, v. 3, n. 33, p.429-435, 2012.
- BARTOLLETI, F.; SECO, B.M.S.; SANTOS, C.C. *et al.* Polymyxin B Resistance in Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae*, São Paulo, Brazil. **Emerg Infect Dis**, Oct, v. 22, n.10, p. 1849-51, 2016
- BAUERNFEIND, A.J.M. *et al.* A new plasmidic cefotaximase in a clinical isolate of *Escherichia coli*. **Infection**, v. 18, p. 294-8, 1990.

BARENFANGER, J.; DRAKE, C.; KACICH, G. Clinical and Financial Benefits of Rapid Bacterial Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing. **J Clin Microbiol**, v. 37, n.5, p. 1415–1418, 1999.

BEBRONE, C. Metallo- β -lactamases (classification, activity, genetic organization, structure, zinc coordination) and their superfamily. **Biochem Pharmacol**, Liege, v. 74, n. 12, p.1686-1701, dez. 2007.

BECEIRO, A.; TOMAS, M.; BOU, G. Antimicrobial Resistance and Virulence: A Successful or Deleterious Association in the Bacterial World? **Clin Microbiol Rev**, v. 26, n. 2, p.185-230, 1 abr. 2013.

BHARGAVA, D.; KAR, S.; SAHA, M. Prevalence of Non-Fermentative Gram Negative Bacilli Infection in Tertiary Care Hospital in Birgunj, Nepal. **Int J Curr Microbiol Appl Sci**, v.4, n.7, p.301-307, 2015.

BLAIR, J.M.A. *et al.* Molecular mechanisms of antibiotic resistance. **Nat Rev Microbiol**, v. 13, n. 1, p.42-51, 1 dez. 2015.

BONNET, R. *et al.* A novel CTX-M β -lactamase (CTX-M-8) in cefotaxime-resistant Enterobacteriaceae isolated in Brazil. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 44, n. 7, p. 1936-42, 2000.

BONNIN, R.A.; POIREL, L.; NORDMANN, P. New Delhi metallo-lactamase-producing *Acinetobacter baumannii*: a novel paradigm for spreading antibiotic resistance genes. **Future Microbiol**, v.9, p. 33–41, 2014.

BOROWIAK, M.; FISCHER, J.; HAMMERL, J.A. Identification of a novel transposon-associated phosphoethanolamine transferase gene, *mcr-5*, conferring colistin resistance in d-tartrate fermenting *Salmonella entérica* subsp. *entéricas* e sorovar *Paratyphi B*. **J Antimicrob Chemother**, v.72, n.12, p.3317-24, 2017.

BOURBEAU, P.P.; POHLMAN, J.K. Three Days of Incubation May Be Sufficient for Routine Blood Cultures with Bact/Alert FAN Blood Culture Bottles. **J Clin Microbiol**, v. 39, n. 6, p. 2079–2082, 2001. *J Clin Microbiol*

BRADFORD, P.A. Extended-Spectrum-Lactamases in the 21st Century: Characterization, Epidemiology, and Detection of This Important Resistance Threat. **Clin Microbiol Rev**, v. 14, n. 4, p.933-951, 1 out. 2001.

BRADFORD, P.A.; BRATU, S.; URBAN, C. *et al.* Emergence of carbapenem-resistant *Klebsiella* species possessing the class A carbapenem-hydrolyzing KPC-2 and inhibitor-resistant TEM-30 β -lactamases in New York City. **Clin Infect Dis**, v.39, n.1, p.55–60, 2004.

BRAGA, I.A *et al.* Multi-hospital point prevalence study of healthcare-associated infections in 28 adult intensive care units in Brazil. **J Hosp Infection**, v. 99, n. 3, p.318-324, jul. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Decreto nº 77.052/MS/GM, de 19 de janeiro de 1976. Dispõe sobre a fiscalização sanitária das condições de exercício de profissões e ocupações técnicas e auxiliares, relacionadas diretamente com a saúde. Diário Oficial da União, Brasília: 1976.

BRASIL. Ministério da Saúde. lei nº 6437/MS/GM, de 20 de agosto de 1977. Dispõe: Configura infrações à legislação sanitária federal, estabelece as sanções respectivas, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília:1977.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 196/MS/GM, de 24 de junho de 1983. instituiu a implantação de Comissões de Controle de Infecção Hospitalar em todos os hospitais do país, independentemente de sua natureza jurídica. Diário Oficial da União, Brasília: 1983.

BRASIL. Ministério da Saúde. lei nº 9.431/MS/GM, de 06 de janeiro de 1997. Dispõe sobre a obrigatoriedade da manutenção de programa de controle de infecções hospitalares pelos hospitais do País. Diário Oficial da União, Brasília: 1997.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 529/MS/GM, de 12 de maio de 1998. Expede, na forma dos anexos I, II, III, IV e V, diretrizes e normas para a prevenção e controle das infecções hospitalares. Diário Oficial da União, Brasília: 1998.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 2616/MS/GM, de 12 de maio de 1998. dispõe sobre a obrigatoriedade da manutenção pelos hospitais do país, de Programa de Controle de Infecções Hospitalares. Diário Oficial da União, Brasília: 1998.

BRASIL, ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Indicadores Nacionais de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde**. Brasília: ANVISA, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Resolução RDC nº20/MS/GM**, de 05 de maio de 2011. Dispõe sobre o controle de medicamentos à base de substâncias classificadas como antimicrobianos, de uso sob prescrição, isoladas ou em associação. Brasília: GGTES/ANVISA, 2011.

BRASIL, ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria nº 158/2012**. Institui a Comissão Nacional de Prevenção e Controle de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (CNCIRAS). Brasília: ANVISA, 2012.

BRASIL, ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria nº 529/2013**. Institui o Programa Nacional de Segurança do Paciente (PNSP). Brasília, Brasil: ANVISA, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Resolução RDC nº36/MS/GM**, de 25 de julho de 2013. Institui ações para a segurança do paciente em serviços de saúde e dá outras providências. Brasília: GGTES/ANVISA, 2013a.

BRASIL, ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Programa Nacional de Prevenção e Controle de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (2013-2015)**. Brasília: ANVISA, 2013b.

BRASIL, ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Medidas de prevenção e controle de Infecções por enterobactérias Multirresistentes. **NOTA TÉCNICA Nº 01/2013**. Brasília: ANVISA, 2013c.

BRASIL, ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Nota Técnica Nº 01/2014** Vigilância e Monitoramento das Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) e Resistência Microbiana (RM) em serviços de saúde. Brasília: ANVISA, 2014.

BRASIL, ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Infeções do Trato Urinário e Outras Infecções do Sistema Urinário**: Medidas de Prevenção de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde. Brasília: ANVISA, 2016.

BRASIL, ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Programa Nacional de Prevenção e Controle de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (2016-2020)**. Brasília: ANVISA, 2016a.

BRASIL, ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Boletim de Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de Saúde nº 14**. Brasília: ANVISA, 2016b.

BRASIL, ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Plano Nacional para a Prevenção e o Controle da Resistência Microbiana nos Serviços de Saúde**. Brasil: ANVISA, 2017.

BRASIL, ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Boletim de Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de Saúde nº 16**. Brasília: ANVISA, 2017a.

BRASIL, ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Boletim Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de Saúde nº 17**. Brasília, Brasil: ANVISA, 2019.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Plano de ação nacional de prevenção e controle da resistência aos antimicrobianos no âmbito da saúde única 2018-2022 (PAN-BR)**. Brasília: Ministério da Saúde, 2018.

BRUSSELAERS, N.; VOGELAERS, D.; BLOT, S. The rising problem of antimicrobial resistance in the intensive care unit. **Ann Intensive Care**, v.1, n.47, p.1-7, 2011.

BUGEDO, G.; EGAL, M.; BAKKER, J. Prolonged mechanical ventilation and chronic critical illness. **J Thorac Dis**, v. 8, n. 5, p.751-753, may. 2016.

BUSH, K.; JACOBY, G.A.; MEDEIROS, A.A. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. **Antimicrob Agents Chemother**, v.39, n.6, p.1211-33, jun. 1995

BUSH, K.; JACOBY, G.A. Updated Functional Classification of -Lactamases. **Antimicrob Agents and Chemoth**, v. 54, n. 3, p.969-976, dez. 2010.

BUSH, K.; BRADFORD, P.A. β -Lactams and β -Lactamase Inhibitors: An Overview. **Cold Spring Harb Perspect Med**, v. 6, n. 8, p.1-23, jun. 2016.

CANTÓN, R. *et al.* Rapid evolution and spread of carbapenemases among Enterobacteriaceae in Europe. **Clin Microbiol Infect**, v.18, n.5, p.413-31, may 2012.

CARLET, J.; PULCINI, C.; PIDDOCK, L.J.V. Antibiotic resistance: a geopolitical issue. **Clin Microbiol Infect**, v. 20, n. 10, p.949-953, out. 2014.

CARRER, A *et al.* Spread of OXA-48-encoding plasmid in Turkey and beyond. **Antimicrob Agents Chemother**, v.54, p.1369 – 1373, 2010.

CARRETTO, E. *et al.* Detection of *mcr-4* positive *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* in clinical isolates of human origin, Italy, October to November 2016. **Euro Surveill**, v.23, n.2, p.17-00821, 2018.

