



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

MARCELO CARNEIRO

***Acinetobacter baumannii* multirresistente EM PNEUMONIA
ASSOCIADA À VENTILAÇÃO MECÂNICA**

Londrina
2007

MARCELO CARNEIRO

***Acinetobacter baumannii* multirresistente EM PNEUMONIA
ASSOCIADA À VENTILAÇÃO MECÂNICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia – *strictu sensu* da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Microbiologia.

Orientadora: Profa. Dra. Halha Ostrensky Saridakis

Londrina
2007

MARCELO CARNEIRO

***Acinetobacter baumannii* multirresistente EM PNEUMONIA
ASSOCIADA À VENTILAÇÃO MECÂNICA**

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Halha Ostrensky Saridakis
Universidade Estadual de Londrina - PR

Prof^a. Dra. Ana Maria Bonametti
Universidade Estadual de Londrina - PR

Profa. Dra. Maria Cristina Bronharo Tognim
Universidade Estadual de Maringá - PR

Londrina, 28 de fevereiro de 2007.

À Luciana, minha esposa e mãe de meu filho, razão para eu buscar sempre o melhor de mim e nunca desistir frente às adversidades.

AGRADECIMENTOS

À Prof. Dra. Halha Ostrensky Saridakis, minha orientadora, que me acolheu, nesta ciência básica e necessária para minha vida profissional, conduzindo-me na arte da bacteriologia em todos os seus aspectos, transmitindo seus sábios conhecimentos técnicos e valiosas vivências, sempre com muito carinho e dedicação.

À Prof. Dra. Ana Maria Bonametti, minha sempre orientadora e tutora, com um perfil de profissionalismo e caráter, a qual respeito, desde o início da residência médica em Infectologia, em que tive o prazer de conviver e estar sob seus ensinamentos por dois excelentes anos de minha vida acadêmica.

Aos meus colegas infectologistas londrinenses, Marcos Toshiyuki Tanita e Adriana Amélia Georgeto, pela agradável vivência na cidade de Londrina - Paraná.

Aos meus sábios colegas do curso de mestrado em Microbiologia da UEL, pessoas das mais variadas profissões que interagiram e aprenderam juntos com as dificuldades.

Ao Departamento de Microbiologia e aos professores do curso de Pós-graduação em Microbiologia do Centro de Ciências Biológicas da UEL.

Ao Laboratório de Bacteriologia da UEL pela ajuda sempre disposta e apoio incondicional, em especial a Prof. MSc Eliane C. Vespero e a Téc. Lab. Claci S. Stempinhaki.

As estagiárias da UEL Acadêmicas de Biomedicina, Paula Barbosa e Ac.

Medicina Luciana Fatureto Borges, pelo apoio na técnica laboratorial e na coleta de dados clínicos, respectivamente.

A Comissão de Controle de Infecção Hospitalar do HU (UEL) pelos ensinamentos, em especial para Prof. MSc Claudia M. D. M. Carrilho.

Ao Laboratório de Microbiologia do HUL (UEL) pelas amostras bacterianas fornecidas para o estudo, em especial para Prof. MSc Márcia Perugini, Prof. MSc Florister Carrara , Prof. MSc Regina Quesada.

A Unidade de Terapia Intensiva do HUL (UEL) pelo apoio e valorização do estudo realizado, em especial para Prof. Dra. Cíntia C. Grion e Prof. Dra. Luciene T. Q. Cardoso.

A Comissão de Controle de Infecção Hospitalar do Hospital Santa Cruz (UNISC) pela compreensão pelas ausências devido às minhas viagens, em especial à Enf^a Eline C. Krummenauer e à Téc. Enf. Janete Machado.

A Comissão de Controle de Infecção Hospitalar do Hospital Ana Nery pelo apoio, em especial à Enf^a Fabiane Fengler.

Aos meus colegas de consultório, Claus D. Dummer, Cynthia Caetano e Telmo T. T. F. Lima.

Aos colegas infectologistas do Hospital Universitário de Santa Maria (UFSM), Alexandre V. Schwarzbold, Jane M. Costa, Maria de Lourdes Giacomini, e Sandra Inês Knudsen.

Aos colegas professores do Curso de Medicina da UNISC, com os quais tenho aprendido a aperfeiçoar meu lado acadêmico.

Aos meus pais, José e Valmira, irmãos (Valéria, Marciano e Jaqueline) e sobrinhos (Estéfane e Lucas) por fazerem parte de minha vida.

Aos meus sogros, Avelino e Maria de Lourdes, por serem companheiros em todas as horas.

A minha esposa, Luciana Basso, meu especial agradecimento e amor, por acreditar em meu potencial e entender as minhas ausências, permanecendo comigo nas situações complicadas, ensinando-me a superá-las!

A meu filho, mais uma razão para a minha vida.

CARNEIRO, Marcelo. ***Acinetobacter baumannii* multirresistente em pneumonia associada à ventilação mecânica.** 2007. 99f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2007.

RESUMO

Introdução: A falta de aderência às boas práticas de controle de infecção hospitalar ocasiona a emergência e disseminação de *Acinetobacter baumannii* multirresistente, sendo um dos motivos do limitado arsenal terapêutico disponível em pneumonias associadas à ventilação mecânica.

Objetivo: Analisar, através do ERIC-PCR, as cepas de *A. baumannii* do Hospital Universitário de Londrina, Paraná, Brasil.

Métodos: O ERIC-PCR foi utilizado para analisar um surto de pneumonia associada à ventilação mecânica causado por *A. baumannii*, no período de 2003 a 2005, no Hospital Universitário de Londrina, Brasil.

Resultados: De um total de 17 amostras biológicas traqueais e 12 ambientais foram encontradas duas cepas predominantes com perfil de multirresistência à drogas antimicrobianas. A sensibilidade foi verificada somente à polimixina B (100%) e à tigeciclina (100%). A pesquisa de metalo- β -lactamase foi negativa em todas as amostras analisadas. Pela análise do dendrograma por ERIC-PCR percebeu-se a predominância de dois agrupamentos com 100% de similaridade entre si e de 60% entre os dois grupos.

Conclusões: A pesquisa negativa de metalo- β -lactamases determinou a existência de outros mecanismos de resistência aos carbapenems. A definição molecular de clones com alta resistência é de importância para o controle microbiológico de unidades de tratamento intensivo adulto. A utilização de ERIC-PCR é de fácil e rápida execução, facilitando a tomada de condutas pelas equipes de controle de infecção hospitalar, bem como, possibilitando definir que a transmissão cruzada pelas mãos dos profissionais de saúde contribuiu para a disseminação e pneumonias por *A. baumannii* multirresistente.

Palavras-chaves: *Acinetobacter baumannii* multirresistente. Surto hospitalar. pneumonia associada à ventilação; ERIC-PCR

CARNEIRO, Marcelo. **Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in ventilator-associated pneumonia**. 2007. 99f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2007.

ABSTRACT

Introduction: The not adherence to good infection control practices promotes the spread of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* strains.

Methods: The ERIC-PCR was used to describe and retrospective survey of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia outbreak in a Londrina University Hospital, Brazil, from 2003 to 2005.

Results: Among 17 isolates recovered from the patients and 12 isolates the environmental, the molecular typing confirmed that 2 clones were the cause of outbreak and they were susceptible only to colistin (100%) and tigeciclin (90%).

Conclusion: The molecular typing based in ERIC-PCR possibilited to define the cross transmission contributed to the multi-resistant *Acinetobacter baumannii* outbreak which increased the mortality and the costs.

Key-words: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Outbreak. Ventilation-associated pneumonia. ERIC-PCR

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Fatores de risco que interferem nos mecanismos de defesa dos indivíduos, favorecendo o desenvolvimento da PH	17
TABELA 2 – Fatores de risco para PAV	21
TABELA 3 – Fatores de risco que predispõem aos principais agentes etiológicos específicos relacionados à PH.....	27
TABELA 4 – Causas não infecciosas que simulam PAV.....	32
TABELA 5 – Critérios diagnósticos para PAV	33
TABELA 6 – Valores de referência de culturas quantitativas de secreção do trato respiratório inferior para o diagnóstico de PAV	37

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Classificação da PAV conforme o tempo de intubação.....	19
FIGURA 2 – Interação do tubo endotraqueal com as estruturas do sistema respiratório.....	24
FIGURA 3 – Fisiopatogênese da PAV	26

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 PNEUMONIA HOSPITALAR (PH)	16
2.2 PNEUMONIA ASSOCIADA À VENTILAÇÃO (PAV).....	18
2.2.1 Conceito e Epidemiologia.....	18
2.2.2 Fisiopatogênese	20
2.2.3 Bacteriologia.....	27
2.2.4 Resistência a antimicrobianos em <i>Acinetobacter spp</i>	29
2.2.5 Diagnóstico.....	31
2.2.6 Tratamento.....	38
3 OBJETIVOS	40
3.1 OBJETIVOS GERAIS.....	40
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	40
4 ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA	41
REFERÊNCIAS	42
ANEXOS	59

1 INTRODUÇÃO

As Infecções Hospitalares (IH) são consideradas as infecções adquiridas no decorrer ou em consequência da hospitalização. Elas contribuem, basicamente, para o aumento das taxas de morbidade e mortalidade, do tempo de internação, dos custos e de bactérias resistentes. Todo este contexto culmina com o progresso da medicina e a introdução de novos materiais e procedimentos invasivos, rompendo as barreiras de defesas naturais. A prevenção e o controle destas infecções ficam sob a responsabilidade da Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH), órgão composto por membros consultores e executores, designados pela direção do hospital (FAR et al. 2001b; KIM et al. 2000; BRASIL, 1998).

Um surto de IH é definido como a ocorrência de dois ou mais casos de uma mesma doença relacionados entre si, numa mesma área e num mesmo período de tempo. Notificar e investigar é relevante para a recomendação de medidas de prevenção e tratamento, evitando a disseminação e controle de doenças com a minimização das consequências mais graves (ANVISA, 2003).

O Ministério da Saúde do Brasil dispõe de leis e portarias que normatizam o controle das IH desde 1992. A portaria 2.616 define como IH aquela adquirida após a admissão do paciente e que se manifesta durante a internação ou após a alta, quando puder ser relacionada à internação ou procedimentos hospitalares. O conceito é amplo e generalista (BRASIL, 1992; BRASIL, 1998).

No Brasil, conforme dados do Projeto Diretrizes, estima-se que 5% a 15% dos pacientes internados contraem alguma IH. Os índices são maiores na região sudeste com 16,4%, seguida da nordeste com 13,1%, norte com 11,5%, sul com 9,0% e centro-oeste com 7,2% (ANVISA, 2003a).

O controle das IH persiste como problema desafiador devido ao número crescente de pacientes imunodeprimidos, surgimento de microrganismos resistentes, de infecções fúngicas e de novos procedimentos e dispositivos invasivos (BURKE, 2003). Os doentes imunodeprimidos são mais vulneráveis a infecções adquiridas em ambiente hospitalar, principalmente, por microrganismos resistentes (PADOVEZE, 2002)

A epidemiologia das IH varia, consideravelmente, de acordo com o padrão do hospital e a unidade avaliada. A ocorrência de uma IH não é fato indicador de que o hospital foi o responsável ou cometeu um "erro" na assistência ao paciente, pois as medidas preventivas atuais ainda não são capazes de impedir a ocorrência de muitas delas. A responsabilidade médico-legal acontecerá quando for possível demonstrar que algum profissional do hospital foi negligente ou não aderiu aos padrões e normas de assistência preconizadas.

Os pacientes em Unidade de Tratamento Intensivo (UTI) estão suscetíveis à sua própria microbiota, a do ambiente hospitalar, e ainda, expostos a inúmeros procedimentos e medicações, especialmente, antimicrobianos (ZANON, 1998).

O ambiente hospitalar pode ser classificado em animado e inanimado. O animado é composto pelo pessoal hospitalar, pacientes e familiares. Os dois primeiros contaminam o ambiente hospitalar, sendo a equipe de saúde uma das responsáveis pela propagação de microrganismos por intermédio das mãos. O ambiente hospitalar inanimado, conceitualmente, refere-se ao espaço físico, ou seja, pisos, paredes, mobiliários, equipamentos e o ar que é considerado um reservatório, muitas vezes negligenciado como fonte de infecção hospitalar (ZANON, 1998; PEREIRA, 1991).

Mundialmente, as IH de maior frequência são as de trato respiratório, urinário e as de sítio cirúrgico. No Hospital Universitário de Londrina (HUL), Paraná, estes resultados também são encontrados, com variações, conforme o período analisado. Quando restritas às infecções adquiridas na UTI para adultos, as pneumonias são as mais prevalentes. No entanto, é importante a distinção entre a Pneumonia Hospitalar (PH) e a Pneumonia Associada à Ventilação (PAV), pois são diferentes em vários aspectos, mas, especialmente em relação ao tratamento e prognóstico (COLLARD et al. 2003; RÖDING et al. 2001; HEYLAND et al. 1999b).

Quantificar o impacto da resistência aos antimicrobianos é extremamente difícil, sendo um dos aspectos de maior relevância no controle das IH (DRUSANO, 2003; FAR et al. 2001a). As opções terapêuticas das infecções por microrganismos resistentes são menores e exigem o uso de antimicrobianos com

custos mais elevados (MCGOWAN, 2001).

Frente a este contexto, o especialista em infectologia é o profissional mais capacitado para realizar um trabalho de conscientização e controle das IH (PETRAK et al. 2003). Uma das medidas indispensáveis é a prática da racionalização dos antimicrobianos, que beneficia o paciente, minimiza a colonização, seleção e indução de resistência e diminui os custos hospitalares (SING et al. 2000; SING; YU, 2000; MCGOWAN, 1994).

Dos bacilos gram-negativos não-fermentadores, as espécies de *Acinetobacter*, são bactérias aeróbias, não esporuladas, que se caracterizam por não utilizarem carboidrato como fonte de energia. Estes microrganismos são capazes de persistirem em ambientes hospitalares por longos períodos. Apresentam a vantagem de adaptar-se facilmente ao meio ambiente devido à sua escassa exigência nutricional e à manifestação de fatores de virulência (p.ex., cápsula, adesinas, sideróforos). São importantes agentes causadores de infecções, em doentes de UTI, e, geralmente, associados a infecções do trato respiratório inferior (WEBSTER et al. 1998).

O mecanismo de resistência em *A. baumannii* ocorre por produção de β -lactamases, produção de enzimas modificadoras de antimicrobianos, alteração do sítio de ação do antimicrobiano, diminuição da permeabilidade e modificação de proteínas ligadoras de penicilina, alteração da membrana externa (SADER et al. 1998; TROILLET et al. 1997; VILA et al. 1993; OBARA e NAKAE, 1991).

A utilização de métodos de tipagem molecular é justificada pela diversidade existente dentro de uma espécie bacteriana, classificando o microrganismo em diferentes cepas. Esta diferenciação é importante no reconhecimento dos surtos, na detecção de patógenos hospitalares, na determinação da fonte de infecção e no reconhecimento de cepas virulentas (BRAUN, 2002; OLIVE e BEAN, 1999)

A pneumonia associada à ventilação mecânica causada por *A. baumannii* multiresistente (AbMR) está envolvida num contexto problemático mundial e associada com um aumento da morbidade e mortalidade. Diversos países enfrentam situações de surtos em UTIs e a CCIH de cada hospital precisa providenciar pistas epidemiológicas para que medidas de controle e uma terapêutica apropriada sejam realizadas, apesar de poucas opções do mercado de antimicrobianos (GONÇALVES et

al 2000; GALES et al 2003; MARAIS et al 2003). A utilização de tipagem molecular, para a investigação de surtos intra-hospitalares, favorece a descoberta das diferentes cepas e distinção entre elas, bem como evidências para o controle preventivo (PFALLER et al 2001; MARAIS et al 2003).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PNEUMONIA HOSPITALAR (PH)

A pneumonia é uma causa infecciosa importante de morbidade e, conseqüentemente, de mortalidade em virtude da freqüência e gravidade das manifestações clínicas.

A PH é uma infecção do parênquima pulmonar, ocorrendo com mais de 48 horas e sem estar incubada à admissão hospitalar. Esse intervalo pode ser menor quando são utilizados procedimentos invasivos como ventilação mecânica (EWIG et al. 2002; CARRILHO, 1998; CDC, 1997). Estão entre as duas mais freqüentes infecções adquiridas em hospital, sendo a primeira em UTIs com as maiores taxas de morbidade e mortalidade (LYNCH, 2001b; MACHADO et al. 2001).

As estratégias diagnósticas para PH são limitadas, pois são fundamentadas em observações clínicas, resultados de exames complementares inespecíficos (hemograma, provas inflamatórias, radiologia e tomografia) e específicas (cultura de escarro e biópsia pulmonar). A limitação aumenta quando a pneumonia é associada à ventilação mecânica e, nesta situação, o tratamento empírico torna-se uma necessidade, com efeitos positivos e negativos.

Diversos estudos demonstraram quais os fatores de risco que indivíduos apresentam ou a quais são submetidos, favorecendo o desenvolvimento de PH. As defesas do hospedeiro são fatores importantes na fisiopatogenia da PH, existindo diversos fatores que interferem diminuindo ou impedindo esta proteção, conforme demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1 – Fatores de risco que interferem nos mecanismos de defesa dos indivíduos, favorecendo o desenvolvimento da PH

Fatores que interferem nas defesas do hospedeiro:

Doença sistêmica crônica (doenças cardiovasculares, pneumopatias crônicas, doenças neurológicas, diabetes, alcoolismo, Aids)
 Erros nutricionais (obesidade, subnutrição, desnutrição)
 Hospitalização prolongada
 Tabagismo
 Intubação endotraqueal
 Idade avançada
 Terapia com corticosteróides
 Antibioticoterapia
 Cirurgia prolongada
 Sepses
 Infecção extrapulmonar
 Lesão pulmonar aguda

Fonte: COLLARD et al. 2003; PAWAR et al. 2003; VINCENT, 2003; PADOVEZE et al. 2002; LYNCH, 2001a; MACHADO, 2000; BYERS; SOLE, 2000; MOREHEAD; PINTO, 2000; FRIDKIN et al. 1999.

De acordo com os dados do *National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System* (2002), a PH, nos EUA, ocorre em aproximadamente 15% de todas as IH, sendo a segunda maior causa e 27% das adquiridas em UTI clínica. A taxa de mortalidade varia de 20-33%, cuja frequência pode aumentar para 60% se atribuída à ventilação mecânica.

Segundo dados do Consenso Latino-Americano de Pneumonia (1999), a taxa de incidência, em 1999, de PH é de 5-22 casos/1000 altas hospitalares com uma mortalidade de 24-58%. No HUL (2002), a incidência de PH global, no ano de 2002, foi de 47,6% de todas as IH, perfazendo a taxa de 3,4 casos/1000 pacientes-dia.

A PAV representa uma complicação freqüente neste tipo de terapia respiratória (KOLLEF, 1999). O diagnóstico, a emergência da resistência microbiana e a prevenção continuam representando grandes desafios a serem enfrentados pelas equipes hospitalar de saúde.

2.2 PNEUMONIA ASSOCIADA À VENTILAÇÃO (PAV)

2.2.1 Conceito e Epidemiologia

A PAV é a PH que ocorre 48 horas após a intubação endotraqueal (ou por traqueostomia) e ventilação mecânica (VM), associada a evidências de novo ou progressivo infiltrado pulmonar na radiografia de tórax, temperatura corpórea maior do que 38° C, leucocitose e secreção traqueal purulenta após a intubação (MAYHALL, 2001; MOREHEAD; PINTO, 2000; GEORGES et al. 2000). O conceito é simplista em vista da grande dificuldade prática em estabelecer o diagnóstico. É considerada a IH mais freqüente em UTI, aumentando as taxas de mortalidade e a indicação de antimicrobianos (VINCENT et al. 1995).

O tempo de início da pneumonia após a hospitalização tem influência para definir o agente etiológico da pneumonia. O racional é que, quanto maior o tempo, maior a probabilidade de bactérias resistentes serem a causa da infecção. Considerando esta afirmação, o tempo após a admissão hospitalar parece ser mais relevante que o tempo de intubação, como fator de risco para colonização e aquisição de uma PAV (SING et al, 2000).

A PAV precoce ocorre dentro de quatro dias de intubação e, usualmente, é causada por patógenos comuns do trato respiratório ou microbiota normal da orofaringe. A PAV tardia desenvolve-se após cinco dias de intubação, sendo causada por bactérias gram-negativas e *Staphylococcus aureus* hospitalares (EWIG et al 2000). A Figura 1 demonstra a classificação da PAV conforme o tempo de intubação.

