

Guilherme Henrique Campos Furtado

**PNEUMONIA HOSPITALAR CAUSADA POR *Pseudomonas*
aeruginosa RESISTENTE A CARBAPENEM:
FATORES DE RISCO E IMPACTO DO TRATAMENTO E DA
PRESENÇA DA METALO-BETA-LACTAMASE SPM-1 NA
EVOLUÇÃO CLÍNICA**

Tese apresentado à Universidade Federal
de São Paulo Escola Paulista de Medicina
para Obtenção do Título de Doutor em
Ciências da Saúde.

São Paulo
2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Guilherme Henrique Campos Furtado

**PNEUMONIA HOSPITALAR CAUSADA POR *Pseudomonas aeruginosa* RESISTENTE A CARBAPENEM:
FATORES DE RISCO E IMPACTO DO TRATAMENTO E DA
PRESENÇA DA METALO-BETA-LACTAMASE SPM-1 NA
EVOLUÇÃO CLÍNICA**

Tese apresentado à Universidade Federal de São Paulo Escola Paulista de Medicina para Obtenção do Título de Doutor em Ciências da Saúde.

Orientador:

Prof. Dr. Eduardo Alexandrino Servolo de Medeiros

Co-orientador:

Prof. Dra. Ana Cristina Gales

São Paulo
2008

Furtado, Guilherme Henrique Campos

Pneumonia Hospitalar causada por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem : fatores de risco e impacto do tratamento e da presença da metalo-beta-lactamase SPM-1 na evolução clínica / Guilherme Henrique Campos Furtado. – São Paulo, 2008.
xii, 120f.

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

Título em inglês: Nosocomial Pneumonia due to carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: risk factors and impact of treatment and presence of metallo-beta-lactamase SPM-1 on clinical outcome.

1. Pneumonia hospitalar. 2. *Pseudomonas aeruginosa*. 3. Resistência a antibióticos 4. Polimixina 5. Fatores de risco. 6. Evolução.

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

Chefe do Departamento:

Prof. Dr. Ângelo Amato Vincenzo de Paola

Coordenador do Curso de Pós-Graduação:

Prof. Dr. Ricardo Sobhie Diaz

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Antônio Carlos Campos Pignatari

Prof. Dr. Jorge Luís Nobre Rodrigues

Prof. Dra. Sílvia Figueiredo Costa

Dra. Simone Aranha Nóuer

Dedicatória

*Dedico este trabalho a minha esposa Luciana,
por seu amor e apoio imprescindíveis na conclusão deste trabalho.*

*Também aos meus filhos Thiago, Bruno, Bianca e minha enteada Julianne
por serem uma parte insubstituível em minha vida.*

Agradecimentos

Ao Prof. Eduardo Alexandrino Servolo de Medeiros, minha gratidão pelo imenso apoio, acolhida e confiança em todas as minhas escolhas, bem como pela orientação, incentivo, camaradagem e amizade.

A Profa. Dra. Ana Cristina Gales, pela co-orientação nesta tese, mas principalmente pela disposição, e estímulo nas discussões e por demonstrar ser possível a realização de pesquisas de alto nível em nosso meio.

Ao Prof. Dr. Sérgio Barsanti Wey, pela grande acolhida, receptividade, apoio e amizade desde a minha chegada à São Paulo.

Ao Prof. Antônio Carlos Campos Pignatari, por sempre me estimular na observação e discussão dos grandes temas relacionados à resistência bacteriana.

Ao colega Anderson, pela sua inestimável ajuda no laboratório Alerta, para a conclusão deste estudo.

Ao Dr. Carlos Alberto Pires Pereira, Dra. Luci Correa e Dra. Paola Capellani pela fenomenal acolhida no grupo de antimicrobianos que vem me possibilitando desenvolver novos estudos nessa área.

Aos docentes e assistentes da Disciplina de Infectologia da Escola Paulista de Medicina, pela calorosa acolhida e incentivos, desde a minha chegada em São Paulo, em particular, aos Professores Arnaldo Lopes Colombo e Reinaldo Salomão.

Às enfermeiras da Comissão de Epidemiologia Hospitalar, Fernanda, Daniela Bicudo, Daniela Escudeiro pela amizade e convívio diário profícuo nestes últimos anos.

À todos os outros membros da Comissão de Epidemiologia Hospitalar, também pela amizade e colaboração.

À minha família e a todos que me apoiaram no desenvolvimento deste estudo.

*Vós, investigadores, não deveis confiar em autores que,
apenas pelo emprego da imaginação, se fazem intérpretes
entre a natureza e o homem, mas somente naqueles que
exercitaram seu intelecto com os resultados de
experimentos”*

Leonardo da Vinci

*“Toda a nossa ciência, comparada com a realidade, é
primitiva e infantil- e no entanto, é a coisa mais preciosa
que temos”*

Albert Einstein

Sumário

Dedicatória.....	iv
Agradecimentos.....	v
Lista de tabelas.....	ix
Resumo	xi
1. INTRODUÇÃO	1
1. 1 Agente etiológico	2
1. 2 Envelope celular	4
1. 3 Mecanismos de resistência aos antibióticos β -lactâmicos	5
1.3.1 Alteração das PBPs.....	5
1.3.2 Produção de beta-lactamases.....	6
1.3.3 Alteração da permeabilidade da membrana externa e efluxo	7
1. 4 Epidemiologia das infecções por <i>Pseudomonas aeruginosa</i> multirresistente	10
2. OBJETIVOS	15
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS	17
3. 1 Casuística	17
3. 2 Desenhos utilizados no estudo	17
3. 3 Método para coleta de dados	18
3.3.1 Dados referentes aos pacientes	18
3. 4 Definições	21
3. 5 Análise microbiológica	23
3.5.1 Identificação das amostras de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	23
3.5.2 Teste de sensibilidade <i>in vitro</i> aos antimicrobianos	23
3.5.3 Diluição em agar.....	24
3.5.4 Detecção da produção de Metallo- β -lactamases	25
3. 6 Análise estatística	26
4. RESULTADOS	29
4. 1 Fatores de risco para o surgimento de pneumonia por <i>Pseudomonas aeruginosa</i> resistente a carbapenem	29
4.1.1 Estudo Ia	29
4.1.2 Estudo Ib	40
4. 2 Fatores associados à evolução desfavorável em pacientes com pneumonia nosocomial por <i>Pseudomonas aeruginosa</i> resistente a carbapenem tratados com polimixina B	49
4.2.1 Diagnóstico de admissão	50
4.2.2 Local de aquisição da pneumonia	50

4.2.3	Microorganismos isolados concomitantemente.....	51
4.2.4	Sensibilidade aos antimicrobianos	52
4.2.5	Deteção da produção de Metallo- β -lactamase	53
4.2.6	Terapia antimicrobiana combinada	54
4.2.7	Análise dos fatores associados à evolução desfavorável	54
4. 3	Fatores associados à presença da metallo- β -lactamase SPM-1 e evolução clínica em cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> resistente a carbapenem causando pneumonia nosocomial.	65
4.3.1	Análise Univariada.....	65
5.	DISCUSSÃO	76
6.	CONCLUSÕES	98
7.	ANEXO.....	101
8.	REFERÊNCIAS.....	107
	Abstract.....	121

Lista de tabelas

Tabela 1 – Temperatura de cada gene específico amplificado pela técnica de PCR Multiplex	26
Tabela 2 – Diagnóstico de internação dos casos resistentes (Estudo Ia)	29
Tabela 3 – Diagnóstico de internação dos controles (Estudo Ia)	30
Tabela 4 – Perfil de Sensibilidade Antimicrobiana por difusão em disco das cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> incluídas no Estudo Ia	31
Tabela 5 – Análise Univariada dos fatores de risco associados ao surgimento de Pneumonia por <i>Pseudomonas aeruginosa</i> resistente à carbapenem	36
Tabela 6 – Análise Multivariada dos fatores de risco relacionados ao surgimento de Pneumonia por <i>Pseudomonas aeruginosa</i> resistente à carbapenem. (Estudo Ia).....	39
Tabela 7 – Diagnóstico de internação dos casos sensíveis	40
Tabela 8 – Perfil de sensibilidade antimicrobiana das cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Estudo Ib).....	41
Tabela 9 – Análise univariada dos fatores de risco associados ao surgimento de pneumonia por <i>Pseudomonas aeruginosa</i> sensível a carbapenem (Estudo Ib).	46
Tabela 10 – Análise multivariada dos fatores de risco relacionados ao surgimento de pneumonia por <i>Pseudomonas aeruginosa</i> sensível a carbapenem (Estudo Ib).	49
Tabela 11 – Diagnóstico de admissão dos pacientes com pneumonia por <i>Pseudomonas aeruginosa</i> resistente a carbapenem tratados com polimixina B internados no período 1997 a 2004.	50
Tabela 12 – Local de aquisição da pneumonia por <i>Pseudomonas aeruginosa</i> resistente a carbapenem.	51

Tabela 13 – Microorganismos isolados concomitante em episódios de pneumonia por <i>Pseudomonas aeruginosa</i> resistente a imipenem	51
Tabela 14 – Sensibilidade antimicrobiana das amostras de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> resistente a carbapenem nos episódios de pneumonia tratados com polimixina B.....	52
Tabela 15 – Concentração Inibitória mínima (CIM) das amostras de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> resistente a carbapenem por diluição em ágar.	53
Tabela 16 – Antimicrobianos utilizados em terapia combinada com a polimixina B	54
Tabela 17 – Análise univariada dos fatores associados à evolução desfavorável em pacientes com pneumonia causada por <i>Pseudomonas aeruginosa</i> resistente a carbapenem tratados com polimixina B	60
Tabela 18 – Análise multivariada dos fatores associados com evolução desfavorável	62
Tabela 19 – Análise univariada II. Relação entre presença de metalo- β -lactamase SPM-1 e tratamento combinado com imipenem e evolução clínica	63
Tabela 20 – Análise comparativa da sobrevida em dias dos pacientes com terapia combinada (polimixina B + imipenem) versus terapia simples (polimixina B).....	64
Tabela 21 – Análise univariada dos fatores associados à presença da metalo- β -lactamase SPM-1 em amostras de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isoladas de episódios de pneumonia nosocomial.	71
Tabela 22 – Análise univariada dos fatores relacionados à evolução clínica.....	74

Resumo

Objetivo: O estudo procurou determinar os fatores de risco independentes para o surgimento de pneumonia hospitalar por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem em uma UTI clínico-cirúrgica. Foram também estudados os fatores relacionados à evolução desfavorável nesses episódios de pneumonia nosocomial tratados com polimixina B e os fatores de risco e evolução dos episódios causados por cepas portadoras da metalo- β -lactamase SPM-1. **Método:** O estudo foi realizado no Hospital São Paulo, hospital terciário de ensino da Universidade Federal de São Paulo. No estudo de fatores de risco para pneumonia hospitalar por *Pseudomonas aeruginosa*, foram avaliados pacientes internados na UTI da Anestesiologia, no período de 2002 a 2005, através de um estudo tipo caso-caso-controle. Pacientes com episódios de pneumonia com cepas resistentes a imipenem e pacientes com pneumonia por cepas sensíveis a imipenem foram designados como casos resistentes (estudo Ia) e sensíveis (estudo Ib), respectivamente. Os controles foram pacientes da mesma unidade, internados no mesmo período. O segundo estudo, sobre evolução clínica em pacientes tratados com polimixina B, analisou pacientes internados em UTIs do hospital, no período de 1997 a 2005, através de um estudo caso-controle aninhado dentro dessa coorte. Os casos foram pacientes com evolução desfavorável, e os controles foram pacientes com evolução favorável. O terceiro estudo utilizou também a metodologia caso-controle aninhado nessa mesma coorte de pacientes. Os casos eram pacientes com pneumonia por cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem e portadora da metaloenzima SPM-1, e os controles eram pacientes com cepas sem a presença dessa metaloenzima. **Resultados:** Nos estudos Ia e Ib, 58 casos resistentes, 47 casos sensíveis e 237 controles foram avaliados. Os fatores independentemente relacionados ao surgimento de pneumonia no estudo Ia foram: tempo de hospitalização(OR 1,19 IC95%: 1,12-1,26, $p < 0,001$); escore APACHE II(OR 1,11 IC95%: 1,01-1,22, $p=0,03$); sexo masculino(OR 8,01 IC95%: 1,66-38,51, $p=0,009$); uso de hemodiálise(OR 6,85 IC95%: 1,33-35,2, $p=0,02$); uso de corticóide (OR 13,18 IC95%:3,80-45,64, $p<0,001$); uso de piperacilina-tazobactam(OR 14,31 IC95%:1,02-200,16, $p=0,04$) e uso de cefalosporinas de 3ª geração(OR 7,45 IC95%: 1,80-30,86, $p=0,006$). Os fatores independentemente relacionados ao surgimento de pneumonia

nosocomial por *Pseudomonas aeruginosa* sensível a carbapenem (estudo Ib) foram: tempo de internação na UTI(OR 1,02 IC95%: 1,01-1,04, p=0,004) e uso de corticóide(OR 12,32 IC95%: 5,81-26,10, p< 0,001). O único fator independentemente relacionado ao surgimento de pneumonia nos dois estudos foi o uso de corticóide. Portanto, a razão de chances real do uso de corticóide no surgimento de episódios de pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem foi de 1,06 (valor da OR do estudo Ia dividido pela OR do estudo Ib). Setenta e quatro pacientes com pneumonia hospitalar tratados com polimixina B foram avaliados quanto à evolução. A mortalidade atribuível à pneumonia causada por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem foi de 29,8%. Os fatores relacionados à evolução desfavorável nesses episódios de pneumonia foram: presença de choque séptico (OR 4,81 IC95%: 1,42-16,25, p=0,01) e presença de síndrome do desconforto respiratório agudo (OR 11,29 IC95%: 2,64-48,22, p=0,001). Vinte e nove desses 74 pacientes foram analisados quanto à presença de metalo-β-lactamases. Apenas cinco pacientes apresentavam cepas produtoras de SPM-1. A presença de SPM-1 não teve impacto na evolução desses episódios (p=0,67). O tratamento combinado com polimixina B e imipenem, em pacientes com *Pseudomonas aeruginosa* sem a presença da SPM-1, não teve impacto positivo na evolução clínica (p=0,67), nem na sobrevida desses pacientes. Nenhuma variável se mostrou independentemente associada ao surgimento de episódios de pneumonia por cepas portadoras de SPM-1. Apenas o sexo feminino apresentou uma tendência na análise univariada (OR 9,71; IC95%: 0,92-103,04; p=0,05). Também não houve diferença nas variáveis relacionadas à evolução clínica entre os pacientes com cepas de *Pseudomonas aeruginosa* produtora de SPM-1. **Conclusões:** Em nosso estudo, o uso de corticóide foi a única variável independentemente relacionada ao surgimento de pneumonia nosocomial por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem. A presença de choque séptico e da síndrome do desconforto respiratório agudo foram fatores relacionados à evolução desfavorável nesses episódios. Não encontramos variáveis relacionadas à presença da metalo-enzima SPM-1. A presença dessa enzima não teve impacto na evolução clínica nesse tipo de infecção.

1. INTRODUÇÃO

O acometimento de pacientes hospitalizados ou infectados por bactérias multi-resistentes tem merecido especial atenção dos serviços de controle de infecção hospitalar de forma crescente nos últimos anos. As infecções hospitalares causadas por esses agentes representam um importante problema de saúde pública, resultando em morbidade, mortalidade e custos significativos. Apesar da grande variedade de microorganismos multi-resistentes específicos em cada país e hospital, *Pseudomonas aeruginosa* é um patógeno de importância crescente (Carmeli et al., 1999a).

Uma variedade de fatores contribui para a emergência de microorganismos multi-resistentes. Esses incluem práticas de controle de infecção hospitalar inadequada, uso excessivo ou inadequado de antimicrobianos, procedimentos invasivos e aumento do número de pacientes imunocomprometidos internados em hospitais (Flaherty, Weinstein, 1996; Hoppe, 1997). Conforme relatado por Gaynes (1995) esse problema se agrava em hospitais de ensino.

Um estudo sobre vigilância do uso de antimicrobianos e de incidência de microorganismos multi-resistentes em hospitais dos Estados Unidos demonstrou que as maiores taxas de isolamento desses microorganismos ocorrem nas unidades de terapia intensiva (UTIs). Nas UTIs pôde-se observar alto índice de uso de antimicrobianos, proporcional às elevadas taxas de isolamento de microorganismos multirresistentes (Fridkin et al., 1999).

Cepas de microorganismos resistentes a vários antimicrobianos são comuns. Na década de 90, infecções causadas por *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa* resistentes aos carbapenems – o grupo de β -lactâmicos de maior espectro de ação – foram inicialmente descritas (Levin et al., 1996; Carmeli et al., 1999a). Essas infecções estão associadas a alta mortalidade (Levin et al., 1996) e poucas opções terapêuticas disponíveis (Go et al., 1994; Levin et al., 1999).

Vários estudos demonstraram a associação entre o uso de antimicrobianos e o desenvolvimento de cepas resistentes de *A. baumannii* e *P. aeruginosa*. Em particular, foi aventada a hipótese de que o uso de imipenem induz à emergência de

cepas resistentes a este antimicrobiano, especialmente no caso de *A. baumannii* (Go et al., 1994) e *P. aeruginosa* (Carmeli et al., 1999b; Cailleaux et al., 1997).

A disseminação intra-hospitalar de microorganismos multirresistentes ocorre principalmente de forma horizontal, tanto via paciente–paciente como via profissional de saúde–paciente. Foi demonstrado que a transmissão horizontal é a principal forma de disseminação de cepas multi-resistentes em unidades de terapia intensiva (Cailleaux et al., 1997). Estudos recentes, entretanto, têm demonstrado que a transmissão cruzada parece não ser o principal mecanismo no surgimento de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* em pacientes internados em UTIs (Bonten et al., 1999). Grundmann et al., 2005 também demonstraram que apenas 14.5% das infecções adquiridas em UTI eram causadas por transmissão entre pacientes aumentando a importância da pressão seletiva de antimicrobianos como a causa do surgimento desses patógenos em ambiente hospitalar.

1. 1 Agente etiológico

Pseudomonas aeruginosa é um bacilo gram-negativo estritamente aeróbico, não esporulado, cuja principal característica é não utilizar carboidratos como fonte de energia; sendo, portanto, uma bactéria não fermentadora de glicose. Cresce preferencialmente à temperatura de 37°C, mas pode apresentar crescimento em temperaturas que variam de 5°C a 42°C. Mede aproximadamente 1,5 a 3,0µm de comprimento e 0,5 µm de largura. Apresenta um único flagelo que lhe confere mobilidade (Forkner, 1960).

P. aeruginosa tem distribuição ubíqua na natureza devido à sua capacidade de sobreviver por longos períodos em ambientes úmidos e de usar vários substratos como fonte de energia. Ela pode ser encontrada na água, solo, plantas e alguns animais. Pode inclusive se desenvolver em água destilada, e sua adaptação a várias condições ambientais contribui para o seu sucesso como patógeno oportunista, causando infecções principalmente em pacientes imunocomprometidos, pacientes que sofrem queimaduras ou doentes com cateteres intravenosos e exposição prévia a antimicrobianos. Portanto, a *P. aeruginosa* é um patógeno quase que exclusivamente hospitalar (Young, 1977).

Os reservatórios hospitalares desta bactéria incluem: equipamentos de ventilação mecânica, soluções de limpeza, desinfetantes, medicamentos, pias, fluidos de administração intravenosa, soluções oftálmicas e etc. (Beck-Sagué et al., 1994). *P. aeruginosa* também pode ser transmitida através das mãos de profissionais que manipulam doentes infectados por esta bactéria (Widmer et al., 1993).

A chance de colonização de pessoas saudáveis ou no ato da internação hospitalar é relativamente baixa. No entanto, a hospitalização está relacionada ao aumento importante das taxas de colonização, especialmente em pacientes com queimaduras e naqueles submetidos à ventilação mecânica. Altas taxas de colonização por *P. aeruginosa* também são encontradas no trato gastrointestinal de pacientes submetidos à quimioterapia e em praticamente todos os sítios de pacientes recebendo antimicrobianos (Bonten et al., 1999).

Os dados do sistema NNIS – “National Nosocomial Infections Surveillance System” nos EUA – realizado entre 1985 e 1991, mostram que *P. aeruginosa* foi considerada o quinto patógeno mais frequentemente isolado, sendo responsável por 10,1% das infecções hospitalares nesse período (total de 181,381 infecções). Foi a principal causa de pneumonias hospitalares (16,8%), a terceira causa de infecções urinárias, a quinta causa de infecções de ferida cirúrgica e a oitava causa de infecções da corrente sanguínea. Os pacientes internados em unidades de terapia intensiva apresentaram maior frequência de infecção e/ou colonização por esse patógeno (Beck-Sagué et al., 1994). Dados mais recentes (2003), também do NNIS demonstraram 21.1% de resistência a imipenem nas amostras de *Pseudomonas aeruginosa* em hospitais americanos, com aumento de 15% nessa incidência quando comparado ao período de 1998-2002 (NNIS report, 2004).

De 1997 a 1999, 6.631 cepas de *Pseudomonas aeruginosa* foram analisadas pelo programa SENTRY de acordo com o sítio de infecção e região geográfica. A fonte de infecção mais comum foi o trato respiratório. A Europa foi a região que apresentou maior declínio nas taxas de suscetibilidade aos beta-lactâmicos e aminoglicosídeos. Houve importante redução de suscetibilidade dos isolados do Canadá ao imipenem e dos isolados da América Latina ao meropenem. A frequência de *Pseudomonas aeruginosa* multi-resistente variou de 8,2% na América Latina a 0,9% no Canadá. No Brasil, *Pseudomonas aeruginosa* foi o terceiro patógeno mais

isolado nas amostras dos pacientes internados nos estabelecimentos avaliados pelo programa SENTRY no período de 1997 a 1999. *Pseudomonas aeruginosa* foi a principal causa de infecções respiratórias, a segunda causa de infecções urinárias e de infecções de ferida cirúrgica. Os principais problemas relacionados à resistência bacteriana entre os gram-negativos foram: a resistência a imipenem nas cepas de *Pseudomonas aeruginosa* (69,8% de suscetibilidade). Este programa inclui desde hospitais universitários e terciários como o Hospital São Paulo (UNIFESP), até pequenas clínicas privadas (Sader et al., 2001).

Andrade et al., 2003 também relataram um aumento na resistência antimicrobiana entre isolados de *Pseudomonas aeruginosa* na América Latina num período de cinco anos(1997-2001), também do programa SENTRY. Um total de 1.894 isolados foram avaliados e houve redução de sensibilidade ao imipenem de 77% para 62,2% e ao meropenem de 83% para 64,4% entre 1997 e 2001, $p < 0.001$.

Outro recente estudo realizado em nosso serviço que analisou culturas clínicas positivas para *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter* spp num período de sete anos (1997-2003) demonstrou uma elevada incidência de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenens (em média acima de 50%)(Furtado et al.,2006). Além disso, a *Pseudomonas aeruginosa* vem se mantendo como o principal patógeno isolado de episódios de infecções hospitalares no Hospital São Paulo nos últimos anos (dados do SPCIH, Hospital São Paulo).

1. 2 Envelope celular

Os bacilos gram-negativos apresentam um envelope celular composto por duas membranas externas: a camada de peptidoglicano e a membrana citoplasmática externa.

A membrana externa apresenta proteínas que constituem os canais chamados de porinas e que são responsáveis pela nutrição bacteriana (Nikaido, 1985). Como as PBPs (do inglês, Penicillin Binding Protein) se situam na membrana citoplasmática, os antibióticos β -lactâmicos precisam cruzar a membrana externa através desses canais.

Essas estruturas estão diretamente relacionadas à resistência aos carbapenens e à conseqüente dissociação que pode ocorrer entre a resistência aos carbapenens e às cefalosporinas (Troillet et al., 1997).

1. 3 Mecanismos de resistência aos antibióticos β -lactâmicos

P. aeruginosa pode apresentar altas taxas de resistência à maioria dos antimicrobianos habitualmente utilizados no ambiente hospitalar. As opções terapêuticas incluem aminoglicosídeos, fluoroquinolonas, penicilinas de amplo espectro, monobactâmicos, cefalosporinas de terceira e de quarta gerações e carbapenens.

As drogas que geralmente apresentam melhor atividade contra *P. aeruginosa* são os carbapenens: imipenem e meropenem (Gales et al., 1997). No entanto, a resistência a estes antimicrobianos tem aumentado nos últimos anos (Troillet et al., 1997).

Os β -lactâmicos são os antimicrobianos mais amplamente utilizados na prática clínica. A resistência bacteriana a esta classe de antimicrobianos pode estar relacionada a qualquer um das fases envolvidas no mecanismo de ação dessas drogas, ou seja, a síntese da parede celular bacteriana.

Três mecanismos básicos de resistência aos β -lactâmicos têm sido descritos (Pitout et al. 1997).

1. Alteração do sítio de ligação devido à alteração das proteínas ligadoras de penicilinas (PBPs);
2. Degradação da droga pela produção de β -lactamases;
3. Alteração da permeabilidade da membrana externa e efluxo.

1.3.1 Alteração das PBPs

A alteração das PBPs é o principal mecanismo de resistência aos antimicrobianos β -lactâmicos em bactérias gram-positivas e em algumas bactérias

fastidiosas gram-negativas como a *Neisseria gonorrhoeae*. Esse mecanismo é raro nos bacilos gram-negativos (Sanders, Sanders, 1992).

1.3.2 Produção de beta-lactamases

As beta-lactamases são enzimas que catalisam a hidrólise do anel β -lactâmico, impossibilitando assim a atividade antimicrobiana. São produzidas por várias espécies, tanto gram-positivas quanto gram-negativas, porém com diferenças estruturais e localizações diferentes.

Nas bactérias gram-negativas essas enzimas encontram-se estrategicamente localizadas no espaço periplásmico, podendo alcançar maiores concentrações e agir de modo mais eficaz sobre os antibióticos β -lactâmicos que atravessam o espaço periplásmico para alcançar as PBPs, que são seu sítio de ligação. Este é o principal mecanismo de resistência das bactérias gram-negativas a essa classe de antimicrobianos (Livermore, 1995; Pitout et al., 1997).

O sinal para a codificação das β -lactamases pode estar localizado no cromossomo bacteriano ou no DNA extra-cromossômico (plasmídeos ou “transposons”) (Livermore, 1991).

Algumas bactérias gram-negativas produzem beta-lactamases mediadas cromossomicamente. Estas enzimas foram classificadas por Bush et al. (1995) como pertencentes à classe C ou grupo 1 e são codificadas pelo gene *ampC*.

Esta classificação divide as beta-lactamases em grupos:

Grupo 1 – Cefalosporinases que não são inibidas pelo ácido clavulânico;

Grupo 2 – Beta-lactamases que são inibidas pelos inibidores de beta-lactamase, subdivididas em classes A até D;

Grupo 3 – Metalobetalactamases que são pobremente inibidas por todos os inibidores de beta-lactamase;

Grupo 4 – Penicilinasas que não são inibidas pelo ácido clavulânico.

As beta-lactamases cromossômicas podem ser classificadas em indutivas e constitutivas (desreprimidas). As constitutivas são produzidas permanentemente e

independente da presença do antibiótico β -lactâmico; as beta-lactamases indutivas podem ter sua produção aumentada pela presença do antibiótico β -lactâmico. Quando este é retirado, podem voltar a ser sintetizadas em menor quantidade pela bactéria. A produção de beta-lactamases pode ser induzida em graus variáveis pelos diversos antimicrobianos, e estes podem ser estáveis ou lábeis à degradação causada por elas (Jones, 1998).

Na *P. aeruginosa* o gene estrutural foi clonado e seqüenciado, mostrando ser uma típica beta-lactamase cromossômica do grupo 1 (*AmpC*). A produção desta enzima é induzida pelo contato da célula com níveis baixos de β -lactâmicos, em especial o imipenem (Hancock, 1998). Amostras de *Enterobacter cloacae* e *Pseudomonas aeruginosa* podem originar mutantes que passam a produzir constitutivamente essas enzimas em grande quantidade (Medeiros, 1997).

O mecanismo da resistência aos carbapenems mais comum é decorrente da produção de altas quantidades de beta-lactamases cromossômicas induzíveis (Grupo 1 ou Classe C) associada à redução da permeabilidade da membrana externa por perda de porinas.

Pseudomonas aeruginosa e *Acinetobacter baumannii* podem ainda produzir metaloenzimas chamadas carbapenemases mediadas por plasmídeos, sendo este mecanismo descrito principalmente em cepas isoladas no Japão (Livermore, 1997; Stunt et al., 1998). Essas enzimas são eficientes na hidrólise dos carbapenems, sem a necessidade da alteração simultânea da permeabilidade da membrana externa. Estudos mais recentes já mostram presença dessas metalo-betalactamases em vários países inclusive no Brasil. Atualmente são descritas seis classes de metalo-betalactamases (IMP, VIM, SPM, GIM, SIM e AIM). No Brasil inclusive foi descrita uma nova enzima pertencente a este grupo, a SPM-1 (Toleman et al., 2002).

1.3.3 Alteração da permeabilidade da membrana externa e efluxo

Como somente os microorganismos gram-negativos possuem membrana externa, este mecanismo ocorre apenas neste grupo de bactérias e geralmente é acompanhado da produção de beta-lactamases.