CARRILLO-ESPER, R.; PEÑAHERRERA-OVIEDO, C.A.; TAMARIZ-AMADOR, L.E. Enfermedad crítica crónica. **Med Int Mex**, v. 30, p.176-190, 2014. *Med Int Mex*

CARSON, S.S. *et al.* A multicenter mortality prediction model for patients receiving prolonged mechanical ventilation. **Crit Care Med**, v.40, n.4, p.1171-6, april. 2012.

CARATTOLI, A. *et al.* Novel plasmid-mediated colistin resistance *mcr-4* gene in *Salmonella* and *Escherichia coli*, Italy 2013, Spain and Belgium, 2015 to 2016. **Euro Surveill**, v.22, n.31, p.30589, 2017.

CARVALHO-ASSEF, A.P. *et al.* *Escherichia coli* producing KPC-2 carbapenemase: Firts report in Brazil. **Diagn Microbiol Infect Dis**, v.68, p. 337-8, 2010.

CARVALHO-ASSEF, A.P. *et al.* Isolation of NDM-producing *Providencia rettgeri* in Brazil. **J Antimicrob Chemother**. Dec, v.68, n.12, p.2956-7, 2013.

CASSINI, A.; HÖGBERG, L.D.; PLACHOURAS, D. Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis. **Lancet Infect Dis**, v.19, p. 56–66, 2019.

CASTANHEIRA, M *et al* Molecular characterization of a β -lactamase gene, blaGIM-1, encoding a new subclass of metallo- β -lactamases. **Antimicrob Agents Chemother**, v.48, n.12, p.4654-4661, 2004.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Antibiotic Resistance threats in the United States**, United States, 2013.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **WINNABLE BATTLES FINAL REPORT**. Atlanta, p. 44, 2016.

CHAGAS, T.P.G. *et al.* Occorrence of KPC-2 producing *Klebsiela pneumoniae* strains in hospital wastewater. **J Hosp Infect**, v.77, n.3, p. 281, 2011.

CHAGAS, T.P.G. *et al.* Detection of an NDM-1-producing *Acinetobacter bereziniae* strain in Brazil. **J Glob Antimicrob Resist**, v.3, n.2, p.147-148, 2015.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**. 26th ed. CLSI supplement M100S, Wayne, Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2016.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**. 27th ed. CLSI supplement M100. Wayne, Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2017.

CONCEIÇÃO-NETO, O.C. *et al.* Detection of the plasmid-mediated *mcr-1* gene in clinical KPC-2-producing *Escherichia coli* isolates in Brazil. **Int J Antimicrob Agents**, v. 50, n.2, p.282-284. 2017.

COQUE, T.M. *et al.* Dissemination of clonally related *Escherichia coli* strains expressing extended-spectrum beta-lactamase CTX-M-15. **Emerg Infect Dis**, v.14, p. 195–200, 2008.

CORNEJO-JUÁREZ, P. *et al.* The impact of hospital-acquired infections with multidrug-resistant bacteria in na oncology intensive care unit. **Int J Infect Dis**, v. 31, p.31-34, fev. 2015.

CHUNG, K.P. *et al.* Arrival of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)-2 in Taiwan. **J Antimicrob Chemother**, v.66, n.5, p.1182-4, may. 2011.

CUZON, G. *et al.* Plasmid mediated carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase KPC-2 in *Klebsiella pneumoniae* isolate from Greece. **Antimicrob Agents Chemother**, v.52, p.796-797, 2008.

DAIKOS, G.L. *et al.* Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections: lowering mortality by antibiotic combination schemes and the role of carbapenems. **Antimicrob Agents Chemother**, v.58, n.1, p.2322–8, 2014.

DAMJANOVA, I. *et al.* Expansion and country wide dissemination of ST11, ST15 and ST147 ciprofloxacin-resistant CTX-M-15-type b-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* epidemic clones in Hungary in 2005—the new ‘MRSA’s? **J Antimicrob Chemother**, v. 62, p. 978-985, 2008.

DALMOLIN, T.V. *et al.* Acquisition of the *mcr-1* gene by a high-risk clone of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* ST437/CC258, Brazil. **Diag Microbiol Infect Dis**, v.90, n.2, p.132-133, 2018.

DAMUTH, E. *et al.* Long-term survival of critically ill patients treated with prolonged mechanical ventilation: a systematic review and meta-analysis. **Lancet Resp Med**, v. 3, n. 7, p.544-553, jul. 2015.

DELIBERALI, B. *et al.* Prevalência de bacilos Gram-negativos não fermentadores de pacientes internados em Porto Alegre-RS. **J Bras Patol Med Lab**. v. 47, n. 5, p. 529-534, 2011.

DETTMER, M.R. *et al.* Prognostic Factors for Long-Term Mortality in Critically Ill Patients

Treated with Prolonged Mechanical Ventilation: A Systematic Review. **Crit Care Med**, v. 45, n.1, p.69-74, jan. 2017.

DO CARMO JUNIOR, N.V *et al.* First report of a NDM-producing *Providencia rettgeri* strain in the state of São Paulo. **Braz J Infect Dis**, v.19, n.6, p.675–676, 2015.

EL SALABI, A. *et al.* First Report of the metallo- β -lactamase SMP-1 in Europe. **Antimicrob Agents Chemother**, v.54, n.1, p.582, jan. 2010.

ELLINGTON, M.J *et al.* Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding acquired metallo-b-lactamases. **J Antimicrob Chemother**, v.59, p.321–322, 2007.

ELNAHRIRY, S.S.; KHALIFA, H.O.; SOLIMAN, A.M. *et al.* Emergence of Plasmid-Mediated Colistin Resistance Gene *mcr-1* in a Clinical *Escherichia coli* solate from Egypt. **Antimicrob Agents Chemother**, v.60, n.5, p.3249-3250, apr. 2016.

ERGÖNUL, O. *et al.* Healthcare-associated Gram-negative bloodstream infections: antibiotic resistance and predictors of mortality. **J Hosp Infect**, v.94, n.4, p.381-385, 2016.

EUCAST (Ed.). Brazilian Committeeon Antimicrobial SusceptibilityTesting – BrCAST: Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos. 2017.

EVANS, B.A.; AMYES, S.G.B. OXA-Lactamases. **Clin Microbiol Rev**, v. 27, n. 2, p.241-263, apr. 2014.

EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL (ECDC). Point prevalence survey of healthcare-associated infections and antimicrobial use in European acute care hospitals, Stockholm, 2013.

EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL (ECDC). Annual Epidemiological Report 2016 – Healthcare-associated infections acquired in intensive care units, Stockholm, 2016.

EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL (ECDC). Healthcare-associated infections acquired in intensive care units. In: ECDC. Annual epidemiológico report for 2015, Stockholm, 2017.

EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL (ECDC). Healthcare-associated infections acquired in intensive care units. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2016, Stockholm, 2018.

FARIAS JUNIOR, C. *et. al.* NDM-Producing Enterobacteriaceae Strains among Hospitals in Brasília, **J Microbiol Exp**, v.3, n.2, p 00083, 2016.

FERNANDES, M.R. *et al.* First Report of the Globally Disseminated IncX4 Plasmid Carrying the *mcr-1* Gene in a Colistin-Resistant *Escherichia coli* SequenceType 101 isolate from a Human Infection in Brazil. **Antimicrob Agents Chemother**, v.60, n.10, p.6415-6417, ago. 2016.

FORTALEZA, C.M.C.B. *et al.* Multi-state survey of healthcare-associated infections in acute care hospitals in Brazil. **J Hosp Infect**, v. 96, n. 2, p.139-144, jun. 2017.

FREEMAN, R. *et al.* Exploring the epidemiology of carbapenem-resistant Gram negative bacteria in west London and the utility of routinely collected hospital microbiology data. **J Antimicrob Chemother**, v.70, n.4, p.1212-1218, apr. 2014.

FREEMAN, R. *et al.* Exploring the epidemiology of carbapenem-resistant Gram-negative bacteria in west London and the utility of routinely collected hospital microbiology data. **J Antimicrob Chemother**, London, p.1212-1218, 18 dez. 2015.

GALES, A.C. *et al.* Dissemination in distinct Brazilian regions of an epidemic carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing SPM metallo- β -lactamase. **J Antimicrob Chemother**, v.52, p.699-702, 2003a.

GALES, A.C. *et al.* Emergence of an IMP-like metalloenzyme in an *Acinetobacter baumannii* clinical strain from a Brazilian teaching hospital. **Diagn Microbiol Infect Dis**, v.45, p.77-79, 2003b.

GISKE, C.G. *et al.* Carbapenemase detection in *Klebsiella pneumoniae*. **Clin Microbiol Infect**, v.17, n.4, apr. 2011.

GOMEZ, S.A *et al.* Clonal dissemination of *Klebsiella pneumoniae* ST258 harbouring KPC-2 in Argentina. **Clin Microbiol Infect**, v.17, n.10, p.1520-4, Oct. 2011.

GONCALVES, D.; CECILIO, P.; FERREIRA, H. First detection of OXA-48-like producing *Acinetobacter baumannii* in the faecal flora of nursing home residents in 23rd European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Abstr, april Portugal, 2013.