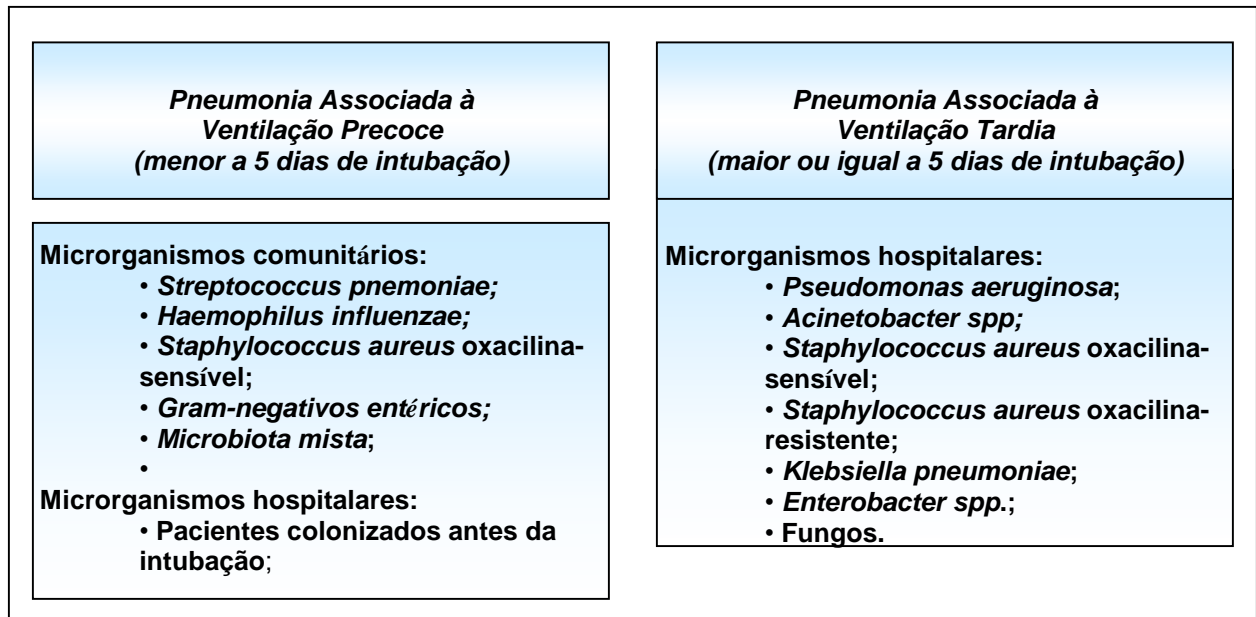


Figura 1 – Classificação da PAV conforme o tempo de intubação

A incidência de PAV varia de acordo com a população observada. No estudo NNIS (2002), a taxa de PAV variou de 2,4-14,7 casos/1000 ventiladores - dia, dependendo do tipo de UTI em 2002. As taxas são maiores em UTI cirúrgicas se comparadas com as médicas. No estudo de Kollef (1999), a prevalência de PAV foi de 21,6% dos pacientes da cirurgia cardiotorácica, 14% da cirurgia geral e 9,3% dos pacientes clínicos.

A ventilação mecânica (VM) prolongada (maior que 48 horas) é o fator de risco mais importante, favorecendo a infecção em 9-40% dos casos (CRAVEN, 2000).

No estudo Multicêntrico Europeu (*European Prevalence of Infection in Intensive Care* - EPIC) verificou-se que a PAV foi responsável por 45% de todas as infecções adquiridas nas UTI da Europa. A mortalidade associada variou de 24% a 71% (VINCENT et al. 1995; RÖDING et al. 2001).

Segundo dados do Consenso Latino-Americano de Pneumonias (1999), a incidência de PAV, em 1999, foi de 130-326 casos/1000 altas da UTI e de mortalidade de 22-75%.

Os dados referentes à PAV, no Brasil, são controversos, principalmente, por falta de uma metodologia diagnóstica apurada. No HUL a taxa de PAV foi de 11,4 casos/1000 ventiladores - dia, no período de um ano (GRION et al. 2003).

Durante a assistência ventilatória prolongada, pode ocorrer mais de um episódio de PAV (ESTEBAN; ALÍA, 1998), aumentando a incidência de mortalidade. O risco acumulado de desenvolver PAV é de ~ 1% por dia de ventilação mecânica (PATEL et al. 2002; COOK et al. 1998).

A mortalidade da PAV é influenciada por fatores do hospedeiro, virulência do patógeno e terapia antimicrobiana inicial. Conforme estudos de Fagon et al (1993) e corroborado por Kollef et al (1995), o agente etiológico contribui na mortalidade, podendo chegar a 87% se a bactéria responsável pela PAV for *P. aeruginosa* ou *A. baumannii*.

2.2.2 Fisiopatogênese

A maioria das infecções é resultado do desequilíbrio entre agente infeccioso e as defesas do hospedeiro. Isso pode acontecer quando um patógeno é tão virulento que não pode ser contido pelos mecanismos de defesa efetivos do hospedeiro ou encontram-se debilitados, durante a hospitalização, explicando as pneumonias com patógenos não virulentos. A redução da eficiência das defesas pode ser explicada por condições causadas pela doença de base, pela invasão de microrganismos ultrapassando as barreiras naturais e ainda por alterações ocasionadas pela terapêutica empregada (VINCENT, 2003; KOEMAN et al. 2001; KWIATKOWSKI, 2000).

A patogênese da PAV requer colonização bacteriana do trato aerodigestivo e a aspiração de secreções contaminadas para as vias aéreas inferiores (AMERICAN THORACIC SOCIETY, 1995).

Em relação à exposição do trato respiratório há procedimentos ou situações que favorecem a inoculação de microrganismos e predisõem a PAV como

ilustra a Tabela 2.

Tabela 2 – Fatores de risco para PAV

Fatores de risco associados com o desenvolvimento de PAV

Relacionados ao paciente

Aspiração
 Doença pulmonar crônica
 Falência de múltiplos órgãos
 Idade > 80 anos
 Coma
 Síndrome da angústia respiratória do adulto
 Traumatismo craniano
 Sexo masculino

Relacionados ao tratamento

Cateter de pressão intracraniana
 Reintubação
 Ventilação mecânica >3 dias
 Antimicrobianos
 Posição supina
 Nutrição enteral
 Aspiração subglótica
 Pressão *intracuff* < 20 cm H₂O
 Neurocirurgia
 Transporte para fora da UTI
 Traqueostomia

Fonte: BONTEN, 2002

Os mecanismos de defesa do trato respiratório são classificados em mecânicos, funcionais e imunológicos. A ação dos mesmos se inicia nas vias aerodigestivas superiores com a salivação (enzimas) e a microbiota normal da orofaringe (*Streptococcus viridans* e anaeróbios) que inibem o crescimento de microrganismos gram-negativos (KOLLEF, 1999). A nasofaringe filtra partículas maiores de 10 µ e umidifica o ar. O epitélio respiratório é mucociliado e executa uma limpeza mecânica de partículas que variam de 5 µ a 10 µ, sendo que os reflexos de espirro e tosse removem-nas antes que invadam o trato respiratório inferior (CDC, 1997).

Nos pulmões, as defesas imunológicas inespecíficas (leucócitos polimorfonucleares, macrófagos alveolares, fatores humorais, complemento, citocinas e linfocinas) e específicas (linfócitos B e T) atuam de modo a evitar o processo infeccioso. Os fatores genéticos explicam, pelo menos em parte, porque algumas pessoas são mais resistentes às infecções do que as outras (KWIATKOWSKI, 2000).

De acordo com informações do CDC (2003a), a adesão bacteriana pode ser afetada por fatores relacionados às bactérias (presença de fímbrias, cápsula ou produção de elastase ou mucinase), às células do hospedeiro (superfície de proteína e polissacarídeos), ao hospedeiro (má-nutrição, pós-operatório, doença grave) e ao meio (pH e presença de mucina na secreção respiratória). A fibronectina é uma glicoproteína encontrada nas células epiteliais da cavidade oral e é sensível à ação das proteases e elastases da saliva. Sua ação inibe a aderência dos bacilos gram-negativos a estas células e facilita a fixação das bactérias gram-positivas; portanto, células ricas em fibronectina são colonizadas por bactérias gram-positivas e com pouca quantidade dessa glicoproteína são colonizadas por bactérias gram-negativas (MANDELL; CAMPBELL, 1998; GREENE, 1996). Portanto, as defesas do hospedeiro, a microbiota da orofaringe e a utilização de antimicrobianos interferem, qualitativa e quantitativamente, na colonização do hospedeiro.

A mudança da colonização bacteriana é universal em pacientes sob ventilação mecânica. Várias situações poderão ocasionar esta alteração, modificando a microbiota do hospedeiro suscetível. Como fatores exógenos estão os procedimentos invasivos, mãos dos profissionais de saúde e antimicrobianos de largo espectro e, como fatores relacionados ao indivíduo, encontram-se a desnutrição, idade avançada, alteração do nível de consciência, distúrbios da deglutição e doenças pulmonares e/ou sistêmicas subjacentes. A colonização bacteriana é um equilíbrio dinâmico entre os mecanismos de defesa do hospedeiro e a capacidade de invasão do microrganismo. Em muitos indivíduos, as defesas evitam a invasão bacteriana, mas são incapazes para erradicá-las completamente. (KOEMAN et al. 2001; GREENE, 1996).

A predisposição da colonização do trato respiratório é facilitada por alteração dos mecanismos de proteção do indivíduo associada ao dano da mucosa, causado pela intubação e persistência do tubo traqueal e alterações intrínsecas do indivíduo.

A orofaringe e a traquéia, em 48-72 horas após a hospitalização, evidenciam diferenças na microbiota, estando colonizadas por bacilos aeróbios gram-negativos hospitalares (EWIG et al. 1999). Todos os mecanismos facilitadores da colonização da orofaringe continuam controversos (KOEMAN et al. 2001).

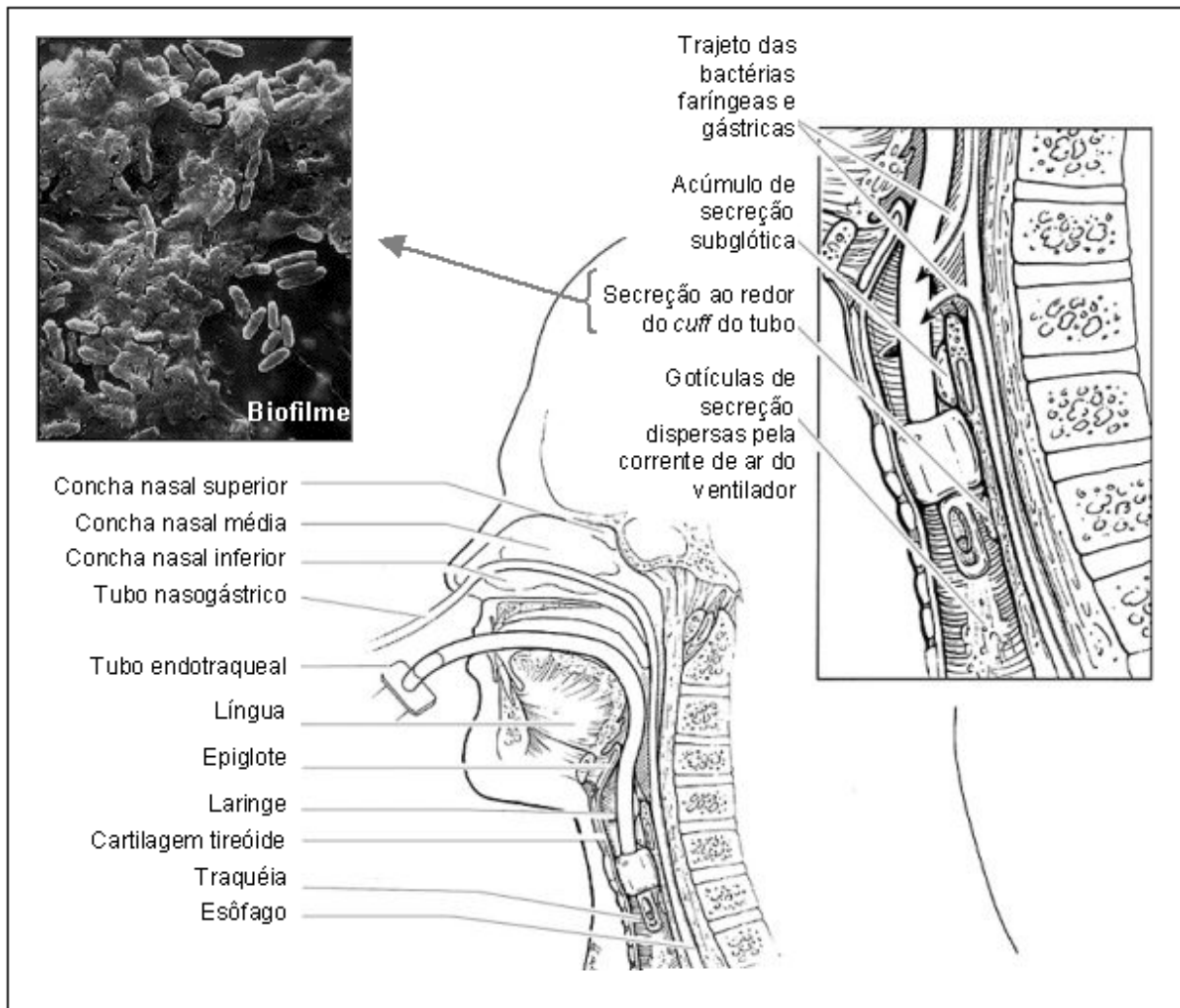
A aspiração de secreções de vias aéreas superiores, fator mais importante e comum, ocorre em pequena quantidade nos indivíduos normais durante o sono. A frequência e o volume da aspiração estão aumentados nos indivíduos com nível de consciência diminuído, ou seja, se a orofaringe estiver colonizada predominantemente com bactérias anaeróbias, pequenas aspirações já são de importância. Já foi demonstrado que o controle da quantidade de secreção de orofaringe e drenagem subglótica intermitente com manutenção e o monitoramento rotineiro da pressão *intracuff* (20 cm H₂O) são relevantes para prevenção de PAV (SMULDERS et al. 2002; IREGUI, 2002b). Em contrapartida, em um estudo com pacientes intubados, nas primeiras 48 horas, a drenagem subglótica não foi suficiente para prevenir PAV (RELLO et al. 1999a).

O acúmulo e posterior extravasamento de bactérias ao redor do *cuff* do tubo endotraqueal, das veiculadas por nebulizadores, material condensado nos circuitos e aspiradas pela mobilização do paciente, podem facilitar a ocorrência de PAV. A velocidade de formação de materiais condensados depende da diferença de temperatura entre o ar da fase inspiratória e a temperatura ambiente, dessa forma a sua formação é diminuída em circuitos aquecidos (ANVISA, 2003b) A concentração de microrganismos em condensados de circuitos do respirador, à temperatura ambiente, é de 2×10^5 ufc/ml após 24 horas, podendo chegar até 10^9 ufc/ml. Cerca de 33% dos circuitos ventilatórios contaminam-se com a microbiota da orofaringe do paciente após duas horas de uso, 64% dentro de 12 horas e 80% no final de 24 horas. Estratégias rotineiras para drenagem do condensado dos circuitos do ventilador, especialmente, antes da mudança de decúbito do paciente devem ser incentivadas (KOLLEF, 1999).

Conforme Costerton et al. (1999), biofilme é uma estrutura comunitária de bactérias que produzem uma matriz polimérica, aderindo através de adesinas, a uma superfície inerte (abiótica) ou viva (biótica). Carpentier e Cerf (1993), conceituam como sendo uma comunidade de microrganismos mergulhados em uma matriz orgânica, aderidas a uma superfície. Portanto, o biofilme é composto por microrganismos, glicocálix e uma superfície (DUNNE, 2002). O agrupamento de microrganismos e o *quorum sensing*, isto é, ações coordenadas através de uma “linguagem” química, modificam características individuais em favorecimento do grupo, tornando-se mais

resistentes, por exemplo, a ação de antimicrobianos sensíveis *in vitro* (PRINCE, 2002; CÁMARA et al. 2002).

A Figura 3 demonstra a interação do tubo endotraqueal com as estruturas do sistema respiratório, alterando os mecanismos de defesa.



Fonte: DOCKEERY; KEENER, 2001; MOREHEAD; PINTO, 2000

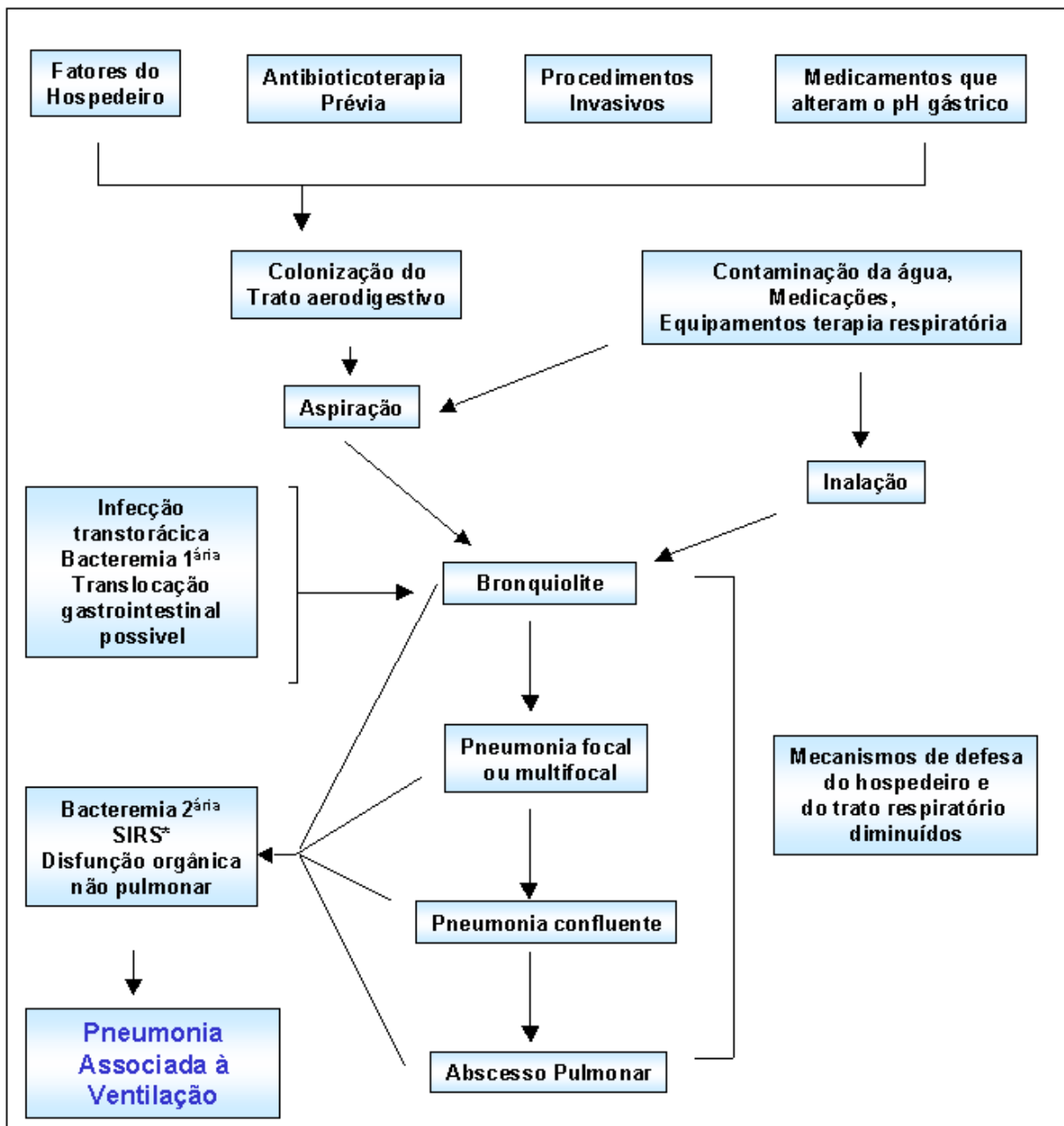
Figura 2 – Interação do tubo endotraqueal com as estruturas do sistema respiratório

A colonização gástrica não é o fator predominante envolvido em casos de pneumonia (MANDELL; CAMPBELL, 1998). Acredita-se que a mesma influencie no surgimento da PH devido à colonização retrógrada da orofaringe e hipóteses

controversas sugerem que mudanças no pH do estômago estariam relacionadas com PAV (RUMBACK, 2002). A acidez do suco gástrico tem ação bactericida ($\text{pH} < 2$) e, conseqüentemente, controla o crescimento de microrganismos, diminuindo a sua colonização. O crescimento bacteriano no estômago aumenta quando o pH gástrico aumenta ($\text{pH} \geq 4$), principalmente com o uso de bloqueadores H_2 , bloqueadores de bomba e antiácidos. Pacientes desnutridos, idosos, com acloridria e recebendo infusão contínua de dieta enteral estão sob risco (SAFDAR, 2002). Messori et al (2000), em uma revisão sistemática com meta-análise comparando sucralfato e ranitidina demonstraram baixo efeito protetor do sucralfato na incidência de PAV.

