

ANGELA VON NOWAKONSKI

**VIGILÂNCIA LABORATORIAL DE BACTERIEMIAS POR
MICRORGANISMOS GRAM NEGATIVOS EM PACIENTES
ADULTOS INTERNADOS NO HOSPITAL DAS CLÍNICAS –
UNICAMP NO PERÍODO DE 2000-2004:**

Implicação do uso de antimicrobianos selecionados no perfil de
resistência destes microrganismos

CAMPINAS

2007

ANGELA VON NOWAKONSKI

**VIGILÂNCIA LABORATORIAL DE BACTERIEMIAS POR
MICRORGANISMOS GRAM NEGATIVOS EM PACIENTES
ADULTOS INTERNADOS NO HOSPITAL DAS CLÍNICAS –
UNICAMP NO PERÍODO DE 2000-2004:**

Implicação do uso de antimicrobianos selecionados no perfil de
resistência destes microrganismos

*Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-Graduação
da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade
Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestre
em Ciências Médicas, área de concentração em
Patologia Clínica.*

ORIENTADORA: PROFA. DRA. ANGÉLICA ZANINELLI SCHREIBER

CO-ORIENTADOR: PROF. DR. PLÍNIO TRABASSO

CAMPINAS

2007

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DA
UNICAMP**

Bibliotecário: Sandra Lúcia Pereira – CRB-8ª / 6044

N86v	<p>Nowakonski, Ângela Von Vigilância laboratorial de bacteriemias por microrganismos gram negativos em pacientes adultos internados no Hospital das Clínicas – UNICAMP no período de 2000-2004: implicação do uso de antimicrobianos selecionados no perfil de resistência destes microrganismos / Ângela Von Nowakonski. Campinas, SP : [s.n.], 2006.</p> <p style="text-align:center">Orientadores : Angélica Zaninelli Schreiber, Plínio Trabasso Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.</p> <p style="text-align:center">1. Bacteriemia. 2. Cefalosporinas. 3. Bactérias Gram - Negativas. 4. Infecção hospitalar. I. Schreiber, Angélica Zaninelli. II. Trabasso, Plínio. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.</p>
------	---

Título em inglês : Five year evaluation of cefalosporins and quinolones susceptibility patterns of Gram negative bacteria isolated from blood cultures at a Brazilian university hospital

Keywords: • Bacteriemia
• Cefalosporins
• Gram Negative-Bacteria
• Hospital infection

Área de concentração : Patologia Clínica

Titulação: Mestrado Ciências Médicas

**Banca examinadora: Profa. Dra. Angélica Zaninelli Schreiber
Profa. Dra. Maria Cecília Barisson Villares
Profa. Dra. Maria Patelli Juliani Souza Lima**

Data da defesa: 05/02/2007

Banca examinadora da Dissertação de Mestrado

Orientador(a): Prof(a). Dr(a). Angélica Zaninelli Schreiber

Membros:

1. Profa. Dra. Angélica Zaninelli Schreiber – 

2. Profa. Dra. Maria Patelli Juliani Souza Lima – 

3. Profa. Dra. Maria Cecília Barisson Villares – 

Curso de pós-graduação em Ciências Médicas, da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 05/02/2007

DEDICO ESTE TRABALHO...

a Deus, pela eterna proteção

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora: Profa. Dra. Angélica Zaninelli Schreiber pela ajuda inestimável e pela paciência nos momentos de angústia.

A profa. Dra. Maria Cecília B. Villares pelo encorajamento.

Aos docentes do Departamento de Patologia Clínica - FCM pelo incentivo.

A Helymar C. Machado pela análise estatística.

Aos funcionários do Laboratório de Microbiologia Clínica – DPC - HC pela compreensão devido à ausência e pelo estímulo.

A Dr. Arnaldo Stelini por relevar as inúmeras ausências.

Aos meus pais por me perdoarem meu afastamento involuntário.

	<i>PÁG.</i>
RESUMO	<i>xii</i>
ABSTRACT	<i>xiv</i>
1- INTRODUÇÃO	16
1.1- Conceitos relacionados à presença de bactérias na corrente sanguínea	17
1.2- Principais patógenos envolvidos	19
1.2.1- Bacilos Gram Negativos.....	20
1.3- Diagnóstico laboratorial	22
1.4- Tratamento	24
1.4.1- Mecanismo de ação dos antimicrobianos.....	25
1.4.2- Mecanismos de resistência.....	26
1.5- Perspectivas	27
2- OBJETIVOS	29
3- MATERIAIS E MÉTODOS	31
3.1- Pacientes	32
3.2- Hemoculturas	32
3.3- Isolamento dos agentes causais	33
3.4- Identificação e antibiograma	33
3.5- Coleta de dados dos pacientes e do consumo de antimicrobianos	33
3.6- Avaliação estatística	33
4- RESULTADOS	35
4.1- Microrganismos mais frequentemente isolados	36

4.2- Consumo dos antimicrobianos selecionados e resistência dos microrganismos “in vitro”	39
5- DISCUSSÃO	52
6- CONCLUSÕES	58
7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60
8- ANEXOS	66
Anexo 1- Microrganismos Gram negativos isolados a partir de hemoculturas coletadas de pacientes adultos atendidos no HC-UNICAMP no período de 2000-2004.....	67
Anexo 2- Consumo de antimicrobianos selecionados no HC-UNICAMP, no período de 2000-2004.....	67
Anexo 3- Dados de resistência frente às drogas em estudo nos anos de 2000 a 2004.....	68
Anexo 4- Cepas produtoras de ESBL.....	70

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

Português Inglês

CCIH	-	Comissão de controle de infecção hospitalar
-	ESBL	Beta lactamase de espectro estendido
-	DDD	Dose diaria definida
FCM	-	Faculdade de Ciências Médicas
HC	-	Hospital de Clínicas
-	PBP	Proteínas que se ligam a Penicilina
-	PVPI	Iodo povidina
-	SHV1	Denominação de enzima que confere β Lactamase
-	TEM	Denominação de enzima que confere β Lactamase

	<i>PÁG.</i>
Tabela 1- Hemoculturas positivas com isolamento de todos os patógenos coletadas de pacientes adultos e pediátricos internados no HC-UNICAMP no período de 2000 a 2004.....	27
Tabela 2- Frequência geral de microrganismos Gram negativos isolados de 3908 hemoculturas de pacientes adultos no período de 2000-2004..	36
Tabela 3- Microrganismos mais frequentemente isolados de hemoculturas de pacientes adultos no período 2000-2004 e objetos deste estudo.....	37
Tabela 4- Percentagem de isolamento dos microrganismos em estudo a partir de hemoculturas solicitadas por diferentes especialidades do HC-UNICAMP que atendem pacientes adultos, no período de 2000-2004.....	38

		PÁG.
Figura 1-	Comparação das porcentagens dos microrganismos mais freqüentemente isolados de hemoculturas de pacientes adultos no período 2000-2004.....	37
Figura 2-	Consumo de cefalosporinas de 3 ^a geração, cefalosporinas de 4 ^a geração e quinolonas no HC Unicamp no período de 2000-2004.....	39
Figura 3-	Análise de tendência do consumo de cefalosporinas de 3 ^a geração no período de 2000-2004.....	41
Figura 4-	Avaliação de tendência de resistência de <i>K.pneumoniae</i> , <i>E.cloacae</i> , <i>E.coli</i> , <i>Acinetobacter sp</i> e <i>P.aeruginosa</i> frente ao consumo de cefalosporinas de 3 ^a geração no período de 2000 a 2004.....	42
Figura 5-	Consumo de cefalosporinas de 3 ^a geração no HC UNICAMP, número de pacientes-dia no período 2000-2004 e perfil de resistência dos microrganismos Gram negativos mais prevalentes.....	43
Figura 6-	Avaliação de tendência do consumo cefalosporina de 4 ^a geração no período de 2000 a 2004.....	44
Figura 7-	Avaliação de tendência de resistência de <i>K.pneumoniae</i> , <i>E.cloacae</i> , <i>E.coli</i> , <i>Acinetobacter sp</i> e <i>P.aeruginosa</i> frente ao consumo de cefalosporina de 4 ^a geração no período de 2000 a 2004.....	45
Figura 8-	(A) Consumo de cefalosporinas de 4 ^a geração no HC UNICAMP e número de pacientes-dia no período 2000-2004 e (B) perfil de resistência dos microrganismos Gram negativos mais prevalentes.....	46

Figura 9-	Avaliação de tendência do consumo de ciprofloxacina, levofloxacina e quinolonas em geral, no período de 2000 a 2004.....	48
Figura 10-	Avaliação de tendência de resistência de <i>K.pneumoniae</i> , <i>E.cloacae</i> , <i>E.coli</i> , <i>Acinetobacter sp</i> e <i>P.aeruginosa</i> frente ao consumo de ciprofloxacina no período de 2000 a 2004.....	49
Figura 11-	Consumo de quinolonas no HC-UNICAMP, número de pacientes-dia no período 2000-2004 e perfil de resistência dos microrganismos Gram negativos mais prevalentes.....	50
Figura 12-	Evolução do isolamento de cepas de <i>K.pneumoniae</i> e <i>E.coli</i> ESBL positivas, no período de 2000 a 2004.....	51

RESUMO



Bacteriemias são ocorrências relacionadas a diferentes processos patológicos e em grande parte associadas a infecções hospitalares. Podem ser causadas por diferentes tipos de microrganismos, sendo os Gram negativos, em especial, os bacilos, responsáveis por grande número destas. O diagnóstico laboratorial envolve coleta de hemoculturas, isolamento e identificação do agente e avaliação de sua sensibilidade aos antimicrobianos. Com o aumento da sobrevivência de pacientes com doenças de base muito graves e o uso indiscriminado de antimicrobianos de amplo espectro, são crescentes os relatos de desenvolvimento de resistência dos microrganismos aos antimicrobianos em uso. Trata-se este de estudo retrospectivo que buscou avaliar a prevalência e o perfil de resistência dos principais bacilos Gram negativos isolados a partir de hemoculturas de pacientes adultos, internados no HC-UNICAMP frente a antimicrobianos selecionados e correlação da tendência da resistência aos antimicrobianos com a estimativa de utilização destes antibióticos durante o período de 2000 a 2004.

Neste período, os bacilos Gram negativos mais prevalentes foram *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*. Foi possível observar ao longo do período estudado uma alteração no perfil de frequência dos bacilos Gram negativos encontrados nas hemoculturas, havendo permuta de *Enterobacter cloacae* por cepas de *Klebsiella pneumoniae* ao longo do tempo. O consumo aumentado de cefalosporinas de terceira e quarta geração no HC-UNICAMP pôde ser correlacionado de forma significativa a uma maior taxa de resistência de *Klebsiella pneumoniae* resistente. O aumento no consumo de quinolonas pôde ser correlacionado de forma significativa com aumento de resistência dos bacilos Gram negativos até o ano de 2002, excetuando a *Klebsiella pneumoniae* que manteve os níveis de resistência até 2004.

