UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL

RENATA DANIELE AMARAL DE MEDEIROS

Fatores de risco para a mortalidade em pacientes infectados por enterobactérias portadoras do gene *bla*$_{KPC}$ internados em um Hospital terciário de Recife-PE

Recife

2017

RENATA DANIELE AMARAL DE MEDEIROS

Fatores de risco para a mortalidade em pacientes infectados por enterobactérias portadoras do gene *bla*$_{KPC}$ internados em um Hospital terciário de Recife-PE

Dissertação apresentada ao colegiado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do título de mestre em Medicina Tropical.

Orientadora: Profa Dra Ana Catarina Souza Lopes

Recife

2017

Catalogação na Fonte
Bibliotecária: Mônica Uchôa - CRB4-1010

M488f Medeiros, Renata Daniele Amaral de.
Fatores de risco para a mortalidade em pacientes infectados por enterobactérias portadoras do gene bla_{KPC} internados em um Hospital terciário de Recife-PE / Renata Daniele Amaral de Medeiros. – 2017.
110 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientadora: Ana Catarina de Souza Lopes.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical. Recife, 2017.
Inclui referências e apêndices.

1. Enterobacteriaceae. 2. Genes MDR. 3. Infecção hospitalar. I. Lopes, Ana Catarina de Souza (Orientadora). II. Título.

618.9883 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2017-320)

RENATA DANIELE AMARAL DE MEDEIROS

Fatores de risco para a mortalidade em pacientes infectados por enterobactérias portadoras do gene *bla*$_{KPC}$ internados em um Hospital terciário de Recife-PE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestra em Medicina Tropical.

Aprovada em: 28/08/2017.

BANCA EXAMINADORA

_____
Profª. Drª. Líbia Cristina Rocha Vilela Moura (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

_____
Profª. Drª. Sylvia Maria de Lemos Hinrichsen (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

_____
Profª. Drª. Dyana Leal Veras (Examinadora Externa)
Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (CPqAM/FIOCRUZ)

“Dedico este trabalho a Deus, por ser essencial em minha vida, autor de meu destino, meu guia”.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pois Ele sempre esteve à frente de tudo me dando força para todas as minhas decisões.

As minhas tias Fátima e Voleide, que sempre me ensinaram o valor da educação e que sem medir esforços me criaram.

A memória da minha mãe Edla, meu amor maior e ao meu irmão João Vitor que mesmo sem saber me dá força para continuar.

A Profª. Drª. Ana Catarina de Souza Lopes, orientadora deste trabalho, por toda a paciência, confiança e dedicação.

Ao biomédico Felipe Ferreira por toda ajuda dada durante as análises e coletas dos isolados.

A Farmacêutica e grande amiga Diana Guerra por todo incentivo e apoio prestado.

A minha amiga de faculdade, moradia e vida Hellencleia Cunha por todas as gentilezas e favores prestados.

A Drº Fernando Cruz e Drº Pedro Aquino por facilitar e estimular sempre a pesquisa

A farmacêutica Maria Erineide pelas dicas e apoio prestados durante o mestrado

A Coordenação da Pós-graduação nas pessoas das Professoras Drª Valdênia Maria Oliveira de Souza e Drª Maria Amélia Maciel, pelos esforços e dedicação para o melhoramento do curso.

Ao corpo docente do programa de Pós-graduação em Medicina Tropical nas pessoas dos professores Ricardo Arraes Ximenes, Daniel Udrisar, Vera Magalhães, Heloisa Melo, Rosangela Coêlho, Maria Amélia e Ana Catarina S. Lopes, por seus ensinamentos inestimáveis para a formação intelectual dos alunos.

As amigas do grupo de pesquisa do laboratório, Elizabeth, em especial a Elza e Erica em toda ajuda na realização das análises moleculares e pelos momentos de descontração, companheirismo e principalmente apoio.

Ao corpo técnico do programa e em especial ao Sr. Walter pelos momentos de presteza no desempenho da função.

À banca de defesa do projeto de mestrado.

Ao programa Mendeley pelo apoio na formatação do presente trabalho.

Aos componentes da banca avaliadora.

A Universidade Federal de Pernambuco, através do Centro de Ciências da Saúde no departamento de Medicina Tropical pela oportunidade de cursar esta Pós-graduação.

Em todos os momentos da vida precisamos da ajuda de outras pessoas, e para este trabalho contei com a ajuda, apoio e incentivo de algumas pessoas especiais, aqui expresso, meus sinceros agradecimentos a todos que de alguma forma me ajudaram.

MUITÍSSIMO OBRIGADA! A todos.

“...A mente que se abre a uma nova ideia jamais voltará ao seu tamanho original...”.

Albert Einstein

RESUMO

Bacilos gram-negativos multidroga resistente (MDR) são cada vez mais comuns causando infecções relacionadas a assistência a saúde (IRAS) e associadas a altas taxas de mortalidade, hospitalizações mais longas, aumento dos custos de internação somado a resistência bacteriana. Gêneros da família *Enterobacteriaceae* são as mais representativas com relação ao aparecimento da resistência (bla_{KPC}) principalmente aos antimicrobianos β-lactâmicos. Diante deste cenário, diversos estudos investigam os preditores de mortalidade em pacientes infectados pelo gene bla_{KPC} em todo o mundo, contudo há uma divergência entre os resultados encontrados. Portanto, este estudo tem por objetivo identificar a associação entre os fatores de risco e a mortalidade em pacientes internados num hospital terciário de Recife-PE em 2016 e infectados por enterobactérias portadoras do gene bla_{KPC}. O estudo foi realizado em um hospital terciário, classificado como grande porte. Trata-se de um estudo observacional, do tipo coorte prospectivo. Houve a aplicação de um questionário aos pacientes incluídos na pesquisa e o acompanhamento de cada um durou 30 dias consecutivos até o desfecho (morte ou sobrevida), partindo-se dos pacientes expostos (pacientes infectados por enterobactérias portadoras do gene bla_{KPC}) e os não expostos (pacientes infectados por enterobactérias, porém não portadoras do gene bla_{KPC}). As bactérias analisadas foram *Proteus mirabilis, Serratia marcescens, Klebsiella pnemoniae, E. coli.* Na análise da população estudada, diversos fatores apresentaram diferenças significativas como: o agente infeccioso, o sexo, o número de complicações pós-internamento, a exposição dos pacientes a diversos ambientes hospitalares que já tiveram casos de bactérias com o gene bla_{KPC}, submissão a hemodiálise, ter Diabetes Mellitus, utilizar 4 ou mais antimicrobianos, dentre eles as quinolonas, os glicopeptídeos, os carbapenêmicos, a polimixina e ter isolados de outros microrganismos de forma concomitante durante a internação. Contudo, quando analisado os fatores de risco em associação bivariada com o óbito (desfecho estudado) os fatores significativos foram: a submissão a hemodiálise (3,81 de risco (RP = 4,81), ter Diabetes Mellitus (5,58 de risco (RP = 6,58), ter sido co-infectado por outros microrganismos (fungos ou demais bacilos/cocos) risco 3,72 (RP = 4,72) e ter utilizado em específico os antimicrobianos polimixina e amicacina risco de 7,93 (RP=8,93) e 4,46 (5,46), respectivamente. Diante deste cenário, outros estudos diferem em relação as especificidades. Outros estudos demonstraram que as quinolonas e o metronidazol são preditores determinantes para a mortalidade, assim como o uso prévio de qualquer antimicrobiano. Outros apontam qualquer procedimento invasivo, sem especificidade e a doença renal como principal comorbidade preditora para mortalidade. A partir desse estudo observacional de um único centro, conseguiu-se desenhar uma estrutura direcionada a uma tomada de decisão clínica mais preventiva em relação a região estudada. Diante do exposto, os cuidados devem ser tomados acerca de sempre preservar a função renal e desta forma evitar processos hemodialíticos futuros, deve-se também usar de forma racional os antimicrobianos, principalmente os utilizados para bactérias MDR e evitar a exposição dos pacientes infectados a ambientes limpos.

Palavras-chave: Enterobacteriaceae. Genes MDR. Infecção Hospitalar.

RESUMEN

Bacilos gram-negativos multidroga resistente (MDR) son cada vez más comunes causando infecciones relacionadas con la asistencia a la salud (IRAS) y asociadas a altas tasas de mortalidad, hospitalizaciones más largas, aumento de los costos de internación sumado a la resistencia bacteriana. Los géneros de la familia Enterobacteriaceae son los más representativos con relación a la aparición de la resistencia (blaKPC) principalmente a los antimicrobianos β-lactámicos. En este escenario, diversos estudios investigan los predictores de mortalidad en pacientes infectados por el gen blaKPC en todo el mundo, sin embargo hay una divergencia entre los resultados encontrados. Por lo tanto, este estudio tiene por objetivo identificar la asociación entre los factores de riesgo y la mortalidad en pacientes internados en un hospital terciario de Recife-PE en 2016 e infectados por enterobacterias portadoras del gen blaKPC. El estudio fue realizado en un hospital terciario, clasificado como gran porte. Se trata de un estudio observacional, del tipo cohorte prospectivo. La aplicación de un cuestionario a los pacientes incluidos en la investigación y el seguimiento de cada uno duró 30 días consecutivos hasta el desenlace (muerte o sobrevida), partiendo de los pacientes expuestos (pacientes infectados por enterobacterias portadoras del gen blaKPC) y los no expuestos (pacientes infectados por enterobacterias, pero no portadoras del gen blaKPC). Las bacterias analizadas fueron Proteus mirabilis, Serratia marcescens, Klebsiella pnemoniae, E. coli. En el análisis de la población estudiada, diversos factores presentaron diferencias significativas como: el agente infeccioso, el sexo, el número de complicaciones post-internamiento, la exposición de los pacientes a diversos ambientes hospitalarios que ya tuvieron casos de bacterias con el gen blaKPC, sumisión a hemodiálisis , tener Diabetes Mellitus, utilizar 4 o más antimicrobianos, entre ellos las quinolonas, los glicopeptídeos, los carbapenémicos, la polimixina y tener aislados de otros microorganismos de forma concomitante durante la internación. Sin embargo, cuando se analizaron los factores de riesgo en asociación bivariada con el óbito (desenlace estudiado) los factores significativos fueron: la sumisión a hemodiálisis (3,81 de riesgo (RP = 4,81), tener Diabetes Mellitus (5,58 de riesgo (RP = 6,58), haber sido co-infectado por otros microorganismos (hongos o demás bacilos / cocos) riesgo 3,72 (RP = 4,72) y haber utilizado en específico los antimicrobianos polimixina y amicacina riesgo de 7,93 De acuerdo con la normativa vigente en el país de origen, en el caso de que se produzca un cambio en la calidad del producto, el uso previo de cualquier antimicrobiano, otros apuntan a cualquier procedimiento invasivo, sin especificidad y la enfermedad renal como principal comorbilidad predictora de mortalidad. A partir de ese estudio observacional de un único centro, se logró diseñar una estructura dirigida a una toma de decisión clínica más preventiva en relación a la región estudiada. En el presente estudio se debe tener en cuenta que los cuidados deben tomarse sobre siempre preservar la función renal y de esta forma evitar procesos hemodiálticos futuros, se debe también utilizar de forma racional los antimicrobianos, principalmente los utilizados para bacterias MDR y evitar la exposición de los pacientes infectados a ambientes limpia.

Palabras - clave: Enterobacteriaceae. Genes MDR. Infección Hospitalaria.

ABSTRACT

Gram-negative multidrug-resistant (MDR) rods are increasingly common causing health care-related infections (IRAS) and associated with high mortality ratesmicrorganismo, longer hospitalizations, increased hospitalization costs and bacterial resistance. Genuses of the Enterobacteriaceae family are the most representative in relation to the appearance of resistance (blaKPC) mainly to β-lactam antibiotics. In this scenario, several studies investigate the predictors of mortality in patients infected with the blaKPC gene worldwide, however, there is a divergence between the results found. This study aims to identify the association between risk factors and mortality in patients hospitalized in a tertiary hospital in Recife-PE in 2016 and infected with enterobacteria carrying the blaKPC gene. The study was performed in a tertiary hospital located in Recife-PE, classified as large. This is an observational, prospective cohort study. A questionnaire was applied to the patients included in the study and the follow-up of each one lasted 30 consecutive days until the outcome (death or survival), starting from the patients exposed (patients infected with enterobacteria carriers of the blaKPC gene) and the non-exposed (patients infected by enterobacteria, but not carriers of the blaKPC gene). The bacteria analyzed were Proteus mirabilis, Serratia marcescens, Klebsiella pneumoniae. In the analysis of the studied population, several factors showed significant differences such as: the infectious agent, sex, the number of post-hospitalization complications, the exposure of patients to various hospital environments that had previously had cases of bacteria with the blaKPC gene, submitted to hemodialysis , have Diabetes Mellitus, use 4 or more antibiotics, among them quinolones, glycopeptides, carbapenems, polymyxin and to have isolates of other microorganisms concomitantly during hospitalization. However, when we analyzed the risk factors in bivariate association with death (outcome studied) the significant factors were:: hemodialysis (3.81 at risk (PR = 4.81), Diabetes Mellitus (5.58 (PR = 6.58), having been co-infected by other microorganisms (fungi or other bacilli / cocci) risk 3.72 (PR = 4.72) and used in particular the antibiotics polimixina and amicacina risk of 7, 93 (RP = 8.93) and 4.46 (5.46), respectively. Faced with this scenario, other studies differ in relation to specificities. Other studies have shown that quinolones and metronidazole are determinant predictors for mortality, as well as the prior use of any antibiotic. Others point to any invasive procedure, with no specificity and renal disease as the main predictive comorbidity for mortality. From this observational study of a single center, it was possible to design a structure directed to a more preventive clinical decision making in relation to the studied region. In view of the foregoing, care must be taken to always preserve renal function and thus avoid future hemodialytic processes, one must also use rationally antimicrobials, especially those used for MDR bacteria and avoid exposure of infected patients to environments clean.

Key words: Enterobacteriaceae. Gens MDR. Hospital infection.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Estrutura química dos diferentes β-lactâmicos _____22

FIgura 2 Diferentes mecanismos que as bactérias possuem para resistir a ação dos antimicrobianos_____24

Figura 3 Seleção dos pacientes inseridos na pesquisa _____34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Classificação das beta-lactamases segundo Bush e Jacobe, 2010 24

Tabela 2 Caracterização dos perfis clínicos e pessoais segundo grupo infectado por enterobactérias em um hospital de Recife-PE. 46

Tabela 3 Caracterização da internação hospitalar segundo grupo infectado por enterobactérias em um hospital de Recife-PE 48

Tabela 4 Caracterização fisiológica segundo grupo infectado por enterobactérias em um hospital de Recife-PE 50

Tabela 5 Caracterização da infecção segundo grupo infectado por enterobactérias em um hospital de Recife-PE 51

Tabela 5 Caracterização do tratamento segundo grupo infectado por enterobactérias em um hospital de Recife-PE 52

Tabela 7 Caracterização do desfecho clínico segundo grupo infectado por enterobactérias em um hospital de Recife-PE 53

Tabela 8 Caracterização da quantidade de antimicrobianos utilizados e microrganismos isolados por enterobactérias em um hospital de Recife-PE 54

Tabela 9 Distribuição do óbito por infecção segundo os perfis clínicos e pessoais por enterobactérias em um hospital de Recife-PE 55

Tabela 10 Distribuição do óbito por infecção por enterobactérias segundo as características de internação hospitalar. 56

Tabela 11 Distribuição do óbito por infecção por enterobactérias em um hospital de Recife-PE segundo as características fisiológicas 58

Tabela 12 Distribuição do óbito por infecção por enterobactérias em um hospital de Recife-PE segundo as características da infecção. 59

Tabela 13 Distribuição do óbito por infecção por enterobactérias em um hospital de Recife-PE segundo as características da antibioticoterapia

utilizada_____60

Tabela 14 Distribuição do óbito por infecção por enterobactérias em um hospital de Recife-PE segundo os antimicrobianos utilizados e microrganismos isolados ___ _____61

Tabela 15 Prevalência de resistência das enterobactérias aos antimicrobianos avaliados, segundo o grupo de pacientes avaliados_____ 65

Tabela 16 Prevalência de uso dos antimicrobianos, segundo o grupo avaliado_____66

LISTA DE ABREVIATURAS

KpKPC	*Klebsiella pneumoniae* produtora de KPC
IRAS	Infecções relacionadas à assistência a saúde
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
NE	Nordeste
KPC	*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase
IC	Insuficiência Cardíaca
DAC	Doença Arterial Coronariana
DM	Diabetes Mellitus
DPOC	Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
IR	Insuficiência Renal
ESBL	Betalactamase de espectro estendido
NY	Nova York
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
AFB	Ácido fenilborônico
PCR	Reação em cadeia da polimerase
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
OR	Odds ratio
RR	Risco Relativo
IMC	Índice de massa corpórea
VEF	Volume expiratório forçado
CVF	Capacidade vital forçada
TFG	Taxa de Filtração Glomerular
HIV/AIDS	Vírus da Imunodeficiência Humana/Síndrome da Imunodeficiência Humana
CCIH	Comissão de Controle de Infecção Hospitalar
CEP	Comitê de Ética e Pesquisa

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 16
2 REVISÃO DE LITERATURA 18
2.1 Infecção relacionada à assistência a saúde e enterobacterias 18
2.2 Beta - lactâmicos e mecanismos de resistência 21
2.3 Transferência de genes de resistência 25
2.4 Disseminação mundial e no brasil do gene *bla*$_{kpc}$ 26
2.5 Opções terapêuticas para tratamento de enterobactérias com gene *bla*$_{kpc}$ 27
2.6 Detecção do gene de resistência *bla*$_{kpc}$ 28
2.7 Mortalidade ocasionada por enterobactérias portadoras do gene *bla*$_{kpc}$ e fatores de risco associados 28
3 OBJETIVOS 31
3.1 Objetivo geral 31
3.2 Objetivos específicos 31
4 MATERIAIS E MÉTODOS 32
4.1 Desenho do estudo e local 32
4.2 Critérios de inclusão 32
4.3 Critérios de exclusão 32
4.4 Determinação da amostra e coleta de dados 32
4.5 Análise dos fatores de risco e dos fatores estatísticos 33
4.6 Identificação dos isolados bacterianos 34
4.7 Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos 35
4.8 Detecção fenotípica de kpc 35
4.9 Extração de DNA total 36
4.10 Condições da PCR para identificação dos genes *bla*$_{kpc}$ 36
4.11 Padronização das técnicas 36
4.12 Considerações éticas 37
5 RESULTADOS 38
6 CONCLUSÃO 70
REFERÊNCIAS 71
APÊNDICE A - ANÁLISE DOS FATORES DE RISCO PARA A MORTALIDADE EM PACIENTES INFECTADOS POR ENTEROBACTÉRIAS PORTADORAS DO GENE *BLA*$_{KPC}$ INTERNADOS EM UM HOSPITAL TERCIÁRIO DE RECIFE-PE 77

1 INTRODUÇÃO

Bacilos gram-negativos antimicrobiano-resistentes são cada vez mais comuns causando infecções relacionadas a assistência a saúde (IRAS) e associadas a altas taxas de mortalidade, hospitalizações mais longas somado ao aumento dos custos de internação (PATEL, OLIVEIRA, ZHOU, 2015). A sobrevida de pacientes infectados e com neoplasias, doenças autoimunes ou imunodeficiências aumentou significativamente, entretanto as principais complicações dessas patologias permanecem sendo a combinação delas com as infecções hospitalares. O tratamento não efetivo dessas doenças se deve, principalmente, a mecanismos criados pelos microrganismos, os quais inativam a ação dos antimicrobianos (ALVES; BEHAR, 2013).

A resistência bacteriana tem sido um problema frequente nas unidades hospitalares e constantemente abordada em pesquisas por dificuldade no êxito da terapia. Gêneros da família *Enterobacteriaceae* (*Klebsiella, Serratia, Enterobacter, Escherichia, Proteus, Salmonela*) são as mais representativas com relação ao aparecimento da resistência. *Klebsiella pneumonie.* foi a espécie bacteriana onde houve o primeiro registro de aparecimento do gene bla_{KPC}. Logo em seguida, outras espécies, como *P. mirabilis, Serratia marcescens, Escherichia coli, Enterobacter spp* foram sendo estudadas, em diversas partes do mundo, inclusive em Recife-PE e seus genes de resistência codificados, confirmando a presença do bla_{KPC}. Esses genes foram encontrados tanto em isolados de infecções hospitalares quanto comunitárias. Esta disseminação sugere que haja transferência horizontal dos genes intra e interespécies por plasmídeos conjugativos (MONTEIRO et al., 2009; SEIBERT et al., 2014; CABRAL et al., 2015; MARGATE et al., 2015; CABRAL et al., 2017).

Assim, as IRAS ocasionadas por estes microrganismos resistentes em pacientes críticos denotam altas taxas de falhas terapêuticas a tratamentos planejados provocando complicações clínicas e frequentemente a morte (AQUINO, 2008; LIMA; ANDRADE; HAAS, 2007; KONTOPIDOU et al., 2014). Visto isso, diversos estudos investigam os preditores de mortalidade em pacientes infectados por microrganismos portadores do gene bla_{KPC} em todo o mundo. Outros estudos também apontam fatores que aumentam o risco do gene de ser transportado por

entre espécies, dificultando o tratamento, assim como identificam a epidemiologia das cepas resistentes. Ainda acerca dos fatores de risco, existem estudos que definem os riscos avaliando o resultado clínico das infecções hospitalares demonstrando a piora clínica ou aumento da mortalidade como desfecho (BART et al.; 2015; REULAND et al., 2016; WANG et al., 2016).

Contudo, os fatores apresentados nos estudos que avaliam estes preditores têm se mostrado variáveis e tal fato foi corroborado pela revisão bibliográfica e os aspectos clínicos e epidemiológicos relacionados a infecção descrita por Silva et. al. em 2012, na qual apontaram esta diversidade, justificando tal discordância pela mudança de região e pelas diferentes formas de transmissão da infecção assumindo a heterogeneidade dos fatores de risco e a pertinência de novos estudos (FALAGAS et al., 2007; SCHWABER et al., 2008; DA SILVA; TRAEBERT; GALATO, 2012).

No Brasil, estudos foram realizados na região Sul e a divergência dos preditores encontrados foi notória. Superti et. al. (2009) em um hospital terciário em Porto Alegre-RS indicaram como preditores da mortalidade a longa permanência de internação hospitalar, independente da UTI, infecção do trato respiratório inferior, presença de aparatos invasivos (sondas e cateteres) e o uso prévio de antimicrobianos antimicrobianos, com ênfase nas penicilinas anti-pseudomonas e na associação entre as classes em qualquer combinação. Já Tuon et. al. (2012) em um Hospital terciário em Curitiba-PR destacaram como fatores de risco o uso de cateter venoso central, contudo o estudo utilizou apenas pacientes com bacteremias, a diabetes como principal comorbidade e o uso de fluoroquinolonas em relação à exposição prévia de antimicrobianos (SUPERTI; AUGUSTI; ZAVASCKI, 2009; TUON et al., 2012).

Poucos estudos unem características genéticas e fenotípicas bacterianas. E menos ainda associam estas a fatores de risco uma vez firmado a infecção (SAHIN et al., 2015; POLLETT et al., 2014). Somando a divergência dos fatores de risco para mortalidade, a carência de estudos que relacione tais fatores com as características genéticas das bactérias levando-se em consideração a infecção e a restrição desse tipo de estudo no nordeste brasileiro demonstra-se a importância do tema abordado (MONTEIRO et al., 2009).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Infecção relacionada à assistência a saúde e enterobacterias

Infecção Relacionada à Assistência a Saúde (IRAS) como é chamada no Brasil as infecções de Unidade Hospitalar ou de outra unidade de assistência à saúde e sendo definida desde outrora de um modo geral como “aquela adquirida após admissão ou quando nessa situação não há evidência de infecção e dentro de 72h se manifesta, além daquela que aparece após a alta se tornando clara em 30 dias e até 1 ano quando puder ser relacionada com a procedimentos cirúrgicos hospitalares” (ANVISA, 2013). Esta, por sua vez, contribui para maiores índices de morbidade e mortalidade, maior tempo de internação, custos mais altos, e principalmente trazem a ameaça constante de disseminação de bactérias multidroga resistente (MDR). Devido a isso, há uma preocupação mundial em controlar as infecções de origem hospitalar, e a disseminação da resistência bacteriana aos antimicrobianos disponíveis (TOSIN et al., 2003).

No âmbito hospitalar a resistência bacteriana é recorrente e muito preocupante. Nos últimos anos vem sendo estudada com mais frequência a fim de encontrar meios mais eficazes de prevenção e precauções, melhorando a segurança e qualidade de assistência ao paciente. Dentre as espécies bacterianas que mais expressam e apresentam perfil MDR estão os membros da família *Enterobaceriaceae,* representando um importante problema de saúde pública em expansão (SEIBERT et al., 2014).

Muitos programas de controle (*SENTRY*: *Antimicrobial Surveillance Program*, *MYSTIC:* *Meropenem Yearly Susceptibility Test Information*) nacionais e internacionais foram lançados desde o fim da década de 1990, visando o controle da disseminação de cepas resistentes e/ou de seus genes, à conscientização sobre o uso racional de antimicrobianos além de pesquisar o mecanismo de transmissão da resistência e novos métodos de detecção da mesma (SCARPATE et al., 2009). Segundo estes programas, as bactérias produtoras de beta-lactamases de espectro estendido (ESBL) são, entre as gram-negativas, as maiores responsáveis pela ocorrência e disseminação mundial de resistência em ambientes hospitalares.

Desde seu surgimento, estas enzimas tiveram evolução rápida e foram isoladas em muitos países (STÜRENBERG et al, 2003).

Esses microrganismos gram-negativos, no geral, têm sido alvo de maior incidência para resistência as cefalosporinas 3ª e 4ª geração, levando ao uso de carbapenêmicos, por muitas vezes precocemente, e estes apresentam um espectro mais amplo, são mais resistentes à hidrólise dos β-lactamases e apresentam excelente permeabilidade através da membrana externa bacteriana (MENDES et al., 2006).

As bactérias pertencentes à família *Enterobacteriaceae* são as mais comumente isoladas em casos de IRAS e estão relacionados às altas taxas de morbimortalidade, relatos frequentes de surtos hospitalares causados por alguns membros desta família como *Proteus sp., Serratia sp., Escherichia sp. e Klebsiella sp.* justificam a necessidade do monitoramento no ambiente hospitalar (MEYER et al., 2011). As transmissões ocorrem por contato direto ou por fonte comum, podendo ocorrer em qualquer área física hospitalar e acometer pacientes clínicos, cirúrgicos e pediátricos (MARRA et al.,2002). As IRAS comprometem o quadro clínico de pacientes hospitalizados, mais notadamente aos que estão em tratamento nas UTIs (SCARPATE et al., 2009).

K. pneumoniae é a bactéria gram-negativa mais frequentemente envolvida em infecções hospitalares e surtos de IRAS. Muitos destes têm sido descritos na literatura, principalmente aqueles referentes a Unidades de Terapia Intensiva (UTI) (PATERSON; BONOMO, 2005; OLIVEIRA *et al*., 2011; BAILÓN, SACSAQUISPE, 2013; DEINSTMANN et al., 2013; GIAMARELLOU et al., 2013, GIROMETTI et al 2014, HAN et al., 2015). Esta unidade foi descrita como local de disseminação e expansão a resistência antimicrobiana devido à sua população extremamente vulnerável de pacientes criticamente doentes, o uso considerável de procedimentos invasivos e a aplicação frequente de antimicrobianos (HU et al., 2016).

Cepas de *K. pneumoniae* são difíceis de tratar e têm potencial para se espalhar nas instalações de saúde. Infecções com estes microrganismos estão associados a altas taxas de morbidade e mortalidade, e as *K. pneumoniae* que portam genes que codificam as carbapenemases representam uma ameaça significativa para o controle e tratamento das IRAS e foram associados a surtos hospitalares em várias regiões geográficas (SILVA et al., 2016).

