

Luciana Azevedo Callefi

**IMPACTO DA INTRODUÇÃO DO SISTEMA MICROBIOLÓGICO
AUTOMATIZADO PHOENIX™ NA EVOLUÇÃO CLÍNICA DAS
INFECÇÕES DE CORRENTE SANGUÍNEA HOSPITALARES POR
*Enterobacteriaceae***

Tese apresentada à Universidade Federal de
São Paulo – Escola Paulista de Medicina,
para obtenção do Título de Mestre em
Ciências.

São Paulo

2011

Luciana Azevedo Callefi

**IMPACTO DA INTRODUÇÃO DO SISTEMA MICROBIOLÓGICO
AUTOMATIZADO PHOENIX™ NA EVOLUÇÃO CLÍNICA DAS
INFECÇÕES DE CORRENTE SANGUÍNEA HOSPITALARES POR
*Enterobacteriaceae***

Tese apresentada à Universidade Federal de
São Paulo – Escola Paulista de Medicina,
para obtenção do Título de Mestre em
Ciências.

Orientador:

Prof. Dr. Eduardo Alexandrino Servolo de
Medeiros

Co-orientador:

Dr. Guilherme Henrique Campos Furtado

São Paulo

2011

Callefi, Luciana Azevedo

Impacto da introdução do sistema microbiológico automatizado Phoenix™ na evolução clínica das infecções de corrente sanguínea hospitalares por *Enterobacteriaceae* / Luciana Azevedo Callefi. – São Paulo, 2011.
xiv, 55f.

Tese (Mestrado) – Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Infectologia.

Título em inglês: Impact of the introduction of the Phoenix™ automated microbiology system on clinical outcomes of nosocomial bloodstream infections caused by *Enterobacteriaceae*.

1. Infecções por *Enterobacteriaceae*. 2. Bacteremia. 3. Automação de Laboratórios. 4. Mortalidade.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO
ESCOLA PAULISTA DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA**

Chefe do Departamento:

Reinaldo Salomão

Chefe da Disciplina de Infectologia:

Eduardo Alexandrino Servolo de Medeiros

Coordenador do Curso de Pós-graduação:

Ricardo Sobhie Diaz

Luciana Azevedo Callefi

**IMPACTO DA INTRODUÇÃO DO SISTEMA MICROBIOLÓGICO
AUTOMATIZADO PHOENIX™ NA EVOLUÇÃO CLÍNICA DAS
INFECÇÕES DE CORRENTE SANGUÍNEA HOSPITALARES POR
*Enterobacteriaceae***

Presidente da banca:

Prof. Dr. Eduardo Alexandrino Servolo de Medeiros

BANCA EXAMINADORA

Dr. Carlos Roberto Veiga Kiffer

Dr^a. Antonia M. O. Machado

Dr. Alexandre Rodrigues Marra

Dr. Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza

Dedicatória

*Aos meus pais,
Jorge e Maria de Fátima*

Ao meu marido, Elzio

Agradecimentos

Ao **Prof. Dr. Eduardo Alexandrino Servolo de Medeiros**, meu orientador, por ter dado a oportunidade de realizar meu mestrado no Hospital São Paulo - UNIFESP e pela orientação em minha formação científica.

Ao **Dr. Guilherme Henrique Campos Furtado**, meu co-orientador, que muito contribuiu com sua paciência e suas sugestões na elaboração deste trabalho.

Aos **funcionários do Laboratório Central** do Hospital São Paulo – UNIFESP, em especial Dra. Antonia Machado, Eliete e Thomas, pela ajuda na busca de dados e pela orientação sobre o Phoenix™.

Aos meus pais, **Jorge Ferreira de Azevedo** e a **Maria de Fátima Coelho de Azevedo**, que sempre forneceram apoio e incentivo nas trajetórias que segui, foram fundamentais para toda minha formação profissional e pessoal. Sem eles nada seria possível. Meus eternos agradecimentos.

A **Elzio Callefi Júnior**, meu esposo, pela felicidade que me proporciona, pela admiração, pelo companheirismo, incentivo e apoio incondicional.

A **Ana Carolina Marteline Cavalcante Moisés** pela sua amizade e pelos seus preciosos conselhos e ensinamentos.

Aos **amigos** que fizeram parte desses momentos sempre me ajudando e incentivando.

Aos **professores e colaboradores** por todo este período de aprendizado.

Aos **pacientes** sem os quais não haveria sentido a realização deste trabalho.

*“Nenhuma mente que se abre
para uma nova idéia voltará a
ter seu tamanho original”*

Albert Einstein

Sumário

Dedicatória	v
Agradecimentos	vi
Lista de tabelas	x
Lista de abreviaturas	xi
Resumo	xiii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	4
2.1 Família <i>Enterobacteriaceae</i>	5
2.2 Infecção de corrente sanguínea.....	8
2.3 Infecção de corrente sanguínea por enterobactérias.....	8
2.4 Sistema microbiológico automatizado Phoenix™	11
3. OBJETIVOS	12
4. MÉTODOS.....	14
4.1 Local.....	15
4.2 Desenho do estudo	15
4.3 Definição de caso e critérios de exclusão	16
4.3.1 Identificação dos casos.....	16
4.3.2 Critérios de exclusão	17
4.4 Procedimentos microbiológicos	17
4.4.1 Coleta de hemoculturas	17
4.4.2 Processamento de hemoculturas	18
4.4.3 Identificação da bactéria e teste de susceptibilidade antimicrobiana	18
4.5 Definições	19
4.5.1 Infecções hospitalares	19
4.5.2 Infecção de corrente sanguínea	19
4.5.2.1 Infecção primária de corrente sanguínea	19
4.5.2.2 Infecção secundária da corrente sanguínea	20
4.5.2.3 Infecção de corrente sanguínea associada a cateteres intravasculares ..	21
4.5.2.4 Infecção de corrente sanguínea por enterobactérias	21
4.5.2.5 Infecção de corrente sanguínea polimicrobiana	21
4.5.3 Óbito relacionado à infecção de corrente sanguínea por enterobactérias	21
4.5.4 Gravidade da doença de base.....	22
4.5.4.1 Escore APACHE II	22
4.5.4.2 Índice de McCabe modificado.....	22

4.5.5 Classificação da doença de base	22
4.5.6 Uso de antimicrobianos	23
4.5.7 Antimicrobianos prévios.....	23
4.5.8 Adequação da terapêutica antimicrobiana.....	24
4.6 Análise de dados.....	24
4.6.1 Coleta dos dados.....	24
4.6.2 Banco de dados.....	24
4.7 Variáveis analisadas	24
4.7.1 Análise estatística	25
5. RESULTADOS	26
6. DISCUSSÃO	34
7. CONCLUSÕES	44
8. ANEXOS.....	46
9. REFERÊNCIAS	49
Abstract	
Bibliografia consultada	

Lista de tabelas

Tabela 1. Características clínicas e demográficas dos pacientes com infecção de corrente sanguínea hospitalar por enterobactérias - Hospital São Paulo – UNIFESP, nos períodos não-automatizado (agosto 2006 a julho 2007) e automatizado (agosto 2008 a julho 2009).....	28
Tabela 2. Agentes etiológicos e perfis de resistência microbiana nos pacientes com infecção de corrente sanguínea hospitalar por enterobactérias - Hospital São Paulo – UNIFESP, nos períodos não-automatizado (agosto 2006 a julho 2007) e automatizado (agosto 2008 a julho 2009).....	29
Tabela 3. Susceptibilidade antimicrobiana das cepas de <i>Klebsiella</i> spp e <i>Proteus</i> spp dos pacientes com infecção de corrente sanguínea hospitalar por enterobactérias - Hospital São Paulo – UNIFESP, no período automatizado (agosto 2008 a julho 2009).....	30
Tabela 4. Variáveis relacionadas ao tratamento dos pacientes com infecção de corrente sanguínea hospitalar por enterobactérias - Hospital São Paulo – UNIFESP, nos períodos não-automatizado (agosto 2006 a julho 2007) e automatizado (agosto 2008 a julho 2009).....	30
Tabela 5. Variáveis relacionadas ao desfecho clínico dos pacientes com infecção de corrente sanguínea hospitalar por enterobactérias - Hospital São Paulo – UNIFESP, nos períodos não-automatizado (agosto 2006 a julho 2007) e automatizado (agosto 2008 a julho 2009).....	31
Tabela 6. Análise univariada dos preditores de mortalidade em 14 dias dos pacientes com infecção de corrente sanguínea hospitalar por enterobactérias - Hospital São Paulo – UNIFESP, agosto 2006 a julho 2007 e agosto 2008 a julho 2009.....	32
Tabela 7. Fatores de risco independentes para mortalidade em 14 dias dos pacientes com infecção de corrente sanguínea hospitalar por enterobactérias - Hospital São Paulo – UNIFESP, agosto 2006 a julho 2007 e agosto 2008 a julho 2009	33

Lista de abreviaturas

APACHE II	<i>Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II</i>
ATB	Antibiótico
BGN	Bactéria gram – negativa
CCIH	Comissão de Controle de Infecção Hospitalar
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
CEH	Comissão de Epidemiologia Hospitalar
CIM	Concentração inibitória mínima
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
DI	Dias de internação
DP	Desvio-padrão
ESBL	<i>Extended spectrum beta lactamases</i> (Beta-lactamases de espectro estendido)
GRA	Grupo de Racionalização de Antimicrobianos
IB	Identificação da bactéria
IC	Intervalo de confiança
ICS	Infecção de corrente sanguínea
INICC	<i>Internacional Nosocomial Infection Control Consortium</i>
ITU	Infecção de trato urinário
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae</i> produtora de carbapenemase
MBL	Metalo-beta-lactamase
MRSA	<i>Methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i> (<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à metilina)
OR	Odds ratio
PAV	Pneumonia associada a ventilação
SBI	Sociedade Brasileira de Infectologia
SUS	Sistema Único de Saúde

Suscep.	Susceptibilidade
TSA	Teste de Susceptibilidade Antimicrobiana
UNIFESP	Universidade Federal de São Paulo
UTI	Unidade de terapia intensiva
VRE	<i>Vancomycin-resistant Enterococcus</i> (Enterococo resistente a vancomicina)

Resumo

A família *Enterobacteriaceae* é uma importante causa de infecção da corrente sanguínea (ICS). O aumento da resistência microbiana é um fator complicador no tratamento dessas infecções, fazendo com que a concentração inibitória mínima (CIM) tenha um papel importante na análise do antibiograma. No Hospital São Paulo - UNIFESP, até agosto de 2007, os testes de susceptibilidade antimicrobiana (TSA) de hemoculturas para enterobactérias eram realizados através do método de disco-difusão. A partir desta data, os TSA passaram a ser realizados através do sistema microbiológico automatizado Phoenix™, que fornece uma CIM aproximada por microdiluição. Embora a importância da CIM seja bem documentada em estudos com *Staphylococcus aureus* metilino-resistente (MRSA), não há estudo analisando o impacto que esses sistemas automatizados teriam sobre a evolução clínica dessas infecções. **Objetivos:** comparar a evolução clínica das ICS hospitalares por enterobactérias no período não-automatizado *versus* período automatizado, determinar a prevalência de enterobactérias causadoras de ICS no período de estudo e analisar os fatores associados à mortalidade em 14 dias das ICS hospitalares por enterobactérias. **Método:** trata-se de um estudo tipo coorte retrospectivo, onde foram avaliadas as ICS hospitalares por enterobactérias nos períodos não-automatizado (agosto de 2006 a julho de 2007) e automatizado (agosto de 2008 a julho de 2009) do Hospital São Paulo - UNIFESP. Na segunda etapa do estudo, os pacientes foram realocados e divididos em óbitos e sobreviventes até 14 dias do diagnóstico da infecção para analisar os preditores de mortalidade dessas infecções. **Resultados:** foram avaliados 90 e 106 pacientes nos períodos não-automatizado e automatizado, respectivamente. Houve a prevalência do sexo masculino e a média de idade de 60 anos em ambos períodos. No período com automação, os pacientes apresentaram maior escore APACHE II ($p < 0,001$), fizeram mais uso de imunossupressores ($p < 0,001$) e ocorreu maior incidência de ICS associada a cateter venoso central ($p = 0,002$). As enterobactérias mais prevalentes foram a *Klebsiella* spp (36,6% e 43,3%) e *Proteus* spp (13,3% e 18,8%), respectivamente, no período não-automatizado e automatizado. Não houve diferença significativa quanto a adequação do tratamento ($p = 0,45$), resposta clínica ($p = 0,75$) e óbito ≤ 7 dias ($p = 0,79$), ≤ 14 dias ($p = 0,94$) e ≤ 28 dias ($p = 0,12$) entre períodos. Quando realocamos os pacientes que apresentaram óbito até 14 dias do diagnóstico da infecção ($n = 46$) em comparação com sobreviventes em 14 dias ($n = 150$), os

preditores que se associaram independentemente com a mortalidade foram: choque séptico (OR = 7,04; IC 95%= 2,92 – 17,01; $p < 0,001$) e uso de imunossupressores (OR= 2,23; IC 95%= 1,01 – 4,93; $p = 0,01$). **Conclusão:** A introdução do sistema microbiológico automatizado Phoenix™ não demonstrou impacto na evolução clínica das infecções de corrente sanguínea hospitalares por enterobactérias. *Klebsiella* spp e *Proteus* spp foram os agentes etiológicos mais prevalentes em ambos os períodos. Choque séptico e uso de imunossupressores foram os únicos fatores associados a mortalidade em 14 dias das ICS hospitalares por enterobactérias.

Palavras-chave: *Enterobacteriaceae*, Infecção de corrente sanguínea, Sistema automatizado, Mortalidade.

1. INTRODUÇÃO

As bactérias gram-negativas (BGN) da família *Enterobacteriaceae* são importante causa de infecções da corrente sanguínea (ICS), infecções de trato urinário (ITU) e infecções intra-abdominais. Dentre essa família, *Escherichia coli* é uma freqüente causa de ITU e todas as enterobactérias tem sido implicadas em ICS. Contudo, a progressiva emergência de resistência microbiana vem causando dificuldades no tratamento dos pacientes com infecções causadas por essas bactérias, principalmente com as cepas produtoras de beta-lactamases de espectro estendido (ESBL) e as produtoras de carbapenemases. Por isso, é imprescindível o tratamento adequado destas infecções (Paterson, 2006a; Nordmann et al., 2009).