ABSTRACT



Bacteriemias are events related to different diseases, mostly hospital infections. They can be caused by many different microorganisms, but the Gram negative bacilli are often responsible for them. The laboratory diagnosis includes blood sampling, isolation and identification of the microorganism, and evaluation of its susceptibility to the available antibiotics. Increases in prevalence of these resistant pathogens in hospitals are frequently related to high selective pressure commonly used in hospitalized patients, almost always represented by older and debilitated individuals. This is a retrospective study of the prevalence and resistance of pathogens isolated from the blood of patients in the Hospital das Clínicas UNICAMP, during the years 2000-2004, and the correlation of the intensive use of some proposed antibiotics. During this period the most commonly isolated microorganisms were: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. We observed an alteration of this profile during the study, having *Klebsiella pneumoniae* replaced the *Enterobacter cloacae*'s score. The increasing utilization of broad spectrum cephalosporin's in HC UNICAMP was related to the highest resistance of *Klebsiella pneumoniae* to these drugs. The ever increasing use of quinolones could be related in a very considerable way to the increasing resistance of all Gram negative bacilli until the year of 2002, when it declined but not for *Klebsiella pneumoniae* which was prolonged during all the time of the study.

1- INTRODUÇÃO

1.1- Conceitos relacionados à presença de bactérias na corrente sanguínea

A presença de microrganismos vivos no sangue de um paciente acarreta considerável morbidade e mortalidade. De fato, a invasão da corrente sanguínea representa uma das mais importantes seqüelas de uma infecção, fazendo com que a hemocultura se torne de suma importância e um dos exames mais freqüentemente requisitados ao Laboratório de Microbiologia Clínica. (WEINSTEIN et al., 1997).

Nos Estados Unidos da América ocorrem 250.000 casos de bacteriemias por ano, fazendo com que a bacteriemia hospitalar ou a sepsis seja considerada a principal causa de morte nos Estados Unidos da América. (WENZEL et al., 2001; BEARMEN et al. 2005).

A taxa de letalidade pode variar de acordo com os microrganismos isolados, girando em torno de 83%, quando a infecção é causada por bacilos Gram negativos produtores de Beta Lactamase de espectro estendido "ESBL" (BORER et al., 2002) ou de 36% dependendo somente da gravidade da doença de base do paciente como, por exemplo, a presença de doenças hematológicas com neutropenia (WISPLINGOFF et al., 2003).

Sepsis se refere à presença de sintomas clínicos de infecção na presença de hemoculturas positivas, já o termo septicemia se refere a uma síndrome grave associada com evidência de infecção aguda e falência de órgãos relacionada à liberação de citocinas na circulação. As hemoculturas podem ser positivas ou não (BARON et al., 2005).

Os microrganismos entram na corrente sanguínea por vias extravasculares e ganhando o sistema linfático. A entrada direta de microrganismos na corrente sanguínea se dá quando ocorrem infecções intravasculares tais como endocardites infecciosas, fístulas arteriovenosas infectadas, aneurismas micóticos, flebites supurativas e cateteres intravasculares infectados (DUNNE et al., 1997).

Um súbito influxo de bactérias na corrente sanguínea é rapidamente clarificado em minutos ou horas, exceto quando o inoculo é muito grande ou se existe um foco intravascular contaminado. Os macrófagos do fígado e do baço, que formam o Sistema

Retículo Endotelial, são os maiores responsáveis por esta clarificação do sangue (WEINSTEIN et al., 1997).

Os focos mais comuns de bacteriemia são os intravasculares (19%), trato gênito-urinário (17 %), trato respiratório (12%), intestino e peritônio (5%), pele (5 %), trato biliar (4%), outros locais (8%) e focos desconhecidos (27%) (BARON et al., 2005).

O conhecimento dos tipos de bacteriemias e dos agentes mais freqüentes em determinadas situações auxilia na interpretação dos resultados das hemoculturas. Em relação à duração, as bacteriemias são divididas em: transitórias, intermitentes e contínuas (DUNNE et al., 1997).

Transitórias são aquelas que ocorrem em pessoas saudáveis, após manipulação cirúrgica de áreas não estéreis, como cirurgia bucal e dentária, do trato gênito-urinário e trato gastrointestinal ou as bacteriemias associadas ao início de pneumonias, artrites, meningites, entre outras (WEINSTEIN et al., 1983).

As bacteriemias intermitentes geralmente ocorrem como um episódio com resolução espontânea e, após algum tempo, o episódio volta a ocorrer. Esta forma de bacteriemia está associada com abscessos não drenados, como os intra-abdominais, pélvicos, peri – néfricos, hepáticos, prostáticos e outros (BARON et al., 2005).

As bacteriemias contínuas são as que ocorrem nas endocardites, nas tromboflebitides infectadas, nos aneurismas infectados e também em algumas infecções como brucelose e febre tifóide. Nestas, o microrganismo pode ser isolado a partir de amostras de sangue durante todo o processo infeccioso, como ocorre nas endocardites subagudas ou quando o cateter está contaminado e dissemina microrganismos para a corrente sanguínea (BARON 2005).

As bacteriemias "*breakthrough*" são as que surgem em vigência de antibioticoterapia adequada para os microrganismos isolados a partir de hemoculturas e ocorrem em pacientes com doses terapêuticas inadequadamente baixas ou que apresentem outros fatores predisponentes como: diabetes, transplante hepático, insuficiência renal, nos que fazem uso de corticoterapia, aqueles com leucemias ou em casos de leucopenia

(DUNNE et al., 1997). De acordo com o tempo de aparecimento depois de iniciada a antibioticoterapia, as bacteriemias "breakthrough" são divididas em precoces, quando aparecem em até 72 horas do uso de antibióticos e estão associadas à baixa concentração destes e, tardias, quando ocorrem após 72 horas de antibioticoterapia e estão associadas a doenças de base (BARON et al., 2005).

Em relação ao número de agentes etiológicos, as bacteriemias podem ser causadas por um único agente, e são as que ocorrem geralmente em casos de pneumonias, meningites, artrites e endocardites (WEINSTEIN et al., 1997). Quando causadas por dois ou mais agentes são denominadas polimicrobianas e, geralmente estão associadas a graves doenças de base como: infecções intra-abdominais, doenças neoplásicas não hematológicas e obstrução do trato gastrointestinal. As enterobactérias são os agentes mais frequentes e, dentre as associações, as mais comuns são as entre duas enterobactérias ou entre Enterobactérias e *Staphylococcus aureus* (REYMER et al., 1997).

1.2- Principais patógenos envolvidos

As bacteriemias comunitárias são aquelas que ocorrem em pacientes não hospitalizados e apresentam agentes etiológicos com frequências diferentes das que ocorrem em pacientes internados em hospitais. Os fatores de risco são geralmente dependentes da idade ou localização geográfica. Em pacientes idosos da comunidade, as bactérias mais frequentemente isoladas são: *Streptococcus pneumoniae* e *Staphylococcus aureus* (RAYNER et al., 1988) ou bacilos Gram negativos segundo WHITELAW et al., 1992. Um estudo realizado na zona rural da Jordânia demonstrou serem *Staphylococcus aureus*, *Brucella melitensis* e *Streptococcus pneumoniae* os mais frequentemente isolados (NIMRI et al, 2004).

As bacteriemias hospitalares também apresentam microbiologia diferente de acordo com estudos efetuados em diferentes áreas das especialidades médicas. Em áreas cirúrgicas e em serviços de hematologia o predomínio é de cocos Gram positivos como *Staphylococcus coagulase negativos*, *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus spp*, já em

serviços de obstetrícia, o patógeno mais freqüente é *Escherichia coli*. Em unidades de terapia intensiva, os mais isolados foram: *Staphylococcus coagulase negativo*, *Pseudomonas spp*, *Enterobacter spp*, *Serratia spp* e *Acinetobacter spp* (WISPLINGHOFF et al; 2004). Um único estudo realizado no Brasil correlaciona os microrganismos multi-resistentes isolados em hemoculturas de recém nascidos na cidade do Rio de Janeiro. Neste estudo os autores observaram que num total de 301 microrganismos isolados, houve predomínio de *Klebsiella pneumoniae* (22,9%), *Staphylococcus coagulase negativo* (17,3%), *Serratia marcescens* (15,9%) e *Pseudomonas aeruginosa* (10,6%) (LOUREIRO et al, 2002).

1.2.1- Bacilos Gram negativos

As bactérias Gram negativas que pertencem à família *Enterobacteriaceae* são patógenos intestinais importantes como *Salmonella sp* e *Shigella sp* e que colonizam o trato gastrintestinal como *Escherichia coli* e *Klebsiella spp*. Os membros da família *Enterobacteriaceae* são encontrados no solo, plantas, frutas, vegetais, água, leite e também como colonizantes do trato intestinal do homem e dos animais. Em decorrência de vários tipos de “stress”, pacientes hospitalizados são particularmente susceptíveis à colonização e à infecção por enterobactérias. Sendo estas os principais agentes de infecção hospitalar, sendo resistentes aos principais agentes terapêuticos (BLOT et al., 2002).

Outros bacilos Gram negativos importantes em infecções hospitalares, que não *Enterobacteriaceae*, são os também chamados de Bacilos Gram negativos não fermentadores de glicose, sendo os exemplos mais comuns *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* e outras espécies. Estes bacilos são muito freqüentes em infecções hospitalares devido a sua capacidade de sobreviver por longos períodos em superfícies, tendo necessidades nutricionais mínimas, e com grande tolerância às variações ambientais. Tem também grande capacidade de desenvolver resistência aos antimicrobianos, além de mecanismos de escape da defesa do hospedeiro, que geralmente é exposto ao uso de técnicas invasivas com fins diagnósticos e ou terapêuticos (BLOT et al., 2002).

Pseudomonas aeruginosa é um microrganismo amplamente distribuído no ambiente, com predileção por locais úmidos. No homem coloniza preferencialmente o períneo, axilas e ouvido e, no ambiente hospitalar, prolifera em equipamentos respiratórios, soluções de limpeza, pias e vegetais (MENDONÇA, 1997).

Acinetobacter spp são microrganismos ubíquos, presentes em uma variedade de locais e situações. Estão amplamente distribuídos na natureza: água, solo, esgotos e animais, além de poderem ser colonizantes intestinais de indivíduos saudáveis. Os pacientes hospitalizados podem ser colonizados pela pele e intestino, surgindo assim um foco para surtos de infecção hospitalar. A transmissão nosocomial pode ocorrer através de mãos do pessoal da saúde. Pode ser encontrado no ambiente hospitalar, em locais úmidos, pias, colchões, equipamento de ventilação mecânica, assim como em superfícies secas, podendo sobreviver até 60 horas em superfície de laminado melamínico, revestimento da maioria das bancadas de postos de enfermagem e de móveis hospitalares (MENDONÇA, 1997).