Estas bactérias são envolvidas por uma segunda membrana composta de lipopolissacárides com canais que impedem a penetração rápida de antibióticos lipofílicos, funcionando efetivamente como uma barreira ou desenvolvendo mecanismos de efluxo. Esse mecanismo de resistência é mais observado em amostras de *P. aeruginosa* e de bacilos gram-negativos fastidiosos (Nikaido, 1994).

A redução da permeabilidade ocorre quando bactérias mutantes passam a não produzir mais os habituais canais da membrana externa bacteriana (porinas), locais por onde penetram os beta-lactâmicos (Nikaido, 1985, 1989). O mecanismo de efluxo envolve o uso de barreiras e bombeamento ativo de drogas para fora da bactéria, conforme descoberto por Levy (1992). Esse mecanismo pode ser encontrado tanto em gram-negativos como em gram-positivos.

A principal característica dos sistemas de efluxo bacteriano é sua codificação cromossomal e a ampla especificidade de compostos que podem ser extruídos do interior da célula bacteriana, promovendo assim multirresistência a antimicrobianos de classes estruturalmente distintas (Poole, 2002).

Os sistemas de efluxo são agrupados em cinco famílias, primariamente de acordo com a homologia da sequência de aminoácidos que as compõem. As famílias são: MFS ("major facilitator superfamily"), ABC ("ATP binding cassette"), RND ("resistance-nodulation-division"), SMR ("small multidrug resistance") e MATE ("multidrug and toxic compound extrusion"). Sistemas de efluxo que extruem antimicrobianos de importância clínica, geralmente, pertencem às famílias RND ou MFS (Poole, 2002).

Os sistemas de efluxo da família RND são constituídos por uma bomba de efluxo situada na membrana interna ou citoplasmática, uma proteína formadora do canal extrusor na membrana externa (OMP) e uma proteína de fusão (MFP) que liga estes dois componentes. O sistema RND-MFP-OMP é prevalente em bactérias Gram-negativas e possuem um amplo espectro, ejetando substratos como antimicrobianos, antissépticos, desinfetantes, detergentes, ácidos graxos, sais de bile, hidrocarbonetos aromáticos, tais como solventes orgânicos, entre outros, desempenhando um importante papel na resistência intrínseca e adquirida de várias bactérias Gram-negativas (Nikaido, 1994; Poole, 2002).

Até o presente momento, quatro principais sistemas de efluxo pertencentes a família RND foram descritos em *P. aeruginosa*: i) MexAB-OprM, ii) MexCD-OprJ, iii) MexEF-OprN, iv) MexXY-OprM, contudo, pelos menos cinco outros sistemas aguardam caracterização (Livermore, 2002). Esses sistemas contribuem para a resistência intrínseca e adquirida da *P. aeruginosa* a vários antimicrobianos, como tetraciclina, fluoroquinolonas, cloranfenicol, eritromicina e beta-lactâmicos (Li et al., 1994), além de conferir resistência a compostos quaternários de amônio e desinfetantes (Nikaido, 1998).

Entre os sistemas de efluxo caracterizados, o sistema MexAB-OprM é o que tem a mais notória expressão e contribui para a extrusão de uma grande variedade de beta-lactâmicos, além de fluoroquinolonas, tetraciclina, macrolídeos, cloranfenicol, eritromicina, novobiocina, trimetoprim e sulfonamidas, apresentando-se como um importante fator na multirresistência em *P. aeruginosa* (Li et al., 2003; Poole, 2002).

Identificado como determinante de resistência a fluoroquinolonas, o sistema MexCD-OprJ tem como substratos uma variedade de agentes antimicrobianos que incluem os macrolídeos, cloranfenicol, novobiocina, tetraciclina, trimetoprim, e alguns β -lactâmicos. Originalmente pensava-se ser responsável pela extrusão somente das cefalosporinas de quarta geração, como cefepima e cefpiroma (Gotoh et al., 1998; Poole et al., 1996), porém, estudos mais recentes utilizando mutantes que perderam o sistema MexAB-OprM, mas que hiperexpressavam o sistema MexCD-OprJ, confirmaram que este sistema é capaz de extrair ceftazidima e cefoperazona (Poole, 2002). Não há evidências de que os sistemas MexEF-OprN e MexXY-OprM contribuam diretamente para o efluxo de beta-lactâmicos (Aires et al., 1999; Masuda et al., 2000). Interessantemente, mutantes *nfxB* que hiperexpressam MexEF-OprN, exibem fenótipo de resistência a imipenem, não como resultado direto da hiperexpressão de MexEF-OprN, mas como consequência da concomitante diminuição da expressão de OprD nesses mutantes, uma proteína de membrana externa que permite a entrada de imipenem na *P. aeruginosa*. Assim a diminuição ou ausência da expressão de OprD é frequentemente observado em *P. aeruginosa* resistentes a imipenem (Poole, 2002).

1. 4 Epidemiologia das infecções por *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente

O uso de antimicrobianos causando pressão seletiva é talvez a causa mais importante para o surgimento de *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente em ambiente hospitalar. Recentemente, Paramythiotou et al., 2004 demonstraram que a duração do tratamento com ciprofloxacina foi o único fator de risco independente associado com a aquisição de *Pseudomonas aeruginosa* multi-resistente. Em estudo similar, Harris et al. (2002) também encontraram como fatores de risco para *Pseudomonas aeruginosa* resistente a imipenem, o uso dos seguintes antimicrobianos: imipenem, piperacilina-tazobactam, vancomicina e aminoglicosídeos. O uso de carbapenens e de antibióticos de amplo espectro também foram fatores de risco para aquisição de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a imipenem em uma unidade de queimados (Ozkurt et al., 2005).

Rello et al. (1994), encontraram os seguintes fatores de risco para pneumonia associada a ventilação mecânica por *Pseudomonas aeruginosa*: presença de DPOC, uso de ventilação mecânica por mais de 8 dias, e uso prévio de antibióticos. Talon et al. (1998), também estudando os fatores de risco para pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa* encontraram: duração da hospitalização, uso prévio de cefalosporina de terceira geração não-ativa contra *Pseudomonas aeruginosa* e DPOC. Leroy et al. (2005), estudando os fatores associados com episódios por patógenos resistentes a imipenem causando pneumonia, encontraram: uso prévio de quinolonas, uso prévio de aminoglicosídeos, uso de monitorização invasiva de pressão arterial, e envolvimento bilateral no Rx de tórax. Trinta e um por cento desses episódios eram devido a *Pseudomonas aeruginosa*.

Em um estudo realizado no Hospital das Clínicas em São Paulo (HC-FMUSP) observou-se que o tempo de hospitalização e o número de antimicrobianos utilizados foram considerados fatores de risco independentes para a aquisição de infecções por *P. aeruginosa*. Nesse estudo, 10,3% das 472 amostras de *P. aeruginosa* isoladas eram resistentes a todos os antimicrobianos disponíveis. A mortalidade entre os pacientes com infecção por *P. aeruginosa* multi-resistente foi de 60% e entre os pacientes com infecção por *P. aeruginosa* sensível foi de 43%. No entanto, essa diferença não foi estatisticamente significativa sugerindo que as

cepas multi-resistentes talvez não sejam mais patogênicas do que as cepas sensíveis (Arruda et al., 1999).

Por outro lado, os estudos acima utilizaram apenas um grupo controle para definição dos fatores de risco. Atualmente a tendência é a utilização de estudos com a metodologia caso-caso-controle, como sugerido recentemente por Kaye et al. (2005) e Zavascki et al. (2005), utilizaram esta metodologia estudando os fatores de risco para aquisição de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a imipenem encontrando como fator de risco apenas a exposição a carbapenems. Entretanto, este estudo avaliou todas as infecções causadas por *Pseudomonas aeruginosa* em ambiente hospitalar. Nenhum estudo utilizou esta metodologia para definir fatores de risco para pneumonia nosocomial por *Pseudomonas aeruginosa* multi-resistente.

A literatura, entretanto, também é escassa a respeito da análise molecular e mecanismos de resistência das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* em trato respiratório. Há basicamente três estudos clínicos analisando evolução clínica e mecanismos de resistência.

Hirakata et al. (2003) realizaram um estudo tipo caso-controle comparando 69 pacientes com *P. aeruginosa* bla_{imp} positiva e 247 pacientes com *P. aeruginosa* bla_{imp} negativa e demonstraram que, as cepas bla_{imp} positivas causaram infecção mais frequentemente e que estas infecções ocorreram mais comumente no trato urinário e em pele e partes moles. As cepas bla_{imp} negativas causaram mais infecções do trato respiratório inferior.

Estudo recente de Marra et al. (2006) analisando infecção de corrente sanguínea por *Pseudomonas aeruginosa* no Hospital São Paulo, demonstrou que a presença de metalo- β -lactamases não provocou maior letalidade nesses pacientes. Zavascki et al. (2006) também analisando o efeito de metalo- β -lactamases na mortalidade em infecções nosocomiais por *Pseudomonas aeruginosa*, demonstraram que a presença dessas enzimas resultou em maior mortalidade. Não existem, entretanto, estudos abordando pacientes com pneumonia nosocomial por *Pseudomonas aeruginosa* em relação a esses aspectos e mesmo estudando outros mecanismos de resistência presentes em cepas de *Pseudomonas aeruginosa*.

Em relação ao tratamento da pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa* multi-resistente há na literatura estudos com um pequeno número de pacientes descrevendo a utilização de polimixinas no tratamento desses casos (Linden et al., 2003; Hamer, 2000; Levin et al., 1999; Sobieszczyk et al., 2004).

A polimixina B foi isolada a partir de *Bacillus polymyxa* em 1947 e a colistina (polimixina E) foi isolada a partir do *Bacillus colistinus* em 1950 (Storm et al., 1977). Em 1962, Edgar e Dickinson descreveram o uso bem sucedido das polimixinas no tratamento de infecções causadas por *Pseudomonas pyocyanea*. Até o final dos anos sessenta e início da década seguinte, essas drogas foram utilizadas no tratamento de infecções por *P.aeruginosa*. Com o surgimento das penicilinas anti-*Pseudomonas*, notadamente da carbenicilina e dos aminoglicosídeos com ação anti-*Pseudomonas* essas drogas foram abandonadas. Entretanto, com o progressivo aumento na incidência de infecções causadas por *P.aeruginosa* multirresistente, o interesse pelas polimixinas se reacendeu.

Levin et al. (1999) descreveram o uso de colistina intravenosa para o tratamento de infecções causadas por *P. aeruginosa* e *A. baumannii* multi-resistentes (incluindo os carbapenens) no Hospital das Clínicas (FMUSP) em São Paulo. Dos 60 pacientes tratados, 35 (58%) tiveram bons resultados; três pacientes morreram dentro das primeiras 48 horas de tratamento. Entretanto, os piores resultados foram observados entre os casos de pneumonia: apenas cinco (25%) dos 20 pacientes com pneumonia tratados evoluíram bem. O principal efeito adverso observado foi a insuficiência renal: cerca de 27% dos pacientes com função renal normal apresentaram insuficiência renal, e houve piora da função renal em 58% dos pacientes com níveis iniciais de creatinina normais.

As polimixinas parecem hoje o último recurso no tratamento de infecções por *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente. Entretanto estes antimicrobianos apresentam alguns inconvenientes. As polimixinas têm menor eficácia no tratamento de infecções pulmonares, principalmente devido à sua grande estrutura molecular e pobre penetração na pleura (Sobieszczyk et al., 2004). Estudos recentes têm utilizado terapia combinada, associando as polimixinas a outros antimicrobianos, ex. carbapenens, aminoglicosídeos, rifampicina (Tascini et al., 2004; Ostronoff et al., 2006).

Como a ação das polimixinas se dá basicamente na membrana celular, com sua desregulação, a penetração de outros antimicrobianos poderia ser facilitada exercendo então sua ação. Como os carbapenems são considerados os principais antimicrobianos com ação contra *Pseudomonas aeruginosa*, seria interessante demonstrar esse sinergismo *in vivo*, objetivando uma terapia mais eficaz em infecções respiratórias. Esse sinergismo, entretanto, só funcionaria em amostras não-produtoras de metalo-betalactamases, pois a presença dessas enzimas degradaria os carbapenems.

Devido à importância crescente desse patógeno como causa de infecções hospitalares, notadamente pneumonia, surgiu a necessidade de um estudo para um melhor entendimento dos fatores de risco para o surgimento dessa infecção, bem como, da melhor terapia a ser empregada, analisando a possibilidade de uso de esquemas inovadores de tratamento, baseados nos mecanismos de resistência dessas amostras.

2. OBJETIVOS

- Analisar os fatores de risco independentes para pneumonia nosocomial causada por *P. aeruginosa* resistente a carbapenem.
- Avaliar a resposta ao tratamento com terapia combinada (polimixina B versus polimixina B e imipenem) em pacientes com pneumonia nosocomial causada por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem por mecanismo não- enzimático.
- Identificar os fatores associados à evolução desfavorável em pacientes com pneumonia nosocomial por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem tratados com polimixina B.
- Analisar os fatores associados à presença de episódios de pneumonia nosocomial causada por cepas de *Pseudomonas aeruginosa* produtora da metalo-beta-lactamase SPM-1 e analisar o impacto da presença da metalo-beta-lactamase SPM-1 na evolução clínica dos episódios de pneumonia nosocomial por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem.
- Determinar a mortalidade atribuível à pneumonia nosocomial causada por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem.

3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

3. 1 Casuística

O estudo foi realizado no Hospital São Paulo que é um hospital-escola ligado à Universidade Federal de São Paulo. Conta com aproximadamente 750 leitos distribuídos em 25 enfermarias de diversas especialidades. Possui onze unidades de terapia intensiva nas seguintes áreas: neonatologia, pediatria, anestesiologia, pneumologia, cardiologia, cirurgia cardiovascular, nefrologia, neurocirurgia, clínica médica, pronto-socorro e convênio.

3. 2 Desenhos utilizados no estudo

Três estudos foram realizados com o objetivo de avaliar a epidemiologia e evolução clínica dos episódios de pneumonia hospitalar causada por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem.

O primeiro estudo foi um estudo tipo caso-caso-controle que analisou os fatores de risco independentes para o surgimento de pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem. Foram realizados dois estudos caso-controle separadamente, sendo que no estudo Ia, os casos foram pacientes com pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem e os controles foram pacientes sem infecção, da mesma unidade e no mesmo período de internação (intervalo de seis meses). No estudo Ib, os casos foram pacientes com pneumonia por *P.aeruginosa* sensível a carbapenem e os controles foram os mesmos do estudo Ia (pacientes sem infecção).

O segundo estudo, tipo coorte, avaliou os fatores associados à evolução desfavorável entre os pacientes tratados com polimixina B e se a terapia combinada com polimixina B e imipenem foi mais eficaz do que a terapia apenas com polimixina B em pacientes com pneumonia nosocomial causada por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem por mecanismo não-enzimático.

O terceiro estudo, tipo caso-controle aninhado (nested case-control) procurou analisar fatores associados à presença da metalo- β -lactamase SPM-1 em casos de

pneumonia nosocomial por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem, bem como, a evolução clínica desses episódios. O grupo caso foi formado por pacientes com pneumonia causado por cepas produtoras de SPM-1 e os controles foram pacientes com pneumonia causada por cepas de *P.aeruginosa* não-produtoras de SPM-1.

Os pacientes de todos os três estudos estiveram internados no Hospital São Paulo entre 1997 e 2006. No primeiro estudo, apenas pacientes internados na UTI da Anestesiologia entre 2002 e 2005 foram selecionados. Já no segundo e terceiro estudo foram incluídos pacientes de todas as UTIs no período de 1997 a 2006.

3. 3 Método para coleta de dados

Para ambos os estudos foram utilizados dados secundários provenientes dos prontuários dos pacientes internados no período de estudo que compreendeu 10 anos (1997-2006).

3.3.1 Dados referentes aos pacientes

3.3.1.1 Variáveis

3.3.1.1.1 Estudo de fatores de risco (primeiro estudo)

As variáveis relacionadas aos pacientes foram: idade, sexo, internação prévia, tempo de internação, tempo de internação na UTI (sob risco), diagnóstico, comorbidades, número e classes de antibióticos usados, tempo sob uso de antibióticos, procedimentos invasivos, uso de drogas imunossupressoras, uso de corticóide, neutropenia, tempo de ventilação mecânica, cirurgia, critérios de gravidade (APACHE II, McCABE), insuficiência renal aguda.

Os critérios de infecção nosocomial foram os padronizados pelo CDC (Garner et al., 1988).

3.3.1.1.2 Estudo de fatores associados à evolução desfavorável (segundo estudo)

As variáveis relacionadas aos pacientes foram: idade, sexo, internação prévia, tempo de internação, tempo de internação na UTI, diagnóstico, critérios de gravidade (APACHE II, McCabe) comorbidades, número de classes de antibióticos usados, antibióticos usados, procedimentos invasivos, tempo de ventilação mecânica, uso de drogas imunossupressoras, uso de corticóide, presença de coma, uso de sedativo, tempo de ventilação mecânica, cirurgia, presença de bacteremia, presença de pneumonia polimicrobiana, presença de choque séptico, presença da síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA), insuficiência renal aguda, terapia combinada, presença de metalo- β -lactamase, tratamento combinado com imipenem.

3.3.1.1.3 Estudo de fatores de risco e evolução clínica em pacientes com a presença de metalo- β -lactamase SPM-1 (terceiro estudo)

As variáveis relacionadas aos pacientes foram: idade, sexo, tempo de internação, internação prévia, tempo de internação na UTI, comorbidades, número de classes de antibióticos usados, tempo de uso de antibióticos, antibióticos usados, procedimentos invasivos, dias de ventilação mecânica, uso de drogas imunossupressoras, uso de corticóide, tempo de ventilação mecânica, cirurgia, critérios de gravidade (APACHE II, McCabe), presença de pneumonia polimicrobiana, presença de choque séptico, presença de SDRA, presença de bacteremia, insuficiência renal aguda, mortalidade relacionada e mortalidade hospitalar.

3.3.1.2 Critérios de inclusão

3.3.1.2.1 Estudo de fatores de risco para pneumonia nosocomial por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem (primeiro estudo)

Os casos resistentes eram pacientes maiores de 18 anos internados na UTI da Anestesiologia com diagnóstico de pneumonia hospitalar causada por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a pelo menos um dos carbapenens (imipenem ou meropenem), confirmada por lavado bronco-alveolar ou aspirado traqueal. A pneumonia foi classificada como nosocomial se ocorresse 48 horas após a internação. Os casos sensíveis foram pacientes internados na mesma UTI, no mesmo período dos casos resistentes (intervalo de seis meses), com quadro de pneumonia hospitalar causada por *Pseudomonas aeruginosa* sensível a carbapenem. Os controles foram selecionados entre os pacientes consecutivamente internados na mesma UTI, no mesmo período dos casos resistentes e sensíveis (intervalo de seis meses), sem infecção por *Pseudomonas aeruginosa*. Foi definido um número de controles que correspondesse a pelo menos quatro controles por caso. Os controles deveriam satisfazer critérios para ambos os casos (sensíveis e resistentes).

3.3.1.2.2 Estudo de fatores associados à evolução desfavorável (segundo estudo)

Os casos foram pacientes com pneumonia nosocomial causada por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem e tratados com polimixina B, internados no período de 1997 a 2006, em unidades de terapia intensiva do Hospital São Paulo e que apresentaram evolução desfavorável durante o tratamento. Os controles foram pacientes dessa mesma coorte e que apresentaram evolução favorável durante o tratamento com polimixina B.

3.3.1.2.3 Estudo de fatores de risco e evolução clínica em pacientes com pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa* com a presença da metalo- β -lactamase SPM-1(terceiro estudo)

Os casos foram pacientes da mesma coorte acima que apresentaram cepas de *P.aeruginosa* produtora da metalo-beta-lactamase SPM-1. Os controles foram pacientes da mesma coorte acima, com cepas não-produtoras da metalo-betalactamase SPM-1.

3. 4 Definições

- Índice McCabe: A gravidade da doença de base foi definida segundo os critérios descritos por McCabe & Jackson (1962), sendo os pacientes classificados em três grupos: doença rapidamente fatal, doença moderadamente fatal e doença não fatal.
- Escore APACHE II: A gravidade do quadro clínico na admissão na UTI foi avaliada através do sistema de classificação APACHE II (Acute Physiologic and Chronic Health Evaluation) (Knaus et al.,1985).
- Uso de corticóides: O uso de corticóides só foi incluído se utilizado nas três semanas anteriores ao diagnóstico de pneumonia nos casos, e durante o período de internação nos controles. A dose de corticóide considerada para o estudo foi a correspondente a 300 mg/dia de hidrocortisona, por pelo menos 7dias (Mentzelopoulos et al., 2007)
- Uso de antimicrobianos: O uso de antimicrobiano foi definido como o uso de antimicrobiano sistêmico por pelo menos 48 horas durante a internação hospitalar, se utilizado nas três semanas anteriores ao diagnóstico de pneumonia nos casos, e durante as três semanas que antecederam a saída (alta, óbito ou transferência) nos controles.
- Uso de drogas imunossupressoras: O uso de imunossupressores foi definido como o uso sistêmico por pelo menos 48 horas, durante a internação hospitalar, se utilizado nas três semanas anteriores ao

diagnóstico de pneumonia nos casos, e durante as três semanas que antecederam a saída (alta, óbito ou transferência) nos controles.

- Infecção hospitalar prévia: As definições de infecção hospitalar nos diferentes sítios foram realizadas de acordo com o CDC- Center for Disease Control and Prevention (Garner, 1988).
- Presença de choque séptico: choque séptico foi definido pelo requerimento de uma droga vasoativa para manter a pressão sistólica ≥ 90 mmHg. (Bone et al., 1992)
- Presença de SDRA: a presença da síndrome do desconforto respiratório agudo foi definida pelo início agudo, pela razão entre a pressão parcial de O₂ e a fração inspirada de O₂ ≤ 200 , pela presença de infiltrados bilaterais na radiografia de tórax e pela presença de pressão de encunhamento da artéria pulmonar ≤ 18 mmHg quando medida ou ausência de evidência clínica de hipertensão atrial esquerda. (Bernard et al., 1994)
- Presença de insuficiência renal aguda: insuficiência renal aguda foi definida pelo requerimento de hemodiálise, pela presença de um valor de creatinina $\geq 2,0$ mg/ml ou pela duplicação dos valores da creatinina sérica. (Rangel-Frausto et al., 1995; Sauaia et al., 1996)
- Presença de bacteremia: foi definida como bacteremia secundária a ocorrência de bacteremia, com isolamento de *Pseudomonas aeruginosa* em sangue, até sete dias após o diagnóstico de pneumonia pelo mesmo agente.
- Hospitalização prévia: foi definida como qualquer episódio de hospitalização por mais de 24 horas nos últimos três meses.
- Presença de cirurgia prévia: foi definida como intervenção cirúrgica realizada na atual internação.
- Evolução favorável: foi definida como a resolução completa ou parcial dos sintomas e sinais (febre/hipotermia, leucocitose, suspensão de vasopressores e melhora da relação PaO₂/FiO₂ e rx de tórax) no final do tratamento.

- Evolução desfavorável: foi considerada como a persistência ou piora dos sintomas e sinais ou óbito durante o tratamento.

3. 5 Análise microbiológica

A análise microbiológica das amostras colhidas através de broncoscopia (lavado broncoalveolar) e aspirado traqueal foi realizada pelo Laboratório Central do Hospital São Paulo por técnicas convencionais. O cut off para o lavado broncoalveolar e para o aspirado traqueal foi de 10^4 ufc/ml e 10^5 ufc/ml respectivamente. As hemoculturas foram processadas por técnica automatizada utilizando-se o sistema Bactec (Becton Dickinson, Cockeysville, MD, USA). Aquelas amostras onde houve crescimento de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a pelo menos um carbapenem foram encaminhadas para o Laboratório Especial de Microbiologia Clínica (LEMC) onde foram armazenadas para confirmação e análise posterior dos mecanismos de resistência.

3.5.1 Identificação das amostras de *Pseudomonas aeruginosa*

A identificação da *Pseudomonas aeruginosa* foi realizada pelo painel manual de provas bioquímicas contendo testes de oxidase, capacidade de crescimento em Agar McConkey, utilização de glicose, maltose, lactose em meio base OF, decarboxilação de lisina e arginina e liquefação de gelatina. Quando necessário, outros testes foram realizados para a confirmação do diagnóstico.

3.5.2 Teste de sensibilidade *in vitro* aos antimicrobianos

Para a determinação do perfil de susceptibilidade das amostras de *Pseudomonas aeruginosa* foi utilizada a técnica de disco difusão utilizando os procedimentos padronizados pelo NCCLS(National Committee for Clinical Laboratory Standards) , hoje CLSI(Clinical and Laboratory Standards Institute). Para cada amostra era preparada uma suspensão bacteriana em caldo Mueller-Hinton

(MHB, Oxoid, Inglaterra) com turbidez correspondente a 0,5 McFarland. Após homogenização, era realizada a semeadura em uma placa de Mueller-Hinton Agar (Oxoid, Inglaterra). A seguir os seguintes discos de antimicrobianos eram colocados nas placas.: aztreonam, ticarcilina-clavulanato, ceftazidima, cefepime, imipenem, meropenem, amicacina, gentamicina, tobramicina, ciprofloxacina, piperacilina-tazobactam e polimixina B. As placas eram incubadas por 18-24 horas, à temperatura de 35 graus Celsius, sendo os halos de inibição aferidos após. De acordo com os halos de inibição, as amostras eram classificadas em sensíveis, intermediárias ou resistentes.

As amostras confirmadas como *Pseudomonas aeruginosa* resistente a pelo menos um dos carbapenens pelo Laboratório Central do Hospital São Paulo foram reconfirmadas quanto ao gênero/espécie e após armazenadas no Banco de Microorganismos do Laboratório Especial de Microbiologia Clínica (LEMC).

As amostras foram recuperadas do banco de microrganismos do LEMC e subcultivadas por duas vezes em ágar sangue. Após isolamento de colônias puras, os testes de sensibilidade para carbapenens (imipenem e meropenem) e polimixina B foram realizados pela técnica de diluição em ágar. Para o controle de qualidade dos testes de sensibilidade foram utilizadas amostras e da “American Type Culture Collection” (ATCC), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 e *E. coli* ATCC 25922.

3.5.3 Diluição em agar

Para a determinação da concentração inibitória mínima (do inglês MIC) para os antimicrobianos imipenem, meropenem e polimixina B, foi realizado o teste de diluição em Agar. Segundo as padronizações do CLSI (2006), foram preparadas soluções estoque dos antimicrobianos a serem utilizados, que eram armazenadas a -70 graus Celsius. As soluções estoques de antimicrobianos foram adicionadas a tubos contendo ágar Muller Hinton fundido previamente estabilizados em banho-maria a 56 graus Celsius. Após homogeneização, o conteúdo era vertido em placas de Petri de 90 x 15mm, descartáveis, devidamente identificadas. As placas contendo os antimicrobianos foram utilizadas imediatamente ou foram armazenadas a 4 graus Celsius até sua utilização, que deveria ocorrer no máximo em 24 horas. Uma

suspensão contendo na escala de McFarland, aproximadamente 10^8 UFC/ml de cada amostra, era diluída com caldo Mueller- Hinton na proporção de 1:1000, resultando em um inóculo de aproximadamente 1 a $1,5 \times 10^4$ UFC/ml. Foram utilizados 2-3 µl dessa suspensão bacteriana para inoculação das placas.

As placas eram mantidas à temperatura ambiente até a absorção do inóculo pelo ágar. A leitura foi realizada após incubação de 18 horas a 35 graus Celsius e a concentração inibitória mínima (do inglês MIC) foi definida como sendo a menor concentração de cada antimicrobiano capaz de inibir o crescimento bacteriano.

3.5.4 Detecção da produção de Metallo-β-lactamases

3.5.4.1 PCR Multiplex

As amostras de *P. aeruginosa* resistentes a carbapenem foram avaliadas pela técnica da reação de polimerase em cadeia multiplex (*polimerase chain reaction – Multiplex PCR*) para identificar a presença de genes que codificam a produção de metallo-β-lactamases. Os genes pesquisados foram *bla*_{IMP}, *bla*_{VIM}, *bla*_{GIM-1}, *bla*_{SIM-1} e *bla*_{SPM-1}. (Mendes et al., 2007).

Para a extração do DNA bacteriano, as amostras foram subcultivadas em ágar sangue, e após isolamento de colônias puras, de três a quatro colônias de cada amostra foram transferidas para um tubo tipo eppendorf contendo 200µl de água destilada estéril e agitado vigorosamente em vortex. A amplificação foi realizada em uma mistura contendo 50 µl que continha 25 µl de Master mix[Platinum Taq DNA polymerase, SYBR Green I corante, Tris-Hcl, Kcl, 6 Mm MgCl₂, 400 µM de dGTP, 400 µM de dATP, 400µM de dCTP, 800 µM de dUTP, uracil DNA glycosilase e estabilizadores, seis pares de primers(SPM-1,IMP,VIM,GIM-1,SIM-1 e controle interno-16SRNA), água-15,8 µl e 2µl do template, utilizando o sistema DNA Engine Opticon 2(Bio-Rad Laboratories, CA). As condições do PCR foram as seguintes: desnaturação inicial em 94 graus Celsius por 5 minutos; 35 ciclos de 94 graus Celsius por 20 segundos, 53 graus Celsius por 45 segundos, e 72 graus Celsius por 30 segundos; seguido da etapa de curva de melting de 68 graus Celsius, com aumento gradual de 0,5 graus Celsius/s até 95 graus Celsius com aquisição de

dados a cada 1segundo. A distinção dos genes foi realizada de acordo com a diferença de T_m das sequências de cada gene específico amplificado, de acordo com a Tabela 1.