A importância do adequado tratamento antimicrobiano tem sido reconhecida há mais de vinte anos. Em 1980, Kreger et al. demonstraram em um estudo de bacteremia por BGN, que a mortalidade foi reduzida em 50% nos pacientes que receberam terapia apropriada comparado com aqueles que receberam terapia inapropriada (19,5% versus 37,2%, respectivamente). Em outro estudo, a taxa de mortalidade em pacientes com bacteremia que receberam tratamento com antimicrobiano adequado foi de 20% comparado com 34% dos pacientes que receberam terapia inapropriada ($p < 0,0001$) (Leibovici et al., 1998). Esses dados foram semelhantes aqueles relatados por Kollef et al. (1999) e Ibrahim et al. (2000), que em um estudo com análise multivariada demonstraram que a administração de tratamento antimicrobiano inapropriado foi o principal fator de risco relacionado a mortalidade hospitalar.

O uso precoce do antibiótico correto, a dose apropriada e a duração adequada são a chave para a terapia adequada (Masterton et al., 2003). A otimização do tratamento começa com a escolha do antimicrobiano inicial empírico. Para isso, é importante conhecer os patógenos prováveis e os padrões de susceptibilidade locais esperados. Deve-se observar se ocorreu uso prévio de antibióticos e isolamento prévio de patógenos resistentes. Os testes de susceptibilidade têm o papel de ajudar no início da terapia apropriada. Quando a identificação da bactéria e o teste de susceptibilidade estão completos, o regime antimicrobiano para infecções por BGN podem ser “refinados”. Em algumas ocasiões, pode ser necessária a introdução de antibióticos “salvadores”, como a polimixina e tigeciclina; em outras, é necessário descalonar e finalizar o tratamento (Paterson, 2008). Por isso, é muito importante o teste de susceptibilidade e sua correta interpretação para guiar a terapia antimicrobiana

apropriada para as BGN, principalmente em infecções graves, como as infecções de corrente sanguínea.

É bem documentado que resultados rápidos e confiáveis de hemocultura influenciam significativamente o manejo do paciente e reduzem os custos hospitalares de modo geral (Trenholme et al., 1989; Barenfanger et al., 1999). Nos últimos 20 anos, uma variedade de sistemas automatizados tem sido desenvolvida. Há vários fatores a favor do uso de sistemas automatizados no laboratório de microbiologia, entre eles: a reprodutibilidade, a capacidade de acompanhar resultados, a redução da quantidade de resíduos contaminados, a conexão automática para o software do laboratório de informática e a oportunidade dos clínicos de obterem os resultados parciais e finais mais rápidos (Donay et al., 2004). Uma vantagem adicional é a realização da concentração inibitória mínima (CIM) devido a importância que tem a CIM na análise do antibiograma. Isso tem sido bem demonstrado em estudos com bactérias gram-positivas, como o *Staphylococcus aureus* (Sakoulas et al., 2004; Lodise et al., 2008), fazendo com que o *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) (2009) exigisse dos laboratórios a realização da CIM desse microrganismo em todos os antibiogramas.

No Hospital São Paulo - UNIFESP, até agosto de 2007, os testes de susceptibilidade antimicrobiana (TSA) de patógenos provenientes de hemoculturas eram realizados através do método de disco-difusão. Este método não oferece o valor da concentração inibitória mínima (CIM), mas somente refere-se ao patógeno como sensível, intermediário ou resistente ao antibiótico. A partir desta data, a identificação da bactéria e os TSA de materiais biológicos estéreis, como sangue, passaram a ser executados através do sistema microbiológico automatizado Phoenix™ (BD Diagnostic Systems, Sparks, MD). Esse sistema é um grande avanço, visto que é capaz de referir a CIM aproximada da bactéria para determinado antibiótico. Dessa forma, a interpretação do antibiograma pelo clínico é mais fidedigna, levando ao tratamento antimicrobiano adequado.

O presente estudo foi desenvolvido com o intuito de avaliar o impacto da introdução do sistema microbiológico automatizado Phoenix™ na evolução clínica das infecções de corrente sanguínea hospitalares por *Enterobacteriaceae*, determinar a prevalência dessas enterobactérias e analisar os fatores associados à mortalidade em 14 dias.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Família *Enterobacteriaceae*

A família *Enterobacteriaceae* é a maior e mais heterogênea família de bactérias gram-negativas de importância médica. São considerados atualmente 42 gêneros e cerca de 102 espécies diferentes.

As principais características desses patógenos são as seguintes: fermentadores de glicose com ou sem produção de gás, não esporulados, móveis (peritríquios) ou imóveis, oxidase negativa, catalase positiva, aeróbios e anaeróbios facultativos, reduzem nitrato a nitrito e crescem bem em meios comuns de cultura, ex. ágar McConkey.

Epidemiologicamente são encontradas no trato gastrointestinal de humanos, no reino animal, água, solo e vegetais. Alguns são considerados enteropatógenos por causarem preferencialmente infecções gastrointestinais como *Salmonella typhi*, *Shigellae* spp e *Yersinia*.

As enterobactérias representam 80% de todas as bactérias gram-negativas de importância clínica isoladas em culturas, sendo 70% em infecções de trato urinário e 50% de bacteremias.

Os principais patógenos causadores de infecções intra-hospitalares da família *Enterobacteriaceae* são: *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter* spp, *Serratia* spp, *Providencia* spp, *Proteus* spp e *Morganella morganii* (Murray et al., 2008).

O principal mecanismo de resistência das enterobactérias é a produção enzimática de beta-lactamases. As beta-lactamases mais importantes são: Amp-C, metalo-beta-lactamase, beta-lactamase de espectro estendido (ESBL) e produtora de carbapenemase.

As beta-lactamases AmpC são enzimas expressas por genes localizados no cromossomo ou no plasmídio, podendo ser constitutivas ou induzíveis. São capazes de hidrolisar penicilina, ampicilina, cefalosporinas de 1^a, 2^a e 3^a geração e monobactâmicos, e são ativas contra inibidores de beta-lactamases (ácido clavulânico, sulbactam e tazobactam).

As metalo-beta-lactamases (MBL) são enzimas expressas por genes localizados no cromossomo ou no plasmídeo. São enzimas ativas contra cefalosporina de espectro estendido e carbapenêmicos, mas não são ativas contra o aztreonam (Murray et al., 2008).

As beta-lactamases de espectro estendido (ESBL) hidrolisam cefalosporinas de espectro ampliado e estendido, monobactâmicos e penicilinas. Os genes que codificam as ESBLs são frequentemente encontrados em plasmídios; e estes elementos móveis muitas vezes carregam genes que codificam resistência a outras drogas, como aminoglicosídeos e quinolonas. Isso significa que as enterobactérias produtoras de ESBL são comumente resistentes a várias drogas, tornando-se um desafio o tratamento das infecções hospitalares, principalmente em pacientes gravemente doentes (Paterson, 2006a; Endimiani, Paterson, 2007).

Estudos *“in vitro”* mostram que a concentração inibitória mínima (CIM) das cefalosporinas de terceira e quarta geração das enterobactérias produtoras de ESBL são sete vezes maiores que o inóculo padrão usado nos testes de susceptibilidade (Thomson, Moland, 2001). Isso permite a situação na qual o teste *“in vitro”* indica que o isolado é susceptível a cefalosporina de última geração, mas ocorre falha terapêutica quando a droga é utilizada. Em um estudo de pacientes com bacteremia por *K. pneumoniae* produtora de ESBL, 54% receberam tratamento com cefalosporina susceptível, como determinado pelos testes *“in vitro”*, e tiveram falha terapêutica. Os dados sugerem que um antibiótico com CIM de 8 µg/mL foi universalmente associado com falha terapêutica e altas taxas de falha foram observadas com CIM de 4 µg/mL (Paterson et al., 2001). Esses dados são consistentes com uma variedade de estudos observacionais que mostraram taxas de falhas terapêutica > 90%, 67%, e <30% com CIM's de 8, 4 e ≤ 2 µg/mL, respectivamente (Wong-Beringer et al., 2002; Paterson et al., 2004). Devido a alta taxa de falha terapêutica, em 2005 as diretrizes do CLSI recomendaram que os laboratórios reportassem os isolados produtores de ESBL como resistentes a todas as penicilinas, cefalosporinas e aztreonam independente dos resultados dos testes *“in vitro”* (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005).

Em janeiro de 2010, através do suplemento S20 do documento M100, o subcomitê de Testes de Susceptibilidade Antimicrobiana do CLSI, publicou os novos pontos de corte para aztreonam, cefazolina, ceftriaxona, cefotaxima e ceftazidima. Os

pontos de corte para cefuroxima e cefepime, apesar de terem sido reavaliados, não foram modificados (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2010).

Em março de 2010, o comitê de Bacteriologia Clínica da Sociedade Brasileira de Infectologia (SBI) reuniu-se a fim de adequar o ponto de corte do cefepima à realidade brasileira. A conclusão do grupo é que enterobactérias devem ser consideradas sensíveis à cefepima quando a CIM for ≤ 1 $\mu\text{g/ml}$, intermediárias quando a CIM for de 2 a 8 $\mu\text{g/ml}$, e resistentes quando a CIM for ≥ 16 $\mu\text{g/ml}$, ou seja, mantiveram-no abaixo do ponto de corte estabelecido pelo CLSI.

O tratamento de escolha para infecções graves por enterobactérias produtoras de ESBL são os carbapenêmicos. Um estudo randomizado comparando cefepima versus imipenem em pacientes com pneumonia nosocomial mostrou que 100% dos pacientes que receberam imipenem para pneumonia causada por produtores de ESBL tiveram uma boa resposta clínica comparado com somente 69% dos pacientes tratados com cefepima (Zanetti et al., 2003). Similarmente, um estudo prospectivo observacional de pacientes com bacteremia por *K. pneumoniae* reportou taxa de mortalidade no 14º dia de 3,7% com monoterapia com carbapenêmico, comparado com taxas de 36,3% e 44,4% com quinolona e monoterapia com beta-lactâmico não-carbapenêmico, respectivamente. Em pacientes infectados com *K. pneumoniae* produtora de ESBL, a taxa de mortalidade no 14º dia foi 4,8% entre pacientes que receberam carbapenêmico em monoterapia ou terapia combinada e 27,6% entre aqueles que receberam tratamento com antibiótico não-carbapenêmico (Paterson et al., 2004).

As beta-lactamases KPC são enzimas plasmídeo-mediadas capazes de hidrolisar e inativar carbapenêmicos. As cepas produtoras de KPC tem geralmente sido associadas a resistências a múltiplas drogas incluindo piperacilina-tazobactam, cefalosporinas de terceira e quarta geração, fluoroquinolonas, aminoglicosídeos, bem como a carbapenêmicos (Nordmann et al., 2009). Embora “*in vitro*” dados demonstrem que a tigeciclina e a colistina poderiam ser potenciais opções terapêuticas, a experiência clínica é escassa (Yang, Guglielmo, 2007).

2.2 Infecção de corrente sanguínea

Infecções nosocomiais da corrente sanguínea constituem uma das principais causas de morte. Assumindo-se uma taxa total de infecção hospitalar de 5%, cujo 10% destas são infecções de corrente sanguínea e com uma mortalidade atribuída de 15%, as infecções de corrente sanguínea (ICS) poderiam representar a oitava causa de morte nos Estados Unidos (Wenzel, Edmond, 2001).

Em 2003, Endimiani et al. descreveram que os mais frequentes fatores predisponentes para ICS são cateter intravascular (56,4%) e uso prévio de antibióticos (50,9%). E ainda, no momento da primeira hemocultura positiva, 83,5% dos pacientes recebiam tratamento empírico, mas este era adequado em somente 53,9% dos casos. Após o teste de susceptibilidade antimicrobiana, o tratamento antibiótico adequado foi dado em 67,9% dos casos. Na análise estatística, os fatores de risco independentes para mortalidade em ICS foram: idade avançada ($p < 0,04$), doença rapidamente fatal ($p < 0,001$), choque séptico ($p < 0,02$), falência de múltiplos órgãos ($p < 0,001$), uso prévio de antimicrobianos ($p < 0,036$) e enterobactérias produtoras de ESBL ($p < 0,03$) (Endimiani et al., 2003).

2.3 Infecção de corrente sanguínea por enterobactérias

Dentre as bactérias gram-negativas implicadas nas ICS, *E. coli* é a mais comum, seguido da *K. pneumoniae* (Podschun, Ullmann, 1998).

O programa SENTRY, realizado em hospitais brasileiros entre 2003 a 2008, avaliou a susceptibilidade antimicrobiana dos bacilos gram-negativos. Os microrganismos mais frequentemente isolados em infecções de corrente sanguínea (ICS) foram a *Escherichia coli* (12,8%), *Klebsiella* spp (12,5%), *Pseudomonas aeruginosa* (9,6%), *Acinetobacter* spp (8,0%) e *Enterobacter* spp (6,4%). Aproximadamente 10% das *E. coli* e 50% das *K. pneumoniae* exibiam fenótipo ESBL (Andrade et al., 2008).

O estudo SCOPE (*Surveillance and Control of Pathogens of Epidemiological Importance*) foi um estudo prospectivo realizado em 16 hospitais brasileiros, onde foram avaliados 2.563 casos de ICS hospitalares no período de 12 de junho de 2007 a

31 de março de 2010. As bactérias gram negativas foram responsáveis por 58,5% dessas infecções, sendo *Klebsiella* spp a bactéria gram negativa mais comum (12%). Em torno de 54,9% das cepas de *Klebsiella* spp eram resistentes a cefalosporina de terceira geração (Marra et al., 2011). Esses estudos refletem a importância da família *Enterobacteriaceae* nas infecções de corrente sanguínea nos hospitais brasileiros.

A maioria dos estudos de infecção de corrente sanguínea por *Enterobacteriaceae* analisam aquelas produtoras de ESBL ou descrevem um agente-específico.

Kang et al. (2004) avaliaram as ICS por *K. pneumoniae* e *E. coli* produtoras de ESBL, e descreveram uma taxa de mortalidade em 30 dias de 25,6%. Os fatores de risco independentes para mortalidade foram sepse grave, peritonite, neutropenia, *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II* (APACHE II) score > 16 e administração de cefalosporina de amplo espectro como terapia antimicrobiana definitiva ($p < 0,05$ para cada um desses fatores de risco).

Em 2005, Endimiani et al. publicaram 25 casos de ICS por *Proteus mirabilis*, e compararam os casos devido a cepas ESBL-positivas ($n= 11$) versus ESBL-negativas ($n= 14$). Hospitalização prévia ($p = 0,04$) e uso de sonda vesical de demora ($p = 0,01$) foram fatores de risco significantes para infecções devido a cepas ESBL-positivas. E ainda, casos devido a cepas ESBL-positivas mostraram significativamente maior mortalidade atribuída a ICS ($p= 0,04$). Todos os casos de cepas ESBL-negativas responderam ao tratamento antimicrobiano, enquanto que 5/11 (45%) casos de cepas ESBL-positivas tiveram falência terapêutica ($p < 0,01$).