Os bacilos Gram negativos são capazes de causar uma grande variedade de infecções hospitalares em pacientes que apresentam como fatores de risco antibioticoterapia prévia, quimioterapia, exposição a procedimentos invasivos de diagnóstico ou terapêuticos, ventilação mecânica, cateter venoso, doenças de base graves como neoplasias e queimaduras extensas além de cirurgias de grande porte (DIEKEMA et al., 1999) (JANG et al., 1999).

A partir da segunda metade do século XX, as infecções por Gram negativos, que não eram comuns na era pré-antibiótica, tornaram se um grave problema especialmente para os pacientes com doenças crônicas de base, idosos e imunossuprimidos.

Os anos 50 e 60 viram a emergência e ascensão dos bacilos Gram negativos aeróbios e anaeróbios facultativos como importantes patógenos das infecções hospitalares. As décadas seguintes vêm registrando o sucessivo confronto entre novos antibióticos beta-lactâmicos, de espectro cada vez mais ampliado, e uma seqüência progressiva de diferentes beta lactamases que os inativam. Conseqüência quase inevitável é a emergência de cepas hospitalares cada vez mais resistentes, entre patógenos considerados comuns como

Escherichia coli e *Klebsiella pneumoniae* e a importância crescente de Gram negativos intrinsecamente mais resistentes como *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* e *Enterobacter cloacae* (JACOBY, 1997).

1.3- Diagnóstico laboratorial

A hemocultura é um exame de excelência porque pode ser capaz de identificar o agente etiológico de uma infecção sendo investigada e também subsidiar o tratamento mais adequado de acordo com o antibiograma realizado a partir do microrganismo isolado (BARON, 2005).

As indicações mais importantes da necessidade de se colher hemoculturas são a presença da febre ($\geq 38^{\circ}\text{C}$) ou hipotermia ($\leq 36^{\circ}\text{C}$); leucocitose com ou sem desvio à esquerda, mas também na presença de leucopenia. Em pacientes idosos, o aparecimento de sintomas vagos como fadiga, mal estar e mialgias, pode estar relacionado à endocardite, mesmo em presença de febrícula (BARON, 2005).

Neste contexto, o Laboratório de Microbiologia tem atribuições importantes no auxílio ao médico infectologista e responsável pelo controle de infecções hospitalares, a saber: a identificação aprimorada dos microrganismos ao nível de espécie e a determinação da sensibilidade aos antimicrobianos em uso no hospital, aliados a um correto e eficiente sistema de controle de qualidade. A comunicação rápida dos resultados e o armazenamento do banco de dados de interesse ao controle de infecção hospitalar, faz do Laboratório de Microbiologia uma peça chave na vigilância destas infecções (MENDES & ROSSI, 1997).

Apesar de a grande maioria das infecções serem causadas por bactérias de fácil detecção e identificação, o aumento da sobrevivência de pacientes graves e imunossuprimidos, proporcionados pelo avanço da Medicina nos últimos anos, tem provocado mudanças significativas no espectro dos microrganismos causadores de infecções hospitalares (MENDES & ROSSI, 1997).

A detecção de microrganismos viáveis no sangue de um paciente não tem somente valor diagnóstico, mas também de prognóstico. Quando a bactéria ou o fungo se reproduz numa velocidade que ultrapassa a capacidade de remoção ou de clareamento do sistema retículo endotelial, temos como consequência a bacteriemia ou a fungemia (DUNNE et al., 1997).

O diagnóstico rápido e preciso da bacteriemia por bacilos Gram negativos resistentes aos antimicrobianos em uso, é uma ferramenta muito útil para o tratamento e sobrevida destes pacientes, assim como na prevenção da disseminação destes microrganismos (NEUHAUSER et al., 2003).

São várias as técnicas disponíveis para a detecção de patógenos na corrente sanguínea, sua identificação e a avaliação de sua sensibilidade aos antimicrobianos. Estas técnicas podem ser desde exclusivamente manuais, até a mais atual combinação de técnicas automatizadas. Os métodos manuais, não mais utilizados em laboratórios de grandes hospitais. Baseiam-se na identificação de crescimento bacteriano em caldo de cultura, como o aparecimento de bolhas de gás, hemólise e formação de pequenas colônias na superfície ou no fundo do frasco. Atualmente existem métodos que sinalizam a presença de crescimento bacteriano pela alteração de cor de uma lâmina de ágar que é acoplada à parte superior do frasco com caldo de cultura. Esta lâmina apresenta em um dos lados, o ágar chocolate que suporta o crescimento de inúmeras bactérias, comumente presentes em hemoculturas (PROBAC).

Os métodos automatizados se baseiam na monitoração contínua da produção de CO₂ pelas bactérias em crescimento num caldo de cultura rico e apropriado. A detecção pode ser através de métodos colorimétricos como utilizados no equipamento Bact/Alert® (BioMerieux Inc.), por método fluorimétrico como utilizado no equipamento Bactec 9000® (BD Diagnostic Systems) ou por transdução de pressão como o utilizado pelo VersaTREK® (Trek Diagnostic Systems) (BARON, 2005).

O sistema automatizado para detecção de patógenos em hemoculturas atualmente em uso no Hospital de Clínicas da UNICAMP é o Bact/Alert® (BioMerieux Inc.). O equipamento faz a incubação a 36°C, agita os frascos para uma

melhor aeração e promoção de crescimento e monitora a produção de CO₂ automaticamente a cada 10 minutos. Todos os dados são transmitidos a um computador, que arquiva e os analisa por algoritmo, detectando precocemente o crescimento bacteriano e avisando do resultado positivo através de alarme luminoso na tela do computador e sonoro. O frasco é localizado por uma luz indicativa da célula em questão, retirado do aparelho e puncionado com seringa e agulha, após desinfecção da rolha de borracha com álcool 70%. A amostra de sangue é então semeada em placas de ágar sangue, ágar MacConkey e também é usada para a confecção de um esfregaço para a coloração de Gram. O resultado da bacterioscopia é imediatamente reportado por telefone ao médico responsável pelo pedido ou da mesma enfermaria. As placas de ágar sangue são então incubadas por até 48 horas a 35°C, em estufa com CO₂ a 5% e as de MacConkey em estufa bacteriológica a 35°C. O microrganismo isolado é identificado e submetido a antibiograma através do sistema VITEK ® BioMerieux.

O resultado final é introduzido no sistema de informática do hospital, sendo liberado no mesmo dia. O acesso ao resultado fica disponível imediatamente após a liberação.

1.4- Tratamento

A terapêutica de infecções sistêmicas causadas por microrganismos Gram negativos (*Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter* spp) dispõe atualmente de cefalosporinas de 3^a e 4^a geração, quinolonas, antimicrobianos inibidores de beta-lactamases, aminoglicosídeos e carbapenêmicos (ROSSI & ANDREAZZI, 2005).

É desnecessário enfatizar as conseqüências relativas às dificuldades terapêuticas que muitas destas cepas de Gram negativos podem oferecer, sobretudo porque são comuns as multirresistências englobando também outros grupos de antibióticos como os aminoglicosídeos (MENDONÇA, 1997).

A piperacilina-tazobactam contém uma penicilina semi-sintética combinada com um inibidor de beta-lactamase denominado tazobactam. Os dados existentes na literatura sugerem que este agente pode ser útil no tratamento de infecções causadas por

patógenos produtores de ESBL, mas as conclusões definitivas só poderão ser tomadas após estudos prospectivos de uso em larga escala (RAMPHAL, 2006).

Os carbapenêmicos, especialmente o imipenem, tem demonstrado uma taxa de 90% sucesso no tratamento de pacientes infectados com *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* produtoras de ESBL (WONG-BERINGER, 2001).

1.4.1- Mecanismo de ação dos antimicrobianos

As penicilinas e cefalosporinas possuem um anel beta lactâmico que se liga a alvos protéicos bacterianos (PBPs) como transpeptidases, carboxipeptidases e endopeptidases inativando-as e, conseqüentemente, incapacitando-as na função de biossíntese do peptídioglicano da parede celular. Estas proteínas estão localizadas dentro da parede celular bacteriana na membrana interna do microrganismo e diferem entre as espécies bacterianas, quanto ao número, tamanho, e afinidade aos vários antibióticos beta-lactâmicos, e ao efeito produzido na bactéria pela sua inativação. A inativação das PBPs leva a ruptura da parede durante a divisão celular acarretando a morte do microrganismo, um efeito bactericida (PEREIRA et al.,2004).

As oximino-cefalosporinas ou as cefalosporinas de terceira geração apresentam amplo espectro de ação para tratar uma variedade de infecções causadoras por microrganismos resistentes a antibióticos. A união da cadeia oximino com o núcleo 2-amino-5tiazolil presente na cefotaxima e ceftazidima estabiliza estas drogas, contra os efeitos das beta-lactamses TEM-1 e SHV -1. A cefotaxima e a ceftriaxona tem uso semelhante na clínica, já a ceftazidima é geralmente recomendada para tratamento de infecções causadas por *Pseudomonas aeruginosa* ou outro bacilos Gram negativos não fermentadores (TUMBARELLO et al; 2005).

As quinolonas inibem rapidamente a síntese do DNA bacteriano, que leva a uma rápida morte das bactérias. Isso ocorre por causa da inibição de duas topoisomerases, a DNA girase e a topoisomerase IV, ambas compostas de duas subunidades e sintetizadas pelos genes *gyr A*, *gyr B* e, *parC* e *parE*. Essas enzimas são essenciais na replicação do

DNA bacteriano; e a DNA girase é o principal alvo nos bacilos gram negativos e a topoisomerase IV o alvo principal nos cocos gram positivos (PEREIRA et al; 2004).

Dentre as quinolonas mais utilizadas em nosso meio estão a ciprofloxacina, fluoroquinolona de segunda geração que tem um espectro de ação principalmente contra Gram negativos e a levofloxacina, quinolona de terceira geração que teve seu espectro ampliado para tratar microrganismos Gram positivos, especialmente *Streptococcus pneumoniae* resistente à penicilina (PEREIRA et al; 2004).

1.4.2- Mecanismos de resistência

A resistência aos antibióticos, seja ela intrínseca ou adquirida através de fatores de resistência devido à pressão do uso de antibióticos cada vez mais potentes, é um fator importante na sobrevivência dos bacilos Gram negativos (FRENCH & PHILIPS, 1996).

As clássicas beta lactamases TEM – 1 e SHV – 1, mediadoras da resistência a ampicilina, agora são comuníssimas entre os Gram negativos, porém com pouca atividade contra as cefalosporinas e são inativadas pelos inibidores de Beta lactamases. Já as Beta lactamases de espectro estendido ou ESBL, são derivadas das TEM 1 e SHV -1, diferindo por uns poucos aminoácidos das originais, são também transmitidas por plasmídios e adicionalmente conferem resistência as cefalosporinas de terceira e quarta geração e ao aztreonam. Porém não inativam os carbapenemos. São encontradas em cepas de *Escherichia coli* e de *Klebsiella spp* amplamente difundidas nos hospitais (JACOBY, 1997).