Tabela 1 – Temperatura de cada gene específico amplificado pela técnica de PCR Multiplex

MBL Gene	T_m (Graus C)
<i>bla_{GIM}</i> - 1	72,0
<i>bla_{IMP}</i> - tipo	76,5
<i>bla_{SIM}</i> - 1	80,5
<i>bla_{SPM}</i> - 1	83,5
<i>bla_{VIM}</i> - tipo	89,0

A amplificação do gene *bla_{IMP}* utilizou primer com a sequência de oligonucleotídeo: F5'-GAATAG(A/G)(A/G)TGGCTTAA(C/T)TCTC-3' e R5'-CCAAAC(C/T)ACTA(G/C)GTTATC-3'. A amplificação do gene *bla_{VIM}* utilizou primer com a sequência de oligonucleotídeo: F5'-GTTTGGTCGCATATCGCAAC-3' e R5'-AATGCGCAGCACCAGGATAG-3'. A ampliação do gene *bla_{GIM-1}* utilizou primer, com a sequência de oligonucleotídeos: F5'-TCAATTAGCTCTTGGGCTGAC-3' e R5'-CGGAACGACCATTTGAATGG-3'. A amplificação do gene *bla_{SIM-1}* utilizou primer com a sequência de nucleotídeos: F5'-GTACAAGGGATTTCGGCATCG-3' e R5'-TGGCCTGTTCCCATGTGAG-3'. A amplificação do gene *bla_{SPM-1}* utilizou primer com a sequência de nucleotídeos: F5'-CTAAATCGAGAGCCCTGCTTG-3' e R 5'-CCTTTTCCGCGACCTTGATC-3'.

3. 6 Análise estatística

Para a avaliação da associação entre os fatores de risco individualmente, nas análises univariadas, foram utilizados o teste do qui-quadrado para a análise de proporções ou o teste exato de Fisher (que analisa proporções quando há um

número pequeno de observações). As variáveis contínuas foram avaliadas através do teste t de Student ou Mann-Whitney quando indicado (variáveis ordinais ou não-paramétricas). Um nível de significância de 5% foi considerado. Visando verificar se havia alguma correlação entre as variáveis significativas na análise univariada foi realizada a análise de correlação através do coeficiente de Spearman.

A análise multivariada foi realizada pela técnica de regressão logística múltipla, utilizando as variáveis com $p \leq 0,05$ na análise univariada. O método utilizado foi o Stepwise forward, o qual não inclui no modelo, as variáveis sem significância estatística. Também foi considerado um nível de significância de 5%.

No segundo estudo, que analisou evolução clínica relacionado a presença da metalo-enzima SPM-1, foi realizada uma análise de sobrevida, que comparou o tempo de ocorrência do evento (óbito) entre os dois grupos de tratamento. Foram construídas curvas de Kaplan-Meier para cada grupo: os que utilizaram, e os que não utilizaram o tratamento combinado com polimixina B e imipenem. A comparação para verificar, se uma ou outra categoria, pode aumentar ou não o tempo de sobrevida, foi realizada através do teste de Log-Rank.

4. RESULTADOS

4.1 Fatores de risco para o surgimento de pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem

4.1.1 Estudo Ia

Cinquenta e oito casos resistentes, quarenta e sete casos sensíveis e 237 controles foram selecionados para o estudo. Cinco controles a mais foram incluídos para satisfazer os critérios de inclusão definidos previamente.

4.1.1.1 Diagnóstico da internação

Os principais diagnósticos na internação dos pacientes casos foram doenças infecciosas (17 pacientes, 29,3%) e doenças neurológicas (13 pacientes, 22,4%). Entre os controles, os principais diagnósticos foram doenças neurológicas (41 pacientes, 17,2%) e doenças gastrointestinais (36 pacientes, 15,1%). Outros diagnósticos nos dois grupos são mostrados nas Tabelas 2 e 3.

Tabela 2 – Diagnóstico de internação dos casos resistentes (Estudo Ia)

Diagnóstico	N = 58	%
Doença neurológica	11	19
Doença infecciosa	10	17,2
Neoplasia	6	10,3
Doença gastrointestinal	6	10,3
Transplante	6	10,3
Trauma	6	10,3
Doença cardiovascular	5	8,6
Doença pulmonar	3	5,2
Doença hepática	2	3,4
Outros	2	3,4

Tabela 3 – Diagnóstico de internação dos controles (Estudo Ia)

Diagnóstico	N = 237	%
Doença neurológica	41	17,3
Doença gastrointestinal	36	15,2
Doença cardiovascular	35	14,8
Neoplasia	32	13,5
Trauma	24	10,1
Doença infecciosa	23	9,7
Transplante	13	5,5
Doença pulmonar	5	2,1
Doença ortopédica	5	2,1
Outros	23	9,7

4.1.1.2. Perfil de sensibilidade

O perfil de sensibilidade antimicrobiana das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* do grupo caso está demonstrado na Tabela 4. Todas as amostras foram sensíveis a polimixina B, e o segundo antimicrobiano com maior sensibilidade foi a piperacilina-tazobactam (8,6%).

Tabela 4 – Perfil de Sensibilidade Antimicrobiana por difusão em disco das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* incluídas no Estudo Ia

Antimicrobiano	N=58	%
Polimixina B	58	100
Piperacilina-tazobactam	5	8,6
Aztreonam	1	1,7
Tobramicina	1	1,7
Ticarcilina/clavulanato	1	1,7
Amicacina	0	0
Gentamicina	0	0
Ceftazidima	0	0
Cefepime	0	0
Ciprofloxacina	0	0
Imipenem	0	0
Meropenem	0	0

4.1.1.2 Análise Univariada

4.1.1.2.1 Idade

A média de idade entre os casos foi de 54 anos, e entre os controles também foi de 54 anos ($p = 0,93$).

4.1.1.2.2 Dias de hospitalização

A média de dias de hospitalização entre os casos foi de 36 dias, e entre os controles foi de sete dias ($p < 0,001$).

4.1.1.2.3 Tempo sob risco

A média e mediana do tempo de permanência na UTI foi de 29 e 20 dias nos casos e 14 e 9 dias nos controles, com $p < 0,001$.

4.1.1.2.4 Número de antibióticos

O número médio de antibióticos utilizados pelos casos foi de 4, com mediana também de 4, entre os controles, a média e mediana foi de 2 ($p < 0,001$).

4.1.1.2.5 Dias de ventilação mecânica

A média e mediana de dias de ventilação mecânica entre os casos foram de 26 e 17 dias. Entre os controles, a média e mediana foram de 11 e oito dias ($p < 0,001$).

4.1.1.2.6 APACHE II

A média e mediana do APACHE II entre os casos foi de 16 e 17. Entre os controles, a média e mediana foram de 12 ($p < 0,001$).

4.1.1.2.7 McCabe

Não houve diferença entre o índice McCabe nos pacientes do grupo caso e nos controles. Nos casos, a maioria dos pacientes foi classificada como tendo doença potencialmente fatal (51,7%) e nos controles também (47,7%), $p=0,1$.

4.1.1.2.8 Sexo

Quanto ao sexo, 70,7% dos casos eram do sexo masculino, enquanto que no grupo controle, 56,5% eram do sexo masculino ($p=0,04$).

4.1.1.2.9 Cirurgia

Quanto a presença de procedimento cirúrgico prévio, 63,8% dos pacientes casos tiveram cirurgia prévia. No grupo controle, 66,2% dos pacientes foram submetidos à cirurgia ($p=0,72$).

4.1.1.2.10 Internação prévia

Quatorze pacientes (24,1%) entre os casos tiveram internação prévia em UTI. No grupo controle, trinta e nove pacientes (16,5%) apresentaram internação prévia em UTI ($p=0,17$). Entre os casos, 33(56,9%) tiveram internação hospitalar prévia. Quanto aos controles, 119(50,2%) apresentaram internação hospitalar prévia($p=0,36$).

4.1.1.2.11 Comorbidades

Entre os casos, a porcentagem de comorbidades foi a seguinte: Diabetes mellitus (10,3%), DPOC (15,5%), neoplasia sólida (20,7%), neoplasia hematológica (1,7%), IRC (17,2%), transplante de órgão sólido (12,1%), AIDS (0%), cirrose (12,1%). Entre os controles, tivemos a seguinte distribuição: Diabetes Mellitus (18,6%), $p=0,13$; DPOC (7,6%), $p=0,06$; neoplasia sólida (16,9%), $p=0,49$; neoplasia hematológica (2,1%), $p=0,85$; IRC (14,3%), $p=0,57$; transplante de órgão sólido (5,9%), $p=0,1$; AIDS (1,7%), $p>0,99$; cirrose (6,3%), $p=0,16$.

4.1.1.2.12 Dispositivos invasivos

- **Ventilação mecânica**

Cinquenta e oito pacientes (100%) do grupo caso fizeram uso de ventilação mecânica, enquanto que no grupo controle, 161 pacientes (67,9%) fizeram uso de ventilação mecânica, $p < 0,001$.

- **Sonda vesical de demora**

Quarenta e nove pacientes (84,5%) dos casos utilizaram SVD. Já entre os controles, 220 pacientes (92,8%) utilizaram sonda vesical ($p=0,04$)

- **Cateter venoso central**

Dos casos, cinquenta e dois (89,7%) fizeram uso de cateter venoso central. Entre os controles, esse número foi de 214(90,3%) ($p=0,88$).

- **Nutrição parenteral**

Entre os casos, seis pacientes (10,3%) utilizaram nutrição parenteral. Entre os controles, sete pacientes (3%) utilizaram fizeram uso de nutrição parenteral ($p=0,02$).

- **Hemodiálise**

Entre os casos, dezenove pacientes (32,8%) estavam em uso de hemodiálise quando desenvolveram pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem. Entre os controles, esse número foi de vinte e seis pacientes (11%) ($p<0,001$).

4.1.1.2.13 Uso de corticóide

Entre os casos, trinta e cinco (60,3%) pacientes fizeram uso de corticóide. Entre os controles, tivemos trinta pacientes (12,7%) com uso de corticóide ($p<0,001$).

4.1.1.2.14 Imunossupressores

No grupo de casos, oito (13,8%) pacientes fizeram uso de imunossupressores. No grupo controle, 16 pacientes (6,8%) utilizaram esses medicamentos ($p=0,01$).

4.1.1.2.15 Insuficiência renal aguda (IRA)

No grupo de casos, dezesseis (27,6%) pacientes tinham diagnóstico de IRA no momento da infecção. Quanto ao grupo controle, dezoito pacientes (7,6%) apresentavam IRA ($p<0,001$).

4.1.1.2.16 Uso prévio de antimicrobianos

Houve diferença estatisticamente significativa entre os casos e controles, apenas no uso prévio de carbapenems (casos 84,5% versus controles 45,1%, $p<0,001$), vancomicina (casos 91,4% versus controles 54,4%, $p<0,001$), e piperacilina-tazobactam (casos 15,5% versus controles 1,3%, $p<0,001$). A tabela 5 mostra a porcentagem de uso de todos os antimicrobianos avaliados.

4.1.1.2.17 Politrauma

Entre os casos, sete pacientes (12,1%) tinham diagnóstico de politrauma. Entre os controles, vinte e cinco pacientes (10,5%) tinham esse diagnóstico ($p=0,73$).

4.1.1.2.18 Letalidade

A letalidade geral (do inglês crude) no grupo caso foi de 70,7% e no grupo controle foi de 40,9% com OR 3,48 IC95%: 1,87-6,48, $p<0,001$. Sendo assim, podemos definir a mortalidade atribuída (do inglês attributable mortality) à

pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem como sendo de 29,8%.

Tabela 5 – Análise Univariada dos fatores de risco associados ao surgimento de Pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa* resistente à carbapenem
(continua)

Variável		Casos resistentes (N=58)	Controles (N=237)	P
Idade, anos	Média	54 (18-93)	54	0,93
Dias de hospitalização	Média	36	7	<0,001
Tempo sob risco, dias	Média	29	14	<0,001
Número de antibióticos	Mediana	4	2	<0,001
Dias de ventilação mecânica	Mediana	17	8	<0,001
Escore APACHE II	Mediana	17	12	<0,001
Escore McCabe	Rapid. Fatal	28 (48,3%)	102 (43%)	0,1
	Potencialmente Fatal	30 (51,7%)	113 (47,7%)	
	Não Fatal	0 (0%)	22 (9,3%)	
Sexo masculino		41 (70,7%)	134 (56,5%)	0,01
Cirurgia	Sim	37 (63,8%)	157 (66,2%)	0,72
	Não	21 (36,2%)	80 (33,8%)	
Internação prévia UTI	Sim	14 (24,1%)	39 (16,5%)	0,17
	Não	44 (75,9%)	198 (83,5%)	
Uso de corticóides	Sim	35 (60,3%)	30 (12,7%)	<0,001
	Não	23 (39,7%)	207 (87,3%)	
Uso de imunossupressor	Sim	8 (13,8%)	16 (6,8%)	0,10
	Não	50 (86,2%)	221 (93,2%)	
Neutropenia	Sim	0 (0%)	1 (0,4%)	>0,99
	Não	58 (100%)	236 (99,6%)	
Internação prévia	Sim	33 (56,9%)	119 (50,2%)	0,36
	Não	25 (43,1%)	118 (49,8%)	
Insuficiência renal aguda	Sim	16 (27,6%)	18 (7,6%)	<0,001
	Não	42 (72,4%)	219 (92,4%)	

Tabela 5 – Análise Univariada dos fatores de risco associados ao surgimento de Pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa* resistente à carbapenem
(continuação)

Variável		Casos resistentes (N=58)	Controles (N=237)	P
Comorbidades				
Diabetes Mellitus	Sim	6 (10,3%)	44 (18,6%)	0,13
	Não	52 (89,7%)	193 (81,4%)	
DPOC	Sim	9 (15,5%)	18 (7,6%)	0,06
	Não	49 (84,5%)	219 (92,4%)	
Neoplasia sólida	Sim	12 (20,7%)	40 (16,9%)	0,49
	Não	46 (79,3%)	197 (83,1%)	
Neoplasia hematológica	Sim	1 (1,7%)	5 (2,1%)	0,85
	Não	57 (98,3%)	232 (97,9%)	
Insuficiência renal crônica	Sim	10 (17,2%)	34 (14,3%)	0,57
	Não	48 (82,8%)	203 (85,7%)	
Transplante	Sim	7 (12,1%)	14 (5,9%)	0,10
	Não	51 (87,9%)	223 (94,1%)	
Aids	Sim	0 (0%)	4 (1,7%)	>0,99
	Não	58 (100%)	233 (98,3%)	
Cirrose	Sim	7 (12,1%)	15 (6,3%)	0,16
	Não	51 (87,9%)	222 (93,7%)	
Trauma	Sim	7 (12,1%)	25 (10,5%)	0,73
	Não	51 (87,9%)	212 (89,5%)	
Dispositivos Invasivos				
Sonda vesical de demora	Sim	49 (84,5%)	220 (92,8%)	0,04
	Não	9 (15,5%)	17 (7,2%)	
Cateter venoso central	Sim	52 (89,7%)	214 (90,3%)	0,88
	Não	6 (10,3%)	23 (9,7%)	
Nutrição parenteral	Sim	6 (10,3%)	7 (3%)	0,02
	Não	52 (89,7%)	230 (97%)	

Tabela 5 – Análise Univariada dos fatores de risco associados ao surgimento de pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa* resistente à carbapenem
(conclusão)

Variável		Casos resistentes (N=58)	Controles (N=237)	P
Ventilação mecânica	Sim	58 (100%)	161 (67,9)	<0,001
	Não	0, (0%)	76 (32,1%)	
Hemodiálise	Sim	19 (32,8%)	26 (11%)	<0,001
	Não	39 (67,2%)	211 (89%)	
Antimicrobianos				
Cef. 3º geração	Sim	34 (58,6%)	99 (41,8%)	0,02
	Não	24 (41,4%)	138 (58,2%)	
Cef. 4º geração	Sim	20 (34,5%)	94 (39,7%)	0,46
	Não	38 (65,5%)	143 (60,3%)	
Carbapenem	Sim	49 (84,5%)	107 (45,1%)	<0,001
	Não	9 (15,5%)	130 (54,9%)	
Clindamicina	Sim	16 (27,6%)	51 (21,5%)	0,32
	Não	42 (72,4%)	186 (78,5%)	
Vancomicina	Sim	53 (91,4%)	129 (54,4%)	<0,001
	Não	5 (8,6%)	108 (45,6%)	
Metronidazol	Sim	7 (12,1%)	46 (19,4%)	0,19
	Não	51 (87,9%)	191 (80,6%)	
Aminoglicosídeo	Sim	12 (20,7%)	28 (11,8%)	0,07
	Não	46 (79,3%)	209 (88,2%)	
Quinolona	Sim	10 (17,2%)	23 (9,7%)	0,10
	Não	48 (82,8%)	214 (90,3)	
Piperacilina-tazobactam	Sim	9 (15,5%)	3 (1,3 %)	<0,001
	Não	49 (84,5%)	234 (98,7%)	

4.1.1.3 Análise multivariada

A contribuição independente de cada variável associada como fator de risco para o surgimento de pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa* sensível e resistente a carbapenem pela análise univariada foi avaliada por regressão logística múltipla. As variáveis com diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$) foram incluídas na regressão logística múltipla. As variáveis selecionadas para inclusão no modelo no estudo I foram: dias de hospitalização prévio a UTI, tempo de permanência na UTI, número de antibióticos, dias de ventilação mecânica, escore APACHE II, sexo, uso de sonda vesical de demora, uso de ventilação mecânica, uso de nutrição parenteral total, uso de hemodiálise, uso de corticóide, presença de IRA, uso de cefalosporinas de 3ª geração, uso de carbapenem, uso de vancomicina, uso de piperacilina-tazobactam. Das variáveis incluídas no modelo de regressão logística múltipla por meio do método stepwise forward, as que se mostraram independentemente relacionadas com o surgimento de pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem no estudo Ia foram: tempo de hospitalização com OR 1,19, IC: 1,12-1,26; $p < 0,001$; APACHE II, com OR 1,11, IC: 1,01-1,22, $p = 0,03$; sexo masculino com OR 8,01, IC: 1,66-38,5, $p = 0,009$; uso de hemodiálise com OR 6,85, IC: 1,33-35,2, $p = 0,02$; uso de corticóide com OR 13,1, IC: 3,8-45,6, $p < 0,001$; uso de piperacilina-tazobactam com OR 14,3, IC: 1,02-200,1, $p = 0,04$ e uso de cefalosporinas de 3ª geração com OR 7,45, IC: 1,80-30,8, $p = 0,006$. (Tabela 6)

Tabela 6 – Análise Multivariada dos fatores de risco relacionados ao surgimento de Pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa* resistente à carbapenem. (Estudo Ia)

Variável	Odds Ratio	Intervalo de confiança 95%	P
Tempo de hospitalização	1,19	1,12 – 1,26	<0,001
Escore APACHE II	1,11	1,01 – 1,22	0,03
Sexo masculino	8,01	1,66 – 38,51	0,009
Hemodiálise	6,85	1,33 – 35,20	0,02
Uso de corticóide	13,18	3,80 – 45,64	<0,001
Uso de Piperacilina-tazobactam	14,31	1,02 – 200,16	0,04
Uso de Cef. 3º geração	7,45	1,80 – 30,86	0,006

4.1.2 Estudo Ib

4.1.2.1 Diagnóstico da internação

Os principais diagnósticos na internação dos pacientes casos foram doenças neurológicas (14 pacientes, 29,8%) e neoplasias (11 pacientes, 23,4%) (Tabela 7). Entre os controles, os principais diagnósticos foram doenças neurológicas (41 pacientes, 17,3%) e doenças gastrintestinais (36 pacientes, 15,2%). (Tabela 3) Outros diagnósticos nos dois grupos são mostrados nas Tabelas 3 e 7.

Tabela 7 – Diagnóstico de internação dos casos sensíveis

Diagnóstico	N = 47	%
Doença neurológica	14	29,8%
Neoplasia	11	23,4%
Doença infecciosa	6	12,8%
Doença pulmonar	4	8,5%
Trauma	4	8,5%
Doença cardiovascular	3	6,4%
Doença gastrointestinal	2	4,3%
Outros	3	6,4%

4.1.2.2 Perfil de sensibilidade

O perfil de sensibilidade antimicrobiana dos casos sensíveis é apresentado na Tabela 8. O antimicrobiano com maior sensibilidade foi a polimixina B (100%) e os carbapenems (100%), seguidos pela piperacilina-tazobactam (87,2%).

Tabela 8 – Perfil de sensibilidade antimicrobiana das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* (Estudo Ib)

Antimicrobiano	N=47	%
Amicacina	23	48,9%
Gentamicina	18	38,3%
Ceftazidima	22	46,8%
Cefepime	32	68,1%
Ciprofloxacina	30	63,8%
Imipenem	47	100%
Meropenem	47	100%
Polimixina B	47	100%
Piperacilina-tazobactam	41	87,2%
Aztreonam	30	63,8%

4.1.2.3 Análise Univariada

4.1.2.3.1 Idade

A mediana de idade entre os casos foi de 58 anos, e entre os controles foi de 54 anos ($p = 0,74$).

4.1.2.3.2 Dias de hospitalização prévia à UTI

A média e mediana de dias de hospitalização entre os casos foi de 5 e 2 dias e entre os controles foi de 7 e 2 dias ($p = 0,24$).

4.1.2.3.3 Tempo sob risco

A média e mediana do tempo de permanência na UTI foi de 23 e 13 dias nos casos e 14 e nove dias nos controles, $p = 0,02$.

4.1.2.3.4 Número de antibióticos

A mediana do número de antibióticos utilizados pelos casos foi de três, com mediana de dois, entre os controles, ($p = 0,06$).

4.1.2.3.5 Dias de ventilação mecânica

A média e mediana de dias de ventilação mecânica entre os casos foram de 19 e 11 dias. Entre os controles, a média e mediana foram de 11 e oito dias ($p = 0,03$).

4.1.2.3.6 APACHE II

A média e mediana do APACHE II entre os casos foi de 12. Entre os controles, a média e mediana também foi de 12 ($p = 0,53$).

4.1.2.3.7 Índice McCabe

No estudo II, também não houve diferença quanto ao índice McCabe entre os casos e controles. Nos casos, vinte e oito pacientes (59,6%) foram classificados como portadores de doença potencialmente fatal. Nos controles, 113 pacientes (47,7%) também foram classificados nesse grupo, $p = 0,12$.

4.1.2.3.8 Sexo

Quanto ao sexo, vinte e sete pacientes (57,4%) entre os casos sensíveis eram do sexo masculino, enquanto que no grupo controle, 134 pacientes (56,5%) eram do sexo masculino ($p=0,9$).

4.1.2.3.9 Cirurgia

Quanto a presença de procedimento cirúrgico prévio, trinta e dois (68,1%) pacientes casos tiveram cirurgia prévia. No grupo controle, 157 pacientes (66,2%) foram submetidos à cirurgia ($p=0,8$).

4.1.2.3.10 Internação prévia

Doze pacientes (25,5%) entre os casos tiveram internação prévia. No grupo controle, 39 pacientes (16,5%) apresentaram internação prévia ($p=0,13$).

4.1.2.3.11 Comorbidades

Entre os casos, a porcentagem de comorbidades foi a seguinte: Diabetes Mellitus (23,4%), DPOC (10,6%), neoplasia sólida (23,4%), neoplasia hematológica (2,1%), IRC (4,3%), transplante de órgão sólido (0%), AIDS (2,1%), cirrose (2,1%). Entre os controles, tivemos a seguinte distribuição: DM (18,6%), $p=0,44$; DPOC (7,6%), $p=0,55$; neoplasia sólida (16,9%), $p=0,28$; neoplasia hematológica (2,1%), $p>0,99$; IRC (14,3%), $p=0,06$; transplante de órgão sólido (5,9%), $p=0,13$; AIDS (1,7%), $p>0,99$; cirrose (6,3%), $p=0,48$.

4.1.2.3.12 Dispositivos invasivos

- **Ventilação mecânica**

Entre os pacientes do grupo caso, quarenta e sete (100%) fizeram uso de ventilação mecânica. Já entre os controles, 161 pacientes (67,9%) fizeram uso de ventilação mecânica, ($p < 0,001$).

- **Sonda vesical de demora**

Quarenta e um pacientes (87,2%) entre os casos utilizaram SVD. Já entre os controles, 220 pacientes (92,8%) utilizaram esse dispositivo ($p=0,23$).

- **Cateter venoso central**

Dos pacientes casos, trinta e nove (83%) fizeram uso de cateter venoso central. Entre os controles, 214 (90,3%) utilizaram cateter venoso central ($p=0,14$).

- **Nutrição parenteral**

Entre os casos, apenas um (2,1%) paciente utilizou nutrição parenteral. Entre os controles, sete pacientes (3%) utilizaram nutrição parenteral ($p>0,99$).

- **Hemodiálise**

Entre os casos, quatro pacientes (8,5%) estavam em uso de hemodiálise quando desenvolveram pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem. Entre os controles, vinte e seis pacientes (11%) utilizavam hemodiálise ($p=0,79$).

4.1.2.3.13 Uso de corticóide

Entre os casos, dezenove (40,4%) pacientes fizeram uso de corticóide. Entre os controles, trinta pacientes (12,7%) utilizaram essas drogas ($p<0,001$).

4.1.2.3.14 Imunossupressores

No grupo de casos, apenas um (2,1%) paciente fez uso de imunossupressores. No grupo controle, dezesseis pacientes (6,8%) fizeram uso desses medicamentos ($p=0,32$).

4.1.2.3.15 Insuficiência renal aguda

No grupo de casos, seis (12,8%) pacientes tinham diagnóstico de IRA no momento da infecção. Quanto ao grupo controle, dezoito pacientes (7,6%) apresentavam IRA ($p=0,25$).

4.1.2.3.16 Uso prévio de antimicrobianos

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os casos sensíveis e controles, quanto ao uso prévio de antimicrobianos. A Tabela 9 mostra a porcentagem de uso de todos os antimicrobianos avaliados.

4.1.2.3.17 Politrauma

Entre os casos, cinco (10,6%) tinham diagnóstico de politrauma. Entre os controles, vinte e cinco pacientes (10,5%) tinham esse diagnóstico ($p=0,98$).

4.1.2.3.18 Letalidade

A letalidade geral no grupo de casos sensíveis foi de 63% e no grupo controle foi de 40,9%, OR 2,46 IC95%: 1,28-4,73, $p=0,006$. Sendo assim, podemos definir a mortalidade atribuída (do inglês attributable mortality) à pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa* sensível a carbapenem como sendo de 22,1%.

Tabela 9 – Análise univariada dos fatores de risco associados ao surgimento de pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa* sensível a carbapenem (Estudo Ib).

(continua)

Variável		Casos sensíveis (N=47)	Controles (N=237)	P
Idade, anos	Mediana	58	54	0,74
Dias de hospitalização	Mediana	2	2	0,24
Tempo sob risco, dias	Mediana	13	9	0,02
Número de antibióticos	Mediana	3	2	0,06
Dias de ventilação mecânica	Mediana	11	8	0,03
Escore APACHE II	Mediana	12	12	0,53
Escore McCabe	Rapid. Fatal	19 (40,4%)	102 (43%)	0,12
	Potencialmente Fatal	28 (59,6%)	113 (47,7%)	
	Não Fatal	0 (0%)	22 (9,3%)	
Sexo masculino	Mediana	27 (57,4%)	134 (56,5%)	0,90
Cirurgia	Sim	32 (68,1%)	157 (66,2%)	0,80
	Não	15 (31,9%)	80 (33,8%)	
Internação prévia UTI	Sim	12 (25,5%)	39 (16,5%)	0,13
	Não	35 (74,5%)	198 (83,5%)	
Uso de corticóides	Sim	19 (40,4%)	30 (12,7%)	<0,001
	Não	28 (59,6%)	207 (87,3%)	
Uso de imunossupressores	Sim	1 (2,1%)	16 (6,8%)	0,32
	Não	46 (97,9%)	221 (93,2%)	
Internação prévia	Sim	24 (51,1%)	119 (50,22)	0,91
	Não	23 (48,9%)	118 (49,8%)	
Neutropenia	Sim	0 (0%)	1 (0,4%)	>0,99
	Não	47 (100%)	236 (99,6%)	
Insuficiência renal aguda	Sim	6 (12,8%)	18 (7,6%)	0,25
	Não	41 (87,2%)	219 (92,4%)	

Tabela 9 – Análise univariada dos fatores de risco associados ao surgimento de pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa* sensível a carbapenem (Estudo Ib).