Um estudo retrospectivo caso-controle avaliou ICS por *K. pneumoniae*, sendo 48 casos por cepas produtoras de ESBL versus 99 não-produtoras de ESBL. Quando a resposta inicial foi avaliada 72 horas após a terapia antimicrobiana, a taxa de falha terapêutica foi duas vezes maior no grupo de *K. pneumoniae* produtora de ESBL (OR= 2,19; IC 95%= 0,98 – 4,89). A taxa de mortalidade em 21 dias em todos os pacientes foi de 37%, sendo 52% em pacientes com cepas produtoras de ESBL e 29% naqueles com cepas não-produtoras de ESBL (OR= 2,62; IC 95%= 1,28 - 5,35) (Tumbarello et al., 2006).

Um estudo brasileiro realizado no Hospital São Paulo - UNIFESP avaliou todas as cepas de *K. pneumoniae* em ICS no período de 1996 a 2001. Foram encontradas

108 cepas, sendo 52% delas produtoras de ESBL. A mortalidade hospitalar geral foi de 40,8%. Os preditores independentes de mortalidade foram: ventilação mecânica ($p=0,001$), número de comorbidades ($p=0,003$), uso prévio de antibióticos ($p=0,01$) e presença de doença rapidamente fatal ($p=0,025$). Neste estudo, bacteremia por cepas produtoras de ESBL não foi fator independente de mortalidade em pacientes com ICS (Marra et al., 2006).

O estudo conduzido por Tumbarello et al. (2007) avaliou os preditores de mortalidade em pacientes com ICS por *Enterobacteriaceae* produtoras de ESBL. Dentre os 186 isolados, haviam *E. coli* ($n=104$), *K. pneumoniae* ($n=58$) e *P. mirabilis* ($n=24$). A taxa de mortalidade em 21 dias foi de 38,2%. Os preditores independentes de mortalidade foram tratamento antimicrobiano inicial inadequado (OR= 6,28; IC 95%= 3,18 - 12,42; $p<0,001$) e sítio de infecção primário não-identificado (OR= 2,69; IC 95%= 1,38 - 5,27; $p=0,004$). O tratamento inadequado dos pacientes, ou seja, o uso de oximinocefalosporinas ou fluoroquinolonas no tratamento aumentou três vezes a mortalidade comparado com o grupo do tratamento adequado (59,5% versus 18,5%; OR= 2,38; IC 95%= 1,76 - 3,22; $p<0,001$).

Peralta et al. (2007) analisaram as ICS por *E. coli* e descreveram que idade avançada, presença de sepse severa ou choque séptico e sítio de infecção não-urinário associaram-se com aumento da mortalidade. Em 2008, Laupland et al. realizaram um estudo semelhante, além dos preditores de mortalidade descritos acima, o número de comorbidades também foi uma variável associada.

Um estudo coorte retrospectivo, realizado por Cordery et al. (2008), comparou as ICS por *K. pneumoniae* e *E. coli* produtoras de ESBL ou não em pacientes internados em UTI. Embora não demonstrasse significância estatística entre os fatores de risco individuais e a aquisição de organismo produtor de ESBL, houve um atraso na terapia antimicrobiana adequada (OR= 9,17; IC 95%= 2,00 - 42,20; $p=0,0005$) e um aumento na mortalidade precoce (< 25 dias após a infecção) dos pacientes com cepas produtoras de ESBL (OR= 3,93; IC 95%= 1,05 - 14,63; $p=0,03$).

Em 2009, Meatherall et al. analisaram 640 episódios de bacteremia por *K. pneumoniae*. A taxa de mortalidade foi de 20% e os fatores que se associaram independentemente com o risco de óbito foram: idade avançada, aquisição nosocomial, sítio de infecção não-urinário e não-biliar e várias comorbidades.

2.4 Sistema microbiológico automatizado Phoenix™

O sistema microbiológico automatizado Phoenix™ (BD Diagnostic Systems, Sparks, MD) foi desenvolvido para fornecer uma rápida, confiável e acurada identificação bacteriana e resultado de testes de suscetibilidade antimicrobiana (TSA) para a maioria das espécies clínicas encontradas (Menozzi et al., 2006).

Esse sistema tem como vantagens: um grande banco de dados (o software é padronizado pelo CLSI), detecta marcadores de resistência microbiana (por exemplo, ESBL, enterococo resistente a vancomicina (VRE), *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA)), informa a CIM medida, mas que pode apresentar um valor aproximado devido ao pequeno número de diluições utilizadas; e os resultados dos testes fenotípicos e de susceptibilidade antimicrobiana são obtidos em um menor período de tempo, 3 - 6 horas e 6 -18 horas, respectivamente.

Devido a essa grande perspectiva do Phoenix™, vários estudos têm sido realizados para avaliar a eficácia deste sistema automatizado. É descrito um alto índice de identificação correta das enterobactérias quando comparado com testes bioquímicos convencionais, por exemplo, 93,3%, 98,4% e 95,6% por Donay et al. (2004), Menozzi et al. (2006) e Carroll et al. (2006), respectivamente. Em relação ao TSA das bactérias gram negativas, a concordância essencial e a concordância categórica encontradas foram 94,2% e 97,3% (Menozzi et al., 2006); 98,7% e 97,9% (Carroll et al., 2006), respectivamente. Os dados relatados a respeito das taxas de erro são animadores, sendo o “very major error”, “major error” e “minor error”, respectivamente, de 1,6%, 0,6% e 1,9% por Menozzi et al. (2006) e 0,38%, 0,33% e 1,8% por Carroll et al. (2006).

Em agosto 2007, no Hospital São Paulo – UNIFESP, a identificação da bactéria e os TSA passaram a ser executados através do sistema microbiológico automatizado Phoenix™.

Embora a importância da CIM seja bem documentada e haja descrição de bons resultados sobre o Phoenix™, não há estudo publicado até momento sobre o impacto que a utilização de um sistema automatizado teria sobre a evolução clínica de infecções de corrente sanguínea hospitalares causadas por enterobactérias.

3. OBJETIVOS

- Comparar a evolução clínica das infecções de corrente sanguíneas (ICS) hospitalares por enterobactérias em dois períodos (período não-automatizado *versus* período automatizado).
- Determinar a prevalência de enterobactérias causadoras de ICS hospitalares no período de estudo.
- Analisar os fatores associados à mortalidade em 14 dias das ICS hospitalares por enterobactérias.

4. MÉTODOS

4.1 Local

O estudo foi realizado no Hospital São Paulo - UNIFESP, que presta assistência médica prioritariamente a população do Sistema Único de Saúde (SUS).

O Hospital São Paulo - UNIFESP tem capacidade aproximada de 754 leitos, distribuídos em 25 unidades de internação em diversas especialidades e unidades de terapia intensiva especializadas nas seguintes áreas: Pneumologia, Cardiologia, Cirurgia Cardiovascular, Neurocirurgia, Nefrologia e Anestesiologia/Dor. Possui serviço de transplantes de órgãos sólidos (rins, pâncreas, fígado e coração) e medula óssea.

A Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) do Hospital São Paulo – UNIFESP foi constituída em 1984 e dez anos depois foi criada a Comissão de Epidemiologia Hospitalar (CEH), composta hoje por três médicos e quatro enfermeiras especialistas em infecção hospitalar.

O Grupo de Racionalização de Antimicrobianos (GRA) foi criado em 1990 e hoje é dividido em subgrupos (UTIs e Enfermarias) sendo composto de sete médicos-assistentes e uma farmacêutica. Há a participação de pós-graduandos e residentes da disciplina de Infectologia e outras disciplinas.

As principais atividades deste grupo são: avaliação diária da ficha de solicitação de antimicrobianos, assistência na escolha da terapia antimicrobiana empírica e guiada por culturas e orientação no tratamento de patógenos não-usuais e em patógenos multirresistentes incluindo novas formas de tratamento. Além disso, o grupo é responsável pela notificação das hemoculturas parciais positivas em todas as unidades do hospital.

4.2 Desenho do estudo

Trata-se de um estudo tipo coorte retrospectivo, no qual foram identificados os pacientes com infecção de corrente sanguínea hospitalares por enterobactérias internados no Hospital São Paulo - UNIFESP em dois períodos, entre agosto de 2006 a julho de 2007 (período não-automatizado) e agosto de 2008 a julho de 2009 (período automatizado).

A análise dos prontuários foi realizada em sua totalidade pela pesquisadora principal.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética Institucional sob o número 1149/09.

4.3 Definição de caso e critérios de exclusão

4.3.1 Identificação dos casos

A identificação dos pacientes com infecção de corrente sanguínea hospitalar por enterobactérias internados no Hospital São Paulo - UNIFESP foi realizada através de levantamento de dados registrados na ficha de notificação de hemoculturas do Grupo de Racionalização de Antimicrobianos preenchida pelos médicos residentes e pós-graduandos da instituição. Esta ficha também registra dados do laboratório de microbiologia que é informatizado. Desta forma foi possível encontrar o número total de hemoculturas nas quais ocorreu crescimento de *Enterobacteriaceae* identificado pelo Laboratório de Microbiologia do Hospital São Paulo.

A partir desta listagem, procedeu-se a revisão dos prontuários médicos dos pacientes nos quais foi diagnosticada infecção de corrente sanguínea por enterobactérias (Garner et al., 1988).

O estudo dividiu os pacientes em dois períodos: não-automatizado e automatizado. O período não-automatizado foi definido como aquele em que os episódios de infecção de corrente sanguínea hospitalar por enterobactérias ocorreram no período de agosto de 2006 a julho de 2007, período no qual a identificação da bactéria e o teste de susceptibilidade antimicrobiana eram realizados através de provas bioquímicas e do método de disco difusão, respectivamente. Enquanto que o período automatizado foi definido como aquele em que os episódios de infecção de corrente sanguínea hospitalar por enterobactérias ocorreram no período de agosto de 2008 a julho de 2009, no qual todas as hemoculturas passaram a ser analisadas pelo sistema microbiológico automatizado Phoenix™.

Foram encontrados 371 pacientes com infecção de corrente sanguínea (ICS) por enterobactérias no período do estudo, e sendo excluídos 175 casos. A amostra final foi

de 196 pacientes que preencheram os critérios de inclusão, sendo 90 no período não-automatizado e 106 no período automatizado.

Optamos por não incluir no estudo o período de agosto de 2007 a julho de 2008 porque o sistema microbiológico automatizado Phoenix™ não estava em pleno funcionamento.

Após esta análise, os pacientes foram realocados em dois grupos, aqueles que apresentaram óbito até 14 dias do diagnóstico da infecção (n= 46) e aqueles sobreviventes em 14 dias (n= 150), para avaliar os preditores de mortalidade das ICS por enterobactérias.

4.3.2 Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo pacientes cujos prontuários médicos não puderam ser localizados no arquivo médico, as infecções comunitárias, os que não foram tratados com antimicrobianos e os que morreram em < 48 horas do diagnóstico de ICS.

4.4 Procedimentos microbiológicos

Todas as culturas foram encaminhadas para o Laboratório Central do Hospital São Paulo – UNIFESP, e depois processadas no setor de microbiologia. As técnicas de coleta, processamento de hemoculturas, identificação da bactéria e teste de susceptibilidade antimicrobiana durante o período do estudo serão descritas a seguir.

4.4.1 Coleta de hemoculturas

A coleta de hemoculturas foi precedida de lavagem de mãos do profissional de saúde que realizou a coleta e anti-sepsia do local de venopunção com álcool 70% ou solução de iodo. O sangue colhido foi introduzido em frascos Bactec9000 (Becton Dickinson, Cockeysville, MD, EUA) para hemocultura automatizada. Foi recomendado a coleta de 10ml de sangue para inoculação em frascos Bactec9000 (dois) para crescimento de bactérias aeróbias.

Os frascos de hemocultura foram encaminhados ao Laboratório Central do Hospital São Paulo.

4.4.2 Processamento de hemoculturas

As hemoculturas foram processadas por técnica automatizada utilizando o sistema de monitorização contínua de crescimento bacteriano Bactec9000. Os frascos de hemocultura contendo o sangue colhido foram colocados no aparelho Bactec9000 (Becton Dickinson, Cockeysville, MD, EUA) para leitura automatizada, onde permaneceram em agitação constante por até cinco dias. Quando a leitura do Bactec9000 indicava uma cultura positiva, o frasco era retirado do aparelho de leitura e o caldo de uma cultura com sangue era inoculado em placas de ágar-sangue, ágar-chocolate e ágar-McConkey. Estas placas eram então incubadas a 35°C por 24 horas sendo que as placas de ágar-sangue e ágar-chocolate eram incubadas em CO₂ e as placas de ágar-McConkey em atmosfera normal. Concomitantemente, era realizada bacterioscopia com coloração de Gram. Em caso de identificação de bactérias no exame bacterioscópico e crescimento de colônias em qualquer das três placas inoculadas, procedia-se à identificação do organismo.

4.4.3 Identificação da bactéria e teste de susceptibilidade antimicrobiana

Até agosto de 2007, a identificação da bactéria e o teste de susceptibilidade antimicrobiana proveniente de hemoculturas eram realizados através de provas bioquímicas e do método de disco difusão, respectivamente. Após esta data, a identificação da bactéria e o teste de susceptibilidade antimicrobiana passaram a ser processados pelo sistema microbiológico automatizado Phoenix™.

Este sistema possui duas porções, uma para identificação da bactéria (IB) e outra para o teste de susceptibilidade antimicrobiana (TSA). No lado IB foram utilizados uma série de testes bioquímicos convencionais, cromogênicos e fluorogênicos para determinar a identificação do organismo. Enquanto que no lado TSA utilizou-se o teste de microdiluição em caldo, que é um método quantitativo cujo resultado é fornecido através da concentração inibitória mínima (CIM). A detecção do crescimento do

organismo na presença do antimicrobiano foi realizada através do indicador redox e da turbidez da bactéria.

4.5 Definições

4.5.1 Infecções hospitalares

Infecções urinárias, pneumonias, infecções de sítio cirúrgico, osteomielites, endocardites, meningites, infecções do sistema nervoso central, infecções gastrintestinais, infecções de pele e partes moles foram definidas seguindo os critérios do “Centers for Disease Control and Prevention (CDC)” para definições de infecções hospitalares (Garner et al., 1988; Mangram et al., 1999).

Segundo o Ministério da Saúde, infecção hospitalar é qualquer infecção adquirida após a internação do paciente e que se manifesta durante a internação ou mesmo após a alta, quando puder ser relacionada com a internação ou procedimentos hospitalares (Brasil, 1998).