As beta-lactamases do tipo *amp C* são cromossômicas e conferem resistência também a todas as cefalosporinas, cefamicinas, mas, porém não são inativadas por inibidores de Beta lactamases, e apresentam-se em Gram negativos do grupo CESP (*Citrobacter sp*, *Enterobacter sp*, *Serratia sp* e *Proteus sp*). Também são produzidas beta-lactamases ativas contra carbapenemos, ditas carbapenases, tanto de origem cromossômica como plasmidial (JACOBY, 1997).

1.5- Perspectivas

O Hospital de Clínicas da UNICAMP, com suas características de hospital universitário terciário e que recebe pacientes em estado grave também de outras instituições, é bastante suscetível à seleção e manutenção de cepas com características de sensibilidade cada vez mais reduzidas. Tal fato, por dificultar a terapêutica de novos casos, colocando em risco a sobrevivência de muitos pacientes, requer vigilância constante, tanto por parte da CCIH, quanto do Laboratório de Microbiologia da Divisão de patologia Clínica do HC UNICAMP que tem o primeiro contato com os resultados dos testes e a conseqüente tarefa de desencadear a vigilância.

Com uma taxa total de positividade em torno de 15% dos frascos coletados, na Tabela 1, é possível observar o número de hemoculturas positivas das quais foram isoladas diferentes classes de patógenos, e a grande proporção que representam os microrganismos Gram negativos, em grande parte associados a infecções hospitalares e microrganismos mais resistentes aos antimicrobianos.

Tabela 1- Hemoculturas positivas com isolamento de todos os patógenos coletadas de pacientes adultos e pediátricos internados no HC-UNICAMP no período de 2000 a 2004.

Microrganismos isolados	Hemoculturas positivas/Ano									
	2000		2001		2002		2003		2004	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Gram Positivos	831	54,0	914	50,9	940	48,9	904	50,1	878	45,9
Gram negativos	621	40,5	787	43,8	832	43,3	787	43,6	881	46,1
Leveduras	84	5,5	92	5,3	148	7,8	114	6,3	153	8,0
Total	1536	100,0	1793	100,0	1920	100,0	1805	100,0	1912	100,0

Com toda a certeza, o reconhecimento dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de infecções da corrente sanguínea por bacilos Gram negativos resistentes poderá ajudar na vigilância destes pacientes de risco e melhorar a forma de se evitar sua propagação pelo hospital (RAYMOND et al., 2003). No entanto, conhecer o perfil de resistência dos principais patógenos isolados, prospectiva e retrospectivamente, pode contribuir tanto para a instauração da terapêutica imediata, caso a caso, quanto orientar

terapêutica empírica e mais amplamente, auxiliar no planejamento das tentativas de contenção do avanço da resistência.

Outro fator importante a ser considerado é a possibilidade de avaliar o consumo dos antimicrobianos preconizados na instituição e sua possível influência no perfil de resistência dos microrganismos mais prevalentemente isolados.

2- OBJETIVOS

- Determinar a prevalência dos diferentes bacilos Gram negativos dentre os isolados de hemoculturas de pacientes adultos atendidos no HC-UNICAMP no período de 2000 a 2004.
- Avaliar o perfil de resistência aos antibacterianos selecionados dos gêneros e espécies de bacilos Gram negativos mais frequentemente isolados.
- Correlacionar o consumo de cefalosporinas de 3^a geração no HC UNICAMP e o perfil de resistência dos bacilos Gram negativos mais prevalentes.
- Correlacionar o consumo de cefalosporinas de 4^a geração no HC UNICAMP e o perfil de resistência dos bacilos Gram negativos mais prevalentes.
- Correlacionar o consumo de quinolonas no HC UNICAMP e o perfil de resistência dos bacilos Gram negativos mais prevalentes.

3- MATERIAIS E MÉTODOS

Casuística

3.1- Pacientes

Adultos internados nas enfermarias de: Gastroenterologia (clínica, cirurgia, e transplante hepático), Hematologia (e transplante de medula óssea), Enfermaria Geral de Adultos, Nefrologia, Neurologia (clínica e cirúrgica), UTI, Cirurgia do Trauma, Cirurgia torácica, Cirurgia Vascular, Cirurgia de Cabeça e Pescoço, Moléstias Infecciosas, Pneumologia, Unidade Coronariana e Ortopedia do Hospital de Clínicas - UNICAMP, no período de 2000 a 2004, com suspeita de infecção sistêmica e indicação clínica de coleta de hemocultura.

3.2- Hemoculturas

As coletas de amostras de sangue, solicitadas em condutas de rotina, foram realizadas de acordo com protocolo instituído em conjunto pelo Laboratório de Microbiologia da Divisão de Patologia Clínica e a Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) do Hospital de Clínicas – UNICAMP. Foram colhidas de duas a três amostras de sangue através de punção estéril, utilizando-se PVPI como desinfetante de pele e luva estéril. A anti-sepsia das tampas dos frascos de hemocultura foi realizada com álcool 70% e foram inoculados 10 mL de sangue para cada amostra. Os frascos foram enviados ao Laboratório de Microbiologia em, no máximo, 30 minutos após a coleta e inseridos no equipamento de detecção automatizada Bact/Alert® (Biolab Merrieux – EUA), que detecta a presença de crescimento bacteriano por monitorização contínua, e automática, da produção de CO₂. A agitação dos frascos e a permanência a uma temperatura de 35 °± 1 C promove o crescimento mais rápido dos microrganismos a serem detectados (BARON et al., 2005).

3.3- Isolamento dos agentes causais

Os frascos que apresentaram resultado positivo foram retirados do aparelho, procedendo-se à realização de bacterioscopia, com coloração de Gram, para diagnóstico presuntivo e orientação do plaqueamento para isolamento em meios adequados à morfologia visualizada como ágar sangue e ágar McConkey (DUNNE et al 1997).

3.4 - Identificação e antibiograma: as colônias isoladas foram identificadas e avaliadas quanto à susceptibilidade frente a antibióticos no equipamento Vitek ® (Biolab Merrieux – EUA).

3.5- Coleta de dados dos pacientes

Os dados foram obtidos inicialmente a partir de arquivos dos bancos de dados dos equipamentos Bact/Alert® e Vitek ® (Biolab Merrieux), do Serviço de Informática-HC e da CCIH-HC.

3.6- Avaliação de consumo de antimicrobianos

Os dados foram fornecidos pelo CCIH HC UNICAMP e devido à flutuação da taxa de ocupação do HC-UNICAMP, os dados de consumo de antimicrobianos foram corrigidos pelo número de pacientes-dia.

3.7- Avaliação estatística

Os dados obtidos foram submetidos a tratamento estatístico realizado pelo Serviço de Estatística da Câmara de Pesquisa-FCM, utilizando o programa computacional the SAS System for Windows (Statistical Analysis System), versão 6.12. SAS Institute Inc, 1989-1996, Cary, NC, USA.

Para descrever o perfil da amostra segundo as variáveis em estudo, foram construídas Tabelas de frequência das variáveis categóricas (resistência) com os valores de frequência absoluta (n) e percentual (%) para cada microrganismo e cada droga utilizada (MONTGOMERY, PECK, 1982).

Para analisar a associação entre variáveis categóricas foi utilizado o teste Qui Quadrado ou, quando necessário, o teste exato de Fischer (presença de valores esperados menores que 5). Para analisar o efeito de tendência do percentual de resistência ao longo dos anos foi utilizado o teste de tendência de Cochran – Armitage. O nível de significância adotado para os testes estatísticos foi de 5 %, ou seja, $p < 0,05$. Todos os cálculos foram realizados de acordo com CONOVER, 1971; SIEGEL, 1975; FLEISS, 1981 e FONSECA, MARTINS, 1994.

4- RESULTADOS

4.1- Microrganismos mais frequentemente isolados

Na Tabela 2, estão descritos em porcentagem, todos os microrganismos Gram negativos isolados de hemoculturas de pacientes adultos no período de janeiro e 2000 a dezembro de 2004. Estão contempladas todas as amostras obtidas, havendo mais de uma amostra de hemocultura por paciente..

Tabela 2- Frequência geral de todos os microrganismos Gram negativos isolados de 3908 hemoculturas de pacientes adultos no período de 2000-2004.

Microrganismos	Frequência	
	n	%
<i>Acinetobacter calcoaceticus - baumannii</i>	323	13,04%
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	6	0,24%
<i>Aeromonas caviae</i>	3	0,12%
<i>Aeromonas hydrophila</i>	18	0,73%
<i>Burkholderia cepacia</i>	43	1,74%
<i>Chryseobacterium meningosepticum</i>	4	0,16%
<i>Citrobacter freundii</i>	29	1,17%
<i>Citrobacter koseri</i>	9	0,36%
<i>Comamonas acidovorans</i>	2	0,08%
<i>Enterobacter aerogenes</i>	107	4,32%
<i>Enterobacter cloacae</i>	387	15,62%
<i>Enterobacter sakazakii</i>	3	0,12%
<i>Escherichia coli</i>	452	18,25%
<i>Flavimonas oryzibitans</i>	4	0,16%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	49	1,09%
<i>Klebsiella ozaenae</i>	2	0,08%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	437	17,64%
<i>Morganella morganii</i>	23	0,93%
<i>Pantoea agglomerans</i>	11	0,44%
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	1	0,04%
<i>Proteus mirabilis</i>	43	1,74%
<i>Proteus penneri</i>	1	0,04%
<i>Proteus vulgaris</i>	2	0,08%
<i>Providencia stuartii</i>	1	0,04%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	261	10,54%
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	27	1,09%
<i>Pseudomonas putida</i>	1	0,04%
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	3	0,12%
<i>Ralstonia pickettii</i>	3	0,12%
<i>Salmonella arizonae</i>	2	0,08%
<i>Salmonella species</i>	33	1,33%
<i>Salmonella typhi</i>	2	0,08%
<i>Serratia marcescens</i>	107	4,32%
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	78	3,15%

Tabela 3- Microrganismos mais freqüentemente isolados de hemoculturas de pacientes adultos em amostra única no período 2000-2004 e objetos deste estudo.