O alto envolvimento desta espécie em infecções graves está relacionado à facilidade na aquisição de plasmídeos de multidroga-resistência, os quais podem possibilitar resistência a diferentes classes de antimicrobianos, incluindo carbapenêmicos e aminoglicosídeos, sendo um fator limitante e uma das maiores causas de insucesso no tratamento das infecções causadas por essa espécie bacteriana (TRABULSI *et al.,* 2008).

A espécie *P. mirabilis* em ambientes hospitalares, é facilmente encontrada colonizando tanto a pele quanto a mucosa oral de pacientes e de profissionais da saúde. A infecção ocorre principalmente a partir desses reservatórios. É considerado um agente patogênico oportunista identificado em 90% das infecções causadas por *Proteus sp.* (O'HARA et al., 2000; GONZALEZ et al., 2016). São móveis, anaeróbios facultativo, capazes de produzir grandes quantidades de urease e facilmente isolados em meios não seletivos utilizados para enterobactérias. Em ágar sangue, produz colônias mucosas ou secas, relativamente grandes, de coloração opaca (TRABULSI *et al.,* 2008). Este microrganismo é intrinsecamente resistente à nitrofurantoína e à tetraciclina, polimixina e um pouco ao imipenem, mas é naturalmente suscetível a beta-lactâmicos, aminoglicosídeos, fluoroquinolonas e trimetoprima-sulfametoxazol (STÜRENBURG et al., 2003).

Os bacilos Gram-negativos da família *Enterobacteriaceae* foram inicialmente relatados em surtos de *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*. Para *P. mirabilis* são relativamente incomuns e poucos estudos sobre infecções causadas por este microrganismos foram publicados (COHEN-NAHUM et al., 2010; TUMBARELLO et al., 2012; KURIHARA et al., 2013; KORYTNY et al., 2016).

Serratia marcescens possui característica de resistência intrínseca e adquirida aos agentes antimicrobianos. Muitos dos isolados clínicos desta bactéria possuem determinantes genéticos cromossômicos e codificados por plasmídeos que especificam resistência a uma gama de antimicrobianos recomendados na terapêutica (MAHLEN, 2011). O que aumenta a probabilidade de persistência deste patógeno por longos períodos no ambiente hospitalar, quando somado ao fato deste microrganismo colonizar a pele e o trato gastrointestinal de indivíduos adultos (CARVALHO *et al.*, 2010). E infecções ocasionadas por este microrganismo denota maior permanência de hospitalização e de uso de ventilação mecânica (OSTROWSKY et al., 2002).

Os surtos de infecção por S. marcescens foram atribuídos à contaminação da solução de sulfato de magnésio, tabletes de sabão, laringoscópios, broncoscópios e osciladores. Fato este que confirma sua preferência por ambientes úmidos (LENG et al., 2014).

Escherichia coli possuem células em forma de bastonetes (bacilos), podem ser imóveis ou móveis por flagelos e são anaeróbias facultativas. As estirpes de E. coli podem ser diferenciadas com base nos antígenos somáticos (O), flagelares (H) e capsulares (K). O conjunto destes antígenos ajuda na determinação do seu grau de virulência e patogenicidade (JACOBSEN *et al*., 2008;). Esses microrganismos representam uma importância crescente problema na prática clínica, bem como para a saúde sistema de cuidados como um todo (BERGER et al., 2010).

A *E. coli* pode causar surtos graves de doença gastrointestinal com sintomas clínicos variando de diarreia e colite hemorrágica até a síndrome urêmica hemolítica ameaçadora da vida e representa a maior porcentagem de casos de cistite, pielonefrite e prostatite em infecções adquiridas no hospital (JAROS et al., 2013; GONZALEZ *et al*., 2016). Contudo, quando se trata de IRAS, as infecções sanguíneas se tornam destaque e o tratamento de pacientes com bacteremia grave e sepse implica custos elevados (BERGER et al., 2010).

2.2 Beta - lactâmicos e mecanismos de resistência

A classe de antimicrobianos beta-lactâmicos compreende as penicilinas, cefalosporinas, carbapenêmicos e monobactâmicos. Devido à diversidade de espectro dessa classe, baixa toxicidade e alta efetividade bactericida ela acaba sendo a principal utilizada no tratamento de infecções bacterianas em pacientes hospitalizados (ALVES et al., 2013).

A figura 1 abaixo expõe as principais classes citadas e a presença comum a todos do anel beta-lactâmico, alvo das enzimas betalactamases.

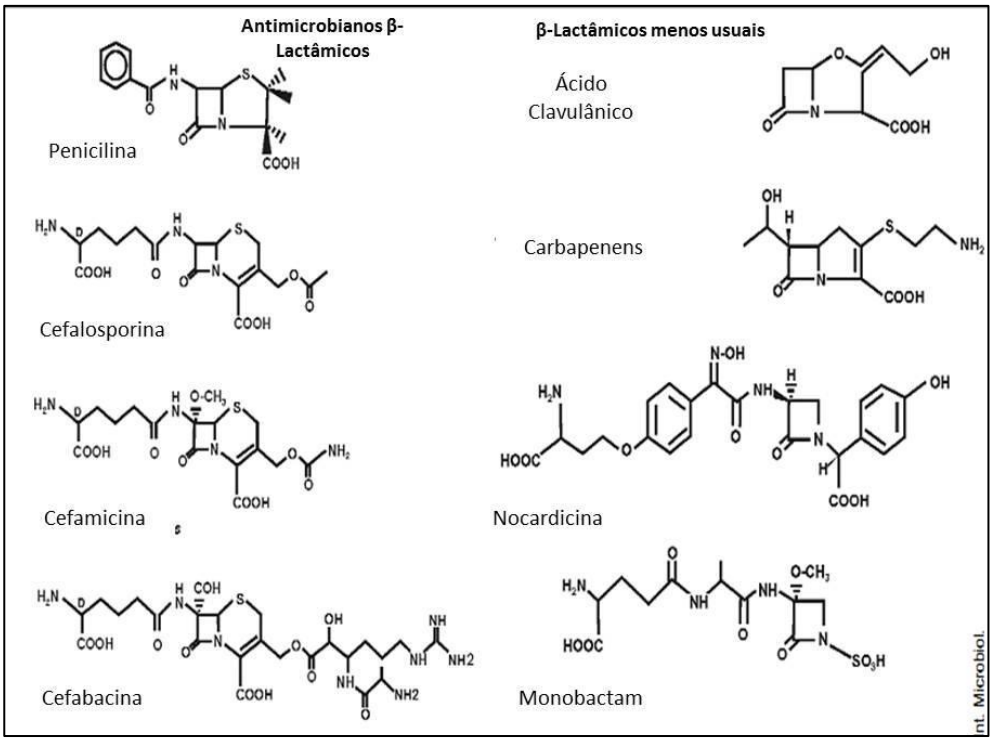

Figura 1 - Estrutura química dos diferentes β-lactâmicos
Fonte: Adaptado de Liras e Martín (2006) **Nota**: Em destaque o anel β-lactâmico, componente comum a todos.

Dentro dos antimicrobianos de amplo espectro mais utilizados e que apresentam uma diversidade de resistência estão os carbapenêmicos. A eficácia dos carbapenêmicos se deve as suas diversas formas de atuação frente às bactérias e está representada na figura 2, no qual mostra onde o antimicrobiano pode agir ao entrar em contato com uma bactéria gram-negativa.

A elevada afinidade pelas Proteínas de Ligação das Penicilinas (PBPs) do tipo 2, a estabilidade frente as β-lactamases (inclusive as ESβLs) e as enzimas cromossômicas (AmpC), e uma excelente permeabilidade através da membrana externa bacteriana faz com que esta classe seja alvo de inúmeras formas de resistência, seja por alteração do alvo, mutação ou perdas de porinas, sistema de efluxo e produção de enzimas. Tal fato é preocupante, pois torna desafiador o tratamento, uma vez expresso esses mecanismos. (WALTHER-RASMUSSEN et al., 2007). A produção de enzimas é o principal mecanismo de resistência cujas são chamadas de beta-lactamases, pois hidrolisam o anel bata-lactâmico presente nestes antimicrobianos, inativando-os. (SOOD S. 2014). Dentre essas enzimas, as que requerem mais atenção são as betalactamases de espectro estendido (ESBL) e as carbapenemases (SEIBERT et al., 2014).

As carbapenemases ocorrem com mais frequência entre as bactérias gram-negativas fermentadoras de glicose, ou seja, as enterobactérias; dentre os gêneros: *Klebsiella, Serratia, Citrobacter, Enterobacter, Eschecheria, Salmonella, Proteus, Morganella*. Os genes que podem ser codificados por elas são bla_{KPC}, bla_{IMP}, bla_{VIM}, bla_{NDM} e bla_{OXA}, bla_{GES}, contudo a produção de KPC tem se tornado um mecanismo bem mais emergente e isso se deve, dentre outros fatores, ao fato do alto potencial de disseminação devido ao gene ser codificado no transposon 4401 inseridos em plasmídeos conjugativos, facilitando a transferência do gene interespécies. (YIGIT et al., 2001 ;SEIBERT et al., 2014). Existem diversas classificações para estas enzimas, segundo Ambler, as carbapenemases são classificadas de acordo com sua terminação de sequência de aminoácidos, e deste modo, se classificam da seguinte maneira: Classe A (serino-carbapenemases), Classe B (metalo-betalactamase), Classe C (cefalosporinases) e Classe D (Oxa-carbapenemase). Entretanto, esta abordagem não se mostrou eficaz na prática clínica. Dentre os vários motivos foi que para os clínicos é mais importante saber se aquele organismo que está causando a infecção é susceptível ou resistente a um antimicrobiano do que a sequência de aminoácidos da beta-lactamase carreada pela bactéria. Assim, atualmente, a classificação de Bush, Jacob e Medeiros, proposta incialmente em 1995 e revisada por Bush e Jacob em 2010, combinando a estrutura com características funcionais é a classificação mais aceita, pois se baseia nas propriedades bioquímicas, estrutura molecular e sequências nucleotídicas, separando as enzimas em quatro grupos funcionais e subgrupos (tabela 1) (MENDES et al., 2006; BUSH at al., 2010; ALMEIDA et al., 2012).

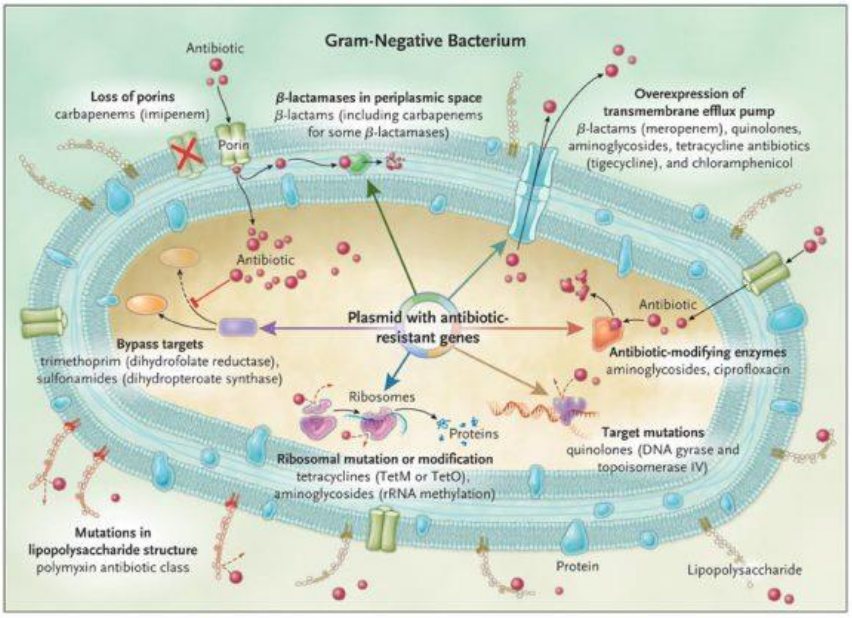

Figura 2 - Diferentes mecanismos que as bactérias possuem para resistir a ação dos antimicrobianos.
Fonte: Publicado no **New England Journal of Medicine**

Tabela 1: Classificação das beta-lactamases segundo Bush e Jacobe,2010

Grupo Funcional Bush/Jacob	Classe Molecular	Exemplos	Características
1	C	AmpC de *P. aeruginosa* e *E. coli*; CMY-2, FOX-1, MIR- 1.	Enzimas cromossômicas e plasmidiais produzidas por bactérias Gram-negativas. Confere resistência a todos os β-lactâmicos, exceto os carbapenemas. Não são inibidas por ácido clavulânico e tazobactam.
1e	C	GC1, CMY-37	Enzimas que promovem a hidrólise de penicilinas, cefamicinas, cefalosporinas de amplo espectro e monobactâmicos.
2a	A	PC1 e outras penicilinases de Staphylococcus sp.	Penicilinases produzidas por *Staphylococcus* spp. E *Enterococcus* spp. Conferem altos níveis de resistência à penicilina. Inibidas por ácido clavulânico e tazobactam.
2b	A	SHV-1, TEM-1, TEM-2, TEM-90.	Enzimas que possuem hidrólise eficiente de penicilinas e cefalosporinas das primeiras gerações, inibidas por ácido clavulânico e tazobactam
2be	A	ESBL: CTX-M-15, CTX-M-44, PER-1, SFO-1, SHV-5, TEM-10, TEM-26,	Conferem resistência às penicilinas, cefalosporinas de amplo espectro e monobactâmicos.
2br	A	TEM-30, TEM-76, TEM-103, SHV-10, SHV-26	Enzimas que possuem hidrólise eficiente de penicilinas e cefalosporinas das primeiras gerações, entretanto não são bem inibidas

			por ácido clavulânico.
2ber	A	TEM-50, TEM-68, TEM-89	Promovem a hidrólise de penicilinas, cefalosporinas, monobactâmicos e são pouco inibidas por ácido clavulânico e tazobactam.
2c	A	PSE-1, CARB-3	Enzimas que hidrolisam penicilinas e carbenicilina, inibidas por ácido clavulânico.
2d	D	OXA-1, OXA-10	Enzimas que hidrolisam a cloxacilina, levemente inibidas por ácido clavulânico.
2de	D	OXA-11, OXA-15	Hidrólise de penicilinas e cefalosporinas de amplo espectro, pouco inibidas por ácido clavulânico.
2df	D	OXA-23, OXA-48	Hidrolisam carbapenemas e cloxacilina, pouco inibidas por ácido clavulânico.
2e	A	CepA	Cefalosporinases inibidas por ácido clavulânico e tazobactam, mas não por aztreonam.
2f	A	IMI-1, KPC-2, KPC-3, SME-1, GES-2	Enzimas que hidrolisam carbapenemas e possuem uma serina no seu sítio ativo. Tais enzimas são pouco inibidas por ácido clavulânico e tazobactam.
3a	B	IMP-1, L1, NDM-1, VIM-1	Hidrólise de todos os beta-lactâmicos exceto monobactâmicos. Inibidas por EDTA e quelantes de metais, não inibidas por ácido clavulânico e tazobactam.
3b	B	CphA, Sfh-1	Hidrólise preferencial de carbapenemas. Inibidas por EDTA e quelantes de metais, não inibidas por ácido clavulânico e tazobactam.

2.3 Transferência de genes de resistência

A disseminação rápida dos genes intra e interespécies, inclusive os genes de resistência (gene $bla_{KPC,}$ por exemplo), se deve ao fato da maioria se localizar nos plasmídeos. Tal fato é demonstrado pelo intervalo curto de tempo entre a descoberta e a disseminação mundial, pois há uma facilitação na transferência intra e interespécies. Os plasmídeos são pequenos fragmentos circulares de DNA, que se replicam independente do DNA cromossômico, permitindo a troca de material genético mais facilmente (SOOD S. 2014). O material genético pode ser transferido de algumas formas: transformação, transdução e conjugação.

A transformação é a passagem do material genético de uma bactéria, que sofreu lise celular, para o meio, no qual outra bactéria capta este material

incorporando-o ao seu genoma. Esta situação ocorre raramente, pois é preciso de condições extremamente favoráveis.

Transdução ocorre através de um vírus bacteriófago, que atua como um vetor, levando o material genético de uma bactéria para outra. E a conjugação acontece quando duas bactérias gram-negativas da mesma espécie ou espécie relacionada entram em contato, cuja bactéria se comporta como doadora (que transfere o material genético que é o DNA plasmidial e às vezes cromossômico) e a outra é a receptora. Essa capacidade é comumente codificada em plasmídeos, chamados de plasmídeos F ou conjugativos. Uma vez que a bactéria recebeu o material ela passa a expressar uma nova característica de acordo com os genes presentes no DNA recebido (FIO et. al., 2000; TRABULSI *et al.,* 2008).

E nessas transferências por conjugação há a passagem de genes de resistência, e é deste modo que o gene bla_{KPC} já foi detectado em inúmeras outras enterobactérias, além da *Klebsiella sp.*, e bacilos não fermentadores. (JÁCOME et al., 2012; ALMEIDA et al., 2012; ENDIMIANI et al., 2009; CABRAL et al., 2015; LOPES et al., 2016). Em pouco mais de 10 anos após descoberta do gene bla_{KPC}, cerca de 10 tipos de variantes já tinham sido descritas, sendo as predominantes as KPC-2 e KPC-3 (ANDRADE, 2011; CABRAL et al., 2012).

A possiblidade de transferência de genes entre as bactérias faz com que haja acúmulo de diferentes tipos de resistências e o aparecimento de novas. Em estudos posteriores, detectou-se em determinados isolados resistentes a carbapenêmicos, resistência também a fluoroquinolonas e aminoglicosídeos. Assim como, já existem relatos de resistência a tigeciclina por algumas estirpes (SPANU et al., 2012 ;SOOD S. 2014).

2.4 Disseminação mundial e no brasil do gene bla_{kpc}

Após a descoberta do gene bla_{KPC}, vários surtos ocorreram em hospitais localizados na cidade de Nova Iorque (EUA). E ao longo do tempo, se espalhou por vários países ao redor do mundo e tem sido bastante estudado em Israel, Grécia e China, onde mostraram grande semelhança genética com os isolados americanos. Em outros países também foram documentados nos anos seguintes, França, Reino Unido, Alemanha e Itália (NAAS et al., 2005; WOODFORD et al., 2008; ENDIMIANI et al., 2009; WENDT et al., 2010; AMBRETTI et al., 2010; ALMEIDA et al., 2012).

Na América do Sul, o primeiro relato do gene *bla*$_{KPC}$ foi em 2006, na Colômbia. No Brasil, a cidade do Recife foi pioneira com isolados de 2006, publicado em 2008, seguido da cidade do Rio de Janeiro com isolados de 2007 (BEIRÃO et al., 2011; MONTEIRO et. al. 2008). Desde o primeiro relato do gene *bla*$_{KPC}$, o Brasil tem apresentado uma crescente expansão de disseminação e Recife também contribuiu para esta estatística representado principalmente pelos trabalhos do nosso grupo de pesquisa (MELO et al., 2014; CABRAL et al., 2015; MARGATE et al., 2015; CABRAL et al., 2017).

Alguns trabalhos em Recife-PE e demonstraram a presença de diversos genes de resistência em *K. pneumoniae* e em outras enterobactérias. Amostras de *K. pneumoniae*, isolada de hospitais diferentes, apresentaram relação clonal mesmo apresentando diferentes fenótipos de resistência a antimicrobianos diferentes, além da detecção da presença também de clones quando isolada intra-hospitalar (CABRAL et al., 2012; MELO et al., 2014). A acumulação de genes de resistência e virulência em algumas cepas (MELO et al., 2014) e a rápida disseminação impõe limitações nas opções terapêuticas disponíveis para o tratamento de infecções causadas por *K. pneumoniae* no Recife, Brasil. Estes estudos mostram a necessidade que as autoridades sanitárias locais devem ter para controlar de forma mais eficaz a disseminação da resistência aos antimicrobianos genes no ambiente hospitalar. Além de ter também, medidas para controlar o uso excessivo de antimicrobianos nos hospitais.

2.5 Opções terapêuticas para tratamento de enterobactérias com gene *bla*$_{kpc}$

Segundo a última nota técnica emitida pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, a opção terapêutica para Enterobactérias multirresistentes produtoras de KPC se baseia na utilização da Polimixina B em associação com um ou mais antimicrobianos pertencentes às classes dos aminoglicosídeos (gentamicina e amicacina), carbapenêmicos (meropenem e doripenem) e glicilciclinas (tigeciclina). Lança-se mão da associação acima citada, haja vista uma terapia empírica, preconizando sempre a presença da Polimixina B. Deve-se evitar deste modo, a monoterapia pelo risco de rápido desenvolvimento de resistência (ANVISA, 2013).

O perfil de susceptibilidade esperado da enterobactéria (do hospital ou da região) ao antimicrobiano, o local da infecção e a perfusão do antimicrobiano no tecido acometido são parâmetros que devem ser impreterivelmente levados em conta no momento da escolha dos fármacos que irão associar-se para compor o tratamento, uma vez havendo a intenção de iniciar de imediato o tratamento (ANVISA, 2013).

Uma vez identificado a bactéria e determinado o perfil de sensibilidade é indicado que se ajuste os antimicrobianos e deixar, sempre que possível, duas com comprovação de ação *in vitro.* Além da determinação da Concentração Mínima Inibitória para os antimicrobianos utilizados, bem como pedir a consultoria de um infectologista para uma melhor interpretação dos dados (ANVISA, 2013).

2.6 Detecção do gene de resistência bla_{kpc}

A detecção de cepas produtoras de KPC apenas por testes fenotípicos de susceptibilidade é falha, necessitando de uma pesquisa por PCR do gene bla_{KPC} para a confirmação da presença desse mecanismo de resistência enzimática (NORDMANN et al., 2009; SEIBERT et al., 2014). A partir de 2009, o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) passou a recomendar a pesquisa do gene bla_{KPC} em isolados de enterobactérias com resistência a cefalosporinas 3ª geração e sensibilidade diminuída a carbapenêmicos pela metodologia de disco-difusão (ertapenem 19-21 mm; meropenem 16-21 mm; imipenem: fraco preditor de carbapenemase). Nessa situação, a padronização estabelece a confirmação de carbapenemase por meio do teste de Hodge modificado (SOARES et al., 2012).

A ANVISA, em nota técnica em 2013, preconizou a realização de testes de inibição enzimática, utilizando inibidores específicos de betalactamases, como EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético) e AFB (ácido fenilborônico), como testes fenotípicos, mas apenas os moleculares como PCR (reação em cadeia da polimerase) são confirmatórios e precisos (ANVISA, 2013; SEIBERT et al., 2014).

2.7 Mortalidade ocasionada por enterobactérias portadoras do gene bla_{kpc} e fatores de risco associados

Num estudo multicêntrico na Grécia, Kontopidou et al. (2013) relacionaram as opções terapêuticas medicamentosas ainda eficazes contra KpKPC (*K.*

pneumoniae produtora de KPC) com o desfecho clínico de pacientes críticos infectados e evidenciaram uma alta mortalidade e falha terapêutica mesmo utilizando os antimicrobianos que ainda apresentaram sensibilidade (KONTOPIDOU et al. 2013).

Schwaber et. al. em seu estudo num hospital em Israel, evidenciaram uma mortalidade três vezes maior em pacientes infectados por KpKPC do que pacientes infectados por KnpKPC (SCHWABER et. al., 2007).

Falagas et al. (2007) e Patel et al. (2008) identificaram os fatores de risco relacionados à mortalidade dos pacientes infectados por KpKPC concluíram como o principal fator o uso de antimicrobianos, dentre eles os carbapenêmicos (FALAGAS et. al., 2007; PATEL et al., 2008). Destacando que o uso de antimicrobianos, teoricamente utilizados para tratar tais infecções, podem ser os precipitadores da resistência. Exceto esse uso de antimicrobianos, existe uma variabilidade quanto aos demais fatores de risco investigados e deste modo, não se têm um consenso, admitindo diversos fatores, além da maioria dos estudos não levar em consideração os aspectos genéticos bacterianos.

Nos últimos anos, os estudos têm se mostrado mais aplicados ao desfecho clínico e as opções de tratamento disponíveis, a fim de entender a epidemiologia das cepas resistentes mais prevalentes e desta forma traçar de modo conciso uma terapia efetiva e segura para os pacientes infectados. Estes estudos foram realizados por diversas partes do mundo, Ásia, Europa, Oriente Médio e admitem que os fatores encontrados mudam as condutas clínicas, o modo de prevenção e cuidados assistenciais e ajudam a definir as características moleculares dos microrganismos traçando um perfil de resistência para cada realidade analisada (TEO et al., 2012; BART et al., 2015; REULAND et al., 2016; WANG et al., 2016).

A metodologia diverge de estudo para estudo, contudo o objetivo em delinear um perfil clínico dos tratamentos e das cepas infectantes mais virulentas é semelhante. Ainda neste contexto, são encontrados estudos que avaliam além do desfecho clínico os fatores de risco para aquisição de microrganismos resistentes. Desta maneira, estes estudos planejam a prevenção de infecções de forma fundamentada e justificada estatisticamente (SCHWABER et. al., 2007; TEO et al., 2012).

No Brasil, os fatores são ainda mais raros e inconclusivos e deixa subdimensionado àqueles apropriados, a prevalência dessas infecções, dentre outros, particulares da nossa realidade. Estudos realizados no Recife-PE não obtiveram resultados conclusivos para os fatores de risco e mortalidade concomitantemente, deixando como viés esta associação (LOUREIRO, 2012). Deste modo, evidencia-se a necessidade de identificação mais verossimilhante à nossa realidade e assim melhorar a qualidade da assistência prestada, tentando reduzir mortalidade com condutas terapêuticas empíricas para IRAS mais direcionadas e diminuir também casos fatais e falhas terapêuticas.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Determinar quais fatores são de risco para mortalidade em pacientes infectados por enterobactérias portadoras do gene bla_{KPC} e internados em um hospital terciário de Recife-PE.

3.2 Objetivos específicos

- Analisar os perfis de susceptibilidade dos isolados de enterobactérias portadora do gene bla_{KPC} nos pacientes infectados.
- Confirmar a presença do gene bla_{KPC}, nos isolados clínicos obtidos no grupo determinado como exposto.
- Analisar a mortalidade dos pacientes inseridos na pesquisa de ambos os grupos e os fatores biológicos, fisiológicos e de hospitalização.
- Descrever os diferentes desfechos apresentados pelos pacientes infectados por enterobactérias bla_{KPC} positivo ou negativo, considerando o questionário utilizado.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Desenho do estudo e local

Trata-se de um estudo observacional, do tipo coorte prospectivo. O acompanhamento de cada paciente durou 30 dias consecutivos (tempo médio estimado em estudos semelhantes) até o desfecho (morte ou sobrevida), partindo-se dos pacientes expostos (pacientes infectados por enterobactérias portadoras do gene bla_{KPC}) e os não expostos (pacientes infectados por enterobactérias, porém não portadoras do gene bla_{KPC}). O estudo foi realizado no ano de 2016 em um hospital privado terciário localizado no Recife-PE, classificado como grande porte, possuindo 40 leitos de UTI e sendo referência em cirurgias. Todos os setores do hospital foram incluídos no estudo, exceto uregência e emergência.

4.2 Critérios de inclusão

- Pacientes de ambos os sexos, maiores de 18 anos que estavam internados e infectados por enterobactérias *(Klebsiela pneumoniae, Serratia marcescens, Proteus mirabilis, E. coli)* portadoras ou não do gene bla_{KPC} confirmado pela técnica de PCR.

- Para inclusão no grupo dos expostos: Confirmação através de PCR da presença do gene $bla_{KPC.}$

- Para inclusão no grupo dos não expostos: Confirmação através de PCR da ausência do gene $bla_{KPC.}$

4.3 Critérios de exclusão

- Pacientes cujos isolados não puderam ser resgatados para confirmação do perfil de sensibilidade.

- Pacientes com isolados suspeitos de expressar o gene bla_{KPC} que não realizaram a confirmação por PCR.