Infecção comunitária foi definida como toda infecção adquirida na comunidade, independentemente do local onde tenha sido diagnosticada.

4.5.2 Infecção de corrente sanguínea

Foi definida seguindo os critérios do CDC para a definição de infecções hospitalares (Garner et al., 1988).

4.5.2.1 Infecção primária de corrente sanguínea

Preencheu um dos seguintes critérios:

1. Identificação de um organismo em cultura de sangue, e este organismo não pode estar relacionado a uma infecção em outro sítio, e não compor a microbiota da pele;

2. Presença de um dos seguintes sintomas: febre ($> 38^{\circ}\text{C}$), calafrios, ou hipotensão; e qualquer um dos seguintes achados:
 - I. Organismo que compõe a microbiota normal da pele identificado em duas culturas de sangue colhidas em ocasiões diferentes, e este organismo não está relacionado a uma infecção em outro sítio;
 - II. Organismo que compõe a microbiota normal da pele identificado em cultura de sangue de paciente com acesso venoso, e instituição de terapia antimicrobiana;
 - III. Detecção de antígenos virais, bacterianos ou fúngicos no sangue por meio de testes diagnósticos rápidos, e este organismo não está relacionado a uma infecção em outro sítio.

O isolamento do mesmo microrganismo no mesmo paciente em um período menor ou igual a sete dias após a hemocultura inicial foi considerado um único e mesmo episódio de infecção de corrente sanguínea.

Infecções de corrente sanguínea associadas a cateteres intravasculares foram consideradas como infecções primárias de corrente sanguínea seguindo os critérios do CDC para definições de infecções hospitalares (Garner et al., 1988).

4.5.2.2 Infecção secundária da corrente sanguínea

Infecção de corrente sanguínea na qual o organismo identificado em cultura de sangue foi identificado como agente etiológico de uma infecção em outro sítio. Para tanto, as culturas de sangue e do outro sítio de infecção devem ter sido colhidas dentro de um intervalo de até sete dias.

Foram consideradas como sítios primários de infecções secundárias da corrente sanguínea: infecções urinárias, pneumonias, infecções de sítio cirúrgico, osteomielites, endocardites, meningites, infecções gastrintestinais e infecções de pele e partes moles.

4.5.2.3 Infecção de corrente sanguínea associada a cateteres intravasculares

Foi definida seguindo as definições do CDC para a prevenção de infecções associadas a cateteres intravasculares (Pearson, 1996). Foi caracterizada quando o mesmo organismo (mesma espécie e antibiograma) foi identificado por metodologia semi-quantitativa ou quantitativa (Maki et al., 1977) em um segmento do cateter e em sangue de um paciente com infecção de corrente sanguínea sem outro foco aparente de infecção. Na ausência de confirmação laboratorial, o desaparecimento da sintomatologia após remoção do cateter intravascular em um paciente com infecção de corrente sanguínea sintomática foi considerado como uma evidência indireta de infecção de corrente sanguínea associada a cateter intravascular.

4.5.2.4 Infecção de corrente sanguínea por enterobactérias

Infecção de corrente sanguínea na qual tenha sido isolado e identificado algum organismo da família *Enterobacteriaceae* em pelo menos uma cultura de sangue.

4.5.2.5 Infecção de corrente sanguínea polimicrobiana

Infecção de corrente sanguínea na qual houve crescimento de duas espécies de microorganismos na mesma hemocultura ou em duas hemoculturas distintas colhidas no mesmo dia.

4.5.3 Óbito relacionado à infecção de corrente sanguínea por enterobactérias

O óbito foi considerado relacionado à infecção de corrente sanguínea quando ocorreu durante o período até 14 dias após o diagnóstico da infecção, sem ter sido atribuído a nenhuma outra causa aguda.

4.5.4 Gravidade da doença de base

Foram utilizados dois índices de classificação de gravidade de doença de base, a pontuação de APACHE II e o índice de McCabe modificado.

4.5.4.1 Escore APACHE II

O APACHE II (*Acute Physiology and Chronic Health Evaluation*) é um índice usado para estratificar pacientes em função de gravidade de doença de base. Este índice leva em consideração o grau de anormalidade de uma série de variáveis fisiológicas (Knaus et al., 1985). Para tanto, doze variáveis fisiológicas são analisadas e pontuadas de 0 a 4 de acordo com o grau de desvio da normalidade encontrado. Soma-se à pontuação das variáveis fisiológicas a pontuação para idade (de 0 a 6 pontos) e a pontuação para presença de doenças crônicas graves (0,2 ou 5 pontos). A soma de todos os pontos resulta na pontuação de APACHE II, que pode variar de 0 a 71.

4.5.4.2 Índice de McCabe modificado

A gravidade de doenças de base foi também caracterizada de acordo com os critérios de McCabe (McCabe, Jackson, 1962) modificados por Seifert et al. (1995), em três grupos descritos a seguir:

Grupo 1 – Rapidamente fatal: Previsão de evolução para óbito durante a internação

Grupo 2 – Potencialmente fatal: Previsão de evolução para óbito dentro de 5 anos

Grupo 3 – Não fatal: Doença de base não fatal.

4.5.5 Classificação da doença de base

Os pacientes foram categorizados dentro dos seguintes diagnósticos de acordo com a descrição feita pelo médico no prontuário do paciente: diabetes mellitus, cirrose, doença pulmonar obstrutiva crônica, insuficiência renal crônica, transplante de órgãos

sólidos, transplante de medula óssea, neoplasia sólida, neoplasia hematológica, doença do tecido conectivo, demência, síndrome da imunodeficiência adquirida, infarto agudo do miocárdio, insuficiência cardíaca congestiva, doença vascular periférica, doença cerebro-vascular e as não incluídas nestas, serão identificadas como “outras”.

4.5.6 Uso de antimicrobianos

Foram considerados apenas antimicrobianos utilizados por um período superior a 48 horas.

4.5.7 Antimicrobianos prévios

Foi observada a exposição dos pacientes aos seguintes antimicrobianos:

- Ampicilinas – ampicilina, amoxicilina e amoxicilina associadas ou não a inibidores de beta-lactamase.
- Oxacilina.
- Cefalosporinas de terceira geração – cefotaxima, ceftriaxona, e ceftazidima.
- Cefalosporinas de quarta geração – cefepima
- Macrolídeos – claritromicina, eritromicina e azitromicina
- Carbapenens – meropenem e imipenem
- Clindamicina
- Glicopeptídeos – vancomicina e teicoplanina
- Fluoroquinolonas – ciprofloxacina, ofloxacina, levofloxacina
- Sulfametoxazol /Trimetoprim
- Aminoglicosídeos – amicacina, gentamicina, e estreptomicina
- Piperacilina / tazobactam
- Metronidazol
- Linezolida

4.5.8 Adequação da terapêutica antimicrobiana

O uso de antimicrobianos foi considerado **adequado**, se iniciado pelo menos um dos antimicrobianos ao qual a bactéria era sensível “*in vitro*” até 48 horas após a coleta da hemocultura. A terapia foi designada **inadequada**, quando um dos antibióticos que a bactéria era sensível “*in vitro*” foi introduzido somente após 48 horas da coleta da primeira hemocultura positiva ou se o microrganismo isolado não era sensível “*in vitro*” aos antimicrobianos utilizados.

4.6 Análise de dados

4.6.1 Coleta dos dados

Um instrumento de coleta de dados foi desenvolvido e utilizado para a coleta de dados a partir dos prontuários médicos (Anexo 1).

4.6.2 Banco de dados

As informações foram armazenadas em banco de dados utilizando programa Excel® do Windows versão 2007.

A privacidade dos pacientes foi mantida durante e após o estudo. Os dados foram utilizados exclusivamente para o estudo em questão e para posterior publicação resultante deste estudo.

4.7 Variáveis analisadas

As variáveis analisadas foram: sexo, idade, escores de gravidade (APACHE II / McCabe), presença de duas ou mais comorbidades, presença de neutropenia, uso de agentes imunossupressores até 30 dias antes da ICS (corticosteróides, drogas antineoplásicas), procedimento cirúrgico prévio (30 dias antes da ICS), internação prévia (90 dias antes da ICS), uso de antibiótico prévio (30 dias antes da ICS), exposição a procedimentos e dispositivos invasivos pelo menos 72 horas antes da ICS

(ventilação mecânica, traqueostomia, cateter venoso central (curta e longa duração), sonda nasoenteral, sonda vesical de demora, derivação ventricular, nutrição parenteral, diálise, cateter de Swan- Ganz), presença de sepse, sepse severa ou choque séptico (até 48hs antes da bacteremia, de acordo como foi definido no prontuário), setor hospitalar (UTI ou enfermaria) no qual ocorreu a infecção, dias de internação antes da ICS, sítio primário da infecção, qual enterobactéria foi isolada, perfil de sensibilidade da enterobactéria nas hemoculturas, cepa produtora de ESBL, cepa produtora de carbapenemase, infecção associada a cateter intravascular, infecção polimicrobiana, terapia antimicrobiana instituída, adequação da terapêutica antimicrobiana, mudança de antibiótico, motivo da mudança e quem orientou a mudança (GRA ou médico assistente), resposta clínica (até 14 dias após o início do tratamento) e taxa de mortalidade em 7, 14 e 28 dias após o início do tratamento (calculado como o número de óbitos no período/ número total de casos).

4.7.1 Análise estatística

O teste t-student foi utilizado para comparar as variáveis contínuas, e o teste Qui-Quadrado ou exato de Fisher foi utilizado para comparar as variáveis categóricas. Odds ratio (OR) e o intervalo da confiança de 95% (IC 95%) foram calculados para avaliar a força de qualquer associação que emergir. Os valores foram expressos como média \pm desvio padrão (variáveis contínuas) ou como frequência absoluta (n) e porcentagem (variáveis categóricas). Um valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

Na análise multivariada foi utilizada a técnica de regressão logística múltipla através do método *stepwise forward* e foram incorporadas as variáveis que foram significantes na análise univariada. Um valor de $p < 0.05$ foi considerado significativo.

Toda análise estatística foi realizada pelo SPSS versão 15.

5. RESULTADOS

Foram encontrados 371 pacientes com infecção de corrente sanguínea (ICS) por enterobactérias no período de agosto de 2006 a julho de 2007 (período não-automatizado) e agosto de 2008 a julho de 2009 (período automatizado), sendo excluídos 175 casos. Destes, vinte pacientes não tinham prontuário disponível, cento e quinze eram ICS de origem comunitária e quarenta não foram tratados com antimicrobianos. As razões para não realizar o tratamento com antimicrobianos foram as seguintes: vinte e quatro pacientes morreram em menos de 48 horas da ICS, três possuíam infecção apenas em cateter intravascular e treze tiveram contaminação (hemocultura com crescimento bacteriano sem sintomas clínicos). Desta forma, foram estudados 196 pacientes que preencheram os critérios de inclusão, sendo 90 no período não-automatizado e 106 no período automatizado.

As características clínicas e demográficas dos pacientes estão descritas na Tabela 1. A prevalência do sexo masculino nos períodos não-automatizado e automatizado foi de 54,5% e 61,3%, respectivamente; e a média de idade \pm desvio padrão, $59,63 \pm 16,89$ e $64,1 \pm 15,9$, respectivamente.

A Tabela 1 também fornece os resultados da análise univariada, mostrando que no período com automação os pacientes tinham maior APACHE II ($p < 0,001$), fizeram mais uso de imunossupressores ($p < 0,001$) e tinham mais ICS associada a cateter venoso central ($p = 0,002$).

Tabela 1. Características clínicas e demográficas dos pacientes com infecção de corrente sanguínea hospitalar por enterobactérias - Hospital São Paulo – UNIFESP, nos períodos não-automatizado (agosto 2006 a julho 2007) e automatizado (agosto 2008 a julho 2009)

Variáveis	Não-automatizado (N= 90)	Automatizado (N= 106)	OR (IC 95%)	p
Sexo masculino	49 (54,4)	65 (61,3)	0,75 (0,43 - 1,33)	0,33
Idade, média ± DP	59,63 ± 16,89	64,1 ± 15,9	-	0,06
McCabe				
Não fatal	41(45,5)	42 (39,6)	1,28 (0,72 - 2,25)	0,40
Potencialmente fatal	49 (54,4)	63 (59,4)	0,82 (0,46 - 1,44)	0,48
Rapidamente fatal	1 (1,1)	1 (0,9)	1,18 (0,07 - 19,14)	0,90
APACHE II, média ± DP	17,31 ± 6,74	20,99 ± 7,57	-	<0,001
APACHE II ≥ 15	56 (62,2)	81 (76,4)	0,51 (0,27 - 0,94)	0,03
≥ 2 comorbidades	62 (68,8)	71 (66,9)	1,09 (0,6 - 1,99)	0,78
Neutropenia	4 (4,4)	2 (1,8)	2,42 (0,43 - 13,52)	0,30
Imunossupressores	18 (20,0)	49 (46,2)	0,29 (0,15 - 0,55)	<0,001
Internação prévia	28 (31,1)	28 (26,4)	1,26 (0,68 - 2,34)	0,47
Cirurgia prévia	33 (36,6)	30 (28,3)	1,47 (0,8 - 2,68)	0,21
Antibiótico prévio	65 (72,2)	85 (80,1)	0,64 (0,33 - 1,25)	0,19
Dispositivo invasivo	77 (85,5)	91 (85,8)	0,98 (0,44 - 2,18)	0,95
DI antes da ICS, média ± DP	30,98 ± 29,41	32,55 ± 26,39	-	0,69
Internação em UTI no momento da ICS	62 (68,8)	72 (67,9)	1,05 (0,57 - 1,91)	0,88
Choque séptico	19 (21,1)	24 (22,6)	0,91 (0,46 - 1,81)	0,12
Sítio de infecção				
Pulmonar	30 (33,3)	25 (23,5)	1,62 (0,87 - 3,03)	0,13
Trato urinário	8 (8,8)	10 (9,4)	0,94 (0,35 - 2,48)	0,90
Abdominal	1 (1,1)	3 (2,8)	0,39 (0,04 - 3,77)	0,40
Pele/partes moles	4 (4,4)	2 (1,8)	2,42 (0,43 - 13,52)	0,30
Cateter venoso central	13 (14,4)	35 (33,0)	0,34 (0,17 - 0,7)	0,002
Indefinido	34 (37,7)	31 (29,8)	1,85 (0,89 - 3,84)	0,10
Infecção polimicrobiana	15 (16,6)	16 (15,0)	1,13 (0,52 - 2,43)	0,76

OR, odds ratio; IC, intervalo de confiança; DP, desvio padrão; APACHE II, *Acute Physiology And Chronic Health Evaluation II*; DI, dias de internação; ICS, infecção de corrente sanguínea; UTI, unidade de terapia intensiva

Ao avaliar os agentes etiológicos observa-se uma prevalência de infecções por *Klebsiella* spp e *Proteus* spp em ambos os períodos e uma redução na prevalência de *Providencia* spp ($p= 0,01$) no período automatizado. Neste período, ainda é possível notar uma maior resistência das enterobactérias a ciprofloxacina ($p = 0,002$) e a piperacilina-tazobactam ($p = 0,01$) (Tabela 2). A prevalência de cepas produtoras de

ESBL foi semelhante entre os períodos, sendo *K. pneumoniae* e *P. mirabilis* os agentes mais frequentes. No período com automação, duas hemoculturas tiveram como resultado *K. pneumoniae* produtoras de carbapenemase com teste de Hodge positivo.