Microrganismos	Frequência	
	n	%
<i>Acinetobacter calcoaceticus - baumannii</i>	213	16,3
<i>Enterobacter cloacae</i>	247	18,9
<i>Escherichia coli</i>	215	16,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	276	21,1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	165	12,6

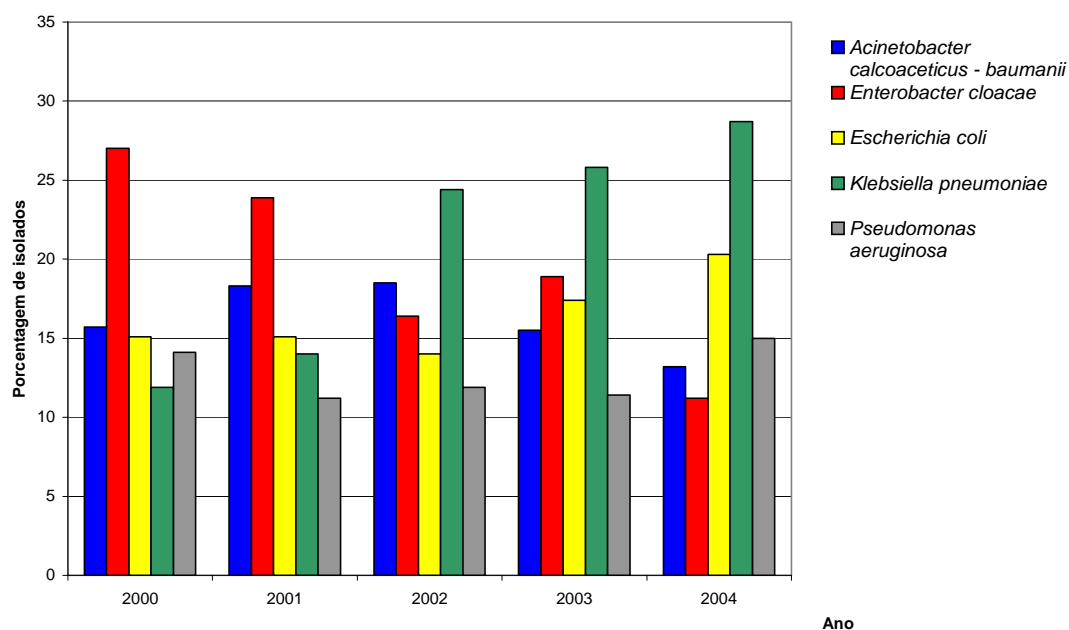


Figura 1- Comparação das porcentagens dos microrganismos mais freqüentemente isolados de hemoculturas de pacientes adultos no período 2000-2004.

Considerando apenas os 5 microrganismos acima, foi verificada a distribuição dos mesmos dentre as diferentes especialidades que solicitaram hemocultura durante o período do estudo. Os dados são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4- Percentagem de isolamento dos microrganismos em estudo a partir de hemoculturas solicitadas por diferentes especialidades do HC-UNICAMP que atendem pacientes adultos, no período de 2000-2004.

Clínica/especialidade	Hemoculturas positivas	
	n	%
Gastro (clínica, cirurgia e transplante)	5119	23,11
Hematologia e transplante de medula óssea	3746	16,91
Enfermaria Geral	3201	14,50
Cirurgia do Trauma	2771	12,51
Nefrologia	1471	6,64
Neurologia	1328	6,00
Moléstias Infecciosas	1194	5,40
UTI	1118	5,04
Ortopedia	464	2,10
Cirurgia Vascular	445	2,00
Urologia	433	1,96
Reumatologia	292	1,32
Pneumologia	262	1,18
Unidade Coronariana	135	0,60
Cirurgia Torácica	83	0,37
Cirurgia de Cabeça e Pescoço	81	0,36

4.2- Consumo dos antimicrobianos selecionados e resistência dos microrganismos “in vitro”.

Para avaliar a implicação do uso de cefalosporinas de 3^a e 4^a gerações e quinolonas, no perfil de resistência dos microrganismos enfocados neste estudo, inicialmente foi levantado o consumo dos respectivos antimicrobianos na instituição (dados do CCIH-HC de 2000 a 2004).

A Figura 2 contém a representação do consumo dos antimicrobianos com envolvimento neste estudo. Os respectivos dados brutos constam do Anexo 2.

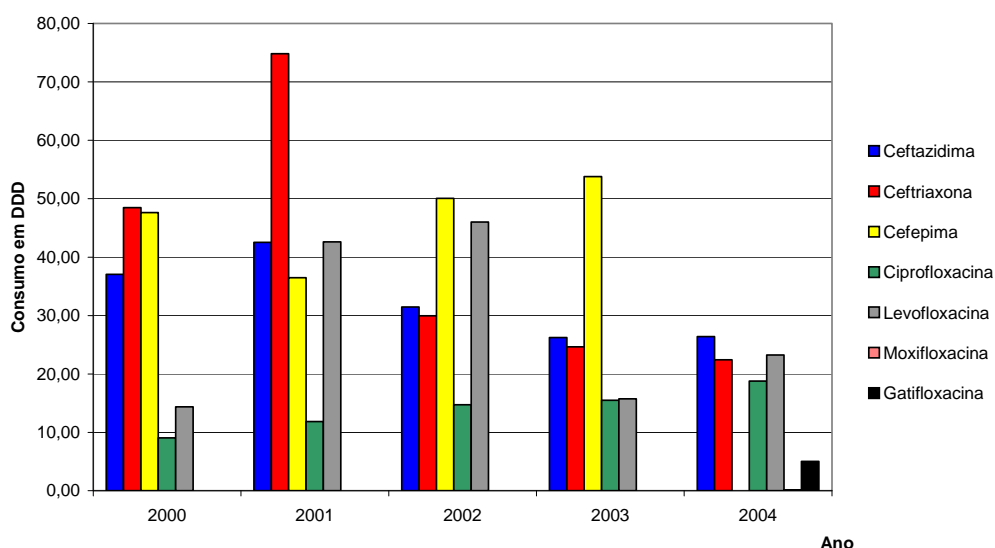


Figura 2- Consumo de cefalosporinas de 3^a geração (cefatzidima e ceftriaxona), cefalosporinas de 4^a geração (cefepima) e quinolonas (ciprofloxacina e levofloxacina) no HC-UNICAMP, no período de 2000-2004

A Figura 3 apresenta os resultados de análise de tendência ou evolução do consumo de cefalosporinas de 3^a geração no período de 2000 a 2004, através da análise de Regressão Linear e do cálculo do coeficiente de Correlação de Pearson.

Do mesmo modo, a Figura 4, representa a avaliação de tendência de resistência de *K.pneumoniae*, *E.cloacae*, *E.coli*, *Acinetobacter sp* e *P.aeruginosa* frente ao consumo de cefalosporinas de 3^a geração. Os microrganismos *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumani* também foram avaliados quanto ao perfil de sensibilidade frente todas as cefalosporinas de terceira geração apesar da ceftriaxona não se constituir opção terapêutica.

A Figura 5 resume graficamente os dados de consumo dos antimicrobianos e o perfil de resistência dos microrganismos mais freqüentemente isolados, mostrando que apenas a resistência de *K.pneumoniae*, frente as cefalosporinas pode ser considerada estatisticamente significativa ($p=0,025$). Os respectivos dados brutos constam no anexo 3.

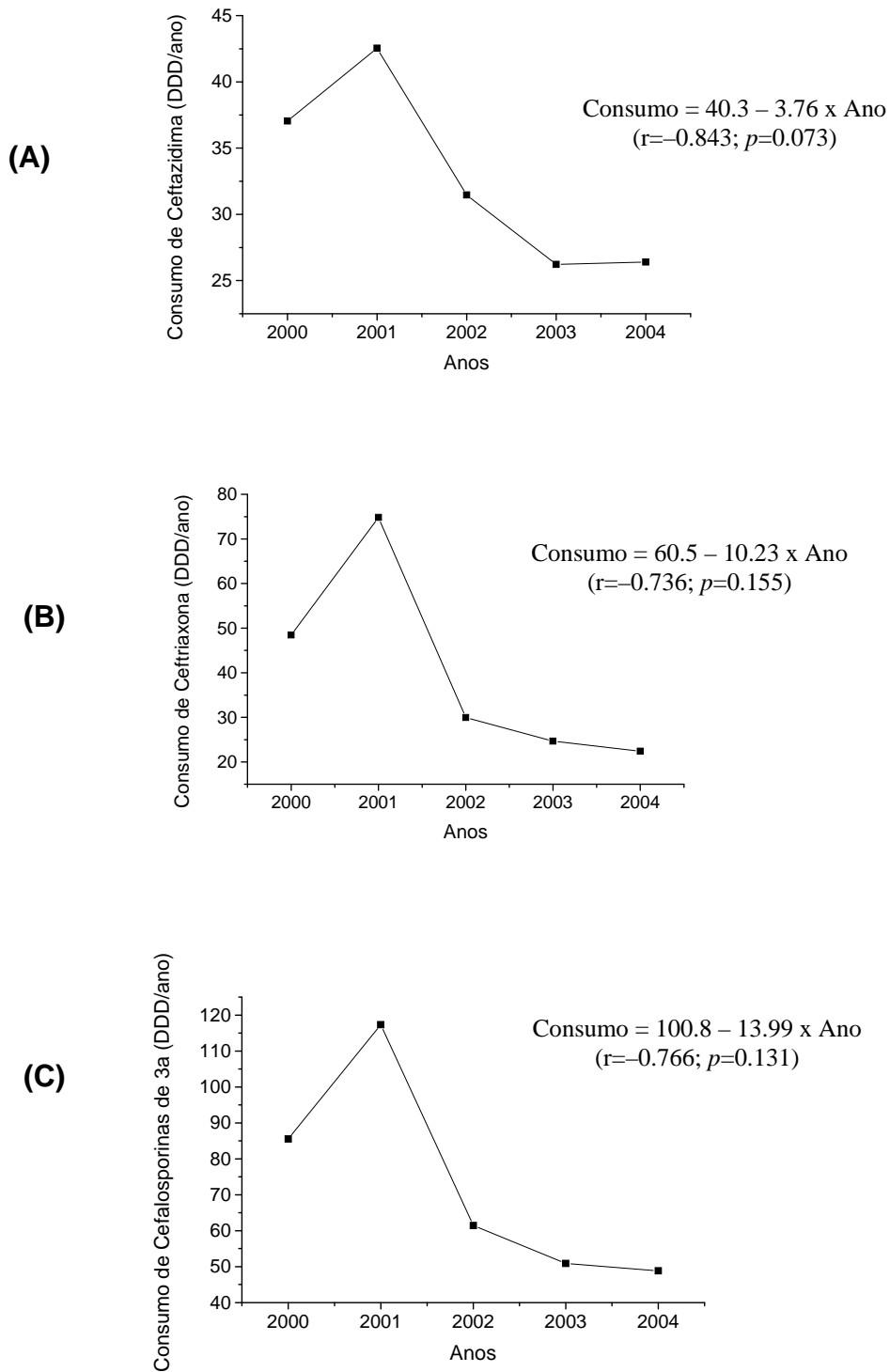
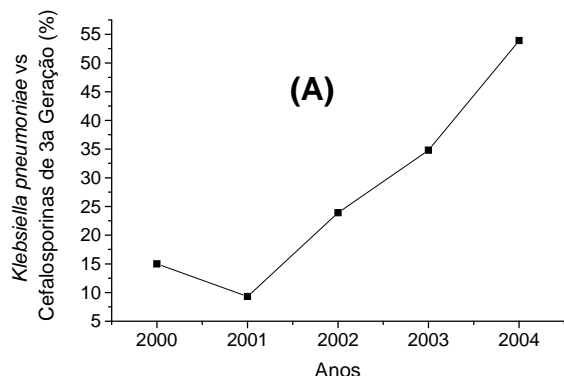
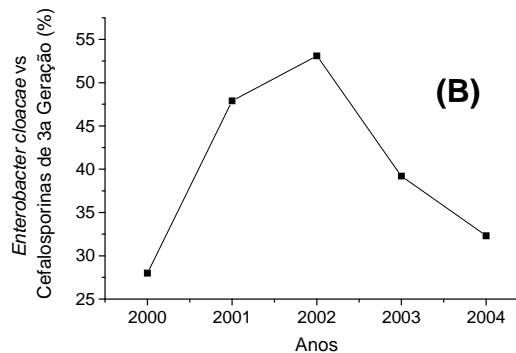