GUIMARÃES, D.O.; MOMESSO, L.S.; PUPO, M.T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Quim. Nova**, v.33, n.3, p.667-679, 2010.

HIGGINS, P.G.; LEHMANN, M.; SEIFERT, H. Inclusion of OXA-143 primers in a multiplex polymerase chain reaction (PCR) for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp. **Int J Antimicrob Agents**, v.35, n.3, p.305, mar. 2010.

HIRAKATA, Y.; IZUMIKAWA, K.; YAMAGUCHI, T. *et al.* Rapid detection and evaluation of clinical characteristics of emerging multiple-drug-resistant Gram-negative rods carrying metallo- β -lactamase gene *bla_{IMP}*. **Antimicrob Agents Chemother**, v.42, p.2006-11, 1998.

HERNANDEZ, M. *et al.* Co-occurrence of colistin resistance genes *mcr-1* and *mcr-3* among multidrug-resistant *Escherichia coli* isolated from cattle, Spain, September 2015. **Euro Surveill**, v.22, n.31, p. 30586, 2017.

ITO, H. *et al.* Plasmid-mediated dissemination of the metallo- β -lactamase gene blaIMP among clinically isolated strains of *Serratia marcescens*. **Antimicrob Agents Chemother**, v.39, n.4, p.824-829, 1995.

JANS, B. *et al.* Epidemiology of multidrug-resistant micro-organisms among nursing home residents in Belgium. **PLoS One**, v.8, n.5, 2013.

JARRELL, A.S. *et al.* Factors associated with in-hospital mortality among critically ill surgical patients with multidrug-resistant Gram-negative infections. **J Crit Care**, v.43, p.321-326, 2017.

KAHN, J.M. *et al.* Effectiveness of Long-term Acute Care Hospitalization in Elderly Patients with Chronic Critical Illness. **Med Care**, v.51, n.1, p.4-10, jan. 2013.

KAHN, J.M. *et al.* The Epidemiology of Chronic Critical Illness in the United States. **Crit Care Med**, v.43, n.2, p.282-287, fev. 2015.

KUMARASAMY, K.K.; TOLEMAN, M.A.; WALSH, T.R. *et al.* Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. **Lancet Infect Dis**, v.10, n.9, p.597-602, Sep. 2010.

KANDILOV, A.M.; INGBER, M.J.; MORLEY, M. *et al.* Chronically Critically Ill Population Payment Recommendations. **Methods Rep RTI Press (RTI) International**, 2014.

KARTHIKEYAN, K.; THIRUNARAYAN, M.A.; KRISHNAN, P. Coexistence of blaOXA-23 with blaNDM-1 and armA in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from India. **J Antimicrob Chemother**, v.65, p.2253-2254, 2010.

KATEETE, D.P. *et al.* Carbapenem resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* at Mulago Hospital in Kampala, Uganda (2007-2009). **Springerplus**, v.5, n.1, p.1308, 2016.

KELLY, F. *et al.* Intensive care medicine is 60 years old: the history and future of the intensive care unit. **Clin Med (Lond)**, v.14, n.4, p.376-379, 2014.

KONTIS, V. *et al.* Future life expectancy in 35 industrialised countries: projections with a Bayesian model ensemble. **Lancet**, v.389, n.10076, p.1323-35, 2017.

LAHLAOUI, H. *et al.* Carbapenem-hydrolyzing class D beta-lactamase OXA-48 in *Klebsiella pneumoniae* isolates from Tunisia. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, v.31, p.937-939, 2012.

LASCOLS, C. *et al.* Increasing prevalence and dissemination of NDM-1 metallo-beta-lactamase in India: data from the SMART study. **J Antimicrob Chemother**, v.66, p.992-997, 2009.

LASCOLS, C. *et al.* Surveillance and molecular epidemiology of *Klebsiella pneumoniae* isolated that produced carbapenemases: first report of OXA-48-like enzymes in North America. **Antimicrob Agents Chemother**, v.57, p.130-136, 2013.

LAMBERT, M.L. *et al.* Clinical outcomes of health-care-associated infections and antimicrobial resistance in patients admitted to European intensive-care units: a cohort study. **Lancet Infect Dis**, v.11, n.1, p.30-38, 2011.

LAURETTI, L. *et al.* Cloning and characterization of blaVIM, a new integron-borne metallo-beta-lactamase gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. **Antimicrob Agents Chemother**, v.43, n.7, p.1548-90, 1999.

LE HELLO, S. *et al.* Highly drug-resistant *Salmonella* enterica serotype Kentucky ST198-X1: a microbiological study. **Lancet Infect Dis** 2013; 13: 672–9, 2013.

LEÃO, R.S. *et al.* KPC-2 Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates from patients with Cystic Fibrosis. **J Cyst Fibros**, v.10, n.2, p. 40-42, 2011.

LEAVITT, A. *et al.* Emergence of KPC-2 and KPC-3 in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains in an Israeli hospital. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 51, p. 3026–3029, 2007.

LEE, K. *et al.* Novel acquired metallo- β -lactamase gene, blaSIM-1, in a class 1 integron from *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from Korea. **Antimicrob Agents Chemother**, v.49, n.11, p.4485-4491, 2005.

LEITÃO, S.M.; WIRTZBIKI, P.M.; OLIVEIRA, O.J.N. Doença crítica crônica: artigo de revisão narrativa. **Revista de Saúde e Ciências Biológicas**, v.6, n.1, p.92-99, dez. 2018.

LEONARD, A.F.C. *et al.* Exposure to and colonisation by antibiotic-resistant *E. coli* in UK coastal water users: Environmental surveillance, exposure assessment, and epidemiological study (Beach Bum Survey). **Environ Int**, v.114, p.326–333, 2018.

LINCOPAN, N. *et al.* First isolation of metallo- β -lactamase-producing multiresistant *Klebsiella pneumoniae* from a patient in Brazil. **J Clin Microbiol**, v.43, n.1, p.516-519, 2005.

LIU Yil-Yun *et al.* Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism *mcr-1* in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. **Lancet Infect Dis**, v. 16, n. 2, p.161-168, 2016.

LIVERMORE, D.M. β -Lactamases in Laboratory and Clinical Resistance. **Clin Microbiol Rev**, v.8, n.4, p.557–584, oct.1995.

LIVERMORE, D.M. Defining extended-spectrum β -Lactamases. **Clin Microbiol Infect**, v.14, sup.1, Jan. 2008.

LIVERMORE, D.M. Current Epidemiology and Growing Resistance of Gram-Negative Pathogens. **Korean J Intern Med**, v.27, p.128-142, 2012.

LOSS, S.H. *et al.* The reality of patients requiring prolonged mechanical ventilation: a multicenter study. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v.27, n.1, p.26-35, 2015.

LYE, D.C. The impact of multidrug resistance in healthcare-associated and nosocomial Gram-negative bacteraemia on mortality and length of stay: cohort study. **Clin Microbiol Infect**, v.18, n.5, p. 502-508, 2011.

MA, D. *et al.* National Healthcare Safety Network report, data summary for Device-associated module. **Am J Infect Control**, v.43, n.3, p.206-21, 2015.

MAGILL, S.S *et al.* Multistate Point-Prevalence Survey of Health Care–Associated Infections. **N Engl J Med**, v.370, n.13, p.1198-1208, mar. 2014.

MAGILL , S.S *et al.* Redunce in the Prevalence of Healthcare–Associated Infections. IN U.S. *Oral Abstracts • Open Forum Infectious Diseases*, Volume 4, Issue suppl_1, 1 October 2017, Pages S4, 2017.

MAGIORAKOS, A.P. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **Clin Microbiol Infect**, v.18, n.3, p.268-281, mar. 2012.

MALHOTRA-KUMAR, S. *et al.* Colistin-resistant *Escherichia coli* harbouring mcr-1 isolated from food animals in Hanoi, Vietnam. **Lancet Infect Dis**, v.16, n.3, p.286-7, 2016.

MARCHETTI, A.; ROSSITER, R. Economic burden of healthcare-associated infection in US acute care hospitals: societal perspective. **J Med Econ**, v. 16, n.12, p.1399-1404, out. 2013.

MARTÍN-LOECHES, I.; DIAZ, E.; VALLÉS, J. Risk for multidrug-resistant pathogens in ICU. **Curr Opin Crit Care**, v.20, n.5, p.516-524, 2014.

MENDES, R.E. *et al.* First isolation of blaVIM-2 in Latin America: report from the SENTRY antimicrobial surveillance program. **Antimicrob Agents Chemother**, v.48, n.4, p.1433-1434, 2004.

MENDES, R.E *et al.* Metallo- β -lactamases. **J Bras Patol Med Lab**. V.42, n.2, p.103-113, 2006.

MENDES, R.E.; KIYOTA, K.A.; MONTEIRO, J. Rapid Detection and Identification of Metallo--Lactamase-Encoding Genes by Multiplex Real-Time PCR Assay and Melt Curve Analysis. **J Clin Microbiol**, v.45, n.2, p.544–547, fev. 2007.

MITCHELL, B.G.; DIGNEY, W.; FERGUSON, J.K. Prior room occupancy increases risk of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* acquisition. **Healthc Infect**, v.19, n.1, p.135-140, 2014.