4.4 Determinação da amostra e coleta de dados

Assumindo um erro alfa de 0,05, com nível de confiabilidade de 95%, um “power” de 80 %, com razão entre o grupo de não expostos e expostos de 4, prevalência de 48,8% para mortalidade entre o grupo dos expostos e de 8,13% entre

o grupo de não expostos, foram calculados pelo Programa EpiInfo 7® uma amostra de 62 pacientes (13 expostos e 49 não expostos), conferindo um OR: 6,002 e RR: 10,770.

Após a confirmação da infecção por enterobactéria e análise dos antibiogramas realizados no aparelho da marca Biomerieux®, modelo *Vitek 2 compact*, que faz a identificação automatizada, houve a inclusão do paciente na pesquisa. Contudo, a coleta foi iniciada somente após o paciente ou seu responsável ter sido esclarecido dos objetivos da pesquisa e ter assinado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO I), lhe assegurando o cumprimento das normas da resolução 4612 do Conselho Nacional de Saúde. Os dados foram coletados por meio de consulta no prontuário do paciente seguindo um questionário padrão (ANEXO II). Além de ter ocorrido visitas de no mínimo duas vezes na semana ao paciente, cujo foi acompanhado por 30 dias consecutivos, visto estudos semelhantes também elegerem este tempo como o suficiente para o acompanhamento.

O questionário padronizado utilizado para a coleta dos dados continha 60 perguntas acerca dos fatores pessoais (sexo e idade), clínicos e fisiológicos (comorbidades, obesidade, hipertensão arterial, descompensação cardíaca, doença arterial coronariana, diabetes mellitus, doença pulmonar e insuficiência renal e doença hepática, além de tabagismo e imunossupressão) e de internação, infecção e tratamento (espécime clínico do exame, tempo de internação, motivo do internamento, diagnóstico, complicações pós internamento, uso prévio de antimicrobianos – quinilonas, aminoglicosídeos, cefalosporinas, penicilinas 4ºgeração, glicopeptídeos, carbapenêmicos, polimixina, tigeciclina -, uso de aparatos invasivos, infecções por outros microrganismos, intervenção terapêutica limitada, hemodiálise e submissão de cirurgia).

4.5 Análise dos fatores de risco e dos fatores estatísticos

Para análise dos dados foi construído um banco na planilha eletrônica Microsoft Excel® a qual foi exportada para o software SPSS, versão 18, onde foi realizada a análise. Para avaliar as características pessoais, clinicas, de internação, fisiológicas, de infecção, do tratamento e do desfecho dos pacientes avaliados, foram calculadas as frequências percentuais dos fatores em estudo, segundo o grupo de pacientes infectados e não infectado pelo KPC. Ainda, foi aplicado o teste

de Qui-quadrado para homogeneidade a fim de comparar a distribuição das características avaliadas entre o grupo de expostos e não expostos, nas aplicações do teste Qui-quadrado onde as suposições foram violadas foi utilizado o teste Exato de Fisher.

Na análise bivariada foi avaliada a associação das características pessoais, clínicas, de internação, fisiológicas, de infecção e de tratamento do paciente com o óbito por infecção. Para avaliar essa associação foi construída a tabela de contingência e aplicado o teste Qui-quadrado para independência. Nos casos em que as suposições do teste foram violadas, aplicou-se o teste Exato de Fisher. Todas as conclusões foram tiradas considerando o nível de significância de 5%.

4.6 Identificação dos isolados bacterianos

Os isolados bacterianos foram selecionados e classificados de acordo com a figura 3.

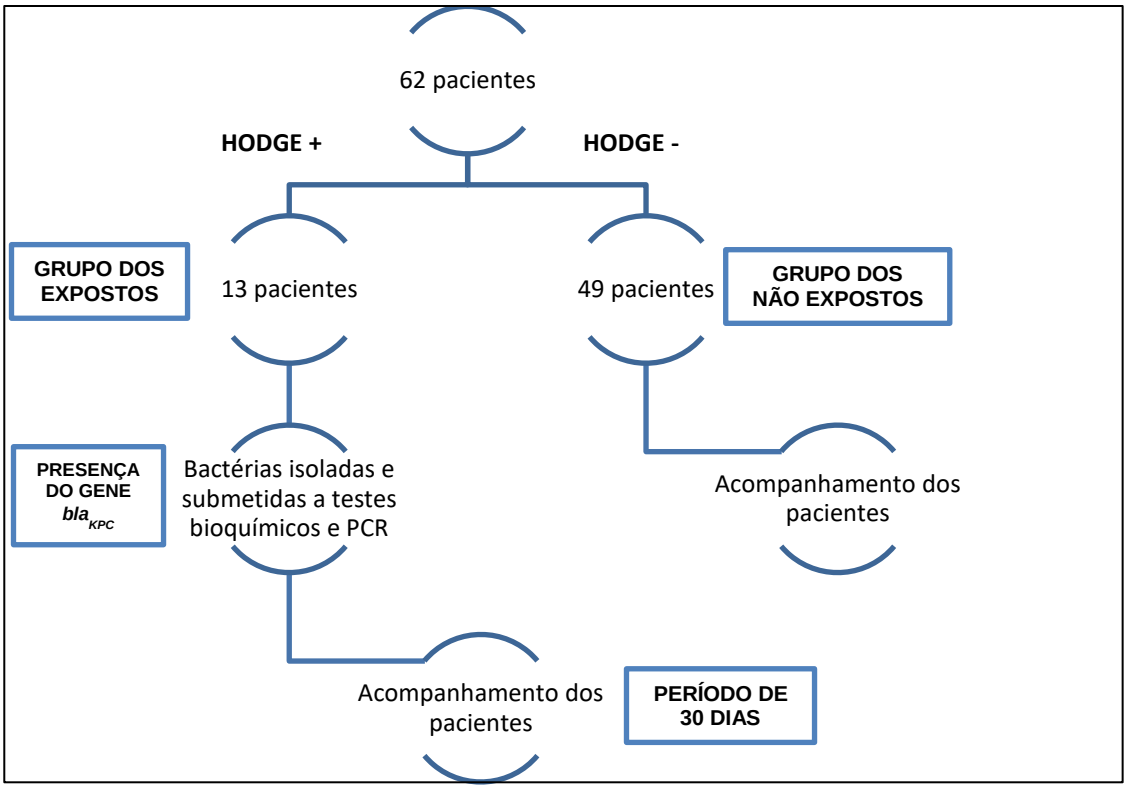

Figura 3 - Seleção dos pacientes da pesquisa

Os isolados bacterianos foram identificados automaticamente através do equipamento da marca Biomerieux®, modelo *Vitek 2 compact.* Os espécimes de enterobactérias identificados com resistência para qualquer um dos carbapenêmicos

testados (Hodge positivo) foram resgatados por repique da cultura e levados até o Departamento de Medicina Tropical, Setor de Microbiologia, Laboratório de Biologia Molecular e Genética Bacteriana, Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal de Pernambuco.

No laboratório, estes isolados resistentes foram submetidos a testes bioquímicos convencionais (produção de indol e gás sulfídrico, motilidade, fermentação de glicose, lactose e sacarose) para confirmar a pureza da cultura bacteriana. A fim de mantê-los em estoque, depois de cultivados em Ágar nutriente, estes foram inoculados em 2mL de caldo BHI (Brain Heart Infusion) e incubados a 37º C por 24h. Após o crescimento, foram colocados em microtubos de 2mL, 850µL do inóculo bacteriano em 150µL de glicerol a 15% e foram armazenados e mantidos no freezer a temperatura de -20ºC.

4.7 Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos

Todos os isolados coletados foram analisados quanto à resistência a antimicrobianos através do teste automatizado utilizando o aparelho da marca Biomerieux®, modelo *Vitek 2 compact*, fornecendo assim, posteriormente o antibiograma completo que foi interpretado de acordo com o CLSI, 2016 (CLSI, 2016). Empregaram-se os seguintes antimicrobianos: ampicilina (AMP), ampicilina/sulbactam (APS), piperacilina/ tazobactam (PIT), cefoxitina (CFO), ceftazidima (CAZ), ceftriaxona (CRO), cefepime (CPM), imipenem (IMP), meropenem (MPM), amicacina (AMI), gentamicina (GEN), ciprofloxacina (CIP), colistina (POL B), trimetoprim/ sulfa (SUT), levofloxacino (LEV), tobramicina (TOB) (CLSI, 2016).

4.8 Detecção fenotípica de kpc

Os isolados clínicos de enterobactérias provenientes do hospital particular que apresentaram resistência aos carbapenêmicos imipenem e/ou meropenem foram testados para produção de carbapenemases através do teste de Hodge (CLSI, 2016). A cepa *E. coli* ATCC 25922 foi semeada, utilizando-se um swab estéril, em placa de ágar Müeller-Hinton com uma suspensão padronizada a 0,5 na escala de turbidez de McFarland. Após secagem, depositou-se um disco de ertapenem no centro da placa. Os isolados das enterobactérias testes foram

inoculados, utilizando-se alça de platina, da margem do disco à periferia da placa de petri ao centro, a uma distância aceitável uma das outras para que não houvesse interferência nas interpretações, e incubados por 24h a 37°C. O teste foi considerado positivo quando houve distorção no halo de inibição na interseção entre o ertapenem e o inóculo da enterobactéria, caso contrário interpretou-se como negativo (CLSI, 2016).

4.9 Extração de DNA total

A extração de DNA total foi realizada pelo kit Wizard® Genomic DNA, Purification Kit (Promega), conforme instruções do fabricante. O DNA foi quantificado através do equipamento Nano Drop e estocado a -20°C.

4.10 Condições da PCR para identificação dos genes *bla*$_{kpc}$

Os genes de resistência *bla*$_{KPC}$ foram investigados pela técnica de PCR, com os primers KPC-1ª TGTCACTGTATCGCCGTC, KPC-1b CTCAGTGCTCTACAGAAAACC (Yigit *et al*., 2001).

As reações de amplificação foram preparadas em um volume total de 25 µl por tubo, compreendendo: 1µl de DNA genômico a 5ng/µl, 2,0U da enzima *Taq* DNA polimerase (Promega), 200 µM de dNTP (Ludwig Biotec), 1,5 mM de $MgCl_2$ e 1 µmol dos primers. Em cada partida de amplificação foi incluso um controle negativo e um controle positivo (CABRAL *et al*., 2012). As amplificações do gene *bla*$_{KPC}$ foram realizadas com ciclos de desnaturação inicial à 95 ºC por 5 minutos, seguido de 30 ciclos, consistindo cada ciclo de 1 minuto à 95ºC para desnaturação, 1 minuto à 63°C para anelamento do primer e 1 minuto à 72ºC para extensão. Após estes ciclos foi realizada uma etapa de alongamento final de 10 minutos à 72 ºC (CABRAL *et al*., 2012). Cinco microlitros dos produtos de amplificação da PCR acrescidos de 1 µl de Blue-green Loading Dye I (LGC biotecnologia) foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,0% em tampão TBE (Tris-Borato 0,089M e EDTA 0,002M) e voltagem constante de 100 v.

4.11 Padronização das técnicas

Para a coleta dos dados foi aplicado um questionário padrão a todos os pacientes incluídos na pesquisa. E a coleta de material microbiológico para cultura seguiu a rotina estabelecida pela CCIH local e pelo laboratório de análises clínicas

responsável. O questionário padronizado continha informações clínicas e epidemiológicas que foi preenchido por consulta ao prontuário médico do paciente e por entrevista ao paciente/familiar. (ANEXO I). O mesmo foi aplicado unicamente pela pesquisadora responsável da pesquisa e a todos os pacientes igualmente.

4.12 Considerações éticas

O projeto foi encaminhado a Plataforma Brasil e aprovado com o CAAE: 51545015.3.0000.5198.

O TCLE foi assinado por cada paciente e/ou responsável cujos dados foram necessários na pesquisa, assegurando a confidencialidade das informações captadas durante o estudo e, garantindo que os resultados sejam utilizados absolutamente para fins científicos.

Os riscos aos quais estavam sujeitos os participantes foram minimizados através de um adequado acompanhamento, ressaltando sempre que a participação é voluntária e toda informação fornecida será confidencial. A entrevista com o paciente foi realizada de modo individual, a fim de impedir constrangimento e interferência de outras pessoas não envolvidas na pesquisa. Os resultados dos antibiogramas foram confidenciais.

5 RESULTADOS

Artigo: Análise dos fatores de risco para a mortalidade em pacientes infectados por enterobactérias portadoras do gene *bla*$_{KPC}$ internados em um Hospital terciário de Recife-PE.

Introdução

Bacilos gram-negativos antimicrobiano-resistentes são cada vez mais comuns causando infecções relacionadas a assistência a saúde (IRAS) e associadas a altas taxas de mortalidade, hospitalizações mais longas somado ao aumento dos custos de internação (PATEL, OLIVEIRA, ZHOU, 2015). A sobrevida de pacientes infectados e com neoplasias, doenças autoimunes ou imunodeficiências aumentou significativamente, entretanto as principais complicações dessas patologias permanecem sendo a combinação delas com as doenças infecciosas. O tratamento não efetivo dessas doenças se deve, principalmente, a mecanismos criados pelos microrganismos, os quais inativam a ação dos antimicrobianos (ALVES; BEHAR, 2013)

A resistência bacteriana tem sido um problema frequente nas unidades hospitalares e constantemente abordada em pesquisas. Gêneros da família *Enterobacteriaceae* (*Klebsiella, Serratia, Enterobacter, Escherichia, Proteus, Salmonela*) são as mais representativas com relação ao aparecimento da resistência. *Klebsiella pneumonie.* foi a espécie bacteriana onde houve o primeiro registro de aparecimento do gene *bla*$_{KPC}$. Logo em seguida, outras espécies, como *P. mirabilis, Serratia marcescens, Escherichia coli, Enterobacter spp* foram sendo estudadas, em diversas partes do mundo, inclusive em Recife-PE e seus genes de resistência codificados, confirmando a presença do *bla*$_{KPC}$. Esses genes foram encontrados tanto em isolados de infecções hospitalares quanto comunitárias. Esta disseminação sugere que haja transferência horizontal dos genes intra e interespécies por plasmídeos conjugativos (MONTEIRO et al., 2009; SEIBERT et al., 2014; CABRAL et al., 2015; MARGATE et al., 2015; CABRAL et al., 2017).

Assim, as IRAS ocasionadas por estes microrganismos resistentes em pacientes críticos denotam altas taxas de falhas terapêuticas a tratamentos planejados provocando complicações clínicas e frequentemente a morte (AQUINO,

2008; LIMA; ANDRADE; HAAS, 2007; KONTOPIDOU et al., 2014). Visto isso, diversos estudos investigam os preditores de mortalidade em pacientes infectados por microrganismos portadores do gene *bla*$_{KPC}$ em todo o mundo. Outros estudos também apontam fatores que aumentam o risco do gene de ser transportado por entre espécies, dificultando o tratamento, assim como identificam a epidemiologia das cepas resistentes. Ainda acerca dos fatores de risco, existem estudos que definem os riscos avaliando o resultado clínico das infecções hospitalares demonstrando a piora clínica ou aumento da mortalidade como desfecho (BART et al.; 2015; REULAND et al., 2016; WANG et al., 2016).

Contudo, os fatores apresentados nos estudos que avaliam estes preditores têm se mostrado variáveis e tal fato foi corroborado pela revisão bibliográfica e os aspectos clínicos e epidemiológicos relacionados a infecção descrita por Silva et. al. em 2012, na qual apontaram esta diversidade, justificando tal discordância pela mudança de região e pelas diferentes formas de transmissão da infecção assumindo a heterogeneidade dos fatores de risco e a pertinência de novos estudos (FALAGAS et al., 2007; SCHWABER et al., 2008; DA SILVA; TRAEBERT; GALATO, 2012).

No Brasil, estudos foram realizados na região Sul e a divergência dos preditores encontrados foi notória. Superti et. al. (2009) em um hospital terciário em Porto Alegre-RS indicaram como preditores da mortalidade a longa permanência de internação hospitalar, independente da UTI, infecção do trato respiratório inferior, presença de aparatos invasivos (sondas e cateteres) e o uso prévio de antimicrobianos antimicrobianos, com ênfase nas penicilinas anti-pseudomonas e na associação entre as classes em qualquer combinação. Já Tuon et. al. (2012) em um Hospital terciário em Curitiba-PR destacaram como fatores de risco o uso de cateter venoso central, contudo o estudo utilizou apenas pacientes com bacteremias, a diabetes como principal comorbidade e o uso de fluoroquinolonas em relação à exposição prévia de antimicrobianos (SUPERTI; AUGUSTI; ZAVASCKI, 2009; TUON et al., 2012).

Na literatura encontrada, poucos estudos unem características genéticas e fenotípicas bacterianas. E menos ainda associam estas a fatores de risco uma vez firmado a infecção (SAHIN et al., 2015; POLLETT et al., 2014). Somando a divergência dos fatores de risco para mortalidade, a carência de estudos que relacione tais fatores com as características genéticas das bactérias levando-se em

consideração a infecção e a restrição desse tipo de estudo no nordeste brasileiro demonstra-se a importância do tema abordado (MONTEIRO et al., 2009).

Portanto, este estudo propõe-se avaliar quais fatores podem ser de risco para mortalidade nos pacientes infectados por enterobactérias portadoras do gene bla_{KPC} e internados num hospital terciário de Recife-PE, em 2016. Dentre estes fatores se incluem os biológicos, os fisiológicos, os de hospitalização e os de infecção.

Materiais e Métodos

Desenho e Local do Estudo

Trata-se de um estudo observacional, do tipo coorte prospectivo. O acompanhamento de cada paciente durou 30 dias consecutivos (tempo médio estimado em estudos semelhantes) até o desfecho (morte ou sobrevida), partindo-se dos pacientes expostos (pacientes infectados por enterobactérias portadoras do gene bla_{KPC}) e os não expostos (pacientes infectados por enterobactérias, porém não portadoras do gene bla_{KPC}). O estudo foi realizado no ano de 2016 em um hospital privado terciário localizado no Recife-PE, classificado como grande porte, possuindo 40 leitos de UTI e sendo referência em cirurgias.

Critérios de Inclusão

- Pacientes de ambos os sexos, maiores de 18 anos que estavam internados e infectados por enterobactérias portadoras ou não do gene bla_{KPC} confirmado pela técnica de PCR.

- Para inclusão no grupo dos expostos: Confirmação através de PCR da presença do gene $bla_{KPC.}$

- Para inclusão no grupo dos não expostos: Confirmação através de PCR da ausência do gene $bla_{KPC.}$

Critérios de Exclusão

- Pacientes cujos isolados não puderam ser resgatados para confirmação do perfil de sensibilidade.

- Pacientes com isolados suspeitos de expressar o gene bla_{KPC} que não realizaram a confirmação por PCR.

Determinação da Amostra e Coleta de dados

Assumindo um erro alfa de 0,05, com nível de confiabilidade de 95%, um “power” de 80 %, com razão entre o grupo de não expostos e expostos de 4, prevalência de 48,8% para mortalidade entre o grupo dos expostos e de 8,13% entre o grupo de não expostos, foram calculados pelo Programa EpiInfo 7® uma amostra de 62 pacientes (13 expostos e 49 não expostos), conferindo um OR: 6,002 e RR: 10,770.

Após a confirmação da infecção por enterobactéria e análise dos antibiogramas realizados no aparelho da marca Biomerieux®, modelo *Vitek 2 compact*, que faz a identificação automatizada, houve a inclusão do paciente na pesquisa. Contudo, a coleta foi iniciada somente após o paciente ou seu responsável ter sido esclarecido dos objetivos da pesquisa e ter assinado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO I), lhe assegurando o cumprimento das normas da resolução 196 do Conselho Nacional de Saúde. Os dados foram coletados por meio de consulta no prontuário do paciente seguindo um questionário padrão (ANEXO II). Além de ter ocorrido visitas de no mínimo duas vezes na semana ao paciente, cujo foi acompanhado por 30 dias consecutivos.

O questionário padronizado utilizado para a coleta dos dados continha 60 perguntas acerca dos fatores pessoais (sexo e idade), clínicos e fisiológicos (comorbidades, obesidade, hipertensão arterial, descompensação cardíaca, doença arterial coronariana, diabetes mellitus, doença pulmonar e insuficiência renal e doença hepática, além de tabagismo e imunossupressão) e de internação, infecção e tratamento (espécime clínico do exame, tempo de internação, motivo do internamento, diagnóstico, complicações pós internamento, uso prévio de antimicrobianos – quinilonas, aminoglicosídeos, cefalosporinas, penicilinas 4ºgeração, glicopeptídeos, carbapenêmicos, polimixina, tigeciclina -, uso de aparatos invasivos, infecções prévias por outros microrganismos, intervenção terapêutica limitada, hemodiálise e submissão de cirurgia).

Análise dos Fatores de Risco e dos fatores estatísticos

Para análise dos dados foi construído um banco na planilha eletrônica Microsoft Excel® a qual foi exportada para o software SPSS, versão 18, onde foi realizada a análise. Para avaliar as características pessoais, clinicas, de internação,

fisiológicas, de infecção, do tratamento e do desfecho dos pacientes avaliados, foram calculadas as frequências percentuais dos fatores em estudo, segundo o grupo de pacientes infectados e não infectado pelo KPC. Ainda, foi aplicado o teste de Qui-quadrado para homogeneidade a fim de comparar a distribuição das características avaliadas entre o grupo caso e controle, nas aplicações do teste Qui-quadrado onde as suposições foram violadas foi utilizado o teste Exato de Fisher.

Na análise bivariada foi avaliada a associação das características pessoais, clínicas, de internação, fisiológicas, de infecção e de tratamento do paciente com o óbito por infecção. Para avaliar essa associação foi construída a tabela de contingência e aplicado o teste Qui-quadrado para independência. Nos casos em que as suposições do teste foram violadas, aplicou-se o teste Exato de Fisher. Todas as conclusões foram tiradas considerando o nível de significância de 5%.

Isolados Bacterianos

Os isolados bacterianos foram selecionados e classificados de acordo com a figura 2.

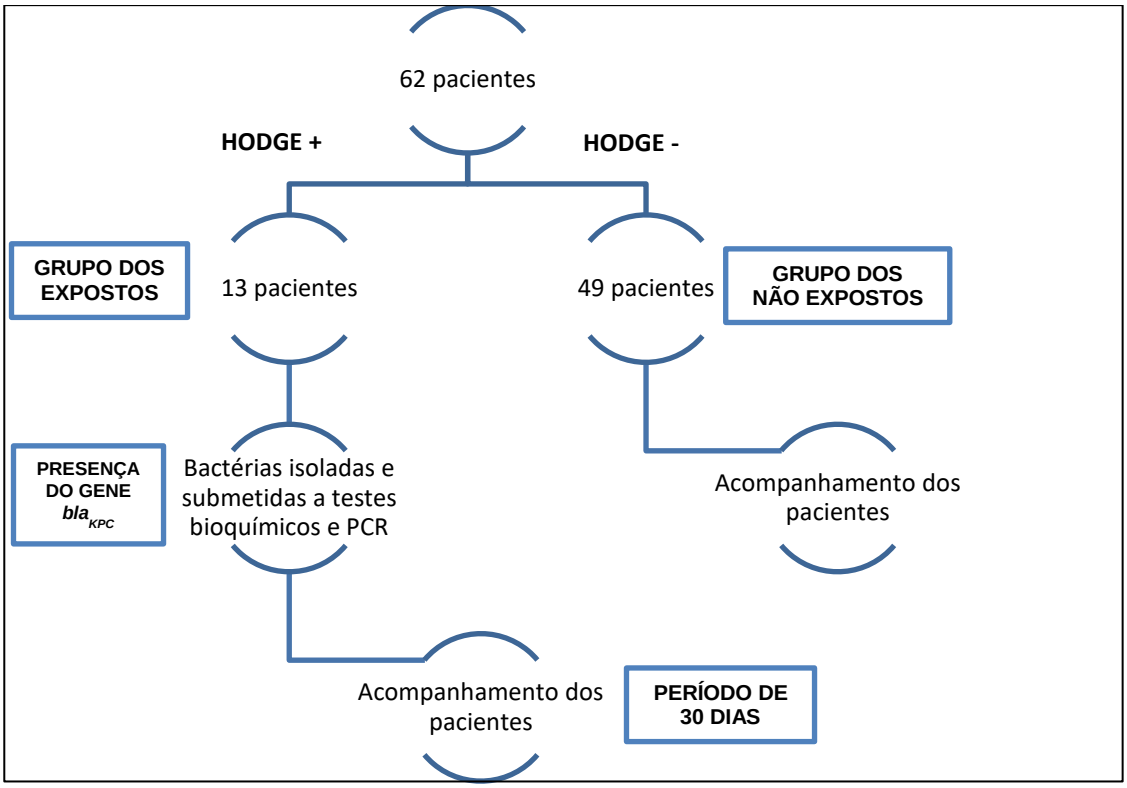

Figura 3. Seleção dos pacientes para pesquisa de fatores de risco para mortalidade em infecções por enterobactérias.

Os isolados bacterianos foram identificados automaticamente através do equipamento da marca Biomerieux®, modelo *Vitek 2 compact.* Os espécimes de enterobactérias identificados com resistência para qualquer um dos carbapenêmicos testados (Hodge positivo).

Perfil de Susceptibilidade a Antimicrobianos

Todos os isolados coletados foram analisados quanto à resistência a antimicrobianos através do teste automatizado utilizando o aparelho da marca Biomerieux®, modelo *Vitek 2 compact*, fornecendo assim, posteriormente o antibiograma completo que foi interpretado de acordo com o CLSI, 2016 (CLSI, 2016). Empregaram-se os seguintes antimicrobianos: ampicilina (AMP), ampicilina/sulbactam (APS), piperacilina/ tazobactam (PIT), cefoxitina (CFO), ceftazidima (CAZ), ceftriaxona (CRO), cefepime (CPM), imipenem (IMP), meropenem (MPM), amicacina (AMI), gentamicina (GEN), ciprofloxacina (CIP), colistina (POL B), trimetoprim/ sulfa (SUT), levofloxacino (LEV), tobramicina (TOB) (CLSI, 2016).

Os isolados clínicos de enterobactérias que apresentaram resistência aos carbapenêmicos imipenem e/ou meropenem foram testados para produção de carbapenemases através do teste de Hodge (CLSI, 2016).

Extração de DNA e condições da PCR para identificação dos genes *bla*$_{KPC}$

A extração de DNA total foi realizada pelo kit Wizard® Genomic DNA, Purification Kit (Promega), conforme instruções do fabricante. O DNA foi quantificado através do equipamento Nano Drop e estocado a -20°C.

Os genes de resistência *bla*$_{KPC}$ foram investigados pela técnica de PCR, com os primers KPC-1ª TGTCACTGTATCGCCGTC, KPC-1b CTCAGTGCTCTACAGAAAACC (Yigit *et al*., 2001).

As reações de amplificação foram preparadas em um volume total de 25 µl por tubo, compreendendo: 1µl de DNA genômico a 5ng/µl, 2,0U da enzima *Taq* DNA polimerase (Promega), 200 µM de dNTP (Ludwig Biotec), 1,5 mM de $MgCl_2$ e 1 µmol dos primers. Em cada partida de amplificação foi incluso um controle negativo e um controle positivo (CABRAL *et al*., 2012). As amplificações do gene *bla*$_{KPC}$ foram realizadas com ciclos de desnaturação inicial à 95 ºC por 5 minutos, seguido de 30

ciclos, consistindo cada ciclo de 1 minuto à 95ºC para desnaturação, 1 minuto à 63°C para anelamento do primer e 1 minuto à 72ºC para extensão. Após estes ciclos foi realizada uma etapa de alongamento final de 10 minutos à 72 ºC (CABRAL *et al*., 2012).

Eletroforese em gel de agarose

Cinco microlitros dos produtos de amplificação da PCR acrescidos de 1 µl de Blue-green Loading Dye I (LGC biotecnologia) foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,0% em tampão TBE (Tris-Borato 0,089M e EDTA 0,002M) e voltagem constante de 100 v. Foi utilizado um marcador de 100pb (Ludwig Biotec) como padrão de peso molecular. Os géis foram visualizados em transiluminador de luz ultravioleta (UV) e fotografados pelo sistema de fotodocumentação Photocap da Vilber Lourmat.