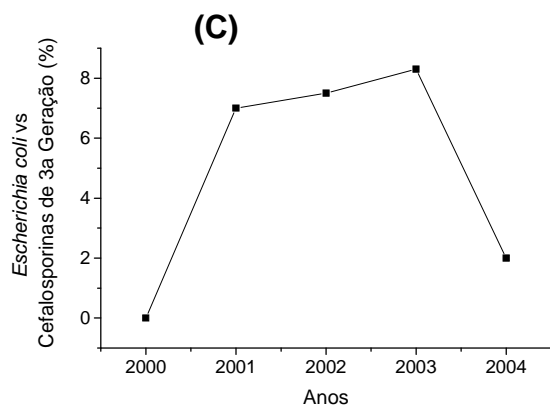
Figura 3- Avaliação de tendência do consumo de cefalosporinas de 3ª geração em separado (A e B) e em conjunto (C), no período de 2000 a 2004.



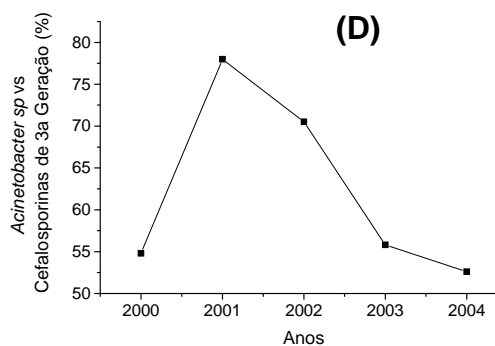
Resistência = $6.7 + 10.33 \times \text{Ano}$
 ($r=0.924$; $p=0.025$)



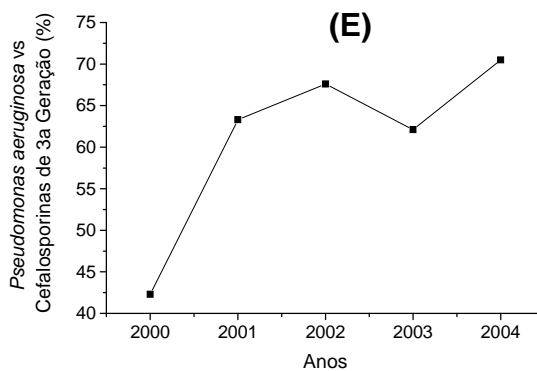
Resistência = $40.1 - 0.01 \times \text{Ano}$
 ($r=-0.002$; $p=0.998$)



Resistência = $3.9 + 0.53 \times \text{Ano}$
 ($r=0.226$; $p=0.715$)



Resistência = $67.7 - 2.66 \times \text{Ano}$
 ($r=-0.374$; $p=0.535$)



Resistência = $50.1 + 5.52 \times \text{Ano}$
 ($r=0.789$; $p=0.113$)

Figura 4- Avaliação de tendência de resistência de *K.pneumoniae* (A), *E.cloacae* (B), *E.coli* (C), *Acinetobacter sp* (D) e *P.aeruginosa* (E) frente ao consumo de cefalosporinas de 3^a geração no período de 2000 a 2004.

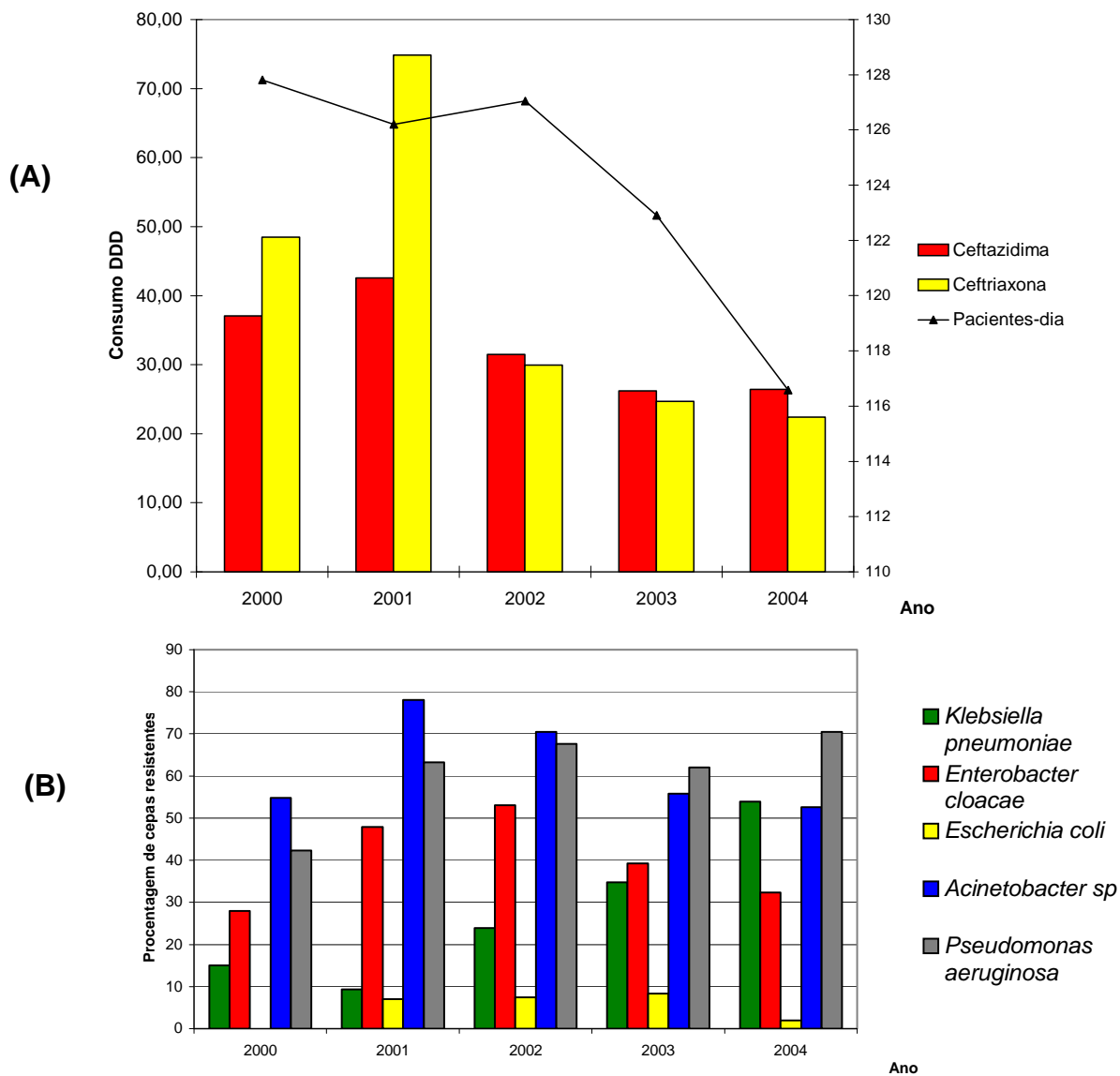


Figura 5- (A) Consumo de cefalosporinas de 3^a geração no HC UNICAMP e número de pacientes-dia no período 2000-2004 e (B) perfil de resistência dos microrganismos Gram negativos mais prevalentes.

A Figura 6 apresenta os resultados de análise de tendência ou evolução do consumo de cefalosporina de 4^a geração no período de 2000 a 2004, através da análise de Regressão Linear e do cálculo do coeficiente de Correlação de Pearson.

Do mesmo modo, a Figura 7, representa a avaliação de tendência de resistência de *K.pneumoniae*, *E.cloacae*, *E.coli*, *Acinetobacter sp* e *P.aeruginosa* frente ao consumo de cefalosporina de 4^a geração.

A Figura 8 resume graficamente os dados de consumo dos antimicrobianos e o perfil de resistência dos microrganismos mais frequentemente isolados, mostrando que apenas a resistência de *K.pneumoniae*, frente a cefalosporina de 4^a geração pode ser considerada estatisticamente significativa ($p=0,024$). Os respectivos dados brutos constam no anexo 3.

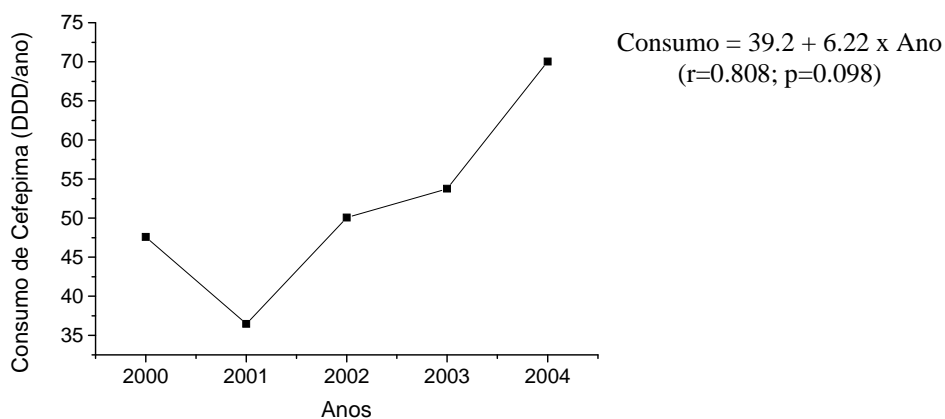
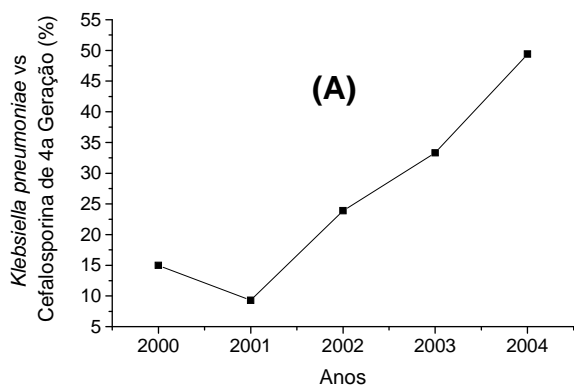
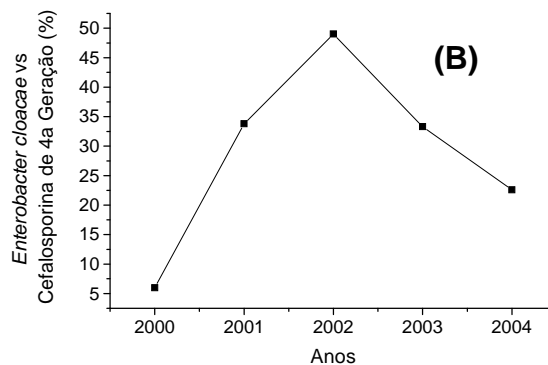