O relato de aspirações ocorre na presença de cateteres nasogástricos, alteração do nível de consciência, diminuição do reflexo do vômito ou esvaziamento gástrico demorado, tubo oro/nasotraqueal e cabeceira abaixo de 45° . A associação de UTI, sedação contínua e ventilação mecânica aumenta todos os riscos (KOEMAN, et al. 2001).

Em resumo, o mecanismo responsável pela PH é a colonização do trato respiratório superior (orofaringe e traquéia) com microrganismos patogênicos (gram negativos hospitalares multiresistentes), inoculada nos pulmões por microaspirações subclínicas (KOLLEF, 1999). A Figura 2 sintetiza a fisiopatogênese da PAV.



*SIRS = Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica

Fonte: Adaptação de KOLLEF, 1999

Figura 3 – Fisiopatogênese da PAV

Aproximadamente 90% dos pacientes internados em UTI estão sob VM, sendo que 40% do tempo em VM é dispensado para o processo do desmame (MEADE et al. 2001; ESTEBAN; ALÍA, 1998). O conhecimento dos fatores predisponentes à

infecção acarretará um esforço constante de prevenção e identificação precoce dos pacientes aptos para descontinuação da VM, podendo contribuir para diminuição dos riscos da PAV (ELY et al. 2001).

2.2.3 Bacteriologia

Os microrganismos podem ser inoculados para os pulmões através de aspiração de secreções orofaríngeas, de inalação de microrganismos transportados pelo ar, de bacteremia e de extensão direta para os pulmões (DAVID, 2000).

A via principal de entrada de patógenos no trato respiratório inferior são as microaspirações de secreções de vias aéreas superiores. Desta forma o agente etiológico de uma PH dependerá do tipo de colonização encontrada nestes locais (KOLLEF, 1999). A etiologia pode variar de acordo com o tempo de internação, o tempo de ventilação mecânica, o estado imune do indivíduo e os procedimentos realizados como principais fatores (Tabela 3).

Tabela 3 – Fatores de risco que predisõem aos principais agentes etiológicos específicos relacionados à PH

Staphylococcus aureus

Ventilação mecânica, uso prévio de antimicrobianos, coma, TCE grave, Influenza recente, uso de drogas injetáveis, diabetes mellitus, insuficiência renal;

Pseudomonas aeruginosa

Ventilação mecânica, permanência prolongada na UTI ou hospital, uso de corticóides, uso prévio de antimicrobianos, doença pulmonar estrutural, desnutrição;

Acinetobacter spp.

Uso prévio de antimicrobianos, ventilação mecânica, permanência prolongada na UTI;

Anaeróbios

Aspiração maciça, cirurgia abdominal;

Legionella spp.

Altas doses de corticóides, ventilação mecânica;

Enterobacter spp., Klebsiella spp., Serratia spp., Escherichia coli, Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae

Pneumonia leve a moderada sem fatores de risco, início a qualquer tempo

As bactérias do gênero *Acinetobacter* são definidas como bacilos curtos, gram-negativos, aeróbios estritos e não esporulam. São de distribuição ubíqua, estando presente em uma grande variedade de locais. Pode permanecer viável em superfícies secas por até 60 horas, e em materiais como PVC, cerâmica, borracha e aço por mais de 4 meses. Apresentam metabolismo oxidativo, não fermentativo e crescem bem em 33 a 35° em meios de rotina laboratorial. Apresentam a capacidade de permanecerem em crescimento a temperaturas acima de 40°, que pode ser utilizada na diferenciação das espécies. Os testes de oxidase é negativo e da catalase é positiva (BOVRE, 1984).

A utilização de um sistema padronizado para a identificação de bacilos Gram-negativos não enterobactérias é importante para a confirmação da espécie.

A tipagem molecular é uma caracterização mais minuciosa da bactéria que utiliza a similaridade genética entre as cepas isoladas de uma mesma espécie, o que a torna de grande utilidade para o entendimento e investigação de surtos hospitalares (PFALLER, M A. et al, 2001). Essa qualidade se torna importante quando as cepas expressam resistência aos antimicrobianos de relevância clínica, contribuindo para a determinação da existência de clones predominantes no ambiente.

As técnicas baseadas na reação em cadeia da polimerase - PCR (*polymerase chain reaction*) são consideradas metodologia simples, rápida e flexível, ou seja, a amplificação de uma seqüência específica de DNA, que visa a produção de milhões de cópias desta seqüência. Versalovic e colaboradores (1991) descreveram um método que utiliza a técnica PCR para tipagem molecular, baseando-se na amplificação de seqüências repetitivas do DNA bacteriano denominadas de REP (*repetitive extragenic palindromic*) e ERIC (*enterobacterial repetitive intergenic concensus*). Silbert et al (2005) demonstrou que essas técnicas são bem correlacionadas para *A. baumannii* comparando com os resultados obtidos por eletroforese em campo pulsado alternado (*pulsed-field gel electrophoresis* - PFGE).

2.2.4 Resistência a antimicrobianos em *Acinetobacter spp*

Desde sua descoberta, os antimicrobianos têm provido um notável controle das infecções bacterianas. Contudo, é evidenciado o aumento da resistência às drogas, especialmente, em pacientes internados em UTIs (DRUSANO, 2003; SAFDAR; MAKI, 2002).

A resistência aos antimicrobianos é complexa e dinâmica e, dessa forma, quantificar o seu impacto é extremamente difícil. A prevenção da resistência emergente e da disseminação de microrganismos resistentes é um dos objetivos primordiais da CCIH. Os métodos preventivos, como um controle rigoroso das IH, podem reduzir a velocidade de expansão da resistência (GUILLEMOT et al. 2002).

Inicialmente, o problema da resistência bacteriana foi, parcialmente, solucionado pela descoberta de novas classes de antimicrobianos e modificações químicas dos existentes. Atualmente, não existe segurança quanto ao fato de que novos antibióticos sejam lançados e que os mesmos possam bloquear o ritmo de desenvolvimento de resistência (GOLD; MOELLERING, 1996).

A manifestação de resistência aos antimicrobianos é uma consequência inevitável do uso clínico desses medicamentos, sendo um fenômeno biológico natural e evolutivo que é ampliado, tornando-se um problema de saúde pública devido ao abuso e à negligência da comunidade médica (COOKSON, 2000).

A resistência antimicrobiana desenvolve-se por diversos mecanismos e o entendimento de como este processo acontece é de grande importância para a síntese de novas drogas e para tomada de decisões a fim de diminuir o seu aparecimento. São descritas seis maneiras através das quais as bactérias resistentes surgem e se disseminam (ANVISA, 2003b):

- a) introdução por pacientes, por profissionais ou por produtos comerciais contaminados, de organismos resistentes, procedentes da comunidade ou de outra instituição;
- b) aquisição de resistência por mutação genética de cepas previamente susceptíveis;

- c) aquisição de resistência através de material genético transferível;
- d) seleção de subpopulações resistentes;
- e) emergência de resistência induzível já presente em algumas cepas na população pelo uso inadequado de antimicrobianos.

É de relevância ressaltar que cada hospital desenvolve o seu padrão característico de resistência aos antimicrobianos. Por este motivo, a determinação de padrões de sensibilidade dos microrganismos em nível internacional, nacional e local, tem importância pertinente na condução da terapêutica empírica apropriada, devendo ser pesquisada regularmente (SHLAES et al. 1997).

A resistência nos hospitais, particularmente nas UTIs, faz com que 20-60% das IH sejam causadas por microrganismos resistentes aos antimicrobianos, aumentando morbidade, mortalidade e custos hospitalares com tempo de internação, equipe médica e de enfermagem, exames de controle e medicações (CAVASSIN, 2002; KOLLEF; FRASER, 2001).

As taxas de resistência são influenciadas pelo tipo e dimensão do hospital, tipo de unidade, perfil dos antimicrobianos usados e uso adequado ou inadequado desses antimicrobianos (LYNCH, 2001b). O uso de antimicrobianos poderá, independente do uso correto, levar à emergência de microrganismos resistentes bem como à disseminação de resistência (EGGIMANN; PITTET; 2001b). Esta resistência poderá ocorrer durante o tratamento e deverá ser observada quando o paciente evolui para falência do mesmo, necessitando de um tempo mais prolongado para recuperação, exposição a outros agentes com potencial aumentado de toxicidade e elevação do custo do tratamento. O uso prévio de antimicrobianos, particularmente, os de amplo espectro (carbapenens), é um fator de risco para colonização e infecção por *Acinetobacter spp.* e favorece o aumento da mortalidade (30-50%), selecionando os microrganismos (LYNCH, 2001a; PATTERSON, 2001).

Acinetobacter spp. tem sido um problema na América Latina, sendo o terceiro em prevalência (JONES, 2001; SADER et al. 2000).

A evolução da resistência aos antimicrobianos iniciou na década de setenta, especialmente, as penicilinas, cefalosporinas e aminoglicosídeos (GARCIA, 1983). Atualmente, em muitos hospitais, surtos com cepas sensíveis apenas a colistina

e tigeciclina, com resistência inclusive a carbapenems são bem documentados (GONÇALVES et al 2000; MARAIS et al. 2003; TURTON et al 2004; JEONG et al 2006).

Nem todos os mecanismos de resistência aos antimicrobianos são conhecidos. Entender os principais meios de resistência é de importância clínica para o infectologista, especialmente, aqueles responsáveis pela não eficácia aos principais antimicrobianos de utilidade terapêutica. A resistência aos β -lactâmicos, principalmente, aos carbapenems, através da produção de metalo- β -lactamases e das carbapenemases é o problema mais temido pelas CCIH. Os genes que codificam essas enzimas podem ser cromossômicos e plasmidiais (BUSH, 1998). Essas β -lactamases possuem íons zinco em seu sítio ativo e dependem deste elemento para realização de sua atividade catalítica. A utilização de inibidores de β -lactamases (sulbactam, tazobactam e ácido clavulânico) não inibem esta enzima. A detecção em laboratório é realizada através da utilização de agentes quelantes (EDTA e ácido 2-mercaptopropiônico) são adicionados (ARAKAWA, 2000).

Outros mecanismos de relevância são os relacionados à alteração de permeabilidade de membrana externa como porinas (*outer membrane protein*) e à presença de bombas de efluxo (NITZAN et al 2002; NIKAIDO 1998).

2.2.5 Diagnóstico

O diagnóstico da PH é fundamentado na associação de manifestações clínico-radiológicas e no estudo microbiológico. No entanto, o diagnóstico clínico da PAV é bem menos preciso e mais complicado (CONSENSO LATINO AMERICANO DE PNEUMONIA, 1999; CDC, 2003a).

A suspeita de PAV ocorre quando um indivíduo, sob assistência ventilatória, desenvolve um novo ou progressivo infiltrado pulmonar associado à presença de febre, leucocitose e aumento da secreção brônquica.

A febre é um problema comum em UTI, fato que expõe o paciente a

procedimentos invasivos, aumentando os custos e o uso inadequado de antimicrobianos. Contudo, excluir causas infecciosas de febre é, extremamente, difícil e, até mesmo, em determinadas situações, impossível. A febre poderá ser causada por reação às drogas (penicilina, vancomicina, entre outras), infecção (sinusite, diarreia, feridas, sítio cirúrgico ou relacionadas a cateteres), processo inflamatório pulmonar (embolia pulmonar, SARA, pneumonite) e/ou extrapulmonar (tromboflebite, hipertireodismo, pancreatite, colecistite alitiásica, etc) e transfusão sanguínea (RUMBAK, 2002; MARIK, 2000).

A associação de febre e infiltrado pulmonar ocorre na fase fibroproliferativa da SARA, atelectasia, embolismo pulmonar, bem como na PAV. No entanto, existem causas não infecciosas que apresentam os mesmos achados, podendo aumentar, falsamente, o diagnóstico de PAV em uma UTI.

Aproximadamente 83% dos infiltrados pulmonares que ocorrem em pacientes sob ventilação mecânica poderão ser causados por hemorragia pulmonar, aspiração química, insuficiência cardíaca congestiva e até tumores (SING et al. 1998). Louthan e Meduri (1996), revisaram seis estudos, totalizando 317 pacientes com infiltrados pulmonares e ventilação mecânica. Na maioria dos casos, o diagnóstico era de atelectasia, insuficiência cardíaca, SARA, embolia pulmonar, fibrose pulmonar, hemorragia pulmonar e carcinoma de pulmão, a pneumonia em 36% deles.

Os principais diagnósticos diferenciais de doenças que simulam PAV podem ser observados na Tabela 4.

Tabela 4 – Causas não infecciosas que simulam PAV

Aspiração química sem infecção
Atelectasia
Síndrome da angústia respiratória aguda
Hemorragia pulmonar
Contusão pulmonar
Infiltração tumoral
Pneumonite por radiação
Reação medicamentosa

Fonte: SING et al. 1998; LOUTHAN; MEDURI, 1996; MEDURI, 1995

A limitação dos parâmetros clínicos em estabelecer o diagnóstico de PAV é bem conhecida, resultando no uso desnecessário de antimicrobianos, aumento dos diagnósticos de pneumonia e contribuindo para o aumento de microrganismos resistentes (FAGON et al. 2000; PITTET; BONTEN, 2000). A Tabela 5 demonstra os critérios para o diagnóstico de PAV.

Tabela 5 – Critérios diagnósticos para PAV

Critérios Centers for Disease Control and Prevention – CDC

Radiografia de tórax demonstrando infiltrados novos e/ou persistentes (ou consolidação ou cavitação ou derrame pleural)

e

Pelo menos 3 dos seguintes:

1. Febre ($>38^{\circ}\text{C}$) ou hipotermia ($<35,5^{\circ}\text{C}$)*
2. Leucocitose ($>10 \times 10^9/\text{L}$) e ou desvio para esquerda ou leucopenia ($<3 \times 10^9/\text{L}$)
3. Escarro com <10 células epiteliais escamosas/campo e coloração de Gram >25 polimorfonucleares/campo de aspirado endotraqueal
4. Cultura positiva de aspirado endotraqueal

Clinical Pulmonary Infection Score- CPIS

I. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	$\geq 36,5$ e $\leq 38,4$	0 ponto
	$\geq 38,5$ e $\leq 38,9$	1 ponto
	$\geq 39,0$ e $\leq 36,0$	2 pontos
II. Leucócitos ($/\text{mm}^3$)	≥ 4000 e ≤ 11000	0 ponto
	<4000 e > 11000	1 ponto
	$\geq 50\%$ bastões	+1 ponto
III. Secreção Traqueal	Ausência de secreção	0 ponto
	Secreção não purulenta	1 ponto
	Secreção purulenta	2 pontos
IV. Oxigenação ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$, mmHg)	> 240 ou SARA	0 ponto
	≤ 240 e sem SARA	2 pontos
V. Radiografia de tórax	Sem infiltrado	0 ponto
	Infiltrado difuso ou reticular	1 ponto
	Infiltrado localizado	2 pontos

Total de pontos: 0-12; > 6 pontos é PAV. Após 72 horas, recalculado com os sete critérios:

VI. Infiltrado pulmonar	sem progressão	0 ponto
	com progressão (ICC e SARA excluído)	2 pontos
VII. Cultura de aspirado traqueal	cultura negativa	0 ponto
	cultura positiva	1 ponto
	bactéria patogênica no Gram	+1 ponto

* Idosos e imunodeprimidos podem não apresentar febre.

Definição das abreviaturas: SARA = Síndrome da Angústia Respiratória do Adulto; ICC = Insuficiência Cardíaca Congestiva; $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ = taxa de pressão de oxigenação arterial pela fração de oxigênio inspirado.

Fonte: KOEMAN et al. 2001.

Pugin et al. (1991) desenvolveram um escore clínico como uma estratégia diagnóstica de PAV (*Clinical Pulmonary Infection Score* - CPIS). Ele varia de zero a 12, no qual os achados são pontuados e a suspeita é estabelecida se a pontuação for superior a seis. As variáveis clínicas são temperatura, número total de leucócitos, presença de secreção traqueal, índice de oxigenação ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$) e caráter do infiltrado pulmonar. Em 72 horas, recalcula-se e acrescenta-se ao escore duas novas variáveis, que são o resultado do aspirado traqueal e, se houve ou não, a progressão do infiltrado pulmonar quando este ocorre. Novamente, escore maior que seis é considerado como sugestivo de pneumonia, devendo ser descartado edema pulmonar, atelectasia ou contusão pulmonar como causa do infiltrado pulmonar.

Singh et al. (2000) demonstraram, em seu estudo, que grande número de alterações radiológicas tipo infiltrado pulmonar, em pacientes de UTI, não são de origem infecciosa. Realmente, grande grupo de pacientes sem infecção pulmonar são classificados como escore clínico, CPIS, menor ou igual a seis. O mesmo estudo relatou que infecções do trato respiratório são responsáveis por 49% do uso dos antimicrobianos prescritos em UTI, sendo que em 63% destes a utilização é baseada em suspeita clínica.

Controvérsias existem a cerca do diagnóstico de pneumonia durante ventilação mecânica, utilizando escore clínico. De acordo com Fartoukh et al. (2003), a acurácia diagnóstica deste método é baixa, mas se for associado às culturas com coloração de Gram poderá contribuir para o momento de iniciar a antibioticoterapia empírica.

O diagnóstico clínico e presuntivo de pneumonia é, freqüentemente, superestimado. Estratégias baseadas em evolução clínica possuem conseqüências deletérias como o uso desnecessário de antimicrobianos, efeitos tóxicos indesejáveis, o aumento dos custos hospitalares e a emergência de microrganismos resistentes (FAGON, 2000).

A PAV é uma causa importante de sepse em paciente com insuficiência respiratória e pode ser difícil distingui-la de outros processos que afetam o paciente em suporte ventilatório. Tanto o diagnóstico quanto o tratamento devem ser precoces para melhorar o prognóstico.

Os critérios clínico-radiológicos da PAV (em progressão) e da SARA (fase proliferativa) são semelhantes o que faz com que a diferenciação seja difícil (WUNDERINK; WATERER, 2002; LYNCH, 2001b; SING et al. 1998).

Os métodos radiológicos são limitados, pouco sensíveis e específicos, para fornecer dados afirmativos, pois dependem da técnica do radiologista, da regulação adequada dos aparelhos (portáteis) e da posição do paciente, detalhes importantes que devem ser analisados (WUNDERINK, 2000c).

O diagnóstico de PAV na presença de infiltrado alveolar, determinado por técnica invasiva ou por estudos histológicos, apresenta sensibilidade de 58 a 83% para broncograma aéreo e de 50 a 78% para infiltrados novos ou progressivos; a especificidade é desconhecida (GROSSMAN; FEIN, 2000).

A presença de características clínicas de pneumonia (febre, leucocitose e secreção pulmonar purulenta) pode ocorrer em pacientes sem mudança radiológica e com diagnóstico de traqueobronquite purulenta. Um sinal de alteração não aumenta a probabilidade de PAV, pois outras causas potenciais de anormalidades radiológicas podem ocorrer em pacientes sob ventilação mecânica (ROMMES et al. 2001).

A interpretação do exame radiológico em PAV é limitada. O emprego de técnicas, em casos especiais, de imagem mais aguçada em visualizar o parênquima pulmonar, como a tomografia de tórax, poderá fornecer sinais mais específicos como condensações e broncograma aéreo (WUNDERINK et al. 1992c).

Existem vários métodos diagnósticos disponíveis que auxiliam no diagnóstico da PH. O objetivo dos testes é aumentar a precisão diagnóstica, ajudando nas definições da gravidade da doença e do agente etiológico. Contudo, os métodos diagnósticos apresentam alguns problemas quanto à sua valorização, pois sofrem influência do método de coleta e do uso de antimicrobianos. Apesar disso, poderá ajudar no diagnóstico e descoberta do agente etiológico da PAV, bem como diminuir o uso incorreto de antimicrobianos e, teoricamente, diminuir a resistência e a mortalidade (RÖDING et al. 2001; FAGON, 2000; HEYLAND et al. 1999a).