MOGHNIEH, R. *et al.* Extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* in a Lebanese intensive care unit: risk factors for acquisition and determination of a colonization score. **J Hosp Infect**, v. 92, n.1, p.47-53, 2016.

MOLTON, J.S. The Global Spread of Healthcare-Associated Multidrug-Resistant Bacteria: A Perspective From Asia. **Clin Infect Dis**, v.56, n.9, p.1310–8, 2013.

MONTEIRO, J. *et al.* First Report of KPC-2 producing *Klebsiella pneumoniae* Strains in Brazil. **Antimicrob Agents chemother**, v.53, p.333-4, 2009.

MONTEIRO, J.; WIDEN, R.H.; PIGNATARI, A.C.C. Rapid detection of carbapenemase genes by multiplex real-time PCR. **J Antimicrob Chemother**, v.9, p.01-4, jan. 2012.

MONTERO, J.G. *et al.* Combatting resistance in intensive care: the multimodal approach of the Spanish ICU “Zero Resistance” program. **Crit Care**, v.19, n.1, p.114, 2015.

MOREIRA, M.R *et al.* Relationship between antibiotic consumption, oropharyngeal colonization and ventilator-associated pneumonia by *Staphylococcus aureus* in an intensive care unit of a Brazilian teaching hospital. **Rev Soc Bras de Med Trop**, v.45, n.1, p.106-111, 2012.

NAAS, T. *et al.* Plasmid-mediated carbapenem-hydrolyzing β -lactamase KPC in a *Klebsiella pneumoniae* isolate from France. **Antimicrob Agents Chemother**, v.49, p.4423–4424, 2005.

NAGANO, N. *et al.* First report of OXA-48 carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in Japan from a patient returned from Southeast Asia. **Jnp j Infect Dis**, v.66, p.79 –81, jan. 2013.

NAVON-VENEZIA, S. *et al.* Plasmid-mediated imipenem-hydrolyzing enzyme KPC-2 among multiple carbapenem-resistant *Escherichia coli* clones in Israel. **Antimicrob Agents Chemother**, v.50, p.3098–3101, 2006.

NEIDELL, M.J. *et al.* Costs of Healthcare- and Community-Associated Infections with Antimicrobial-Resistant Versus Antimicrobial-Susceptible Organisms. **Clin Infect Dis**, v.55, n.6, 807–15, 2012.

NELSON, J.E. *et al.* Chronic Critical Illness. **Am J Respir Crit Care Med**, v.182, p. 446–454, 2010.

NEPOMUCENO, R.M. *et al.* Fatores de risco modificáveis para pneumonia associada à ventilação mecânica em terapia intensiva. **Rev Epidemiol Control Infect**, v.4, n.1, p.23-27, 2014.

NEYRA, R.C.; FRISANCHO, J.A.; RINSKY, J.L. *et al.* Multidrug-resistant and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in hog slaughter and processing plant workers and their community in North Carolina (USA). **Environ Health Perspect**, v.122, n.5, p.471–477, 2014.

NICOLAS-CHANOINE, M.H. *et al.* Intercontinental emergence of *Escherichia coli* clone O:25 H4-ST131 producing CTX-M-15. **J Antimicrob Chemother**, v.6, p. 273-281, 2008.

NICOLETTI, A.G. *et al.* Characterization of BCK-1 class A carbapenemase from *Klebsiella Pneumoniae* clinical isolated in Brazil. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 59, n.9, p. 5159-64, 2015.

NOGUEIRA, K.S. Distribution of extended-spectrum beta-lactamase types in a Brazilian tertiary hospital. **Rev Soc Bras Med Trop**. V.48, n.2, p.162–169, 2015.

NORDMANN, P.; NAAS, T.; POIREL, L. Global spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. **Emerg Infect Dis**, v.17, n.10, p.1791-8, oct. 2011.

NORDMANN, P. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: overview of a major public health challenge. **Med Mal Infect**, v.44, n.2, p.51-6, feb. 2014.

NOUVENNE, A. *et al.* Comorbidities and Disease Severity as Risk Factors for Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* colonization: report of an experience in an internal medicine unit. **PLoS One**, v.9, n.10, 2014.

NUNES, D.S.L. AVALIAÇÃO DA SOBREVIDA E FATORES ASSOCIADOS EM PACIENTES CRÍTICOS CRÔNICOS COMPARANDO DUAS DEFINIÇÕES EM UMA COORTE HISTÓRICA. 2014. Dissertação (Mestrado de Ciências Médicas) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

OLIVEIRA, A.C de *et al.* Resistência bacteriana e mortalidade em um centro de terapia intensiva. **Rev Latino-Am Enfermagem**, v.6, n.18, p.1-10, nov/dez 2010.

O'NEILL, J. Tackling Drug-Resistant Infections Globally: final report and recommendations. Reino Unido: **Antimicrobial Resistance Review**. Relatório Técnico. 2016.

OSANO, E. *et al.* Molecular characterization of na enterobacterial metallo beta-lactamase found in a clinical isolate of *Serratia marcescens* tha shows imipenem resistance. **Antimicrob Agents Chemother**, v.38, n.1, p.71-8, 1994.

PADOVEZE, M.C; FORTALEZA, C.M.C.B. Healthcare-associated infections: challenges to public health in Brazil. **Revista de Saúde Pública**, v.48, n.6, p.995-1001, dez. 2014.

PAGANO, M. *et al.* Emergence of NDM-1-producing *Acinetobacter pittii* in Brazil. **Int J Antimicrob Agents**, v.45, n.4, p.444-5, 2015.

PALEPOU *et al.* Novel class A carbapenemase, KPC-4, in na *Enterobacter isolate* from Scotland. Abstr., 15th Eur Cong Clin Microbiol Infect Dis 2005, Copenhagen, Dinamarca. 2005.

PAPADIMITRIOUS-OLIVGERIS, M. *et al.* KPC-producing *Klebsiella Pneumoniae* enteric colonization acquired during intensive care unit stay: the significance of risk factors for its development and its impact on mortality. **Diagn Microbiol Infect Dis**, v.77, n.2, p.169-173, 2013.

PARAMYTHIOTOU, E.; ROUTSI, C. Association between infections caused by multidrug-resistant Gram-negative bacteria and mortality in critically ill patients **World J Crit Care Med**. v.5, n.2, p.111-120, 2016.

PATEL, S.J. Risk factors and Outcomes of Infections Caused by Extremely Drug-Resistant Gram-Negative Bacilli in Patients Hospitalized in Intensive Care Units. **Am J Infect Control**, v.42, n.6, p.626–631, June 2014.

PATERSON, D.L. Infections Due to Other Members of the Enterobacteriaceae, Including Management of Multidrug - Resistant Strains. **Goldman's Cecil Medicine**, Ed. Elsevier Saunders, Philadelphia, PA, United States, v.2, p.1874–1877, 2012.

PEIRANO, G. *et al.* Carbapenem-hydrolysis β -lactamase KPC-2 in *Klebsiella pneumoniae* isolates in Rio de Janeiro, Brazil. **J Antimicrob Chemother**, v.63, p. 265-8, 2009.

PEIRANO, G.; PITOUT, J.D. Molecular epidemiology of *Escherichia coli* producing CTX-M β -lactamases: the worldwide emergence of clone ST 131 O25:4. **Int J Antimicrob Agents**, v.35; p.316-321, 2010.

PEREIRA, P.S. *et al.* First description of NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in Brazil; 24th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 2014.

PICÃO, R.C. *et al.* Diversity of β -lactamases produced by ceftazidime-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates causing bloodstream infections in Brazil. **Antimicrob Agents Chemother**, v.53, n.9, p.3908-3913, 2009.

PILLONETTO, M *et al.* The first report of NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* ST 25 in Brazil. **Antimicrob Agents Chemother**, v.10, p.1-9, 2014.

PILLONETTO, M. *et al.* Low level of polymyxin resistance among non-clonal mcr-1-positive *Escherichia coli* from human sources in Brazil. **Diagn Microbiol Infect Dis**, v. 93, n.2, p.140-142, Feb. 2018.

POURABBAS, B.; FIROUZI, R.; POULADFAR, G. Characterization of carbapenem-resistant *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* complex isolates from nosocomial bloodstream infections in Southern Iran. **J Med Microbiol**, v.65, n.3, p.235-9, 2016.

POIREL, L. *et al.* Characterization of VIM-2, a carbapenem-hydrolyzing metallo-beta-lactamase and its plasmid and integron-borne from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate in France. **Antimicrob Agents Chemother**, v.44, n.4, p.891-7, 2000.

POIREL L. *et al.* HOMBROUCK-ALET C, FRENEAUX C, BERNABEU S, NORDMANN P. Global spread of New Delhi metallo- β -lactamase 1. **Lancet Infect Dis**, v.10, n.12, p.832, Dec. 2010.

POIREL, L. *et al.* Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. **Diagn Microbiol Infect Dis**, v.70, n.1, p.119-23, May 2011.

PRIM, N. *et al.* Detection of mcr-1 colistin resistance gene in polyclonal *Escherichia coli* isolates in Barcelona, Spain, 2012 to 2015. **Euro Surveill**, v.21, n. 13, p. 30183, 2016.