Tabela 2. Agentes etiológicos e perfis de resistência microbiana nos pacientes com infecção de corrente sanguínea hospitalar por enterobactérias - Hospital São Paulo – UNIFESP, nos períodos não-automatizado (agosto 2006 a julho 2007) e automatizado (agosto 2008 a julho 2009)

Variáveis	Não- automatizado (N= 90)	Automatizado (N= 106)	p
Enterobactéria			
<i>Klebsiella</i> spp	33 (36,6)	46 (43,3)	0,34
<i>Proteus</i> spp	12 (13,3)	20 (18,8)	0,30
<i>Providencia</i> spp	11 (12,2)	3 (2,8)	0,01
<i>Serratia</i> spp	9 (10,0)	16 (15,0)	0,30
<i>Enterobacter</i> spp	12 (13,3)	16 (15,0)	0,73
<i>E. coli</i>	12 (13,3)	6 (5,6)	0,06
<i>M. morgannii</i>	3 (3,3)	1 (0,9)	0,24
<i>Citrobacter</i> spp	2 (2,2)	1 (0,9)	0,47
ESBL	28 (31,1)	45 (42,4)	0,10
<i>E. coli</i>	3 (10,7)	3 (6,6)	0,83
<i>K. pneumoniae</i>	20 (71,4)	32 (71,1)	0,21
<i>P. mirabilis</i>	5 (17,8)	10 (22,2)	0,31
Perfil de resistência			
Ciprofloxacina	28/78 (35,8)	60/103 (58,2)	0,002
Ceftriaxona	55/88 (62,5)	40/55 (72,7)	0,21
Cefepima	45/85 (52,9)	69/106 (65,0)	0,09
Imipenem	2/89 (2,2)	2/106 (1,8)	0,86
Meropenem	0/51 (0)	1/62 (1,6)	0,30
Piperacilina-tazobactam	3/86 (3,4)	42/105 (40,0)	0,01

A Tabela 3 mostra a susceptibilidade antimicrobiana das duas enterobactérias mais prevalentes no período com automação, *Klebsiella* spp (n=46) e *Proteus* spp (n=20). Devido a não realização da CIM, alguns resultados não foram inclusos, sendo sete da *Klebsiella* spp e seis do *Proteus* spp. Desta forma, 39 hemoculturas com *Klebsiella* spp e 14 com *Proteus* spp tiveram resultado de CIM no período automatizado.

Tabela 3. Susceptibilidade antimicrobiana das cepas de *Klebsiella* spp e *Proteus* spp dos pacientes com infecção de corrente sanguínea hospitalar por enterobactérias - Hospital São Paulo – UNIFESP, no período automatizado (agosto 2008 a julho 2009)

Antimicrobiano	<i>Klebsiella</i> spp (n=39)			<i>Proteus</i> spp (n=14)		
	CIM (µg/mL)		Suscep. (%)	CIM (µg/mL)		Suscep. (%)
	CIM ₅₀	CIM ₉₀		CIM ₅₀	CIM ₉₀	
Cefepima	>16	>16	33,3%	>16	>16	7,1%
Ceftazidima	>16	>16	38,4%	1	>16	78,5%
Ciprofloxacina	>2	>2	41,0%	>2	>2	14,2%
Gentamicina	≤ 2	>8	79,4%	>8	>8	14,2%
Imipenem	≤ 1	≤ 1	94,8%	4	4	100,0%
Piperacilina- tazobactam	> 64/4	> 64/4	33,3%	≤2/4	>64/2	71,4%

CIM, concentração inibitória mínima; CIM₅₀, concentração inibitória mínima de 50% das cepas; CIM₉₀, concentração inibitória mínima de 90% das cepas; Suscep., susceptibilidade de acordo com o CLSI 2009

A adequação do tratamento foi semelhante nos dois períodos e em 80% dos casos a introdução do antimicrobiano adequado ocorreu nas primeiras 48 horas após a infecção. Em aproximadamente um terço dos casos houve mudança de antibiótico, sendo o principal motivo para essa mudança a resistência ao antimicrobiano inicial. Em torno de 40% dos casos, essa mudança foi orientada pelo Grupo de Racionalização de Antimicrobianos (GRA). No período com automação, houve um aumento no descalonamento de antibióticos (17,6% *versus* 28,1%). Não houve diferença quanto a resposta clínica nos períodos não-automatizado e automatizado que foi de 70% e 67,9%, respectivamente (Tabela 4).

Tabela 4. Variáveis relacionadas ao tratamento dos pacientes com infecção de corrente sanguínea hospitalar por enterobactérias - Hospital São Paulo – UNIFESP, nos períodos não-automatizado (agosto 2006 a julho 2007) e automatizado (agosto 2008 a julho 2009)

Variáveis	Não- automatizado (N= 90)	Automatizado (N= 106)	OR (IC 95%)	p
Tratamento adequado	72 (80,0)	80 (75,4)	1,21 (0,62 - 2,38)	0,45
Mudança de ATB	34 (37,7)	32 (30,1)	1,4 (0,77 - 2,54)	0,26
Motivo				
Resistência ao ATB inicial	18/34 (52,9)	12/32 (37,5)	1,88 (0,7 - 5,01)	0,21
Sem melhora clínica	8/34 (23,5)	10/32 (31,2)	0,68 (0,23 - 2,01)	0,48
Descalonamento de ATB	6/34 (17,6)	9/32 (28,1)	0,55 (0,17 - 1,77)	0,31
Mudança orientada pelo GRA	14/34 (41,1)	13/32 (40,6)	1,02 (0,38 - 2,73)	0,96
Resposta clínica	63 (70,0)	72 (67,9)	1,1 (0,6 - 2,02)	0,75

OR, odds ratio; IC, intervalo de confiança; ATB, antibiótico; GRA, Grupo de Racionalização de Antimicrobianos

Em relação ao desfecho clínico, pode-se observar que não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos com relação aos tipos de mortalidade avaliados (Tabela 5).

Tabela 5. Variáveis relacionadas ao desfecho clínico dos pacientes com infecção de corrente sanguínea hospitalar por enterobactérias - Hospital São Paulo – UNIFESP, nos períodos não-automatizado (agosto 2006 a julho 2007) e automatizado (agosto 2008 a julho 2009)

Variáveis	Não-automatizado (N= 90)	Automatizado (N= 106)	OR (IC 95%)	p
Óbito ≤ 7 dias	13 (14,4)	18 (16,9)	0,89 (0,38 - 2,08)	0,79
Óbito ≤ 14 dias	20 (22,2)	26 (24,5)	0,97 (0,45 - 2,10)	0,94
Óbito ≤ 28 dias	27 (30,0)	43 (40,5)	0,53 (0,24 - 1,19)	0,12

OR, odds ratio; IC, intervalo de confiança

Para avaliar os preditores de mortalidade de infecção de corrente sanguínea hospitalar por enterobactérias, os pacientes foram realocados em óbito até 14 dias (n= 46) do diagnóstico da infecção e sobreviventes em 14 dias (n= 150). Após a análise univariada, os preditores associados ao óbito foram: sexo masculino, APACHE II, APACHE II ≥ 15, uso de imunossupressores, antibiótico prévio, presença de dispositivo invasivo, internação em UTI no momento da infecção, presença de choque séptico, cepa produtora de ESBL e infecção por *K. pneumoniae* produtora de ESBL (Tabela 6).

Tabela 6. Análise univariada dos preditores de mortalidade em 14 dias dos pacientes com infecção de corrente sanguínea hospitalar por enterobactérias - Hospital São Paulo – UNIFESP, agosto 2006 a julho 2007 e agosto 2008 a julho 2009

Variáveis	Óbito em 14 dias (N= 46)	Sobreviventes em 14 dias (N= 150)	OR (IC 95%)	p
Sexo masculino	33 (71,1)	81 (54,0)	0,46 (0,23 - 0,95)	0,03
Idade, média ± DP	64,67 ± 15,49	61,30 ± 16,76	-	0,23
APACHE II, média ± DP	21,65 ± 6,16	18,58 ± 7,63	-	0,01
APACHE II ≥15	39 (84,7)	98 (65,3)	0,34 (0,14 - 0,81)	0,01
≥ 2 comorbidades	30 (65,2)	104 (69,3)	1,21 (0,6 - 2,43)	0,60
Neutropenia	2 (4,3)	3 (2,0)	0,45 (0,07 - 2,77)	0,38
Imunossupressores	23 (50,0)	45 (30,0)	0,43 (0,22 - 0,84)	0,01
Internação prévia	18 (39,1)	38 (25,3)	0,53 (0,26 - 1,06)	0,07
Cirurgia prévia	17 (36,9)	46 (30,6)	0,75 (0,38 - 1,51)	0,42
Antibiótico prévio	42 (91,3)	108 (72,0)	0,24 (0,08 - 0,73)	0,01
Dispositivo invasivo	45 (97,8)	123 (82,0)	0,1 (0,01 - 0,77)	0,01
DI antes da ICS, média ± DP	29,80 ± 27,68	32,45 ± 27,84	-	0,57
UTI no momento da ICS	43 (93,4)	91 (60,6)	0,11 (0,03 - 0,36)	<0,001
Choque séptico	24 (52,1)	19 (12,6)	0,13 (0,06 - 0,28)	<0,001
Sítio de infecção				
Pulmonar	18 (39,1)	37 (24,6)	0,51 (0,25 - 1,02)	0,06
Trato urinário	2 (4,3)	16 (10,6)	2,63 (0,58 - 11,88)	0,19
Abdominal	1 (2,1)	3 (2,0)	0,92 (0,09 - 9,05)	0,94
Pele/partes moles	2 (4,3)	4 (2,6)	0,60 (0,11 - 3,4)	0,56
Cateter venoso central	8 (17,3)	40 (26,6)	1,73 (0,74 - 4,02)	0,20
Indefinido	15 (32,6)	50 (33,3)	0,64 (0,29 - 1,42)	0,27
Infecção polimicrobiana	11 (23,9)	20 (13,3)	0,49 (0,21 - 1,12)	0,09
Enterobactéria				
<i>Klebsiella</i> spp	22 (47,8)	57 (38,0)	0,67 (0,34 - 1,3)	0,23
<i>Proteus</i> spp	10 (21,7)	22 (14,6)	0,62 (0,27 - 1,42)	0,26
<i>Serratia</i> spp	5 (10,8)	20 (13,3)	1,26 (0,45 - 3,57)	0,66
<i>Enterobacter</i> spp	8 (17,3)	20 (13,3)	0,73 (0,3 - 1,79)	0,49
ESBL positiva	24 (52,1)	49 (32,6)	0,44 (0,23 - 0,87)	0,02
<i>K. pneumoniae</i>	18 (75,0)	34 (69,3)	0,46 (0,23 - 0,92)	0,03
<i>P. mirabilis</i>	6 (25,0)	9 (18,3)	0,43 (0,14 - 1,27)	0,11
Tratamento inadequado	6 (13,0)	38 (25,3)	2,26 (0,89 - 5,75)	0,08
Método não-automatizado	21 (45,6)	72 (47,3)	1,10 (0,57 - 2,13)	0,78

OR, odds ratio; IC, intervalo de confiança; DP, desvio padrão; APACHE II, *Acute Physiology And Chronic Health Evaluation* II; DI, dias de internação; ICS, infecção de corrente sanguínea; UTI, unidade de terapia intensiva

Análise multivariada utilizando o modelo de regressão logística, o qual incluiu as variáveis associadas com mortalidade pela análise univariada ($p < 0,05$), demonstraram que os fatores de risco independentes para mortalidade em 14 dias foram os seguintes: uso de imunossupressores (OR= 2,23; $p = 0,01$) e presença de choque séptico (OR= 7,04; $p < 0,001$) (Tabela 7).

Tabela 7. Fatores de risco independentes para mortalidade em 14 dias dos pacientes com infecção de corrente sanguínea hospitalar por enterobactérias - Hospital São Paulo – UNIFESP, agosto 2006 a julho 2007 e agosto 2008 a julho 2009

Variáveis	OR	IC 95%	p
Uso de imunossupressores	2,23	1,01 – 4,93	0,01
Presença de choque séptico	7,04	2,92 – 17,01	<0,001

OR, odds ratio; IC, intervalo de confiança

6. DISCUSSÃO

As infecções hospitalares representam uma das principais causas de morte hospitalar (Orsi et al., 2002). Dentre todos os tipos de infecções, as infecções de corrente sanguínea estão entre aquelas associadas à maior letalidade e custo hospitalar (Bearman, Wenzel, 2005).

O tratamento das infecções bacterianas graves é frequentemente complicado pela resistência microbiana, que emergiu como um dos principais problemas de saúde pública na última década. Apesar do desenvolvimento e introdução de novos antibióticos, o fenômeno tem apresentado crescimento constante.

Com aumento da resistência microbiana, a concentração inibitória mínima (CIM) vem adquirindo um papel fundamental na análise dos antibiogramas para que possamos escolher o antibiótico mais adequado para o tratamento do foco infeccioso.

Em 2004, Sakoulas et al. encontraram uma relação estatisticamente significativa entre sucesso no tratamento de infecções de corrente sanguínea por *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA) e o tratamento com CIMs menores de vancomicina ($\leq 0,5 \mu\text{g/ml}$ versus 1,0 a 2,0 $\mu\text{g/ml}$). Em outro estudo em 2008, Lodise et al. avaliaram infecções de corrente sanguínea por MRSA e observaram que pacientes com CIM de vancomicina $\geq 1,5 \mu\text{g/ml}$ tinham 2,4 vezes mais chance de falha ao tratamento quando comparado aqueles com CIM $<1 \mu\text{g/ml}$.