A invasividade de um método diagnóstico deverá ser considerada, levando-se em conta os riscos e benefícios. A broncoscopia com escovado protegido ou lavado broncoalveolar podem ser métodos mais precisos no diagnóstico de PAV,

com alta sensibilidade e especificidade (HEYLAND et al. 1999a). Cook et al. (1998) relataram sensibilidade e especificidade de 89,9% e 94,5%, respectivamente, para o escovado protegido e 53,3-100% e 98,6% para lavado broncoalveolar. De acordo com Sanchez-Nieto et al. (1998) os métodos diagnósticos invasivos auxiliam a conduta e, freqüentemente, modificam o antimicrobiano, mas não alteram as taxas de mortalidade.

Uma diversidade de procedimentos de coleta é utilizada para direcionar o tratamento que depende do agente etiológico, diminuindo o empirismo da terapêutica. Todavia a detecção isolada de um microrganismo em amostras do trato respiratório não é suficiente.

A cultura quantitativa de aspirado endotraqueal é de fácil execução, de baixo custo, de alta sensibilidade e de baixa especificidade (WU, et al. 2002; MAYHALL, 2001). Um cuidado especial com este método é estar atento para microrganismos colonizantes da traquéia que são freqüentes em pacientes de UTI. Outro cuidado que deve ser tomado é o envio de informações adequadas ao laboratório para que técnicas mais específicas possam ser realizadas.

A coleta de material, por meio de broncoscopia com auxílio de escova protegida ou lavagem broncoalveolar, pode ser obtida com menor risco de contaminação. Este método é bem aceito e padronizado como técnica diagnóstica de identificação do agente etiológico das PAV que, apesar de ser invasivo, apresenta sensibilidade e especificidade maior. Entretanto, existem estudos que demonstraram uma boa correlação entre culturas quantitativas de aspirados endotraqueais e de lavado bronco-alveolar/escovado protegido, sugerindo que métodos menos invasivos possam ser utilizados (WU et al. 2002; KOEMAN et al. 2001). Segundo Mayhall (2001), dependendo do tipo de técnica utilizada, torna-se necessária, a padronização de valores de referência para melhorar a especificidade diagnóstica, mesmo sem aceitação universal, às culturas quantitativas de material de vias respiratórias, conforme a Tabela 6. A cultura de fragmento de tecido pulmonar e a cultura de líquido pleural também poderão auxiliar no diagnóstico.

Tabela 6 – Valores de referência de culturas quantitativas de secreção do trato respiratório inferior para o diagnóstico de PAV

Escovado brônquico protegido.....	10 ³ ufc/ml*
Lavado broncoalveolar.....	10 ⁴ ufc/ml*
Aspirado secreção traqueal	10 ⁵ ufc/ml*

*ufc/ml = Unidade Formadora de Colônias/milímetros.

Fonte: MAYHALL, 2001; FAGON et al. 2000; PAPAIZIAN et al. 1995.

O processamento microbiológico dos materiais dependerá da coleta adequada, principalmente, antes da antibioticoterapia ou próximo à nova dose do antimicrobiano (“vale”), transporte e armazenamento adequados, análise microscópica qualitativa e cultivo bacteriano quantitativo (MARQUETTE et al.1993).

Os métodos citológicos como coloração por Giemsa e a por Gram poderão auxiliar o diagnóstico. Uma amostra adequada de escarro deverá conter pelo menos 25 leucócitos por campo e menos de 10 células por campo de imersão (PEDRO, 2001; MEDURI, 1995).

As hemoculturas podem identificar o agente etiológico em apenas 20-25% dos casos; dessa forma é importante excluir outros locais de infecção, pois esse exame é pouco sensível e específico. Devido aos custos, pode-se indicá-las apenas para os casos graves e refratários (CONSENSO BRASILEIRO DE SEPSE, 2003).

A gasometria arterial poderá ajudar a definir a gravidade da doença. Quando associada a outros exames complementares (hemograma, eletrólitos, função renal, função hepática) poderá documentar a presença de disfunção de múltiplos órgãos.

2.2.6 Tratamento

A meta primordial da terapia antimicrobiana é erradicar, efetivamente, os patógenos que causam a infecção. A decisão de iniciar a terapia antimicrobiana apresenta limitações inerentes à técnica diagnóstica, ao tipo de paciente, ao tipo de patógeno e aos antimicrobianos disponíveis. Portanto, é uma decisão empírica baseada nos patógenos mais prováveis (ROMMES, 2001).

A instituição imediata do tratamento é crucial, pois o atraso na administração e/ou um tratamento inapropriado estão associados ao aumento da mortalidade e às implicações na emergência de organismos multiresistentes (IREGUI et al. 2002a; LYNCH, 2001a; KOLLEF, 2001; SINGH et al, 2000). Adicionalmente, a introdução de antimicrobianos, em afecções pulmonares não infecciosas, aumenta o risco de infecções por microrganismos resistentes e, conseqüentemente torna-se mais um fator que contribui para a mortalidade da PAV (WUNDERINK et al. 2000a).

A orientação terapêutica empírica depende do conhecimento da microbiota hospitalar, do perfil de sensibilidade desses microrganismos e da patogenia da pneumonia. A escolha apropriada dos antimicrobianos requer uma avaliação do tempo da hospitalização, do uso prévio de antimicrobianos, dos patógenos relevantes, do perfil de sensibilidade do setor e de fatores do hospedeiro (CONSENSO LATINO-AMERICANO DE PNEUMONIAS, 1999).

Existem várias propostas de tratamento empírico para PAV. Uma alternativa para o início do tratamento da PAV é a utilização de antimicrobianos de largo espectro (baseado no perfil de sensibilidade atualizado do hospital em questão), que poderá ser modificado após resultados de culturas (hemocultura, secreções de vias aéreas inferiores, líquido pleural, entre outros). Este método tem sido denominado *de-escalation*, ou seja, o tratamento poderá ser modificado, diminuindo-se o espectro antimicrobiano, conforme a identificação do agente com o resultado das culturas (EWIG et al. 2002; FIEL, 2001; RÖDING et al. 2001; KOLLEF et al. 1997).

A decisão de um tratamento empírico é difícil e deve ser baseado em dados clínicos e laboratoriais disponíveis e revisado, diariamente, pelo infectologista.

Esta estratégia limitará o uso abusivo de antimicrobianos e conseqüentemente, a pressão seletiva e os riscos de superinfecção, com preservação do “arsenal” terapêutico.

Atualmente, persistem dúvidas quanto ao tempo ótimo ou mais adequado de duração do tratamento antimicrobiano. Aceita-se, como regra geral, o tempo de 72 horas após a estabilização de parâmetros ventilatórios e clínicos. Essas recomendações não são baseadas em resultados de estudos prospectivos e, sim, em experiências clínicas e relatos de casos (DENNESEN et al. 2001).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Este estudo propõe em analisar a aplicabilidade na prática clínica do ERIC-PCR em PAV causada por AbMR, da UTI adulto no Hospital Universitário de Londrina, ocorrido no período de 2003-2005.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Avaliar a aplicabilidade, na prática clínica, da técnica de tipagem molecular (ERIC-PCR) em PAV por AbMR;
2. Determinar a presença e a importância da produção de metalo- β -lactamase como mecanismo de resistência aos carbapenems nas amostras selecionadas;
3. Avaliar o perfil de sensibilidade das amostras de AbMR;
4. Determinar a frequência de AbMR no estudo;
5. Analisar as características clínicas dos pacientes com PAV por AbMR na UTI adulto, no período designado;
6. Avaliar a frequência do uso de antimicrobianos nas PAV por AbMR;

4 APECTOS ÉTICOS DA PESQUISA

Segundo Junges (2000), o direito ao consentimento informado quer proteger e promover a autonomia. A autonomia é considerada como facilidade ou condição substantiva da realidade humana ou como um ato de decisão autônoma.

O ato de consentimento deve ser voluntário e basear-se na resolução adequada das informações, conforme o nível e a capacidade de entendimento do suspeito envolvido na pesquisa.

Baseado nestes princípios, este estudo garantirá o consentimento livre e esclarecido dos indivíduos-alvo bem como a proteção a grupos vulneráveis e aos legalmente incapazes, evitando riscos e danos previsíveis, possibilitando um tratamento com dignidade e respeito a estes pacientes. Os mesmos e/ou seus responsáveis serão informados da justificativa, dos objetivos e procedimentos que serão utilizados. O mesmo será informado sobre a liberdade de se recusar a participar ou retirar o seu consentimento, em qualquer fase de pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo no seu cuidado. Ficará também esclarecido que a participação não acarretará em compensação financeira ou outra forma de pagamento. Todos os dados confidenciais envolvidos na pesquisa serão assegurados.

REFERÊNCIAS

ABRAHAM, S. N.; BEACHEY, E. H.; SIMPSON, W. A. Adherence of *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa* to fibronectin-coated and uncoated epithelial cells. *Infect Immun.*, v. 41, p. 1261-1268, 1983.

ACAR, J. F. Resistance mechanisms. **Sem. Resp. Infect.**, v. 17, n. 3, p. 184-188, 2002.

ALLEGRIAN, Z. B.; LUZZATI, R.; LUZZANI, A.; et al. Impact of antibiotic changes in empirical therapy on antimicrobial resistance in intensive care unit-acquired infectious. **J. Hosp. Infect.**, v. 52, p. 136-140, sep., 2002.

AMERICAN THORACIC SOCIETY. Hospital-acquired pneumonia in adults:

diagnosis, assessment, initial therapy, an prevention. A consensus statement. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, v.153, p. 1711-25, 1995.

ANVISA. Índices de Infecção Hospitalar conforme região. [on line]. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br>. Acesso em 10 dez. 2003a.

ANVISA. Curso básico de controle de infecção hospitalar. [on line]. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br>. Acesso em 10 dez. 2003b.

ARAKAWA Y, SHIBATA N, SHIBAYAMA K, KUROKAWA H, YAGI T, FUJIWARA H, et al. Convenient test for screening metallo- β -lactamase-producing gram-negative bacteria by using thiol compounds. **J Clin Microbiol** 2000; 38:40-43.

BHALLA, A.; PULTZ, N. J.; RAY, A. J. et al. Antianaerobic antibiotic therapy promotes overgrowth of antibiotic-resistant, gram-negative bacilli and vancomycin-resistant enterococci in the stool of colonized patients. **Infect. Control Hosp. Epidemiol.**, v. 24, n. 9, p. 644-649, sep., 2003.

BERCAULT, N.; BOULAIN, T. Mortality rate attributable to ventilator-associated nosocomial pneumonia in an adult intensive care unit: a prospective case-control study. **Crit Care Med.**, v. 29, n. 12, p. 2303-09, 2001.

BERGMANS, D. C. J. J.; BONTEM, M. J. M.; GAILLARD, F. H. Indications for antibiotic use in ICU patients: a one-year prospective surveillance. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 39, p. 527-535, 1997.

BERGMANS, D. C. J. J., BONTEN, M. J. M.; TIEL, F. H. V.; et al. Cross-colonisation with *Pseudomonas aeruginosa* of patients in an intensive care units. **Thorax**. V. 53, p. 1053-1058, jul., 1998.

BHORADE, S. M.; CHRISTENSON, J.; POHLMAN, A. S.; et al. The incidence of and clinical variables associated with vancomycin-resistant enterococcal colonization in mechanically ventilated patients. **Chest**, v. 115, n. 4, p. 1085-1091, apr., 1999.

BONTEN, M. J. M. Strategies for prevention of hospital-acquired pneumonia: oral and selective decontamination of the gastrointestinal tract. **Sem. Resp. Crit. Care Med.**, v. 23, n. 5, p. 481-488, 2002.

BOVRE, K. Family Neisseriaceae. In: KRIEG, N.R; HHOLT, J.G. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. Baltimore, Md: The Williams & Williams, 1984: 288-309.
BOYCE, J. M. It is time for action: improving hand hygiene in hospital. **Ann. Intern. Med.**, v. 130, p. 153-55, 1999.

BRASIL. Portaria nº 930, de 27 de agosto de 1992. Dispõe sobre normas para o controle das infecções hospitalares. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Brasília, p. 12279, 4 set. 1992. Seção 1.

_____. Lei nº 9431, de 06 de Janeiro de 1997. Dispõe sobre a obrigatoriedade da manutenção de programa de controle de infecções hospitalares pelos hospitais do País. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Brasília, 6 jan. 1997.

_____. Portaria nº 2616, de 12 de maio de 1998. Dispõe sobre a obrigatoriedade da manutenção de programa de controle das infecções hospitalares do País. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Brasília, p. 132, 13 mai. 1998. Seção 1.

BRUN-BUISSON, C. Guidelines for treatment of hospital-acquired pneumonia. **Sem. Resp. Crit. Care Med.**, v. 23, n. 5, p. 457-467, 2002.

BURKE, J. P. Infection control – a problem for patient safety. **N. Engl. J. Med.**, v. 348, n. 7, p.651- 656, feb., 2003.

BUSH, K. Metallo-beta-lactamases: a class apart. **Clin. Infecto. Dis.**, v. 27, p. S48-s53, 1998.

BYERS, J. F.; SOLE, M. J. Analysis of factors related to the development of ventilator-associated pneumonia: use of existing databases. **Am. J. Crit. Care**, v. 9, n.5, p.344-51, 2000.

CÁMARA, M.; WILLIAMS, P.; HARDMAN, A. Controlling infection by tuning in and turning down the volume of bacterial small-talk. **The Lancet Infect. Dis.**, v. 2, p.667-676, nov., 2002.

CARPENTIER, B.; CERF, O. Biofilms and their consequences, with particular reference to hygiene in the food industry. **J. Appl. Bacteriol.**, v. 75, p. 499-511, 1993.

CARRILHO, C. M. D. M. **Fatores associados ao risco de desenvolvimento de pneumonia hospitalar na unidade de terapia intensiva do HURNP.** Dissertação. Londrina: UEL, 1998.

CAVASSIN, E. D. **Controvérsias sobre beta-lactamases AmpC e ESBL.** Monografia. Londrina: UEL, 2002.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - CDC. Guidelines for prevention of nosocomial pneumonia. **Morb. Mortal. Wkly. Rep.**, v. 46 (RR-1), p. 1-79, 1997.

_____. Guidelines for prevention of healthcare-associated pneumonia. [on line]. Disponível em: <http://www.cdc.gov>. Acesso em 05 nov. 2003a.

_____. 12 passos para prevenir a resistência antimicrobiana nos hospitais. Disponível em: <http://www.cdc.gov>. Acesso em 05 nov. 2003b.

COLLARD, H. R.; SAINT, S.; MATTHAY, M. Prevention of ventilator-associated pneumonia: an evidence-based systematic review. **Ann. Intern. Med.**, v.138, n. 6, p. 494-501, mar., 2003.

CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA – CFM. **Resolução do CFM**. Brasília, 20 ago. 1999.

CONSENSO BRASILEIRO SEPSE [on line]. Disponível em : <http://www.amib.org>. Acesso em 05 nov. 2003.

CONSENSO LATINO-AMERICANO DE PNEUMONIAS EM PACIENTES ADULTOS HOSPITALIZADOS. **Braz. J. Infect. Dis.**, (suppl), 1999.

COOK, D.J.; FITZGERALD, J. M.; GUYATT, G. I. I, et al. Evaluation of the protected brush catheter and bronchoalveolar lavage in the diagnosis of nosocomial pneumonia. **J. Intensive Care Med.**, v. 6, p. 196-205, 1998.

COOKSON, B. Infection and antimicrobial prescribing control in the new millennium: nightmare or nirvana? **J. Clin. Path.**, v. 53, n. 1, p. 66-70, jan., 2000.

CORDONNIER, C.; BUZYN, A.; LEVERGER, G.; et al. Epidemiology and risk factors for gram-positive coccal infectious in neutropenia: toward a more targeted antibiotic strategy. **Clin. Infec. Dis.**, v. 36, p. 149-158, jan., 2003.

COSTERTON, J. W.; STEWART, P. S.; GREENBERG, E. P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. **Science**, v. 284, may, p. 1318-1322, 1999.

CRAVEN, D. E. Epidemiology of ventilator-associated pneumonia. **Chest**, v. 117, n. 4, p. S186-187, apr. 2000.

DAVID, C. M. N. Pneumonia associada à ventilação mecânica. **In:** Carvalho, C. R. R. editor. Ventilação Mecânica. Vol. II – avançado. São Paulo: Editora Atheneu, 2000. p. 243-258.

DENNESEN, P. J.; VAN DER VEN, A. J. A. M.; KESSELS, A. G. H., et al. Resolution of infectious parameters after antimicrobial therapy in patients with ventilator-associated pneumonia. **Am. J. Crit. Care Med.**, v. 163, p. 1371-1375, 2001.

DERISO, A. J.; LADOWSKI, J. S.; DILLON, T. A. et al. Chlorhexidine gluconate 0.12% oral rinse reduces the incidence of total nosocomial respiratory infection and nonprophylactic systemic antibiotic use in patients undergoing Herat surgery. **Chest**, v. 109, n. 6, p. 1556-1561, 1996.

DIAZ, E.; RELLO, J. Top ten list in antibiotic policy in the ICU. **Chest**, v. 122, n. 2, p. 712-714, aug., 2002.

DOCKERY, J. D.; KEENER, J. P. A Mathematical model for quorum sensing in *P. Aeruginosa*, **Bull. Math. Biol.**, v. 63, p.95-116, 2001.

DRUSANO, G. L. Prevention of resistance: a goal for dose selection for antimicrobial agents. **Clin. Infect. Dis.**, v. 36, Suppl 1, p. S42 – 50, 2003.

DUGAN, H. A.; MAcLAREN, R.; JUNG, R. Duration of antimicrobial therapy ofr nosocomial pneumonia: possible estratégias for minimizing antimicrobial use in intensive care units. **J. Clin. Pharm. Therap.**, v. 28, n. 2, p. 123-129, apr., 2003.

DUNNE, W. M. Jr. Bacterial adhesion: seen any good biofilm lately? **Clin. Microbiol.Rev.**, v. 15, n.2, p. 155-166, 2002.

EGGIMANN, P.; PITTET, D. Infection Control in the ICU. **Chest**, v. 120, n. 6, p. 2059-2093, dec., 2001a.

EGGIMANN, P.; PITTET, D. Nonantibiotic measures for the prevention of gram-positive infections. **Clin. Microbiol. Infect.** V. 7, suppl. 4, p. 91-99, 2001b.

ELY, E. W.; MAUREEN, O. M.; HAPONIK, E. F.; et al. Mechanical ventilator weaning protocols driven by nonphysician health-care professionals. Evidence-based clinical practice guidelines. **Chest**, v. 120, n.6, dec., p. 454S-463S, 2001.

ESTEBAN, A.; ALÍA, I. Clinical management of weaning from mechanical ventilation. **Intensive Care Med.**, v. 24, p. 999-1008, 1998.

EVANS, R. S.; PESTOTNIK, S. L.; CLASSEN, D. C. A computer-assisted management program for antibiotics and other antiinfective agents. **N. Engl. J. Med.**, v. 338, n.4, p. 232-238, jan., 1998.

EWIG, S.; BAUER, T.; TORRES, A. The pulmonary physician in critical care – 4: Nosocomial pneumonia. **Thorax**, v. 57, p. 366-371, 2002.

EWIG, S.; TORRES, A.; EL-EBIARY, M; et al. Bacterial colonization patterns in mechanically ventilated patients with traumatic and medical head injury. Incidence, risk factors, and association with ventilator-associated pneumonia. **Am. J. Resp. Crit. Care Med.**, v. 159, p. 188-98, 1999.

FAGON, J. Y.; CHASTRE, J.; HANCE, A. J. et al. Nosocomial pneumonia in ventilated patients: a cohort study evaluating attributable mortality and hospital stay. **Am. J. Med.**, v. 94, n. 3, p. 281-8, 1993.

FAGON, J.; CHASTRE, J.; WOLF, M. et al. Invasive and noninvasive strategies for management of suspected ventilator-associated pneumonia. **Ann. Inter. Med.**, v. 132, n. 8, p. 621-630, 2000.

FAR, B. M.; SALGADO, C. D.; KARCHMER, T. B. et al. Can antibiotic-resistant nosocomial infections be controlled? **Lancet Infect. Dis.**, v. 1, p.38-45, 2001a.