(continuação)

Variável		Casos sensíveis (N=47)	Controles (N=237)	P
Comorbidades				
Diabetes Mellitus	Sim	11 (23,4%)	44 (18,6%)	0,44
	Não	36 (76,6%)	193 (81,4%)	
DPOC	Sim	5 (10,6%)	18 (7,6%)	0,55
	Não	42 (89,4%)	219 (92,4%)	
Neoplasia sólida	Sim	11 (23,4%)	40 (16,9%)	0,28
	Não	36 (76,6%)	197 (83,1%)	
Neoplasia hematológica	Sim	1 (2,1%)	5 (2,1%)	>0,99
	Não	46 (97,9%)	232 (97,9%)	
Insuficiência renal crônica	Sim	2 (4,3%)	34 (14,3%)	0,06
	Não	45 (95,7%)	203 (85,7%)	
Transplante	Sim	0 (0%)	14 (5,9%)	0,13
	Não	47 (100%)	223 (94,1%)	
AIDS	Sim	1 (2,1%)	4 (1,7%)	>0,99
	Não	46 (97,9%)	233 (98,3%)	
Cirrose	Sim	1 (2,1%)	15 (6,3%)	0,48
	Não	46 (97,9%)	222 (93,7%)	
Trauma	Sim	5 (10,6%)	25 (10,5%)	0,98
	Não	42 (89,4%)	212 (89,5%)	
Procedimentos Invasivos				
Sonda vesical de demora	Sim	41 (87,2%)	220 (92,8%)	0,23
	Não	6 (12,8%)	17 (7,2%)	
Cateter venoso central	Sim	39 (83%)	214 (90,3%)	0,14
	Não	8 (17%)	23 (9,7%)	
Nutrição Parenteral	Sim	1 (2,1%)	7 (3%)	>0,99
	Não	46 (97,9%)	230 (97%)	

Tabela 9 – Análise univariada dos fatores de risco associados ao surgimento de pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa* sensível a carbapenem (Estudo Ib).

(conclusão)				
Variável		Casos sensíveis (N=47)	Controles (N=237)	P
Hemodiálise	Sim	4 (8,5%)	26 (11%)	0,79
	Não	43 (91,5%)	211 (89%)	
Ventilação mecânica	Sim	47 (100%)	161 (67,9%)	<0,001
	Não	0 (0%)	76 (32,1%)	
Uso de Antibióticos				
Cef. 3º geração	Sim	25 (53,2%)	99 (41,8%)	0,14
	Não	22 (46,8%)	138 (58,2%)	
Cef. 4º geração	Sim	23 (48,9%)	94 (39,7%)	0,23
	Não	24 (51,1%)	143 (60,3%)	
Carbapenem	Sim	18 (38,3%)	107 (45,1%)	0,38
	Não	29 (61,7%)	130 (54,9%)	
Clindamicina	Sim	14 (29,8%)	51 (21,5%)	0,21
	Não	33 (70,2%)	186 (78,5%)	
Vancomicina	Sim	30 (63,8%)	129 (54,4%)	0,23
	Não	17 (36,2%)	108 (45,6%)	
Metronidazol	Sim	7 (14,9%)	46 (19,4%)	0,46
	Não	40 (85,1%)	191 (80,6%)	
Aminoglicosídeo	Sim	10 (21,3%)	28 (11,8%)	0.08
	Não	37 (78,7%)	209 (88,2%)	
Quinolona	Sim	5 (10,6%)	23 (9,7%)	0,79
	Não	42 (89,4%)	44 (90,3%)	
Piperacilina-tazobactam	Sim	2 (4,3%)	3 (1,3%)	0,19
	Não	45 (95,7%)	234 (98,7%)	

4.1.2.4 Análise multivariada

A contribuição independente de cada variável para o surgimento de pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa* sensível a carbapenem foi avaliada por regressão logística múltipla. As variáveis com diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) foram incluídas no modelo: tempo de permanência na UTI, dias de ventilação mecânica, uso de ventilação mecânica, uso de corticóide. Das variáveis incluídas no modelo de regressão logística múltipla por meio do método stepwise forward, as que se apresentaram como independentemente relacionadas com a presença de pneumonia nosocomial por *Pseudomonas aeruginosa* sensível a carbapenem foram: tempo de permanência na UTI (tempo sob risco) com OR 1,02, IC: 1,01-1,04, $p = 0,004$; e uso de corticóide com OR 12,3, IC: 5,81-26,1, $p < 0,001$ (Tabela 10).

Tabela 10 – Análise multivariada dos fatores de risco relacionados ao surgimento de pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa* sensível a carbapenem (Estudo Ib).

Variável	Odds Ratio	Intervalo de confiança 95%	P
Tempo sob risco	1,02	1,01 – 1,04	0,004
Uso de corticoide	12,32	5,81 – 26,10	0,001

4. 2 Fatores associados à evolução desfavorável em pacientes com pneumonia nosocomial por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem tratados com polimixina B

Durante o período de 1 de janeiro de 1997 e 31 de dezembro de 2004, um total de 74 pacientes com pneumonia nosocomial causada por *Pseudomonas aeruginosa* e tratados com polimixina B intravenosa foram avaliados para determinar a evolução e os fatores associados a evolução desfavorável. Trinta e cinco pacientes (47,3%) apresentaram evolução favorável durante o tratamento com polimixina B. A mortalidade relacionada à pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem analisada até o 14º dia foi de 52,7% (trinta e nove, dos 74 pacientes). A mortalidade hospitalar foi de 74,3%.

4.2.1 Diagnóstico de admissão

O diagnóstico de admissão dos setenta e quatro pacientes avaliados no estudo é apresentado na Tabela 11. Os principais diagnósticos de admissão foram: doenças infecciosas (17 pacientes, 23%) e doenças neurológicas (13 pacientes, 17,6%).

Tabela 11 – Diagnóstico de admissão dos pacientes com pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem tratados com polimixina B internados no período 1997 a 2004.

Diagnóstico	N = 74	%
Doença infecciosa	17	23
Doença neurológica	13	17,6
Neoplasia	9	12,2
Trauma	8	10,8
Doença gastrointestinal	6	8,1
Doença cardiovascular	6	8,1
Transplante	5	6,8
Doença pulmonar	4	5,4
Outros	6	8,1

4.2.2 Local de aquisição da pneumonia

Todos os pacientes arrolados para o estudo desenvolveram pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem em unidades de terapia intensiva. A principal unidade, onde ocorreram os casos de pneumonia, foi a UTI da Anestesiologia (48 pacientes, 64,9%) seguida da UTI da Pneumologia (7 pacientes, 9,5%) e da UTI do Pronto-Socorro (7 pacientes, 9,5%). A Tabela 12 apresenta a distribuição por unidades.

Tabela 12 – Local de aquisição da pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem.

Unidade	N=74	%
UTI Anestesiologia	48	64,9
UTI Pronto-socorro	7	9,5
UTI Pneumologia	7	9,5
UTI Clínica médica	6	8,1
UTI Cardiologia	2	2,7
UTI Neurologia	2	2,7
Outras	2	2,7

4.2.3 Microorganismos isolados concomitantemente

Em dezesseis pacientes (21,6%) houve o isolamento de outros patógenos juntamente com a *Pseudomonas aeruginosa* nos episódios de pneumonia. *Acinetobacter baumannii* foi o principal microorganismo isolado (oito pacientes, 50%) seguido pela *Serratia* species (dois pacientes, 12,5%) e pelo *Staphylococcus aureus* (dois pacientes, 12,5%). A tabela 13 apresenta todos os patógenos isolados.

Tabela 13 – Microorganismos isolados concomitante em episódios de pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a imipenem

Patógeno	N =16	%
<i>Acinetobacter baumannii</i>	8	50
<i>Serratia</i> spp.	2	12,5
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	12,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	6,3
<i>Proteus mirabilis</i>	1	6,3
<i>Enterobacter</i> spp.	1	6,3
<i>Providencia rettgeri</i>	1	6,3

4.2.4 Sensibilidade aos antimicrobianos

4.2.4.1 Teste de disco-difusão

A porcentagem de amostras de *Pseudomonas aeruginosa* sensíveis aos diferentes antimicrobianos, de acordo com a técnica de disco-difusão, pode ser observada na Tabela 18. Piperacilina-tazobactam foi o antimicrobiano que apresentou maior sensibilidade entre as cepas estudadas (12,2%), seguido da ceftazidima (6,8%).

Tabela 14 – Sensibilidade antimicrobiana das amostras de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem nos episódios de pneumonia tratados com polimixina B.

Antimicrobiano	Sensibilidade (N=74)	%
Polimixina B	74	100
Piperacilina-tazobactam	9	12,2
Ceftazidima	5	6,8
Cefepime	2	2,7
Aztreonam	1	1,4
Ciprofloxacina	1	1,4
Amicacina	1	1,4
Gentamicina	1	1,4
Imipenem	0	0
Meropenem	0	0

4.2.4.2 Teste de diluição em ágar

Para confirmar a redução da sensibilidade aos carbapenens analisada pela técnica de disco-difusão, as cepas de *Pseudomonas aeruginosa* foram avaliadas pela metodologia de diluição em ágar, determinando-se a concentração inibitória mínima (do inglês MIC) para esse antimicrobiano. A concentração inibitória mínima também foi determinada para os antimicrobianos meropenem e polimixina B. As amostras produtoras de MBL do tipo SPM-1 apresentaram 100% de sensibilidade às polimixinas com MIC entre 1-2 µg/ml. A mediana da concentração inibitória mínima

(MIC) para o imipenem e meropenem foi de 16µg/ml. Uma cepa se mostrou sensível a meropenem e duas a imipenem, diferentemente do resultado da difusão em disco.

Tabela 15 – Concentração Inibitória mínima (CIM) das amostras de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem por diluição em ágar.

Antimicrobiano	CIM50 (µg/ml)	CIM90(µg/ml)
Imipenem	16	≥32
Meropenem	16	≥32
Polimixina B	1	2

4.2.5 Detecção da produção de Metallo-β-lactamase

Com o objetivo de detectar a presença de metallo-β-lactamases, foi realizada a identificação dos genes *bla*_{IMP}, *bla*_{VIM}, *bla*_{SPM-1}, *bla*_{GIM-1}, *bla*_{SIM-1} por meio da técnica de PCR multiplex. Vinte e nove amostras foram submetidas à técnica de PCR Multiplex, sendo que cinco delas (17,2%) apresentaram produto de amplificação de PCR para o gene *bla*_{SPM-1}. Não foi detectada a presença de nenhuma outra metalo-enzima nas amostras avaliadas (Figura 1).

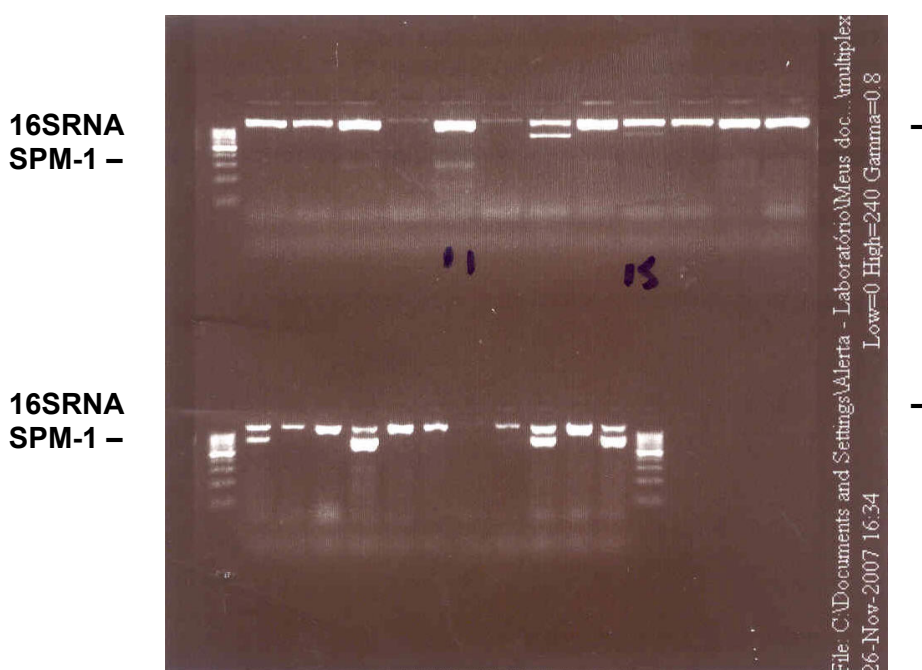


Figura 1 – PCR Multiplex das amostras de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem

4.2.6 Terapia antimicrobiana combinada

Vinte e oito pacientes (37,8%) foram tratados com terapia combinada. O principal antimicrobiano usado associadamente à polimixina B foi o imipenem (24 pacientes, 85,7%). A Tabela 16 apresenta os antimicrobianos utilizados em associação à polimixina B.

Tabela 16 – Antimicrobianos utilizados em terapia combinada com a polimixina B

Antimicrobiano	N = 28	%
Imipenem	24	85,7%
Ciprofloxacina	2	7,1%
Cefepime	1	3,6
Ceftazidima	1	3,6

4.2.7 Análise dos fatores associados à evolução desfavorável

4.2.7.1 Análise univariada I

Para se identificar os fatores associados à evolução desfavorável em pacientes com pneumonia nosocomial causada por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem, foi realizada uma análise univariada comparando os pacientes com evolução favorável com os pacientes com evolução desfavorável. As seguintes variáveis foram analisadas: idade, sexo, APACHE II, tempo de internação hospitalar, tempo de internação na UTI, cirurgia, hospitalização prévia, uso de sonda vesical de demora, uso de cateter venoso central, uso de nutrição parenteral, hemodiálise, dias de ventilação mecânica, uso de corticóide, uso de imunossupressor, presença de coma, uso de sedativo, presença de síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA), presença de choque séptico, infecção polimicrobiana, presença de bacteremia, presença de insuficiência renal aguda, uso de terapia combinada.

4.2.7.1.1 Idade

A idade média dos pacientes com evolução desfavorável foi de 58 anos. Entre os pacientes com evolução favorável, a média de idade foi de 51 anos, $p=0,13$.

4.2.7.1.2 Sexo

Entre os pacientes com evolução desfavorável, 28 pacientes (71,8%) eram do sexo masculino. Vinte e dois pacientes (62,9%) eram do sexo masculino entre os que tiveram evolução favorável, $p=0,41$.

4.2.7.1.3 APACHE II

A média do escore APACHE II entre os pacientes com evolução desfavorável foi de 15, variando de 8-28. Já entre os pacientes com evolução favorável foi de 13, variando de seis a 22, $p=0,03$.

4.2.7.1.4 Tempo de internação

Entre os pacientes com evolução desfavorável, a mediana do tempo de internação foi de 27 dias, variando entre seis e 163 dias. Entre os pacientes com evolução favorável foi de 32 dias, com variação de oito a 145 dias, $p=0,1$.

4.2.7.1.5 Duração da internação na UTI

A mediana do tempo de internação na UTI entre os pacientes com evolução desfavorável, foi de 19 dias, com variação entre um e 138 dias. Entre os pacientes com evolução favorável, a mediana do tempo de internação na UTI foi de 21 dias, com variação entre três e 122 dias, $p=0,12$.

4.2.7.1.6 Cirurgia prévia

Entre aqueles com evolução desfavorável, dezoito pacientes (46,2%) foram submetidos a procedimento cirúrgico previamente. Dezesesseis pacientes (45,7%) que tiveram evolução favorável tinham relato de cirurgia prévia, $p=0,97$.

4.2.7.1.7 Duração da ventilação mecânica

Entre aqueles com evolução desfavorável, a média de dias em ventilação mecânica foi de 21 dias, variando de um a 157 dias. Entre os pacientes com evolução favorável, foi de 31 dias, com variação de um a 110 dias, $p=0,14$.

4.2.7.1.8 Internação prévia

Entre os pacientes com evolução desfavorável, 13 pacientes (33,3%) apresentavam história de internação prévia. Cinco pacientes (14,3%) tinham internação nos últimos três meses entre os pacientes com evolução favorável, $p=0,05$.

4.2.7.1.9 Procedimentos invasivos

- **Sonda vesical de demora**

Entre aqueles com evolução desfavorável, 33 pacientes (84,6%) fizeram uso de sonda vesical. Vinte e cinco pacientes (71,4%) fizeram uso de sonda vesical de demora no grupo de pacientes com evolução favorável, $p=0,16$.

- **Cateter venoso central**

Entre os pacientes com evolução desfavorável, 34 pacientes (87,2%) utilizaram cateter venoso central. Entre os pacientes com evolução favorável, 28 pacientes (80%) fizeram uso de cateter venoso central, $p=0,4$.

- **Nutrição parenteral**

Entre os pacientes com evolução desfavorável, quatro pacientes (10,3%) utilizaram nutrição parenteral. Apenas três pacientes (8,6%) fizeram uso de nutrição parenteral no grupo de pacientes com evolução favorável, $p=0,8$.

- **Hemodiálise**

Entre os pacientes com evolução desfavorável, 13 pacientes (33,3%) se submetiam a hemodiálise. Entre os pacientes com evolução favorável, seis pacientes (17,1%) faziam hemodiálise, $p=0,11$.

4.2.7.1.10 Uso de corticosteróide

Entre os pacientes com evolução desfavorável, 21 pacientes (53,8%) utilizaram corticosteróides. Dezenove pacientes (54,3%) fizeram uso de corticosteróide no grupo de pacientes com evolução favorável, $p=0,97$.

4.2.7.1.11 Uso de imunossupressores

Nos pacientes com evolução desfavorável, cinco pacientes (12,8%) utilizaram imunossupressores. Apenas três pacientes (8,6%) entre aqueles que tiveram evolução favorável, utilizaram imunossupressores, $p=0,71$.

4.2.7.1.12 Presença da síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA)

Entre os pacientes com evolução desfavorável, 24 pacientes (61,5%) apresentaram SDRA. Apenas três pacientes (8,6%) apresentaram SDRA no grupo de pacientes com evolução favorável, $p<0,01$.

4.2.7.1.13 Presença de choque séptico

Entre os pacientes com evolução desfavorável, 31 pacientes (79,5%) evoluíram com choque séptico. Onze pacientes (31,4%), daqueles com evolução favorável, evoluíram com choque séptico, $p < 0,01$.

4.2.7.1.14 Presença de infecção polimicrobiana

Entre aqueles com evolução desfavorável, apenas sete pacientes (17,9%) apresentaram pneumonia polimicrobiana. Doze pacientes (34,3%), entre aqueles que tiveram evolução favorável, tinham pneumonia polimicrobiana, isto é com mais de um agente, $p = 0,1$.

4.2.7.1.15 Presença de bacteremia

Entre os pacientes com evolução desfavorável, apenas três pacientes (7,7%) evoluíram com bacteremia concomitante. Apenas dois pacientes (5,7%) apresentaram bacteremia, durante o episódio de pneumonia, no grupo com evolução favorável, $p = 0,75$.

4.2.7.1.16 Insuficiência renal aguda

Entre os pacientes com evolução desfavorável, cinco pacientes (12,8%) apresentaram falência renal aguda. Apenas dois pacientes (5,7%), no grupo com evolução favorável apresentaram insuficiência renal aguda, $p = 0,29$.

4.2.7.1.17 Presença de coma e uso de sedativo

Apenas um paciente (2,6%) do grupo com evolução desfavorável apresentou coma. No grupo com evolução favorável, esse número foi de três pacientes (8,6%), $p=0,33$. Quanto ao uso de sedativo, 29 pacientes com evolução desfavorável (74,4%) fizeram uso dessas drogas. Naqueles com evolução favorável, apenas 17 pacientes (48,6%) usaram sedativos, $p=0,02$.

Tabela 17 – Análise univariada dos fatores associados à evolução desfavorável em pacientes com pneumonia causada por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem tratados com polimixina B

(continua)

Variável		Evolução Desfavorável (N=39)	Evolução Favorável (N=35)	P
Idade, anos	Média	58	51	0,13
Sexo masculino		28 (71,8%)	22 (62,9%)	0,41
Escore APACHE II	Média	15	13	0,03
Tempo de internação hospitalar, dias	Mediana	27	32	0,1
Tempo de internação UTI, dias	Mediana	19	21	0,12
Ventilação mecânica, dias	Média	21	31	0,14
Cirurgia	Sim	18 (46,2%)	16 (45,7%)	0,97
	Não	-	-	
Hospitalização prévia	Sim	13 (33,3%)	5 (14,3%)	0,05
	Não	26 (66,7%)	30 (85,7%)	
Uso de corticóide	Sim	21 (53,8%)	19 (54,3%)	0,97
	Não	18 (46,2%)	16 (45,7%)	
Uso de imunossupressor	Sim	5 (12,8%)	3 (8,6%)	0,71
	Não	34 (87,2%)	32 (91,4%)	
Presença de coma	Sim	1 (2,6%)	3 (8,6%)	0,33
	Não	38 (97,4%)	32 (91,4%)	
Uso de sedativo	Sim	29 (74,4%)	17 (48,6%)	0,02
	Não	10 (25,6%)	18 (51,4%)	
Presença de SDRA	Sim	24 (61,5%)	3 (8,6%)	<0,001
	Não	15 (38,5%)	32 (91,4%)	
Choque séptico	Sim	31 (79,5%)	11 (31,4%)	<0,001
	Não	8 (20,5%)	24 (68,6%)	
Infecção polimicrobiana	Sim	7 (17,9%)	12 (34,3%)	0,1
	Não	32 (82,1%)	23 (65,7%)	
Presença de bacteremia	Sim	3 (7,7%)	2 (5,7%)	0,75
	Não	36 (92,3%)	33 (94,3%)	

Tabela 17 – Análise univariada dos fatores associados a evolução desfavorável em pacientes com pneumonia causada por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem tratados com polimixina B

(conclusão)

Variável		Evolução Desfavorável (N=39)	Evolução Favorável (N=35)	P
Insuficiência renal aguda	Sim	5 (12,8%)	2 (5,7%)	0,29
	Não	34 (87,2%)	33 (94,3%)	
Terapia combinada	Sim	14 (35,9%)	14 (40%)	0,7
	Não	25 (64,1%)	21 (60%)	
Procedimentos Invasivos				
Sonda vesical de demora	Sim	33 (84,6%)	25 (71,4%)	0,16
	Não	6 (15,4%)	10 (28,6%)	
Cateter venoso central	Sim	34 (87,2%)	28 (80%)	0,4
	Não	5 (12,8%)	7 (20%)	
Nutrição parenteral	Sim	4 (10,3%)	3 (8,6%)	0,8
	Não	35 (89,7%)	32 (91,4%)	
Hemodiálise	Sim	13 (33,3%)	6 (17,1%)	0,11
	Não	26 (66,7%)	29 (82,9%)	

4.2.7.2 Análise Multivariada

Na análise multivariada, as variáveis independentemente relacionadas à evolução desfavorável nos episódios de pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem que foram tratados com polimixina B foram: presença de choque séptico com OR 4,81 IC95%: 1,42-16,25, $p = 0,01$ e presença da síndrome do desconforto respiratório agudo com OR 11,29 IC95%: 2,64-48,22, $p = 0,001$. (Tabela 18)

Tabela 18 – Análise multivariada dos fatores associados com evolução desfavorável

Variável	OR	Intervalo de Confiança	P
Escore APACHE II	1,11	0,99 – 1,25	0,06
Choque séptico	4,81	1,42 – 16,25	0,01
Presença de SDRA	11,29	2,64 – 48,22	0,001
Uso de sedativo	1,01	0,86 – 1,2	0,93

4.2.7.3 Análise univariada II

Vinte e nove amostras foram submetidas à análise por PCR Multiplex quanto à presença de metalo- β -lactamases. Dessas vinte e nove amostras, apenas cinco (17,2%) foram positivas, sendo que todas as cinco, para a presença de SPM-1. Procurando analisar o impacto da presença dessa enzima na evolução do quadro de pneumonia, foi realizado uma análise univariada comparando os pacientes com pneumonia por cepas produtoras e não-produtoras de MBL quanto à evolução clínica. Além disso, também foi analisado, se pacientes com cepas não-produtoras de MBL tratados com terapia combinada com polimixina B e imipenem apresentavam melhor evolução clínica.

4.2.7.3.1 Presença de metalo- β -lactamase (MBL)

Entre os pacientes com evolução desfavorável, dois de treze pacientes (13,3%) apresentavam cepas produtoras de MBL. Entre os pacientes com evolução favorável, três de onze pacientes (21,4%) apresentavam cepas de *Pseudomonas aeruginosa* produtora de metalo- β -lactamase, $p=0,65$ (Tabela 19).

Tabela 19 – Análise univariada II. Relação entre presença de metalo- β -lactamase SPM-1 e tratamento combinado com imipenem e evolução clínica

Variável		Evolução Desfavorável (N=15)	Evolução Favorável (N=14)	P
Presença de metalo- β -lactamase SPM-1	Sim	2 (13,3%)	3 (21,4%)	0,65
	Não	13 (86,7%)	11 (78,6%)	
Tratamento combinado com imipenem	Sim	3 (20%)	4 (28,6%)	0,67
	Não	12 (80%)	10 (71,4%)	

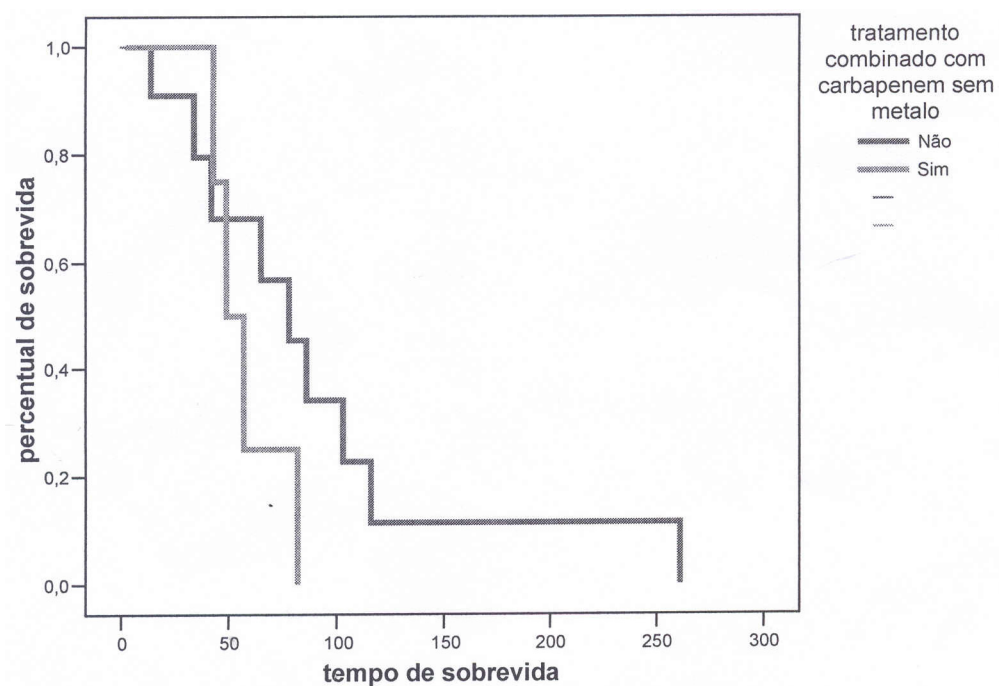
4.2.7.3.2 Tratamento combinado com polimixina B e imipenem

No grupo com evolução desfavorável, três pacientes (20%) fizeram tratamento combinado. Quatro pacientes (30,8%) fizeram tratamento combinado com polimixina B e imipenem no grupo com evolução favorável, $p = 0,67$.

4.2.7.3.3 Análise de sobrevivência

Sete pacientes cuja cepa de *Pseudomonas aeruginosa* não era produtora da metalo- β -lactamase SPM-1, fizeram tratamento combinado com imipenem e polimixina B. Foi então realizada uma curva de sobrevivência deste grupo comparado com o restante da coorte (22 pacientes) pela técnica de Kaplan-Meier (Figura 2). Não houve diferença na sobrevivência entre os dois grupos (Figura 2 e Tabela 20).

Figura 2 – Comparação da análise de sobrevida dos pacientes com pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem sem metalo- β -lactamase(24) tratados com polimixina B(17) vs polimixina B e imipenem(7).



Teste de Log-Rank: p-valor = 0,256

Tabela 20 – Análise comparativa da sobrevida em dias dos pacientes com terapia combinada (polimixina B + imipenem) versus terapia simples (polimixina B).

Tratamento	Sobrevida Mediana (Dias)	P (Log-Rank)
Polimixina B	78	0,25
Polimixina B + imipenem	49	

4. 3 Fatores associados à presença da metalo- β -lactamase SPM-1 e evolução clínica em cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem causando pneumonia nosocomial.

Durante o período de estudo, vinte e nove amostras de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem, responsáveis por quadro de pneumonia nosocomial no Hospital São Paulo, foram analisadas quanto à presença de metalo- β -lactamase por técnica de PCR Multiplex. Cinco (17,2%) amostras se mostraram positivas para a presença da metalo-enzima SPM-1.

Com o intuito de analisar fatores associados à presença dessa metalo-enzima nessa coorte de pacientes, realizamos um estudo tipo caso-controle aninhado (nested case-control). Os casos foram os pacientes com presença de metalo- β -lactamase SPM-1 e os controles foram os pacientes sem SPM-1. Foi realizado apenas análise univariada, pois nenhuma variável apresentou diferença estatisticamente significativa. Apenas a variável sexo (feminino) apresentou diferença limítrofe entre os dois grupos.

4.3.1 Análise Univariada

4.3.1.1 Idade

A média de idade dos casos foi de 63 anos e a mediana de 50 anos. Entre os controles, a média foi de 51,2 e a mediana de 52, $p= 0,24$.

4.3.1.2 Tempo de Hospitalização

O tempo de hospitalização entre os casos teve média de 40 dias e mediana de 25 dias. Já entre os controles, a média foi de 39 dias e a mediana de 29 dias, $p= 0,88$.