Padronização das Técnicas

Para a coleta dos dados foi aplicado um questionário padrão a todos os pacientes incluídos na pesquisa. E a coleta de material microbiológico para cultura seguiu a rotina estabelecida pela CCIH local e pelo laboratório de análises clínicas responsável. O questionário padronizado continha informações clínicas e epidemiológicas que foi preenchido por consulta ao prontuário médico do paciente e por entrevista ao paciente/familiar. (ANEXO I). O mesmo foi aplicado unicamente pela pesquisadora responsável da pesquisa e a todos os pacientes igualmente.

Considerações Éticas

O projeto foi encaminhado a Plataforma Brasil e aprovado com o CAAE: 51545015.3.0000.5198.

O TCLE foi assinado por cada paciente e/ou responsável cujos dados foram necessários na pesquisa, assegurando a confidencialidade das informações captadas durante o estudo e, garantindo que os resultados sejam utilizados absolutamente para fins científicos.

Os riscos aos quais estavam sujeitos os participantes foram minimizados através de um adequado acompanhamento, ressaltando sempre que a participação

é voluntária e toda informação fornecida será confidencial. A entrevista com o paciente foi realizada de modo individual, a fim de impedir constrangimento e interferência de outras pessoas não envolvidas na pesquisa. Os resultados dos antibiogramas foram confidenciais.

Resultados

Análise univariada – Caracterização dos fatores de risco

Caracterização dos perfis clínicos e pessoais

Na pesquisa foram escolhidas e analisadas as espécies de enterobactérias: *K. pneumoniae, Proteus mirabilis, Serratia marcescens, E. coli.* Para o perfil clínico, verificou-se que a maioria dos pacientes apresentaram infecção por enterobactérias não portadoras do gene bla_{KPC} (79,0%). E que do total de pacientes infectados a maioria (35,5%) apresentaram a *K. pneumoniae* como principal agente infectante (tabela 3).

Ainda, observou-se que no grupo dos expostos (pacientes infectados por enterobactérias portadoras do gene bla_{KPC}) foi encontrada maior prevalência do agente *Proteus mirabilis* (38,5%) enquanto que no grupo de não expostos (pacientes infectados por enterobactérias não portadoras do gene bla_{KPC}) o agente mais prevalente foi o *K. pneumoniae* (36,7%) seguido do *E. coli* (32,7%). O teste de homogeneidade da distribuição do agente encontrado no grupo de expostos e não expostos foi significativo (p-valor = 0,019), indicando que o agente principal em cada grupo difere relevantemente.

Com relação ao perfil pessoal, verificou-se que a maioria dos pacientes são do sexo masculino (54,8%), possuem 60 anos ou mais (67,7%) e não são fumantes (90,4%). Quando se avaliou a distribuição das características dos pacientes em cada grupo, temos que no grupo de pacientes expostos houve uma maior prevalência de pacientes do sexo masculino (84,6%) enquanto que no grupo de não expostos encontrou-se maior prevalência de pacientes do sexo feminino (53,1%). O teste de homogeneidade foi significativo para o fator sexo (p-valor = 0,015), indicando um número relevantemente maior de homens no grupo infectado.

Quanto a idade e o hábito de fumar a distribuição foi semelhante para todos os pacientes independentemente do grupo.

Tabela 2. Caracterização dos perfis clínicos e pessoais segundo grupo infectado por enterobactérias em um hospital de Recife-PE.

Fatores avaliados	Total		Grupo avaliado				p-valor
			Expostos		Não expostos		
	n	%	N	%	N	%	
Paciente infectado por enterobactérias portadoras do gene *bla$_{KPC}$*							
Sim	13	21,0	13	100,0	0	0,0	<0,001[1]
Não	49	79,0	0	0,0	49	100,0	
Agente							
Klebsiella pneumoniae	22	35,5	4	30,8	18	36,7	0,019[1]
Proteus mirabilis	12	19,4	5	38,5	7	14,3	
Serratia marcescens	12	19,4	4	30,8	8	16,3	
E. coli	16	25,8	0	0,0	16	32,7	
Sexo biológico							
Masculino	34	54,8	11	84,6	23	46,9	0,015[1]
Feminino	28	45,2	2	15,4	26	53,1	
Idade							
18 a 39 anos	7	11,3	1	7,7	6	12,2	0,893[2]
40 a 59 anos	13	21,0	2	15,4	11	22,4	
60 anos ou mais	42	67,7	10	76,9	32	65,3	
Tabagismo							
Sim	5	9,6	1	33,3	4	8,2	0,266[2]
Não	47	90,4	2	66,7	45	91,8	

p-valor do teste Exato de Fisher (se p-valor < 0,05 a distribuição do fator avaliado difere entre o grupo caso e controle).

Caracterização relacionada à internação hospitalar

Verificou-se que em relação às complicações clínicas pós-internamento, a maioria dos pacientes (ambos os grupos) apresentaram apenas uma complicação, porém, quando analisamos esta distribuição no grupo dos expostos, observou-se uma prevalência de 61,5% de pacientes com mais de três complicações, enquanto que no grupo dos não expostos a maioria dos pacientes apresentaram apenas uma complicação (59,2%) (tabela 4). Desta forma, o teste de comparação da distribuição do número de complicações clínicas pós-internamento entre os grupos foi significativo (p-valor < 0,001), indicando que o grupo de pacientes que foram infectados por enterobactérias portadoras do gene *bla$_{KPC}$* tiveram um número bem maior de complicações do que o grupo oposto.

Quanto à exposição dos pacientes a diferentes setores do ambiente hospitalar que já tiveram casos de enterobactérias portadoras do gene *bla$_{KPC}$*, a maioria dos pacientes avaliados foram expostos (56,5%) e o teste de

homogeneidade foi significativo (p-valor = 0,021), indicando que o grau de exposição é diferente entre os grupos. Do mesma modo, a submissão dos pacientes à hemodiálise foi avaliada e a maioria dos pacientes (do total) não precisaram passar por este processo (74,2%). Porém, ao avaliar no grupo dos expostos a necessidade de hemodiálise foi em 61,5% dos pacientes, enquanto que no grupo dos não expostos a necessidade foi em apenas 16,3% dos pacientes. O teste de homogeneidade foi significativo (p-valor = 0,002), indicando que existe diferença relevante da necessidade do tratamento hemodialítico entre os grupos.

Para os demais fatores avaliados existiram diferenças, contudo ao realizar o teste de homogeneidade não se mostraram significativos, demonstrando um p-valor > 0,05. Uma avaliação peculiar foi em relação ao uso de aparatos invasivos (SVD, VAM e Cateter Central) que no grupo dos pacientes expostos o uso foi de 92,3% e no grupo dos pacientes não expostos os procedimentos supracitados foram utilizados em 38,8% dos internados. E mesmo sendo encontrada esta diferença do uso dos três aparatos entre os grupos, o teste de homogeneidade não foi significativo (p-valor = 0,061), indicando que estes aparatos utilizados ocorrem de forma semelhante.

Tabela 3. Caracterização da internação hospitalar segundo grupo infectado por enterobactérias em um hospital de Recife-PE.

Fatores avaliados	Total		Grupo avaliado				p-valor
			Expostos		Não expostos		
	n	%	n	%	N	%	
Motivo de internamento							
Cirurgia	5	8,1	1	7,7	4	8,2	
Dispnéia ou afins	14	22,6	2	15,4	12	24,5	
Convulsão	3	4,8	2	15,4	1	2,0	
Paresia	5	8,1	3	23,1	2	4,1	0,068[2]
Algia	16	25,8	2	15,4	14	28,6	
Rebaixamento da consciência	17	27,4	2	15,4	15	30,6	
Diarréia	2	3,2	1	7,7	1	2,0	
Diagnostico							
AVCI	8	10,0	3	23,1	3	6,4	
AVCH	2	3,3	0	0,0	2	4,3	
Neoplasia	6	10,0	1	7,7	5	10,6	
Epilepsia	6	10,0	2	15,4	4	8,5	
Gastroenterite	3	5,0	1	7,7	2	4,3	0,319[2]
Guillain-barré	2	3,3	1	7,7	1	2,1	
IAM	4	6,7	1	7,7	3	6,4	
Hérnia Diafragmática	2	3,3	1	7,7	1	2,1	
Infecção	19	31,7	2	15,4	17	36,2	
Doença pulmonar	10	16,7	1	7,7	9	19,1	
Complicações							
Uma	29	46,8	0	0,0	29	59,2	
Duas	12	19,4	1	7,7	11	22,4	<0,001[2]
Três	7	11,3	4	30,8	3	6,1	
Mais de três	14	22,6	8	61,5	6	12,2	
Tempo de internação							
1 a 7 dias	4	6,5	0	0,0	4	8,2	
8 a 15 dias	3	4,8	0	0,0	3	6,1	
16 a 30 dias	8	12,9	2	15,4	6	12,2	0,601[2]
31 a 90 dias	32	51,6	6	46,2	26	53,1	
91 a 180 dias	13	21,0	4	30,8	9	18,4	
181 a 364 dias	2	3,2	1	7,7	1	2,0	
Exposição a ambientes já infectados por enterobactérias produtoras do gene *bla*$_{KPC}$							
Sim	35	56,5	11	84,6	24	49,0	0,021[1]
Não	27	43,5	2	15,4	25	51,0	
Hemodiálise							
Sim	16	25,8	8	61,5	8	16,3	0,002[2]
Não	46	74,2	5	38,5	41	83,7	
Uso de aparatos invasivos							
Sonda vesical de demora	1	1,6	0	0,0	1	2,0	0,061[2]
Ventilador mecânico	1	1,6	0	0,0	1	2,0	

Cateter Central	3	4,8	0	0,0	3	6,1	
SVD e cateter central	6	9,7	0	0,0	6	12,2	
VAM e cateter central	10	16,1	1	7,7	9	18,4	
SVD, VAM e cateter central	31	50,0	12	92,3	19	38,8	
Não	10	16,1	0	0,0	10	20,4	
Submissão de cirurgia							
Eletiva	5	8,1	1	7,7	4	8,2	0,192[2]
Urgência	41	66,1	6	46,2	35	71,4	
Re-operação	1	1,6	0	0,0	1	2,0	
Não	15	24,2	6	46,2	9	18,4	

[1]p-valor do teste Qui-quadrado para homogeneidade. [2]p-valor do teste Exato de Fisher

Caracterização fisiológica

Verificou-se que a maioria dos pacientes apresentaram comorbidades (78,7%), e que essa elevada prevalência de doenças foi observada tanto no grupo dos expostos (91,7%) quanto no grupo dos não expostos (75,5%) (tabela 5). Dentre as doenças avaliadas, a única mais prevalente foi a hipertensão (73,8%) em ambos os grupos. Na comorbidade diabetes mellitus, 66,7% dos pacientes infectados por enterobactérias portadoras do gene bla_{KPC} possuem tal comorbidade enquanto que no grupo das não portadoras a prevalência da diabetes mellitus foi apenas de 22,4%. O teste de homogeneidade da distribuição das comorbidades entre os grupos foi significativo apenas na diabetes mellitus (p-valor = 0,006), indicando que as demais comorbidades aparecem de forma semelhante entre grupos

Tabela 4. Caracterização fisiológica segundo grupo infectado por enterobactérias em um hospital de Recife-PE.

Fatores avaliados	Total		Grupo avaliado				p-valor
			Expostos		Não expostos		
	n	%	n	%	N	%	
Comorbidades							
Sim	48	78,7	11	91,7	37	75,5	0,432[2]
Não	13	21,3	1	8,3	12	24,5	
Obesidade							
Sim	5	8,2	0	0,0	5	10,2	0,573[2]
Não	56	91,8	12	100,0	44	89,8	
Hipertensão							
Sim	45	73,8	11	91,7	34	69,4	0,156[2]
Não	16	26,2	1	8,3	15	30,6	
Descompensação cardíaca							
Sim	17	27,9	6	50,0	11	22,4	0,076[2]
Não	44	72,1	6	50,0	38	77,6	
Doença arterial							
Sim	6	9,8	2	16,7	4	8,2	0,588[2]
Não	55	90,2	10	83,3	45	91,8	
Diabetes Mellitus							
Sim	19	31,1	8	66,7	11	22,4	0,006[2]
Não	42	68,9	4	33,3	38	77,6	
Doença pulmonar							
Sim	23	37,7	4	33,3	19	38,8	1,000[2]
Não	38	62,3	8	66,7	30	61,2	
Doença renal							
Sim	27	44,3	8	66,7	19	38,8	0,081[1]
Não	34	55,7	4	33,3	30	61,2	
Doença hepática							
Sim	2	3,3	1	9,1	1	2,0	0,336[2]
Não	58	96,7	10	90,9	48	98,0	
Imunossupressão							
Sim	8	12,9	1	7,7	7	14,3	1,000[2]
Não	54	87,1	12	92,3	42	85,7	

[1]p-valor do teste Qui-quadrado para homogeneidade. [2]p-valor do teste Exato de Fisher

Caracterização da infecção

Na avaliação destes fatores, verificou-se que nas co-infecções os bacilos não fermentadores, tiveram uma prevalência maior no grupo dos expostos (69,2%) do que no grupo dos não expostos (30,6%) (tabela 6). E uma vez realizado o teste de homogeneidade (p-valor = 0,011), indicou que a frequência de infecção foi significativa entre os grupos, demonstrando que no grupo dos expostos o risco é aproximadamente duas vezes maior de infecção do que o grupo dos não expostos.

Da mesma forma, ao avaliar se o paciente foi infectado por outra enterobactéria, percebe-se que 100,0% dos pacientes do grupo dos expostos foram infectados, enquanto que no grupo dos não expostos foram apenas 44,9%. O teste de homogeneidade também foi significativo (p-valor <0,001), indicando que a infecção por outra enterobactéria é relevantemente maior no grupo dos expostos.

Para os demais fatores, os testes de homogeneidade não foram significativos indicando que a frequência foi semelhante entre os grupos, demonstrando um p-valor >0,05.

Tabela 5. Caracterização da infecção segundo grupo de infectado por enterobactérias em um hospital de Recife-PE.

Fatores avaliados	Total		Grupo avaliado				p-valor
			Expostos		Não expostos		
	n	%	n	%	n	%	
Espécime clinico do exame							
Sangue	12	19,4	2	15,4	10	20,4	
Urina	27	43,5	4	30,8	23	46,9	
Secreção Traqueal	16	25,8	5	38,5	11	22,4	0,342[2]
Ponta de cateter	4	6,5	2	15,4	2	4,1	
Ferida operatória	3	4,8	0	0,0	3	6,1	
Infecção por Gram +							
Sim	34	54,8	10	76,9	24	49,0	0,072[1]
Não	28	45,2	3	23,1	25	51,0	
Infecção por bacilo não fermentador							
Sim	24	38,7	9	69,2	15	30,6	0,011[1]
Não	38	61,3	4	30,8	34	69,4	
Infecção por outra enterobactéria							
Sim	35	56,5	13	100,0	22	44,9	<0,001[1]
Não	27	43,5	0	0,0	27	55,1	
Infecção por demais microrganismo							
Sim	24	38,7	8	61,5	16	32,7	0,057[1]
Não	38	61,3	5	38,5	33	67,3	

[1]p-valor do teste Qui-quadrado para homogeneidade. [2]p-valor do teste Exato de Fisher

Caracterização da antibioticoterapia utilizada

Observou-se que a frequência de uso de quinolonas, aminoglicosídeos, glicopeptídeos, carbapenêmicos, polimixina e anti-fúngico foi significativamente maior no grupo dos expostos que no grupo dos não expostos. Já para os demais

tratamentos, os antimicrobianos foram utilizados de forma estatisticamente semelhante entre os grupos.

Tabela 6. Caracterização do tratamento segundo grupo infectado por enterobactérias em um hospital de Recife-PE.

Fatores avaliados	Total		Grupo avaliado				p-valor
			Expostos		Não expostos		
	n	%	N	%	n	%	
Uso prévio de antimicrobianos							
Sim	59	95,2	13	100,0	46	93,9	1,000[1]
Não	3	4,8	0	0,0	3	6,1	
Quinolonas							
Sim	21	33,9	10	76,9	11	22,4	<0,001[2]
Não	41	66,1	3	23,1	38	77,6	
Aminoglicosídeo							
Sim	27	43,5	11	84,6	16	32,7	0,001[1]
Não	35	56,5	2	15,4	33	67,3	
Cefalosporina 1º ou 2º geração							
Sim	6	9,7	1	7,7	5	10,2	1,000[2]
Não	56	90,3	12	92,3	44	89,8	
Cefalosporina 3º ou 4º geração							
Sim	29	46,8	3	23,1	26	53,1	0,054[1]
Não	33	53,2	10	76,9	23	46,9	
Penicilinas anti-pseudonomas							
Sim	44	71,0	11	84,6	33	67,3	0,312[2]
Não	18	29,0	2	15,4	16	32,7	
Glicopeptídeos							
Sim	44	71,0	13	100,0	31	63,3	0,013[2]
Não	18	29,0	0	0,0	18	36,7	
Carbapenêmicos							
Sim	46	74,2	13	100,0	33	67,3	0,015[2]
Não	16	25,8	0	0,0	16	32,7	
Polimixina							
Sim	22	35,5	10	76,9	12	24,5	0,001[2]
Não	40	64,5	3	23,1	37	75,5	
Tigeciclina							
Não	62	100,0	13	100,0	49	100,0	-
Anti-fungico							
Sim	31	50,0	10	76,9	21	42,9	0,029[1]
Não	31	50,0	2	23,1	28	57,1	

[1]p-valor do teste Qui-quadrado para homogeneidade. [2]p-valor do teste Exato de Fisher

Caracterização do desfecho clínico

Observou-se que no grupo dos expostos a prevalência do óbito foi de 61,5%, enquanto que no grupo dos não expostos a prevalência do óbito foi de 30,6% (tabela 8). O teste de homogeneidade ficou muito próximo da associação (p-valor = 0,055), indicando uma possível tendência para os óbitos serem mais frequente no primeiro grupo citado.

Para óbitos relacionados à infecção por enterobactérias, verificou-se que o grupo dos expostos apresentaram maior prevalência quando comparado com o grupo dos não expostos (38,5% e 6,1%, respectivamente) e que o teste de homogeneidade foi significativo (p-valor = 0,008), indicando que a infecção causada pela bactéria portadora do gene bla_{KPC} aumenta de forma relevante o risco para morte por infecção, sendo este aumento de quase 6 vezes.

Tabela 7. Caracterização do desfecho clínico segundo grupo infectado por enterobactérias em um hospital de Recife-PE.

Fator avaliados	Total		Grupo avaliado				p-valor
			Expostos		Não expostos		
	n	%	n	%	n	%	
Paciente foi à óbito							
Sim	23	37,1	8	61,5	15	30,6	0,055[1]
Não	39	62,9	5	38,5	34	69,4	
Óbito relacionado à infecção							
Sim	8	12,9	5	38,5	3	6,1	0,008[1]
Não	54	87,1	8	61,5	46	93,9	

[1] p-valor do teste Exato de Fisher

Caracterização dos antimicrobianos utilizados e microrganismos isolados

Verificou-se que a maioria dos pacientes utilizaram quatro ou mais antimicrobianos (77,4%) e que essa alta prevalência também foi encontrada entre os dois grupos (100,0% e 71,4%, respectivamente) (tabela 9). O teste de homogeneidade não foi significativo (p-valor = 0,242), indicando que a distribuição do número de antimicrobianos utilizados foi semelhante.

De forma diferente, quanto aos antimicrobianos que no antibiograma obtiveram um CIM (Concentração Inibitória Mínima) interpretado como resistente, a distribuição entre os grupos não foi equivalente (p-valor = 0,031) (tabela 9). Na realidade, no grupo dos não expostos foi significativamente menor do que o grupo dos expostos. E quanto à utilização destes antimicrobianos com CIM interpretados

como resistentes encontrou-se uma maior prevalência de pacientes que utilizaram quatro ou mais (64,5%), sendo essa alta prevalência também encontrada entre os grupos (100,0% e 55,1%, respectivamente) (tabela 9).

Para o número de microrganismos isolados, no geral, os pacientes apresentaram infecções causadas por quatro ou mais microrganismos diferentes (41,9%), porém, quando analisado os grupos, verificou-se que no grupo dos expostos essa prevalência é de 100,0%, ou seja, todos os pacientes foram infectados por, no mínimo, quatro microrganismos distintos. Enquanto que no grupo dos não expostos a prevalência foi de 30,6% (tabela 9). O teste de homogeneidade foi significativo (p-valor < 0,001), indicando que número de microrganismos isolados é relevantemente menor no grupo dos não expostos.

Os testes significativos sugerem que a quantidade de antimicrobianos resistentes utilizados e a quantidade de microrganismos isolados foram destacados como primordiais.

Tabela 8. Caracterização da quantidade de antimicrobianos utilizados e microrganismos isolados por enterobactérias em um hospital de Recife-PE.

Fatores avaliados	Total		Grupo avaliado				p-valor
			Expostos		Não expostos		
	N	%	n	%	n	%	
Quantidade de antimicrobianos utilizados							
Um	2	3,2	0	0,0	2	4,1	0,242[1]
Dois	6	9,7	0	0,0	6	12,2	
Três	6	9,7	0	0,0	6	12,2	
Quatro ou mais	48	77,4	13	100,0	35	71,4	
Quantidade de antimicrobianos resistentes utilizados							
Um	7	11,3	0	0,0	7	14,3	0,031[1]
Dois	10	16,1	0	0,0	10	20,4	
Três	5	8,1	0	0,0	5	10,2	
Quatro ou mais	40	64,5	13	100,0	27	55,1	
Microrganismos isolados							
Um	15	24,2	0	0,0	15	30,6	<0,001[1]
Dois	8	12,9	0	0,0	8	16,3	
Três	13	21,0	0	0,0	13	26,5	
Quatro ou mais	26	41,9	13	100,0	13	26,5	

[1] p-valor do teste Exato de Fisher

Análise bivariada - Associação do óbito por infecção

Análise dos perfis clínicos e pessoais

Verificou-se maior prevalência de morte por infecção no grupo de pacientes infectados pelo agente *Klebsiella pneumoniae* (22,7%) (tabela 10), porém, o teste de independência não foi significativo (p-valor = 0,347), indicando que o agente da infecção não foi fator determinante para o óbito. Assim como, também não foram determinantes os fatores pessoais para a mortalidade.

Tabela 9. Distribuição do óbito por infecção segundo os perfis clínicos e pessoais por enterobactérias em um hospital de Recife-PE.

Fatores avaliados	Óbito por infecção				p-valor
	Sim		Não		
	n	%	n	%	
Agente					
Klebsiella Pneumoniae	5	22,7	17	77,3	0,347[1]
Proteus Mirabilis	0	0,0	12	100,0	
Serratia marcescens	1	8,3	11	91,7	
E. coli	2	12,5	14	87,5	
Sexo biológico					
Masculino	5	14,7	29	85,3	0,719[1]
Feminino	3	10,7	25	89,3	
Idade					
18 a 39 anos	0	0,0	7	100,0	0,721[1]
40 a 59 anos	2	15,4	11	84,6	
60 anos ou mais	6	14,3	36	85,7	
Tabagismo					
Sim	0	0,0	5	100,0	1,000[1]
Não	5	10,6	42	89,4	

[1]p-valor do teste Exato de Fisher (se p-valor < 0,05 o fator avaliado influencia no óbito por infecção).

Análise da internação hospitalar

Verificou-se que a maior prevalência de morte decorrente da infecção foram em pacientes que estiveram internados por motivo de cirurgia (40,0%), com diagnóstico de AVCI ou gastroenterite (ambos com 33,3%), que apresentaram três complicações (42,9%), com tempo de internação entre 181 a 364 dias (50,0%) com intervenção terapêutica limitada (25,0%), expostos a enterobactérias portadoras do gene bla_{KPC} (20,0%), que foram submetidos à hemodiálise (31,3%), que utilizaram SVD, VAM e cateter central como aparatos invasivos (25,8%) (tabela 11). Mesmo sendo encontrada maior prevalência de óbito por infecção neste grupo descrito, o teste de independência não foi significativo para todos os fatores. Apenas no fator

hemodiálise (p-valor = 0,022), indicando que o fato do paciente fazer hemodiálise aumenta de forma relevante o risco para o óbito por infecção. Ao avaliar a razão de chance observa-se que o grupo de pacientes hemodialítico possuem 3,81 risco a mais (RP = 4,81) de morrer por infecção do que os pacientes que não fizeram hemodiálise.

Tabela 10. Distribuição do óbito por infecção por enterobactérias segundo as características de internação hospitalar.

Fatores avaliados	Óbito por infecção				p-valor
	Sim		Não		
	N	%	n	%	
Motivo de internamento					
Cirurgia	2	40,0	3	60,0	0,120[1]
Dispnéia ou afins	1	7,1	13	92,9	
Convulsão	1	33,3	2	66,7	
Paresia	1	20,0	4	80,0	
Algia	0	0,0	16	100,0	
Rebaixamento da consciência	3	17,6	14	82,4	
Diarréia	0	0,0	2	100,0	
Diagnostico					
AVCI	2	33,3	4	66,7	0,802[1]
AVCH	0	0,0	2	100,0	
Neoplasia	0	0,0	6	100,0	
Epilepsia	1	16,7	5	83,3	
Gastroenterite	1	33,3	2	66,7	
Guillain-barré	0	0,0	2	100,0	
IAM	0	0,0	4	100,0	
Hérnia Diafragmática	0	0,0	2	100,0	
Infecção	3	15,8	16	84,2	
Doença pulmonar	1	10,0	9	90,0	
Complicações					
Uma	2	6,9	27	93,1	0,092[1]
Duas	1	8,3	11	91,7	
Três	3	42,9	4	57,1	
Mais de três	2	14,3	12	85,7	
Tempo de internação					
1 a 7 dias	0	0,0	4	100,0	0,511[1]
8 a 15 dias	0	0,0	3	100,0	
16 a 30 dias	0	0,0	8	100,0	
31 a 90 dias	5	15,6	27	84,4	
91 a 180 dias	2	15,4	11	84,6	
181 a 364 dias	1	50,0	1	50,0	
Intervenção terapêutica limitada					
Sim	5	25,0	15	75,0	0,098[1]
Não	3	7,1	39	92,9	

Exposição ao KpKPC					
Sim	7	20,0	28	80,0	0,123[1]
Não	1	3,7	26	96,3	
Hemodiálise					
Sim	5	31,3	11	68,8	0,022[1]
Não	3	6,5	43	93,5	
Uso de aparatos invasivos					
Sonda vesical de demora	0	0,0	1	100,0	
Ventilador mecânico	0	0,0	1	100,0	
Cateter Central	0	0,0	3	100,0	
SVD e cateter central	0	0,0	6	100,0	0,245[1]
VAM e cateter central	0	0,0	10	100,0	
SVD, VAM e cateter central	8	25,8	23	74,2	
Não	0	0,0	10	100,0	

[1]p-valor do teste Exato de Fisher (se p-valor < 0,05 o fator avaliado influencia no óbito por infecção).

Análise das características fisiológicas

Verificou-se maior prevalência de óbitos em pacientes que possuem comorbidades (16,7%), porém, a única doença que aumenta de forma significativa o risco para óbito por infecção é a diabetes mellitus (p-valor = 0,009) na qual se observou que 31,6% dos pacientes que possuem esta comorbidade sofreram óbito por infecção, de encontro aos 4,8% dos pacientes que não possuem esta comorbidade e apresentaram óbito por infecção (tabela 12). Nas demais comorbidades o teste de independência não foi significativo (p-valor maior do que 0,05 em todos os fatores), indicando que não são fatores determinantes para o aumento do risco para o óbito por infecção. Ainda, ao avaliar a razão de prevalência observa-se que os pacientes diabéticos possuem 5,58 (RP = 6,58) mais risco de morrer por infecção do que o grupo de pacientes não diabéticos.