Embora a importância da CIM seja bem documentada em estudos com MRSA, há poucos estudos publicados demonstrando o impacto da CIM do antimicrobiano na mortalidade das infecções de corrente sanguínea por enterobactérias e nenhum analisando especificamente a introdução de um método automatizado de diagnóstico microbiológico na evolução clínica dessas infecções.

O nosso trabalho é original nesse ponto, pois analisa as infecções da corrente sanguínea hospitalares por enterobactérias em dois períodos: o não-automatizado, no qual os testes de susceptibilidade antimicrobiana (TSA) de hemoculturas eram realizados através do método de disco difusão; e o automatizado, no qual o TSA é realizado pelo sistema microbiológico automatizado Phoenix™, que fornece uma CIM aproximada por microdiluição.

Após análise dos resultados, observamos que os pacientes avaliados em ambos os períodos, automatizado e não-automatizado, tinham características demográficas

semelhantes, com média de idade de 60 anos e uma discreta predominância do sexo masculino. Além disso, eram pacientes potencialmente graves, visto que a maioria dos pacientes tinha duas ou mais comorbidades, havia utilizado antibiótico prévio, tinha dispositivo invasivo, estava cerca de trinta dias de estadia no ambiente hospitalar e estava internado na UTI no momento da infecção.

Os pacientes do período automatizado eram ainda mais críticos, fato que se comprova através do APACHE II ≥ 15 ($p= 0,03$) em 76% dos pacientes. Neste mesmo período, observa-se também maior número de ICS associada a cateter venoso central ($p= 0,002$) e o uso elevado de imunossupressores ($p < 0,001$), mais especificamente, corticóides, o que é possivelmente explicado pela presença de sepse grave e choque séptico nesses pacientes.

Klebsiella spp e *Proteus* spp foram as enterobactérias mais prevalentes em ambos os períodos. Observa-se uma redução significativa de *Providencia* spp no período com automação ($p= 0,01$). Em relação as cepas produtoras de ESBL, há um discreto aumento da prevalência destas cepas no período automatizado, especialmente de *Proteus* spp.

Ao avaliarmos os perfis de resistência, nota-se um aumento da resistência ao ciprofloxacina ($p= 0,002$) e a piperacilina-tazobactam ($p= 0,01$) no período automatizado. Isso poderia ser explicado pelo aumento no número de cepas ESBL no segundo período, que geralmente apresentam resistência a fluoroquinolonas concomitante. O que corrobora esse fato é que houve também aumento, mas não significativo, da resistência a cefalosporinas de terceira e quarta geração.

Nesse estudo, quando analisamos as CIMs 50 e 90 da *Klebsiella* spp, observamos elevadas CIMs e baixa susceptibilidade para o cefepima, ceftazidima e piperacilina-tazobactam, que são drogas usualmente utilizadas no tratamento dessas infecções hospitalares. As CIMs encontradas em nosso estudo são mais elevadas que aquelas descritas no *SENTRY Antimicrobial Surveillance Program* (2008) com dados de hospitais brasileiros entre 2003-2008, no qual as CIM₅₀ da *Klebsiella* spp (N= 735) foram 0,25, ≤ 1 e 4, para cefepima, ceftazidima e piperacilina-tazobactam, respectivamente (Andrade et al., 2008). Então, somente o imipenem, e possivelmente o meropenem, apresentaram atividade razoável (susceptibilidade $> 90\%$) contra a *Klebsiella* spp em nossa análise.

O perfil de resistência da *Klebsiella* spp em nosso estudo é semelhante aquele descrito no estudo SCOPE Brasil, no qual somente os carbapenêmicos tem resistência < 10% das cepas, sendo o antimicrobiano com maior probabilidade de ter sucesso no tratamento desse agente (Marra et al., 2011).

Em 2007, Bhat et al. descreveram que a taxa de mortalidade das ICS por bactérias gram-negativas tratadas com cefepima com CIM = 8 µg/ml foi de 56,3%, comparado com 53,3% daquelas tratadas com CIM > 8µg/ml. Na análise multivariada, o tratamento das ICS por bactérias gram-negativas com CIM ≥ 8µg/ml com cefepima foi um preditor independente de mortalidade ($p \leq 0,001$). Esses dados sugerem que o tratamento com esse antimicrobiano tem uma baixa probabilidade de obter sucesso quando tiver CIM ≥ 8 µg/ml. Devido a alta CIM (>16) desse antibiótico em nossa amostra, nossos pacientes são comumente tratados com carbapenêmicos, pelo fato da ICS ser considerada um sítio grave de infecção.

Quando analisamos *Proteus* spp, nota-se que a CIM₅₀ da ceftazidima e piperacilina-tazobactam são menores que as da *Klebsiella* spp, a do cefepima e da ciprofloxacina se mantem semelhante, mas a do imipenem e da gentamicina são maiores. Apesar da maior CIM₅₀ e CIM₉₀ do *Proteus* spp, a sensibilidade ao imipenem foi de 100%, o que não ocorreu com a *Klebsiella* spp devido aos dois casos de *K. pneumoniae* produtoras de carbapenemase em nossa casuística. Esses dados nos alertam quanto a alta taxa de resistência microbiana das enterobactérias no Hospital São Paulo - UNIFESP.

Para controlar a ampla resistência microbiana, os hospitais comumente implementam programas destinados ao uso otimizado de antimicrobianos. Estes programas são conhecidos como “Programa de Racionalização de Antimicrobianos” (Paterson, 2006b). John e Fishman, em 1997, publicaram um artigo que orienta como estes programas podem prevenir a emergente resistência microbiana, e desde então vários outros trabalhos tem sido descritos (Hall, Ost, 2003; MacDougall, Polk, 2005; Fishman, 2006; Owens, 2008; Patel et al., 2008).

Estudos conduzidos ao longo dos anos indicam que o uso de antibiótico de maneira desnecessária ou inapropriada ocorre em até 50% dos casos nos Estados Unidos, e isto cria uma pressão desnecessária na seleção de espécies resistentes (Fishman, 2006). Uma adequada administração de antimicrobiano envolve o uso

apropriado do antibiótico através da escolha adequada da dose, duração e rota de administração, minimizando a toxicidade, os custos relacionados ao tratamento e limitando a potencial emergência de cepas bacterianas resistentes (Drew, 2009).

Há várias estratégias recomendadas nestes programas de racionalização de antimicrobianos, como: auditoria prospectiva com intervenção continuada e *feedback*, educação do prescritor, formulário de restrição, desenvolvimento de guias e protocolos clínicos, racionalização, descalonamento de antibióticos, substituição de terapia endovenosa para oral e programas informatizados de controle a fim de melhorar o uso de antimicrobianos. A implementação destes programas requer uma abordagem multidisciplinar, incluindo microbiologistas clínicos, profissionais do controle de infecção hospitalar, farmacêuticos clínicos, especialistas em programas de informação e epidemiologistas hospitalares (Hall, Ost, 2003; MacDougall, Polk, 2005; Fishman, 2006; Owens, 2008; Patel et al., 2008). Além de reduzir a resistência bacteriana, esses programas diminuem os eventos adversos relacionados as drogas, a taxa de falha terapêutica, a morbi-mortalidade dos pacientes e os custos hospitalares em geral. Por isso, esforços e despesas necessárias para a implementação e manutenção destes programas são mais que justificados pelos potenciais benefícios para o hospital e para o paciente (Drew, 2009).

Em relação a adequação do tratamento, encontramos uma taxa em torno de 80% em ambos os períodos, o que é bastante positivo. Essa alta taxa de adequação ocorre provavelmente porque desde o início do tratamento são introduzidos antibióticos de amplo espectro, devido ao elevado perfil de resistência microbiana em nosso hospital.

A mudança de antibiótico ocorreu na mesma proporção nos dois períodos, sendo orientada em menos da metade dos casos pelo Grupo de Racionalização de Antimicrobianos (GRA) em ambos os períodos. Este grupo realiza um trabalho diário de visitas nas unidades de internação para discussão de casos clínicos baseado na solicitação de antimicrobianos e no resultado parcial e final das hemoculturas. O principal objetivo do grupo é a adequação da terapêutica antimicrobiana no Hospital São Paulo - UNIFESP.

Outro ponto interessante é que não houve praticamente nenhuma alteração em relação a mudança na terapia antimicrobiana orientada pelo GRA com a introdução do

método automatizado (41,1% no primeiro período *versus* 40,6% no segundo período). Mesmo assim podemos considerar que esses números são expressivos demonstrando a importante atuação do grupo na orientação da terapia antimicrobiana em nosso serviço.

Um dado que deve ser destacado em nosso estudo, apesar da não-significância estatística, é que com a introdução do sistema automatizado houve um aumento no descalonamento de antimicrobianos (17,6% *versus* 28,1%), que apesar disso ainda se mantém em níveis baixos. Observaremos se esta tendência se manterá em análises futuras no Grupo de Racionalização de Antimicrobianos. O descalonamento, após resultados microbiológicos, é uma medida fundamental para a redução da resistência microbiana causada pela pressão seletiva do uso dessas drogas (Paterson, 2006b; Drew, 2009).

Apesar da alta adequação no tratamento, a mortalidade em 14 dias correspondeu a quase 25% em ambos os grupos. Essa taxa de mortalidade pode ser atribuída a gravidade dos pacientes, tornando-se difícil distinguir a morbi-mortalidade associada a enterobactérias daquela associada a severidade das comorbidades destes pacientes, o que também já foi discutido em outros estudos (Jang et al., 1999; Sligl et al., 2006). Du et al., em 1998, analisaram a bacteremia em pacientes graves e concluíram que a terapia antimicrobiana pode não melhorar o prognóstico do paciente, corroborando com os nossos resultados.

Diferentemente do que vem sendo publicado em relação as bactérias gram-positivas (Sakoulas et al., 2004; Lodise et al., 2008), em nosso estudo o conhecimento da CIM não teve impacto na taxa de mortalidade. A taxa de óbito relacionado a infecção de corrente sanguínea foi semelhante nos dois períodos. Especificamente neste hospital, a alta resistência microbiana sabidamente conhecida pelo clínico prescritor, faz com que o tratamento empírico seja iniciado com antibióticos de amplo espectro em menos de 48 horas. Com isso, como o antibiótico é de largo espectro, usualmente um carbapenêmico, a CIM não teria impacto entre os grupos automatizado e não-automatizado. Entretanto, seria possível encontrarmos diferença no desfecho clínico se o antibiótico utilizado no tratamento empírico fosse de espectro reduzido.

Outro motivo para a não melhora da taxa de mortalidade com a introdução do método automatizado seria a pouca compreensão da CIM do ponto de vista clínico. É

preciso a realização de estudos adicionais para analisar o valor real do conhecimento desta no desfecho clínico das ICS por enterobactérias, e a partir daí poderíamos chegar a conclusões mais consistentes.

Na segunda etapa do nosso estudo avaliamos os preditores de mortalidade de ICS hospitalar por enterobactérias. Para este fim, os pacientes foram realocados em dois grupos: aqueles com óbito até 14 dias do diagnóstico da infecção e os sobreviventes em 14 dias.

Ao analisar o grupo com óbito em 14 dias, observamos uma predominância do sexo masculino, de pacientes com mais de 60 anos, com escore APACHE II > 15, com duas ou mais comorbidades, com uso de imunossupressores, uso de antibiótico prévio, uso de dispositivo invasivo, internação prolongada (em torno de 30 dias), internação na UTI no momento da infecção por enterobactéria e presença de choque séptico. Tendo uma visão do quadro geral destes pacientes, nota-se que eram pacientes potencialmente graves com risco alto de óbito.

Outro dado que deve ser destacado é a alta incidência de infecção pulmonar como sítio primário de infecção, seguido de sítio de infecção indefinido. Segundo o estudo de Kang et al. em 2005, estas duas fontes de infecção são consideradas de alto risco. Estes mesmos autores também relataram que estes sítios estão associados como fator de risco para mortalidade.

O *Internacional Nosocomial Infection Control Consortium* (INICC) foi um estudo prospectivo de 155.358 pacientes hospitalizados realizado no período de janeiro de 2003 e dezembro de 2008, que avaliou 173 unidades de terapia intensiva na América Latina, Ásia, África e Europa. Este consórcio concluiu que as UTIs do INICC tinham utilização de dispositivos invasivos similares aquela relatada pelo *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) nos Estados Unidos; entretanto a taxa de infecção hospitalar associada a dispositivo foi marcadamente maior nas UTIs do INICC, inclusive de pneumonia associada a ventilação (PAV), onde a taxa geral foi de 13,6 *versus* 3,3 por 1000 ventiladores/dia, respectivamente (Rosenthal et al., 2010). Isso reflete que a falta de medidas preventivas não ocorrem apenas no Brasil, mas em vários países em desenvolvimento.

Em relação ao agente etiológico no grupo de óbito em 14 dias, o mais prevalente foi a *Klebsiella* spp em 47,8% dos casos seguido de *Proteus* spp com 21,7% dos

casos. Ao verificarmos a proporção de cepas produtoras de ESBL destes agentes, notamos uma elevada incidência, sendo 81,8% (18 de 22 amostras) na *Klebsiella* spp e 60% (6 de 10 amostras) no *Proteus* spp. Esta frequência de cepas produtoras de ESBL é superior aquela relatada em outros estudos brasileiros com *Klebsiella pneumoniae*, 50,0% e 54,9% por Andrade et al. (2008) e Marra et al. (2011), respectivamente; e com *Proteus mirabilis*, 44,0% por Endimiani et al. (2005). Além disso, em nosso estudo tivemos dois casos de *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase com teste de Hodge positivo. Com estes dados podemos constatar a alta taxa de resistência microbiana em nosso serviço, fortalecendo a necessidade de se iniciar com um esquema antibiótico empírico de amplo espectro.

Há vários artigos que descrevem os fatores associados a mortalidade em pacientes com infecção de corrente sanguínea por bactérias gram-negativas (Jang et al., 1999; Kang et al., 2005; Michalopoulos et al., 2011). Entretanto, estes estudos comumente descrevem os agentes de modo global, não sendo específicos para a família *Enterobacteriaceae*; ou em alguns casos são descritos por agente-específico, por exemplo, preditores de mortalidade das ICS por *Klebsiella pneumoniae*; ou ainda referem-se exclusivamente a cepas produtoras de ESBL. Isso dificultou a comparação dos resultados no nosso estudo com os demais.