4.3.1.3 Dias de UTI

Os casos tiveram média de 38 dias e mediana de 24 dias de internação antes do diagnóstico de pneumonia. Os controles, a média e a mediana foram de 31,8 e 22 dias respectivamente, $p=0,63$.

4.3.1.4 Número de classes de antimicrobianos usadas

Os casos utilizaram uma mediana de 5 classes de antimicrobianos previamente ao diagnóstico de pneumonia. Entre os controles, a mediana foi de 4 classes, $p=0,32$.

4.3.1.5 Dias de ventilação mecânica

Os casos tiveram mediana de 24 dias de uso de ventilação mecânica. Já os controles, tiveram mediana de 16 dias, $p=0,44$.

4.3.1.6 Escore APACHE II

Os casos tinham mediana de APACHE II de 15. Os controles apresentaram mediana de 15 também, $p=0,67$.

4.3.1.7 Tempo de uso de antimicrobianos

Os casos tinham mediana de 31 dias de uso de antimicrobianos. Os controles tinham mediana de 27 dias, $p=0,41$.

4.3.1.8 Sexo

Quatro pacientes (80%) entre os casos eram do sexo feminino. Entre os controles, sete pacientes (29,1%) eram do sexo feminino, $p=0,05$.

4.3.1.9 Cirurgia

Dois pacientes (40%) entre os casos tinham se submetido a procedimento cirúrgico. Entre os controles, dezessete pacientes (70,8%) passaram por cirurgia prévia, $p=0,3$.

4.3.1.10 Internação prévia

Nenhum paciente do grupo caso tinha internação prévia. Já entre os controles, seis pacientes (25%) tinham internação prévia nos últimos três meses, $p=0,55$.

4.3.1.11 Procedimentos invasivos

4.3.1.11.1 Sonda vesical de demora

No grupo de casos, três pacientes (60%) utilizaram sonda vesical de demora. No grupo controle, dezessete pacientes (70,8%) fizeram uso desse procedimento, $p=0,63$.

4.3.1.11.2 Cateter venoso central

Entre os casos, quatro pacientes (80%) utilizaram cateter venoso central. Entre os controles, vinte e um pacientes (87,5%) utilizaram esse procedimento invasivo, $p=0,55$.

4.3.1.12 Uso de corticosteróide

Entre os casos, dois pacientes (40%) fizeram uso de corticóide previamente ao diagnóstico de pneumonia. Já entre os controles, doze pacientes (50%) utilizaram essa terapia, $p > 0,99$.

4.3.1.13 Imunossupressores

Um paciente (20%) dentre os casos utilizou imunossupressores. Entre os controles, apenas dois pacientes (8,3%) utilizaram essas medicações, $p=0,44$.

4.3.1.14 Infecção polimicrobiana

Entre os casos, apenas um paciente (20%) apresentou pneumonia polimicrobiana. Já entre os controles, cinco pacientes (20,8%) tiveram infecção polimicrobiana, $p>0,99$.

4.3.1.15 Comorbidades

4.3.1.15.1 Diabetes mellitus

Um paciente (20%) entre os casos tinha diabetes mellitus versus dois pacientes (8,3%) do grupo controle, $p=0,44$.

4.3.1.15.2 Cirrose

Nenhum paciente entre os casos tinha cirrose. No grupo controle, três pacientes (12,5%) apresentavam cirrose, $p>0,99$.

4.3.1.15.3 Doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC)

Nenhum paciente entre os casos tinha DPOC. Entre os controles, cinco pacientes (20,8%) tinham DPOC, $p=0,55$.

4.3.1.15.4 Insuficiência renal crônica (IRC)

Um paciente (20%) do grupo caso tinha IRC, comparado a três pacientes (12,5%) no grupo controle, $p=0,55$.

4.3.1.15.5 Neoplasia

Um paciente (20%) entre os casos tinha diagnóstico de neoplasia. No grupo controle, cinco pacientes (20,8%) tinham esse diagnóstico, $p> 0,99$.

4.3.1.15.6 AIDS

Nenhum paciente do grupo caso tinha diagnóstico de AIDS. Entre os controles, apenas um paciente (4,2%) tinha esse diagnóstico, $p> 0,99$.

4.3.1.15.7 Transplante de órgão sólido

Apenas um paciente (20%) entre os casos tinha se submetido a transplante de órgão sólido. Entre os controles, apenas dois pacientes (8,3%) tinham realizado transplante, $p=0,44$.

4.3.1.16 Uso prévio de antimicrobianos

Entre os casos, foi maior o uso de cefalosporinas de 3ª geração ($p=0,62$), cefalosporinas de 4ª geração ($p=0,62$), clindamicina ($p=0,28$), vancomicina ($p> 0,99$), metronidazol ($p=0,56$) e polimixina B ($p=0,19$), mas sem diferença significativa comparado aos controles, como demonstrado na Tabela 21.

4.3.1.17 Presença de bacteremia

Um paciente (20 %) entre os casos apresentou bacteremia concomitante ao episódio de pneumonia. Entre os controles, dois pacientes (8,3%) tiveram bacteremia, $p= 0,44$.

4.3.1.18 Presença de choque séptico

Dois pacientes (40%), entre os casos, apresentaram choque séptico durante o episódio de pneumonia. Entre os controles, quinze pacientes (62,5%) tiveram choque séptico, $p= 0,62$.

4.3.1.19 Presença de Síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA)

Dois pacientes (40%) do grupo caso apresentaram SDRA. Entre os controles, sete pacientes (29,2%) apresentaram SDRA, $p= 0,63$.

4.3.1.20 Insuficiência renal aguda

Nenhum paciente do grupo caso apresentou falência renal aguda. Entre os controles, dois pacientes (8,3%) apresentaram insuficiência renal aguda, $p > 0,99$.

4.3.1.21 Mortalidade relacionada à infecção (14 dias)

Não houve diferença entre a mortalidade em 14 dias entre os dois grupos. Dois pacientes (40%) SPM-1 positivos morreram até 14 dias do diagnóstico da infecção. Entre os pacientes sem SPM-1, treze (54,2%) morreram até o 14º dia após o diagnóstico da infecção, $p= 0,59$.

4.3.1.22 Mortalidade hospitalar

Também não houve diferença entre a mortalidade hospitalar entre os dois grupos. Três pacientes (60%) SPM-1 positivos morreram durante a permanência hospitalar. Entre os pacientes sem SPM-1, dezoito (75%) morreram durante a permanência hospitalar, $p=0,59$.

Tabela 21 – Análise univariada dos fatores associados à presença da metalo- β -lactamase SPM-1 em amostras de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de episódios de pneumonia nosocomial.

(continua)

Variável		Presença de SPM-1 (N=5)	Ausência de SPM-1 (N=24)	P
Idade, anos	Média	63	51	0,24
Tempo de hospitalização, dias	Mediana	25	29	0,88
Tempo de internação na UTI, dias	Mediana	24	22	0,63
Número de antibióticos	Mediana	5	4	0,32
Dias de ventilação mecânica	Mediana	24	16	0,44
Escore APACHE II	Mediana	15	15	0,67
Tempo sob uso de antibióticos	Mediana	31	27	0,41
Sexo feminino	-	4 (80%)	7 (29,1%)	0,05
Cirurgia	Sim	2 (40%)	17 (70,8%)	0,30
	Não	3 (60%)	7 (29,2%)	
Internação prévia	Sim	0 (0%)	6 (25%)	0,55
	Não	5 (100%)	18 (75%)	
Uso de corticóides	Sim	2 (40%)	12 (50%)	>0,99
	Não	3 (60%)	12 (50%)	
Uso de imunossupressores	Sim	1 (20%)	2 (8,3%)	0,44
	Não	4 (80%)	22 (91,7%)	
Infecção polimicrobiana	Sim	1 (20%)	5 (20,8%)	>0,99
	Não	4 (80%)	19 (79,2%)	

Tabela 21 – Análise univariada dos fatores associados a presença da metalo- β -lactamase SPM-1 em amostras de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de episódios de pneumonia nosocomial.

(continuação)

Variável		Presença de SPM-1 (N=5)	Ausência de SPM-1 (N=24)	P
Comorbidade				
Diabetes Mellitus	Sim	1 (20%)	2 (8,32%)	0,44
	Não	4 (80%)	22 (91,7%)	
Cirrose	Sim	0 (0%)	3 (12,5%)	>0,99
	Não	5 (100%)	21(87,5%)	
DPOC	Sim	0 (0%)	5 (20,8%)	0.55
	Não	5 (100%)	19 (79,2%)	
Insuficiência renal crônica	Sim	1 (20%)	3 (12,5%)	0,55
	Não	4 (80%)	21 (87,5%)	
Neoplasia sólida	Sim	1 (20%)	5 (20,8%)	>0,99
	Não	4 (80%)	19 (79,2%)	
AIDS	Sim	0 (0%)	1 (4,22)	>0,99
	Não	5 (100%)	23 (95,8%)	
Transplante	Sim	1 (20%)	2 (8,3%)	0,44
	Não	4 (80%)	22 (91,7%)	
Procedimentos Invasivos				
Sonda vesical de demora	Sim	3 (60%)	17 (70,8%)	0,63
	Não	2 (40%)	7 (29,2%)	
Cateter venoso central	Sim	4 (80%)	21 (87,5%)	0,55
	Não	1 (20%)	3 (12,5%)	
Nutrição parenteral	Sim	0 (0%)	2 (8,3%)	>0,99
	Não	5 (100%)	22 (91,7%)	
Hemodiálise	Sim	2 (40%)	6 (25%)	0,59
	Não	3 (60%)	18 (75%)	

Tabela 21 – Análise univariada dos fatores associados a presença da metalo- β -lactamase SPM-1 em amostras de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de episódios de pneumonia nosocomial

(conclusão)

Variável		Presença de SPM-1 (N=5)	Ausência de SPM-1 (N=24)	P
Uso de antimicrobianos				
Cef. 3º geração	Sim	4 (80%)	14 (58,3%)	0,62
	Não	1 (20%)	10 (41,7%)	
Cef. 4º geração	Sim	3 (60%)	9 (37,5%)	0,62
	Não	2 (40%)	15 (62,5%)	
Carbapenem	Sim	3 (60%)	18 (75%)	0,59
	Não	2 (40%)	6 (25%)	
Clindamicina	Sim	3 (60%)	6 (25%)	0,28
	Não	2 (40%)	18 (75%)	
Vancomicina	Sim	5 (100%)	21 (87,5%)	>0,99
	Não	0, (0%)	3 (12,5%)	
Metronidazol	Sim	2 (40%)	5 (20,8%)	0,56
	Não	3 (60%)	19 (79,2%)	
Aminoglicosídeo	Sim	1 (20%)	6 (25%)	>0,99
	Não	4 (80%)	18 (75%)	
Quinolona	Sim	1 (20%)	7 (29,25)	>0,99
	Não	4 (80%)	17 (70,8%)	
Piperacilina-tazobactam	Sim	0 (0,%)	3 (12,5%)	>0,99
	Não	5 (100%)	21 (87,5%)	

Tabela 22 – Análise univariada dos fatores relacionados à evolução clínica

Variável		Presença de SPM-1 (N=5)	Ausência de SPM-1 (N=24)	P
Presença de choque séptico	Sim	2 (40%)	15 (62,5%)	0,62
	Não	3 (60%)	9 (37,5%)	
Presença de SDRA	Sim	2 (40%)	7 (29,2%)	0,63
	Não	3 (60%)	17 (70,8%)	
Bacteremia	Sim	1 (20%)	2 (8,3%)	0,44
	Não	4 (80%)	22 (91,7%)	
Insuficiência renal aguda	Sim	0 (0%)	2 (8,3%)	>0,99
	Não	5 (100%)	22 (91,7%)	
Mortalidade relacionada	Sim	2 (40%)	13 (54,2%)	0,65
	Não	3 (60%)	11 (45,8%)	
Mortalidade hospitalar	Sim	3 (60%)	18 (75%)	0,59
	Não	2 (40%)	6 (25%)	

5. Discussão

Atualmente, os profissionais de saúde se deparam com um grave problema em âmbito hospitalar que é a emergência e disseminação de patógenos multirresistentes. Inúmeros hospitais em todo o mundo apresentam elevados níveis endêmicos de alguns desses patógenos. No Hospital São Paulo, o isolamento de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenens, vem se mantendo em níveis endêmicos nos últimos anos, mantendo-se essa resistência em média na faixa de 50 a 60 %, sendo o trato respiratório inferior um dos principais locais de isolamento desse patógeno (Furtado et al., 2007).

Dessa forma, surgiu a necessidade de estudarmos os principais fatores de risco relacionados a aquisição de pneumonia nosocomial por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem em nosso serviço para uma mais apropriada terapia empírica. Além disso, buscamos avaliar a evolução clínica dessas infecções e os fatores relacionados a uma evolução desfavorável. Através de um terceiro estudo também procuramos abordar fatores de risco relacionados a presença de metalo- β -lactamase, notadamente a SPM-1 nessas amostras, haja vista a grande predominância dessa enzima em cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenens em nosso serviço, bem como no Brasil.(Sader et al.,2005)

Objetivando realizar um estudo de fator de risco com uma metodologia adequada, realizamos um estudo do tipo caso-caso-controle. Essa metodologia idealizada nos últimos anos (Harris et al., 2001; Kaye et al., 2005) utiliza dois estudos caso-controle separados dentro de um único estudo: o primeiro estudo compara pacientes-casos infectados com a bactéria resistente (casos resistentes) com pacientes-controles sem infecção causada pelo organismo de estudo, que portanto são representativos da população-fonte. O segundo estudo compara casos com o fenótipo sensível do organismo estudado (casos sensíveis) com os mesmos controles sem infecção já descritos acima. Estas duas análises fornecem modelos de risco para: 1. Isolamento do fenótipo resistente do organismo de estudo e 2. Isolamento do fenótipo sensível do organismo estudado. Quando esses dois modelos de risco são comparados e contrastados, os fatores de risco especificamente associados com o isolamento do fenótipo resistente podem ser identificados. O estudo caso-caso-controle utiliza o mesmo grupo controle em ambas

as análises. A vantagem de utilizar este tipo de grupo controle é que isto permite uma adequada comparação dos dois modelos de risco (ex. fenótipo resistente versus controle e fenótipo sensível versus controle) porque os dois grupos de casos são comparados com o mesmo grupo controle.

Nosso estudo não realizou pareamento no grupo controle como definido na metodologia discutida acima, mas interessante perceber-se na análise univariada dos dois estudos que não houve diferença estatística entre os dois grupos de casos e os controles quanto às comorbidades. O índice APACHE II também só foi diferente entre os casos e controles no estudo 1. Esse dado é bastante importante, haja vista que, idealmente a população controle, em estudos caso-controle, deve idealmente ser formada por pacientes sem infecção pela cepa sensível, e deve haver ajuste para comorbidade e tempo sob risco, que pode ser feito por pareamento, por estratificação ou análise multivariada (Harris et al., 2001). Por outro lado dispensando o pareamento, corre-se o risco de outros fatores importantes, como o tempo sob risco, ficarem bastante diferentes entre os grupos, como ocorreu nos dois estudos na análise univariada, apesar que, essa variável não apresentou significância na regressão logística no estudo 1, mas foi significativa no estudo 2. Mas há, obviamente, a discussão sobre se, um excessivo pareamento de variáveis não deixaria o estudo muito artificial.

No estudo 1, que comparou pacientes com *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem como casos com um grupo controle formado por pacientes da mesma unidade, no mesmo período de tempo, encontramos como fator de risco independentes na análise multivariada, variáveis relacionadas à estadia do paciente (tempo de hospitalização prévio), às características do paciente (sexo), ao estado clínico (APACHE II, presença de HD, uso de corticóide) e finalmente ao uso de antimicrobianos (piperacilina-tazobactam, cefalosporinas de 3ª geração).

Inúmeros estudos nos últimos dez anos abordaram fatores de risco para o surgimento de infecções por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenens. (Troillet et al., 1997; Harris et al., 2002; Paramythiotou et al., 2004; Zavascki et al., 2005; Ozkurt et al., 2005; Fortaleza et al., 2006; Falagas et al., 2006; Tam et al., 2007; Peña et al., 2007; Defez et al., 2004). Outros estudos abordaram concomitantemente fatores de risco e evolução clínica (Lautenbach et al., 2006; Aloush et al., 2006; Cao et al., 2004; Marino, 2002). Porém poucos estudos

avaliaram fatores de risco especificamente para pneumonia (Leroy et al., 2005; Mentzelopoulos et al., 2007; Lodise et al., 2007).

Troillet et al. (1997) realizaram um dos primeiros estudos abordando fatores de risco para o surgimento de infecções por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenens. Nesse estudo caso-controle, realizado com cepas de todo o hospital, 40 pacientes com infecções por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a imipenem foram comparados com 387 amostras sensíveis. Os fatores de risco encontrados foram uso prévio de imipenem e o paciente ter se submetido a transplante de órgãos. Entretanto, nesse estudo o grupo controle foi formado por pacientes com cepas sensíveis.

Zavascki et al. (2005) também encontraram o uso de carbapenens como único fator de risco para infecções por *Pseudomonas aeruginosa*. Esse estudo utilizou a metodologia caso-caso-controle e foi realizado com 93 amostras de todo o hospital e com todas as infecções. Entretanto, diferentemente do preconizado (Kaye et al., 2005), os pacientes com cepas sensíveis foram comparados como controles dos casos resistentes. Esse estudo é interessante por ter sido realizado no Brasil, mas como o anterior abordou todas as infecções. Em nosso estudo avaliamos fatores de risco especificamente para pneumonia, em uma unidade específica e utilizando a metodologia caso-caso-controle, que é mais indicada nesse tipo de estudo e não encontramos o uso de carbapenens ou de qualquer outro antimicrobiano como fator de risco.

Ozkurt et al. (2005), também acharam o uso de carbapenens como fator de risco para *Pseudomonas aeruginosa* resistente a imipenem em uma unidade de queimados. Os autores utilizaram uma metodologia caso-controle, mas também utilizaram como controles pacientes com cepas sensíveis. Tempo de internação hospitalar, uso de antibióticos de amplo espectro, presença prévia de cepa sensível e resistente na unidade no mesmo período foram também fatores de risco. O interessante desse estudo é que foi realizado em uma unidade específica (queimados), diferentemente da maioria dos estudos que são feitos comumente em todo o hospital ou em UTIs.

Fortaleza et al. (2006) também realizaram um estudo em nosso país abordando fatores de risco para *Pseudomonas aeruginosa* resistente a imipenem. Os autores utilizaram também a metodologia caso-controle, só que neste caso com

pareamento por unidade e período de internação. O estudo foi realizado em todo o hospital e também procurou identificar fatores de risco para o surgimento de amostras resistente a ceftazidima. Nesse caso, o grupo controle era formado por pacientes sem infecção. As variáveis encontradas como fatores de risco foram transferência de outro hospital, uso de hemodiálise, uso de amicacina e vancomicina além do uso de imipenem, como nos artigos acima.

Falagas et al. (2006) também encontraram o uso de carbapenens como fator de risco para o isolamento de cepas multirresistentes e sensíveis apenas a polimixina B. Esse estudo avaliou pacientes com bacteremia e o uso de carbapenens foi o único fator de risco encontrado. Entretanto, o estudo tinha apenas dezesseis pacientes no grupo resistente e quarenta no grupo controle, que também era formado por pacientes com cepas sensíveis. Peña et al. (2007), em um estudo recente realizado em uma UTI, avaliaram fatores de risco apenas para colonização por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem. O estudo também foi um caso-controle, e culturas de vigilância retal e faríngea foram empregadas semanalmente para avaliar colonização. No total, vinte pacientes colonizados por cepas resistentes foram comparados com 224 controles não colonizados. O uso de carbapenens, além da severidade da doença de base e uso de quinolonas foram fatores de risco nesse estudo.

Cao et al. (2004) também encontraram o uso de carbapenens como fator de risco para infecções por *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente. Esse estudo também foi um caso-controle realizado com pacientes de todo o hospital, e o grupo controle era formado por pacientes com cepas sensíveis a carbapenens. O uso de ventilação mecânica também foi fator de risco para essas infecções.

Marino (2002), realizou um estudo em nosso hospital analisando fatores de risco para o surgimento de infecção por *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente. Nesse estudo, tipo caso-controle, 119 pacientes com infecção por *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente foram comparados com 201 pacientes com infecção por cepas sem multirresistência. Os fatores de risco encontrados foram: índice McCabe, uso prévio de cefalosporinas de terceira geração, uso prévio de carbapenens, e presença de pneumonia. Apenas 13,1% dos pacientes avaliados tiveram pneumonia. Entretanto, nesse estudo, como descrito acima, os controles foram pacientes com cepas sensíveis.

Apenas três estudos analisaram fatores de risco especificamente para pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenens como o nosso estudo (Mentzelopoulos et al., 2007; Lodise et al., 2007; Leroy et al., 2005). Dois desses estudos também encontraram exposição a carbapenens (Mentzelopoulos et al., 2007; Lodise et al., 2007) como fator de risco. Nenhum desses estudos, entretanto, utilizou a metodologia caso-caso-controle, sendo que dois foram estudos caso-controle e um transversal.

Mentzelopoulos et al. (2007) realizaram um estudo caso-controle com pareamento. Os cinco casos foram pareados com vinte controles por gênero, admissão hospitalar prévia, duração da hospitalização, diagnóstico de internação na UTI e escore APACHE II. Esse estudo também foi realizado em uma UTI clínico-cirúrgica como o nosso, e o uso combinado de carbapenem por mais de 20 dias e colistina por mais de 13 dias foi a única variável encontrada como fator de risco. Interessantemente esse é o único estudo em que o uso de polimixina foi associado a presença de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem.

Esse dado é importante, pois em nosso meio utilizamos esse antimicrobiano em grande quantidade também devido ao aumento nos casos de infecção por *Acinetobacter baumannii* também resistente a carbapenens. Lodise et al. (2007), fizeram um estudo seccional em um hospital terciário de ensino e encontraram como fatores de risco para pneumonia por isolados de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenens, o uso de ventilação mecânica por onze dias ou mais, exposição prévia a quinolonas por mais de 3 dias e a carbapenens por mais de 3 dias. O grupo controle nesse estudo também era formado por pacientes com cepas sensíveis.

Leroy et al. (2005), também realizaram um estudo caso-controle para identificar fatores de risco para pneumonia por patógenos resistentes a imipenem. Quarenta e quatro casos foram selecionados e destes, 14 eram *Pseudomonas aeruginosa*. Novamente, o grupo controle era formado por cepas sensíveis a imipenem. Os fatores de risco encontrados foram: uso de quinolona, uso de aminoglicosídeos e uso de monitorização de pressão arterial invasiva. Nesse estudo, o uso de carbapenens não foi fator de risco.

Como se pode notar, o uso de carbapenens tem sido encontrado como fator de risco para infecções por cepas resistentes de *Pseudomonas aeruginosa* em

inúmeros estudos. Em nosso estudo, com já relatado acima, não identificamos seu uso com o surgimento de pneumonia por cepas resistentes, apesar de ter sido uma variável com significância na análise univariada, pois 84,5% dos pacientes casos os utilizaram contra 45,1% dos controles.

Por outro lado, outros antimicrobianos também têm sido identificados como fatores de risco para o surgimento desses patógenos, como quinolonas (Leroy et al., 2005; Lodise et al., 2007; Lautenbach et al., 2006; Peña et al., 2007; Paramythiotou et al., 2004; Defez et al., 2004); aminoglicosídeos (Aloush, et al., 2006; Fortaleza et al., 2006); cefalosporinas (Aloush et al., 2006; Marino, 2002); piperacilina-tazobactam (Harris et al., 2002; Ozkurt et al., 2005) e polimixina (Mentzelopoulos et al., 2007). Como se pode notar, além dos carbapenens, as quinolonas são o grupo mais implicado no surgimento de cepas resistentes a carbapenens. Uma explicação considerada é que o uso de quinolonas selecionaria cepas com hiperexpressão de bombas de efluxo (Peña et al., 2007; Defez et al., 2004). Interessantemente, também em nosso estudo, o uso de quinolonas não apresentou significância estatística, nem mesmo na análise univariada dos dois estudos. Talvez o uso reduzido dessa classe de antimicrobianos seja a explicação para esse fato, já que apenas 17,2% dos casos resistentes e 10,6% dos casos sensíveis as utilizaram.

No Estudo I, o uso de piperacilina-tazobactam, como descrito no estudo de Harris et al. (2001) e Ozkurt et al. (2005), e o uso de cefalosporinas de 3ª geração, como encontrado no estudo de Aloush et al. (2006) e Marino (2002), foram independentemente associados a presença de pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem. O tratamento com esses antimicrobianos de amplo espectro ocasiona a erradicação da microbiota competitiva e provoca a seleção de cepas multirresistentes (Aloush et al., 2006). Também a seleção de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* com beta-lactamases cromossômicas desreprimidas por essas duas classes de antimicrobianos, podem ser mais susceptíveis a perda da porina OprD, e ficarem resistentes aos carbapenens, principalmente ao imipenem (Harris et al., 2001; Satake et al., 1991; Neu, 1992).

Defez et al. (2004), realizaram um dos poucos estudos caso-caso-controle sobre fatores de risco relacionados a essas infecções. Esse estudo realizado em todo o hospital, utilizou oitenta pacientes como casos com cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistente, setenta e cinco pacientes com cepas sensíveis e 240

controles que foram pareados por unidade de internação e tempo sob risco. Entretanto, a análise não utilizou adequadamente essa metodologia, pois comparou casos resistentes com controles sem infecção e na segunda análise casos resistentes com casos sensíveis, quando deveria comparar casos sensíveis com controles sem infecção (Kaye et al., 2005; Harris et al., 2001). Os autores relatam que idade, índice de severidade, restrição ao leito, transferência de outro serviço, sondagem nasogástrica, sondagem urinária e exposição a beta-lactâmicos e fluoroquinolonas foram fatores de risco para *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente, utilizando controles sãos. Exposição a fluoroquinolonas e cirurgia prévia foram variáveis associadas a infecção nosocomial por cepas resistentes na população de pacientes já com infecção por *Pseudomonas aeruginosa* sensível.

Paramythiotou et al. (2004) identificaram a duração do uso de ciprofloxacina como fator de risco para aquisição de *P. aeruginosa* multirresistente em três UTIs de um hospital de ensino em Paris. O estudo foi um caso-controle com controles sem infecção e pareados aos casos por severidade da doença de base e duração da internação na UTI. Essa metodologia também é bastante aceitável haja vista que é interessante em estudos desse tipo o pareamento por comorbidade e tempo sob risco, que foi utilizado nesse estudo.

Harris et al. (2002) realizaram um elegante estudo caso-caso-controle, que procurava identificar fatores de risco para infecções por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a imipenem em amostras de todo o hospital. Cento e vinte pacientes pertenciam ao grupo caso resistente e 662 ao grupo caso sensível e mais de setecentos pacientes ao grupo controle. O uso de vancomicina e a admissão na UTI foram as únicas variáveis que se mostraram significativas em ambas as análises multivariadas demonstrando serem fatores de risco para o isolamento de *P.aeruginosa* resistente a imipenem. Esse foi um dos primeiros estudos que utilizou esse tipo de metodologia em estudos de fatores de risco. Um ponto fraco desse estudo comentado pelos próprios autores é que eles procuraram avaliar fatores de risco para aquisição de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a imipenem e não realizaram culturas de vigilância nos pacientes controles, pois alguns desses poderiam já estarem colonizados também por cepas sensíveis ou resistentes e de fato pertencerem aos outros grupos. Interessantemente, o uso de carbapenens não foi identificado como fator de risco concomitantemente nas duas análises de

regressão utilizadas, sendo identificado apenas como fator de risco quando comparado casos resistentes com controles sem *Pseudomonas aeruginosa*, similarmente ao nosso estudo. Utilizando a metodologia caso-caso-controle englobamos todo o grupo de pacientes de uma determinada unidade ou hospital, isto é, pacientes com cepas resistentes, sensíveis e controles são que realmente formam toda a população susceptível para adquirir um patógeno resistente. Com esse estudo, abordamos as formas de aquisição por pressão seletiva de uso do antimicrobiano e também nos pacientes são, a forma de aquisição por transmissão cruzada que é o que realmente ocorre no ambiente hospitalar.

O que chama a atenção na análise desses estudos, é que o uso de carbapenems foi encontrado como fator de risco principalmente em estudos que utilizaram metodologias mais falhas, como utilizando grupo controle com cepas sensíveis ou com estudos de caso-controle simples. Estudos com uma metodologia mais adequada como o de Harris et al. (2002), discutido acima, não acharam o uso de carbapenems como fator de risco, assim também como o nosso estudo.

Além do uso de antimicrobianos, outras variáveis tem sido relacionadas a presença de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenems. Entre essas variáveis encontramos: tempo de hospitalização (Tam et al., 2007; Ozkurt et al., 2005); internação em UTI (Harris et al., 2002; Aloush et al., 2006); transferência de outro hospital (Fortaleza et al., 2006); severidade da doença (Peña et al., 2007; Marino, 2002); transplante de órgãos (Troillet et al., 1997); procedimentos invasivos (Aloush et al., 2006; Cao et al., 2004; Leroy et al., 2005; Lodise et al., 2007). Em nosso estudo, notadamente no estudo I, encontramos o tempo de hospitalização, mas nesse caso o tempo previamente a internação a UTI, como fator de risco independente, para o surgimento de pneumonia por cepa resistente, demonstrando a importância da permanência hospitalar do paciente.