FAR, F. E.; MARINO, C. G. J.; MEDEIROS, E. A. S. The organization of hospital infection control committees and their importance in Brazil. **Braz. J. Infect. Dis.**, v. 5, n. 6, p. 290-293, 2001b.

FARTOUKH, M.; MAÎTRE, B.; HONORÉ, S. et al. Diagnosing pneumonia during mechanical ventilation – the clinical pulmonary infection score revisited. **Am. J. Resp. Crit. Care Med.**, v. 168, p. 173-179, 2003.

FIEL, S. Guidelines and critical pathways for severe hospital-acquired pneumonia. **Chest**, v 119, n. 2 (suppl), p. 412S-18S, 2001.

FRIDKIN, S. K., GAYNES, R. P. Antimicrobial resistance in intensive care units. **Clin. Chest. Medical**, v. 20, n. 2, p. 303-16, 1999.

GARCIA, I.; FAINSTEIN, V.; LEBLANC, B.; BODEY, G.P. In vitro activities of new beta-lactam antibiotics against *Acinetobacter spp.* **Antimicrob. Agentes Chemother.**, v. 24: 297-299, 1983.

GEORGES, H.; LEROY, O.; GUERY, B. predisposing factors for nosocomial pneumonia in patients receiving mechanical ventilation and requiring tracheotomy. **Chest**, v. 188, n. 3, p. 767-774, sep., 2000.

GOLD, H.S.; MOELLERING, R. C. J. Antimicrobial-drug resistance. **N. Engl. J. Med.**, V. 335, p. 1445-53, 1996.

GREENE, J. N. The microbiology of colonization, including techniques for assessing and measuring colonization. **Infect. Control Hosp. Epidemiol.**, v. 17, n. 2, p. 114-118, 1996.

GRION, C.; CARDOSO, L.T.; ANAMI, E. et al. Avaliação da incidência de Pneumonia associada à ventilação mecânica em UTI-Adulto de Hospital escola. **Rev. Bras. Med. Intens.**, suplement. I, p. 11, 2003.

GROSSMAN, R. F.; FEIN, A. Evidence-based assessment of diagnostic tests for ventilator-associated pneumonia. **Chest**, v. 117, n. 4, p. S177-181, apr., 2000.

GRUSON, D.; HILBERT, G.; VARGAS, F. et al. Rotation and restricted use of antibiotics in a medical intensive care unit. Impact on the incidence of ventilator-associated pneumonia caused by antibiotic-resistant gram-negative bacteria. **Am. J. Resp. Crit. Care Med.**, v. 162, p. 837-43, 2000.

GUILLEMOT, D.; CRÉMIEUX, A. C.; COURVALIN, P. Evolution of antimicrobial resistance: impact on antibiotic use. **Sem. Resp. Crit. Care Med.**, v. 23, n. 5, p. 449-456, 2002.

GUSTAFSON, T. L. Practical risk-adjusted quality control charts for infection control. **Am. J. Infec. Control**, v. 28, n. 6, p. 406-14, 2000.

GUVEN, G. S.; UZUN, O. Principles of good use of antibiotics in hospitals. **J. Hosp. Infec.**, v. 53, p. 91-96, 2003.

HAMMOND, J. M.; POTGIETER, P. D. Long-term effects of selective decontamination on antimicrobial resistance. **Crit. Care Med.**, v. 23, n. 4, p. 613-45, 1995.

HARBARTH, S.; SAX, H.; GASTMEIER, P. The preventable proportion of nosocomial infections: an overview of published reports. **J. Hosp. Infect.**, v. 54, p. 258-266, apr., 2003.

HEYLAND, D. K.; COOK, D. J.; MARSHALL, J. et al. The clinical utility of invasive diagnostic techniques in the setting of ventilator-associated pneumonia. **Chest**, v. 115, p. 1076-84, 1999a.

HEYLAND, D. K.; COOK, D. J.; GRIFFITH, L. et al. The attributable morbidity and mortality of ventilator-associated pneumonia in the critically ill patient. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, v. 159, p. 1249-56, 1999b.

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO REGIONAL DO NORTE DO PARANÁ - HURNP.
Comissão de Controle de Infecção Hospitalar – CCIH. **Frequência dos microrganismos isolados de colonização/infecção hospitalar**. Boletim N° 24, 2002.

_____. Comissão de Controle de Infecção Hospitalar – CCIH. **Frequência dos microrganismos isolados de colonização/infecção hospitalar**. Boletim N° 25, jul., 2003.

IBRAHIM, K., H.; GUNDERSON, B.; ROTSCHAFFER, J. C. Intensive care unit antimicrobial resistance and the role of the pharmacist. **Crit. Care Med.**, v. 29, n. 4, p. S108-113, 2001.

IREGUI, M.; et al. Clinical importance of delays in the initiation of appropriate antibiotic treatment for ventilator-associated pneumonia. **Chest**, v. 122, n.1, jul., p. 262-268, 2002.

IREGUI, M.; KOLLEF, M. H. Prevention of ventilator-associated pneumonia. Selecting interventions that make a difference. **Chest**, v. 121, n.3, mar., p. 679-681, 2002a.

IREGUI, M. G.; VAUGHAN, W. M.; KOLLEF, M. H. Nonpharmacological prevention of hospital-acquired pneumonia. **Sem. Resp. Crit. Care Med.**, v. 23, n. 5, p. 489-496, 2002b.

JAWETZ, E. Princípios da ação medicamentosa antimicrobiana. In: Katzung, B.G. Farmacologia básica e clínica. 5. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S. A., 1994, p. 463-469.

JONES, R. N. Resistance patterns among nosocomial pathogens. Trends over the past few years. **Chest**, v 119, n. 2 (suppl), p. 397S-404S, 2001.

KHATIB, M.; JAMALEDDINE, G.; ABDALLA, A. et al. Hand washing and use of gloves while managing patients receiving mechanical ventilation in the ICU. **Chest**, v. 116, p. 172-75, 2000.

KIM, J. M.; PARK, E. S.; JEONG, J. S. Multicenter surveillance study for nosocomial infections in major hospitals in Korea. **Am. J. Infect. Control**, v. 28, n. 6, p. 454-8, 2000.

KOEMAN, M.; VAN DER VEN, A. J. A. M.; RAMSAY, G.; et al. Ventilator-associated pneumonia: recent issues on pathogenesis, prevention and diagnosis. **J. Hosp. Infect.**, v. 49, oct., p. 155-162, 2001.

KOLLEF, M. H. Is there a role for antibiotic cycling in the intensive care unit? **Crit. Care Med.**, v. 29, n. 4, p. S135-142, 2001.

_____. The prevention of ventilator-pneumonia. **N. Engl. J. Med.**, v. 340, n. 8, p. 627-634, 1999.

KOLLEF, M. H.; FRASER, V. J. Antibiotic resistance I the intensive care unit. **Ann. Intern. Med.**, v. 134, n. 4, p. 298-314, feb., 2001.

KOLLEF, M. H.; VLASNIK, J.; SHARPLESS, L. et al. Scheduled change of antibiotic classes. A strategy to decrease the incidence of ventilator-associated pneumonia. **Am. J. Resp. Crit. Care Med.**, v. 156, p. 1040-48, 1997.

KWIATKOWSKI, D. Susceptibility to infection. **Br. Med. J.**, v. 321, p. 1061-5, oct., 2000.
LIVERMORE, D. M. Bacterial resistance: origins, epidemiology, and impact. **Clin. Infect. Dis.**, v. 36, (Suppl 1), p. S11-23, 2003.

LIVINGSTON, D. H. Prevention of ventilator-associated pneumonia. **Am. J. Surg.**, v. 179, (Suppl 2A), p. S12-17, 2000.

LOUTHAN, F. B.; MEDURI, G. U. Differential diagnosis of fever and pulmonary densities in mechanically ventilated patients. **Sem. Respir. Infect.**, v.11, p. 77-95, 1996.

LUCAS, P. J. F.; BRUIJN, N. C.; SCHURINK, K.; HOEPELMAN, A. A probabilistic and decision-theoretic approach to the management of infectious disease at the ICU. **Artif. Intel. Med.**, v. 19, p. 251-279, 2000.

LUNA, C. M.; NIEDERMAN, M. S. GAT is the natural history of resolution of nosocomial pneumonia. **Sem. Resp. Crit. Care Med.**, v. 23, n. 5, p. 471-479, 2002.

LYNCH III, J. P. Antimicrobial Resistance. It's time to reverse the trend. **Chest**, v 119, n. 2 (suppl), p. 371S-72S, 2001.

_____. Hospital-acquired pneumonia. Risk factors, microbiology, and treatment. **Chest**, v 119, n. 2 (suppl), p. 373S-84S, 2001.

MACHADO, A.; FERRAZ, A. A. B.; FERRAZ, E., et al. Prevenção da infecção hospitalar. **Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina. Projeto Diretrizes**. 2001.

MALANGONI, M. A. Single versus combination antimicrobial therapy for ventilator-associated pneumonia. **Am. J. Surg.**, v. 179, p. S 58-62, feb., 2000.

MANDELL, L. A.; CAMPBELL, D. Jr. Nosocomial pneumonia guidelines. An international perspective. **Chest**, v. 1998, v. 113, n. 3, p. S 188-193, mar., 1998.

MARIK, P. E. Fever in the ICU. **Chest**, v. 117, n. 3, p. 855-869, mar, 2000.

MARQUETTE, C. H.; GEORGES, H.; WALLET, F., *et al.* Diagnostic efficiency of endotracheal aspirates with quantitative bacterial cultures in intubated patients with suspected pneumonia: comparison with the protected specimen brush. **Am. Rev. Respir. Dis.**, v. 148, p. 138, 1993.

MAURY, E.; ALZIEU, M.; BAUDEL, J. L., et al. Availability of an alcohol solution can improve hand disinfection compliance in an intensive care unit. **Am. J. Resp. Crit. Care**, v. 162, p. 324-27, 2000.

MAYHALL, C. G. Ventilator-associated pneumonia or not? Contemporary diagnosis. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 7, n. 2, p., mar-apr., 2001.

MCGOWAN, J. E., Jr. Do intensive hospital antibiotic control programs prevent the spread of antibiotic resistance? **Infect. Control Hosp. Epidemiol.**, v. 15, p. 478-83, 1994.

_____. Economic impact of antimicrobial resistance. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 7, n. 2, mar-apri, 2001.

MEADE, M.; GUYATT, G.; GRIFFITH, L. et al. Introduction to a series of systematic reviews of weaning from mechanical ventilation. **Chest**, v. 120, n.6, p. S 396-399, dec., 2001.

MEDURI, G. U.; Diagnosis and differential diagnosis of ventilator-associated pneumonia. **Clin. Chest Med.**, v. 16, p. 61, 1995.

MESSORI, A.; TRIIPPOLI, S.; VAIANI, M. et al. Bleeding and pneumonia in intensive care patients given ranitidine ad sucralfate for prevention of stress ulcer: met-analysis of randomised controlled trials. **BMJ**, v. 321, p. 1-7, 2000.

MOREHEAD, R. S.; PINTO, J., S. Ventilator-associated Pneumonia. **Arch. Intern. Med.** v. 160, n. 13, p. 1926-1936, Jul., 2000.

MURTHY, R. Implementation of strategies to control antimicrobial resistance. **Chest**, v 119, n. 2 (suppl), p. 405S-11S, 2001.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS – NCCLS. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. **Twelfth informational Supplement**. M 100-S12. Wayne, PA, 2002.

NATIONAL NOSOCOMIAL INFECTIONS SURVEILLANCE. National nosocomial infections surveillance (NNIS) system report, data summary from january 1992 to june 2002, issued august 2002. **Am. J. Infect. Control**, v. 30, p. 458-475, dec., 2002.

NELSON, S. Novel nonantibiotic therapies for pneumonia. Cytokines and host defense. **Chest**, v 119, n. 2 (suppl), p. 419S-25S, 2001.

NIEDERMAN, M. Appropriate use of antimicrobial agents: challenges and strategies for improvement. **Crit. Care Med.**, v. 31, n. 2, p. 608-616, 2003.

NIKAIDO, H. Multiple antibiotic resistance and efflux. **Curr. Opin. Microbiol**; v. 1, p. 516-523, 1998

NITZAN, Y.; DEUTSCH, E. B.; PECHATNIKOV, I. Diffusion of beta-lactam antibiotics through oligomeric or monomeric porin channels of some gram-negative bacteria. **Curr. Microbiol**; v. 45, p. 446-455, 2002.

NTOUMENOPOULOS, G.; PRESNEILL, J. J.; McELHOLUM, M.; et al. Chest physiotherapy for the prevention of ventilator-associated pneumonia. **Inten. Care Med.**, v. 28, p. 850-856, may, 2002.

OSMON, S.; WARREN, D.; DEILER, S. M. et al. The influence of infection on hospital mortality for patients requiring > 48 h of intensive care. **Chest**, v. 124, p. 1021-1029, 2003.

PADOVEZE, M. C.; TRABASSO, P.; BRANCHINI, M. L. M. Nosocomial infections among HIV-positive and HIV-negative patients in a brazilian infectious diseases unit. **Am. J. Infect. Control**, v. 30, p. 436-50, 2002.

PFALLER, M. A. Molecular approaches to diagnosing and managing infectious diseases: practicality and costs. **Emerg. Infect. Dis.**, v.7 (?): 312-318, 2001.

PAPAZIAN, L.; THOMAS, P.; GARBE, L., et al. Bronchoscopic or blind sampling techniques for the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, v. 152, p. 1982, 1995.

PATEL, P. J.; LEEPER, K. V.; MCGOWAN Jr. J. E. Epidemiology and microbiology of hospital-acquired pneumonia. **Sem. Resp. Crit. Care Med.**, v. 23, n. 5, p. 415- 425, 2002.

PATERSON, D. L. Restrictive antibiotic policies are appropriate in intensive care units. **Crit. Care Med.**, v. 31, n. 1, suppl., p. S25-28, 2003.

PATTERSON, J. E. Antibiotic utilization. Is there an effect on antimicrobial resistance? **Chest**, v 119, n. 2 (suppl), p. 426S-30S, 2001.

PAWAR, M.; MEHTA, Y; KHURANA, P.; et al. Ventilator-associated pneumonia: incidence, risk factors, outcome, and microbiology. **J. Cardiothoracic Vasc. Anesth.**, v. 17, n. 1, p. 22-28, feb., 2003.

PEDRO, G. S. Are quantitative cultures useful in the diagnosis of hospital-acquired pneumonia? **Chest**, v 119, n. 2 (suppl), p. 385S-90S, 2001.

PEREIRA, L. O. P. Ambiente hospitalar x infecções hospitalares. **Arq. Bras. Med.**, v. 65, n. 5a, p. 21S-23S, 1991.

PETRAK, R. M.; SEXTON, D. J.; BUTERA, M. L.; et al. The value of an infectious diseases specialist. **Clin. Infect. Dis.** v. 36, p. 1013-1017, apr., 2003.

PITTET, D.; BONTEN, M. J. Towards invasive diagnostic techniques as standard management of ventilator-associated pneumonia. **Lancet**, v. 356, p. 874, set., 2000.
PITTET, D.; BOYCE, J. M. Hand hygiene and patient care: pursuing the Semmelweis legacy. **Lancet Infect. Dis.**, Apr., p. 9-20, 2001.

PITTET, D.; EGGIMANN, P. Nonantibiotic measures for the prevention of gram-positive infections. **Clin. Microbiol. Infect.**, v. 7 (suppl 4),p. S91-99, 2001.

PITTET, D.; MOUROUGA, P.; PERNEGER, T. V., et al. Compliance with handwashing in a teaching hospital. **Ann. Intern. Med.**, v. 130, p. 126-30, 1999.

PRINCE, A. S. Biofilms, antimicrobial resistance, and airway infection. **N. Engl. J. Med.**, v. 347, n. 14, p. 1110-1111, oct., 2002.

PUGIN, J.; AUCKENTHALER, N.; MILI, J. P. et al. Diagnosis of ventilator-associated pneumonia by bacteriologic analysis of bronchoscopic and nonbronchoscopic "blind" bronchoalveolar lavage fluid. **Am. Rev. Resp. Dis.**, v. 143, p. 1121-29, 1991.

RAYMOND, D. P.; PELLETIER, S. J.; SAWYER, R. G. Antibiotic utilization strategies to limit antimicrobial resistance. **Sem. Resp. Crit. Care Med.**, v. 23, n. 5, p. 497-501, 2002.

RELLO, J.; DIAZ, E.; ROQUE, M. et al. Risk factors for developing pneumonia within 48 hours of intubation. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, v. 159, p. 1742-46, 1999a.

RELLO, J.; LORENTE, C.; BODÍ, M.; et al. Why do physicians not follow evidence-based guidelines for preventing ventilator-associated pneumonia? A survey based on the opinions of an international panel of intensivists. **Chest**, v. 122, n. 2, p. 656-661, aug., 2002.

RELLO, J.; SA-BORGES, M.; CORREA, I.I. et al. Variations in etiology of ventilator-associated pneumonia across four treatment sites: implications for antimicrobial prescribing practices. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, v.160, p. 608-613, 1999b.

RICE, L. Evolution and clinical importance of extended-spectrum β -lactamases. **Chest**, v 119, n. 2 (suppl), p. 391S-96S, 2001.

RÖDING, T.; SCHULZ, I.; LODE, H. Ventilator-associated pneumonia in a surgical intensive care unit: epidemiology, etiology and comparison of three bronchoscopic methods for microbiological specimen sampling. **Crit. Care**, v. 5, p. 167-173, 2001.

ROMMES, J. H.; RIOS, G.; ZANDSTRA. Therapy of infection. **Curr. Anaest. & Crit. Care**, v.12, p. 25-33, 2001.

RUMBAK, M. J. The pathogenesis of ventilator-associated pneumonia. **Sem. Resp. Crit. Care Med.**, v. 23, n. 5, p. 427-434, 2002.

SADER, H. S.; GALES, A. C.; GRANACHER, T. D. et al. Prevalence of antimicrobial resistance among respiratory tract isolates in Latin American: results from SENTRY antimicrobial surveillance program (1997-1998). **Braz. J. Infect. Dis.**, v. 4, p. 245-54, 2000.

SAFDAR, N.; MAKI, D. G. The commonality of risk factors for nosocomial colonization and infection with antimicrobial-resistant *Staphylococcus aureus*, Enterococcus, Gram-negative bacilli, *Clostridium difficile*, and Candida. **Ann. Intern. Med.**, v. 136, n. 11, p.834-844, jun., 2002.

SANCHEZ-NIETO, J. M.; TORRES, A.; GARCIA-CORDOBA, F. Impact of invasive and noninvasive quantitative culture sampling on outcome of ventilator-associated pneumonia. **Am. J. Resp. Crit. Care Med.**, v. 157, p. 371-376, 1998.

SCANNAPIECO, F.A.; STEWART, B. S.; MYLOTTE, J. M. Colonization of dental plaque by respiratory pathogens in medical care patients. **Crit. Care Med.**, v. 20, p.6, 1992.

SHLAES, D. M.; GERDING, D. N.; JOHN, J. F. et al. Society for Healthcare Epidemiology of America and Infectious Diseases Society of America Joint Committee on the Prevention of Antimicrobial Resistance: Guidelines for the Prevention of Antimicrobial Resistance in Hospitals. **Infect. Control. Hosp. Epidemiol.**, v. 18, n. 4, p. 275-91, 1997.

SINGH, N.; FALESTINY, P. ROGERS, P. et al. Pulmonary infiltrates in the surgical ICU. **Chest**, v. 114, p. 1129-1136, 1998.

SINGH, N; ROGERS, P.; ATWOOD, C. W. et al. Short-course empiric antibiotic therapy for patients with pulmonary infiltrates in the intensive care unit: a proposed solution for indiscriminate antibiotic prescription. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, v. 162, p. 505-11, 2000.

SINGH, N.; YU, V.L. Rational empiric antibiotic prescription in the ICU. **Chest**, v. 117, n. 5, p. 1496-1499, 2000.

SMULDERS, K.; HOEVEN, H. V. D.; WEERS-POTHOFF, I. Et al. A randomized clinical trial of intermittent subglottic secretion drainage in patients receiving mechanical ventilation. **Chest**, v. 121, p. 858-862, 2002.

TANOWITZ, H. B.; WEISS, L. M., CURRIE, B. P. Rational approaches to antibiotic therapy of ventilator-associated pneumonias. **Crit Care Med.**, v. 29, n. 6, p. 1277-78, 2001.