QUEENAN, A.M.; BUSH, K. Carbapenemases: The Versatile β -Lactamases. **Clin**

Microbiol Rev, v. 20, n.3, p. 440–458, July 2007.

QUINTERO, E.S.; ECHEVERRI-TORO, L.; OSPINA, S.O. Factores clínicos asociados a multirresistencia bacteriana en un hospital de cuarto nivel. **Infectio**, v. 19, n. 4, p.161-167, out. 2015.

RAPP, R.P.; URBAN C. *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemases in Enterobacteriaceae: History, Evolution, and Microbiology Concerns. **Pharmacotherapy**, v.32, n.5, p.399-407, 2012

RESENDE, M.M. *et al.* Epidemiology and outcomes of ventilator-associated pneumonia in northern Brazil: an analytical descriptive prospective cohort study. **BMC Infect Dis**, v. 5, n.13, p. 119, 2013.

RESTREPO, J.L. *et al.* Factores de riesgo asociados a infecciones por bacterias multirresistentes derivadas de la atención en salud en una institución Hospitalaria de la ciudad de Medellín 2011-2014. **Infectio**, v.20, n.2, p.77-83, 2016.

RHODES, A. *et al.* The variability of critical care bed numbers in Europe. **Intensive Care Med**, v.38, n. 0, p.1647-1653, jul. 2012.

RICCIO, M.L. *et al.* Characterization of the metallo- β -lactamase determinant of *Acinetobacter baumannii* AC-54/97 reveals the existence of blaIMP allelic variants carried by gene cassettes of different phylogeny. **Antimicrob Agents Chemother**, v.44, n.5, p.1229-1235, 2000.

ROBLEDO, I.E *et al.* A novel variant, KPC-6, in a *Klebsiella pneumoniae* (Kp) isolated in Puerto Rico (PR). Abstr. C2-3738. Abstr. 48th Intersci Conf Antimicrob Agents Chemother, **Am Soc Microbiol**, Washinton, DC, 2008. Abstr Gen Meet **Am Soc Microbiol**

ROBLEDO, I.E. *et al.* Detection of KPC in *Acinetobacter* spp. in Puerto Rico. **Antimicrob Agents Chemother**, v.54, n.3, p.1354-1357, 2010.

ROSE, L. *et al.* Patient transitions relevant to ongoing ventilation: A Delphi study. **Can Respir J**, v. 21, n.5, sep-oct. 2014.

ROSENTHAL, V.D. *et al.* International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC) report, data summary of 43 countries for 2007-2012. Device-associated module. **Am J Infect Control**, v. 42, n. 9, p.942-956, set. 2014.

ROSENTHAL, V.D *et al.* International Nosocomial Infection Control Consortium report, data summary of 50 countries for 2010-2015: Device-associated module. **Am J Infect Control**, v.44, n.12, p.1495-504, dec.2016.

ROSENTHAL, V.D *et al.* Impact of the International Nosocomial Infection Control Consortium's multidimensional approach on rates of ventilator-associated pneumonia in 14 intensive care units in 11 hospitals of 5 cities within Argentina. **Am J Infect Control**, v.46, n.6, p.674-679, 2018.

ROSSI, F.; GIRARDELLO, R.; MORAIS, C. *et al.* Plasmid-mediated *mcr-1* in carbapenem susceptible *Escherichia coli* ST156 causing a blood infection: an unnoticeable spread of colistin resistance in Brazil? **Clinics (Sao Paulo)**, v.72, n.10, p.642-644, 2017.

ROUTSI, C. *et al.* Carbapenem-resistant versus carbapenem-susceptible *Acinetobacter baumannii* bacteremia in a Greek intensive care unit: risk factors, clinical features and outcomes. **Infection**, v.38, n.3, p.173–180, jun. 2010.

ROZALES, F.P. *et al.* Emergence of NDM-1-producing Enterobacteriaceae in Porto Alegre, Brazil. **Int J Infect Dis**, v.25, p:79-8, aug. 2014.

SADER, H.S. *et al.* Dissemination and diversity of metallo- β -lactamases in Latin America: report from the SENTRY antimicrobial surveillance program. **Int J Antimicrob Agents**, v.25, n.1, p.57-61, 2005.

SAMPAIO, J.L. *et al.* Detection of OXA-370, an OXA-48-related class D betalactamase, in *Enterobacter hormaechei* from Brazil. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 58, n. 6, p. 3566-3567, jun. 2014.

SANDERS, C.C.; PEYRET, M.; MOLAND, E.S. Potential Impact of the VITEK 2 System and the Advanced Expert System on the Clinical Laboratory of a University-Based Hospital. **J Clin Microbiol**, v.39, n.7, p. 2379–2385, July 2001.

SANTOS, A.K.S. *et al.* Perfil microbiológico das infecções hospitalares nas Unidades de Terapia Intensiva. **Rev. Enferm UFPE**, v.10, supl 3, p.1432-40, 2016.

SCHULMAN, R.C.; MECHANICK, J.I. Metabolic and Nutrition Support in the Chronic Critical Illness Syndrome. **Respir Care**, v. 57, n. 6, p.958-978, jun. 2012.

SENDA, K. *etal.* Multifocal outbreaks of metallo- β -lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* resistant to broadspectrum β -lactams, including carbapenems. **Antimicrob Agents Chemother**, v.40, n.2, p.349-353, 1996.

SHAHCHERAGHI, Fet *al.* Isolation and genetic characterization of metallo- β -lactamase producing strains of *Acinetobacter baumannii* from patients at Tehran hospitals. **Iran J Microbiol**, v.3, n.2, p.68-74, 2011.

SILVA, D.J. *et al.* Molecular characterization of blaIMP-5, a new integronborne metallo- β -lactamase gene from an *Acinetobacter baumannii* nosocomial isolate in Portugal. **FEMS Microbiol Lett**, v.215, n.1, p.33-39, 2002.

SILVA, K.C.; LINCOPAN, N. Epidemiologia das beta-lactamases de espectro estendido no Brasil: impacto clínico e implicações para o agronegócio. **J Bras Patol Med Lab**, v. 48, n. 2, p. 91-99, 2012.

SKOV, R.L.; MONNET, D.L. Plasmid-mediated colistin resistance (*mcr-1* gene): three months later, the story unfolds. **Euro Surveill**, v. 21, n.9, p.301, 2016.

STEVENS, V. *et al.* Inpatient costs, mortality and 30-day re-admission in patients with central-line-associated bloodstream infections. **Clin Microbiol Infect**, v.20, n.5, p.318-324, mai 2014.

STEWARTSON, A.J. *et al.* The health and economic burden of bloodstream infections caused by antimicrobial-susceptible and non-susceptible Enterobacteriaceae and *Staphylococcus aureus* in European hospitals, 2010 and 2011: a multicentre retrospective cohort study. **Euro Surveill**, v.21, n.33, p.1-12, 2016.

STOKES, H.W.; GILLINGS, M. Lateral Gene Transfer and antibiotic resistance Evolution. **FEMS Microbiol Rev**, v. 35, n.5, p. 790–819, 2011.

TOLEMAN, M.A. *et al.* Molecular characterization of SPM-1, a novel metallo- β -lactamase isolated in latin America: report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme. **J Antimicrob Chemother.**, v.50, n. 5, p.673-679, 2002.

TOLEMAN, M.A. *et al.* *bla*_{VIM-7}, na evolutionarily distinct metallo- β -lactamase gene in a *Pseudomonas aeruginosa* isolated from the United States. **Antimicrob Agents Chemother**, v.48, n.1, p.329-332, 2004.

TOLEMAN, M.A. *et al.* Molecular characterization of SPM-1, a novel metallo- β -lactamase isolated in latin America: report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme. **J Antimicrob Chemother**, v.50, n.5, p.673-679, nov. 2002.

TING, S.W.; LEE, C.H.; LIU, J.W. Risk factors and outcomes for the acquisition of carbapenem-resistant Gram-negative bacillus bacteremia: A retrospective propensity-matched case control study. **J Microbiol Immunol and Infect**, v.51, n.5, p.621-628, oct. 2018.

TSENG, C.C. *et al.* Factors Predicting Ventilator Dependence in Patients with Ventilator-Associated Pneumonia. **ScientificWorldJournal**, v. 2012, Article ID 547241, 10 pages, 2012.

TUMBARELLO, M. *et al.* Infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: rugences in therapy and mortality in a multicentre study. **J Antimicrob Chemother**, v.70, n.7, p.2133-43, 2015.

TUON, F.F. Risk factors for KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* bacteremia. **Braz J Infect Dis**, v.16, n.5, p.416-419, 2012.

UK-VARSS. UK Veterinary Antibiotic Resistance and Sales Surveillance Report. New Haw, Addlestone: Veterinary Medicines Directorate, 2018.

VADAKAS, K.Z. *et al.* Predictors of mortality in patients whit infections due to multi-drug resistant Gram negative bacteria: The study, the patient, the bug or the drug? **J Infect**, v.66, n.5, p.401-414, may 2013.

VANEECHOUTTE, M. *et al.* Identification of *Acinetobacter* genomic species by amplified ribosomal DNA restriction analysis. **J Clin Microbiol**, v.33, n.1, p.11-15, jan. 1995.