Como nosso estudo já foi realizado em uma UTI, a variável internação em UTI não poderia ser analisada como fator de risco. A severidade da doença, que poderia ser definida com um índice de gravidade, como o escore APACHE II também aparece como um variável significativa na regressão logística no estudo I. Apesar de termos avaliado pacientes transplantados, essa variável não foi significativa em nosso estudo.

Quanto a procedimentos invasivos, e em nosso estudo, como avaliávamos especificamente pneumonia, o uso de ventilação mecânica seria o principal fator de risco para o desenvolvimento de pneumonia nessa população. Entretanto, apesar de demonstrar significância na análise univariada no estudo I e II, ela não se apresentou significativa na análise multivariada em nenhum dos dois estudos.

Em nosso estudo, apenas o uso de corticóide foi independentemente associado ao surgimento de pneumonia por amostras de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a imipenem utilizando a metodologia caso-caso-controle. Como sugerido por Kaye et al. (2005), a divisão da razão de chances (OR) dessa variável no estudo I pela OR dessa mesma variável no estudo II, determinaria a real OR para o surgimento de pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a imipenem nessa população. Portanto, em nosso estudo, como o estudo I teve OR de 13,18, e o estudo II teve OR de 12,32, a OR final seria de 13,18 dividido por 12,32 que seria igual a 1,06.

O achado do uso de corticóide como única variável independente nos dois estudos é bastante interessante, haja vista, que nenhum outro estudo encontrou essa variável como fator de risco para infecção por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem. Alguns estudos avaliaram especificamente imunossupressão (Paramythiotou et al., 2004; Peña et al., 2007; Zavascki et al., 2005), mas poucos estudos prévios avaliaram o uso de corticóides como fator de risco para esse tipo de infecção (Fortaleza et al., 2006; Leroy et al., 2005; Mentzelopoulos et al., 2007).

Fortaleza et al. (2006), em um estudo realizado no Brasil, encontraram o uso de corticóide como uma variável significativa apenas na análise univariada. Nesse estudo, 39,8% dos casos utilizaram esteróides versus 25,5% nos controles, com $p=0,006$. Leroy et al. (2005), também analisaram o uso de esteróides como fator de risco, mas nesse estudo, os casos utilizaram em menor grau essas drogas do que os controles (26,2% versus 31,7%, $p=0,5$). Mentzelopoulos et al. (2007), também analisaram essa variável. Nesse estudo, apesar de um maior uso no grupo de casos (80%) quando comparado aos controles (50%), não houve significância estatística na análise univariada ($p=0,34$). O nosso estudo demonstrou essa variável como significativa na regressão logística, nos dois estudos, isto é, tanto no estudo I, com casos resistentes quanto no estudo II, com casos sensíveis a imipenem.

Poderíamos argumentar, que poderia não haver relação causa-efeito concernente a essa variável, pois em anos recentes, tem sido indicado, em terapia intensiva, o uso de corticóides em baixas doses em pacientes com sepse (Bollaert et al., 1998; Annane et al., 2002) e essa variável poderia ser apenas uma variável confundidora, pois vários casos poderiam ter usado essas drogas por outro processo infeccioso prévio associado a presença de sepse. Entretanto, como essa indicação de uso é relativamente recente, poucos estudos analisaram a hipótese que o uso dessas drogas possam realmente contribuir para o surgimento de infecções por *Pseudomonas aeruginosa*. Os três estudos acima comentados, foram realizados nos últimos três anos, confirmando que, anteriormente essa variável não era abordada definitivamente como fator de risco para infecções por *Pseudomonas aeruginosa*.

Um estudo recém-publicado (Sprung et al., 2008) demonstrou entretanto, que o uso de corticóides, não reduz mortalidade em casos de sepse, contradizendo os estudos anteriores. Esse estudo, inclusive, demonstrou a presença de uma maior quantidade de episódios de superinfecção, incluindo nova sepse e choque séptico nos pacientes que usaram corticoidoterapia. Estudos mais antigos, com doses maiores de corticóide, já demonstravam maior incidência de superinfecções (Sprung et al., 1984; Lefering, Neugebauer, 1995; Cronin et al., 1995).

Os corticosteróides exercem múltiplas atividades antiinflamatórias, incluindo a inibição da migração linfocitária e inibição da transcrição de citocinas dependentes do fator nuclear de ativação Kb (NFkB). Além disso, essas drogas tem ação sobre interleucinas inflamatórias, como a IL-6, IL-8 e GM-CSF (Kube et al., 2001). Alguns prévios estudos demonstraram a ação dos esteróides em cobaias com pneumonia (Pennington et al., 1984; Fukushima et al., 1987), em bacteremia por *Pseudomonas aeruginosa* (Gransden et al., 1995), em pacientes com artrite reumatóide e infecção pulmonar (Takayanagi et al., 2007), em pacientes submetidos a transplante de medula óssea (Sayer et al., 1994), e em pacientes com DPOC e pneumonia comunitária (Pifarre et al., 2007).

Pennington et al. (1984), avaliaram a resposta inflamatória da terapia com corticóide e ciclofosfamida em cobaias com pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa*. O estudo demonstrou uma redução no número de macrófagos e polimorfonucleares no pulmão dessas cobaias, com uma maior mortalidade. Fukushima et al. (1987), analisaram animais (coelhos) tratados com corticóides, com

pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa*. Os autores demonstraram que uso de corticóides reduz a função dos polimorfonucleares e a atividade quimiotática, diminuindo assim a função antibacteriana. Sayer et al. (1994), estudando pacientes submetidos a transplante de medula óssea, compararam um grupo de pacientes que utilizaram metilprednisolona como prevenção de doença enxerto versus hospedeiro, com pacientes que não fizeram uso desse corticóide (utilizaram entretanto, metotrexate e ciclosporina). Houve maior número de infecções no grupo que utilizou metilprednisolona, sendo a bacteremia a principal infecção. *Pseudomonas aeruginosa* foi a principal bactéria gram-negativa isolada. Gransden et al. (1995), analisaram os fatores de risco para bacteremia por *Pseudomonas aeruginosa* num período de 20 anos (1969-1989), em um hospital em Londres. Os autores encontraram sete fatores independentemente associados ao surgimento de bacteremia, e entre eles estavam o uso de corticóides e agentes citotóxicos. Takayanagi et al. (2007), analisaram numa coorte de pacientes com artrite reumatóide, os fatores de risco para infecções pulmonares. Os autores verificaram que pneumonia foi o segundo tipo de infecção pulmonar mais comum, atrás somente da tuberculose, sendo que *Pseudomonas aeruginosa* foi a segunda causa mais comum de pneumonia e os autores concluíram que o uso de corticóides e outros imunossupressores seriam fatores de risco para o surgimento de infecções pulmonares. Pifarre et al. (2007), analisaram episódios de pneumonia comunitária em pacientes com DPOC comparados com pacientes sem DPOC. Nesse estudo, a incidência de *Pseudomonas aeruginosa* e outros gram-negativos foi maior nos pacientes com DPOC, principalmente, em pacientes com doença avançada e naqueles em uso de corticóide oral.

Baseado nos estudos discutidos acima, aparentemente, o uso de corticóides poderia realmente estar implicado como fator de risco para o surgimento de pneumonia nosocomial por *Pseudomonas aeruginosa* nesses pacientes, haja vista o achado dessa variável nos dois estudos, isto é, tanto no que utilizou como casos os pacientes com cepas resistentes a carbapenems (estudo I), quanto naquele que utilizou como casos pacientes com cepas sensíveis a carbapenems (estudo II). Portanto se levarmos em consideração o clássico estudo de Sir Austin Hill (1965) que definiu os critérios de associação e causalidade em estudos clínicos, a variável encontrada como significativa, aparentemente preenche a maioria desses critérios

(ex. intensidade, consistência, especificidade, temporalidade, plausibilidade, coerência e evidência experimental).

A maioria dos estudos em evolução clínica em pacientes com *Pseudomonas aeruginosa*, abordam vários tipos de infecção conjuntamente ou mais comumente bacteremia. Lautenbach et al. (2006), em um estudo analisando 142 pacientes com infecção com *Pseudomonas aeruginosa* resistente a imipenem, procuraram avaliar a evolução clínica deste grupo quando comparado com um grupo controle (737 pacientes) com infecções por cepas sensíveis. A mortalidade hospitalar foi de 31,1% no grupo resistente e de 16,7% no grupo controle sensível, com um RR de 1,86 (IC 95%, 1,38-2,51; $p < 0,001$) demonstrando uma diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos. Na análise multivariada, pacientes no grupo resistente que estavam internados na UTI no momento da infecção, tinham mais bacteremia concomitante, e tinham maior índice Charlson de comorbidade.

Aloush et al. (2006), também analisaram todas as infecções por *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente procurando analisar também evolução clínica. Este estudo foi mais interessante, pois usou como grupo controle pacientes sem infecção pareados por período, tempo sob risco e unidade de internação. Houve significativa diferença entre os dois grupos na análise multivariada concernente a mortalidade (OR=4.4, $p = 0,04$), maior tempo de internação (HR=2, $p = 0,001$) e necessidade de maior número de procedimentos (OR=5.4, $p = 0,001$). A mortalidade no grupo caso foi de 21% contra 12% no grupo controle, portanto com mortalidade atribuível de 9%. O uso do grupo controle sem infecção possibilita a determinação da mortalidade atribuível. Nota-se também que no tempo de internação foi realizado regressão de Cox, portanto como resultado o hazard ratio (HR), ao invés da regressão logística múltipla, pois se procurava analisar além da variável em si, também a importância do tempo no surgimento do evento. Em nosso estudo, encontramos uma mortalidade atribuível bem mais elevada (29,8%) só que analisamos apenas pacientes com pneumonia.

Cao et al. (2004), também analisaram a evolução clínica em casos de infecção por *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente utilizando como grupo controle pacientes com cepas sensíveis. No grupo resistente, a mortalidade foi de 54,5% contra apenas de 16,2% no grupo controle com cepas sensíveis. Com essa metodologia não é possível determinar a mortalidade atribuível. Os autores fizeram

também um estudo comparando os pacientes que faleceram com aqueles se recuperaram da infecção e acharam que o uso de ventilação mecânica e a não-reversão da cepa de *Pseudomonas aeruginosa* à sensibilidade foram fatores relacionados a pior prognóstico. Em nosso estudo, também procuramos determinar os fatores associados com evolução desfavorável, e achamos que somente a presença de SDRA e choque séptico foram as variáveis independentemente relacionadas com uma pior evolução clínica.

Procuramos também, utilizando essa coorte de pacientes, determinar o impacto da terapia com polimixina B, haja vista, que todos os pacientes fizeram uso desse antimicrobiano. Encontramos apenas 47,3% de evolução favorável, aparentemente confirmando uma atividade pouco satisfatória dessa droga nesses episódios. Em nosso estudo, encontramos uma porcentagem de evolução favorável maior que o estudo de Levin et al, 1999, que encontrou apenas 25% de evolução favorável em episódios de pneumonia tratados com colistina. No estudo de Linden et al. (2003), 61,1% dos pacientes apresentaram evolução favorável. Dois outros estudos recentes, também apresentaram maior porcentagem de pacientes com evolução favorável em episódios de pneumonia tratados com polimixinas que o nosso (Markou et al., 2003; Michalopoulos et al., 2005). Entre todos os estudos prévios que analisaram a evolução de pacientes com episódios de pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa* tratados com polimixinas, o que definitivamente obteve maior porcentagem de evolução clínica favorável foi o de Kallel et al. (2006). Nesse recente estudo, 73,8% dos pacientes apresentaram evolução favorável.

Nosso estudo foi o primeiro até o momento, a encontrar a presença da síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA) como variável independentemente relacionada com uma pior evolução nessa população de pacientes. A presença de choque séptico, também não tinha sido demonstrada previamente, como uma variável relacionada à pior evolução nesses pacientes. Markou et al., 2003, encontraram falência de múltiplos órgãos como uma variável relacionada à uma resposta clínica desfavorável, mas não diretamente a presença de choque séptico.

Nosso estudo apresenta outros pontos importantes, pois sendo uma das maiores coortes de pacientes sob tratamento com polimixina B, também objetivou analisar conhecidas toxicidades desse antimicrobiano, notadamente nefrotoxicidade

e neurotoxicidade. Encontramos apenas 9,4% de nefrotoxicidade e nenhuma caso de neurotoxicidade, confirmando dados de estudos mais recentes, que demonstraram índices baixos de toxicidade renal e neurológica dessas drogas (Reina et al., 2005; Sobieszczyk et al., 2004).

Um mecanismo importante de resistência a carbapenems na *Pseudomonas aeruginosa* é a produção de metalo-beta-lactamases. A primeira descrição desse grupo de enzimas aconteceu em 1991 quando Watanabe et al., relataram uma cepa de *Pseudomonas aeruginosa* coletada em 1988 no Japão que possuía uma enzima da classe B de Ambler transferível (Livermore, Woodford, 2000). Os autores caracterizaram esta enzima bioquimicamente, mas não a seqüenciaram ou lhe deram nome, contudo quase certamente era uma IMP-1, que foi formalmente seqüenciada e nomeada de uma *Serratia marcescens* coletada no Japão em 1991 (Osano et al., 1994). A partir daí, foram descritas várias enzimas desta classe e hoje temos seis tipos (IMP,VIM,SPM,GIM,SIM e AIM).

A enzima SPM-1 foi descrita em São Paulo, em uma paciente internada em 2001 no Instituto de Oncologia Pediátrica com diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda. A paciente evoluiu para o óbito com quadro séptico sendo isolada *Pseudomonas aeruginosa* resistente a imipenem em amostras de urina e sangue. Em análise realizada pelo programa SENTRY, o E-test se apresentou positivo para a presença de metalo-beta-lactamase, que não pertencia aos dois grupos anteriormente conhecidos, IMP e VIM (Toleman et al., 2002).

Em outro estudo recente, 183 cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas em hemoculturas em 2000-2001, no Hospital São Paulo, foram estudadas quanto ao seu perfil de sensibilidade, sendo detectado aproximadamente 45% de resistência a imipenem e 42% de resistência a meropenem. Esses isolados foram submetidos a uma pesquisa para a presença de metalo-beta-lactamases por PCR sendo detectada a presença dessas enzimas em 36 isolados (19,7% das amostras estudadas e 43,9% das cepas resistentes a imipenem). Dessas amostras produtoras de MBL, 55,6% tinham SPM-1, 30,6% VIM-2 e 8,3% IMP-1 (Sader et al., 2005).

Outro ponto importante é a importância da terapia combinada em episódios de infecção por *Pseudomonas aeruginosa*. O racional é que a terapia combinada preveniria a emergência de resistência. Alguns estudos prévios têm demonstrado uma melhor evolução da terapia combinada em infecções por *Pseudomonas*

aeruginosa, principalmente em bacteremias (Hilf et al., 1989; Safdar et al., 2004). Entretanto, uma meta-análise recente, não demonstrou benefício da terapia combinada em episódios de bacteremia, sendo estudado inclusive um subgrupo com infecções por *Pseudomonas aeruginosa*. A terapia combinada mostrou-se inclusive relacionada a maior chance de nefrotoxicidade (Paul et al., 2004). Entretanto, o estudo de Paul et al. (2004), na análise do subgrupo de infecções por *Pseudomonas aeruginosa*, avaliou apenas um estudo comparando a terapia combinada com o mesmo beta-lactâmico e dois com diferentes beta-lactâmicos. Quanto a análise de evolução enfocada na falha clínica, apenas seis estudos avaliaram comparativamente o mesmo beta-lactâmico na monoterapia e na terapia combinada. Além disso, esses estudos em terapia combinada não tem se focado em pacientes com infecções por *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente especificamente. Alguns estudos têm demonstrado sinergismo *in vitro* entre polimixina B e imipenem em *Pseudomonas aeruginosa* (Chini et al., 1998; Yoon et al., 2004). A ação combinada de polimixinas e imipenem parece existir primariamente contra cepas na qual a permeabilidade reduzida ao imipenem, criada pela perda de uma porina da membrana externa é responsável por um relativo baixo grau de resistência. As polimixinas aumentam a permeabilidade da membrana bacteriana aumentando assim a penetração do imipenem e sua maior atividade (Yoon et al., 2004).

Sobieszczyk et al. (2004), descreveram o único estudo clínico que aborda até agora terapia combinada com polimixina B e outros antimicrobianos, e como no nosso estudo, avaliou episódios de pneumonia (86% dos episódios). Nesse estudo, vinte e cinco pacientes foram submetidos a 29 cursos de terapia com polimixina B. O estudo tinha pacientes com infecção também por *Acinetobacter baumannii* (16 episódios) e *Alcaligenes xylosoxidans* (um episódio). Evolução favorável aconteceu em 76% dos episódios e interessante, em 65% dos episódios, terapia combinada com polimixina B e carbapenens (imipenem e meropenem) foi empregada. Entretanto, a terapia combinada não levou em conta o mecanismo de resistência da *Pseudomonas aeruginosa*. Em nosso estudo, apesar da análise retrospectiva, avaliamos se a terapia combinada com carbapenens, notadamente imipenem, alterava a evolução clínica nos episódios de pneumonia nosocomial causada por *Pseudomonas aeruginosa* sem a presença de metalo- β -lactamase. Em nosso estudo, essa terapia combinada não apresentou diferença significativa na

evolução desses pacientes. Também a análise de sobrevida, pela curva de Kaplan-Meier, não apresentou diferença significativa entre as duas formas de tratamento (Log-Rank, $p=0,25$), inclusive a mediana da sobrevida do grupo sob tratamento combinado com polimixina B e imipenem foi menor (49 dias versus 78 dias). Entretanto, o número de pacientes foi pequeno nesta análise.

Poucos estudos abordaram até o momento, infecções por *Pseudomonas aeruginosa* produtoras de SPM-1, sendo que nenhum avaliou diretamente pneumonia (Hirakata et al., 2003; Nouer et al., 2005; Marra et al., 2006; Zavascki et al., 2006; Zavascki et al., 2006; Parkins et al., 2007). Dois estudos avaliaram os fatores de risco para o surgimento dessas infecções, e quatro avaliaram evolução clínica. Devido a esse fato procuramos estudar os fatores associados à presença dessa enzima e seu impacto em episódios de pneumonia nosocomial em nosso serviço.

Em nosso estudo, nenhuma variável foi estatisticamente significativa como fator de risco para a presença de SPM-1. Apenas a variável sexo feminino apresentou uma tendência (OR 9,71 IC95%: 0,92-103,04, $p=0,05$). A elevada faixa do intervalo de confiança já demonstra a presença de um reduzido número de pacientes estudados. Quanto à evolução clínica, não houve também diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos em nenhuma variável. A mortalidade relacionada à infecção foi menor (40%) nos pacientes com a presença de SPM-1, quando comparada aos pacientes sem a enzima (54,2%), com OR 0,56; IC95%: 0,08-4,01, $p=0,65$. Não houve diferença também na mortalidade hospitalar entre os dois grupos (OR 0,50; IC95%: 0,07-3,75, $p=0,59$).

O estudo de Hirakata et al. (2003), utilizou a metodologia caso-controle e comparou 69 pacientes com infecção por *Pseudomonas aeruginosa* portadora da metalo-enzima IMP com 247 pacientes com infecção por *Pseudomonas aeruginosa* sem a presença de IMP. O estudo procurou analisar evolução clínica, e demonstrou que as infecções no grupo controle eram mais comumente do trato respiratório (18,8% versus 52,2%, $p=0,009$). A mortalidade relacionada a infecção foi maior nos casos (5,8% versus 1,2%, OR 5,0; IC 95%: 1,09-22,9, $p=0,02$). O estudo relaciona algumas variáveis como fatores de risco para as infecções por cepas IMP positivas, mas não há apresentação de análise multivariada. Os casos também fizeram maior uso de algumas classes de antimicrobianos em relação à dose total (penicilinas,

cefalosporinas de 2^a geração, carbapenens, qualquer beta-lactâmico e tetraciclina) e a duração de tratamento (beta-lactâmicos, penicilinas, tetraciclina). Nesse estudo, é interessante notar a menor predominância de amostras positivas para IMP em trato respiratório. Em nosso estudo também tivemos uma menor positividade para a presença de metalo-enzima em amostras do trato respiratório (cinco de vinte e nove amostras, 17,2%). Outro estudo, também realizado em nosso serviço, demonstrou uma maior positividade para a presença de metalo- β -lactamase (43,9%) em cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a imipenem em amostras de corrente sanguínea (Sader et al., 2005).

Dois estudos recentes analisaram fatores de risco para a presença de metalo- β -lactamases. Nouer et al., 2005, realizaram um estudo tipo caso-controle com duas análises concomitantes, utilizando no primeiro estudo, pacientes com infecção ou colonização com *Pseudomonas aeruginosa* produtora de SPM como casos, e no segundo estudo, pacientes com cepas sem SPM, no grupo de casos. O estudo demonstrou que o uso de quinolonas (OR 14,7, p=0,01) foi fator de risco no primeiro estudo e o uso de cefepime (OR 8,5, p=0,01) foi fator de risco no segundo estudo. Os autores concluem que o uso de antimicrobianos é o principal fator de risco para o surgimento de colonização e/ou infecção por *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente. O grupo controle nos dois estudos foi formado por pacientes com cepas sensíveis e a justificativa era a determinação da probabilidade que um paciente com um isolado de *Pseudomonas aeruginosa* sensível adquirisse resistência. Entretanto, estudos recentes analisando a metodologia de estudos caso-controle para a determinação de fatores de risco para o surgimento de fenótipos de resistência definem que o melhor desenho de estudo para este fim é o caso-caso-controle (Harris et al., 2001; Kaye et al., 2005). Essa metodologia poderia ter sido empregada no estudo descrito acima, mas necessitaria da utilização de um grupo controle igual nas duas análises e o como casos, os pacientes com cepas resistentes com metaloenzima e sem metaloenzima.

Zavascki et al. (2006), também analisaram fatores de risco para o surgimento de infecções por *Pseudomonas aeruginosa* produtoras de metalo-enzima em dois hospitais de ensino em Porto Alegre. Os autores realizaram um estudo tipo caso-controle aninhado (do inglês nested case-control) com 86 pacientes com infecções por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenens e produtora de metalo- β -

lactamase e 212 controles, que eram pacientes com *Pseudomonas aeruginosa* não produtora de metalo-enzima. O estudo foi focado em todas as infecções, mas 50,3% dos episódios eram infecções do trato respiratório (casos e controles). Os fatores de risco identificados foram: uso de beta-lactâmicos (OR 3,21, IC95% 1,74-5,93), uso de fluoroquinolonas (OR 3,50, IC95% 1,46-8,37), doença neurológica (OR 3,00, IC95% 1,61-5,58), infecção do trato urinário (OR 2,48, IC95% 1,21-5,09), insuficiência renal (OR 2,29, IC95% 1,13-4,65), internação em unidade de terapia intensiva (OR 2,07, IC95% 1,46-3,96), e internação no hospital 1 (OR 5,97, IC95% 3,45-14,09). Nesse estudo, também houve discreta menor predominância de cepas com SPM-1 no sexo masculino, quando comparado aos controles sem SPM-1 (59,3% versus 61,8%, $p=0,79$). O estudo, entretanto, definiu a presença de metalo-enzima apenas por método fenotípico com o ácido 2-mercaptopropiônico, sem análise molecular. Além do mais, como discutido previamente, a análise ideal para definir fatores de risco é a metodologia caso-caso-controle em estudos abordando resistência bacteriana. No entanto, o estudo tipo caso-controle aninhado dentro de uma coorte é aceitável, principalmente pela sua mais fácil execução, tendo como vantagem sobre o caso-controle clássico, que o grupo controle tem características muito parecidas aos casos, pois pertencem à mesma coorte de pacientes. Esse estudo é bastante interessante, pois também analisou fatores de risco para presença de SPM-1, similarmente ao nosso estudo, só que abordando todas as infecções e com uma casuística bem maior. Em nosso estudo, no qual utilizamos similar metodologia, o uso de nenhuma classe de antimicrobiano foi relacionado à presença da metalo- β -lactamase SPM-1, nem mesmo na análise univariada. A mortalidade relacionada à infecção, não se apresentou diferente entre os dois grupos (40% no grupo com SPM-1 versus 54,2% no grupo sem SPM-1, $p=0,65$).

O estudo de Marra et al. (2006), que foi realizado em nosso hospital, e se trata basicamente de um relato de casos também abordou a presença de metalo-enzimas. O estudo descreve sete pacientes com infecção de corrente sanguínea primária e secundária causada por *Pseudomonas aeruginosa*, e procurou avaliar a evolução clínica e mortalidade desses casos. Quatro pacientes tinham SPM-1, dois IMP-1 e um IMP-16. A mortalidade relacionada a infecção foi elevada (5 de 7 pacientes, 71,4%) e apenas dois pacientes tinham como fonte inicial da infecção o trato respiratório, sendo que um tinha SPM-1 e o outro IMP-1. Como se trata de um

estudo descritivo com pequeno número de pacientes, poucas conclusões podem ser retiradas desse estudo.

Zavascki et al. (2006) também realizaram um estudo em dois hospitais terciários de ensino em Porto Alegre, que procurou avaliar a evolução e mortalidade de infecções nosocomiais causadas por *Pseudomonas aeruginosa* produtora de metalo-enzima. Oitenta e seis pacientes com cepas produtoras de metalo- β -lactamase (SPM-1) foram estudados. O estudo realizou um modelo de análise multivariada em três passos (steps) procurando avaliar os fatores relacionados a mortalidade. No passo 1, eram colocadas apenas variáveis relacionadas às características dos pacientes. Nos passos 2 e 3, eram colocadas na análise, também variáveis relacionadas à infecção e ao tratamento respectivamente. A presença de metalo- β -lactamase foi relacionada à maior mortalidade (51,2% versus 32,1%, RR 1,6 IC95% :1,2-2,12, p=0,003) e também com maior taxa de mortalidade (17,3 por 1000 pacientes-dia versus 11,8 por 1000 pacientes-dia, HR 1,55 IC 95%: 1,06-2,27, p=0,02). No final dos três passos da análise multivariada, apenas a presença de sepse severa ou choque séptico (HR 3,62, IC95%: 2,41-5,43, p< 0,001) e idade (HR 1,02, IC95%: 1,01-1,03, p=0,006) foram associados a aumento de mortalidade. A terapia apropriada nas primeiras 72 horas foi associada a efeito protetor (HR 0,49 IC95%: 0,32-0,76, p= 0,001). Em nosso estudo, que envolveu uma menor casuística, e avaliou apenas episódios de pneumonia, não houve diferença na evolução entre pacientes com *Pseudomonas aeruginosa* com ou sem a enzima SPM-1.

No estudo discutido acima foi analisado também a terapia antimicrobiana, e pacientes que fizeram uso isolado de aztreonam e de piperacilina-tazobactam apresentaram apenas 33,3% e 42,9% de mortalidade, respectivamente. O uso de outros esquemas antimicrobianos combinados foi menos empregado, dificultando a sua avaliação. Os autores sugerem que aztreonam e piperacilina-tazobactam poderiam ser opções efetivas para o tratamento dessas infecções. Há, entretanto, poucos estudos principalmente, analisando o uso de aztreonam, em episódios de infecção por *Pseudomonas aeruginosa* produtora de metaloenzima (Stutman et al., 1984; Wu et al., 1984; Lister et al., 1998). Esse antimicrobiano é bastante interessante pois se mantém estável na presença dessas metalo- β -lactamases.

Um recém-publicado estudo canadense (Parkins et al., 2007) analisou também evolução clínica relacionado ao tratamento de infecções causadas por *Pseudomonas aeruginosa* produtora de metalo- β -lactamases. Foi um estudo tipo coorte, com 56 pacientes e demonstrou os seguintes fatores relacionados com mortalidade: imunossupressão, presença de bacteremia, e tratamento inadequado. O interessante neste estudo, é que a terapia combinada foi empregada na maioria dos pacientes. Nesse estudo, a resistência à piperacilina-tazobactam foi muito baixa, de apenas 5%, e provavelmente por isso, o uso desse antimicrobiano foi o mais disseminado. Apesar disso, a terapia combinada como em nosso estudo, não se correlacionou com uma maior sobrevivência ($p=0,45$). Apenas dois pacientes, entretanto, utilizaram terapia combinada com carbapenens (meropenem) e como descrito previamente todos tinham infecções por cepas produtoras de metalo- β -lactamase (93% VIM-2, 2% IMP-7, 5% outras não-definidas). Nesse caso, o uso de carbapenens não parece ideal, mesmo como terapia combinada devido a degradação dessas drogas pelas metalo-enzimas. Um ponto fraco do estudo é a ausência de análise multivariada. Em nosso estudo, a sensibilidade à piperacilina-tazobactam foi a maior entre os antimicrobianos anti-*Pseudomonas* (9 de 74 amostras, 12,2%). No entanto, esse antimicrobiano não foi utilizado em nenhum dos pacientes analisados, sendo que imipenem foi o antimicrobiano mais utilizado como terapia combinada (32,4% dos pacientes). Ressaltamos, entretanto, que essa terapia combinada foi realizada sem prévia análise da presença ou não de metalo- β -lactamases.