THUONG, M.; ARVANITI, K.; RUIMY, R.; et al. Epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* and risk factors for carriage acquisition in an intensive care unit. **J. Hosp. Infect.**, v. 53, p. 274-282, feb., 2003.

TROUILLET, J. L.; CHASTRE, J.; VUAGNAT, A. et al. Ventilator-associated pneumonia caused by potentially drug-resistant bacteria. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, v. 157, p. 531-39, 1998.

URLI, T.; PERONE, G.; ACQUAROLO, A. et al. Surveillance of infections acquired in intensive care: usefulness in clinical practice. **J. Hosp. Infect.**, v. 52, p. 130-135, aug., 2002.

VINCENT, J. L. Nosocomial infectious in adult intensive-care units. **Lancet**, v. 361, p. 2068-2077, jun., 2003.

VINCENT, J. L.; BIHARI, D. J., SUTER, P. M., et al. The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. Results of the European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) Study. **J. Am. Med. Assoc.**, v. 278, p. 639-644, 1995.

WARREN, D. K., FRASER, V. J. Infection control measures to limit antimicrobial resistance. **Crit. Care Med.**, v. 29, n. 4, p. S128-134, 2001.

WEINSTEIN, R. A. Controlling antimicrobial resistance in hospitals: infection control and use of antibiotics. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 7, n. 2, p., mar-apr., 2001.

WOODS, D. E. Role of fibronectin in the pathogenesis of Gram-negative bacillary pneumonia. **Rev. Infect. Dis.**, v. 9, suppl. 4, p. 386-390, 1987.

WONG, E. S. The epidemiology of contact transmission: beyond Semmelweis. **Infect. Control Hosp. Epidem.**, v. 21, n. 2, p. 77-79, feb., 2000.

WU, C. L.; YANG, D. L.; WANG, N. Y.; et al. Quantitative culture of endotracheal aspirates in the diagnosis of ventilator-associated pneumonia in patients with treatment failure. **Chest**, v. 122, n. 2, p. 662-668, aug., 2002.

WUNDERINK, R. G. Clinical criteria in the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. **Chest**, v. 117, n. 4, p. S 191-194, apr., 2000a.

_____. Pharmacoeconomics of pneumonia. **Am. J. Surg.**, v. 179, p. S51-57, feb., 2000b.

_____. Radiologic diagnosis of ventilator-associated pneumonia. **Chest**, v. 117, n. 4, p. S188- 190, apr., 2000c.

WUNDERINK, R. G.; WATERER, G. W. Pneumonia complicating the acute respiratory distress syndrome. **Sem. Resp. Crit. Care Med.**, v. 23, n. 5, p. 443-448, 2002.

WUNDERINK, R. G.; WOLDENBERG, L.S.; ZEISS, J. *et al.* The radiologic diagnosis of autopsy-proven ventilator-associated pneumonia. **Chest**, v. 101, p. 458-463, 1992.

ZANON, U.; MARANGONI, D. V. Complicações infecciosas hospitalares. **In:** Schechter, M.; Marangoni, D. V. Doenças Infecciosas. Conduta diagnóstica e terapêutica. 2. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S. A., 1998. p. 96-110.

ANEXOS

ANEXOS

1 LISTA DE PUBLICAÇÕES NO TEMPO REFERENTE AO MESTRADO

1.1 Relacionados à dissertação:

CARNEIRO, M., SARIDAKIS, H.O. Pneumonia associada à ventilação mecânica por *Acinetobacter baumannii* resistente à carbapenem. **Rev Panam Infectol** 2008; 10 (2): em prelo.

CARNEIRO, M.; TANITA, M. T.; BARBOSA, I. P. L.; VESPERO, E. C., SARIDAKIS, H. O. Análise da mortalidade de pneumonia associada à ventilação por *Acinetobacter baumannii* carbapenem resistente. **IN:** VI Congresso Pan-Americano e X Congresso Brasileiro de Infecção e Epidemiologia Hospitalar. Porto Alegre – RS, 2006.

CARNEIRO, M.; BUENO, D. N.; TANITA, M. T.; BARBOSA, I. P. L.; SARIDAKIS, H. O. Pneumonia associada à ventilação mecânica causada por *A. baumannii*: perfil de resistência aos antimicrobianos. **IN:** VI Congresso Pan-Americano e X Congresso Brasileiro de Infecção e Epidemiologia Hospitalar. Porto Alegre – RS, 2006.

CARNEIRO, M.; VESPERO, E.C.; BARBOSA, P.I.P.L.; PERUGINI, M.; TANITA, M.T.; BORGES, L.; BORGES, F.; OBANA, V.Y., NAMI, S.M; HIGACHI, A.; SARIDAKIS, H. O. Perfil de sensibilidade de *Acinetobacter baumannii* em pneumonia associada à ventilação mecânica. **IN.:** XXIII Congresso Brasileiro de Microbiologia. Santos – SP - 2005.

1.2 Não relacionados à dissertação:

PINTO, L. S.; RASERA, K.; CARNEIRO, M.; BENDER, C. F. R.; PIAZZA, J. L. Análise microbiológica da placa bacteriana em pacientes sob ventilação mecânica da unidade de tratamento intensivo adulto: estudo piloto. **IN:** VI Congresso Pan-Americano e X Congresso Brasileiro de Infecção e Epidemiologia Hospitalar. Porto Alegre – RS, 2006.

PINTO, L. S.; RAZERA, K.; CARNEIRO, M. Avaliação bacteriológica do biofilme dentário em pacientes sob o risco de adquirir pneumonia associada à ventilação mecânica em unidade de tratamento intensivo adulto. **IN:** 16º Congresso Odontológico Riograndense. Porto Alegre – RS, 2006.

**Pneumonia associada à ventilação mecânica por *Acinetobacter baumannii*
resistente à carbapenem**

Ventilator-associated pneumonia due to carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*

Marcelo Carneiro

Médico Infectologista. Mestre em Microbiologia. Professor de Infectologia e Microbiologia do Curso de Medicina da Universidade de Santa Cruz do Sul. Coordenador da CCIH do Hospital Santa Cruz – Santa Cruz do Sul – RS – Brasil.

Halha Ostrensky Saridakis

Farmacêutica. Doutora em Microbiologia. Professora do Mestrado em Microbiologia na UEL - Londrina – PR – Brasil.

CARNEIRO M, SARIDAKIS HO

Prof. Marcelo Carneiro, MD, MSc.
Universidade de Santa Cruz do Sul
Curso de Medicina
Hospital Santa Cruz
Comissão de Controle de Infecção Hospitalar
Rua Fernando Abott, 174
Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil, CEP: 96810150
Telefone/fax: 51 3713 7400
marceloc@unisc.br

Abstract

Ventilator-associated pneumonia is one of the most common hospital infections in intensive care units. The abusive use of antibiotics along with a break in routine hygienic hand washing leads to the emergence and spread of multiresistant *Acinetobacter baumannii*. This study reports the descriptive and prospective analysis of a series of cases of patients with ventilator-associated pneumonia due to *Acinetobacter baumannii* resistant to carbapenem that occurred from 2003 to 2005, at Londrina University Hospital – Paraná – Brazil. Of the 21 patients that presented with pneumonia, 61,9% died an average of 6 days after diagnosis. In 31.2%, prior colonization was evident. The mean APACHE score was 27 (\pm 7). It is concluded that despite adequate diagnosis and treatment, mortality is high in this group of patients, possibly due to co-morbidities that raise the APACHE score, making antibiotic treatment difficult.

Key word: Ventilator-associated pneumonia, *Acinetobacter baumannii*, Carbapenem, Infection control, Intensive care unit, pneumonia, Hospital infection

Resumo

A pneumonia associada à ventilação mecânica é uma das infecções hospitalares mais encontradas em unidades de tratamento intensivo. O uso abusivo de antimicrobianos acompanhado com a quebra de rotinas de higienização das mãos ocasiona a emergência e disseminação de *Acinetobacter baumannii* multirresistente. Este estudo relata a análise descritiva e prospectiva de uma série de casos de pacientes com pneumonia associada à ventilação mecânica por *Acinetobacter baumannii* resistente à carbapenem, ocorrida nos anos de 2003 a 2005, no Hospital Universitário de Londrina – Paraná – Brasil. Todos os 21 pacientes que apresentavam pneumonia, 61,9% foram a óbito em média 6 dias após o diagnóstico. Em 31,2% a colonização prévia estava presente. O APACHE médio foi de 27 (\pm 7). Concluiu-se que, apesar do diagnóstico e terapêutica adequada, a mortalidade é alta neste grupo de pacientes, possivelmente, devido a co-morbidades que eleva o APACHE, sendo difícil responsabilizar o agente microbiano.

Palavras Chaves: Pneumonia associada à ventilação mecânica, *Acinetobacter baumannii*, Carbapenem, Controle de infecção, Unidade de tratamento intensivo, Pneumonia, Infecção hospitalar

Introdução

Os pacientes em Unidade de Tratamento Intensivo (UTI) estão suscetíveis à sua própria microbiota, a do ambiente hospitalar, e ainda, expostos a inúmeros procedimentos e medicações, especialmente, antimicrobianos. Quantificar o impacto da resistência aos antimicrobianos é extremamente difícil, sendo um dos aspectos de maior relevância no controle das infecções hospitalares (IH) ⁽¹⁾.

As infecções hospitalares são comumente encontradas em UTI e quando causadas por microrganismos resistentes representam um sério risco de vida, principalmente, pela reduzida taxa de resposta terapêutica, chegando a 60% de mortalidade em pneumonia associada à ventilação mecânica (PAV). A PAV é a mais freqüente infecção hospitalar adquirida em UTI ^(2, 3).

Os bacilos gram-negativos não-fermentadores, como as espécies de *Acinetobacter*, são bactérias aeróbias e não esporuladas. Estes microrganismos são capazes de persistirem em ambientes hospitalares por longos períodos devido à sua escassa exigência nutricional e a manifestação de fatores de virulência. São importantes agentes causadores de infecções em doentes de UTI e, geralmente, associados às infecções do trato respiratório inferior ^(4, 5).

Numerosos surtos de infecção hospitalar por *A. baumannii* têm sido descritos, nas Américas ^(7, 8), na Europa ^(9, 10, 11), na Ásia ^(12, 13, 14) e na África ⁽¹⁵⁾, sendo muitos deles ligados a fatores de risco como o uso de antimicrobianos, o tempo de permanência na unidade de terapia intensiva, uso de ventilação mecânica e a gravidade da doença de

base. A fonte do microorganismo, geralmente, é a ambiental, bem como dos equipamentos de respiração, umidificadores, colchões e travesseiros.

O carbapenem representa a terapêutica antimicrobiana de escolha para tratamento de infecções hospitalares graves causadas por gram-negativos ⁽⁶⁾. *A. baumannii* desenvolve multirresistência aos antimicrobianos de forma extremamente rápida, e mediante variados mecanismos ^(16, 17). Uma vez detectado o fenótipo de múltipla resistência dentro de áreas específicas do hospital, intervenções devem ser adotadas para se reduzir a frequência e evitar novos casos.

A pneumonia associada à ventilação mecânica causada por *Acinetobacter baumannii* multirresistente (PAV por AbMR) está envolvida num contexto problemático mundial e associada com um aumento da morbidade e mortalidade. A Comissão de Controle de Infecção Hospitalar de cada hospital precisa providenciar pistas epidemiológicas para que medidas de controle e uma terapêutica apropriada seja realizada, apesar de poucas opções do mercado de antimicrobianos. Este estudo descreve uma série de casos de PAV por AbMR.

Metodologia

Foi realizado um estudo descritivo, prospectivo de uma série de casos de PAV por AbMR com análise das variáveis epidemiológicas, fatores de risco de aquisição da infecção e análise bacteriológica dos materiais biológicos analisados.

O Hospital Universitário de Londrina (HUL) é um hospital escola de alta complexidade, com 200 leitos e duas UTI de adultos, com capacidade total de 17 leitos mistos, isto é, clínicos e cirúrgicos.

Foram incluídos no estudo 21 pacientes com diagnóstico de PAV por AbMR que estiveram internados na UTI para adultos do HUL, no período de novembro de 2003 até junho de 2005. O critério de admissão no estudo foi apresentar diagnóstico de PAV, realizado pelos médicos intensivistas, da referida unidade e com tratamento baseado em cultura semi-quantitativa do aspirado de secreção pulmonar positiva para *A. baumannii* carbapenem resistente. O diagnóstico de suspeita de PAV ocorreu quando um indivíduo submetido à assistência ventilatória desenvolveu um novo ou progressivo infiltrado pulmonar associado à presença de febre, leucocitose e aumento da secreção brônquica. Foi utilizado para auxiliar no diagnóstico o escore CPIS (*Clinical Pulmonary Infection Score*)^(18, 19) para decisão de início e continuidade da terapia.

As amostras positivas de secreção pulmonar foram consideradas positivas se ocorresse o crescimento maior do que 10^5 UFC/mL. As cepas foram identificadas pelo sistema API 20NE (Bio-Mérieux, Marcy L'Etoile, France). Os perfis de sensibilidade foram realizados conforme padronização do CLSI^(20, 21). Todas as cepas apresentaram resistência aos aminoglicosídeos, cefalosporinas, penicilinas com inibidores de β -

lactamases, quinolonas e carbapenem. As cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 e de *Eschechiria coli* ATCC 25922 e 35218 foram utilizadas como controle de qualidade.

Para identificação da presença de β -lactamases da classe molecular B, ou seja, metalo- β -lactamases foi utilizado o método de Arakawa ⁽²²⁾.

O DNA bacteriano foi amplificado pela técnica de ERIC-PCR (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus), utilizando os primers ERIC1R (5' – GTG AAT CCC CAG GAG CTT ACA T) e ERIC2 (5' – AAG TAA GTG ACT GGG GTG AGC G) ⁽²³⁾.

O comitê de ética em pesquisa, da instituição, aprovou o estudo. Os familiares assinaram o consentimento livre e esclarecido, permitindo a análise e divulgação dos dados.

Resultados

Na UTI, do Hospital Universitário de Londrina, no período do estudo, foi verificado que *A. baumannii* foi agente de maior incidência, aumentando a prevalência de PAV por AbMR para 25,2%, isto é, um acréscimo de 17,2%. A frequência geral de PAV, por todos os agentes, no período foi de 13,4%.

Desta série de 21 casos a média de idade foi de $57,0 \pm 21,4$ anos, sendo 71,4% do gênero masculino. O APACHE médio foi de 27 ± 7 . A causa de internação na UTI foi uma doença de tratamento clínico, inicialmente, em 61,9% dos casos. Contudo, durante o período de estadia na UTI foi realizado algum procedimento cirúrgico em 61,9% dos doentes. Não houve diferenças predominantes entre as co-morbidades. A Tabela 1 demonstra as principais variáveis.

A colonização prévia por AbMR esteve presente em 23,8%, sendo a orofaringe e a traquéia os dois locais mais frequentes. A utilização de antimicrobianos de largo espectro foi comum em 90,5% dos casos, antes do diagnóstico de PAV por AbMR, devido ao tratamento de outra infecção. Em 71,4% dos pacientes ocorreu pelo menos uma IH antes da PAV o que acarretou o tempo de permanência hospitalar em média de $51,3 \pm 24,2$ dias, com pequena variação entre os pacientes que sobreviveram e evoluíram para óbito. A Tabela 2 ilustra as comparações dos tempos de hospitalizações entre os dois grupos.

Em relação ao tempo de entubação endotraqueal a média foi de $18,2 \pm 12,6$ dias antes do diagnóstico de PAV, com tempo total de ventilação mecânica de $26,6 \pm 20,0$ dias. Este resultado caracteriza as pneumonias como do tipo tardia. A taquicardia,

taquipnéia e expectoração endotraqueal purulenta foram os sinais mais evidenciados, no momento do diagnóstico de PAV, nesta série de casos (Tabela 1). Os valores médios de leucócitos totais foram de $14.200 \pm 7940 \text{ mm}^3$. A frequência de insuficiência renal aguda foi de 47,6%, sendo a média de creatinina sérica no dia do diagnóstico de PAV por AbMR de $1,5 \pm 2,1 \text{ mg/dL}$, correspondendo a um clearance de creatinina calculado médio de 39 ± 18 .

Do total de 21 pacientes com PAV por AbMR, 13 (61,9%) evoluíram para o óbito, contudo 11 (84,6%) desses foram relacionados diretamente a PAV por AbMR. A média de idade destes doentes foi de $62,0 \pm 15$ anos e o APACHE médio de 23 ± 5 . Dos 13 óbitos ocorridos, em 5 (38,5%) foi possível modificar a terapêutica antimicrobiana baseada na cultura (Tabela 3).

Os antimicrobianos mais prescritos antes do diagnóstico de PAV foram para tratamento de infecções comunitárias ou hospitalares prévias (carbapenens, cefalosporinas, vancomicina e os derivados de penicilina com inibidores de beta-lactamases).

A escolha do tratamento empírico para a PAV variou entre os grupos de acordo com o desfecho, porém, o antimicrobiano mais utilizado foi a colistina (50,0%), especialmente, no grupo que evoluiu para alta da UTI. A taxa de sobrevivência em 30 dias após alta hospitalar foi de 87,5%.

As cepas de *A. baumannii* apresentaram altos níveis de resistência a todos os antimicrobianos (β -lactâmico, carbapenem, quinolona e aminoglicosídeo). A sensibilidade foi de 100% para colistina e a tigeciclina. As MIC_{50} e MIC_{90} e as

freqüências de sensibilidade e de resistência dos principais antimicrobianos testados estão descritas nas Tabelas 4.

A pesquisa de metalo- β -lactamase, pelo teste de Arakawa, foi negativa em todas as cepas, sugerindo outros mecanismos responsáveis pela multirresistência.

A análise microbiológica, através da técnica molecular baseada no ERIC-PCR, comprovou a presença de apenas 2 clones com alta similaridade. O dendrograma demonstrou a predominância de dois agrupamentos com 100% de similaridade entre si e 60% entre os dois grupos. Os clones não apresentaram preferência em relação a distribuição temporal no período analisado.

Discussão

A ocorrência de infecção hospitalar depende da existência de uma fonte de infecção, da transmissão do agente e da susceptibilidade do paciente. Para prevenir as infecções adquiridas no hospital este ciclo deve ser interrompido. Diversas medidas estão disponíveis para um programa de prevenção de PAV nas UTIs, contudo continua sendo a IH mais freqüente nestes ambientes. Os pacientes ficaram expostos, neste estudo, a diversos medicamentos (principalmente, os antimicrobianos), mãos dos profissionais (microbiota residente e transitória), quebra de barreira cutâneas e mucosas (tubos, sondas, cateteres), favorecendo a colonização pela microbiota da UTI e a possibilidade de desequilíbrio imunológico aumentando a probabilidade de uma infecção⁽²⁵⁻²⁷⁾.

A. baumannii é considerado um patógeno de grande relevância dentro das UTIs pelo alto nível de resistência ao carbapenem e capacidade de adaptação ao meio ambiente hospitalar⁽²⁾. Neste estudo, considerando apenas amostras traqueais a taxa de resistência foi de 29,6%, valores superiores aos encontrados pelo Programa de Vigilância SENTRY, que foram, aproximadamente, de 14%⁽²⁴⁾.

Na análise do índice de gravidade, nas primeiras 24 horas de internação na UTI, verificou-se que a maioria dos casos de PAV por AbMR apresentava índices altos do APACHE II, ou seja, doenças com alta gravidade o que prediz a alta mortalidade destes pacientes, no decorrer da internação hospitalar. Outro fator de impacto foi o estado séptico grave com instabilidade hemodinâmica em 100% dos casos que foram a óbito⁽³²⁾, além do atraso na adequação da terapia antimicrobiana (61,5%), após o resultado

da cultura de secreção traqueal e da insuficiência renal aguda (61,5%)^(33 34). A terapêutica empírica, baseada na epidemiologia local, em PAV por bactérias multirresistentes é crucial para um bom prognóstico⁽²⁸⁾.

Este estudo não foi capaz de confirmar, baseado no pequeno número de casos e do tipo de estudo, que a mortalidade por PAV esteve associada ao AbMR, apesar do evento PAV ter sido a causa básica do óbito (84,6%). Estudos relatam dados semelhantes de mortalidade de PAV por AbMR⁽⁴⁾. A relação entre aumento da mortalidade e PAV por *A. baumannii* é questionável em revisão sistemática, pois não existem estudos com metodologias apropriadas para tais conclusões⁽³⁾.