Os preditores de mortalidade descritos em trabalhos envolvendo ICS por bactérias gram-negativas são: presença de choque séptico e doença de base grave, por Jang et al. (1999); choque séptico, sítio de alto risco de bacteremia (pulmão, peritoneal, indeterminado), APACHE II elevado e tratamento antimicrobiano inicial inapropriado, por Kang et al. (2005); idade avançada e falência de múltiplos órgãos, por Michalopoulos et al. (2011) e presença de choque séptico, por Kang et al. (2011). Em 2006, Marra et al. publicaram os fatores de risco para mortalidade especificamente da *K. pneumoniae*, sendo ventilação mecânica, número de comorbidades, uso prévio de antibióticos e presença de doença rapidamente fatal as variáveis associadas. Meatherall et al. (2009) também descreveram para este mesmo agente os seguintes preditores de mortalidade: idade avançada, várias comorbidades e sítio de infecção não-urinário e não-biliar. Peralta et al. (2007) e Laupland et al. (2008) desmonstraram preditores de mortalidade semelhantes em bacteremia por *Escherichia coli*: idade avançada, sítio de infecção não-urinário e várias comorbidades.

Pacientes do sexo masculino, com escore APACHE II mais elevado, que utilizaram antibiótico prévio, com dispositivo invasivo, que estavam na UTI no momento da ICS e portadores de enterobactérias produtoras de ESBL, principalmente *Klebsiella pneumoniae* tiveram maior risco de morte em nosso estudo, entretanto a significância estatística não foi alcançada por meio de análise multivariada após ajuste das variáveis de confundimento.

As únicas variáveis que tiveram associação independente com mortalidade foram presença de choque séptico e uso de imunossupressores. A presença de choque séptico é um preditor de mortalidade já descrito em vários estudos (Jang et al., 1999; Kang et al., 2005; Peralta et al., 2007; Kang et al., 2011). Nenhum estudo descreveu o uso de imunossupressores como preditor de mortalidade, anteriormente. Estas variáveis corroboram a gravidade que nossos pacientes encontravam-se no momento da ICS.

Interessantemente, em nosso estudo, o tratamento inicial inadequado não teve associação com a mortalidade como demonstrado em vários estudos prévios (Endimiani et al., 2003; Kang et al., 2005; Peralta et al., 2007). Nossos resultados são semelhantes aqueles descritos por Du et al. (1998) e Jang et al. (1999). Isso pode ser justificado pela gravidade dos pacientes na nossa amostra, que apesar de utilizarem o antibiótico de forma adequada, ou seja, sendo iniciado em < 48 horas do diagnóstico da infecção e sensível ao antibiograma, apresentaram uma elevada mortalidade.

A principal limitação do nosso estudo foi ter sido retrospectivo. Isso colaborou para perda de dados no período de julho de 2007 a agosto de 2008, visto que foi um período de transição em que o Phoenix™ não estava em pleno funcionamento; e a falta de alguns resultados de CIM, que não estavam disponíveis no período automatizado. Além disso, não pudemos analisar também a diferença no tempo em que o resultado microbiológico estava disponível para o clínico nos dois períodos. Esse ponto é de suma importância, pois uma das principais vantagens do sistema automatizado é a rapidez no diagnóstico quando comparado ao sistema manual. No entanto, é bastante provável a redução desse tempo com a introdução do sistema automatizado segundo informação do laboratório de microbiologia. Outra limitação foi a gravidade da população estudada, que dificultou distinguir a morbi-mortalidade associada a enterobactérias daquela associada a severidade das comorbidades destes pacientes.

Esse estudo foi pioneiro na avaliação do impacto da introdução de um sistema automatizado sobre a evolução clínica de ICS por enterobactérias, sendo complicado extrapolar nossos achados para outros serviços, porque o alto perfil de resistência do nosso hospital requer que o início do tratamento empírico seja realizado com antibióticos de amplo espectro. Nossos dados também alertam para a gravidade dos pacientes e a alta resistência das enterobactérias no Hospital São Paulo - UNIFESP. Esse fato demonstra que se faz necessário também um reforço nas medidas de prevenção de infecção hospitalar a fim de diminuir a taxa de mortalidade de nossos pacientes.

7. CONCLUSÕES

Esse estudo permitiu concluir que:

– A introdução do sistema microbiológico automatizado Phoenix™ não mostrou impacto na evolução clínica das infecções de corrente sanguínea hospitalares causadas por enterobactérias.

– As enterobactérias mais prevalentes no estudo foram a *Klebsiella* spp (36,6% e 43,3%) e *Proteus* spp (13,3% e 18,8%), respectivamente, no período não-automatizado e automatizado.

– Choque séptico (OR= 7,04; IC 95%= 2,92 – 17,01; $p < 0,001$) e uso de imunossupressores (OR= 2,23; IC 95%= 1,01 – 4,93; $p = 0,01$) foram os únicos fatores independentemente associados com a mortalidade em 14 dias nas ICS hospitalares causadas por enterobactérias.

Anexo 1 – Instrumento de coleta de dados

GRUPO:

Automatizado () Não-Automatizado ()

NOME _____ RH _____

IDADE _____ SEXO _____

DI ANTES DO RESULTADO DA HEMOCULTURA: _____

UNIDADE DA INFECÇÃO: Enfermaria () UTI ()

MC CABE (admissão): RF () PF () NF ()

APACHE:

Temp: _____ PA: _____ FC: _____ FR: _____

FiO2 < 50 FiO2 ≥ 50 PHa: _____ PaO2: _____ PaCO2: _____ HCO3: _____ BE: _____ SaO2: _____

Na: _____ K: _____ Cr: _____ HT: _____ Leuco: _____ Glasgow: _____ Idade: _____

Insuficiência orgânica crônica: Não () Hepática () Cardiovascular ()

Respiratória () Renal () Imunodepressão ()

DOENÇAS DE BASE:

DM () Cirrose () DPOC () IRC () TOS () TMO () Neo Sólida () DCV ()

Linfoma () Leucemia () Demência () AIDS () IAM () ICC () Úlcera Péptica ()

Dça Tec Conjuntivo () Hemiplegia () Dça Vasc Periférica () Outras: _____

COMORBIDADES (≥ 2): S () N ()

NEUTROPENIA: S () N ()

USO DE AGENTES IMUNOSSUPRESSORES (30 dias antes da ICS): S () N ()

INTERNAÇÃO ÚLTIMOS 90 DIAS: S () N ()

PROCEDIMENTO CIRÚRGICO PRÉVIO (30 dias antes da ICS): S () N ()

USO DE ANTIBIÓTICO PRÉVIO (30 dias antes da ICS): S () N () . Qual? _____

Cef 3ger Cef4ger Macro Pip/Taz Carbap

Clinda Glicop Oxac Metro AmpicilFluorquinol

Sulfa Lnz Aminog Poli B

DISPOSITIVOS INVASIVOS (72 hs antes da ICS):

HD: S () N () SVD: S () N ()

CVC: S () N () EOT/TRAQ: S () N ()

SNE: S () N () DVE/P: S () N ()

PORTOCATH: S () N () NPP: S () N ()

PA INVASIVA: S () N () CSG: S () N ()

SEPSE: S () N () SEPSE GRAVE: S () N () CHOQUE SÉPTICO: S () N ()

SÍTIO DA CULTURA: _____ **DATA:** _____

SÍTIO PRIMÁRIO DA INFECÇÃO: _____

Pulmonar () ITU () Abdominal () Pele/Partes moles () Ósseo () SNC ()

Sítio Cirúrgico () Coração () Indefinido () Outro: _____

RELACIONADA AO CATETER: S () N ()

INFECÇÃO POLIMICROBIANA: S () N ()

QUAL ENTEROBACTÉRIA?

Escherichia coli *Klebsiella* spp *Citrobacter feundii* *Enterobacter* spp *Serratia* spp *Providencia* spp

Proteus spp *Morganella morganii*

Outro: _____

PERFIL DE SENSIBILIDADE DA ENTEROBACTÉRIA:

Ampicilina:		Cefuroxima:	
Amoxi/clavul:		Cefepima:	
Amicacina:		Gentamicina:	
Aztreonam:		Imipenem:	
Ceftazidima:		Levofloxacina:	
Ciprofloxacina:		Meropenem:	
Cefotaxima:		Piper/Tazobactam:	

PRODUTORA DE ESBL: S () N ()

CARBAPENEMASE: S () N ()

Tratamento	Data do início	Data do término	Total (dias)	Adequação

MUDANÇA DE ANTIBIÓTICO: S () N ()

MOTIVO: Sem Melhora clínica () Cepa resistente ao antibiótico inicial () Descalonamento ()

Outro: _____

QUEM ORIENTOU A MUDANÇA: GRA () Médico assistente ()

RESPOSTA CLÍNICA (até D14): S () N ()

ÓBITO ≤ 7D

ÓBITO ≤ 14D

ÓBITO ≤ 28D

9. REFERÊNCIAS

Andrade S, Sader HS, Barth AL, Ribeiro J, Zocolli C, Pignatari AC, et al. Antimicrobial susceptibility of gram-negative bacilli isolated in Brazilian hospitals participating in the SENTRY program (2003-2008). *Braz J Infect Dis*. 2008;12(Supp 2):3-9.

Barenfanger J, Drake C, Kacich G. Clinical and financial benefits of rapid bacterial identification and antimicrobial susceptibility testing. *J Clin Microbiol* [Internet]. 1999 [cited 2011 Sep 10];37(5):1415-8. Available from: <http://jcm.asm.org/cgi/reprint/37/5/1415>.

Bearman GM, Wenzel RP. Bacteremias: a leading cause of death. *Arch Med Res*. 2005 Nov-Dec;36(6):646-59. DOI: 10.1016/j.arcmed.2005.02.005.

Bhat SV, Peleg AY, Lodise TP, Jr., Shutt KA, Capitano B, Potoski BA, et al. Failure of current cefepime breakpoints to predict clinical outcomes of bacteremia caused by gram-negative organisms. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007 Dec;51(12):4390-5. DOI: 10.1128/AAC.01487-06.

Brasil. Ministério da saúde. Portaria MS/GM Nº 2.616, de 12 de maio de 1998. Dispõe sobre o Programa de Controle de Infecção Hospitalar. Brasília (DF): Diário Oficial da República Federativa do Brasil [Internet]. 1998 Maio 13 [citado 2011 Set 10]. Disponível em: http://www.cremesp.org.br/library/modulos/legislacao/versao_impressao.php?id=3245

Carroll KC, Glanz BD, Borek AP, Burger C, Bhally HS, Henciak S, et al. Evaluation of the BD Phoenix automated microbiology system for identification and antimicrobial susceptibility testing of Enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol*. 2006 Oct;44(10):3506-9. DOI: 10.1128/JCM.00994-06.

Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fifteen Informational Supplement, M100-S15. Wayne (PA): Clinical and Laboratory Standard Institute; 2005.

Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Nineteenth Informational Supplement, M100-S19. Wayne (PA): Clinical and Laboratory Standards Institute; 2009.

Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twentieth Informational Supplement, M100-S20. Wayne (PA): Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010.

Cordery RJ, Roberts CH, Cooper SJ, Bellinghan G, Shetty N. Evaluation of risk factors for the acquisition of bloodstream infections with extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* species in the intensive care unit; antibiotic management and clinical outcome. *J Hosp Infect*. 2008 Feb;68(2):108-15. DOI: 10.1016/j.jhin.2007.10.011.

Donay JL, Mathieu D, Fernandes P, Pregermain C, Bruel P, Wargnier A, et al. Evaluation of the automated phoenix system for potential routine use in the clinical microbiology laboratory. *J Clin Microbiol*. 2004 Apr;42(4):1542-6. DOI: 10.1128/JCM.42.4.1542-1546.2004.

Drew RH. Antimicrobial stewardship programs: how to start and steer a successful program. *J Manag Care Pharm* [Internet]. 2009 [cited 2011 Sep 10];15(2 Suppl):S18-23. Available from: <http://www.amcp.org/data/jmcp/S18-S23.pdf>.

Du B, Chen D, Li H. [Analysis of critically ill patients with bacteremia]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 1998 Jun;78(6):416-9. Chinese.

Endimiani A, Tamborini A, Luzzaro F, Lombardi G, Toniolo A. A two-year analysis of risk factors and outcome in patients with bloodstream infection. *Jpn J Infect Dis* [Internet]. 2003 [cited 2011 Sep 10];56(1):1-7. Available from: <http://www.nih.go.jp/JJID/56/1.pdf>.

Endimiani A, Luzzaro F, Brigante G, Perilli M, Lombardi G, Amicosante G, et al. *Proteus mirabilis* bloodstream infections: risk factors and treatment outcome related to the expression of extended-spectrum beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005 Jul;49(7):2598-605. DOI: 10.1128/AAC.49.7.2598-2605.2005.

Endimiani A, Paterson DL. Optimizing therapy for infections caused by enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamases. *Semin Respir Crit Care Med*. 2007 Dec;28(6):646-55. DOI: 10.1055/s-2007-996411.

Fishman N. Antimicrobial stewardship. *Am J Med*. 2006 Jun;119(6 Suppl 1):S53-61; discussion S2-70. DOI: 10.1016/j.amjmed.2006.04.003.

Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, Horan TC, Hughes JM. CDC definitions for nosocomial infections, 1988. *Am J Infect Control*. 1988 Jun;16(3):128-40.

Hall CS, Ost DE. Effectiveness of programs to decrease antimicrobial resistance in the intensive care unit. *Semin Respir Infect*. 2003 Jun;18(2):112-21.

Ibrahim EH, Sherman G, Ward S, Fraser VJ, Kollef MH. The influence of inadequate antimicrobial treatment of bloodstream infections on patient outcomes in the ICU setting. *Chest*. 2000 Jul;118(1):146-55. DOI: 10.1378/chest.118.1.146.

Jang TN, Kuo BI, Shen SH, Fung CP, Lee SH, Yang TL, et al. Nosocomial gram-negative bacteremia in critically ill patients: epidemiologic characteristics and prognostic factors in 147 episodes. *J Formos Med Assoc*. 1999 Jul;98(7):465-73.

John JF, Jr., Fishman NO. Programmatic role of the infectious diseases physician in controlling antimicrobial costs in the hospital. *Clin Infect Dis*. 1997 Mar;24(3):471-85. DOI: 10.1093/clinids/24.3.471.

Kang CI, Kim SH, Park WB, Lee KD, Kim HB, Kim EC, et al. Bloodstream infections due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for mortality and treatment outcome, with special emphasis on antimicrobial therapy. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004 Dec;48(12):4574-81. DOI: 10.1128/AAC.48.12.4574-4581.2004.