Em outro estudo (Gales et al., 2003) com amostras de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenens de várias regiões do Brasil, foi demonstrada uma positividade para SPM-1 de 34,8% (15 de 43 amostras) e a sensibilidade à piperacilina-tazobactam foi bem menor que a do estudo acima (39,5%). A questão que se levanta aqui é se a metalo-enzima SPM-1 apresenta uma maior capacidade hidrolítica sobre este antimicrobiano que as outras metalo- β -lactamases justificando uma menor sensibilidade a este antimicrobiano em nosso país. Outro ponto importante é que talvez, como nosso estudo demonstrou, a presença de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a imipenem produzindo metalo- β -lactamases seja menor em trato respiratório.

Em nosso estudo, o uso de terapia combinada (polimixina B e imipenem) em episódios sem a presença de metalo- β -lactamase, não teve impacto na evolução clínica. É importante salientar, entretanto, o pequeno número de casos que utilizaram o esquema de terapia combinada. Além disso, outro ponto importante do nosso estudo foi a utilização da técnica de PCR Multiplex na identificação das cepas com a presença de metalo- β -lactamases (Mendes et al., 2007). Essa técnica permite uma rápida identificação de amostras bacterianas carreando essas enzimas, e com certeza terá impacto importante em futuro próximo, em uma melhor adequação da terapia inicial em infecções nosocomiais, principalmente em ambientes de multirresistência como o nosso.

6. CONCLUSÕES

Este estudo permitiu concluir que:

- Os fatores independentemente relacionados ao surgimento de pneumonia nosocomial por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem (estudo I) foram: tempo de hospitalização (OR 1,19 IC95%: 1,12-1,26, $p < 0,001$); escore APACHE II (OR 1,11 IC95%: 1,01-1,22, $p = 0,03$); sexo masculino (OR 8,01 IC95%: 1,66-38,51, $p = 0,009$); uso de hemodiálise (OR 6,85 IC95%: 1,33-35,2, $p = 0,02$); uso de corticóide (OR 13,18 IC95%: 3,80-45,64, $p < 0,001$); uso de piperacilina-tazobactam (OR 14,31 IC95%: 1,02-200,16, $p = 0,04$) e uso de cefalosporinas de 3ª geração (OR 7,45 IC95%: 1,80-30,86, $p = 0,006$).
- Os fatores independentemente relacionados ao surgimento de pneumonia nosocomial por *Pseudomonas aeruginosa* sensível a carbapenem (estudo II) foram: tempo de internação na UTI (OR 1,02 IC95%: 1,01-1,04, $p = 0,004$) e uso de corticóide (OR 12,32 IC95%: 5,81-26,10, $p < 0,001$).
- O único fator independentemente relacionado ao surgimento de pneumonia por *P.aeruginosa* nos dois estudos foi o uso de corticóide. Portanto, a razão de chances real do uso de corticóide no surgimento de episódios de pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem é de 1,06 (valor da OR do estudo I dividido pela OR do estudo II).
- Os fatores associados a uma evolução desfavorável nos episódios de pneumonia nosocomial por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem e tratados com polimixina B foram: presença de choque séptico (OR 4,81 IC95%: 1,42-16,25, $p = 0,01$) e presença de síndrome do desconforto respiratório agudo (OR 11,29 IC95%: 2,64-48,22, $p = 0,001$).
- Apenas cinco pacientes (17,2%) apresentavam cepas de *Pseudomonas aeruginosa* produtora de metalo- β -lactamase (100% SPM-1) em amostras de trato respiratório.

- A presença da SPM-1 não teve impacto na evolução dos episódios de pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem ($p=0,67$).
- A mortalidade atribuível à pneumonia nosocomial por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem foi de 29,8%.
- O tratamento combinado com polimixina B e imipenem, em pacientes com *Pseudomonas aeruginosa* sem a presença de metalo- β -lactamase, não teve impacto positivo na evolução clínica ($p=0,67$).
- O uso de terapia combinada também não teve impacto na sobrevivência desses pacientes quando comparada à terapia somente com polimixina B.
- Nenhuma variável se mostrou independentemente associada ao surgimento de episódios de pneumonia por *Pseudomonas aeruginosa* portadora da metalo- β -lactamase SPM-1.
- Também não houve diferença nas variáveis relacionadas à evolução clínica entre os pacientes com pneumonia por cepas de *Pseudomonas aeruginosa* produtora de SPM-1, quando comparados a pacientes com cepas sem SPM-1.

Anexo 1 - Artigo



International Journal of Antimicrobial Agents 30 (2007) 315–319

INTERNATIONAL JOURNAL OF
Antimicrobial
Agents

www.elsevier.com/locate/ijantag

Intravenous polymyxin B for the treatment of nosocomial pneumonia caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*Guilherme Henrique Campos Furtado^{a,*}, Pedro Alves d'Azevedo^b,
Anderson Fernandes Santos^b, Ana Cristina Gales^b,
Antônio Carlos Campos Pignatari^b,
Eduardo Alexandrino Servolo Medeiros^a^a Hospital Epidemiology Committee, Division of Infectious Diseases, Federal University of São Paulo, Brazil^b Clinical Microbiology Special Laboratory, Division of Infectious Diseases, Federal University of São Paulo, Brazil

Received 5 February 2007; accepted 17 May 2007

Abstract

Nosocomial pneumonia caused by multidrug-resistant (MDR) *Pseudomonas aeruginosa* is becoming increasingly prevalent throughout the world. The use of polymyxins to treat these infections has greatly increased. We analysed 74 patients with nosocomial pneumonia caused by MDR *P. aeruginosa* who were treated with polymyxin B. A favourable outcome was observed in 35 patients (47.3%). A case-control study was performed to assess the variables associated with an unfavourable outcome. The presence of acute respiratory distress syndrome (odds ratio (OR) = 11.29, 95% confidence interval (CI) 2.64–48.22; $P=0.001$) and septic shock (OR = 4.81, 95% CI 1.42–16.25; $P=0.01$) were independently associated with an unfavourable outcome in patients with nosocomial pneumonia due to MDR *P. aeruginosa*. Our study demonstrated that polymyxin B is a reliable antimicrobial drug, but only as salvage therapy, for nosocomial pneumonia caused by MDR *P. aeruginosa*.

© 2007 Elsevier B.V. and the International Society of Chemotherapy. All rights reserved.

Keywords: Polymyxin B; Treatment; Nosocomial pneumonia; Multidrug resistance; *Pseudomonas aeruginosa*

1. Introduction

Pseudomonas aeruginosa is a leading cause of nosocomial pneumonia. According to the National Nosocomial Infections Surveillance data, in 2002 there was a 32% increase in resistance to imipenem in *P. aeruginosa* compared with the previous 5 years (1997–2001) [1]. In Brazil, this pathogen has seen increasing importance in the last few years owing to its broad spectrum of antimicrobial resistance. Recently, there has been renewed interest in polymyxins for the treatment of *P. aeruginosa* infections. Recent studies have focused

on the use of polymyxins to treat these infections, but there are very few data regarding the use of polymyxin B in the treatment of nosocomial pneumonia caused by multidrug-resistant (MDR) *P. aeruginosa* [2–4].

Polymyxins were used until the 1980s, when their use was abandoned due to nephrotoxicity and neurotoxicity. Moreover, since the 1970s better tolerated antipseudomonal agents have been developed. Recently, owing to increased antibiotic resistance in Gram-negative pathogens (mainly *P. aeruginosa* and *Acinetobacter* spp.), we have seen an increase in the use of polymyxins. In our setting, we have seen a particularly high rate of nosocomial imipenem-resistant *P. aeruginosa*, which has contributed to the increasing use of polymyxin B [5].

Here, we report our experience with the use of parenteral polymyxin B for treating patients with nosocomial pneumonia caused by MDR *P. aeruginosa* over an 8-year period.

* Corresponding author. Present address: R. Dr. Diogo de Faria 1226 Apt 72, São Paulo, SP 04037-004, Brazil. Tel.: +55 11 5571 8935; fax: +55 11 5571 8935.

E-mail address: ghfurtado@uol.com.br (G.H.C. Furtado).

2. Materials and methods

2.1. Collection of data

All patients with nosocomial pneumonia caused by MDR *P. aeruginosa* admitted to São Paulo Hospital, a 700-bed university-affiliated hospital in São Paulo, Brazil, who were treated with polymyxin B during the period 1 January 1997 to 31 December 2004 were evaluated. All infections were diagnosed according to the criteria of the Centers for Disease Control and Prevention [6]. More specifically, the clinical diagnosis was made with the following prerequisites: presence of fever ($>38^{\circ}\text{C}$); leukocytosis or leukopenia; purulent bronchial secretions; and a new and persistent infiltrate on chest radiography. *Pseudomonas aeruginosa* isolation was done either from a bronchoscopic lavage specimen or from an endotracheal aspirate. A level of $\geq 10^4$ organisms/mL and $\geq 10^6$ organisms/mL was used for bronchoscopic lavage specimen and endotracheal aspirate, respectively.

Patients were excluded if they received <2 days of therapy or were <16 years of age.

Data extracted from medical records included: patient demographics; length of hospitalisation; duration of stay in the Intensive Care Unit (ICU); invasive procedures; Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE) II score; McCabe score; underlying conditions; number of antibiotics used; previous surgery; previous hospitalisation; corticosteroid use; immunosuppressive drug use; presence of acute respiratory distress syndrome (ARDS); use of sedatives; presence of coma; previous nosocomial infections; presence of neutropenia; presence of septic shock; presence of acute renal failure; and use of combined treatment. Other antimicrobials administered within 4 weeks before the introduction of polymyxin B were also recorded.

2.2. Microbiological analysis

Identification of *P. aeruginosa* was performed using biochemical methods [7]. Isolates were tested by disk diffusion methods according to Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly the National Committee for Clinical Laboratory Standards) [8]. Minimum inhibitory concentration (MIC) determination for polymyxin B was done by microbroth dilution techniques. Isolates were considered susceptible to polymyxin B if the MIC was $\leq 2\mu\text{g/mL}$ [9]. All *P. aeruginosa* isolates were also tested for susceptibility to piperacillin/tazobactam, ceftazidime, ciprofloxacin, gentamicin, amikacin, imipenem/cilastatin, meropenem and cefepime.

2.3. Polymyxin B dose

Polymyxin doses were selected on the basis of estimated creatinine clearance (Cr_{CL}). Briefly, patients with $\text{Cr}_{\text{CL}} \geq 80\text{ mL/min}$ should be given 1.5–2.5 mg/kg/day. When the Cr_{CL} falls to 30–80 mL/min, the patient should be given

2.5 mg/kg on Day 1, then 1.0–1.5 mg/kg/day thereafter. Patients with $\text{Cr}_{\text{CL}} < 30\text{ mL/min}$ received 2.5 mg/kg on Day 1, then 1.0–1.5 mg/kg given every 2–3 days thereafter. For anuric patients, the dose was 2.5 mg/kg on Day 1, then 1.0 mg/kg given every 5–7 days thereafter [10]. The total daily dose was administered by continuous infusion over 24 h. Treatment duration was determined by the attending physician.

2.4. Definitions

Septic shock was defined by a requirement for a vasoactive drug to maintain systolic blood pressure $>90\text{ mmHg}$. Renal failure was defined either by a requirement for haemodialysis, creatinine $>2.0\text{ mg}$ or doubling of serum creatinine during therapy. ARDS was defined as a syndrome of acute onset, ratio of partial pressure of oxygen/fraction of inspired oxygen ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$) $\leq 200\text{ mmHg}$ (regardless of positive end-expiratory pressure level), bilateral infiltrates seen on the frontal chest radiograph and pulmonary artery wedge pressure $\leq 18\text{ mmHg}$ when measured or no clinical evidence of left atrial hypertension [11].

A favourable response was defined as complete or partial resolution of symptoms and signs by the end of treatment. Briefly, resolution of the following clinical signs and symptoms was observed: fever/hypothermia; leukocytosis; suspension of vasopressors; and improvement of $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ parameters and chest radiographs. An unfavourable response was defined as persistence or worsening of presenting symptoms and signs, or death occurring during treatment.

2.5. Statistical methods

Comparison between patients with favourable and unfavourable outcomes was carried out using χ^2 or Fisher's exact tests for categorical variables and Student's *t*-test for continuous variables. A two-tailed *P*-value <0.05 was considered to be statistically significant. All statistical analyses were performed with SPSS v. 10.0 (SPSS Inc., Chicago, IL).

3. Results

A total of 74 patients received parenteral polymyxin B for treatment of nosocomial pneumonia caused by MDR *P. aeruginosa*. Thirty-five patients (47.3%) had a favourable response and 39 patients (52.7%) had an unfavourable response.

The underlying diseases in the 74 patients are given in Table 1. All infections occurred in ICUs. Seventy-two patients (97.3%) were receiving mechanical ventilatory support when they were diagnosed with pneumonia. The mean duration of ventilatory support was 31 days in the group with favourable outcome and 21 days in the group with unfavourable outcome ($P=0.14$) (Table 2). The mean length of hospital stay was 32 days and 27 days in the favourable

Table 1
Underlying conditions in 74 patients with nosocomial pneumonia caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*

Underlying condition	N (%)
Neurological disease	9 (12.2)
COPD	9 (12.2)
Cancer	8 (10.8)
Diabetes mellitus	6 (8.1)
Renal disease	5 (6.8)
Solid organ transplant	4 (5.4)
Cardiovascular disease	3 (4.1)
Chronic liver disease	2 (2.7)
AIDS	1 (1.4)
Pancreatitis	1 (1.4)

COPD, chronic obstructive pulmonary disease; AIDS, acquired immune deficiency syndrome.

and unfavourable groups, respectively ($P=0.1$) (Table 2). Pneumonia was diagnosed by quantitative cultures of bronchoscopic lavage specimens in 70 cases (94.6%). None of the patients had empyema. *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia was present in two patients (5.7%) from the favourable group and in three patients (7.7%) from the unfavourable group ($P=0.75$).

Sixteen patients (21.6%) had concurrent pathogens in cultures (Table 3). *Acinetobacter* spp. was the major pathogen isolated concomitantly (8/16; 50%).

There was overall resistance to all of the antipseudomonal drugs tested, except for polymyxin B in 61 patients (82.4%). All isolates were found to be susceptible to polymyxin B by microbroth dilution testing (MIC range 1–2 µg/mL).

Table 2
Univariate analysis of factors associated with unfavorable outcome

Variable	Favourable outcome (N=35)	Unfavourable outcome (N=39)	P-value
Mean age (range) (years)	51 (19–88)	58 (17–89)	0.13
No. (%) male	22 (62.9)	28 (71.8%)	0.41
Mean APACHE II score (range)	13 (6–22)	15 (8–28)	0.03
Median length of hospital stay (range) (days)	32 (8–145)	27 (6–163)	0.1
Median length of ICU stay (range) (days)	21 (3–122)	19 (1–138)	0.12
Previous surgery (n (%))	16 (45.7)	18 (46.2)	0.97
Mean length of mechanical ventilation (range) (days)	31 (1–110)	21 (1–157)	0.14
Previous hospitalisation (n (%))	5 (14.3)	13 (33.3)	0.05
Invasive procedures (n (%))			
Foley catheter	25 (71.4)	33 (84.6)	0.16
Central line	28 (80.0)	34 (87.2)	0.4
Parenteral nutrition	3 (8.6)	4 (10.3)	0.8
Haemodialysis	6 (17.1)	13 (33.3)	0.11
Nasocentral tube	23 (65.7)	30 (76.9)	0.28
Arterial catheter	1 (2.9)	4 (10.3)	0.36
Corticosteroid use	19 (54.3)	21 (53.8)	0.97
Immunosuppressive drug	3 (8.6)	5 (12.8)	0.71
Coma	3 (8.6)	1 (2.6)	0.33
Sedative use	17 (48.6)	29 (74.4)	0.02
ARDS	3 (8.6)	24 (61.5)	<0.01
Septic shock	11 (31.4)	31 (79.5)	<0.01
Polymicrobial infection	12 (34.3)	7 (17.9)	0.1
Bacteraemia	2 (5.7)	3 (7.7)	0.75
Acute renal failure	2 (5.7)	5 (12.8)	0.29
Concomitant therapy	14 (40.0)	14 (35.9)	0.71

APACHE, Acute and Physiology and Chronic Health Evaluation; ICU, Intensive Care Unit; ARDS, acute respiratory distress syndrome.

Table 3
Concomitant organisms isolated (N=16)

Organisms	N (%)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	8 (50)
<i>Serratia</i> sp.	2 (12.5)
<i>Staphylococcus aureus</i>	2 (12.5)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 (6.3)
<i>Proteus mirabilis</i>	1 (6.3)
<i>Enterobacter</i> spp.	1 (6.3)
<i>Providencia rettgeri</i>	1 (6.3)

Table 4
Concomitant antibiotic therapy (N=28)

Antibiotic	N (%)
Imipenem	24 (85.7)
Ciprofloxacin	2 (7.1)
Cefepime	1 (3.6)
Ceftazidime	1 (3.6)

The duration of polymyxin B therapy ranged from 5 days to 34 days (median 16 days) in the favourable group and from 2 days to 38 days (median 6 days) in the unfavourable group. Forty-six patients (62.2%) received polymyxin B monotherapy and 28 patients (37.8%) received concomitant therapy (Table 4). The most commonly associated drug was imipenem (32.4%).

Seven (9.5%) of the 74 patients presented with renal failure. No neuromuscular disorders were observed.

The in-hospital mortality rate was 74.3% (55/74 patients). Thirty-eight of these patients died while receiving polymyxin B therapy.

Table 5
Multivariate analysis of factors associated with unfavourable outcome

Variable	OR (95% CI)	P-value
APACHE II score	1.11 (0.99–1.25)	0.06
Septic shock	4.81 (1.42–16.25)	0.01
ARDS	11.29 (2.64–48.22)	0.001
Sedative use	1.01 (0.86–1.2)	0.93

OR, odds ratio; CI, confidence interval; APACHE, Acute and Physiology and Chronic Health Evaluation; ARDS, acute respiratory distress syndrome.

Statistical comparison was performed between patients with favourable and unfavourable responses. Table 4 shows the results of univariate analysis.

Multivariate analysis showed that the presence of ARDS (odds ratio (OR)=11.29, 95% confidence interval (CI) 2.64–48.22; $P=0.001$) and septic shock (OR=4.81, 95% CI 1.42–16.25; $P=0.01$) were independently associated with an unfavourable outcome. Table 5 provides the results of multivariate analysis.

4. Discussion

The increasing incidence of MDR *P. aeruginosa* is a very serious therapeutic challenge in Brazilian hospitals. With a reduced number of effective antimicrobial drugs against this pathogen, there has been renewed interest in the polymyxins. To our knowledge, our study is the largest report assessing polymyxin B for the treatment of nosocomial pneumonia caused by MDR *P. aeruginosa*.

Polymyxins are cationic polypeptide antibiotics of the polymyxin family that are rapidly bactericidal to Gram-negative bacteria. The action of polymyxin is by a detergent-like mechanism interfering with the structure and function of the outer cytoplasmic membrane of the bacteria and resulting in bacterial death [12].

A previous study demonstrated lower efficacy of the polymyxins for the treatment of pulmonary infections owing to their large molecular structure and poor penetration into the pleura [2]. The 47.3% favourable response rate in this study was higher than the 25% reported by Levin et al. [4], but lower than the 61.1% reported by Linden et al. [3]. However, the former study included patients with *Acinetobacter* spp. infections. Using colistin, Markou et al. [13] achieved a 54.5% favourable outcome in patients with ventilator-associated pneumonia (VAP). Michalopoulos et al. [14] also had better outcomes using colistin in their study. In a recent study, Kallel et al. [15] observed a 73.8% favourable clinical response with colistin in critically ill patients with VAP caused by MDR *P. aeruginosa*. To our knowledge, this is the highest response rate reported in the literature so far.

Linden et al. [3] also found that bacteraemia was the only variable related to an unfavourable outcome. Our study showed that bacteraemia was not associated with a worse outcome, however the presence of ARDS was associated with an

unfavourable outcome in our study. This is the first study that addressed the presence of ARDS as a predictor of poor outcome in pneumonia caused by *P. aeruginosa*. Patients with poor outcomes were probably more critical as demonstrated by higher APACHE II score.

Septic shock was an independent variable associated with an unfavourable outcome in our study. To our knowledge, this is the first study to observe this phenomenon. Markou et al. [13] showed that multiple organ failure was correlated with unfavourable clinical response. However, they did not use a control group and presence of septic shock was not defined.

Toxicity, principally nephrotoxicity, is a concern with polymyxins. In our study, we observed a low rate of nephrotoxicity (9.4%), similar to Sobieszczyk et al. [2] who found 10% of patients had nephrotoxicity. On the other hand, Levin et al. [4] reported a high incidence of nephrotoxicity (37%). A recent study demonstrated that nephrotoxicity was more related to cumulative dose of polymyxins [16]. The lower rates of nephrotoxicity in recent studies may also reflect the global improvement in haemodynamic resuscitation techniques in critically ill patients over the past 25 years [17].

We did not observe neurotoxicity in our study. Recent studies [4,13,14] had the same findings, in contrast to studies carried out in the 1960s [18].

Imipenem was the most frequent concomitant antibiotic utilised in our study. There was no difference in outcome with combined therapy. Recent studies have shown that combination of polymyxins with β -lactams, ciprofloxacin and rifampicin exerts a synergistic effect towards MDR isolates [19,20].

In a recent study, Sobieszczyk et al. [2] analysed combination therapy with polymyxin B for the treatment of MDR Gram-negative bacteria and found a favourable clinical status in 76% of patients. Carbapenems were the most commonly utilised antimicrobial drug in their study.

In our study, polymyxin B was administered by continuous infusion over 24 h rather than in divided doses. We can hypothesise that infrequent large doses rather than infusions with a drug that has concentration-dependent activity might alter the efficacy of polymyxin B therapy. In fact, most previous studies utilised polymyxins divided into two or three doses and showed better efficacy than here [3,13–15,17].

Our study also showed an elevated in-hospital mortality rate (74.3%), confirming that MDR *P. aeruginosa* infections are more prevalent in critically ill patients. Thus, polymyxin B therapy does not change these outcomes.

In summary, the presence of ARDS and septic shock were independently associated with unfavourable outcome in patients with nosocomial pneumonia caused by MDR *P. aeruginosa* treated with polymyxin B. According to our findings, polymyxin B should be used only for salvage therapy. On the other hand, our study confirmed recent studies that have shown lower rates of nephrotoxicity and neurotoxicity with the use of polymyxins. Despite these findings, we need

a well-designed, controlled trial investigating this agent in order to define its true efficacy.

Funding: None.

Competing interests: None declared.

Ethical approval: Not required.

References

- [1] National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS). System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. *Am J Infect Control* 2004;32:470–85.
- [2] Sobieszczyk ME, Furuya EY, Hay CM, et al. Combination therapy with polymyxin B for the treatment of multidrug-resistant Gram-negative respiratory tract infections. *J Antimicrob Chemother* 2004;54:566–9.
- [3] Linden PK, Kusne S, Coley K, Fontes P, Kramer DJ, Paterson D. Use of parenteral colistin for the treatment of serious infection due to antimicrobial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis* 2003;37:e154–60.
- [4] Levin AS, Barone AA, Penco J, et al. Intravenous colistin as therapy for nosocomial infections caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. *Clin Infect Dis* 1999;28:1008–11.
- [5] Furtado GH, Martins ST, Machado AM, Wey SB, Medeiros EA. Clinical culture surveillance of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species in a teaching hospital in São Paulo, Brazil. A 7-year study. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2006;27:1270–3.
- [6] Horan TC, Gaynes RP. Surveillance of nosocomial infections. In: Mayhall CG, editor. *Hospital epidemiology and infection control*. 3rd ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2004. p. 1659–702.
- [7] Gilligan PH. *Pseudomonas* and *Burkholderia*. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH, editors. *Manual of clinical microbiology*. 6th ed. Washington, DC: ASM Press; 1995. p. 509–19.
- [8] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twelfth informational supplement. M100-S12. Wayne, PA: NCCLS; 2002.
- [9] Gales AC, Reis AO, Jones RN. Contemporary assessment of antimicrobial susceptibility testing methods for polymyxin B and colistin. Review of available interpretative criteria and quality control guidelines. *J Clin Microbiol* 2001;39:183–90.
- [10] Evans ME, Feola DJ, Rapp RP. Polymyxin B sulfate and colistin: old antibiotics for emerging multiresistant gram-negative bacteria. *Ann Pharmacother* 1999;33:960–7.
- [11] Bernard GR, Artigas A, Bringham KL, et al. The American–European Consensus Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes and clinical trial coordination. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;149:818–24.
- [12] Hancock REW. Resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* and other nonfermentative gram-negative bacteria. *Clin Infect Dis* 1998;27(Suppl. 1):S93–9.
- [13] Markou N, Apostolakis H, Koumoudiou C, et al. Intravenous colistin in the treatment of sepsis from multiresistant Gram-negative bacilli in critically ill patients. *Crit Care* 2003;7:R78–83.
- [14] Michalopoulos AS, Tsiodras S, Rellos K, Mentzelopoulos S, Falagas ME. Colistin treatment in patients with ICU-acquired infections caused by multiresistant Gram-negative bacteria: the renaissance of an old antibiotic. *Clin Microbiol Infect* 2005;11:115–21.
- [15] Kallel H, Bahloul M, Hergafi L, et al. Colistin as a salvage therapy for nosocomial infections caused by multidrug-resistant bacteria in the ICU. *Int J Antimicrob Agents* 2006;28:366–9.
- [16] Falagas ME, Fragoulis KN, Kasiakou SK, Sermaidis GJ, Michalopoulos A. Nephrotoxicity of intravenous colistin: a prospective evaluation. *Int J Antimicrob Agents* 2005;26:504–7.
- [17] Reina R, Estenssoro E, Saenz G, et al. Safety and efficacy of colistin in *Acinetobacter* and *Pseudomonas* infections: a prospective cohort study. *Intensive Care Med* 2005;31:1058–65.
- [18] Lindesmith LA, Baines RD, Bigelow DB, Petty TL. Reversible respiratory paralysis associated with polymyxin therapy. *Ann Intern Med* 1968;68:318–27.
- [19] Giamarellos-Bourboulis EJ, Sambatakou H, Galani I, et al. In vitro interaction of colistin and rifampin on multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *J Chemother* 2003;15:235–8.
- [20] Tascini C, Gemignani G, Fernanti S, et al. Microbiological activity and clinical efficacy of a colistin and rifampin combination in multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections. *J Chemother* 2004;16:282–7.

8. REFERÊNCIAS

- Aires JR, Köhler T, Nikaido H, Plésiat P. Involvement of an active efflux system in the natural resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to aminoglycosides. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999 Nov;43(11):2624-8.
- Aloush V, Navon-Venezia S, Seigman-Igra Y, Cabili S, Carmeli Y. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: risk factors and clinical impact. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006 Jan;50(1):43-8.
- Andrade SS, Jones RN, Gales AC, Sader HS. Increasing prevalence of antimicrobial resistance among *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Latin America medical centres: 5 year report of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program(1997-2001). *J Antimicrob Chemother* 2003; 52: 140-141.
- Annane D, Sébille V, Charpentier C, Bollaert PE, François B, Korach JM, Capellier G, Cohen Y, Azoulay E, Troché G, Chaumet-Riffaut P, Bellissant E. Effect of treatment with low doses of hydrocortisone and fludrocortisone on mortality in patients with septic shock. *JAMA*. 2002 Aug 21;288(7):862-71.
- Arruda EA, Marinho IS, Boulos M, Sinto SI, Caiaffa HH, Mendes CM, Oplustil CP, Sader HS, Levy CE, Levin AS. Nosocomial infections caused by multiresistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999 ; 20(9): 620-623.
- Beck-Sagué CM, Banerjee SN, Jarvis WR. Epidemiology and control of *Pseudomonas aeruginosa* in U.S. In: Baltch AL & Smith RP. *Pseudomonas aeruginosa* infections and treatment. New York, Marcell Dekker Inc., 1994. P51-71.
- Bernard GR, Artigas A, Brigham KL, Carlet J, Falke K, Hudson L, Lamy M, Legall JR, Morris A, Spragg R. The American-European Consensus Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. *Am J Respir Crit Care Med*. 1994 Mar;149(3 Pt 1):818-24.
- Bollaert PE, Charpentier C, Levy B, Debouverie M, Audibert G, Larcan A. Reversal of late septic shock with supraphysiologic doses of hydrocortisone. *Crit Care Med*. 1998 Apr;26(4):645-50.

Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. Chest. 1992 Jun;101(6):1644-55.

Bonten MJ, Bergmans DC, Speijer H, Stobberingh EE. Characteristics of polyclonal endemicity of *Pseudomonas aeruginosa* colonization in intensive care units. Implications for infection control. Am J Respir Crit Care Med. 1999 Oct;160(4):1212-9.

Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrob Agents Chemother. 1995 Jun;39(6):1211-33.

Cailleaux V, Mulin B, Capellier G, Julliot MC, Thouverez M, Talon D. Epidemiological study of variations in beta-lactam antibiotic susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* in two intensive care units. J Hosp Infect. 1997 Nov;37(3):217-24.

Cao B, Wang H, Sun H, Zhu Y, Chen M. Risk factors and clinical outcomes of nosocomial multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections. J Hosp Infect. 2004 Jun;57(2):112-8.