Outro fator detectado foi o perfil institucional de prescrições médicas, caracterizadas por inúmeras prescrições de carbapenem e sua alta utilização para tratamento, bem como a exposição prévia à cefalosporina de terceira geração que poderiam favorecer a seleção de cepas multirresistentes. A preservação da atividade do carbapenem será de importância prognóstica, pois é a droga de escolha e efetiva para o tratamento destas infecções, quando cepas forem sensíveis. São necessárias algumas medidas: (1) vigilância dos padrões de resistência das cepas isoladas na UTI; (2) controle da utilização de antimicrobianos, especialmente, da classe da cefalosporina; (3) maximização da eficiência antimicrobiana pelo uso de altas doses definidas e (4) ação ativa e contínua da CCIH¹.

Considerando-se custos hospitalares percebeu-se, no estudo, o grande tempo de permanência em ventilação mecânica e, conseqüentemente, em internação hospitalar, o que aumenta a probabilidade de doenças infecciosas hospitalares, aumento dos

insumos hospitalares e uma problemática comum no Brasil que é a contínua falta de leitos em UTI.

A tipagem molecular é uma técnica que pode facilitar o planejamento de medidas efetivas para bloquear os novos casos ⁽²³⁾. Este estudo demonstrou que as cepas resistentes possuíam um perfil clonal, facilitando o controle das infecções através de medidas de barreiras de contato realizadas com presteza e compromisso.

A interação da CCIH com o laboratório de microbiologia é essencial. A investigação de casos de doenças causadas por microrganismos resistentes com a utilização de técnicas simples com custos aceitáveis para confirmação da espécie bacteriana (testes bioquímicos e cepas padrão de boa qualidade), definição da MIC aos antimicrobianos (padronizados por órgãos internacionais atualizados), testes fenotípicos para determinação de mecanismos de resistência e uma técnica de tipagem molecular padronizada é essencial e possível para que os hospitais consigam realizar medidas de controle baseadas em evidências locais.

Com o objetivo de reduzir a incidência de pacientes com a cepa epidêmica, a CCIH do HUL instituiu várias medidas de controle e prevenção. Além da vasta investigação e vigilância microbiológica de pacientes, equipe e ambiente, em todos os casos identificados foram adotadas precauções de contato. Além disso, toda a equipe de saúde envolvida foi submetida a treinamento educacional, específico e contínuo, com reforço das medidas de higiene e desinfecção de equipamentos e superfícies. As orientações referentes à lavagem das mãos tornaram-se mais constantes, ampliadas e

vigiadas. Uma medida de divulgação através de cartazes e boletins informativos foi instituída para alertar todos os profissionais de saúde ^(29, 30).

A vigilância de AbMR, realizada pela CCIH, combinada com o acompanhamento e revisão diária de culturas no laboratório de microbiologia, bem como da utilização racional de antimicrobianos são medidas efetivas para identificarem surtos a tempo de realizar medidas para otimizar e intervir nas condutas adotadas nas UTIs ⁽³¹⁾.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (Prof. Claudia Carrilho), Laboratório de Microbiologia (Prof. Márcia Perugini), Unidade de Tratamento Intensivo Adulto (Prof. Cíntia Grion e Prof. Luciene Cardoso) e ao Serviço de Moléstias Infecciosas (Prof. Ana Maria Bonametti e ao Prof. Marcos Tanita) do Hospital Universitário de Londrina pelo suporte científico a esta pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. Drusano G L. Prevention of resistance: a goal for dose selection for antimicrobial agents. *Clin Infect Dis* 2003; 36: 42 – 50.
2. McGowan JE. Resistance in nonfermenting gram-negative bacteria: multidrug resistance to the maximum. *Am J Infec Control* 2006; 34: 29-37.
3. Falagas ME, Bliziotis IA, Siempos II. Attributable mortality of *Acinetobacter baumannii* infections in critically patients: a systematic review of matched cohort and case-control studies. *Critical care* 2006; 10: 48.
4. Tomas MM, Cartelle M, Pertega S, Beceiro A, Llinares P, Canle D, et al. Hospital outbreak caused by a carbapenem-resistant strain of *Acinetobacter baumannii*: patient prognosis and risk-factors for colonisation and infection. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11: 540-546.
5. Waterer GW, Wunderink RG. Increasing threat of gram-negative bacteria. *Crit Care Med* 2001; 29: 75-81.
6. Giamarellou H. Treatment options for multidrug-resistant bacteria. *Future Drugs* 2006; 4: 601-618.
7. Gonçalves CR, Vaz TMI, Araujo E, Boni RF, Leite D, Irino K. Biotyping, serotyping and ribotyping as epidemiological tools in the evaluation of *Acinetobacter baumannii* dissemination in hospital units, Sorocaba, São Paulo, Brazil *Rev Inst Med Trop S Paulo* 2000; 42: 277-282.
8. Dalla-Costa LM, Coelho JM, Souza HAPHM, Castro MES, Stier CJN, Bragagnolo KL, et al. Outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the OXA-23 Enzyme in Curitiba, Brazil. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 3403-3406.
9. Turton JF, Kaufmann ME, Warner M, Coelho J, Dijkshoorn L, Van der Reijden T, et al. A prevalent, multiresistant clone of *Acinetobacter baumannii* in southeast England. *J Hosp Infect* 2004; article in press.
10. Pournaras S, Markogiannakis A, Ikonomidis A, Kondyli L, Bethimouti K, Maniatis AN, et al. Outbreak of multiple clones of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates expressing OXA-58 carbapenemase in a intensive care unit. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57: 557-561.
11. Agodi A, Zarrilli R, Barchitta M, Anzaldi A, Di Popolo A, Mattaliano A, et al. Alert surveillance of intensive care unit-acquired *Acinetobacter* infections in a Sicilian hospital. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12: 241-247.
12. Akalin H, Ozakin C, Gedikoglu S. Epidemiology of *Acinetobacter baumannii* in a university hospital in Turkey. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2006; 27: 404-408.
13. Guducuoglu H, Durmaz R, Yaman G, Cizmeci Z, Berktaş M, Durmaz B. Spread of a single clone *Acinetobacter baumannii* strain in a intensive care unit of a teaching hospital in Turkey. *New Microbiol* 2005; 28: 337-343.
14. Jeong SH, Bae IK, Park KO, An YJ, Sohn SG, Jang SJ, et al. Outbreaks of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing carbapenemases in Korea. *J Microbiol* 2006; 44: 423-431.

15. Marais E, Jong G, Ferraz V, Maloba B, Duse A G. Interhospital transfer of pan-resistant *Acinetobacter* strains in Johannesburg, South Africa. *Am J Infect Control* 2003; 32: 278-281.
16. Gales AC, Tognim MCB, Reis AO, Jones RN, Sader HS. Emergence of a IMP-like metallo-enzyme in a *Acinetobacter baumannii* clinical strain from a Brazilian teaching hospital. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2003; 45: 77-79.
17. Fillaux J, Dubouix A, Conil JM, Laguerre J, Marty N. Retrospective analysis of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* strains isolated during a 4-year period in a university hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2006; 27: 647-653.
18. Singh N, Rogers P, Atwood CW. Short-course empiric antibiotic therapy for patients with pulmonary infiltrates in the intensive care unit: a proposed solution for indiscriminate antibiotic prescription. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 505-11.
19. The Canadian Critical Care Trials Group. A Randomized Trial of Diagnostic Techniques for Ventilator-Associated Pneumonia. *N Engl J Med* 2006; 355: 2619-2630.
20. Clinical and Laboratory Standard Institute/NCCLS. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Fifteenth Informational Supplement. CLSI/NCCLS document M 100-S15. Wayne, PA, 2005.
21. Andrews JM. BSAC standardized disc susceptibility testing method. *J Antimicrob Chemother* 2001; 48: 43-57.
22. Arakawa Y, Shibata N, Shibayama K, Kurokawa H, Yagi T, Fujiwara H, et al. Convenient test for screening metallo- β -lactamase-producing gram-negative bacteria by using thiol compounds. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 40-43.
23. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV. The molecular typing working group of the society for healthcare epidemiology of America – how to select and interpret molecular strain typing methods for epidemiological studies of bacterial infections: a review for healthcare epidemiologists. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1997; 18: 426-439.
24. Tognim MCB, Andrade SS, Silbert S, Gales AC, Jones RN, Sader HS. Resistance trends of *Acinetobacter* spp in Latin America and characterization of international dissemination of multi-drug resistant strain: five-year report of the SENTRY antimicrobial surveillance program. *Inf J Infect Dis*, 2004; 8: 284-291.
25. Fournier PE, Richet H. The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities. *Clin Infect Dis* 2006; 42: 692-699.
26. Panhotra BR, Saxena AK, Al-Mulhim AS. Contamination of patients files in intensive care units: a indication of strict handwashing after entering case notes. *Am J Infect Control* 2005; 33: 398-401.
27. Sandiumenge A, Diaz E, Rodriguez A, Vidaur L, Canadell L, Olona M, et al. Impact of diversity of antibiotic use on the development of antimicrobial resistance. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57: 1197-1204.

28. Garnacho-Montero J, Ortiz-Leyba C, Jiménez-Jiménez FJ, Barrero-Almodóvar AE, García-Garmendia JL, Bernabeu-Wittell M, et al. Treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* ventilator associated pneumonia (VAP) with intravenous colistin: a comparison with imipenem-susceptible VAP. *Clin Infect Dis* 2003; 36: 1119-1121.
29. Chou T, Alban J, Malow J. Lessons Learned in Controlling an *Acinetobacter* outbreak. *Am J Infect Control* 2006; 34: E97-E98.
30. D'Agata E, Thayer V, Schaffner W. An Outbreak of *Acinetobacter baumannii*: the importance of cross-transmission. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2000; 21: 588-591.
31. Podnos YD, Cinat ME, Wilson SE, Cooke J, Gornick W, Thrupp LD. Eradication of multi-drug resistant *Acinetobacter* from an intensive care unit. *Surg Infect* 2001; 2: 297-301.
32. Schrier RW, Wang W. Acute renal failure and sepsis. *N Engl J Med* 2004; 351: 159-169.
33. Dummer, CD, Elvino JGB. Insuficiência renal aguda: revisão. *Rev HCPA* 2006; 26: 29-39.
34. Biesen WV, Vanholder R, Lameire N. Defining acute renal failure: RIFLE and beyond. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006: 1314-1319

Tabela 1 – Características clínicas dos 21 pacientes com PAV por AbMR, no período de 2003-2005, no HUL, Londrina, Brasil

Variáveis	
Média de Idade (anos \pm DP)	57,0 \pm 21,4
Sexo Masculino	15 (71,4%)
APACHE (média/DP)	21 \pm 7
Diagnóstico Internação	
Pneumopatia	4 (19,0%)
Trauma	6 (28,6%)
Cirurgia	2 (9,5%)
Malignidade	4 (19,0%)
Sepse de Foco Urinário	3 (14,3%)
Outros	2 (9,6%)
Pacientes Submetidos à Cirurgia	13 (61,9%)
Co-morbidades	15 (71,4%)
Doença Pulmonar Crônica	2 (13,3%)
Diabetes Mellitus	4 (26,7%)
Cardiopatía	4 (26,7%)
Imunodepressão	3 (20,0%)
Outros	2 (13,3%)
Tempo médio de internação hospitalar (dias \pm DP)	51,3 \pm 24,2
Antimicrobianos prévios antes do diagnóstico de PAV por AbMR	19 (90,5%)
Tempo médio de Ventilação Mecânica (dias \pm DP)	26,6 \pm 20,0
Tempo médio de Entubação antes do diagnóstico de PAV por AbMR (dias \pm DP)	18,2 \pm 12,6
Colonização prévia por AbMR antes do diagnóstico de PAV	5 (23,8%)
Orofaringe	2 (40,0%)
Secreção traqueal	2 (40,0%)
Swab retal	1 (20,0%)
Sinais e sintomas no momento do diagnóstico de PAV por AbMR	
Hipertermia	4 (19,0%)
Hipotermia	5 (23,8%)
Taquicardia	16 (76,2%)
Taquipnéia	16 (76,2%)
Hipotensão	4 (19,0%)
Broncoaspiração	1 (4,8%)
Expectoração endotraqueal purulenta	14 (66,7%)
Leucócitos totais (média \pm DP/mm ³)	14.260 \pm 7940
Creatinina sérica (média \pm DP/mg/dL)	1,5 \pm 2,1
Outra Infecção Hospitalar além da PAV	15 (71,4%)
Óbito geral no período do estudo	13 (61,9%)
Óbito relacionado à PAV por AbMR	11 (84,6%)

Tabela 2 – Tempo de hospitalização dos 21 pacientes com PAV por AbMR, separados por desfecho clínico, no período de 2003-2005, no HUL, Londrina, Brasil

	Pacientes que foram à óbito (n = 13)		Pacientes que sobreviveram (n = 8)	
	Média	DP	Média	DP
Tempo de hospitalização (dias)	41,2	20,1	67,9	21,8
Tempo de hospitalização antes da admissão na UTI (dias)	7,0	6,8	3,0	4,9
Tempo de hospitalização em UTI antes da PAV (dias)	15,9	11,1	21,3	14,1
Tempo diagnóstico de PAV e óbito (dias)	6,0	5,9	-	-

* P> 0,05

Tabela 3 – Características epidemiológicas dos 21 pacientes com PAV por AbMR, divididos por desfecho clínico, no período de 2003-2005, no HUL, Londrina, Brasil

Variáveis	Pacientes que foram à óbito (n = 13)		Pacientes que sobreviveram (n = 8)	
	N	%	N	%
Outra Infecção Hospitalar além da PAV por AbMR	8	61,5	7	87,5
Colonização prévia por AbMR	3	23,1	2	25,0
Procedimento cirúrgico	7	53,8	6	75,0
PAV por AbMR acompanhada com choque séptico	4	30,8	0	0,0
Insuficiência renal aguda	8	61,5	2	25,0
Uso de antimicrobiano prévio à PAV por AbMR				
Ampicilina-sulbactam	3	23,1	2	25,0
Piperacilina-tazobactam	5	38,5	4	50,0
Carbapenem	12	92,3	7	87,5
Vancomicina	12	92,3	7	87,5
Cefepime	9	69,2	7	87,5
Tratamento para PAV por AbMR				
Colistina	1	7,7	4	50,0
Carbapenem	0	0	1	12,5
Ampicilina-sulbactam	2	15,4	1	12,5
Sulfametoxazol-trimetropim	2	15,4	2	25,0
Óbito antes da adequação terapêutica baseada na cultura da secreção traqueal	8	61,5	-	-

Tabela 4 – Distribuição da potência antimicrobiana e espectro de atividade dos agentes testados, nas 29 amostras de AbMR, determinados por testes de diluição em ágar, no HUL, Londrina, Brasil

Antimicrobianos	MIC ($\mu\text{g/mL}$)			Sensível (%)	Pontos de corte de sensibilidade ($\mu\text{g/mL}$)
	Variação	MIC ₅₀ ^a ($\mu\text{g/mL}$)	MIC ₉₀ ^b ($\mu\text{g/mL}$)		
ampicilina/sulbactam	16 ~>128	128	128	0	$\leq 8/4$
cefepime	>128	> 128	> 128	0	≤ 8
colistina	2 ~ \geq 4	4	4	100%	≤ 4
imipenem	8 ~> 64	64	> 64	0	≤ 4
meropenem	64	64	64	0	≤ 4
tigeciclina	2	2	2	100%	≤ 2

^a Concentração inibitória mínima determinada pela técnica de microdiluição em ágar. Foram definidas como MIC₅₀ e MIC₉₀ a concentração de antimicrobiano capaz de inibir 50 e 90% das amostras, respectivamente.

^b Percentagem de sensibilidade e resistência foi calculada de acordo com os limites estabelecidos pelo CLSI, exceto a colistina e tigeciclina.

£ Outras penicilinas com inibidores de β -lactamases, cefalosporinas e aminoglicosídeos não foram acrescentadas no quadro devido a resistência alta verificada, sem valor interpretativo.

Occurrence of a multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clone in an adult intensive care unit in an university hospital in Parana, Brazil

Marcelo Carneiro, MD, MSc^{a, c}

Paula Barbosa^b

Eliana Carolina Vespero, Pharm, MSc^a

Maria Cristina Bronharo Tognin, Pharm, PhD^c

Halha Ostrensky Saridakis, Pharm, PhD^a

^aLaboratório de Bacteriologia, Universidade Estadual de Londrina – Paraná – Brasil

^bLaboratório Especial de Microbiologia Clínica, Universidade Federal de São Paulo – São Paulo – Brasil

^cDepartamento de Microbiologia, Universidade Estadual de Maringá – Paraná – Brasil

^dComissão de Controle de Infecção Hospitalar do Hospital Santa Cruz, Universidade de Santa Cruz do Sul – Rio Grande do Sul - Brasil

Prof. Marcelo Carneiro, MD, MSc
Rua Thomaz Flores, 887 ap. 301
CEP 96 810 090
Santa Cruz do Sul – RS – Brasil
marceloc@unisc.br

Abstract

Introduction: The treatment of infections caused by *Acinetobacter baumannii* is limited due to the high rates of resistance to carbapenems.

Objectives: The aim of the study was to determine, using ERIC-PCR, the existence of multidrug-resistant clones of *A. baumannii* isolated from patients and environment of an intensive care unit at University Hospital of Londrina, Parana, Brazil.

Methods: The disk diffusion technique was used to determine the drug sensitivity profile of bacterial specimens. The strains were typed by ERIC-PCR. The method of Arakawa was used to assay for metallo- β -lactamase production.

Results: A total of 29 tracheal and environmental specimens of carbapenem-resistant *A. baumannii* were obtained by bacteriological methods. All of the specimens were found to be sensitive to colistin and tigecycline. Assays for metallo- β -lactamases were negative in all the specimens analyzed. A dendrogram analysis for ERIC-PCR findings demonstrated a predominance of two groupings each with 100% similarity and 60% between them.

Conclusions: The negative results of tests for metallo- β -lactamases suggest that other mechanisms of resistance to carbapenem are involved. Complimentary studies are needed to clarify such notion. The molecular identification of clones with high resistance to carbapenem is important for infection control in adult intensive care units. The utilization of ERIC-PCR was rapid and easy to perform, allowing the unit team to carry out measures for controlling hospital infection.

Key words: multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii*; colistin; tigecycline; ventilation-associated pneumonia.

Introduction

Acinetobacter baumannii is one of the non-fermenting gram-negative bacilli with a high impact in adult intensive care units (ICU) and an important agent in pneumonia in Latin America.¹

Numerous outbreaks of hospital infections by *A. baumannii* have been described in the Americas,²⁻⁴ Europe,⁵⁻⁷ Asia^{8,9} and Africa,¹⁰ where many were related to risk factors such as prior use of antibiotics, prolonged stay in ICU, use of mechanical ventilation and severity of underlying disease. Other conditions are the contamination of the environment, the respiration equipment, humidifiers, mattresses and pillows. The cross transmission among patients, mainly through hands of the hospital staff and via contaminated objects is one of the primary factors for the persistence and dissemination of infectious strains.^{11,12}

Hospital infections (HI) that occur in ICUs are caused by drug-resistant microorganisms and represent a serious life-threatening risk with reduced therapeutic response and mortality rates of 60% in ventilator-associated pneumonia (VAP).^{13,14}

A. baumannii develops multidrug-resistance to antibiotics in an extremely rapid manner and by means of various mechanisms. Resistance can result from the modification of the antibiotic target, or from the deviation in the function of the target, or due to drug impermeability, efflux or enzymatic inactivation.¹⁵ Resistance to carbapenems can be due to the production of β -lactamases, reduced permeability of the outer membrane caused by loss or reduced expression of porins, overexpression of efflux pumps and alterations in penicillin-binding proteins. The reports of resistance to carbapenems, active antibiotics against this agent, have become increasingly frequent.¹⁶

The utilization of molecular typing methods is justified by the diversity of strains and for serving as evidence for the recognition of predominant strains in specific environments. The Committee for Control of Hospital Infections (CCH) utilizes such information for the adoption of appropriate interventions to prevent the spread and persistence of multidrug-resistant *A. baumannii* (MDR-Ab) in the hospital environment.^{17,18}

Methods

Casuistics

The University Hospital of Londrina (UHL) is teaching hospital of great complexity, with 200 beds and two ICUs for adults, with a total capacity of 17 beds, that is, clinical and surgical.