Tabela 11. Distribuição do óbito por infecção por enterobactérias em um hospital de Recife-PE segundo as características fisiológicas

Fatores avaliados	Óbito por infecção				p-valor
	Sim		Não		
	n	%	n	%	
Comorbidades					
Sim	8	16,7	40	83,3	0,184[1]
Não	0	0,0	13	100,0	
Obesidade					
Sim	1	20,0	4	80,0	0,518
Não	7	12,5	49	87,5	
Hipertensão					
Sim	8	17,8	37	82,2	0,097
Não	0	0,0	16	100,0	
Descompensação cardíaca					
Sim	4	23,5	13	76,5	0,202[1]
Não	4	9,1	40	90,9	
Doença arterial					
Sim	0	0,0	6	100,0	1,000[1]
Não	8	14,5	47	85,5	
Diabetes Mellitus					
Sim	6	31,6	13	68,4	0,009[1]
Não	2	4,8	40	95,2	
Doença pulmonar					
Sim	4	17,4	19	82,6	0,461[1]
Não	4	10,5	34	89,5	
Doença renal					
Sim	6	22,2	21	77,8	0,123[1]
Não	2	5,9	32	94,1	
Doença hepática					
Sim	0	0,0	2	100,0	1,000[1]
Não	8	13,8	50	86,2	
Imunossupressão					
Sim	0	0,0	8	100,0	0,581[1]
Não	8	14,8	46	85,2	

[1]p-valor do teste Exato de Fisher (se p-valor < 0,05 o fator avaliado influencia no óbito por infecção).

Análise da infecção

Verificou-se que apenas a infecção por outra enterobactéria e infecção por demais microrganismos foram fatores significativos para o aumento do risco de óbito por infecção (p-valor = 0,008 e 0,047, respectivamente) (tabela 13). Dos pacientes que foram infectados por outra enterobactéria 22,9% chegaram ao óbito enquanto que dos pacientes que não foram contaminados por outra enterobactéria nenhum chegou ao óbito. Já nos pacientes infectados por demais microrganismos a prevalência de óbito por infecção foi de 25,0% enquanto que no grupo de pacientes

que não foram infectados por demais microrganismos a prevalência de óbito por infecção foi de apenas 5,3%. Ao comparar o risco, observou-se que o grupo de pacientes que foram infectados por demais microrganismos apresentam 3,72 (RP = 4,72) risco a mais de morrer por infecção do que o grupo de pacientes que não foram infectados por demais microrganismos.

Tabela 12. Distribuição do óbito por infecção por enterobactérias em um hospital de Recife-PE segundo as características da infecção.

Fatores avaliados	Óbito por infecção				p-valor
	Sim		Não		
	n	%	n	%	
Espécime clínico do exame					
Sangue	3	25,0	9	75,0	
Urina	3	11,1	24	88,9	
Secreção Traqueal	2	12,5	14	87,5	0,752[1]
Ponta de cateter	0	0,0	4	100,0	
Ferida operatória	0	0,0	3	100,0	
Infecção por Gram +					
Sim	6	17,6	28	82,4	0,276[1]
Não	2	7,1	26	92,9	
Infecção por bacilo não fermentador					
Sim	5	20,8	19	79,2	0,242[1]
Não	3	7,9	35	92,1	
Infecção por outra enterobactéria					
Sim	8	22,9	27	77,1	0,008[1]
Não	0	0,0	27	100,0	
Infecção por demais microrganismo					
Sim	6	25,0	18	75,0	0,047[1]
Não	2	5,3	36	94,7	

[1]p-valor do teste Exato de Fisher (se p-valor < 0,05 o fator avaliado influencia no óbito por infecção).

Análise da antibioticoterapia utilizada

Verificou-se que os aminoglicosídeos e a polimixina foram os únicos antimicrobianos que apresentaram associação significante com o óbito por infecção (p-valor = 0,017 e 0,019, respectivamente). No grupo de pacientes que utilizou algum aminoglicosídeo a prevalência de óbito por infecção foi de 25,9%, enquanto que o grupo de pacientes que não utilizaram a prevalência do óbito por infecção foi de 2,9%. Para a poliximina foi encontrado resultado semelhante. No grupo de pacientes que utilizou este medicamento a prevalência de óbito por infecção foi de

27,3% e no grupo de pacientes que não utilizou a prevalência foi de 5,0%. Ao comparar os riscos de óbito por infecção, observou-se que o grupo de pacientes que utilizou aminoglicosídeos e polimixina o risco de óbito por infecção aumentou em 7,93 (RP=8,93) e 4,46 (5,46).

Tabela 13. Distribuição do óbito por infecção por enterobactérias em um hospital de Recife-PE segundo as características da antibioticoterapia utilizada

Fatores avaliados	Óbito por infecção				p-valor
	Sim		Não		
	n	%	n	%	
Uso prévio de antimicrobianos					
Sim	8	13,6	51	86,4	1,000[1]
Não	0	0,0	3	100,0	
Quinolomas					
Sim	5	23,8	16	76,2	0,107[1]
Não	3	7,3	38	92,7	
Aminoglicosídeo					
Sim	7	25,9	20	74,1	0,017[1]
Não	1	2,9	34	97,1	
Cefalospina 1º ou 2º geração					
Sim	1	16,7	5	83,3	0,580[1]
Não	7	12,5	49	87,5	
Cefalospina 3º ou 4º geração					
Sim	2	6,9	27	93,1	0,264[1]
Não	6	18,2	27	81,8	
Penicilinas anti-pseudonomas					
Sim	7	15,9	37	84,1	0,418[1]
Não	1	5,6	17	94,4	
Glicopeptídeos					
Sim	8	18,2	36	81,8	0,092[1]
Não	0	0,0	18	100,0	
Carbapenêmicos					
Sim	8	17,4	38	82,6	0,099[1]
Não	0	0,0	16	100,0	
Polimixina					
Sim	6	27,3	16	72,7	0,019[1]
Não	2	5,0	38	95,0	
Tigeciclina					
Não	8	12,9	54	87,1	-
Anti-fungico					
Sim	7	22,6	24	77,4	0,053[1]
Não	1	3,2	30	96,8	

[1]p-valor do teste Exato de Fisher (se p-valor < 0,05 o fator avaliado influencia no óbito por infecção).

Análise dos antimicrobianos utilizados e microrganismos isolados

Verificou-se uma maior prevalência de óbitos por infecção no grupo de pacientes que utilizaram quatro ou mais antimicrobianos (16,7%), sendo três destes resistentes (20,0%) e que tiveram quatro ou mais microrganismos isolados (26,9%) (tabela 15). Mesmo sendo encontrada maior prevalência nestes grupos descritos o teste de independência não foi significativo (p-valor foi maior do que 0,05 em todos os fatores), indicando que a prevalência de óbito por infecção é semelhante em todos os fatores avaliados.

Tabela 14. Distribuição do óbito por infecção por enterobactérias em um hospital de Recife-PE segundo os antimicrobianos utilizados e microrganismos isolados

Fatores avaliados	Óbito por infecção				p-valor
	Sim		Não		
	N	%	n	%	
Quantidade de antimicrobianos utilizados					
Um	0	0,0	2	100,0	0,608[1]
Dois	0	0,0	6	100,0	
Três	0	0,0	6	100,0	
Quatro ou mais	8	16,7	40	83,3	
Quantidade de antimicrobianos resistentes utilizados					
Um	0	0,0	7	100,0	0,791[1]
Dois	1	10,0	9	90,0	
Três	1	20,0	4	80,0	
Quatro ou mais	6	15,0	34	85,0	
Microrganismos isolados					
Um	0	0,0	15	100,0	0,054[1]
Dois	0	0,0	8	100,0	
Três	1	7,7	12	92,3	
Quatro ou mais	7	26,9	19	73,1	

[1]p-valor do teste Exato de Fisher (se p-valor < 0,05 o fator avaliado influencia no óbito por infecção).

Análise da resistência das enterobactérias aos antimicrobianos avaliados in vitro

Verificou-se que o grupo dos pacientes expostos apresentou maior prevalência de resistência em todos os antimicrobianos avaliados, porém, tal diferença foi significativa apenas nos antimicrobianos: pipe/tazo, cefoxitina, ceftazidima, ceftriaxona, cefepima, imipenem, meropenem e amicacina. Nos demais

antimicrobianos a prevalência de resistência é semelhante entre os grupos (APÊNDICE – tabela 16).

Ainda no grupo dos pacientes expostos, dentre os antimicrobianos que obtiveram prevalência significativa, apenas no MEROPENEM e na AMICACINA foram relevantes, quando avaliados separadamente (APÊNDICE – tabela 17).

Discussão

Estudos realizados em outros países, ao longo dos últimos 10 anos, apontaram de forma correspondente, que a idade, a permanência em Unidades de Terapia Intensiva, infecções do trato respiratório de caráter hospitalar e o uso de sondas são os preditores principais para o aumento do risco de mortalidade. Outros autores ainda apontaram o uso de carbapenêmicos, quinolonas, como os antimicrobianos cujo uso desmedido aumenta os riscos de mortalidade (FALAGAS et. al., 2007; PATEL et al., 2014; DAUTZENBERG et al., 2015; GONZALES et al., 2015; GARBATI et al., 2016).

A maioria dos estudos referentes às análises dos fatores de risco para mortalidade são em grandes centros hospitalares e apresentam a limitação de não conseguir sobrepujar os resultados para outras realidades (GARBATI et al., 2016; KONTOPIDOU et al. 2013). Tal fato demonstra que cada região pode apresentar preditores não previstos em outros estudos.

Apenas um procedimento invasivo foi apontado como significativo para o aumento dos riscos acerca do desfecho mortalidade no presente estudo, a hemodiálise. O que diverge dos demais estudos realizados que indicam dois ou mais fatores e poucos apontam a hemodiálise especificamente. Em 2016, Garbati et al., mostrou em seu estudo que para procedimentos invasivos a diálise, a ventilação mecânica e o uso de sonda vesical são os fatores significativos diante do desfecho mortalidade (GARBATI et al., 2016). Os estudos realizados aqui no Brasil apontam aparatos afins, o cateter urinário e o uso de cateter venoso central. (GARBATI et al., 2016; SUPPERTI et al. 2009; TUON et al. 2012).

Poucos artigos publicados apontam alguma comorbidade como sendo relevante para o desfecho, mas os que definem mostram que doenças cardiovasculares e renais são as principais. O que não difere em total deste estudo, visto que, para que os pacientes se submetam a hemodiálise precisam ter doença

renal grave, mas tal comorbidade isoladamente não foi expressiva no teste estatístico demonstrado. A comorbidade apresentada foi a Diabetes Mellitus e esta mesma foi apontada em alguns artigos publicados em centros hospitalares no Brasil, em anos anteriores. (TUON et al. 2012; ALVES et al. 2013)

Os dias de internação, a permanência em Unidades de Terapia Intensiva, idade e submissão a cirurgias estatisticamente foram fatores de risco significativos relativo ao desfecho mortalidade em artigos nacionais e internacionais, mas no presente estudo esta análise não foi significativa (GARBATI et al., 2016; KONTOPIDOU et al. 2013; SUPPERTI et al. 2009; TUON et al. 2012; ALVES et al. 2013). Apontados como relevantes neste estudo foram as co-infecções por outras enterobactérias e microrganismos gram positivos. Estes preditores não foram apontados em estudos similares, o que abre um precedente importante para discussão peculiar da região estudada, pois foi determinado que neste estudo o risco de mortalidade foi aumentado cerca de 3 vezes. Para pacientes que foram infectados por bactérias com indícios de resistência e portadoras do gene bla_{KPC} o cuidado deve ser primordial na assistência, a fim de diminuir a possibilidade dessas co-infecções. Um dos motivos importantes para analisar este fator de risco como precípuo são os tratamentos planejados direcionados aos pacientes infectados por bactérias resistentes e as altas taxas de falhas terapêuticas observadas (LIMA; ANDRADE; HAAS, 2007; KONTOPIDOU et al., 2014). E somado a este fato, estão as restrições das opções de antimicrobianos efetivos diante dos diversos genes de resistência adquiridos pelos microrganismos.

Outro fator de risco importante indicado em vários estudos foi o uso de antimicrobianos e principalmente determinadas classes. Contudo, quais antimicrobianos se mostraram preditores mudam de análise para análise. As classes das quinolonas foram apontadas como as mais utilizadas em muitos estudos internacionais, contudo no Brasil, esta classe pouco se mostrou significativa como fator de risco. Desta mesma forma, acontece com os carbapenêmicos. Uma análise importante foi estudos nacionais apontarem a piperacilina/tazobactam como sendo umas das classes mais prevalentes significativamente para a contribuição do desfecho mortalidade e o presente estudo não apresentar consonância neste aspecto. Apontando o uso de polimixina e amicacina como os fatores de risco principais, aumentando em quase 8 e 5 vezes, respectivamente, a chance de

mortalidade em relação a quem esteve infectado por enterobactéria portadora do gene bla_{KPC} e não fez uso destes antimicrobianos.

Este fato vai de encontro a sugestão preconizada pela ANVISA para tratar pacientes infectados por bactérias MDR. Contudo, o presente estudo demonstra que deve ser levado em consideração as condições clínicas dos pacientes, o prognóstico e se houve ou não co-infecções no período tratado para que haja a decisão médica acerca da forma de tratamento. Deste modo, o presente estudo expõe essas condições clínicas como a comorbidade Diabetes Mellitus e a necessidade de lançar mão da hemodiálise. Já para as co-infecções foram as ocasionadas por outras enterobactérias ou demais microrganismos.

Outra particularidade deste estudo foram as análises estatísticas de uso de antimicrobianos em infecções ocasionadas por enterobactérias portadoras do gene bla_{KPC} interpretados como resistentes pelo antibiograma. Os antimicrobianos significativos foram a amicacina e o meropenem. O resultado do antibiograma é levado em consideração para a tomada a decisão clínica médica e este resultado estatisticamente relevante, demonstra que deve ser levado em consideração um fator a mais além dos já preconizados.

Os fatores apresentados como divergentes dos artigos já publicados denotam a especificidade dos resultados, favorecendo uma análise mais peculiar da região estudada. O fato de a hemodiálise ser preditor e os antimicrobianos polimixina e amicacina também, deixa em aberto uma possibilidade de correlacionar uma análise de disfunção renal, visto que estes medicamentos são altamente nefrotóxicos (FANOS et al., 2008; SIEW et al., 2011) . A Diabetes Mellitus dependendo do nível, causa também danos renais por excesso de glicose na urina, este fato abre mais precedente para correlação com a diálise (MOREIRA et al., 2008).

Em conclusão, cuidados devem ser tomados acerca da preservação a função renal e assim evitar processos hemodialíticos futuros, deve-se também usar de forma racional os antimicrobianos, principalmente os utilizados para bactérias MDR. Deve-se também evitar a exposição dos pacientes infectados a ambientes limpos, uma vez que foi demonstrado que infecções ocasionadas por enterobactérias portadora do gene bla_{KPC} aumentam de forma relevante o risco para morte por infecção, sendo este aumento de quase 6 vezes.

Como discutido acima existem alguns relatos na literatura similares aos apresentados neste estudo, no que diz respeito aos preditores de mortalidade, porém não estão em total consonância. O fato dos antimicrobianos não serem os mesmos apresentados na maioria dos artigos publicados faz deste estudo um dos pioneiros na região, estimula um princípio de mudança de hábitos nas prescrições dos antimicrobianos por parte dos médicos e requer uma atenção farmacoterapêutica mais eficiente, além de fortalecer o trabalho da equipe de profissionais responsáveis pelo paciente.

Somado ao citado acima, existe ainda um alerta para a importância da higienização das mãos, limitando a transmissão das resistências bacterianas nas instalações de saúde e entre os pacientes, a educação continuada e uma vigilância reforçada na efetividade dos antimicrobianos acerca do microrganismo isolado. Este último, por sua vez requer acompanhamento ideal a fim de otimizar os resultados clínicos.

APÊNDICES

Tabela 15. Prevalência de resistência das enterobactérias aos antimicrobianos avaliados, segundo o grupo de pacientes avaliados.

Antimicrobiano	Grupo avaliado		p-valor
	Expostos (n = 13)	Não expostos (n = 49)	
AMP	9(69,2%)	35(71,4%)	0,851
AMP/SULBA	9(69,2%)	24(49,0%)	0,193
PIPE/TAZO	7(53,8%)	9(18,4%)	0,025
CEFOXITINA	13(100,0%)	25(51,0%)	0,001
CEFTAZIDIMA	13(100,0%)	22(44,9%)	0,001
CEFTRIAXONA	13(100,0%)	23(46,9%)	0,001
CEFEPIMA	13(100,0%)	20(40,8%)	<0,001
IMIPENEM	5(38,5%)	1(2,0%)	<0,001
MEROPENEM	13(100,0%)	3(6,1%)	<0,001
AMICACINA	7(53,8%)	2(4,1%)	<0,001
GENTAMICINA	3(23,1%)	6(12,2%)	0,587
CIPROFLOXACINO	7(53,8%)	18(36,7%)	0,264
COLISTINA	1(7,7%)	1(2,0%)	-
TRIMSULFA	3(23,1%)	1(2,0%)	-

LEVOFLOXACINO	2(15,4%)	0(0,0%)	-
TOBRAMICINA	2(15,4%)	0(0,0%)	-

Tabela 16. Prevalência de uso dos antimicrobianos, segundo o grupo avaliado.

Antimicrobiano	**Grupo avaliado**		**p-valor**
	Expostos (n=13)	**Não expostos (n=49)**	
PIPE/TAZO	10(83,3%)	32(65,3%)	0,315
CEFTAZIDIMA	0(0,0%)	8(16,3%)	-
CEFTRIAXONA	3(23,1%)	21(42,9%)	0,193
MEROPENEM	13(100,0%)	31(63,3%)	0,024
AMICACINA	11(84,6%)	12(24,5%)	0,001

Referências

1. ALVES, A. P.; BEHAR, P. R. P. Infecções hospitalares por enterobactérias produtoras de Kpc em um hospital terciário do sul do Brasil. **Revista da AMRIGS, Porto Alegre, 57 (3): 213-218, jul.-set. 2013**, v. 57, n. 3, p. 213–218, 2013.
2. AQUINO, D. S. DE. Por que o uso racional de medicamentos deve ser uma prioridade? **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 13, p. 733–736, 2008.
3. BART, Y. et al**.** Risk Factors for Recurrence of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Carriage : Case-Control Study **Infection Control & Hospital Epidemiology**. n. May, 2015.
4. CABRAL, A. B. et al. Detection of bla KPC-2 in Proteus mirabilis in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** v. 48, n. 1, p. 94–95, 2015.
5. CABRAL, A. B. et al. Clonal spread and accumulation of b -lactam resistance determinants in Enterobacter aerogenes and Enterobacter cloacae complex isolates from infection and colonization in patients at a public hospital in Recife, Pernambuco, Brazil. **Journal of Medical Microbiology** p. 1–8, 2017.
6. CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 20th Informational Supplement M100-S20-U. Wayne, PA, USA: **CLSI**, 2016.
7. DA SILVA, R. M.; TRAEBERT, J.; GALATO, D. Klebsiella pneumoniae carbapenemase (KPC)-producing Klebsiella pneumoniae: a review of epidemiological and clinical aspects. **Expert opinion on biological therapy**, v. 12, n. 6, p. 663–71, 2012.
8. FALAGAS, M. E. et al. Risk factors of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae infections: A matched case - Control study. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 60, n. 5, p. 1124–1130, 2007.
9. FANOS, V., Cuzzolin, L. (2008). Causes and manifestations of nephrotoxicity. **Comprehensive Pediatric Nephrology,** pp 1003-1016. Fontana.
10. GARBATI, M. A.; SAKKIJHA, H.; ABUSHAHEEN, A. Infections due to Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae among Saudi Arabian Hospitalized Patients : A Matched Case-Control Study. **BioMed Research Internationa**l v. 2016, 2016.

11. KONTOPIDOU, F. et al. Infections caused by carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae among patients in intensive care units in Greece: A multi-centre study on clinical outcome and therapeutic options. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 20, n. 2, p. O117–O123, 2014.
12. LIMA, M. E.; ANDRADE, D. DE; HAAS, V. J. Avaliação prospectiva da ocorrência de infecção em pacientes críticos de unidade de terapia intensiva. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 19, p. 342–347, 2007.
13. MARGATE E. , VERA MAGALHÃES, LORENA CRISTINA CORRÊA FEHLBERG, A. C. G. & A. C. S. L. KPC-PRODUCING Serratia marcescens IN A HOME-CARE PATIENT FROM RECIFE , BRAZIL. **Rev. Inst. Med. Trop.** Sao Paulo v. 57, n. 4, p. 359–360, 2015.
14. MONTEIRO, J. et al. First report of KPC-2-producing Klebsiella pneumoniae strains in Brazil. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 1, p. 333–334, 2009.
15. MOREIRA, H. G. et al. Diabetes mellitus , hipertensão arterial e doença renal crônica : estratégias terapêuticas e suas limitações. **Rev Bras Hipertens** v. 15, n. 2, p. 111–116, 2008.
16. PATEL, OLIVEIRA, ZHOU, ET AL. Risk factors and Outcomes of Infections Caused by Extremely Drug-Resistant Gram-Negative Bacilli in Patients Hospitalized in Intensive Care Units. **Am J Infect Control**, n. 2, p. 626–631, 2015.
17. POLLETT, S. et al. Phenotypic and molecular characteristics of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in a health care system in Los Angeles, California, from 2011 to 2013. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 52, n. 11, p. 4003–4009, 2014.
18. REULAND E.. A , N. AL NAIEMI1–3, A. M. KAISER1, M. HECK4, J. A. J.W. KLUYTMANS1, 5, 6, P. H. M. SAVELKOUL1, P. J. M. E. AND C. M. J. E. V.-G. Prevalence and risk factors for carriage of ESBL-producing Enterobacteriaceae in Amsterdam. **J Antimicrob Chemother** n. January, p. 1076–1082, 2016.
19. SAHIN, K. et al. Evaluation of carbapenem resistance using phenotypic and genotypic techniques in Enterobacteriaceae isolates. **Annals of clinical microbiology and antimicrobials**, v. 14, n. 1, p. 44, 2015.

20. SEIBERT, G. et al. Nosocomial infections by Klebsiella pneumoniae carbapenemase producing enterobacteria in a teaching hospital. **Einstein (Sao Paulo)**, v. 12, n. 3, p. 282–286, 2014.
21. SCHWABER, M. J. et al. Predictors of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae acquisition anions hospitalized adults and effect of acquisition on mortality. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 52, n. 3, p. 1028–1033, 2008.
22. SUPERTI, S. V; AUGUSTI, G.; ZAVASCKI, A. P. Risk factors for and mortality of extended-spectrum-beta-lactamase-producing Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli nosocomial bloodstream infections. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 51, n. 4, p. 211–216, 2009.
23. SIEW, E., Ware, L., Ikizler, T. (2011). Biological markers of acute kidney injury. **J Am Soc Nephrol,** 22, pp 810-820. Sousa
24. TUON, F. F. et al. Risk factors for KPC-producing Klebsiella pneumoniae bacteremia. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 16, n. 5, p. 416–419, 2012.
25. WANG, Q. et al. Risk factors and clinical outcomes for carbapenem-resistant Enterobacteriaceae nosocomial infections. **Eur J ClinMicrobiol Infect disceases.** 2016.

6 CONCLUSÃO

A associação entre a mortalidade dos pacientes e os fatores de risco foram verificadas e nenhum fator biológico foi significativo, apenas um fisiológico que foi a comorbidade Diabetes Mellitus e dois fatores de risco de hospitalização sendo demonstrado pela hemodiálise e o uso dos antimicrobianos polimixina e amicacina. O fato de a hemodiálise ser preditor e os antimicrobianos polimixina e amicacina também, deixa em aberto uma possibilidade de correlacionar uma análise de disfunção renal, deixando claro a necessidade de tomar os cuidados devidos acerca da preservação das atividades renais, evistando o uso desnecessário de antimicrobianos, principalmente os nefrotóxicos.

Nas situações em que os pacientes infectados por enterobactérias portadora do gene bla_{KPC} tiveram o desfecho óbito correlacionado diretamente a infecção foi demonstrado que o risco de morte aumenta de forma relevante, sendo este aumento de quase 6 vezes. Este dado demonstrado leva-se a entender que deve-se evitar a exposição dos pacientes infectados a lugares de isolamento, previnindo a disseminação e contaminação. Alertando desta forma, para a importância da higienização das mãos, limitando a transmissão das resistências bacterianas nas instalações de saúde e entre os pacientes.

De forma geral, os dados apresentados reforçam a importância de um acompanhamento ideal para os pacientes infectados por enterobactérias portadora do gene bla_{KPC}. Principalmente, para os pacientes que apresentem ou que tenham potencial de apresentar os fatores de risco significativos a fim de otimizar os resultados clínicos.

REFERÊNCIAS

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Nota Técnica nº01/2013. Medidas de Prevenção e Controle de Infecções por Enterobactérias Multirresistentes**. Brasília, 17 de abril de 2013.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Critérios Diagnósticos de Infecção Relacionadas à Assistência à Saúde.** Brasília. 1ª Edição. 2013

ALMEIDA, A. C. S. *et al.* **Escherichia coli ST502 and Klebsiella pneumoniae ST11 sharing an IncW plasmid harbouring the bla(KPC-2) gene in an Intensive Care Unit patient***.* *International journal of antimicrobial agents,* Amsterdam, v. 40, n. 4, p. 374-376, Out 2012b.

ALVES, A. P.; BEHAR, P. R. P. Infecções hospitalares por enterobactérias produtoras de Kpc em um hospital terciário do sul do Brasil. **Revista da AMRIGS, Porto Alegre, 57 (3): 213-218, jul.-set. 2013**, v. 57, n. 3, p. 213–218, 2013.

AMBRETTI S., Gaibani P., Caroli F., Miragliotta L., Sambri V. **A carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae isolate harboring KPC-1 from Italy.** *New Microbiol.* 2010 –Jul; 33 (3):281-2.

AQUINO, D. S. DE. Por que o uso racional de medicamentos deve ser uma prioridade? **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 13, p. 733–736, 2008.

BART, Y. et al**.** Risk Factors for Recurrence of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Carriage : Case-Control Study **Infection Control & Hospital Epidemiology**. n. May, 2015.

BEIRÃO E. M., Furtado J. J. D. et. al. **Clinical and microbiological characterization of KPC-producing Klebsiella pneumoniae infections in Brazil**. *Braz J Infect Dis 2011; 15(1):69-73*

BERGER, J. et al. A matched prospective cohort study on Staphylococcus aureus and Escherichia coli bloodstream infections : Extended perspectives beyond resistance. **American Journal of Infection Control**, v. 38, n. 10, p. 839–845, [s.d.].

BORGES, A. et al. Microbial Pathogenesis Occurrence and analysis of irp2 virulence gene in isolates of Klebsiella pneumoniae and Enterobacter spp . from microbiota and hospital and community-acquired infections. v. 96, p. 15–19, 2016.

BUSH, K.; JACOBY, G. A. MINIREVIEW Updated Functional Classification of ℓ -Lactamases . v. 54, n. 3, p. 969–976, 2010.

CABRAL A. B., MELO R. C. A., MACIEL M. A. V., LOPES A. C. S. **Multidrug resistance genes, including *bla*$_{KPC}$ and *bla*$_{CTX-M-2}$, among *Klebsiella pneumoniae* isolated in Recife, Brazil.** *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 45(5):, Sep-Oct, 2012.

CABRAL, A. B. et al. Detection of bla KPC-2 in Proteus mirabilis in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** v. 48, n. 1, p. 94–95, 2015.

CABRAL, A. B. et al. Clonal spread and accumulation of b -lactam resistance determinants in Enterobacter aerogenes and Enterobacter cloacae complex isolates from infection and colonization in patients at a public hospital in Recife, Pernambuco, Brazil. **Journal of Medical Microbiology** p. 1–8, 2017.

CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 20th Informational Supplement M100-S20-U. Wayne, PA, USA: **CLSI**, 2016.

DA SILVA, R. M.; TRAEBERT, J.; GALATO, D. Klebsiella pneumoniae carbapenemase (KPC)-producing Klebsiella pneumoniae: a review of epidemiological and clinical aspects. **Expert opinion on biological therapy**, v. 12, n. 6, p. 663–71, 2012.

ENDIMIANI A., DEPASQUALE J. M., et. al. **Emergence of blaKPC-containing Klebsiella pneumoniae in a long-term acute care hospital: a new challenge to our healthcare system.** *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (2009) 64, 1102–1110

FALAGAS, M. E. et al. Risk factors of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae infections: A matched case - Control study. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 60, n. 5, p. 1124–1130, 2007.

FIO F. S., FILHO T. R. M., GROPPO F. C. **Resistência Bacteriana.** *Revista Brasileira de Medicina*. Brasil, v. 57, n.10, p. 1129-1140, 2000.

HU, Y. et al. Original Article A retrospective study of risk factors for carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae acquisition among ICU patients. **J Infect Dev Ctries.** 2016.

JAROS, P. et al. A prospective case – control and molecular epidemiological study of human cases of Shiga toxin-producing Escherichia coli in New Zealand. **BMC Infectious Diseases.** 2013.

JÁCOME, P. R. L. D. A. *et al*. **First report of KPC-producing Pseudomonas aeruginosa in Brazil.** *Antimicrobial agents and chemotherapy,* Washington, v. 56, n. 9, p. 4990, Set 2012.

KONTOPIDOU, F. et al. Infections caused by carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae among patients in intensive care units in Greece: A multi-centre study on clinical outcome and therapeutic options. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 20, n. 2, p. O117–O123, 2014.

KORYTNY, A. et al. Bloodstream infections caused by multi-drug resistant Proteus mirabilis : Epidemiology , risk factors and impact of multi-drug resistance. v. 4235, n. January, 2016.

LIMA, M. E.; ANDRADE, D. DE; HAAS, V. J. Avaliação prospectiva da ocorrência de infecção em pacientes críticos de unidade de terapia intensiva. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 19, p. 342–347, 2007.

LOUREIRO, N. G. **Klebsiella produtora de KPC: Epidemiologia, Fatores de Risco para aquisição e influência na mortalidade por infecção em pacientes internados em hospitais públicos de Recife/PE- Brasil.** Recife; 2012 [*Dissertação: Mestrado-Universidade Federal de Pernambuco – Departamento de Pós-graduação em Medicina Tropical*].

MARRA AR. **Análise dos fatores de risco relacionados à letalidade das infecções da corrente sanguínea hospitalares por *Klebsiella pneumoniae.*** São Paulo; 2002 [*Dissertação: Mestrado-Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina*].

MARGATE E. , VERA MAGALHÃES, LORENA CRISTINA CORRÊA FEHLBERG, A. C. G. & A. C. S. L. KPC-PRODUCING Serratia marcescens IN A HOME-CARE PATIENT FROM RECIFE , BRAZIL. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo v. 57, n. 4, p. 359–360, 2015.

MELO R. C. A, BARROS E. M. R., LOUREIRO N. G., MELO H. R. L. et al. **Presence of fimH, mrkD, and irp2 Virulence Genes in KPC-2-Producing**

***Klebsiella pneumoniae* Isolates in RecifePE, Brazil.** *Curr Microbiol Online.* Springer Science+Business Media New York 2014.

MENDES R. E., Castanheira M., Pignatari A. C. C., Gales A. C. **Metallo-ß-lactamases**. *J Bras Patol Med Lab* • v. 42 • n. 2 • p. 103-113 • abril 2006.

MEYER G., Picoli S. U. **Fenótipos de betalactamases em Klebsiella pneumoniae de hospital de emergência em Porto Alegre.** *J Bras Patol Med Lab* • v. 47 • n. 1 • p. 25-31 • fevereiro 2011.

MONTEIRO, J. et al. First report of KPC-2-producing Klebsiella pneumoniae strains in Brazil. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 1, p. 333–334, 2009.

NAAS T., Nordmann P., Vedel G., Poyart C. **Plasmid-mediated carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase KOC in a Klebsiella pneumoniae isolate from France.** *Antimicrob Agents Chemother.* 2005. 49:4423-4424.

NORDMANN P., Cuzon G., Nass T. **The real threat of Klebsiella pneumoniae carbapenemase-producing bacteria.** *Lancet Infect Dis.* 2009. 9:228.

OSTROWSKY BE, Whitener C, Bredenberg HK, et al. Serratia mar- cescens bacteremia traced to an infused narcotic. **N Engl J Med** 2002;346:1529e1537.

PATEL G., Huprikar S., Factor S. H., et. al**. Outcomes of Carbapenem-Resistant Klebsiella pneumoniae infection and the impact of antimicrobial and adjuntive therapies.** *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2008; 29 (12): 1099-1106.

PATEL, OLIVEIRA, ZHOU, ET AL. Risk factors and Outcomes of Infections Caused by Extremely Drug-Resistant Gram-Negative Bacilli in Patients Hospitalized in Intensive Care Units. **Am J Infect Control**, n. 2, p. 626–631, 2015.

PATERSON, D. L., and R. A. Bonomo. 2005. Extended-spectrum beta-lacta-mases: a clinical update. **Clin. Microbiol**. Rev. 18:657–686

PEREIRA, P. S. Caracterização molecular de Klebsiella pneumoniae produtoras de carbapenemases do tipo KPC-2, NDM-1 e OXA-370 isoladas no Brasil. Tese. 2016.

POLLETT, S. et al. Phenotypic and molecular characteristics of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in a health care system in Los Angeles, California,

from 2011 to 2013. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 52, n. 11, p. 4003–4009, 2014.

REULAND E.. A , N. AL NAIEMI1–3, A. M. KAISER1, M. HECK4, J. A. J.W. KLUYTMANS1, 5, 6, P. H. M. SAVELKOUL1, P. J. M. E. AND C. M. J. E. V.-G. Prevalence and risk factors for carriage of ESBL-producing Enterobacteriaceae in Amsterdam. **J Antimicrob Chemother** n. January, p. 1076–1082, 2016.

SCARPATE E. C. B. **A presença de Klebsiella pneumoniae produtora de B-lactamase de espectro estendido no ambiente hospitalar.** *Saúde & Amb. Rev., Duque de Caxias, v.4, n.1, p.1-11, jan-jun 2009.*

SAHIN, K. et al. Evaluation of carbapenem resistance using phenotypic and genotypic techniques in Enterobacteriaceae isolates. **Annals of clinical microbiology and antimicrobials**, v. 14, n. 1, p. 44, 2015.

SEIBERT, G. et al. Nosocomial infections by Klebsiella pneumoniae carbapenemase producing enterobacteria in a teaching hospital. **Einstein (Sao Paulo)**, v. 12, n. 3, p. 282–286, 2014.

SCHWABER, M. J. et al. Predictors of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae acquisition anions hospitalized adults and effect of acquisition on mortality. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 52, n. 3, p. 1028–1033, 2008.

SOARES V. M. **Emergência de Klebsiella pneumoniae produtora de carbapenemase (KPC) em um hospital terciário.** *J Bras Patol Med Lab* • v. 48 • n. 4 • p. 251-253 • agosto 2012.

SOOD S. **Identification and diferentiation of Carbapenemases in Klebsiella pneumoniae: A phenotypic Test Evaluation Study from Jaipur, India.** Journal of Clinical and Diagnostic Research. 2014 Jul, Vol-8(7): DC01-DC03.

SPANU, T. et al. Evaluation of the New NucliSENSEasyQ KPC Test for Rapid Detection of Klebsiellapneumoniae Carbapenemase Genes (blaKPC). Journal of Clinical Microbiology, vol: 50, nro: 8, págs: 2783-5. 2012.

SUPERTI, S. V; AUGUSTI, G.; ZAVASCKI, A. P. Risk factors for and mortality of extended-spectrum-beta-lactamase-producing Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli nosocomial bloodstream infections. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 51, n. 4, p. 211–216, 2009.

STÜRENBERG, E.; MACK, D. **Extended-spectrum β-lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory, therapy, and infection control.** *J Infect* 2003; 47:273-95. Review.

TEO, J. et al. Risk Factors , Molecular Epidemiology and Outcomes of Enterobacteriaceae : A Case-Case-Control Study. v. 7, n. 3, p. 1–8, 2012.

TORRES-GONZALEZ, P. et al. Factors Associated to Prevalence and Incidence of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Fecal Carriage : A Cohort Study in a Mexican Tertiary Care Hospital. p. 1–13, 2016.

TOSIN, I.; Silbert, S.; Sader, H.S. **The use of molecular typing to evaluate the dissemination of antimicrobial resistence among Gram-negative rods in Brazilian Hospitals**. *Braz J Infect Dis* 2003, 7:360-69.

TUON, F. F. et al. Risk factors for KPC-producing Klebsiella pneumoniae bacteremia. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 16, n. 5, p. 416–419, 2012.

TRABULSI

WALTHER-RASMUSSEN, J.; HOIBY, N. **Class A carbapenemases.** *Journal of antimicrobial chemotherapy,* London, v. 60, n. 3, p. 470-482, Set 2007.

WANG, Q. et al. Risk factors and clinical outcomes for carbapenem-resistant Enterobacteriaceae nosocomial infections. **Eur J ClinMicrobiol Infect disceases.** 2016.

WENDT C., Schütt S., Dalpke A. H., Konrad M., Mieth M., Trierweiler-Hauke B., Weigand M. A., Zimmermann S., Biehler K., Jonas D. **First outbreak of klebsiella pneumoniae carbapenemase (KPC)- producing K. pneumoniae in Germany.** *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2010; 29 (5): 563-70.

WOODFORD N., Zhang J., Waner M., Kaufmannn M. E., Matos J., Macdonald A., Brudney D., Sompolinsky D., Navon-Venezia S., Livemore D. M. **Arrival of K. pneumoniae producing KPC carbapenemase in the United Kingdom.** *J. Antimicrob Chemother.* 2008 –Dec; 62 (6): 1261-4.

YIGIT H., Queenan A. M., Anderson G. T., et. al. **Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of Klebsiella pneumoniae**. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001; 45:1151.

APÊNDICE A - ANÁLISE DOS FATORES DE RISCO PARA A MORTALIDADE EM PACIENTES INFECTADOS POR ENTEROBACTÉRIAS PORTADORAS DO GENE *BLA*$_{KPC}$ INTERNADOS EM UM HOSPITAL TERCIÁRIO DE RECIFE-PE.

Revista: American Journal of Infection Control (Qualis: B1; Fator de impacto: 2.4)

Análise dos fatores de risco para a mortalidade em pacientes infectados por enterobactérias portadoras do gene *bla*$_{KPC}$ internados em um Hospital terciário de Recife-PE.

Autores: Renata Daniele Amaral de Medeiros, Elza Ferreira Firmo, Erica Maria de Oliveira, Ana Catarina Souza Lopes.

Resumo: Bacilos gram-negativos multidroga resistente (MDR) são cada vez mais comuns causando infecções relacionadas a assistência a saúde (IRAS) e associadas a altas taxas de mortalidade, hospitalizações mais longas, aumento dos custos de internação somado a resistência bacteriana. Gêneros da família *Enterobacteriaceae* são as mais representativas com relação ao aparecimento da resistência (*bla*$_{KPC}$) principalmente aos antimicrobianos β-lactâmicos. Diante deste cenário, diversos estudos investigam os preditores de mortalidade em pacientes infectados pelo gene *bla*$_{KPC}$ em todo o mundo, contudo há uma divergência entre os resultados encontrados. Portanto, este estudo tem por objetivo identificar a associação entre os fatores de risco e a mortalidade em pacientes internados num hospital terciário de Recife-PE em 2016 e infectados por enterobactérias portadoras do gene *bla*$_{KPC}$. O estudo foi realizado em um hospital terciário, classificado como grande porte. Trata-se de um estudo observacional, do tipo coorte prospectivo. Houve a aplicação de um questionário aos pacientes incluídos na pesquisa e o acompanhamento de cada um durou 30 dias consecutivos até o desfecho (morte ou sobrevida), partindo-se dos pacientes expostos (pacientes infectados por enterobactérias portadoras do gene *bla*$_{KPC}$) e os não expostos (pacientes infectados por enterobactérias, porém não portadoras do gene *bla*$_{KPC}$). As bactérias analisadas foram *Proteus mirabilis, Serratia marcescens, Klebsiella pnemoniae, E. coli.* Na análise da população estudada, diversos fatores apresentaram diferenças significativas como: o agente infeccioso, o sexo, o número de complicações pós-internamento, a exposição dos pacientes a diversos ambientes hospitalares que já tiveram casos de bactérias com o gene *bla*$_{KPC}$, submissão a hemodiálise, ter Diabetes Mellitus, utilizar 4 ou mais antimicrobianos, dentre eles as quinolonas, os glicopeptídeos, os carbapenêmicos, a polimixina e ter isolados de outros microrganismos de forma concomitante durante a internação. Contudo, quando analisado os fatores de risco em associação bivariada com o óbito (desfecho estudado) os fatores significativos foram: a submissão a hemodiálise (3,81 de risco (RP = 4,81), ter Diabetes Mellitus (5,58 de risco (RP = 6,58), ter sido co-infectado por outros microrganismos (fungos ou demais bacilos/cocos) risco 3,72 (RP = 4,72) e ter utilizado em específico os antimicrobianos polimixina e amicacina risco de 7,93

(RP=8,93) e 4,46 (5,46), respectivamente. Diante deste cenário, outros estudos diferem em relação as especificidades. Outros estudos demonstraram que as quinolonas e o metronidazol são preditores determinantes para a mortalidade, assim como o uso prévio de qualquer antimicrobiano. Outros apontam qualquer procedimento invasivo, sem especificidade e a doença renal como principal comorbidade preditora para mortalidade. A partir desse estudo observacional de um único centro, conseguiu-se desenhar uma estrutura direcionada a uma tomada de decisão clínica mais preventiva em relação a região estudada. Diante do exposto, os cuidados devem ser tomados acerca de sempre preservar a função renal e desta forma evitar processos hemodialíticos futuros, deve-se também usar de forma racional os antimicrobianos, principalmente os utilizados para bactérias MDR e evitar a exposição dos pacientes infectados a ambientes limpos.

Abstract: Gram-negative multidrug-resistant (MDR) rods are increasingly common causing health care-related infections (IRAS) and associated with high mortality ratesmicrorganismo, longer hospitalizations, increased hospitalization costs and bacterial resistance. Genuses of the Enterobacteriaceae family are the most representative in relation to the appearance of resistance (blaKPC) mainly to β-lactam antibiotics. In this scenario, several studies investigate the predictors of mortality in patients infected with the blaKPC gene worldwide, however, there is a divergence between the results found. This study aims to identify the association between risk factors and mortality in patients hospitalized in a tertiary hospital in Recife-PE in 2016 and infected with enterobacteria carrying the blaKPC gene. The study was performed in a tertiary hospital located in Recife-PE, classified as large. This is an observational, prospective cohort study. A questionnaire was applied to the patients included in the study and the follow-up of each one lasted 30 consecutive days until the outcome (death or survival), starting from the patients exposed (patients infected with enterobacteria carriers of the blaKPC gene) and the non-exposed (patients infected by enterobacteria, but not carriers of the blaKPC gene). The bacteria analyzed were Proteus mirabilis, Serratia marcescens, Klebsiella pneumoniae. In the analysis of the studied population, several factors showed significant differences such as: the infectious agent, sex, the number of post-hospitalization complications, the exposure of patients to various hospital environments that had previously had cases of bacteria with the blaKPC gene, submitted to hemodialysis , have Diabetes Mellitus, use 4 or more antibiotics, among them quinolones, glycopeptides, carbapenems, polymyxin and to have isolates of other microorganisms concomitantly during hospitalization. However, when we analyzed the risk factors in bivariate association with death (outcome studied) the significant factors were:: hemodialysis (3.81 at risk (PR = 4.81), Diabetes Mellitus (5.58 (PR = 6.58), having been co-infected by other microorganisms (fungi or other bacilli / cocci) risk 3.72 (PR = 4.72) and used in particular the antibiotics polimixina and amicacina risk of 7, 93 (RP = 8.93) and 4.46 (5.46), respectively. Faced with this scenario, other studies differ in relation to specificities. Other studies have shown that quinolones and metronidazole are determinant predictors for mortality, as well as the

prior use of any antibiotic. Others point to any invasive procedure, with no specificity and renal disease as the main predictive comorbidity for mortality. From this observational study of a single center, it was possible to design a structure directed to a more preventive clinical decision making in relation to the studied region. In view of the foregoing, care must be taken to always preserve renal function and thus avoid future hemodialytic processes, one must also use rationally antimicrobials, especially those used for MDR bacteria and avoid exposure of infected patients to environments clean.

Introdução

Bacilos gram-negativos antimicrobiano-resistentes são cada vez mais comuns causando infecções relacionadas a assistência a saúde (IRAS) e associadas a altas taxas de mortalidade, hospitalizações mais longas somado ao aumento dos custos de internação (PATEL, OLIVEIRA, ZHOU, 2015). A sobrevida de pacientes infectados e com neoplasias, doenças autoimunes ou imunodeficiências aumentou significativamente, entretanto as principais complicações dessas patologias permanecem sendo a combinação delas com as doenças infecciosas. O tratamento não efetivo dessas doenças se deve, principalmente, a mecanismos criados pelos microrganismos, os quais inativam a ação dos antimicrobianos (ALVES; BEHAR, 2013)

A resistência bacteriana tem sido um problema frequente nas unidades hospitalares e constantemente abordada em pesquisas. Gêneros da família *Enterobacteriaceae* (*Klebsiella, Serratia, Enterobacter, Escherichia, Proteus, Salmonela*) são as mais representativas com relação ao aparecimento da resistência. *Klebsiella pneumonie.* foi a espécie bacteriana onde houve o primeiro registro de aparecimento do gene bla_{KPC}. Logo em seguida, outras espécies, como *P. mirabilis, Serratia marcescens, Escherichia coli, Enterobacter spp* foram sendo estudadas, em diversas partes do mundo, inclusive em Recife-PE e seus genes de resistência codificados, confirmando a presença do bla_{KPC}. Esses genes foram encontrados tanto em isolados de infecções hospitalares quanto comunitárias. Esta disseminação sugere que haja transferência horizontal dos genes intra e interespécies por plasmídeos conjugativos (MONTEIRO et al., 2009; SEIBERT et al., 2014; CABRAL et al., 2015; MARGATE et al., 2015; CABRAL et al., 2017).

Assim, as IRAS ocasionadas por estes microrganismos resistentes em pacientes críticos denotam altas taxas de falhas terapêuticas a tratamentos planejados provocando complicações clínicas e frequentemente a morte (AQUINO,

2008; LIMA; ANDRADE; HAAS, 2007; KONTOPIDOU et al., 2014). Visto isso, diversos estudos investigam os preditores de mortalidade em pacientes infectados por microrganismos portadores do gene *bla*$_{KPC}$ em todo o mundo. Outros estudos também apontam fatores que aumentam o risco do gene de ser transportado por entre espécies, dificultando o tratamento, assim como identificam a epidemiologia das cepas resistentes. Ainda acerca dos fatores de risco, existem estudos que definem os riscos avaliando o resultado clínico das infecções hospitalares demonstrando a piora clínica ou aumento da mortalidade como desfecho (BART et al.; 2015; REULAND et al., 2016; WANG et al., 2016).

Contudo, os fatores apresentados nos estudos que avaliam estes preditores têm se mostrado variáveis e tal fato foi corroborado pela revisão bibliográfica e os aspectos clínicos e epidemiológicos relacionados a infecção descrita por Silva et. al. em 2012, na qual apontaram esta diversidade, justificando tal discordância pela mudança de região e pelas diferentes formas de transmissão da infecção assumindo a heterogeneidade dos fatores de risco e a pertinência de novos estudos (FALAGAS et al., 2007; SCHWABER et al., 2008; DA SILVA; TRAEBERT; GALATO, 2012).

No Brasil, estudos foram realizados na região Sul e a divergência dos preditores encontrados foi notória. Superti et. al. (2009) em um hospital terciário em Porto Alegre-RS indicaram como preditores da mortalidade a longa permanência de internação hospitalar, independente da UTI, infecção do trato respiratório inferior, presença de aparatos invasivos (sondas e cateteres) e o uso prévio de antimicrobianos antimicrobianos, com ênfase nas penicilinas anti-pseudomonas e na associação entre as classes em qualquer combinação. Já Tuon et. al. (2012) em um Hospital terciário em Curitiba-PR destacaram como fatores de risco o uso de cateter venoso central, contudo o estudo utilizou apenas pacientes com bacteremias, a diabetes como principal comorbidade e o uso de fluoroquinolonas em relação à exposição prévia de antimicrobianos (SUPERTI; AUGUSTI; ZAVASCKI, 2009; TUON et al., 2012).

Na literatura encontrada, poucos estudos unem características genéticas e fenotípicas bacterianas. E menos ainda associam estas a fatores de risco uma vez firmado a infecção (SAHIN et al., 2015; POLLETT et al., 2014). Somando a divergência dos fatores de risco para mortalidade, a carência de estudos que relacione tais fatores com as características genéticas das bactérias levando-se em

consideração a infecção e a restrição desse tipo de estudo no nordeste brasileiro demonstra-se a importância do tema abordado (MONTEIRO et al., 2009).

Portanto, este estudo propõe-se avaliar quais fatores podem ser de risco para mortalidade nos pacientes infectados por enterobactérias portadoras do gene bla_{KPC} e internados num hospital terciário de Recife-PE, em 2016. Dentre estes fatores se incluem os biológicos, os fisiológicos, os de hospitalização e os de infecção.

Materiais e Métodos

Desenho e Local do Estudo

Trata-se de um estudo observacional, do tipo coorte prospectivo. O acompanhamento de cada paciente durou 30 dias consecutivos (tempo médio estimado em estudos semelhantes) até o desfecho (morte ou sobrevida), partindo-se dos pacientes expostos (pacientes infectados por enterobactérias portadoras do gene bla_{KPC}) e os não expostos (pacientes infectados por enterobactérias, porém não portadoras do gene bla_{KPC}). O estudo foi realizado no ano de 2016 em um hospital privado terciário localizado no Recife-PE, classificado como grande porte, possuindo 40 leitos de UTI e sendo referência em cirurgias.

Critérios de Inclusão

- Pacientes de ambos os sexos, maiores de 18 anos que estavam internados e infectados por enterobactérias portadoras ou não do gene bla_{KPC} confirmado pela técnica de PCR.

- Para inclusão no grupo dos expostos: Confirmação através de PCR da presença do gene $bla_{KPC.}$

- Para inclusão no grupo dos não expostos: Confirmação através de PCR da ausência do gene $bla_{KPC.}$

Critérios de Exclusão

- Pacientes cujos isolados não puderam ser resgatados para confirmação do perfil de sensibilidade.

- Pacientes com isolados suspeitos de expressar o gene bla_{KPC} que não realizaram a confirmação por PCR.

Determinação da Amostra e Coleta de dados

Assumindo um erro alfa de 0,05, com nível de confiabilidade de 95%, um “power” de 80 %, com razão entre o grupo de não expostos e expostos de 4, prevalência de 48,8% para mortalidade entre o grupo dos expostos e de 8,13% entre o grupo de não expostos, foram calculados pelo Programa EpiInfo 7® uma amostra de 62 pacientes (13 expostos e 49 não expostos), conferindo um OR: 6,002 e RR: 10,770.

Após a confirmação da infecção por enterobactéria e análise dos antibiogramas realizados no aparelho da marca Biomerieux®, modelo *Vitek 2 compact*, que faz a identificação automatizada, houve a inclusão do paciente na pesquisa. Contudo, a coleta foi iniciada somente após o paciente ou seu responsável ter sido esclarecido dos objetivos da pesquisa e ter assinado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO I), lhe assegurando o cumprimento das normas da resolução 196 do Conselho Nacional de Saúde. Os dados foram coletados por meio de consulta no prontuário do paciente seguindo um questionário padrão (ANEXO II). Além de ter ocorrido visitas de no mínimo duas vezes na semana ao paciente, cujo foi acompanhado por 30 dias consecutivos.

O questionário padronizado utilizado para a coleta dos dados continha 60 perguntas acerca dos fatores pessoais (sexo e idade), clínicos e fisiológicos (comorbidades, obesidade, hipertensão arterial, descompensação cardíaca, doença arterial coronariana, diabetes mellitus, doença pulmonar e insuficiência renal e doença hepática, além de tabagismo e imunossupressão) e de internação, infecção e tratamento (espécime clínico do exame, tempo de internação, motivo do internamento, diagnóstico, complicações pós internamento, uso prévio de antimicrobianos – quinilonas, aminoglicosídeos, cefalosporinas, penicilinas 4ºgeração, glicopeptídeos, carbapenêmicos, polimixina, tigeciclina -, uso de aparatos invasivos, infecções prévias por outros microrganismos, intervenção terapêutica limitada, hemodiálise e submissão de cirurgia).

Análise dos Fatores de Risco e dos fatores estatísticos

Para análise dos dados foi construído um banco na planilha eletrônica Microsoft Excel® a qual foi exportada para o software SPSS, versão 18, onde foi

realizada a análise. Para avaliar as características pessoais, clinicas, de internação, fisiológicas, de infecção, do tratamento e do desfecho dos pacientes avaliados, foram calculadas as frequências percentuais dos fatores em estudo, segundo o grupo de pacientes infectados e não infectado pelo KPC. Ainda, foi aplicado o teste de Qui-quadrado para homogeneidade a fim de comparar a distribuição das características avaliadas entre o grupo caso e controle, nas aplicações do teste Qui-quadrado onde as suposições foram violadas foi utilizado o teste Exato de Fisher.

Na análise bivariada foi avaliada a associação das características pessoais, clínicas, de internação, fisiológicas, de infecção e de tratamento do paciente com o óbito por infecção. Para avaliar essa associação foi construída a tabela de contingência e aplicado o teste Qui-quadrado para independência. Nos casos em que as suposições do teste foram violadas, aplicou-se o teste Exato de Fisher. Todas as conclusões foram tiradas considerando o nível de significância de 5%.

Isolados Bacterianos

Os isolados bacterianos foram selecionados e classificados de acordo com a figura 2.

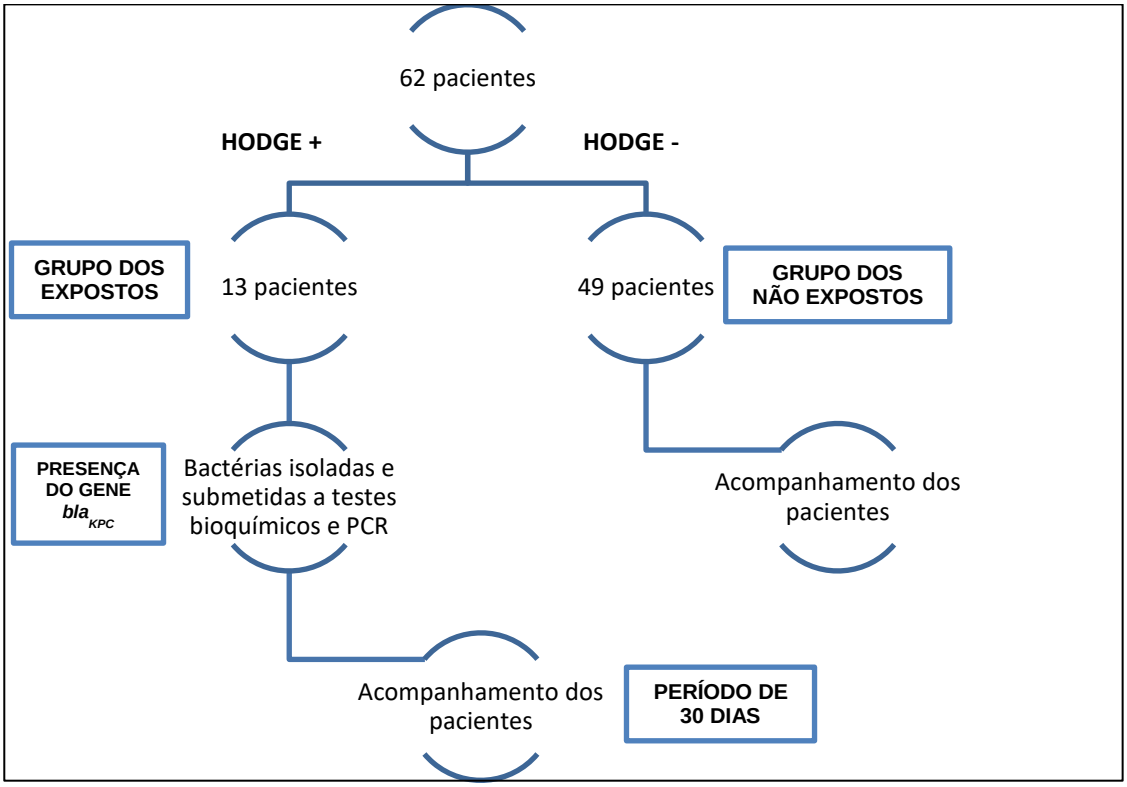

Figura 3. Seleção dos pacientes para pesquisa de fatores de risco para mortalidade em infecções por enterobactérias.