- Kang CI, Kim SH, Park WB, Lee KD, Kim HB, Kim EC, et al. Bloodstream infections caused by antibiotic-resistant gram-negative bacilli: risk factors for mortality and impact of inappropriate initial antimicrobial therapy on outcome. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005 Feb;49(2):760-6. DOI: 10.1128/AAC.49.2.760-766.2005.
- Kang CI, Song JH, Chung DR, Peck KR, Ko KS, Yeom JS, et al. Risk factors and pathogenic significance of severe sepsis and septic shock in 2286 patients with gram-negative bacteremia. *J Infect*. 2011 Jan;62(1):26-33. DOI: 10.1016/j.jinf.2010.10.010.
- Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med*. 1985 Oct;13(10):818-29.
- Kollef MH, Sherman G, Ward S, Fraser VJ. Inadequate antimicrobial treatment of infections: a risk factor for hospital mortality among critically ill patients. *Chest*. 1999 Feb;115(2):462-74. DOI: 10.1378/chest.115.2.462.
- Kreger BE, Craven DE, McCabe WR. Gram-negative bacteremia. IV. Re-evaluation of clinical features and treatment in 612 patients. *Am J Med*. 1980 Mar;68(3):344-55. DOI: 10.1016/0002-9343(80)90102-3.
- Laupland KB, Gregson DB, Church DL, Ross T, Pitout JD. Incidence, risk factors and outcomes of *Escherichia coli* bloodstream infections in a large Canadian region. *Clin Microbiol Infect*. 2008 Nov;14(11):1041-7. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2008.02089.x.
- Leibovici L, Shraga I, Drucker M, Konigsberger H, Samra Z, Pitlik SD. The benefit of appropriate empirical antibiotic treatment in patients with bloodstream infection. *J Intern Med*. 1998 Nov;244(5):379-86. DOI: 10.1046/j.1365-2796.1998.00379.x.
- Lodise TP, Graves J, Evans A, Graffunder E, Helmecke M, Lomaestro BM, et al. Relationship between vancomycin MIC and failure among patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia treated with vancomycin. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008 Sep;52(9):3315-20. DOI: 10.1128/AAC.00113-08.
- MacDougall C, Polk RE. Antimicrobial stewardship programs in health care systems. *Clin Microbiol Rev*. 2005 Oct;18(4):638-56. DOI: 10.1128/CMR.18.4.638-656.2005.
- Maki DG, Weise CE, Sarafin HW. A semiquantitative culture method for identifying intravenous-catheter-related infection. *N Engl J Med*. 1977 Jun 9;296(23):1305-9. DOI: 10.1056/NEJM197706092962301.
- Mangram AJ, Horan TC, Pearson ML, Silver LC, Jarvis WR. Guideline for prevention of surgical site infection, 1999. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 1999 Apr;20(4):250-78; quiz 79-80. DOI: 10.1086/501620.
- Marra AR, Wey SB, Castelo A, Gales AC, Cal RG, Filho JR, et al. Nosocomial bloodstream infections caused by *Klebsiella pneumoniae*: impact of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) production on clinical outcome in a hospital with high ESBL prevalence. *BMC Infect Dis*. 2006;6:24. DOI: 10.1186/1471-2334-6-24.

Marra AR, Camargo LF, Pignatari AC, Sukiennik T, Behar PR, Medeiros EA, et al. Nosocomial bloodstream infections in Brazilian hospitals: analysis of 2,563 cases from a prospective nationwide surveillance study. *J Clin Microbiol*. 2011 May;49(5):1866-71. Epub 2011 Mar 16. DOI: 10.1128/JCM.00376-11.

Masterton R, Drusano G, Paterson DL, Park G. Appropriate antimicrobial treatment in nosocomial infections-the clinical challenges. *J Hosp Infect*. 2003 Nov;55 Suppl 1:1-12. DOI: 10.1016/S0195-6701(03)00294-9.

McCabe WR, Jackson GG. Gram-Negative Bacteremia: I. etiology and ecology. *Arch Intern Med*. 1962 Dec 1;110(6):847-55. DOI: 10.1001/archinte.1962.03620240029006.

Meatherall BL, Gregson D, Ross T, Pitout JD, Laupland KB. Incidence, risk factors, and outcomes of *Klebsiella pneumoniae* bacteremia. *Am J Med*. 2009 Sep;122(9):866-73. DOI: 10.1016/j.amjmed.2009.03.034.

Menozzi MG, Eigner U, Covan S, Rossi S, Somenzi P, Dettori G, et al. Two-center collaborative evaluation of performance of the BD phoenix automated microbiology system for identification and antimicrobial susceptibility testing of gram-negative bacteria. *J Clin Microbiol*. 2006 Nov;44(11):4085-94. DOI: 10.1128/JCM.00614-06.

Michalopoulos A, Falagas ME, Karatza DC, Alexandropoulou P, Papadakis E, Gregorakos L, et al. Epidemiologic, clinical characteristics, and risk factors for adverse outcome in multiresistant gram-negative primary bacteremia of critically ill patients. *Am J Infect Control*. 2011 Jun;39(5):396-400. DOI: 10.1016/j.ajic.2010.06.017.

Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller M. *Medical microbiology*. 6th ed. Philadelphia: Elsevier Mosby; 2008.

Nordmann P, Cuzon G, Naas T. The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *Lancet Infect Dis*. 2009 Apr;9(4):228-36. DOI: 10.1016/S1473-3099(09)70054-4.

Orsi GB, Di Stefano L, Noah N. Hospital-acquired, laboratory-confirmed bloodstream infection: increased hospital stay and direct costs. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2002 Apr;23(4):190-7. DOI: 10.1086/502034.

Owens RC, Jr. Antimicrobial stewardship: concepts and strategies in the 21st century. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2008 May;61(1):110-28. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2008.02.012.

Patel D, Lawson W, Guglielmo BJ. Antimicrobial stewardship programs: interventions and associated outcomes. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2008 Apr;6(2):209-22. DOI: 10.1586/14787210.6.2.209.

Paterson DL, Ko WC, Von Gottberg A, Casellas JM, Mulazimoglu L, Klugman KP, et al. Outcome of cephalosporin treatment for serious infections due to apparently susceptible organisms producing extended-spectrum beta-lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory. *J Clin Microbiol*. 2001 Jun;39(6):2206-12. DOI: 10.1128/JCM.39.6.2206-2212.2001.

Paterson DL. Resistance in gram-negative bacteria: enterobacteriaceae. *Am J Med.* 2006a Jun;119(6 Suppl 1):S20-8; discussion S62-70. DOI: 10.1016/j.amjmed.2006.03.013.

Paterson DL. The role of antimicrobial management programs in optimizing antibiotic prescribing within hospitals. *Clin Infect Dis.* 2006b Jan 15;42 Suppl 2:S90-5. DOI: 10.1086/499407.

Paterson DL. Impact of antibiotic resistance in gram-negative bacilli on empirical and definitive antibiotic therapy. *Clin Infect Dis.* 2008 Sep 15;47 Suppl 1:S14-20. DOI: 10.1086/590062.

Pearson ML. Guideline for prevention of intravascular device-related infections. Part I. Intravascular device-related infections: an overview. The Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. *Am J Infect Control.* 1996 Aug;24(4):262-77.

Peralta G, Sanchez MB, Garrido JC, De Benito I, Cano ME, Martinez-Martinez L, et al. Impact of antibiotic resistance and of adequate empirical antibiotic treatment in the prognosis of patients with *Escherichia coli* bacteraemia. *J Antimicrob Chemother.* 2007 Oct;60(4):855-63. DOI: 10.1093/jac/dkm279.

Podschun R, Ullmann U. *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 1998 [cited 2011 Sep 10];11(4):589-603. Available from: <http://cmr.asm.org/cgi/reprint/11/4/589>.

Rosenthal VD, Maki DG, Jamulitrat S, Medeiros EA, Todi SK, Gomez DY, et al. International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC) report, data summary for 2003-2008, issued June 2009. *Am J Infect Control.* 2010 Mar;38(2):95-104 e2. DOI: 10.1016/j.ajic.2009.12.004.

Sakoulas G, Moise-Broder PA, Schentag J, Forrest A, Moellering RC, Jr., Eliopoulos GM. Relationship of MIC and bactericidal activity to efficacy of vancomycin for treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *J Clin Microbiol.* 2004 Jun;42(6):2398-402. DOI: 10.1128/JCM.42.6.2398-2402.2004.

Seifert H, Strate A, Pulverer G. Nosocomial bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*. Clinical features, epidemiology, and predictors of mortality. *Medicine (Baltimore).* 1995 Nov;74(6):340-9.

Sligl W, Taylor G, Brindley PG. Five years of nosocomial Gram-negative bacteremia in a general intensive care unit: epidemiology, antimicrobial susceptibility patterns, and outcomes. *Int J Infect Dis.* 2006 Jul;10(4):320-5. DOI: 10.1016/j.ijid.2005.07.003.

Thomson KS, Moland ES. Cefepime, piperacillin-tazobactam, and the inoculum effect in tests with extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001 Dec;45(12):3548-54. DOI: 10.1128/AAC.45.12.3548-3554.2001.

Trenholme GM, Kaplan RL, Karakusis PH, Stine T, Fuhrer J, Landau W, et al. Clinical impact of rapid identification and susceptibility testing of bacterial blood culture isolates. *J Clin Microbiol* [Internet]. 1989 [cited 2011 Sep 10];27(6):1342-5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC267554/pdf/jcm00066-0218.pdf>.

Tumbarello M, Spanu T, Sanguinetti M, Citton R, Montuori E, Leone F, et al. Bloodstream infections caused by extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*: risk factors, molecular epidemiology, and clinical outcome. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006 Feb;50(2):498-504. DOI: 10.1128/AAC.50.2.498-504.2006.

Tumbarello M, Sanguinetti M, Montuori E, Treccarichi EM, Posteraro B, Fiori B, et al. Predictors of mortality in patients with bloodstream infections caused by extended-spectrum-beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: importance of inadequate initial antimicrobial treatment. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007 Jun;51(6):1987-94. DOI: 10.1128/AAC.01509-06.

Wenzel RP, Edmond MB. The impact of hospital-acquired bloodstream infections. *Emerg Infect Dis* [Internet]. 2001 [cited 2011 Sep 10];7(2):174-7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2631709/pdf/11294700.pdf>.

Wong-Beringer A, Hindler J, Loeloff M, Queenan AM, Lee N, Pegues DA, et al. Molecular correlation for the treatment outcomes in bloodstream infections caused by *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* with reduced susceptibility to ceftazidime. *Clin Infect Dis*. 2002 Jan 15;34(2):135-46. DOI: 10.1086/324742.

Yang K, Guglielmo BJ. Diagnosis and treatment of extended-spectrum and AmpC beta-lactamase-producing organisms. *Ann Pharmacother*. 2007 Sep;41(9):1427-35. DOI: 10.1345/aph.1K213.

Zanetti G, Bally F, Greub G, Garbino J, Kinge T, Lew D, et al. Cefepime versus imipenem-cilastatin for treatment of nosocomial pneumonia in intensive care unit patients: a multicenter, evaluator-blind, prospective, randomized study. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003 Nov;47(11):3442-7. DOI: 10.1128/AAC.47.11.3442-3447.2003.

Abstract

The family *Enterobacteriaceae* is an important cause of bloodstream infections (BSI). The increasing antimicrobial resistance is a complicating factor in treating these infections, thus the minimum inhibitory concentration (MIC) plays a key role in the analysis of susceptibility. Until August 2007, the antimicrobial susceptibility testing (AST) of blood cultures for *Enterobacteriaceae* were performed by disk diffusion method at Hospital São Paulo - UNIFESP. As of this date, the AST began to be performed through the Phoenix™ automated microbiology system, which provides an approximated MIC by microdilution. Although the importance of MIC is well documented in studies with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), there is no study analyzing the impact of automated systems on clinical outcomes of these infections.

Objectives: To compare the clinical outcomes of nosocomial BSI caused by *Enterobacteriaceae* during the non-automated versus automated period; to determine the prevalence of *Enterobacteriaceae* species causing BSI during the study period and analyze the factors associated with 14-day mortality. **Method:** This is a retrospective cohort study that evaluated nosocomial BSIs caused by *Enterobacteriaceae* in the periods non-automated (August 2006 to July 2007) and automated (August 2008 to July 2009) at Hospital São Paulo - UNIFESP. In the second part of the study, patients were reallocated and divided into deaths and survivors within 14 days of diagnosis of infection to analyze the predictors of mortality. **Results:** We evaluated 90 and 106 patients in non-automated and automated periods, respectively. There was a male prevalence and the average age was 60 years in both periods. During the automated period, patients had higher APACHE II score ($p < 0.001$), higher use of immunosuppressive drugs ($p < 0.001$) and there was a greater incidence of central venous catheter-related BSI ($p = 0.002$). *Klebsiella* spp (36.6% and 43.3%) and *Proteus* spp (13.3% and 18.8%) respectively, during the non-automated and automated period were the most prevalent *Enterobacteriaceae* species. There was no significant difference regarding the adequacy of treatment ($p = 0.45$), clinical response ($p = 0.75$) and death ≤ 7 days ($p = 0.79$), ≤ 14 days ($p = 0.94$) and ≤ 28 days ($p = 0.12$) between the periods. The predictors independently associated with mortality were septic shock (OR = 7.04; IC 95%= 2,92 – 17,01; $p < 0.001$) and use of immunosuppressive therapy (OR = 2.23; IC 95%= 1,01 – 4,93; $p = 0.01$). **Conclusion:** The introduction of Phoenix™ automated

microbiology system showed no impact on clinical outcomes of bloodstream infections caused by *Enterobacteriaceae*. *Klebsiella* spp and *Proteus* spp were the most prevalent pathogens in both periods. Septic shock and the use of immunosuppressive drugs were the only factors associated with 14-day mortality among those patients.

Keywords: *Enterobacteriaceae*, bloodstream infection, automated system, mortality.

Bibliografia consultada

International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals: writing and editing for biomedical publication [Internet]. Philadelphia (PA): ICMJE Secretariat office, American College of Physicians; [updated 2008 Oct; cited 2011 Jan 23]. Available from: <http://www.icmje.org>

Levine DM, Berenson ML, Stephan D. Estatística: teoria e aplicações. Rio de Janeiro: LTC; 2000.

Maroco J. Análise estatística com utilização do SPSS. 3a ed. Lisboa: Edições Sílabo Lda.; 2007.

Patrias K. Citing medicine: the NLM style guide for authors, editors, and publishers [Internet]. 2nd ed. Wendling DL, technical editor. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US); 2007 [updated 2009 Oct 21; cited 2011 Jan 23]. Available from: <http://www.nlm.nih.gov/citingmedicine>

Rother ET, Braga MER. Como elaborar sua tese: estrutura e referências. 2a ed. rev. atual. São Paulo; 2005.