Carmeli Y, Troillet N, Eliopoulos GM, Samore MH. Emergence of antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: comparison of risks associated with different antipseudomonal agents. Antimicrob Agents Chemother. 1999a Jun;43(6):1379-82.

Carmeli Y, Troillet N, Karchmer AW, Samore MH. Health and economic outcomes of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. Arch Intern Med. 1999b May 24;159(10):1127-32.

Chini NX, Scully B, DellaLatta P. Synergy of polymyxin B with imipenem and other antimicrobial agents against *Acinetobacter*, *Klebsiella*, and *Pseudomonas* species [abstract E-56]. In: Program and abstracts of the 38th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy ICAAC; 1998 Sept 24-27; San Diego, California. Washington, DC: American Society for Microbiology; 1998. p. 184.

Clinical and Laboratory Standards Institute(CLSI). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard- Seventh Edition M7-A7. 2006. Wayne.

Cronin L, Cook DJ, Carlet J, Heyland DK, King D, Lansang MA, Fisher CJ Jr. Corticosteroid treatment for sepsis: a critical appraisal and meta-analysis of the literature. Crit Care Med. 1995 Aug; 23(8):1430-9.

Defez C, Fabbro-Peray P, Bouziges N, Gouby A, Mahamat A, Daurès JP, Sotto A. Risk factors for multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* nosocomial infection. J Hosp Infect. 2004 Jul; 57(3):209-16.

Division of Healthcare Quality Promotion, National Center for Infectious Diseases, Centers for Disease Control and Prevention, Public Health Service, US Department of Health and Human Services. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. Am J Infect Control 2004; 32:470-85.

Edgard WM, Dickinson KM. A trail of colistin methane sulphonate in urinary tract infection with *Pseudomonas pyocyanea*. Lancet. 1962;1:739-40.

Falagas ME, Koletsi PK, Kopterides P, Michalopoulos A. Risk factors for isolation of strains susceptible only to polymyxin among patients with *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia. Antimicrob Agents Chemother. 2006 Jul; 50(7):2541-3.

Flaherty JP, Weinstein RA. Nosocomial infection caused by antibiotic-resistant organisms in the intensive-care unit. Infect Control Hosp Epidemiol. 1996 Apr;17(4):236-48.

Forkner CE. *Pseudomonas aeruginosa* infections. London: Grune & Straton; 1960.

Fortaleza CM, Freire MP, Filho Dde C, de Carvalho Ramos M. Risk factors for recovery of imipenem- or ceftazidime-resistant *Pseudomonas aeruginosa* among patients admitted to a teaching hospital in Brazil. Infect Control Hosp Epidemiol. 2006 Sep;27(9):901-6. Epub 2006 Aug 21.

- Fridkin SK, Steward CD, Edwards JR, Pryor ER, McGowan JE Jr, Archibald LK, Gaynes RP, Tenover FC. Surveillance of antimicrobial use and antimicrobial resistance in United States hospitals: project ICARE phase 2. Project Intensive Care Antimicrobial Resistance Epidemiology (ICARE) hospitals. Clin Infect Dis. 1999 Aug;29(2):245-52.
- Fukushima K, Ando M, Suga M, Araki S. Impaired function of polymorphonuclear leukocytes exuded into bronchoalveolar spaces infected with *Pseudomonas aeruginosa* in steroid-treated rabbits. Exp Lung Res. 1987;13(2):141-55.
- Furtado GH, Martins ST, Machado AM, Wey SB, Medeiros EA. Clinical culture surveillance of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species in a teaching hospital in São Paulo, Brazil: a 7-year study. Infect Control Hosp Epidemiol 2006 Nov; 27(11):1270-3.
- Gales AC, Sader HS, Dainesi SM, Mimica I I, Sampaio J, Zoccoli C, Oplustil C, Mendes C. Comparative in vitro Activity of Meropenem Versus Other Extended-Spectrum Antimicrobial Agents Against 2,085 Clinical Isolates Tested in 13 Brazilian Centers. Braz J Infect Dis. 1997 Dec;1(6):294-305.
- Gales AC, Menezes LC, Silbert S, Sader HS. Dissemination in distinct Brazilian regions of an epidemic carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing SPM metallo- β -lactamase. J Antimicrob Chemother 2003; 52: 699-702.
- Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, Horan TC, Hughes JM. CDC definitions for nosocomial infections, 1988. Am J Infect Control. 1988 Jun;16(3):128-40. Erratum in: Am J Infect Control 1988 Aug;16(4):177.
- Gaynes R. Antibiotic resistance in ICUs: a multifaceted problem requiring a multifaceted solution. Infect Control Hosp Epidemiol 1995 Jun;16(6): 328-30.
- Go ES, Urban C, Burns J, Kreiswirth B, Eisner W, Mariano N, Mosinka-Snipas K, Rahal JJ. Clinical and molecular epidemiology of *Acinetobacter* infections sensitive only to polymyxin B and sulbactam. Lancet. 1994 Nov 12; 344(8933):1329-32.
- Gotoh N, Tsujimoto H, Tsuda M, Okamoto K, Nomura A, Wada T, Nakahashi M, Nishino T. Characterization of the MexC-MexD-OprJ multidrug efflux system in

DeltamexA-mexB-oprM mutants of *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother. 1998 Aug; 42(8):1938-43.

Gransden WR, Leibovici L, Eykyn SJ, Pitlik SD, Samra Z, Konisberger H, Drucker M, Phillips I. Risk factors and a clinical index for diagnosis of *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia. Clin Microbiol Infect. 1995 Feb;1(2):119-123.

Grundmann H, Bärwolff S, Tami A, Behnke M, Schwab F, Geffers C, Halle E, Göbel UB, Schiller R, Jonas D, Klare I, Weist K, Witte W, Beck-Beilecke K, Schumacher M, Rüden H, Gastmeier P. How many infections are caused by patient-to-patient transmission in intensive care units? Crit Care Med. 2005 May; 33(5):946-51.

Hamer DH. Treatment of nosocomial pneumonia and tracheobronchitis caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* with aerosolized colistin. Am J Respir Crit Care Med. 2000 Jul;162(1):328-30.

Hancock RE. Resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* and other nonfermentative gram-negative bacteria. Clin Infect Dis. 1998 Aug;27 Suppl 1:S93-9.

Harris AD, Karchmer TB, Carmeli Y, Samore MH. Methodological principles of case-control studies that analyzed risk factors for antibiotic resistance: a systematic review. Clin Infect Dis. 2001 Apr 1;32(7):1055-61. Epub 2001 Mar 21.

Harris AD, Smith D, Johnson JA, Bradham DD, Roghmann MC. Risk factors for imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* among hospitalized patients. Clin Infect Dis. 2002 Feb 1;34(3):340-5. Epub 2001 Dec 26.

Hilf M, Yu VL, Sharp J, Zuravleff JJ, Korvick JA, Muder RR. Antibiotic therapy for *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia: outcome correlations in a prospective study of 200 patients. Am J Med. 1989 Nov;87(5):540-6.

Hill AB. The environment and disease: association or causation? Proc R Soc Med 1965 May; 58: 295-300.

Hirakata Y, Yamaguchi T, Nakano M, Izumikawa K, Mine M, Aoki S, Kondoh A, Matsuda J, Hirayama M, Yanagihara K, Miyazaki Y, Tomono K, Yamada Y, Kamihiro S, Kohno S. Clinical and bacteriological characteristics of IMP-type metallo-beta-

lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa*. Clin Infect Dis. 2003 Jul 1;37(1):26-32. Epub 2003 Jun 24.

Hoppe B. Control of infections caused by drug-resistant organisms in critical care. Am J Crit Care. 1997 Mar;6(2):141-4.

Jones RN. Important and emerging beta-lactamase-mediated resistances in hospital-based pathogens: the Amp C enzymes. Diagn Microbiol Infect Dis. 1998 Jul;31(3):461-6.

Kallel H, Bahloul M, Hergafi L, Akrouit M, Ketata W, Chelly H, Hamida CB, Rekik N, Hammami A, Bouaziz M. Colistin as a salvage therapy for nosocomial infections caused by multidrug-resistant bacteria in the ICU. Int J Antimicrob Agents. 2006 Oct; 28(4):366-9. Epub 2006 Sep 12.

Kaye KS, Harris AD, Samore M, Carmeli Y. The case-case-control study design: addressing the limitations of risk factor studies for antimicrobial resistance. Infect Control Hosp Epidemiol. 2005 Apr;26(4):346-51.

Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. Crit Care Med. 1985 Oct;13(10):818-29.

Kube D, Sontich U, Fletcher D, Davis PB. Proinflammatory cytokine responses to *P. aeruginosa* infection in human airway epithelial cell lines. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2001 Mar;280(3):L493-502.

Lautenbach E, Weiner MG, Nachamkin I, Bilker WB, Sheridan A, Fishman NO. Imipenem resistance among *Pseudomonas aeruginosa* isolates: risk factors for infection and impact of resistance on clinical and economic outcomes. Infect Control Hosp Epidemiol. 2006 Sep;27(9):893-900. Epub 2006 Aug 21.

Lefering R, Neugebauer EA. Steroid controversy in sepsis and septic shock: a meta-analysis. Crit Care Med. 1995 Jul;23(7):1294-303.

Leroy O, d'Escrivan T, Devos P, Dubreuil L, Kipnis E, Georges H. Hospital-acquired pneumonia in critically ill patients: factors associated with episodes due to imipenem-resistant organisms. Infection. 2005 Jun;33(3):129-35.

Levin AS, Barone AA, Penço J, Santos MV, Marinho IS, Arruda EA, Manrique EI, Costa SF. Intravenous colistin as therapy for nosocomial infections caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. Clin Infect Dis. 1999 May;28(5):1008-11.

Levin AS, Mendes CM, Sinto SI, Sader HS, Scarpitta CR, Rodrigues E, Sauaia N, Boulos M. An outbreak of multiresistant *Acinetobacter baumannii* in a university hospital in São Paulo, Brazil. Infect Control Hosp Epidemiol. 1996 Jun;17(6):366-8.

Levy SB. Active efflux mechanisms for antimicrobial resistance. Antimicrob Agents Chemother. 1992 Apr;36(4):695-703.

Li XZ, Ma D, Livermore DM, Nikaido H. Role of efflux pump(s) in intrinsic resistance of *Pseudomonas aeruginosa*: active efflux as a contributing factor to beta-lactam resistance. Antimicrob Agents Chemother. 1994 Aug;38(8):1742-52.

Li XZ, Poole K, Nikaido H. Contributions of MexAB-OprM and an EmrE homolog to intrinsic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to aminoglycosides and dyes. Antimicrob Agents Chemother. 2003 Jan; 47(1):27-33.

Linden PK, Kusne S, Coley K, Fontes P, Kramer DJ, Paterson D. Use of parenteral colistin for the treatment of serious infection due to antimicrobial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. Clin Infect Dis. 2003 Dec 1; 37(11):e154-60. Epub 2003 Oct 29.

Lister PD, Sanders WE Jr, Sanders CC. Cefepime-aztreonam: a unique double beta-lactam combination for *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother. 1998 Jul;42(7):1610-9.

Livermore DM, Woodford N. Carbapenemases: a problem in waiting? Curr Opin Microbiol. 2000 Oct;3(5):489-95.

Livermore DM. Acquired carbapenemases. J Antimicrob Chemother. 1997 Jun;39(6):673-6..

Livermore DM. beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. Clin Microbiol Rev. 1995 Oct;8(4):557-84..

Livermore DM. Mechanisms of resistance to beta-lactam antibiotics. Scand J Infect Dis Suppl. 1991; 78:7-16..

Livermore DM. Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: our worst nightmare? Clin Infect Dis. 2002 Mar 1; 34(5):634-40. Epub 2002 Jan 25.

Lodise TP Jr, Miller C, Patel N, Graves J, McNutt LA. Identification of patients with *Pseudomonas aeruginosa* respiratory tract infections at greatest risk of infection with carbapenem-resistant isolates. Infect Control Hosp Epidemiol. 2007 Aug; 28(8):959-65. Epub 2007 Jun 22.

Marino CG. Epidemiologia das infecções causadas por pseudomonas aeruginosa multi-resistente em pacientes internados em um hospital universitário [tese]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo; 2002.

Markou N, Apostolakos H, Koumoudiou C, Athanasiou M, Koutsoukou A, Alamanos I, Gregorakos L. Intravenous colistin in the treatment of sepsis from multiresistant Gram-negative bacilli in critically ill patients. Crit Care. 2003 Oct;7(5):R78-83. Epub 2003 Jul 28.

Marra AR, Pereira CA, Gales AC, Menezes LC, Cal RG, de Souza JM, Edmond MB, Faro C, Wey SB. Bloodstream infections with metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa*: epidemiology, microbiology, and clinical outcomes. Antimicrob Agents Chemother. 2006 Jan;50(1):388-90.

Masuda N, Sakagawa E, Ohya S, Gotoh N, Tsujimoto H, Nishino T. Contribution of the MexX-MexY-oprM efflux system to intrinsic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother. 2000 Sep;44(9):2242-6.

McCabe WR, Jackson GG. Gram-negative bacteremia. Arch Intern Med. 1962;110:847-864.

Medeiros AA. Evolution and dissemination of beta-lactamases accelerated by generations of beta-lactam antibiotics. Clin Infect Dis. 1997 Jan;24 Suppl 1:S19-45.

Mendes RE, Kiyota KA, Monteiro J, Castanheira M, Andrade SS, Gales AC, Pignatari AC, Tufik S. Rapid detection and identification of metallo-beta-lactamase-encoding genes by multiplex real-time PCR assay and melt curve analysis. *J Clin Microbiol*. 2007 Feb;45(2):544-7. Epub 2006 Nov 8.

Mentzelopoulos SD, Pratikaki M, Platsouka E, Kraniotaki H, Zervakis D, Koutsoukou A, Nanas S, Paniara O, Roussos C, Giamarellos-Bourboulis E, Routsis C, Zakynthinos SG. Prolonged use of carbapenems and colistin predisposes to ventilator-associated pneumonia by pandrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Intensive Care Med*. 2007 Sep;33(9):1524-32. Epub 2007 Jun 5.

Michalopoulos AS, Tsiodras S, Rellos K, Mentzelopoulos S, Falagas ME. Colistin treatment in patients with ICU-acquired infections caused by multiresistant Gram-negative bacteria: the renaissance of an old antibiotic. *Clin Microbiol Infect*. 2005 Feb;11(2):115-21.

National Nosocomial Infections Surveillance System. National Nosocomial Infections Surveillance(NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. *Am J Infect Control*. 2004 Dec;32(8):470-85.

Neu HC. Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to imipenem. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 1992 Jan;13(1):7-9.

Nikaido H. Role of permeability barriers in resistance to β -lactam antibiotics. *Pharmacol Ther*. 1985; 27: 197-231.

Nikaido H. Antibiotic resistance caused by gram-negative multidrug efflux pumps. *Clin Infect Dis*. 1998 Aug;27 Suppl 1:S32-41.

Nikaido H. Outer membrane barrier as a mechanism of antimicrobial resistance. *Antimicrob Agents Chemother*. 1989 Nov;33(11):1831-6.

Nikaido H. Prevention of drug access to bacterial targets: permeability barriers and active efflux. *Science*. 1994 Apr 15;264(5157):382-8.

Nikaido H. Role of permeability barriers in resistance to beta-lactam antibiotics. *Pharmacol Ther*. 1985;27(2):197-231.

- Nouer SA, Nucci M, de-Oliveira MP, Pellegrino FL, Moreira BM. Risk factors for acquisition of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing SPM metallo-beta-lactamase. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005 Sep; 49(9): 3663-7.
- Osano E, Arakawa Y, Wacharotayankun R, Ohta M, Horii T, Ito H, Yoshimura F, Kato N. Molecular characterization of an enterobacterial metallo beta-lactamase found in a clinical isolate of *Serratia marcescens* that shows imipenem resistance. *Antimicrob Agents Chemother*. 1994 Jan;38(1):71-8.
- Ostronoff M, Ostronoff F, Sucupira A, Souto Maior AP, Caniza M, Florêncio R, Domingues MC, Calixto R, Matias K. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection in neutropenic patients successfully treated with a combination of polymyxin B and rifampin. *Int J Infect Dis*. 2006 Jul;10(4):339-40. Epub 2006 Jan 10.
- Ozkurt Z, Ertek M, Erol S, Altoparlak U, Akcay MN. The risk factors for acquisition of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in the burn unit. *Burns*. 2005 Nov;31(7):870-3. Epub 2005 Jun 21.
- Paramythiotou E, Lucet JC, Timsit JF, Vanjak D, Paugam-Burtz C, Trouillet JL, Belloc S, Kassis N, Karabinis A, Andremonet A. Acquisition of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in patients in intensive care units: role of antibiotics with antipseudomonal activity. *Clin Infect Dis*. 2004 Mar 1; 38(5):670-7. Epub 2004 Feb 17.
- Parkins MD, Pitout JD, Church DL, Conly JM, Laupland KB. Treatment of infections caused by metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in the Calgary Health Region. *Clin Microbiol Infect*. 2007 Feb; 13(2): 199-202.
- Paul M, Benuri-Silbiger I, Soares-Weiser K, Leibovici L. Beta lactam monotherapy versus beta lactam-aminoglycoside combination therapy for sepsis in immunocompetent patients: systematic review and meta-analysis of randomised trials. *BMJ*. 2004 Mar 20;328(7441):668. Epub 2004 Mar 2. Review. Erratum in: *BMJ*. 2004 Apr 10; 328(7444):884.
- Peña C, Guzmán A, Suarez C, Dominguez MA, Tubau F, Pujol M, Gudiol F, Ariza J. Effects of carbapenem exposure on the risk for digestive tract carriage of intensive care unit-endemic carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains in

critically ill patients. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007 Jun;51(6):1967-71. Epub 2007 Apr 9.

Pennington JE, Ehrie MG, Hickey WF. Host defense mechanisms against pneumonia due to *Pseudomonas aeruginosa*. *Rev Infect Dis*. 1984 Sep-Oct;6 Suppl 3:S657-66.

Pifarre R, Falguera M, Vicente-de-Vera C, Nogues A. Characteristics of community-acquired pneumonia in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Med*. 2007 Oct; 101(10):2139-44. Epub 2007 Jul 12.

Pitout JD, Sanders CC, Sanders WE Jr. Antimicrobial resistance with focus on beta-lactam resistance in gram-negative bacilli. *Am J Med*. 1997 Jul;103(1):51-9.

Poole K, Gotoh N, Tsujimoto H, Zhao Q, Wada A, Yamasaki T, Neshat S, Yamagishi J, Li XZ, Nishino T. Overexpression of the mexC-mexD-oprJ efflux operon in nfxB-type multidrug-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol Microbiol*. 1996 Aug; 21(4):713-24.

Poole K. Outer membranes and efflux: the path to multidrug resistance in Gram-negative bacteria. *Curr Pharm Biotechnol*. 2002 Jun;3(2):77-98.

Rangel-Frausto MS, Pittet D, Costigan M, Hwang T, Davis CS, Wenzel RP. The natural history of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). A prospective study. *JAMA*. 1995 Jan 11;273(2):117-23.

Reina R, Estenssoro E, Sáenz G, Canales HS, Gonzalvo R, Vidal G, Martins G, Das Neves A, Santander O, Ramos C. Safety and efficacy of colistin in *Acinetobacter* and *Pseudomonas* infections: a prospective cohort study. *Intensive Care Med*. 2005 Aug; 31(8):1058-65. Epub 2005 Jun 28.

Rello J, Ausina V, Ricart M, Puzo C, Quintana E, Net A, Prats G. Risk factors for infection by *Pseudomonas aeruginosa* in patients with ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Med*. 1994; 20(3): 193-8.

Sader HS, Gales AC, Pfaller MA, Mendes RE, Zoccoli C, Barth A, Jones RN. Pathogen frequency and resistance patterns in Brazilian hospitals: summary of

results from three years of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Braz J Infect Dis*. 2001 Aug; 5(4):200-14. Epub 2003 Mar 7.

Sader HS, Reis AO, Silbert S, Gales AC. IMPs, VIMs and SPMs: the diversity of metallo-beta-lactamases produced by carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in a Brazilian hospital. *Clin Microbiol Infect*. 2005 Jan; 11(1):73-6.

Safdar N, Handelsman J, Maki DG. Does combination antimicrobial therapy reduce mortality in Gram-negative bacteraemia? A meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2004 Aug; 4(8):519-27.

Sanders CC, Sanders WE Jr. beta-Lactam resistance in gram-negative bacteria: global trends and clinical impact. *Clin Infect Dis*. 1992 Nov;15(5):824-39.

Satake S, Yoneyama H, Nakae T. Role of OmpD2 and chromosomal beta-lactamase in carbapenem resistance in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother*. 1991 Aug;28(2):199-207.

Sauaia A, Moore FA, Moore EE, Lezotte DC. Early risk factors for postinjury multiple organ failure. *World J Surg*. 1996 May; 20(4):392-400.

Sayer HG, Longton G, Bowden R, Pepe M, Storb R. Increased risk of infection in marrow transplant patients receiving methylprednisolone for graft-versus-host disease prevention. *Blood*. 1994 Aug 15;84(4):1328-32.

Sobieszczyk ME, Furuya EY, Hay CM, Pancholi P, Della-Latta P, Hammer SM, Kubin CJ. Combination therapy with polymyxin B for the treatment of multidrug-resistant Gram-negative respiratory tract infections. *J Antimicrob Chemother*. 2004 Aug;54(2):566-9. Epub 2004 Jul 21.

Sprung CL, Annane D, Keh D, Moreno R, Singer M, Freivogel K, Weiss YG, Benbenishty J, Kalenka A, Forst H, Laterre PF, Reinhart K, Cuthbertson BH, Payen D, Briegel J; CORTICUS Study Group. Hydrocortisone therapy for patients with septic shock. *N Engl J Med*. 2008 Jan 10; 358(2):111-24.

- Sprung CL, Caralis PV, Marcial EH, Pierce M, Gelbard MA, Long WM, Duncan RC, Tendler MD, Karpf M. The effects of high-dose corticosteroids in patients with septic shock. A prospective, controlled study. *N Engl J Med*. 1984 Nov 1;311(18):1137-43.
- Storm DR, Rosenthal KS, Swanson PE. Polymyxin and related peptide antibiotics. *Annu Rev Biochem*. 1977;46:723-63.
- Stunt RA, Thomson CJ, Payne DJ, Amyes SG. A study of the mechanisms involved in imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Japan. *J Antimicrob Chemother*. 1998 Aug;42(2):272-3.
- Stutman HR, Welch DF, Scribner RK, Marks MI. In vitro antimicrobial activity of aztreonam alone and in combination against bacterial isolates from pediatric patients. *Antimicrob Agents Chemother*. 1984 Feb;25(2):212-5.
- Takayanagi N, Tsuchiya Y, Tokunaga D, Miyahara Y, Yamaguchi S, Saito H, Ubukata M, Kurashima K, Yanagisawa T, Sugita Y. [Pulmonary infections in patients with rheumatoid arthritis] *Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi*. 2007 Jun; 45(6):465-73. Japanese.
- Talon D, Mulin B, Rouget C, Bailly P, Thouverez M, Viel JF. Risks and routes for ventilator-associated pneumonia with *Pseudomonas aeruginosa*. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998 Mar; 157(3 Pt 1): 978-84.
- Tam VH, Chang KT, LaRocco MT, Schilling AN, McCauley SK, Poole K, Garey KW. Prevalence, mechanisms, and risk factors of carbapenem resistance in bloodstream isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2007 Jul; 58(3):309-14.
- Tascini C, Gemignani G, Ferranti S, Tagliaferri E, Leonildi A, Lucarini A, Menichetti F. Microbiological activity and clinical efficacy of a colistin and rifampin combination in multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections. *J Chemother*. 2004 Jun;16(3):282-7.
- Toleman MA, Simm AM, Murphy TA, Gales AC, Biedenbach DJ, Jones RN, Walsh TR. Molecular characterization of SPM-1, a novel metallo-beta-lactamase isolated in

Latin America: report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme. J Antimicrob Chemother. 2002 Nov; 50(5):673-9.

Troillet N, Samore MH, Carmeli Y. Imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: risk factors and antibiotic susceptibility patterns. Clin Infect Dis. 1997 Nov; 25(5):1094-8.

Watanabe M, Iyobe S, Inoue M, Mitsuhashi S. Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother. 1991 Jan; 35(1):147-51.

Widmer AF, Wenzel RP, Trilla A, Bale MJ, Jones RN, Doebbeling BN. Outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* infections in a surgical intensive care unit: probable transmission via hands of a healthcare worker. Clin Infect Dis. 1993; 16:372-6.

Wu DH, Baltch AL, Smith RP, Conley PE. Effect of aztreonam in combination with azlocillin or piperacillin on *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother. 1984 Oct; 26(4):519-21.

Yoon J, Urban C, Terzian C, Mariano N, Rahal JJ. In vitro double and triple synergistic activities of Polymyxin B, imipenem, and rifampin against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother. 2004 Mar; 48(3):753-7.

Young VM. *Pseudomonas aeruginosa*: ecological aspects and patient colonization. New York: Raven Press; 1977.

Zavascki AP, Barth AL, Gonçalves AL, Moro AL, Fernandes JF, Martins AF, Ramos F, Goldani LZ. The influence of metallo-beta-lactamase production on mortality in nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* infections. J Antimicrob Chemother. 2006 Aug; 58(2):387-92. Epub 2006 Jun 3.

Zavascki AP, Cruz RP, Goldani LZ. Risk factors for imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: a comparative analysis of two case-control studies in hospitalized patients. J Hosp Infect. 2005 Feb; 59(2):96-101.

Abstract

Objective: The study sought to determine the risk factors independently associated to nosocomial pneumonia due to carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in a medical-surgical ICU. The factors associated to unfavorable outcome on those patients who were treated with polymyxin B were evaluated as well as the outcome in episodes caused by strains harboring the metallo- β -lactamase SPM-1. **Methods:** The study was undertaken at Hospital São Paulo, a university-affiliated hospital. We evaluated patients admitted to Anesthesiology ICU through a case-case-control study, between 2002 and 2005. Patients with nosocomial pneumonia caused by resistant and susceptible strains were designed as resistant cases (study 1) and susceptible cases (study 2), respectively. The controls were patients admitted to the same unit in the same period. The second study addressed the outcome of patients admitted to ICUs with nosocomial pneumonia due to carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* who were treated with polymyxin B. Patients admitted to the ICUs between 1997-2005 were enrolled for the study. A nested case-control was undertaken. Cases were patients with unfavorable outcome and controls were patients with favorable outcome. The third study was undertaken through a nested case-control methodology as well. Cases were patients with nosocomial pneumonia caused by carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* harboring the metallo-enzyme SPM-1, and controls were patients without SPM-1. **Results:** 58 resistant cases, 47 susceptible cases and 237 controls were evaluated. The risk factors independently associated to nosocomial pneumonia in study 1 were: duration of hospitalization (OR 1,19 CI95%: 1,12-1,26, $p < 0,001$); APACHE II score (OR 1,11 CI95%: 1,01-1,22, $p = 0,03$); male sex (OR 8,01 CI95%: 1,66-38,51, $p = 0,009$); receipt of hemodialysis (OR 6,85 CI95%: 1,33-35,2, $p = 0,02$); receipt of corticosteroid (OR 13,18 CI95%: 3,80-45,64, $p < 0,001$); receipt of piperacillin-tazobactam (OR 14,31 CI95%: 1,02-200,16, $p = 0,04$) and receipt of 3rd-generation cephalosporins (OR 7,45 CI95%: 1,80-30,86, $p = 0,006$). The risk factors independently associated to nosocomial pneumonia caused by carbapenem-susceptible *Pseudomonas aeruginosa* (study 2) were: duration of ICU stay (OR 1,02 CI95%: 1,01-1,04, $p = 0,004$) and receipt of corticosteroid (OR 12,32 CI95%: 5,81-26,10, $p < 0,001$). The sole independently risk factor that was present in the two studies was the

corticosteroid use. Thus, the real OR for the variable found in the study was 1,06 (OR of study 1 divided by OR of study 2). 74 patients with nosocomial pneumonia treated with polymyxin B were evaluated. The factors associated to a unfavorable outcome were: presence of septic shock (OR 4,81 CI95%:1,42-16,25, $p=0,01$) and presence of acute respiratory distress syndrome (OR 11,29 CI95%:2,64-48,22, $p=0,001$). 29 strains were evaluated concerning the presence of metallo- β -lactamases. Only five strains were positive for SPM-1. The presence of SPM-1 didn't have impact on the outcome of these episodes ($p=0,67$). The combined treatment with polymyxin B and imipenem in patients without SPM-1 did not have positive impact on the outcome ($p=0,67$). None variable was independently associated to nosocomial pneumonia caused by SPM-1-positive strains. Only female sex showed a trend in univariate analysis (OR 9,71; CI95%: 0,92-103,04; $p=0,05$). There was no difference in outcome in episodes caused by *Pseudomonas aeruginosa* strains harboring SPM-1 compared to strains without SPM-1. **Conclusions:** The receipt of corticosteroid was the sole independently risk factor associated to nosocomial pneumonia caused by carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. The presence of septic shock and acute respiratory distress syndrome (ARDS) were the only factors related to unfavorable outcome. None variable was associated to the presence of metallo- β -lactamase SPM-1. In addition, the presence of this enzyme did not have impact on clinical outcome.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)