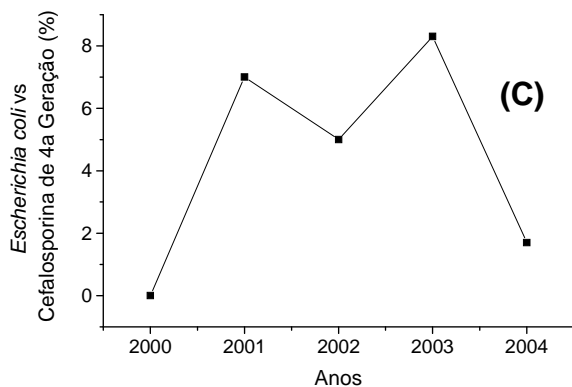
Figura 6- Avaliação de tendência do consumo de cefalosporinas de 4^a geração, no período de 2000 a 2004.



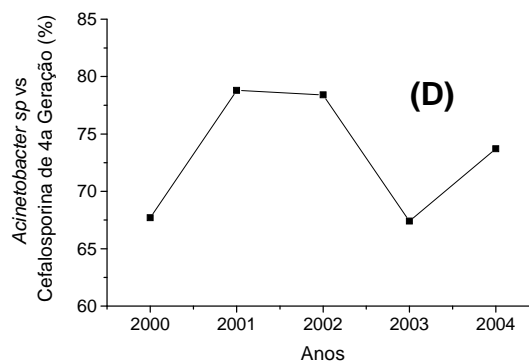
Resistência = $7.6 + 9.28 \times \text{Ano}$
 ($r=0.926$; $p=0.024$)



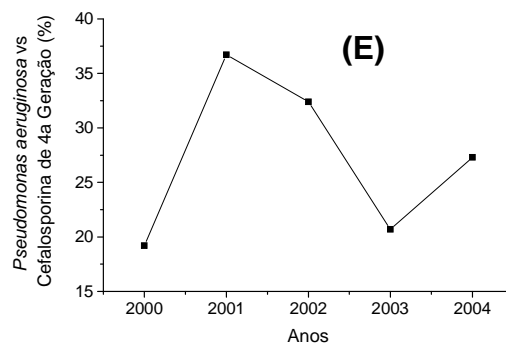
Resistência = $22.4 + 3.27 \times \text{Ano}$
 ($r=0.325$; $p=0.593$)



Resistência = $3.46 + 0.47 \times \text{Ano}$
 ($r=0.212$; $p=0.732$)



Resistência = $73.1 + 0.06 \times \text{Ano}$
 ($r=0.017$; $p=0.978$)



Resistência = $27.2 + 0.02 \times \text{Ano}$
 ($r=0.004$; $p=0.995$)

Figura 7- Avaliação de tendência de resistência de *K.pneumoniae* (A), *E.cloacae* (B), *E.coli* (C), *Acinetobacter sp* (D) e *P.aeruginosa* (E) frente ao consumo de cefalosporina de 4^a geração no período de 2000 a 2004.

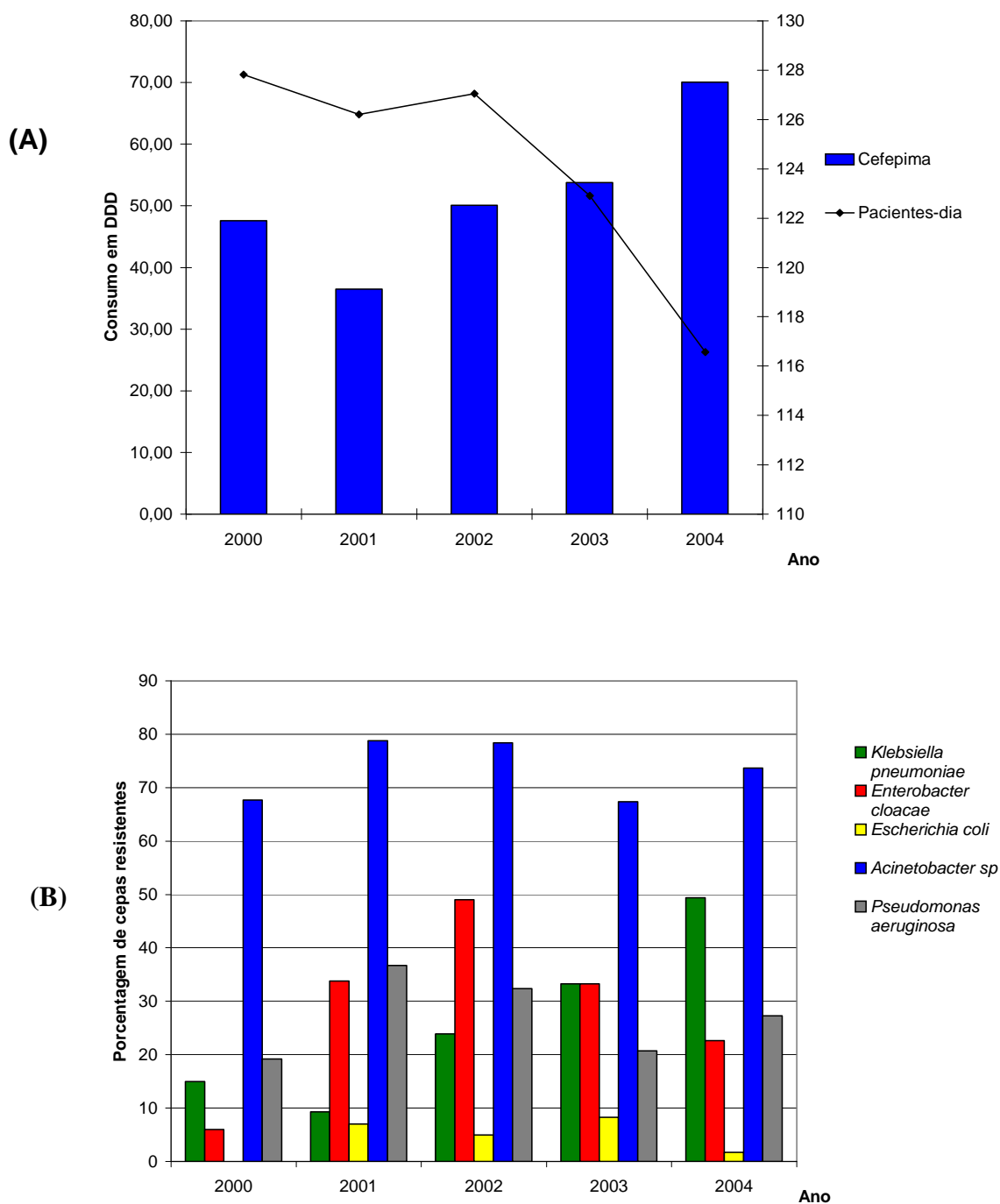


Figura 8- (A) Consumo de cefalosporinas de 4ª geração no HC UNICAMP e número de pacientes-dia no período 2000-2004 e (B) perfil de resistência dos microrganismos Gram negativos mais prevalentes.

A Figura 9 apresenta os resultados de análise de tendência ou evolução do consumo de quinolonas no período de 2000 a 2004, através da análise de Regressão Linear e do cálculo do coeficiente de Correlação de Pearson, demonstrando que apenas o consumo de ciprofloxacina foi significativo ($p= 0,002$).

Do mesmo modo, a Figura 10, representa a avaliação de tendência de resistência de *K.pneumoniae*, *E.cloacae*, *E.coli*, *Acinetobacter sp* e *P.aeruginosa* frente ao consumo de ciprofloxacina.

A Figura 11 resume graficamente os dados de consumo dos antimicrobianos e o perfil de resistência dos microrganismos mais frequentemente isolados, mostrando que apenas a resistência de *K.pneumoniae*, frente a ciprofloxacina pode ser considerada estatisticamente significativa ($p=0,006$). Os respectivos dados brutos constam no anexo 3.