Os isolados bacterianos foram identificados automaticamente através do equipamento da marca Biomerieux®, modelo *Vitek 2 compact.* Os espécimes de enterobactérias identificados com resistência para qualquer um dos carbapenêmicos testados (Hodge positivo).

Perfil de Susceptibilidade a Antimicrobianos

Todos os isolados coletados foram analisados quanto à resistência a antimicrobianos através do teste automatizado utilizando o aparelho da marca Biomerieux®, modelo *Vitek 2 compact*, fornecendo assim, posteriormente o antibiograma completo que foi interpretado de acordo com o CLSI, 2016 (CLSI, 2016). Empregaram-se os seguintes antimicrobianos: ampicilina (AMP), ampicilina/sulbactam (APS), piperacilina/ tazobactam (PIT), cefoxitina (CFO), ceftazidima (CAZ), ceftriaxona (CRO), cefepime (CPM), imipenem (IMP), meropenem (MPM), amicacina (AMI), gentamicina (GEN), ciprofloxacina (CIP), colistina (POL B), trimetoprim/ sulfa (SUT), levofloxacino (LEV), tobramicina (TOB) (CLSI, 2016).

Os isolados clínicos de enterobactérias que apresentaram resistência aos carbapenêmicos imipenem e/ou meropenem foram testados para produção de carbapenemases através do teste de Hodge (CLSI, 2016).

Extração de DNA e condições da PCR para identificação dos genes *bla*$_{KPC}$

A extração de DNA total foi realizada pelo kit Wizard® Genomic DNA, Purification Kit (Promega), conforme instruções do fabricante. O DNA foi quantificado através do equipamento Nano Drop e estocado a -20°C.

Os genes de resistência *bla*$_{KPC}$ foram investigados pela técnica de PCR, com os primers KPC-1ª TGTCACTGTATCGCCGTC, KPC-1b CTCAGTGCTCTACAGAAAACC (Yigit *et al*., 2001).

As reações de amplificação foram preparadas em um volume total de 25 µl por tubo, compreendendo: 1µl de DNA genômico a 5ng/µl, 2,0U da enzima *Taq* DNA polimerase (Promega), 200 µM de dNTP (Ludwig Biotec), 1,5 mM de $MgCl_2$ e 1 µmol dos primers. Em cada partida de amplificação foi incluso um controle negativo e um controle positivo (CABRAL *et al*., 2012). As amplificações do gene *bla*$_{KPC}$ foram

realizadas com ciclos de desnaturação inicial à 95 ºC por 5 minutos, seguido de 30 ciclos, consistindo cada ciclo de 1 minuto à 95ºC para desnaturação, 1 minuto à 63ºC para anelamento do primer e 1 minuto à 72ºC para extensão. Após estes ciclos foi realizada uma etapa de alongamento final de 10 minutos à 72 ºC (CABRAL *et al*., 2012).

Eletroforese em gel de agarose

Cinco microlitros dos produtos de amplificação da PCR acrescidos de 1 µl de Blue-green Loading Dye I (LGC biotecnologia) foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,0% em tampão TBE (Tris-Borato 0,089M e EDTA 0,002M) e voltagem constante de 100 v. Foi utilizado um marcador de 100pb (Ludwig Biotec) como padrão de peso molecular. Os géis foram visualizados em transiluminador de luz ultravioleta (UV) e fotografados pelo sistema de fotodocumentação Photocap da Vilber Lourmat.

Padronização das Técnicas

Para a coleta dos dados foi aplicado um questionário padrão a todos os pacientes incluídos na pesquisa. E a coleta de material microbiológico para cultura seguiu a rotina estabelecida pela CCIH local e pelo laboratório de análises clínicas responsável. O questionário padronizado continha informações clínicas e epidemiológicas que foi preenchido por consulta ao prontuário médico do paciente e por entrevista ao paciente/familiar. (ANEXO I). O mesmo foi aplicado unicamente pela pesquisadora responsável da pesquisa e a todos os pacientes igualmente.

Considerações Éticas

O projeto foi encaminhado a Plataforma Brasil e aprovado com o CAAE: 51545015.3.0000.5198.

O TCLE foi assinado por cada paciente e/ou responsável cujos dados foram necessários na pesquisa, assegurando a confidencialidade das informações captadas durante o estudo e, garantindo que os resultados sejam utilizados absolutamente para fins científicos.

Os riscos aos quais estavam sujeitos os participantes foram minimizados através de um adequado acompanhamento, ressaltando sempre que a participação é voluntária e toda informação fornecida será confidencial. A entrevista com o paciente foi realizada de modo individual, a fim de impedir constrangimento e interferência de outras pessoas não envolvidas na pesquisa. Os resultados dos antibiogramas foram confidenciais.

Resultados

Análise univariada – Caracterização dos fatores de risco

Caracterização dos perfis clínicos e pessoais

Na pesquisa foram escolhidas e analisadas as espécies de enterobactérias: *K. pneumoniae, Proteus mirabilis, Serratia marcescens, E. coli.* Para o perfil clínico, verificou-se que a maioria dos pacientes apresentaram infecção por enterobactérias não portadoras do gene bla_{KPC} (79,0%). E que do total de pacientes infectados a maioria (35,5%) apresentaram a *K. pneumoniae* como principal agente infectante (tabela 3).

Ainda, observou-se que no grupo dos expostos (pacientes infectados por enterobactérias portadoras do gene bla_{KPC}) foi encontrada maior prevalência do agente *Proteus mirabilis* (38,5%) enquanto que no grupo de não expostos (pacientes infectados por enterobactérias não portadoras do gene bla_{KPC}) o agente mais prevalente foi o *K. pneumoniae* (36,7%) seguido do *E. coli* (32,7%). O teste de homogeneidade da distribuição do agente encontrado no grupo de expostos e não expostos foi significativo (p-valor = 0,019), indicando que o agente principal em cada grupo difere relevantemente.

Com relação ao perfil pessoal, verificou-se que a maioria dos pacientes são do sexo masculino (54,8%), possuem 60 anos ou mais (67,7%) e não são fumantes (90,4%). Quando se avaliou a distribuição das características dos pacientes em cada grupo, temos que no grupo de pacientes expostos houve uma maior prevalência de pacientes do sexo masculino (84,6%) enquanto que no grupo de não expostos encontrou-se maior prevalência de pacientes do sexo feminino (53,1%). O teste de homogeneidade foi significativo para o fator sexo (p-valor = 0,015), indicando um número relevantemente maior de homens no grupo infectado.

Quanto a idade e o hábito de fumar a distribuição foi semelhante para todos os pacientes independentemente do grupo.

Tabela 3. Caracterização dos perfis clínicos e pessoais segundo grupo infectado por enterobactérias em um hospital de Recife-PE.

Fatores avaliados	Total		Grupo avaliado				p-valor
			Expostos		Não expostos		
	n	%	N	%	N	%	
Paciente infectado por enterobactérias portadoras do gene *bla$_{KPC}$*							
Sim	13	21,0	13	100,0	0	0,0	<0,001[1]
Não	49	79,0	0	0,0	49	100,0	
Agente							
Klebsiella pneumoniae	22	35,5	4	30,8	18	36,7	0,019[1]
Proteus mirabilis	12	19,4	5	38,5	7	14,3	
Serratia marcescens	12	19,4	4	30,8	8	16,3	
E. coli	16	25,8	0	0,0	16	32,7	
Sexo biológico							
Masculino	34	54,8	11	84,6	23	46,9	0,015[1]
Feminino	28	45,2	2	15,4	26	53,1	
Idade							
18 a 39 anos	7	11,3	1	7,7	6	12,2	0,893[2]
40 a 59 anos	13	21,0	2	15,4	11	22,4	
60 anos ou mais	42	67,7	10	76,9	32	65,3	
Tabagismo							
Sim	5	9,6	1	33,3	4	8,2	0,266[2]
Não	47	90,4	2	66,7	45	91,8	

p-valor do teste Exato de Fisher (se p-valor < 0,05 a distribuição do fator avaliado difere entre o grupo caso e controle).

Caracterização relacionada à internação hospitalar

Verificou-se que em relação às complicações clínicas pós-internamento, a maioria dos pacientes (ambos os grupos) apresentaram apenas uma complicação, porém, quando analisamos esta distribuição no grupo dos expostos, observou-se uma prevalência de 61,5% de pacientes com mais de três complicações, enquanto que no grupo dos não expostos a maioria dos pacientes apresentaram apenas uma complicação (59,2%) (tabela 4). Desta forma, o teste de comparação da distribuição do número de complicações clínicas pós-internamento entre os grupos foi significativo (p-valor < 0,001), indicando que o grupo de pacientes que foram infectados por enterobactérias portadoras do gene *bla$_{KPC}$* tiveram um número bem maior de complicações do que o grupo oposto.

Quanto à exposição dos pacientes a diferentes setores do ambiente hospitalar que já tiveram casos de enterobactérias portadoras do gene *bla*$_{KPC}$, a maioria dos pacientes avaliados foram expostos (56,5%) e o teste de homogeneidade foi significativo (p-valor = 0,021), indicando que o grau de exposição é diferente entre os grupos. Do mesma modo, a submissão dos pacientes à hemodiálise foi avaliada e a maioria dos pacientes (do total) não precisaram passar por este processo (74,2%). Porém, ao avaliar no grupo dos expostos a necessidade de hemodiálise foi em 61,5% dos pacientes, enquanto que no grupo dos não expostos a necessidade foi em apenas 16,3% dos pacientes. O teste de homogeneidade foi significativo (p-valor = 0,002), indicando que existe diferença relevante da necessidade do tratamento hemodialítico entre os grupos.

Para os demais fatores avaliados existiram diferenças, contudo ao realizar o teste de homogeneidade não se mostraram significativos, demonstrando um p-valor > 0,05. Uma avaliação peculiar foi em relação ao uso de aparatos invasivos (SVD, VAM e Cateter Central) que no grupo dos pacientes expostos o uso foi de 92,3% e no grupo dos pacientes não expostos os aparatos supracitados foram utilizados em 38,8% dos internados. E mesmo sendo encontrada esta diferença do uso dos três aparatos entre os grupos, o teste de homogeneidade não foi significativo (p-valor = 0,061), indicando que estes aparatos utilizados ocorrem de forma semelhante.

Tabela 4. Caracterização da internação hospitalar segundo grupo infectado por enterobactérias em um hospital de Recife-PE.

Fatores avaliados	**Total**		**Grupo avaliado**				**p-valor**
			Expostos		**Não expostos**		
	n	**%**	**n**	**%**	**N**	**%**	
Motivo de internamento							
Cirurgia	5	8,1	1	7,7	4	8,2	
Dispnéia ou afins	14	22,6	2	15,4	12	24,5	
Convulsão	3	4,8	2	15,4	1	2,0	
Paresia	5	8,1	3	23,1	2	4,1	0,068[2]
Algia	16	25,8	2	15,4	14	28,6	
Rebaixamento da consciência	17	27,4	2	15,4	15	30,6	
Diarréia	2	3,2	1	7,7	1	2,0	
Diagnostico							
AVCI	8	10,0	3	23,1	3	6,4	
AVCH	2	3,3	0	0,0	2	4,3	
Neoplasia	6	10,0	1	7,7	5	10,6	0,319[2]
Epilepsia	6	10,0	2	15,4	4	8,5	
Gastroenterite	3	5,0	1	7,7	2	4,3	

Guillain-barré	2	3,3	1	7,7	1	2,1	
IAM	4	6,7	1	7,7	3	6,4	
Hérnia Diafragmática	2	3,3	1	7,7	1	2,1	
Infecção	19	31,7	2	15,4	17	36,2	
Doença pulmonar	10	16,7	1	7,7	9	19,1	
Complicações							
Uma	29	46,8	0	0,0	29	59,2	<0,001[2]
Duas	12	19,4	1	7,7	11	22,4	
Três	7	11,3	4	30,8	3	6,1	
Mais de três	14	22,6	8	61,5	6	12,2	
Tempo de internação							
1 a 7 dias	4	6,5	0	0,0	4	8,2	0,601[2]
8 a 15 dias	3	4,8	0	0,0	3	6,1	
16 a 30 dias	8	12,9	2	15,4	6	12,2	
31 a 90 dias	32	51,6	6	46,2	26	53,1	
91 a 180 dias	13	21,0	4	30,8	9	18,4	
181 a 364 dias	2	3,2	1	7,7	1	2,0	
Exposição a enterobactérias produtoras do gene *bla*$_{KPC}$							
Sim	35	56,5	11	84,6	24	49,0	0,021[1]
Não	27	43,5	2	15,4	25	51,0	
Hemodiálise							
Sim	16	25,8	8	61,5	8	16,3	0,002[2]
Não	46	74,2	5	38,5	41	83,7	
Uso de aparatos invasivos							
Sonda vesical de demora	1	1,6	0	0,0	1	2,0	
Ventilador mecânico	1	1,6	0	0,0	1	2,0	
Cateter Central	3	4,8	0	0,0	3	6,1	
SVD e cateter central	6	9,7	0	0,0	6	12,2	0,061[2]
VAM e cateter central	10	16,1	1	7,7	9	18,4	
SVD, VAM e cateter central	31	50,0	12	92,3	19	38,8	
Não	10	16,1	0	0,0	10	20,4	
Submissão de cirurgia							
Eletiva	5	8,1	1	7,7	4	8,2	
Urgência	41	66,1	6	46,2	35	71,4	0,192[2]
Re-operação	1	1,6	0	0,0	1	2,0	
Não	15	24,2	6	46,2	9	18,4	

[1]p-valor do teste Qui-quadrado para homogeneidade. [2]p-valor do teste Exato de Fisher

Caracterização fisiológica

Verificou-se que a maioria dos pacientes apresentaram comorbidades (78,7%), e que essa elevada prevalência de doenças foi observada tanto no grupo dos expostos (91,7%) quanto no grupo dos não expostos (75,5%) (tabela 5). Dentre as doenças avaliadas, a única mais prevalente foi a hipertensão (73,8%) em ambos os grupos. Na comorbidade diabetes mellitus, 66,7% dos pacientes infectados por

enterobactérias portadoras do gene *bla*$_{KPC}$ possuem tal comorbidade enquanto que no grupo das não portadoras a prevalência da diabetes mellitus foi apenas de 22,4%. O teste de homogeneidade da distribuição das comorbidades entre os grupos foi significativo apenas na diabetes mellitus (p-valor = 0,006), indicando que as demais comorbidades aparecem de forma semelhante entre grupos

Tabela 5. Caracterização fisiológica segundo grupo infectado por enterobactérias em um hospital de Recife-PE.

Fatores avaliados	Total		Grupo avaliado				p-valor
			Expostos		Não expostos		
	n	%	n	%	N	%	
Comorbidades							
Sim	48	78,7	11	91,7	37	75,5	0,432[2]
Não	13	21,3	1	8,3	12	24,5	
Obesidade							
Sim	5	8,2	0	0,0	5	10,2	0,573[2]
Não	56	91,8	12	100,0	44	89,8	
Hipertensão							
Sim	45	73,8	11	91,7	34	69,4	0,156[2]
Não	16	26,2	1	8,3	15	30,6	
Descompensação cardíaca							
Sim	17	27,9	6	50,0	11	22,4	0,076[2]
Não	44	72,1	6	50,0	38	77,6	
Doença arterial							
Sim	6	9,8	2	16,7	4	8,2	0,588[2]
Não	55	90,2	10	83,3	45	91,8	
Diabetes Mellitus							
Sim	19	31,1	8	66,7	11	22,4	0,006[2]
Não	42	68,9	4	33,3	38	77,6	
Doença pulmonar							
Sim	23	37,7	4	33,3	19	38,8	1,000[2]
Não	38	62,3	8	66,7	30	61,2	
Doença renal							
Sim	27	44,3	8	66,7	19	38,8	0,081[1]
Não	34	55,7	4	33,3	30	61,2	
Doença hepática							
Sim	2	3,3	1	9,1	1	2,0	0,336[2]
Não	58	96,7	10	90,9	48	98,0	
Imunossupressão							
Sim	8	12,9	1	7,7	7	14,3	1,000[2]
Não	54	87,1	12	92,3	42	85,7	

[1]p-valor do teste Qui-quadrado para homogeneidade. [2]p-valor do teste Exato de Fisher

Caracterização da infecção

Na avaliação destes fatores, verificou-se que nas co-infecções os bacilos não fermentadores, tiveram uma prevalência maior no grupo dos expostos (69,2%) do que no grupo dos não expostos (30,6%) (tabela 6). E uma vez realizado o teste de homogeneidade (p-valor = 0,011), indicou que a frequência de infecção foi significativa entre os grupos, demonstrando que no grupo dos expostos o risco é aproximadamente duas vezes maior de infecção do que o grupo dos não expostos.

Da mesma forma, ao avaliar se o paciente foi infectado por outra enterobactéria, percebe-se que 100,0% dos pacientes do grupo dos expostos foram infectados, enquanto que no grupo dos não expostos foram apenas 44,9%. O teste de homogeneidade também foi significativo (p-valor <0,001), indicando que a infecção por outra enterobactéria é relevantemente maior no grupo dos expostos.

Para os demais fatores, os testes de homogeneidade não foram significativos indicando que a frequência foi semelhante entre os grupos, demonstrando um p-valor >0,05.

Tabela 6. Caracterização da infecção segundo grupo de infectado por enterobactérias em um hospital de Recife-PE.

Fatores avaliados	Total		Grupo avaliado				p-valor
			Expostos		Não expostos		
	n	%	n	%	n	%	
Espécime clinico do exame							
Sangue	12	19,4	2	15,4	10	20,4	
Urina	27	43,5	4	30,8	23	46,9	
Secreção Traqueal	16	25,8	5	38,5	11	22,4	0,342[2]
Ponta de cateter	4	6,5	2	15,4	2	4,1	
Ferida operatória	3	4,8	0	0,0	3	6,1	
Infecção por Gram +							
Sim	34	54,8	10	76,9	24	49,0	0,072[1]
Não	28	45,2	3	23,1	25	51,0	
Infecção por bacilo não fermentador							
Sim	24	38,7	9	69,2	15	30,6	0,011[1]
Não	38	61,3	4	30,8	34	69,4	
Infecção por outra enterobactéria							
Sim	35	56,5	13	100,0	22	44,9	<0,001[1]
Não	27	43,5	0	0,0	27	55,1	
Infecção por demais microrganismo							
Sim	24	38,7	8	61,5	16	32,7	0,057[1]
Não	38	61,3	5	38,5	33	67,3	

[1]p-valor do teste Qui-quadrado para homogeneidade. [2]p-valor do teste Exato de Fisher

Caracterização da antibioticoterapia utilizada

Observou-se que a frequência de uso de quinolonas, aminoglicosídeos, glicopeptídeos, carbapenêmicos, polimixina e anti-fúngico foi significativamente maior no grupo dos expostos que no grupo dos não expostos. Já para os demais tratamentos, os antimicrobianos foram utilizados de forma estatisticamente semelhante entre os grupos.

Tabela 7. Caracterização do tratamento segundo grupo infectado por enterobactérias em um hospital de Recife-PE.

Fatores avaliados	Total		Grupo avaliado				p-valor
			Expostos		Não expostos		
	n	%	N	%	n	%	
Uso prévio de antimicrobianos							
Sim	59	95,2	13	100,0	46	93,9	1,000[1]
Não	3	4,8	0	0,0	3	6,1	
Quinolonas							
Sim	21	33,9	10	76,9	11	22,4	<0,001[2]
Não	41	66,1	3	23,1	38	77,6	
Aminoglicosídeo							
Sim	27	43,5	11	84,6	16	32,7	0,001[1]
Não	35	56,5	2	15,4	33	67,3	
Cefalosporina 1º ou 2º geração							
Sim	6	9,7	1	7,7	5	10,2	1,000[2]
Não	56	90,3	12	92,3	44	89,8	
Cefalosporina 3º ou 4º geração							
Sim	29	46,8	3	23,1	26	53,1	0,054[1]
Não	33	53,2	10	76,9	23	46,9	
Penicilinas anti-pseudonomas							
Sim	44	71,0	11	84,6	33	67,3	0,312[2]
Não	18	29,0	2	15,4	16	32,7	
Glicopeptídeos							
Sim	44	71,0	13	100,0	31	63,3	0,013[2]
Não	18	29,0	0	0,0	18	36,7	
Carbapenêmicos							
Sim	46	74,2	13	100,0	33	67,3	0,015[2]
Não	16	25,8	0	0,0	16	32,7	
Polimixina							
Sim	22	35,5	10	76,9	12	24,5	0,001[2]
Não	40	64,5	3	23,1	37	75,5	

Tigeciclina							
Não	62	100,0	13	100,0	49	100,0	-
Anti-fungico							
Sim	31	50,0	10	76,9	21	42,9	0,029[1]
Não	31	50,0	2	23,1	28	57,1	

[1]p-valor do teste Qui-quadrado para homogeneidade. [2]p-valor do teste Exato de Fisher

Caracterização do desfecho clínico

Observou-se que no grupo dos expostos a prevalência do óbito foi de 61,5%, enquanto que no grupo dos não expostos a prevalência do óbito foi de 30,6% (tabela 8). O teste de homogeneidade ficou muito próximo da associação (p-valor = 0,055), indicando uma possível tendência para os óbitos serem mais frequente no primeiro grupo citado.

Para óbitos relacionados à infecção por enterobactérias, verificou-se que o grupo dos expostos apresentaram maior prevalência quando comparado com o grupo dos não expostos (38,5% e 6,1%, respectivamente) e que o teste de homogeneidade foi significativo (p-valor = 0,008), indicando que a infecção causada pela bactéria portadora do gene bla_{KPC} aumenta de forma relevante o risco para morte por infecção, sendo este aumento de quase 6 vezes.

Tabela 8. Caracterização do desfecho clínico segundo grupo infectado por enterobactérias em um hospital de Recife-PE.

Fator avaliados	Total		Grupo avaliado				p-valor
			Expostos		Não expostos		
	n	%	n	%	n	%	
Paciente foi à óbito							
Sim	23	37,1	8	61,5	15	30,6	0,055[1]
Não	39	62,9	5	38,5	34	69,4	
Óbito relacionado à infecção							
Sim	8	12,9	5	38,5	3	6,1	0,008[1]
Não	54	87,1	8	61,5	46	93,9	

[1] p-valor do teste Exato de Fisher

Caracterização dos antimicrobianos utilizados e microrganismos isolados

Verificou-se que a maioria dos pacientes utilizaram quatro ou mais antimicrobianos (77,4%) e que essa alta prevalência também foi encontrada entre os dois grupos (100,0% e 71,4%, respectivamente) (tabela 9). O teste de homogeneidade não foi significativo (p-valor = 0,242), indicando que a distribuição do número de antimicrobianos utilizados foi semelhante.

De forma diferente, quanto aos antimicrobianos que no antibiograma obtiveram um CIM (Concentração Inibitória Mínima) interpretado como resistente, a distribuição entre os grupos não foi equivalente (p-valor = 0,031) (tabela 9). Na realidade, no grupo dos não expostos foi significativamente menor do que o grupo dos expostos. E quanto à utilização destes antimicrobianos com CIM interpretados como resistentes encontrou-se uma maior prevalência de pacientes que utilizaram quatro ou mais (64,5%), sendo essa alta prevalência também encontrada entre os grupos (100,0% e 55,1%, respectivamente) (tabela 9).

Para o número de microrganismos isolados, no geral, os pacientes apresentaram infecções causadas por quatro ou mais microrganismos diferentes (41,9%), porém, quando analisado os grupos, verificou-se que no grupo dos expostos essa prevalência é de 100,0%, ou seja, todos os pacientes foram infectados por, no mínimo, quatro microrganismos distintos. Enquanto que no grupo dos não expostos a prevalência foi de 30,6% (tabela 9). O teste de homogeneidade foi significativo (p-valor < 0,001), indicando que número de microrganismos isolados é relevantemente menor no grupo dos não expostos.

Os testes significativos sugerem que a quantidade de antimicrobianos resistentes utilizados e a quantidade de microrganismos isolados foram destacados como primordiais.

Tabela 9. Caracterização da quantidade de antimicrobianos utilizados e microrganismos isolados por enterobactérias em um hospital de Recife-PE.

Fatores avaliados	**Total**		**Grupo avaliado**				**p-valor**
			Expostos		**Não expostos**		
	N	**%**	**n**	**%**	**n**	**%**	
Quantidade de antimicrobianos utilizados							
Um	2	3,2	0	0,0	2	4,1	
Dois	6	9,7	0	0,0	6	12,2	0,242[1]
Três	6	9,7	0	0,0	6	12,2	
Quatro ou mais	48	77,4	13	100,0	35	71,4	
Quantidade de antimicrobianos resistentes utilizados							
Um	7	11,3	0	0,0	7	14,3	
Dois	10	16,1	0	0,0	10	20,4	0,031[1]
Três	5	8,1	0	0,0	5	10,2	
Quatro ou mais	40	64,5	13	100,0	27	55,1	
Microrganismos isolados							

Um	15	24,2	0	0,0	15	30,6	<0,001[1]
Dois	8	12,9	0	0,0	8	16,3	
Três	13	21,0	0	0,0	13	26,5	
Quatro ou mais	26	41,9	13	100,0	13	26,5	

[1] p-valor do teste Exato de Fisher

Análise bivariada - Associação do óbito por infecção

Análise dos perfis clínicos e pessoais

Verificou-se maior prevalência de morte por infecção no grupo de pacientes infectados pelo agente *Klebsiella pneumoniae* (22,7%) (tabela 10), porém, o teste de independência não foi significativo (p-valor = 0,347), indicando que o agente da infecção não foi fator determinante para o óbito. Assim como, também não foram determinantes os fatores pessoais para a mortalidade.

Tabela 10. Distribuição do óbito por infecção segundo os perfis clínicos e pessoais por enterobactérias em um hospital de Recife-PE.

Fatores avaliados	Óbito por infecção				p-valor
	Sim		Não		
	n	%	n	%	
Agente					
Klebsiella Pneumoniae	5	22,7	17	77,3	0,347[1]
Proteus Mirabilis	0	0,0	12	100,0	
Serratia marcescens	1	8,3	11	91,7	
E. coli	2	12,5	14	87,5	
Sexo biológico					
Masculino	5	14,7	29	85,3	0,719[1]
Feminino	3	10,7	25	89,3	
Idade					
18 a 39 anos	0	0,0	7	100,0	0,721[1]
40 a 59 anos	2	15,4	11	84,6	
60 anos ou mais	6	14,3	36	85,7	
Tabagismo					
Sim	0	0,0	5	100,0	1,000[1]
Não	5	10,6	42	89,4	

[1]p-valor do teste Exato de Fisher (se p-valor < 0,05 o fator avaliado influencia no óbito por infecção).