- VILLEGAS, M. *et al.* First identification of *Pseudomonas aeruginosa* isolates producing a KPC-type carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase. **Antimicrob Agents Chemother**, v.51, n.4, p.1553-5, apr. 2007.
- XAVIER, B.B. *et al.* Identification of a novel plasmid-mediated colistin-resistance gene, *mcr-2*, in *Escherichia coli*, Belgium, June 2016. **Euro Surveill**, v.21, n.27, jul. 2016.
- WANG, Z. *et al.* Metallo-beta-lactamase: structure and mechanism. **Curr Opin chem Biol**, v.3, n.5, p.614-22, 1999.
- WANG, X. *et al.* Emergence of a novel mobile colistin resistance gene, *mcr-8*, in NDM-producing *Klebsiella pneumoniae*. **Emerg Microbes Infect**, v.7, n.1, p.122, jul. 2018
- WASH, T.R. *et al.* Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm? **Clin Microbiol Rev**, v.18, n.2, p. 306-25, apr. 2005.
- WATANABE, E.M. *et al.* Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. **Antimicrob Agents Chemother**, v.35, n.1, p.147-151, jan. 1991.
- WATANABE, E.M. *et al.* Impacto das infecções relacionadas à assistência à saúde em pacientes acometidos por trauma. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 36, sup. 1, p.89-98, 2015.
- WEI, Z.Q. *et al.* Plasmid-mediated KPC-2 in a *Klebsiella pneumoniae* isolated from China. **Antimicrob Agents Chemother**, v.51, n.2, p.763–765, feb. 2007.
- WEI, W.J. *et al.* New Delhi Metallo-β-Lactamase-Mediated Carbapenem Resistance: Origin, Diagnosis, Treatment and Public Health Concern. **Chin Med J (Engl)**, v.128, n.14, p. 1969-1970, jul. 2015.
- WIENCEK, C.; WINKELMAN, C. Chronic critical illness: prevalence, profile, and pathophysiology. **AACN Adv Crit Care**, v.21, n.1, p.44-61, jan-mar. 2010.
- WOLTER, D.J. *et al.* Phenotypic and enzymatic comparative analysis of the novel KPC variant KPC5 and its evolutionary variants, KPC-2 and KPC-4. **Antimicrob Agents Chemother**, v.53, n.2, p.557-562, feb. 2009.
- WOODFORD, N. *et al.* Outbreak of *Klebsiella pneumoniae* producing a new carbapenem-hydrolyzing class A beta-lactamase, KPC-3, in a New York Medical Center. **Antimicrob Agents Chemother**, v.48, n.12, p.4793-9, dec. 2004.
- WOODFORD, N. *et al.* Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp. **Int J Antimicrob Agents**, v.27, n.4, p.351-353, apr. 2006..
- WOODFORD, N. *et al.* Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and non-Enterobacteriaceae from animals and the environment: an emerging public health risk of our own making? **J Antimicrob Chemother**, v. 69, n.2, p. 287-291, feb. 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Prevention of hospital-acquired infections: A practical guide**. 2. ed. Malta, p.72, 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Report on the burden of endemic health care-associated infection worldwide**. 20 Avenue Appia, 1211, Geneva 27, Switzerland, 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Antimicrobial resistance: global report on surveillance**. 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Global Action Plan on Antimicrobial Resistance**. 20 Avenue Appia, 1211 Geneva 27, Switzerland, 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Antimicrobial Resistance - A Manual for developing national action plans**. Geneva, 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Global antimicrobial resistance surveillance system (GLASS) report: early implementation 2016-2017**. Geneva: World Health Organization; 2017

YAN, J.J. *et al.* Metallo- β -lactamases in clinical *Pseudomonas* isolates in Taiwan and identification of VIM-3, a novel variant of the VIM-2 enzyme. **Antimicrob Agents Chemother.**, v.45, n.8, p.2224-2228, aug. 2001.

YIGIT, H. *et al.* Novel carbapenem-hydrolyzing β -lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. **Antimicrob Agents Chemother**, v.45, n.4, p.1151–1161, apr. 2001.

YIN, W. *et al.* Novel plasmid-mediated colistin resistance gene *mcr-3* in *Escherichia coli*. **MBio**, v. 8, n.3, p.e00543-17, jun. 2017.

YONG, D. *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**, v.53, n.12, p.5046–5054, dec. 2009.

YUM, J.H. *et al.* A new integron carrying VIM-2 metallo- β -lactamase gene cassette in a *Serratia marcescens* isolated. **Diagn Microbiol Infect Dis**, v.42, n.3, p.217-219, mar. 2002.

APÊNDICES

APÊNDICE A – ARTIGO 1

DEGLMANN, R.C. *et al.* Earliest identification of New Delhi metallo- β -lactamase 1 (NDM-1) in *Acinetobacter pittii* in Brazil. **Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine**, v.52, n. e20180348, p.1-3, 2019. Doi: 10.1590/0037-8682-0348-2018.

Disponível em: [https:// http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822019000100719](https://http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822019000100719)

APÊNDICE B – ARTIGO 2

DEGLMANN, R.C.; OLIVEIRA, D.; FRANÇA, P.H.C. Perfil fenotípico de resistência à colistina e tigeciclina em um hospital pública no Brasil. **Rev Epidemiol Control Infect.**

[RECI] PERFIL FENOTÍPICO DE RESISTÊNCIA À COLISTINA E TIGECICLINA: NOVOS DESAFIOS À SAÚDE PÚBLICA NO BRASIL. 

Dra. Lia Gonçalves Possuelo <liapossuelo@unisc.br>

6 de nov. de 2019 16:35

para eu, Débora, Paulo ▾

Prezados autores,
Temos o prazer de informar-lhes que seu artigo foi aceito para publicação na Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção. Seu manuscrito será publicado no v.10 n.1 de 2020, quando, de acordo com as novas diretrizes para autores será solicitado versão certificada em inglês.

Em breve, a equipe editorial entrará em contato para leitura de provas.

Att.

Equipe Editorial

Dra. Lia Gonçalves Possuelo, UNISC

Dra. Andréia Rosane de Moura Valim, UNISC

Dra. Luciana de Souza Nunes, UNIPAMPA

Dra Nathalia Halax Orfão, UNIR

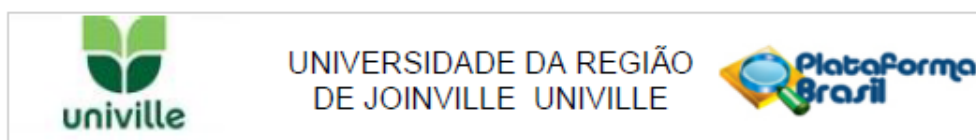
Dr. Marcelo Carneiro, UNISC

REV EPIDEMIOL CONTROL INFECT

<http://online.unisc.br/seer/index.php/epidemiologia>

ANEXOS

ANEXO A - PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA (APROVAÇÃO) - UNIVILLE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: INFECÇÕES CAUSADAS POR BACILOS GRAM NEGATIVOS MULTIRRESISTENTES E O IMPACTO PARA O DOENTE CRÔNICO CRÍTICO EM UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA.

Pesquisador: Roseneide Campos Deglmann

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 56359716.7.0000.5366

Instituição Proponente: FUNDACAO EDUCACIONAL DA REGIAO DE JOINVILLE - UNIVILLE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.599.756

Apresentação do Projeto:

Conforme exposto no parecer substanciado nº1.599.749

Objetivo da Pesquisa:

Conforme exposto no parecer substanciado nº1.599.749

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Conforme exposto no parecer substanciado nº1.599.749

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Conforme exposto no parecer substanciado nº1.599.749

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

A Folha de rosto foi adequadamente preenchida.

Recomendações:

Não se aplica

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O projeto "INFECÇÕES CAUSADAS POR BACILOS GRAM NEGATIVOS MULTIRRESISTENTES E O IMPACTO PARA O DOENTE CRÔNICO CRÍTICO EM UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA.", de CAAE 56359716.7.0000.5366 teve sua(s) pendência(s) esclarecida(s) pelo(a) pesquisador(a) Roseneide

Endereço: Rua Paulo Malschitzki, nº 10. Bloco B, Sala 17.

Bairro: Zona Industrial **CEP:** 89.219-710

UF: SC **Município:** JOINVILLE

Telefone: (47)3461-9235

E-mail: comitetica@univille.br



UNIVERSIDADE DA REGIÃO
DE JOINVILLE UNIVILLE



Continuação do Parecer: 1.599.756

Campos Deglmann, de acordo com a Resolução CNS 466/12 e complementares, portanto, encontra-se aprovado.

Informamos que após leitura do parecer, é imprescindível a leitura do item "O Parecer do CEP" na página do Comitê no sítio da Univille, pois os procedimentos seguintes, no que se refere ao enquadramento do protocolo, estão disponíveis na página. Segue o link de acesso (<http://community.univille.edu.br/cep/status-parecer/577374>).