The study included 17 patients diagnosed with VAP by MDR-Ab who were admitted to the ICU for adults of UHL, during the period of November, 2003 up to 2005. All of the individuals showed negative cultures on admission to the unit; that is, hospital infections were acquired in the ICU. The criteria for enrollment in the study were VAP diagnosed by ICU physicians and treatment based on semi-quantitative culture of the aspirate of pulmonary secretion positive for MDR-Ab. The index was detected in April, 2003. The diagnosis for suspect of VAP occurred when an individual submitted to ventilatory assistance developed a new or progressive pulmonary infiltrate associated with fever, leukocytosis and increase in bronchial secretion. As a diagnostic aid, the CPIS (*Clinical Pulmonary Infection Score*)¹⁹ score was utilized for deciding on the initiation or continuation of therapy.

For general analysis, 12 environmental specimens were added, obtained during the same period, from the ICU where the 17 patients had been admitted.

Bacterial strains

A total of 29 strains of MDR-Ab were studied, where 17 were of pulmonary origin and 12 of environmental origin. The 17 specimens of human origin were isolated from tracheal secretions. A bacterioscopy was performed by the Gram method and semi-quantitative culture of the tracheal aspirate was considered positive when there was

growth of $\geq 10^5$ CFU/ml.¹⁹ The strains of *A. baumannii* isolated were identified by the API 20 NE system (Bio-Merieux, Marcy L'Etoile, France) and an additional test was performed for confirming the identification of the species by growth at 40° C. The strains were stored at -20°C, in BHI broth with 20% glycerol.

Drug sensitivity tests

Antibiotic sensitivity profiles were defined utilizing the disk diffusion technique. Minimal inhibitory concentrations (MIC) were determined based on the guidelines of the CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*),²⁰ in Müller-Hinton agar, confirming automated techniques previously carried out (*Microscan*). The cut-off points for sensitivity and resistance for *A. baumannii*, utilized in this study were approved by the CLSI.²⁰ The standards for tigecycline sensitivity utilized were those recommended by Jones et al. (2007),²¹ while those for colistin were from the *British Society for Antimicrobial Chemotherapy Guidelines* (BSAC).²²

The strains of *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Eschechiria coli* ATCC 25922 and 35218 were utilized for quality control.

Phenotypic detection of metallo-β-lactamases

The detection of metallo-β-lactamases in particular was determined due to presence of the SPM-type enzyme in specimens of *Pseudomonas aeruginosa* in our institution based on a study by Gales, et al. (2003).²³

The presence of β-lactamases of the B molecular class, that is, metallo-β-lactamases, was determined utilizing the method of Arakawa.²⁴

Molecular methods

Bacterial DNA was amplified by the ERIC-PCR (enterobacterial repetitive intergenic consensus) technique, employing the primers ERIC1R (5' – GTG AAT CCC CAG GAG CTT ACA T) and ERIC2 (5' – AAG TAA GTG ACT GGG GTG AGC G).²⁵ The band patterns were photographed and analyzed using the Bionumerics program (*Applied Mathematics, Kortrijk, Belgium*). Groupings were made with the help of the UPGMA (*unweighted pair-group method with arithmetic mean*) and Jaccard coefficient (J).²⁶

Results and Discussion

A. baumannii is considered a pathogen of great importance in ICUs due to the high level of resistance to carbapenems and its capacity to adapt to the hospital environment.²⁷ In the period analyzed, the general frequency of MDR-Ab in cultures of the ICU was 36.6%, but only 29 of them were recovered adequately and analyzed. Comparing this frequency with data from the Vigilance Program SENTRY, which indicated approximately 14%,²⁸ the incidence at our hospital was greater, which justifies the more detailed study of these strains. Figure 1 summarizes the general characteristics of the sample evaluated.

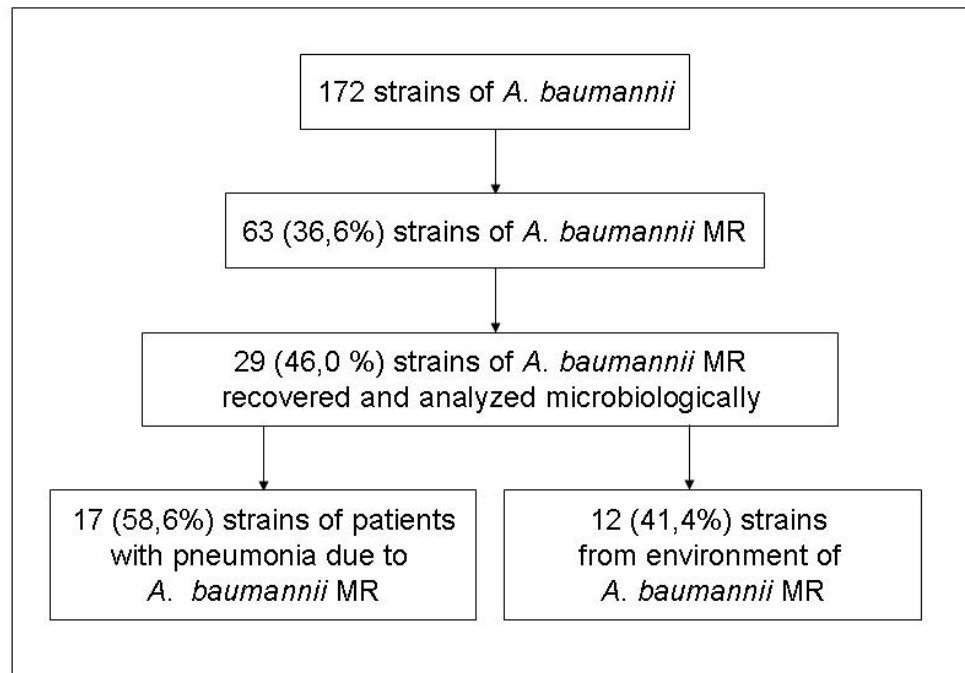


Figure 1 – General characteristics of the specimens analyzed from UHL, Londrina, Brazil

In the 29 strains of *A. baumannii* examined, resistance was demonstrated for the all antibiotics, including the carbapenems, imipenem and meropenem, according to the CLSI.²⁰ All the *A. baumannii* strains were inhibited *in vitro* by colistin ≤ 4 mg/L ($MIC_{50} \leq 2$ mg/L and $MIC_{90} \leq 2$ mg/L) and tigecycline ≤ 2 mg/L ($MIC_{50} \leq 1$ mg/L e $MIC_{90} \leq 2$ mg/L), demonstrating a high sensitivity to both in 100% of strains.

The production of metallo- β -lactamases is an emerging mechanism for resistance to carbapenems in non-fermenting gram-negative bacteria.¹⁴ An analysis for these enzymes by the method of Arakawa²⁴ was negative in all the strains, despite the existence of this enzyme in *Pseudomonas aeruginosa* in the UHL.²³ Therefore, it appears that other mechanisms of resistance are involved, which need to be elucidated

my means of complementary studies; oxacilinases have been implicated in resistance to carbapenems in Brazil,³ as well as in other countries.⁶

Molecular typing is a technique that can facilitate the planning of effective measures for blocking the occurrence of new cases of infection. ERIC-PCR demonstrated the presence of only 2 clones. Dendrogram analysis showed the predominance of two groupings each with 100% similarity and 60% between the two groups. Clone 1 comprised the majority of the environmental and tracheal strains, 69% of the specimens, as shown in Figure 2. This study demonstrated that the resistant strains had a clonal profile, facilitating the control of infections and providing important information for implementing guidelines for preventing the spread of infection, because barrier measures can be effective if established with promptness and commitment.^{18,30}

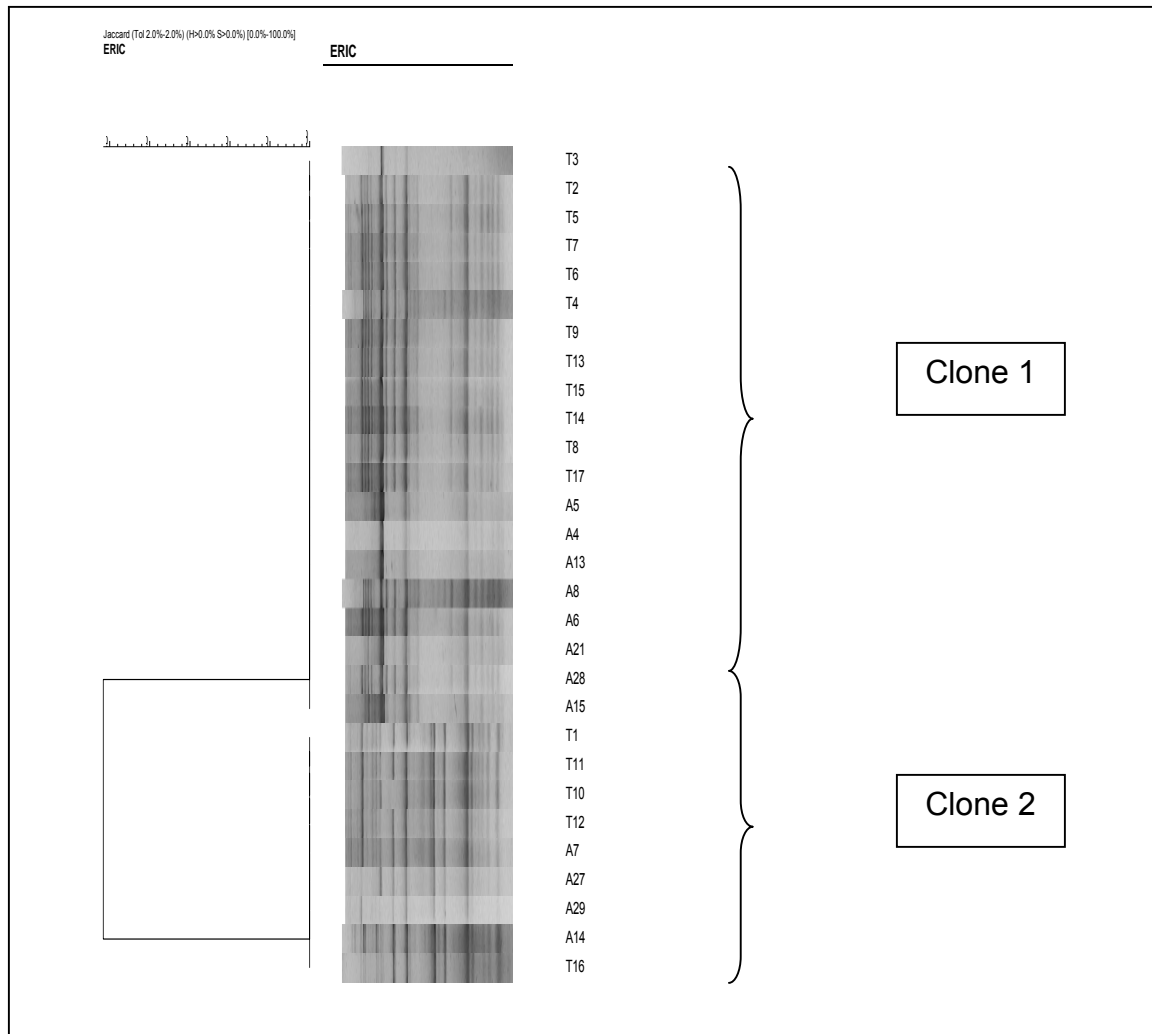


Figure 2 – Dendrogram of the strains from UHL, Londrina, Brazil

The occurrence of hospital infections depends on the existence of a source of infection, transmission of the agent and the susceptibility of the patient. To prevent acquired infections in the hospital, this cycle must be interrupted. Despite the availability of various measures for the prevention of VAP, its incidence is high in ICUs due to the grave conditions of the patients on admission. That is, the need for numerous invasive procedures to increase chances of survival is often essential. The patients in this study

were predisposed to exposure to various medications (antibiotics), hands of professional staff (resident and transient microbiota), and breaks in cutaneous and mucosal barriers (tubes, probes, catheters), favoring colonization by the microbiota of ICU and the possibility of immunological imbalance augmenting the chance of infection.^{11,12,16}

Prior utilization of antibiotics, before diagnosis of VAP, was common in 90.5% of the patients in the study. The antibiotics most prescribed before diagnosis of VAP were for the treatment of previous community or hospital infections (carbapenem, cephalosporin, vancomycin and derivatives of penicillin with β -lactamase inhibitors). Previous colonization by MDR-Ab was noted in 30% of the cases before diagnosis of VAP.

Treatment of patients with VAP caused by MDR-Ab was carried out with colistin in 62.5%, with 20% mortality despite adequate treatment. The survival rate at 30 days after discharge was 87.5%. The relation between increased mortality and VAP due to *A. baumannii* is questionable based on a systematic review because of the lack of studies using appropriate methods for such conclusions.¹³

One relevant factor was the institutional profile of the drug prescription analyzed in this period, characterized by numerous prescriptions for carbapenems and their utilization for the treatment of other infections, as well as prior exposure to third generation cephalosporins which could have favored the selection of multidrug-resistant stains.^{5,14}

Conclusions

The molecular method of ERIC-PCR is rapid, easy to perform, low-cost and useful in providing information for making decisions on the existence of MDR-Ab strains. The CCIH instituted a state of alert to reduce the spread and incidence of new cases colonized and/or infected, and to take measures for the control and prevention of multidrug-resistant microorganisms. Routine vigilance cultures were established for the hospital teams, patients and environment, besides precautions with contact with and isolation of cases in private or semi-private rooms. This vigilance combined with a program for the vigilance of antibiotics was an effective measure.³⁰ In addition, a specific and continuous educational training was established for the hospital community, with emphasis on hygienic handling and disinfection measures regarding equipment and surfaces. There was constant awareness of guidelines for hand washing, which were extended and monitored.^{11,17,18,29}

Acknowledgements

The writers thanks the Prof. Márcia Perugini, Prof. Ana Maria Bonametti, Prof. Cláudia M. M. D. Carrilho, Prof. Florister Carrara and Prof. Marcos T. Tanita, for their support in this research. We also thank A. Levya for translation and editing help with the manuscript.

References

1. Sader, HS, Jones, RN, Gales, AC. SENTRY antimicrobial surveillance program report: Latin American e Brazilian results for 1997 through 2001. *Braz J Infect Dis* 2004; 8 (1): 25-79.
2. Gonçalves CR, Vaz TMI, Araujo E, Boni RF, Leite D, Irino K. Biotyping, serotyping and ribotyping as epidemiological tools in the evaluation of *Acinetobacter baumannii* dissemination in hospital units, Sorocaba, São Paulo, Brazil *Rev Inst Med Trop S Paulo* 2000; 42:277-282.
3. Dalla-Costa LM, Coelho JM, Souza HAPHM, Castro MES, Stier CJN, Bragagnolo KL, et al. Outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the OXA-23 Enzyme in Curitiba, Brazil. *J Clin Microbiol* 2003; 41:3403-3406.
4. Gales AC, Tognim MCB, Reis AO, Jones RN, Sader HS. Emergence of a IMP-like metallo-enzyme in a *Acinetobacter baumannii* clinical strain from a Brazilian teaching hospital. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2003; 45:77-79.
5. Turton JF, Kaufmann ME, Warner M, Coelho J, Dijkshoorn L, Van der Reijden T, et al. A prevalent, multiresistant clone of *Acinetobacter baumannii* in southeast England. *J Hosp Infect* 2004; article in press.
6. Pournaras S, Markogiannakis A, Ikonomidis A, Kondyli L, Bethimouti K, Maniatis AN, et al. Outbreak of multiple clones of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates expressing OXA-58 carbapenemase in an intensive care unit. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57:557-561.
7. Garnacho-Montero J, Ortiz-Leyba C, Jiménez-Jiménez FJ, Barrero-Almodóvar AE, García-Garmendia JL, Bernabeu-Wittell M, et al. Treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* ventilator associated pneumonia (VAP) with intravenous colistin: a comparison with imipenem-susceptible VAP. *Clin Infect Dis* 2003; 36:1119-1121.
8. Akalin H, Ozakin C, Gedikoglu S. Epidemiology of *Acinetobacter baumannii* in a university hospital in Turkey. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2006; 27:404-408.
9. Jeong SH, Bae IK, Park KO, An YJ, Sohn SG, Jang SJ, et al. Outbreaks of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing carbapenemases in Korea. *J Microbiol* 2006; 44:423-431.
10. Marais E, Jong G, Ferraz V, Maloba B, Duse A G. Interhospital transfer of pan-resistant *Acinetobacter* strains in Johannesburg, South Africa. *Am J Infect Control* 2003; 32: 278-281.
11. Fournier PE, Richet H. The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities. *Clin Infect Dis* 2006; 42:692-699.
12. Panhotra BR, Saxena AK, Al-Mulhim AS. Contamination of patients files in intensive care units: an indication of strict handwashing after entering case notes. *Am J Infect Control* 2005; 33:398-401.

13. Falagas ME, Bliziotis IA, Siempos II. Attributable mortality of *Acinetobacter baumannii* infections in critically patients: a systematic review of matched cohort and case-control studies. *Critical Care* 2006; 10:R48.
14. Tomas MM, Cartelle M, Pertega S, Beceiro A, Llinares P, Canle D, et al. Hospital outbreak caused by a carbapenem-resistant strain of *Acinetobacter baumannii*: patient prognosis and risk-factors for colonisation and infection. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11:540-546.
15. Livermore DM. The impact of carbapenemases on antimicrobial development and therapy. *Curr Opin Investig Drugs* 2002; 3: 218-24.
16. Sandiumenge A, Diaz E, Rodriguez A, Vidaur L, Canadell L, Olona M, et al. Impact of diversity of antibiotic use on the development of antimicrobial resistance. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57:1197-1204.
17. Fillaux J, Dubouix A, Conil JM, Laguerre J, Marty N. Retrospective analysis of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* strains isolated during a 4-year period in a university hospital. *Infect control Hosp Epidemiol* 2006; 27:647-653.
18. Chou T, Alban J, Malow J. Lessons Learned in Controlling an *Acinetobacter* outbreak. *Am J Infect Control* 2006; 34:E97-E98.
19. Singh N, Rogers P, Atwood CW. Short-course empiric antibiotic therapy for patients with pulmonary infiltrates in the intensive care unit: a proposed solution for indiscriminate antibiotic prescription. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 505-11.
20. Clinical and Laboratorial Standard Institute/NCCLS. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Fifteenth Informational Supplement. CLSI/NCCLS document M 100-S17. Wayne, PA, 2007.
21. Jones RN, Ferraro mj, Reller LB, Schreckenberger PC, et al. Multicenter studies of tigecycline disk diffusion susceptibility results for *Acinetobacter spp.* *J Clin Microbiol* 2007; 45: 227-230.
22. Andrews JM. BSAC standardized disc susceptibility testing method. *J Antimicrobial Chemother* 2005; 56: 60-76.
23. Gales, AC, Menezes IC, Silbert S, Sader HS. Dissemination in distinct Brazilian regions of an epidemic carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing SPM metallo- β -lactamase. *J Antimicrobial Chemother* 2003; 52: 699-702.
24. Arakawa Y, Shibata N, Shibayama K, Kurokawa H, Yagi T, Fujiwara H, et al. Convenient test for screening metallo- β -lactamase-producing gram-negative bacteria by using thiol compounds. *J Clin Microbiol* 2000; 38:40-43.
25. Versalovic J, Koueth T, Lupski JR. Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes. *Nucleic Acids Res.*, 19: 6823-31, 1991.
26. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV. The molecular typing working group of the society for healthcare epidemiology of america – how to

- select and interpret molecular strain typing methods for epidemiological studies of bacterial infections: a review for healthcare epidemiologists. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1997; 18: 426-439.
27. Wroblewska MM, Rudnicka J, Marchel H. Multidrug-resistance bacteria isolated from patients hospitalised in intensive care units. *Int J Antimicrob Agents* 2006; 27: 285-289.
 28. Tognim MCB, Andrade SS, Silbert S, Gales, AC, Jones, RN, Sader, HS. Resistance trends of *Acinetobacter* spp in Latin America and characterization of international dissemination of multi-drug resistant strain: five-year report of the SENTRY antimicrobial surveillance program. *Int J Inf Dis*, 2004; 8: 284-291.
 29. D'Agata E, Thayer V, Schaffner W. An Outbreak of *Acinetobacter baumannii*: the importance of cross-transmission. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2000; 21: 588-591.
 30. Pfaller MA, Acar, J, Jones, RN, Verhoef J, Turnidge J, Sader HS. Integration of molecular characterization of microorganisms in a global antimicrobial resistance surveillance program. *Clin Inf Dis* 2001; 32: S156-S167.