Análise da internação hospitalar

Verificou-se que a maior prevalência de morte decorrente da infecção foram em pacientes que estiveram internados por motivo de cirurgia (40,0%), com diagnóstico de AVCI ou gastroenterite (ambos com 33,3%), que apresentaram três complicações (42,9%), com tempo de internação entre 181 a 364 dias (50,0%) com

intervenção terapêutica limitada (25,0%), expostos a enterobactérias portadoras do gene *bla*$_{KPC}$ (20,0%), que foram submetidos à hemodiálise (31,3%), que utilizaram SVD, VAM e cateter central como aparatos invasivos (25,8%) (tabela 11). Mesmo sendo encontrada maior prevalência de óbito por infecção neste grupo descrito, o teste de independência não foi significativo para todos os fatores. Apenas no fator hemodiálise (p-valor = 0,022), indicando que o fato do paciente fazer hemodiálise aumenta de forma relevante o risco para o óbito por infecção. Ao avaliar a razão de chance observa-se que o grupo de pacientes hemodialítico possuem 3,81 risco a mais (RP = 4,81) de morrer por infecção do que os pacientes que não fizeram hemodiálise.

Tabela 11. Distribuição do óbito por infecção por enterobactérias segundo as características de internação hospitalar.

Fatores avaliados	Óbito por infecção				p-valor
	Sim		Não		
	N	%	n	%	
Motivo de internamento					
Cirurgia	2	40,0	3	60,0	0,120[1]
Dispnéia ou afins	1	7,1	13	92,9	
Convulsão	1	33,3	2	66,7	
Paresia	1	20,0	4	80,0	
Algia	0	0,0	16	100,0	
Rebaixamento da consciência	3	17,6	14	82,4	
Diarréia	0	0,0	2	100,0	
Diagnostico					
AVCI	2	33,3	4	66,7	0,802[1]
AVCH	0	0,0	2	100,0	
Neoplasia	0	0,0	6	100,0	
Epilepsia	1	16,7	5	83,3	
Gastroenterite	1	33,3	2	66,7	
Guillain-barré	0	0,0	2	100,0	
IAM	0	0,0	4	100,0	
Hérnia Diafragmática	0	0,0	2	100,0	
Infecção	3	15,8	16	84,2	
Doença pulmonar	1	10,0	9	90,0	
Complicações					
Uma	2	6,9	27	93,1	0,092[1]
Duas	1	8,3	11	91,7	
Três	3	42,9	4	57,1	
Mais de três	2	14,3	12	85,7	
Tempo de internação					
1 a 7 dias	0	0,0	4	100,0	0,511[1]
8 a 15 dias	0	0,0	3	100,0	

16 a 30 dias	0	0,0	8	100,0	
31 a 90 dias	5	15,6	27	84,4	
91 a 180 dias	2	15,4	11	84,6	
181 a 364 dias	1	50,0	1	50,0	
Intervenção terapêutica limitada					
Sim	5	25,0	15	75,0	0,098[1]
Não	3	7,1	39	92,9	
Exposição ao KpKPC					
Sim	7	20,0	28	80,0	0,123[1]
Não	1	3,7	26	96,3	
Hemodiálise					
Sim	5	31,3	11	68,8	0,022[1]
Não	3	6,5	43	93,5	
Uso de aparatos invasivos					
Sonda vesical de demora	0	0,0	1	100,0	
Ventilador mecânico	0	0,0	1	100,0	
Cateter Central	0	0,0	3	100,0	
SVD e cateter central	0	0,0	6	100,0	0,245[1]
VAM e cateter central	0	0,0	10	100,0	
SVD, VAM e cateter central	8	25,8	23	74,2	
Não	0	0,0	10	100,0	

[1]p-valor do teste Exato de Fisher (se p-valor < 0,05 o fator avaliado influencia no óbito por infecção).

Análise das características fisiológicas

Verificou-se maior prevalência de óbitos em pacientes que possuem comorbidades (16,7%), porém, a única doença que aumenta de forma significativa o risco para óbito por infecção é a diabetes mellitus (p-valor = 0,009) na qual se observou que 31,6% dos pacientes que possuem esta comorbidade sofreram óbito por infecção, de encontro aos 4,8% dos pacientes que não possuem esta comorbidade e apresentaram óbito por infecção (tabela 12). Nas demais comorbidades o teste de independência não foi significativo (p-valor maior do que 0,05 em todos os fatores), indicando que não são fatores determinantes para o aumento do risco para o óbito por infecção. Ainda, ao avaliar a razão de prevalência observa-se que os pacientes diabéticos possuem 5,58 (RP = 6,58) mais risco de morrer por infecção do que o grupo de pacientes não diabéticos.

Tabela 12. Distribuição do óbito por infecção por enterobactérias em um hospital de Recife-PE segundo as características fisiológicas

Fatores avaliados	Óbito por infecção				p-valor
	Sim		Não		
	n	%	n	%	
Comorbidades					

Sim	8	16,7	40	83,3	0,184[1]
Não	0	0,0	13	100,0	
Obesidade					
Sim	1	20,0	4	80,0	0,518
Não	7	12,5	49	87,5	
Hipertensão					
Sim	8	17,8	37	82,2	0,097
Não	0	0,0	16	100,0	
Descompensação cardíaca					
Sim	4	23,5	13	76,5	0,202[1]
Não	4	9,1	40	90,9	
Doença arterial					
Sim	0	0,0	6	100,0	1,000[1]
Não	8	14,5	47	85,5	
Diabetes Mellitus					
Sim	6	31,6	13	68,4	0,009[1]
Não	2	4,8	40	95,2	
Doença pulmonar					
Sim	4	17,4	19	82,6	0,461[1]
Não	4	10,5	34	89,5	
Doença renal					
Sim	6	22,2	21	77,8	0,123[1]
Não	2	5,9	32	94,1	
Doença hepática					
Sim	0	0,0	2	100,0	1,000[1]
Não	8	13,8	50	86,2	
Imunossupressão					
Sim	0	0,0	8	100,0	0,581[1]
Não	8	14,8	46	85,2	

[1]p-valor do teste Exato de Fisher (se p-valor < 0,05 o fator avaliado influencia no óbito por infecção).

Análise da infecção

Verificou-se que apenas a infecção por outra enterobactéria e infecção por demais microrganismos foram fatores significativos para o aumento do risco de óbito por infecção (p-valor = 0,008 e 0,047, respectivamente) (tabela 13). Dos pacientes que foram infectados por outra enterobactéria 22,9% chegaram ao óbito enquanto que dos pacientes que não foram contaminados por outra enterobactéria nenhum chegou ao óbito. Já nos pacientes infectados por demais microrganismos a prevalência de óbito por infecção foi de 25,0% enquanto que no grupo de pacientes que não foram infectados por demais microrganismos a prevalência de óbito por infecção foi de apenas 5,3%. Ao comparar o risco, observou-se que o grupo de pacientes que foram infectados por demais microrganismos apresentam 3,72 (RP =

4,72) risco a mais de morrer por infecção do que o grupo de pacientes que não foram infectados por demais microrganismos.

Tabela 13. Distribuição do óbito por infecção por enterobactérias em um hospital de Recife-PE segundo as características da infecção.

Fatores avaliados	Óbito por infecção				p-valor
	Sim		Não		
	n	%	n	%	
Espécime clínico do exame					
Sangue	3	25,0	9	75,0	
Urina	3	11,1	24	88,9	
Secreção Traqueal	2	12,5	14	87,5	0,752[1]
Ponta de cateter	0	0,0	4	100,0	
Ferida operatória	0	0,0	3	100,0	
Infecção por Gram +					
Sim	6	17,6	28	82,4	0,276[1]
Não	2	7,1	26	92,9	
Infecção por bacilo não fermentador					
Sim	5	20,8	19	79,2	0,242[1]
Não	3	7,9	35	92,1	
Infecção por outra enterobactéria					
Sim	8	22,9	27	77,1	0,008[1]
Não	0	0,0	27	100,0	
Infecção por demais microrganismo					
Sim	6	25,0	18	75,0	0,047[1]
Não	2	5,3	36	94,7	

[1]p-valor do teste Exato de Fisher (se p-valor < 0,05 o fator avaliado influencia no óbito por infecção).

Análise da antibioticoterapia utilizada

Verificou-se que os aminoglicosídeos e a polimixina foram os únicos antimicrobianos que apresentaram associação significante com o óbito por infecção (p-valor = 0,017 e 0,019, respectivamente). No grupo de pacientes que utilizou algum aminoglicosídeo a prevalência de óbito por infecção foi de 25,9%, enquanto que o grupo de pacientes que não utilizaram a prevalência do óbito por infecção foi de 2,9%. Para a poliximina foi encontrado resultado semelhante. No grupo de pacientes que utilizou este medicamento a prevalência de óbito por infecção foi de 27,3% e no grupo de pacientes que não utilizou a prevalência foi de 5,0%. Ao comparar os riscos de óbito por infecção, observou-se que o grupo de pacientes que

utilizou aminoglicosídeos e polimixina o risco de óbito por infecção aumentou em 7,93 (RP=8,93) e 4,46 (5,46).

Tabela 14. Distribuição do óbito por infecção por enterobactérias em um hospital de Recife-PE segundo as características da antibioticoterapia utilizada

Fatores avaliados	Óbito por infecção				p-valor
	Sim		Não		
	n	%	n	%	
Uso prévio de antimicrobianos					
Sim	8	13,6	51	86,4	1,000[1]
Não	0	0,0	3	100,0	
Quinolomas					
Sim	5	23,8	16	76,2	0,107[1]
Não	3	7,3	38	92,7	
Aminoglicosídeo					
Sim	7	25,9	20	74,1	0,017[1]
Não	1	2,9	34	97,1	
Cefalospina 1º ou 2º geração					
Sim	1	16,7	5	83,3	0,580[1]
Não	7	12,5	49	87,5	
Cefalospina 3º ou 4º geração					
Sim	2	6,9	27	93,1	0,264[1]
Não	6	18,2	27	81,8	
Penicilinas anti-pseudonomas					
Sim	7	15,9	37	84,1	0,418[1]
Não	1	5,6	17	94,4	
Glicopeptídeos					
Sim	8	18,2	36	81,8	0,092[1]
Não	0	0,0	18	100,0	
Carbapenêmicos					
Sim	8	17,4	38	82,6	0,099[1]
Não	0	0,0	16	100,0	
Polimixina					
Sim	6	27,3	16	72,7	0,019[1]
Não	2	5,0	38	95,0	
Tigeciclina					
Não	8	12,9	54	87,1	-
Anti-fungico					
Sim	7	22,6	24	77,4	0,053[1]
Não	1	3,2	30	96,8	

[1]p-valor do teste Exato de Fisher (se p-valor < 0,05 o fator avaliado influencia no óbito por infecção).

Análise dos antimicrobianos utilizados e microrganismos isolados

Verificou-se uma maior prevalência de óbitos por infecção no grupo de pacientes que utilizaram quatro ou mais antimicrobianos (16,7%), sendo três destes resistentes (20,0%) e que tiveram quatro ou mais microrganismos isolados (26,9%) (tabela 15). Mesmo sendo encontrada maior prevalência nestes grupos descritos o teste de independência não foi significativo (p-valor foi maior do que 0,05 em todos os fatores), indicando que a prevalência de óbito por infecção é semelhante em todos os fatores avaliados.

Tabela 15. Distribuição do óbito por infecção por enterobactérias em um hospital de Recife-PE segundo os antimicrobianos utilizados e microrganismos isolados

Fatores avaliados	Óbito por infecção				p-valor
	Sim		Não		
	N	%	n	%	
Quantidade de antimicrobianos utilizados					
Um	0	0,0	2	100,0	0,608[1]
Dois	0	0,0	6	100,0	
Três	0	0,0	6	100,0	
Quatro ou mais	8	16,7	40	83,3	
Quantidade de antimicrobianos resistentes utilizados					
Um	0	0,0	7	100,0	0,791[1]
Dois	1	10,0	9	90,0	
Três	1	20,0	4	80,0	
Quatro ou mais	6	15,0	34	85,0	
Microrganismos isolados					
Um	0	0,0	15	100,0	0,054[1]
Dois	0	0,0	8	100,0	
Três	1	7,7	12	92,3	
Quatro ou mais	7	26,9	19	73,1	

[1]p-valor do teste Exato de Fisher (se p-valor < 0,05 o fator avaliado influencia no óbito por infecção).

Análise da resistência das enterobactérias aos antimicrobianos avaliados in vitro

Verificou-se que o grupo dos pacientes expostos apresentou maior prevalência de resistência em todos os antimicrobianos avaliados, porém, tal diferença foi significativa apenas nos antimicrobianos: pipe/tazo, cefoxitina, ceftazidima, ceftriaxona, cefepima, imipenem, meropenem e amicacina. Nos demais antimicrobianos a prevalência de resistência é semelhante entre os grupos (APÊNDICE – tabela 16).

Ainda no grupo dos pacientes expostos, dentre os antimicrobianos que obtiveram prevalência significativa, apenas no MEROPENEM e na AMICACINA foram relevantes, quando avaliados separadamente (APÊNDICE – tabela 17).

Discussão

Estudos realizados em outros países, ao longo dos últimos 10 anos, apontaram de forma correspondente, que a idade, a permanência em Unidades de Terapia Intensiva, infecções do trato respiratório de caráter hospitalar e o uso de sondas são os preditores principais para o aumento do risco de mortalidade. Outros autores ainda apontaram o uso de carbapenêmicos, quinolonas, como os antimicrobianos cujo uso desmedido aumenta os riscos de mortalidade (FALAGAS et. al., 2007; PATEL et al., 2014; DAUTZENBERG et al., 2015; GONZALES et al., 2015; GARBATI et al., 2016).

A maioria dos estudos referentes às análises dos fatores de risco para mortalidade são em grandes centros hospitalares e apresentam a limitação de não conseguir sobrepujar os resultados para outras realidades (GARBATI et al., 2016; KONTOPIDOU et al. 2013). Tal fato demonstra que cada região pode apresentar preditores não previstos em outros estudos.

Apenas um procedimento invasivo foi apontado como significativo para o aumento dos riscos acerca do desfecho mortalidade no presente estudo, a hemodiálise. O que diverge dos demais estudos realizados que indicam dois ou mais fatores e poucos apontam a hemodiálise especificamente. Em 2016, Garbati et al., mostrou em seu estudo que para procedimentos invasivos a diálise, a ventilação mecânica e o uso de sonda vesical são os fatores significativos diante do desfecho mortalidade (GARBATI et al., 2016). Os estudos realizados aqui no Brasil apontam aparatos afins, o cateter urinário e o uso de cateter venoso central. (GARBATI et al., 2016; SUPPERTI et al. 2009; TUON et al. 2012).

Poucos artigos publicados apontam alguma comorbidade como sendo relevante para o desfecho, mas os que definem mostram que doenças cardiovasculares e renais são as principais. O que não difere em total deste estudo, visto que, para que os pacientes se submetam a hemodiálise precisam ter doença renal grave, mas tal comorbidade isoladamente não foi expressiva no teste estatístico demonstrado. A comorbidade apresentada foi a Diabetes Mellitus e esta

mesma foi apontada em alguns artigos publicados em centros hospitalares no Brasil, em anos anteriores. (TUON et al. 2012; ALVES et al. 2013)

Os dias de internação, a permanência em Unidades de Terapia Intensiva, idade e submissão a cirurgias estatisticamente foram fatores de risco significativos relativo ao desfecho mortalidade em artigos nacionais e internacionais, mas no presente estudo esta análise não foi significativa (GARBATI et al., 2016; KONTOPIDOU et al. 2013; SUPPERTI et al. 2009; TUON et al. 2012; ALVES et al. 2013). Apontados como relevantes neste estudo foram as co-infecções por outras enterobactérias e microrganismos gram positivos. Estes preditores não foram apontados em estudos similares, o que abre um precedente importante para discussão peculiar da região estudada, pois foi determinado que neste estudo o risco de mortalidade foi aumentado cerca de 3 vezes. Para pacientes que foram infectados por bactérias com indícios de resistência e portadoras do gene bla_{KPC} o cuidado deve ser primordial na assistência, a fim de diminuir a possibilidade dessas co-infecções. Um dos motivos importantes para analisar este fator de risco como precípuo são os tratamentos planejados direcionados aos pacientes infectados por bactérias resistentes e as altas taxas de falhas terapêuticas observadas (LIMA; ANDRADE; HAAS, 2007; KONTOPIDOU et al., 2014). E somado a este fato, estão as restrições das opções de antimicrobianos efetivos diante dos diversos genes de resistência adquiridos pelos microrganismos.

Outro fator de risco importante indicado em vários estudos foi o uso de antimicrobianos e principalmente determinadas classes. Contudo, quais antimicrobianos se mostraram preditores mudam de análise para análise. As classes das quinolonas foram apontadas como as mais utilizadas em muitos estudos internacionais, contudo no Brasil, esta classe pouco se mostrou significativa como fator de risco. Desta mesma forma, acontece com os carbapenêmicos. Uma análise importante foi estudos nacionais apontarem a piperacilina/tazobactam como sendo umas das classes mais prevalentes significativamente para a contribuição do desfecho mortalidade e o presente estudo não apresentar consonância neste aspecto. Apontando o uso de polimixina e amicacina como os fatores de risco principais, aumentando em quase 8 e 5 vezes, respectivamente, a chance de mortalidade em relação a quem esteve infectado por enterobactéria portadora do gene bla_{KPC} e não fez uso destes antimicrobianos.

Este fato vai de encontro a sugestão preconizada pela ANVISA para tratar pacientes infectados por bactérias MDR. Contudo, o presente estudo demonstra que deve ser levado em consideração as condições clínicas dos pacientes, o prognóstico e se houve ou não co-infecções no período tratado para que haja a decisão médica acerca da forma de tratamento. Deste modo, o presente estudo expõe essas condições clínicas como a comorbidade Diabetes Mellitus e a necessidade de lançar mão da hemodiálise. Já para as co-infecções foram as ocasionadas por outras enterobactérias ou demais microrganismos.

Outra particularidade deste estudo foram as análises estatísticas de uso de antimicrobianos em infecções ocasionadas por enterobactérias portadoras do gene bla_{KPC} interpretados como resistentes pelo antibiograma. Os antimicrobianos significativos foram a amicacina e o meropenem. O resultado do antibiograma é levado em consideração para a tomada a decisão clínica médica e este resultado estatisticamente relevante, demonstra que deve ser levado em consideração um fator a mais além dos já preconizados.

Os fatores apresentados como divergentes dos artigos já publicados denotam a especificidade dos resultados, favorecendo uma análise mais peculiar da região estudada. O fato de a hemodiálise ser preditor e os antimicrobianos polimixina e amicacina também, deixa em aberto uma possibilidade de correlacionar uma análise de disfunção renal, visto que estes medicamentos são altamente nefrotóxicos (FANOS et al., 2008; SIEW et al., 2011) . A Diabetes Mellitus dependendo do nível, causa também danos renais por excesso de glicose na urina, este fato abre mais precedente para correlação com a diálise (MOREIRA et al., 2008).

Em conclusão, cuidados devem ser tomados acerca da preservação a função renal e assim evitar processos hemodialíticos futuros, deve-se também usar de forma racional os antimicrobianos, principalmente os utilizados para bactérias MDR. Deve-se também evitar a exposição dos pacientes infectados a ambientes limpos, uma vez que foi demonstrado que infecções ocasionadas por enterobactérias portadora do gene bla_{KPC} aumentam de forma relevante o risco para morte por infecção, sendo este aumento de quase 6 vezes.

Como discutido acima existem alguns relatos na literatura similares aos apresentados neste estudo, no que diz respeito aos preditores de mortalidade,

porém não estão em total consonância. O fato dos antimicrobianos não serem os mesmos apresentados na maioria dos artigos publicados faz deste estudo um dos pioneiros na região, estimula um princípio de mudança de hábitos nas prescrições dos antimicrobianos por parte dos médicos e requer uma atenção farmacoterapêutica mais eficiente, além de fortalecer o trabalho da equipe de profissionais responsáveis pelo paciente.

Somado ao citado acima, existe ainda um alerta para a importância da higienização das mãos, limitando a transmissão das resistências bacterianas nas instalações de saúde e entre os pacientes, a educação continuada e uma vigilância reforçada na efetividade dos antimicrobianos acerca do microrganismo isolado. Este último, por sua vez requer acompanhamento ideal a fim de otimizar os resultados clínicos.

Tabela 16. Prevalência de resistência das enterobactérias aos antimicrobianos avaliados, segundo o grupo de pacientes avaliados.

Antimicrobiano	Grupo avaliado		p-valor
	Expostos (n = 13)	Não expostos (n = 49)	
AMP	9(69,2%)	35(71,4%)	0,851
AMP/SULBA	9(69,2%)	24(49,0%)	0,193
PIPE/TAZO	7(53,8%)	9(18,4%)	0,025
CEFOXITINA	13(100,0%)	25(51,0%)	0,001
CEFTAZIDIMA	13(100,0%)	22(44,9%)	0,001
CEFTRIAXONA	13(100,0%)	23(46,9%)	0,001
CEFEPIMA	13(100,0%)	20(40,8%)	<0,001
IMIPENEM	5(38,5%)	1(2,0%)	<0,001
MEROPENEM	13(100,0%)	3(6,1%)	<0,001
AMICACINA	7(53,8%)	2(4,1%)	<0,001
GENTAMICINA	3(23,1%)	6(12,2%)	0,587
CIPROFLOXACINO	7(53,8%)	18(36,7%)	0,264
COLISTINA	1(7,7%)	1(2,0%)	-
TRIMSULFA	3(23,1%)	1(2,0%)	-
LEVOFLOXACINO	2(15,4%)	0(0,0%)	-
TOBRAMICINA	2(15,4%)	0(0,0%)	-

Tabela 17. Prevalência de uso dos antimicrobianos, segundo o grupo avaliado.

Antimicrobiano	Grupo avaliado		p-valor
	Expostos	Não	

	(n=13)	expostos (n=49)	
PIPE/TAZO	10(83,3%)	32(65,3%)	0,315
CEFTAZIDIMA	0(0,0%)	8(16,3%)	-
CEFTRIAXONA	3(23,1%)	21(42,9%)	0,193
MEROPENEM	13(100,0%)	31(63,3%)	0,024
AMICACINA	11(84,6%)	12(24,5%)	0,001

Referências

1. ALVES, A. P.; BEHAR, P. R. P. Infecções hospitalares por enterobactérias produtoras de Kpc em um hospital terciário do sul do Brasil. **Revista da AMRIGS, Porto Alegre, 57 (3): 213-218, jul.-set. 2013**, v. 57, n. 3, p. 213–218, 2013.
2. AQUINO, D. S. DE. Por que o uso racional de medicamentos deve ser uma prioridade? **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 13, p. 733–736, 2008.
3. BART, Y. et al**.** Risk Factors for Recurrence of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Carriage : Case-Control Study **Infection Control & Hospital Epidemiology**. n. May, 2015.
4. CABRAL, A. B. et al. Detection of bla KPC-2 in Proteus mirabilis in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** v. 48, n. 1, p. 94–95, 2015.
5. CABRAL, A. B. et al. Clonal spread and accumulation of b -lactam resistance determinants in Enterobacter aerogenes and Enterobacter cloacae complex isolates from infection and colonization in patients at a public hospital in Recife, Pernambuco, Brazil. **Journal of Medical Microbiology** p. 1–8, 2017.
6. CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 20th Informational Supplement M100-S20-U. Wayne, PA, USA: **CLSI**, 2016.
7. DA SILVA, R. M.; TRAEBERT, J.; GALATO, D. Klebsiella pneumoniae carbapenemase (KPC)-producing Klebsiella pneumoniae: a review of epidemiological and clinical aspects. **Expert opinion on biological therapy**, v. 12, n. 6, p. 663–71, 2012.
8. FALAGAS, M. E. et al. Risk factors of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae infections: A matched case - Control study. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 60, n. 5, p. 1124–1130, 2007.
9. FANOS, V., Cuzzolin, L. (2008). Causes and manifestations of nephrotoxicity. **Comprehensive Pediatric Nephrology,** pp 1003-1016. Fontana.
10. GARBATI, M. A.; SAKKIJHA, H.; ABUSHAHEEN, A. Infections due to Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae among Saudi Arabian Hospitalized Patients : A Matched Case-Control Study. **BioMed Research Internationa**l v. 2016, 2016.

11. KONTOPIDOU, F. et al. Infections caused by carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae among patients in intensive care units in Greece: A multi-centre study on clinical outcome and therapeutic options. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 20, n. 2, p. O117–O123, 2014.
12. LIMA, M. E.; ANDRADE, D. DE; HAAS, V. J. Avaliação prospectiva da ocorrência de infecção em pacientes críticos de unidade de terapia intensiva. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 19, p. 342–347, 2007.
13. MARGATE E. , VERA MAGALHÃES, LORENA CRISTINA CORRÊA FEHLBERG, A. C. G. & A. C. S. L. KPC-PRODUCING Serratia marcescens IN A HOME-CARE PATIENT FROM RECIFE , BRAZIL. **Rev. Inst. Med. Trop.** Sao Paulo v. 57, n. 4, p. 359–360, 2015.
14. MONTEIRO, J. et al. First report of KPC-2-producing Klebsiella pneumoniae strains in Brazil. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 1, p. 333–334, 2009.
15. MOREIRA, H. G. et al. Diabetes mellitus , hipertensão arterial e doença renal crônica : estratégias terapêuticas e suas limitações. **Rev Bras Hipertens** v. 15, n. 2, p. 111–116, 2008.
16. PATEL, OLIVEIRA, ZHOU, ET AL. Risk factors and Outcomes of Infections Caused by Extremely Drug-Resistant Gram-Negative Bacilli in Patients Hospitalized in Intensive Care Units. **Am J Infect Control**, n. 2, p. 626–631, 2015.
17. POLLETT, S. et al. Phenotypic and molecular characteristics of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in a health care system in Los Angeles, California, from 2011 to 2013. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 52, n. 11, p. 4003–4009, 2014.
18. REULAND E.. A , N. AL NAIEMI1–3, A. M. KAISER1, M. HECK4, J. A. J.W. KLUYTMANS1, 5, 6, P. H. M. SAVELKOUL1, P. J. M. E. AND C. M. J. E. V.-G. Prevalence and risk factors for carriage of ESBL-producing Enterobacteriaceae in Amsterdam. **J Antimicrob Chemother** n. January, p. 1076–1082, 2016.
19. SAHIN, K. et al. Evaluation of carbapenem resistance using phenotypic and genotypic techniques in Enterobacteriaceae isolates. **Annals of clinical microbiology and antimicrobials**, v. 14, n. 1, p. 44, 2015.

20. SEIBERT, G. et al. Nosocomial infections by Klebsiella pneumoniae carbapenemase producing enterobacteria in a teaching hospital. **Einstein (Sao Paulo)**, v. 12, n. 3, p. 282–286, 2014.
21. SCHWABER, M. J. et al. Predictors of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae acquisition anions hospitalized adults and effect of acquisition on mortality. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 52, n. 3, p. 1028–1033, 2008.
22. SUPERTI, S. V; AUGUSTI, G.; ZAVASCKI, A. P. Risk factors for and mortality of extended-spectrum-beta-lactamase-producing Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli nosocomial bloodstream infections. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 51, n. 4, p. 211–216, 2009.
23. SIEW, E., Ware, L., Ikizler, T. (2011). Biological markers of acute kidney injury. **J Am Soc Nephrol,** 22, pp 810-820. Sousa
24. TUON, F. F. et al. Risk factors for KPC-producing Klebsiella pneumoniae bacteremia. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 16, n. 5, p. 416–419, 2012.
25. WANG, Q. et al. Risk factors and clinical outcomes for carbapenem-resistant Enterobacteriaceae nosocomial infections. **Eur J ClinMicrobiol Infect disceases.** 2016.