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade da Região de Joinville - Univille, de acordo com as atribuições definidas na Res. CNS 466/12, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_704328.pdf	16/06/2016 22:01:52		Aceito
Outros	cartaresposta.pdf	16/06/2016 22:01:07	Roseneide Campos Deglmann	Aceito
Folha de Rosto	folharosto.pdf	16/06/2016 21:58:16	Roseneide Campos Deglmann	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	17/05/2016 11:19:08	Roseneide Campos Deglmann	Aceito
Outros	cartaHRHDS.pdf	16/05/2016 16:01:51	Roseneide Campos Deglmann	Aceito
Outros	cartaHMSJ.pdf	16/05/2016 15:59:11	Roseneide Campos Deglmann	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

JOINVILLE, 21 de Junho de 2016

Assinado por:
Eleide Abril Gordon Findlay
(Coordenador)

Endereço: Rua Paulo Malschitzki, nº 10. Bloco B, Sala 17.
Bairro: Zona Industrial CEP: 89.219-710
UF: SC Município: JOINVILLE
Telefone: (47)3461-9235 E-mail: comitetica@univille.br

ANEXO B - PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA (APROVAÇÃO) – Hospital Regional Hans Dieter Schmidt



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: INFECÇÕES CAUSADAS POR BACILOS GRAM NEGATIVOS MULTIRRESISTENTES E O IMPACTO PARA O DOENTE CRÔNICO CRÍTICO EM UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA.

Pesquisador: Roseneide Campos Deglmann

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 56359716.7.3002.5363

Instituição Proponente: FUNDAÇÃO EDUCACIONAL DA REGIÃO DE JOINVILLE - UNIVILLE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.613.535

Apresentação do Projeto:

A Organização Mundial de Saúde (OMS) reconhece o fenômeno das IRAS como um problema de saúde pública e preconiza que as autoridades em âmbito nacional e regional desenvolvam ações com vistas à redução do risco de aquisição (WHO, 2004).

As IRAS, especialmente em UTIs, representam um sério risco de vida quando causadas por bactérias multirresistentes, ocasionando elevadas taxas de mortalidade. Uma infecção caracterizada como IRAS acresce, em média, 5 a 10 dias ao período de internação. Além disso, os gastos relacionados a procedimentos diagnósticos e terapêuticos fazem com que o custo seja cerca de três vezes maior que o custo dos pacientes sem infecção.

A crise de disponibilidades de leitos em UTIs nos hospitais públicos de Joinville justifica a urgência de avaliação do impacto das IRAS causadas por bactérias multirresistentes nas UTIs das instituições investigadas. Estudo publicado por Dall' Cortivo et al. (2015), tendo como local investigado o Hospital Regional Hans Dieter Schmidt (HRHDS), em Joinville, avaliou 139 isolados clínicos de *A. baumannii* resistentes aos carbapenêmicos (CRAb) no período entre janeiro de 2010 e dezembro de 2013, sendo que em 2011 ocorreram dois surtos (23 óbitos) causados por este patógeno.

Quanto a avaliação longitudinal, em 2011 houve 84,6% de CRAb e nos dois anos seguintes a

Endereço: Rua Xavier ARP, S/N
 Bairro: Boa Vista CEP: 89.227-680
 UF: SC Município: JOINVILLE
 Telefone: (47)3461-5580 Fax: (47)3461-5533 E-mail: cephrds@gmail.com



HOSPITAL REGIONAL HANS
DIETER SCHMIDT/SES/SC



Continuação do Parecer: 1.613.535

incidência subiu para 96,9% e 98,1%, respectivamente. Observou-se ainda o surgimento de cepas com suscetibilidade intermediária à tigeciclina, alcançando 10,9% (2012) e 15,1% (2013), além de 5,7% de isolados resistentes em 2013.

Os métodos de tipagem molecular são fundamentais para compreensão da epidemiologia dos surtos, pois permitem o estabelecimento do grau de similaridade entre diferentes isolados clínicos, auxiliando na confirmação diagnóstica, na identificação de transmissão cruzada e no monitoramento e controle da infecção hospitalar. Além disso, é possível avaliar a relação genética entre isolados clínicos e recuperados do ambiente, evidenciando-se

a disseminação interinstitucional de grupos clonais (GOERING, 2010). Considerando a confirmação de dois surtos por *A. baumannii* multirresistente no HRHDA em 2011, a permanência das cepas CRAb nos anos subsequentes e o aparecimento de novos clones com resistência parcial e total à tigeciclina, reforça-se a relevância de se ampliar a investigação das IRAS causadas por outras espécies de bacilos Gram negativos nesta instituição, bem como ampliar a pesquisa para o Hospital Municipal São José. Com o monitoramento epidemiológico, fenotípico e genotípico dos bacilos Gram negativos multirresistentes envolvidos nas IRAS e, a definição da relação clonal entre focos suspeitos e isolados clínicos torna possível a redução planejada da disseminação intra e inter-hospitalar e, por conseguinte, a redução da possibilidade de novos surtos.

Objetivo da Pesquisa:

Investigar os perfis epidemiológico, fenotípico e genotípico de bacilos Gram negativos multirresistentes causadores de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde e avaliar o impacto aos pacientes crônicos críticos nas Unidade de Terapia Intensiva.- Avaliar os perfis clínico e demográfico de pacientes criticamente crônicos comparados à população aguda nas UTIs dos hospitais investigados;

Determinar a incidência de pacientes críticos crônicos nas UTIs, estratificando pela ocorrência e agente causal de IRAS, portador ou não de multirresistência aos antimicrobianos usuais empregados;

Determinar a incidência de enterobactérias e bacilos não fermentadores multirresistentes associados às IRAS nas UTIs dos hospitais investigados;

Investigar e monitorar a evolução do perfil fenotípico de enterobactérias e bacilos não fermentadores resistentes aos antibióticos carbapenêmicos, tigeciclina e polimixinas nos isolados advindos de amostras clínicas e materiais inanimados; Investigar a ocorrência e a disseminação de

Endereço: Rua Xavier ARP, S/N
Bairro: Boa Vista CEP: 89.227-680
UF: SC Município: JOINVILLE
Telefone: (47)3461-5560 Fax: (47)3461-5533 E-mail: cephrhds@gmail.com



HOSPITAL REGIONAL HANS
DIETER SCHMIDT/SES/SC



Continuação do Parecer: 1.613.535

cepas portadoras de genes codificantes para metalo- β -lactamases e serina- β -lactamases;

A partir da contextualização epidemiológica, fenotípica e genotípica evidenciada, discutir e propor medidas de contenção de surtos em conjunto com as equipes de prevenção e controle de IRAS nos hospitais participantes

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

As cepas bacterianas serão isoladas, armazenadas e analisadas mantendo-se a identificação do paciente correspondente sob sigilo absoluto, sendo apenas identificadas por codificação

definida exclusivamente para a pesquisa conforme as normas estabelecidas na resolução 466/2012. Nenhum procedimento realizado exclusivamente para os fins da pesquisa terá qualquer impacto aos pacientes acometidos por IRAS no período de condução do estudo, não influenciando a conduta clínica e o prognóstico. Não são previstos benefícios diretos aos pacientes correlatos aos isolados clínicos a serem analisados.

O banco de dados necessário à pesquisa, contendo informações como tipo de amostra clínica (sangue, urina, etc), data de amostragem, setor hospitalar correlato à amostra das UTIs, resultados de fenotipagem e genotipagem, entre outros, será criado e utilizado exclusivamente para a elaboração de produção científica e permanecerá sob responsabilidade dos pesquisadores na instituição (UNIVILLE) proponente por cinco anos

após a conclusão da pesquisa, em local de acesso controlado. Ao término deste período, todos os registros eletrônicos e impressos serão apropriadamente destruídos, garantindo-se a continuidade do anonimato dos pacientes associados às cepas analisadas no presente estudo. Nenhum gene humano será analisado na presente pesquisa. Toda publicação ou divulgação associada à pesquisa será realizada sem a identificação dos pacientes. A identidade de cada indivíduo será mantida em absoluto sigilo, pois os pesquisadores apenas farão uso, após autorização expressa (Termos de Anuência – Anexos I, II e III), de dados estatísticos anonimizados mantidos pelos sistemas de informações dos hospitais envolvidos. Considerando o exposto acima e o compromisso com a não utilização de dados que possam identificar os pacientes cujos patógenos serão analisados, solicita-se a dispensa de proposição e utilização de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Todos os preceitos éticos e os requisitos dispostos na Resolução CNS466/2012 e complementares, que regulamentam as pesquisas envolvendo seres humanos no Brasil, serão estritamente observados pelos pesquisadores.

Benefícios:

A execução e conclusão do estudo proposto contribuirão para a ampliação do conhecimento a

Endereço: Rua Xavier ARP, S/N
Bairro: Boa Vista CEP: 89.227-680
UF: SC Município: JOINVILLE
Telefone: (47)3481-5560 Fax: (47)3481-5533 E-mail: cephrds@gmail.com



HOSPITAL REGIONAL HANS
DIETER SCHMIDT/SES/SC



Continuação do Parecer: 1.613.535

respeito dos mecanismos de resistência dos bacilos Gram negativos nos hospitais públicos investigados, especialmente nos ambientes que compõem suas UTIs, permitindo a definição dos perfis fenotípico e genotípico de susceptibilidade aos antimicrobianos. O monitoramento das relações clonais entre cepas ambientais e isolados clínicos contribuirá para o aprimoramento da tomada de decisão quanto a seleção da antibioticoterapia adequada a ser conduzida, o que implica em redução de custos de internações.

O mapeamento das infecções hospitalares por bacilos Gram negativos multirresistentes fornecerá dados que permitirão melhorar os protocolos de antibioticoterapia apropriados à realidade local, o que, além de contribuir para a redução dos índices de infecção, auxiliará a estimulação do uso criterioso dos antimicrobianos disponíveis. A partir da avaliação comparativa dos perfis de cepas multirresistentes espera-se avaliar ou, se

necessário, indicar alternativas às medidas de monitoramento e controle relativas aos procedimentos invasivos e manejo dos pacientes.

Adicionalmente, espera-se propor medidas operacionais que visem impedir a ocorrência de novos surtos de infecção, a exemplo dos episódios

ocorridos em anos recentes.

Os resultados parciais e finais serão amplamente discutidos e apresentados nas instituições participantes, de forma a disseminar o conhecimento e os avanços alcançados entre os profissionais das áreas afins e gestores. A equipe também se compromete a apresentar às Vigilâncias Epidemiológicas em nível estadual e municipal os resultados alcançados de forma a subsidiar políticas de prevenção e controle das IRAS, contribuindo com a melhoria da segurança dos pacientes críticos. Adicionalmente, os dados gerados serão divulgados em eventos locais e nacionais e os principais resultados serão publicados em revista de circulação internacional.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Estudo prospectivo e analítico centrado na investigação fenotípica e genotípica de bacilos Gram negativos multirresistentes. Serão considerados os isolados identificados de enterobactérias e bacilos não fermentadores multirresistentes, derivados de amostras clínicas de pacientes crônicos críticos diagnosticados e internados nas UTIs de dois hospitais públicos, Joinville/SC, durante o período de julho de 2016 a julho 2018. cuja hipótese é que as IRAS causadas por bacilos Gram negativos multirresistentes elevam a gravidade da evolução clínica dos pacientes críticos agudos e crônicos; Os isolados clínicos correspondentes a bacilos Gram negativos multirresistentes, provenientes das UTIs investigadas em diferentes centros hospitalares da mesma cidade,

Endereço: Rua Xavier ARP, S/N
Bairro: Boa Vista CEP: 89.227-680
UF: SC Município: JOINVILLE
Telefone: (47)3461-5560 Fax: (47)3461-5533 E-mail: oephreds@gmail.com



HOSPITAL REGIONAL HANS
DIETER SCHMIDT/SES/SC



Continuação do Parecer: 1.613.535

apresentam perfis genotípicos semelhantes; A ocorrência de resistência fenotípica aos antibióticos carbapenêmicos nos isolados investigados está associada, principalmente, à presença dos genes KPC, NDM-1, blaOXA-48 e blaOXA-23; Os isolados clínicos multirresistentes causadores de IRAS em pacientes críticos apresentam perfis genotípicos semelhantes aos isolados derivados de materiais inanimados presentes no mesmo ambiente.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresentou todos os termos de apresentação obrigatória

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há pendências ou lista de inadequações

Considerações Finais a critério do CEP:

De acordo com o Parecer do Relator.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_704328.pdf	16/06/2016 22:01:52		Aceito
Outros	cartaresposta.pdf	16/06/2016 22:01:07	Roseneide Campos Deglmann	Aceito
Folha de Rosto	folharosto.pdf	16/06/2016 21:58:16	Roseneide Campos Deglmann	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_704328.pdf	17/05/2016 11:20:02		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	17/05/2016 11:19:08	Roseneide Campos Deglmann	Aceito
Outros	cartaHRHDS.pdf	16/05/2016 16:01:51	Roseneide Campos Deglmann	Aceito
Outros	cartaHMSJ.pdf	16/05/2016 15:59:11	Roseneide Campos Deglmann	Aceito
Folha de Rosto	folharosto.pdf	16/05/2016 15:57:29	Roseneide Campos Deglmann	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: Rua Xavier ARP, S/N
Bairro: Boa Vista CEP: 89.227-680
UF: SC Município: JOINVILLE
Telefone: (47)3461-5580 Fax: (47)3461-5533 E-mail: cephrds@gmail.com



HOSPITAL REGIONAL HANS
DIETER SCHMIDT/SES/SC



Continuação do Parecer: 1.613.535

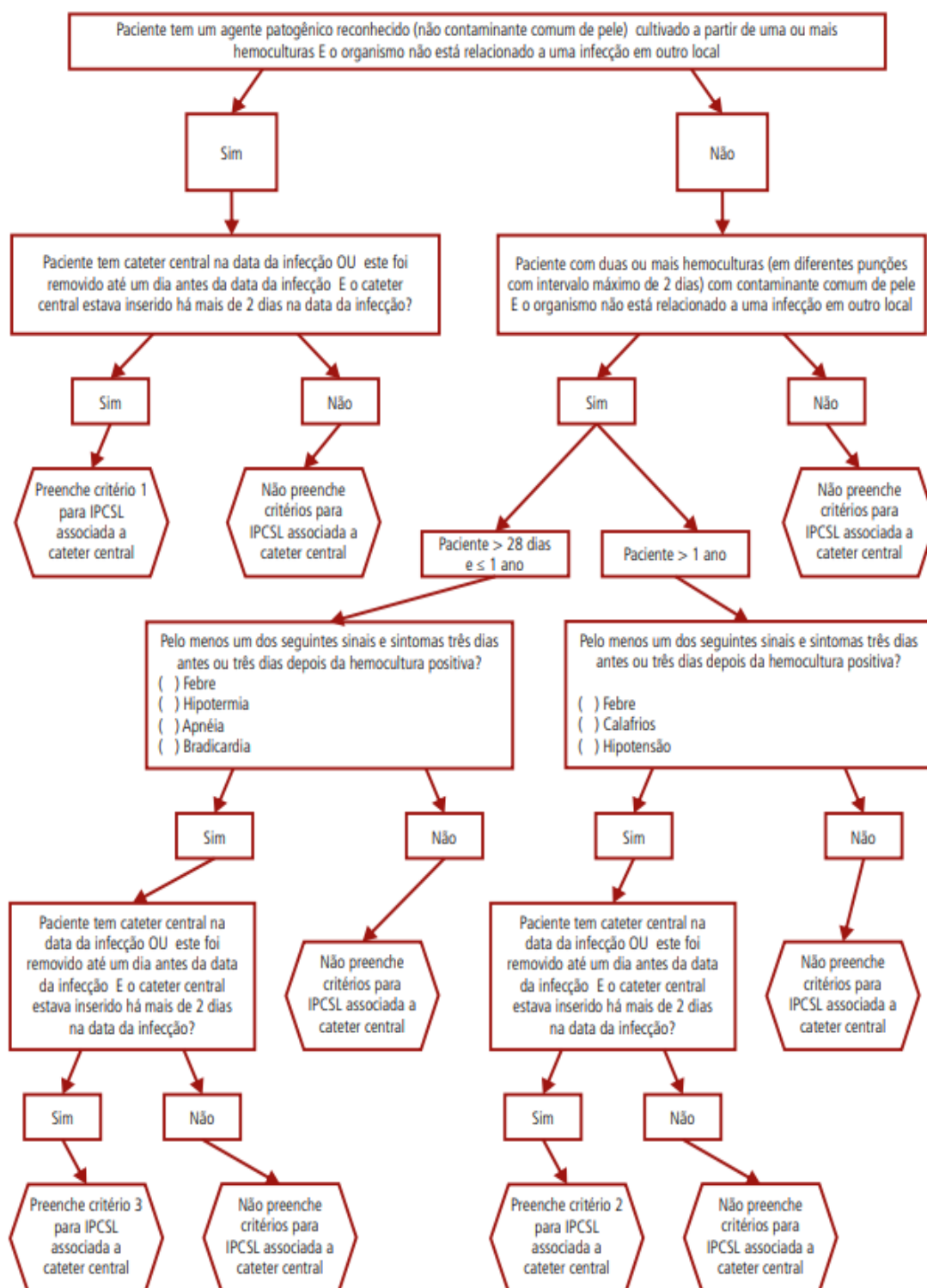
Necessita Apreciação da CONEP:
Não

JOINVILLE, 29 de Junho de 2016

Assinado por:
Marcos Scheidemantel
(Coordenador)

Endereço: Rua Xavier ARP, S/N
Bairro: Boa Vista CEP: 89.227-680
UF: SC Município: JOINVILLE
Telefone: (47)3461-5580 Fax: (47)3461-5533 E-mail: cephrds@gmail.com

ANEXOS C – Fluxograma para notificação de IPCSL associada a cateter central



Fonte: Critérios Diagnósticos de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde/Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2017.

AUTORIZAÇÃO

Nome do autor: Roseneide Campos Deglmann

RG: 1.547.803

Título da Tese: FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À INFECÇÃO POR BACILOS GRAMNEGATIVOS MULTIRRESISTENTES E PREDITORES DE MORTALIDADE EM UMA COORTE DE PACIENTES INTERNADOS EM UMA UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA EM JOINVILLE, BRASIL.

Autorizo a Universidade da Região de Joinville – UNIVILLE, através da Biblioteca Universitária, disponibilizar cópias da tese de minha autoria.

Joinville, 18 de dezembro de 2019.


Roseneide Campos Deglmann