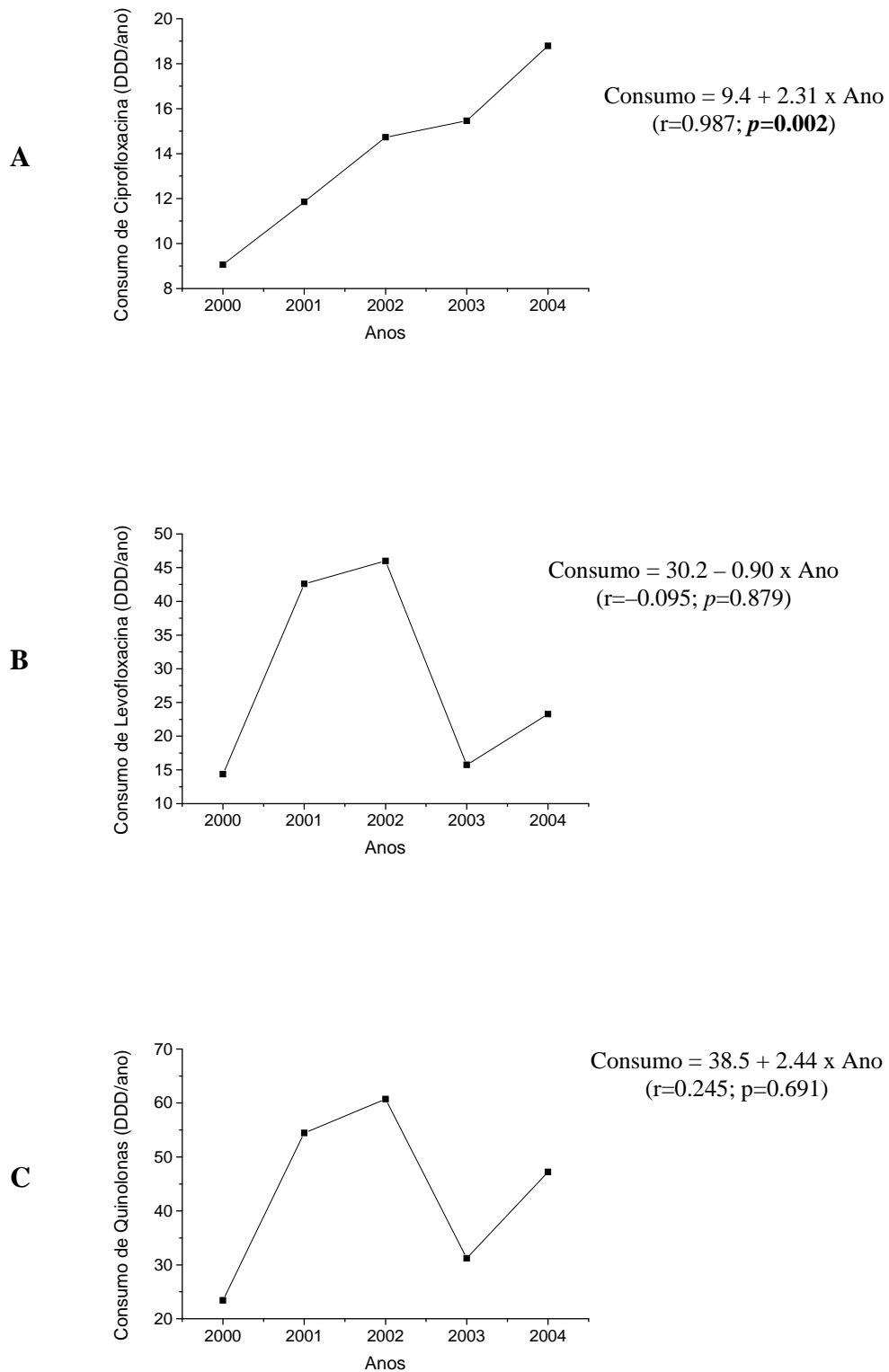
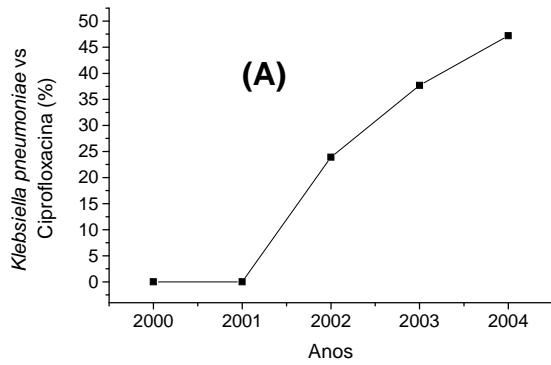
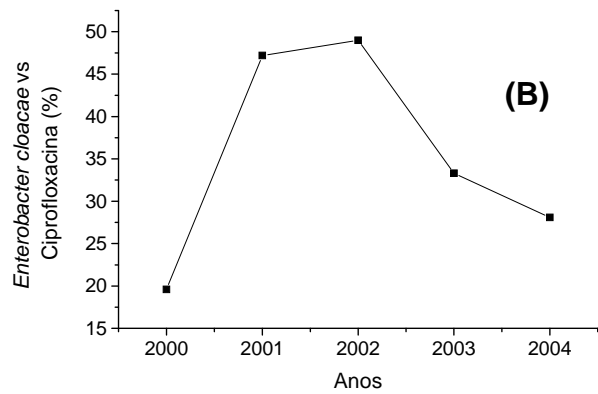


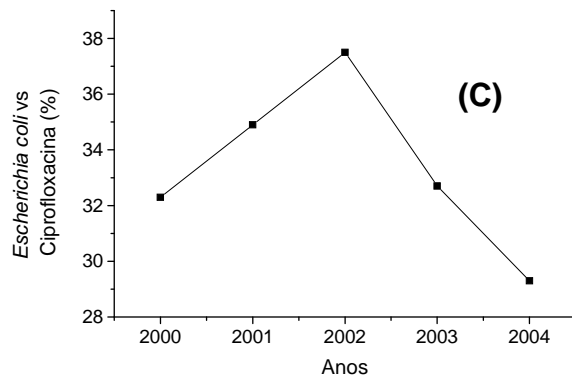
Figura 9- Avaliação de tendência do consumo de ciprofloxacina (A), levofloxacina (B) e quinolonas em geral (C), no período de 2000 a 2004.



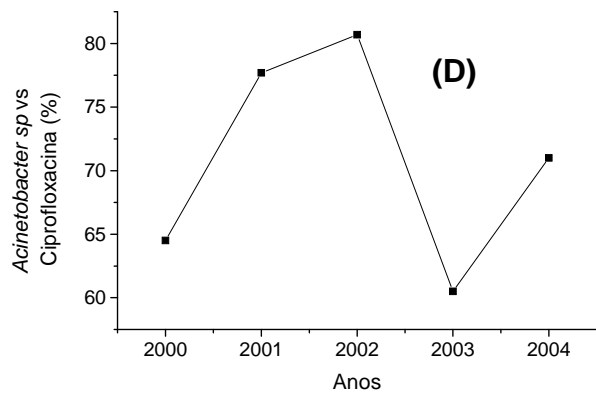
Resistência = $-4.7 + 13.21 \times \text{Ano}$
 ($r=0.970$; $p=0.006$)



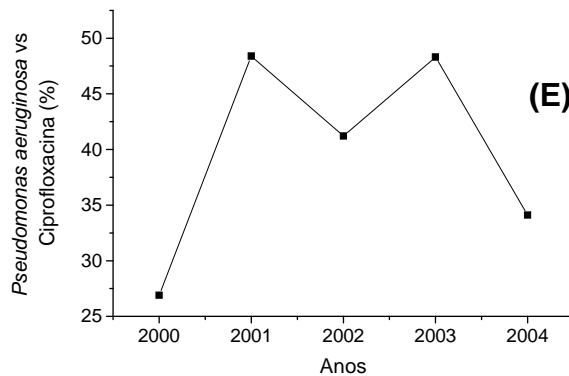
Resistência = $34.8 + 0.31 \times \text{Ano}$
 ($r=0.039$; $p=0.950$)



Resistência = $35.0 - 0.82 \times \text{Ano}$
 ($r=-0.423$; $p=0.478$)



Resistência = $71.7 - 0.42 \times \text{Ano}$
 ($r=-0.078$; $p=0.901$)



Resistência = $36.9 + 1.43 \times \text{Ano}$
 ($r=0.243$; $p=0.694$)

Figura 10- Avaliação de tendência de resistência de *K.pneumoniae* (A), *E.cloacae* (B), *E.coli* (C), *Acinetobacter sp* (D) e *P.aeruginosa* (E) frente ao consumo de ciprofloxacin no período de 2000 a 2004.

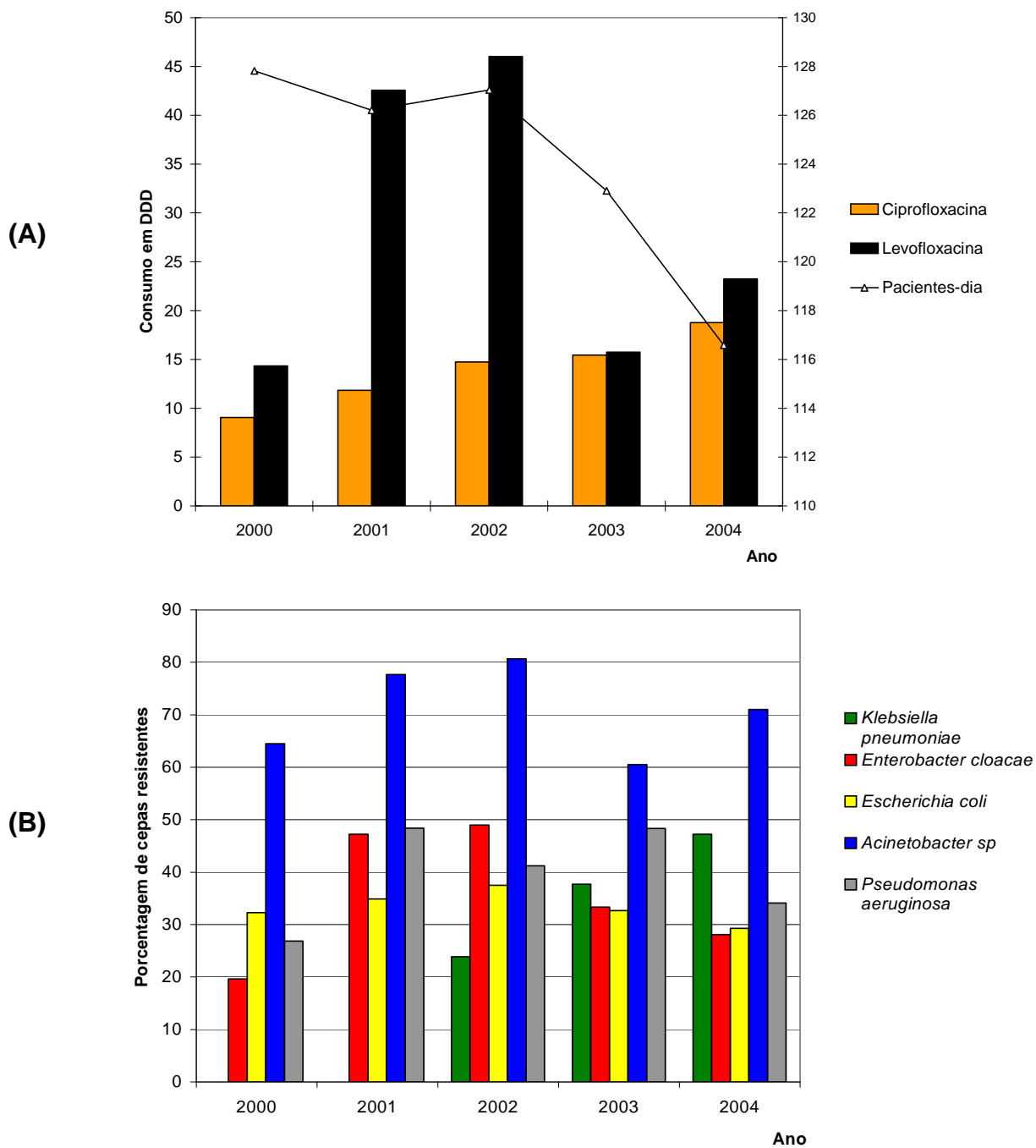


Figura 11- (A) Consumo de quinolonas no HC-UNICAMP e número de pacientes-dia no período 2000-2004 e (B) perfil de resistência dos microrganismos Gram negativos mais prevalentes.

Dentre as cepas avaliadas, foi marcante a queda do número de cepas de *E.coli* e o aumento do número de cepas de *K.pneumoniae* ESBL positivas, que pode ser observada na Figura 12.

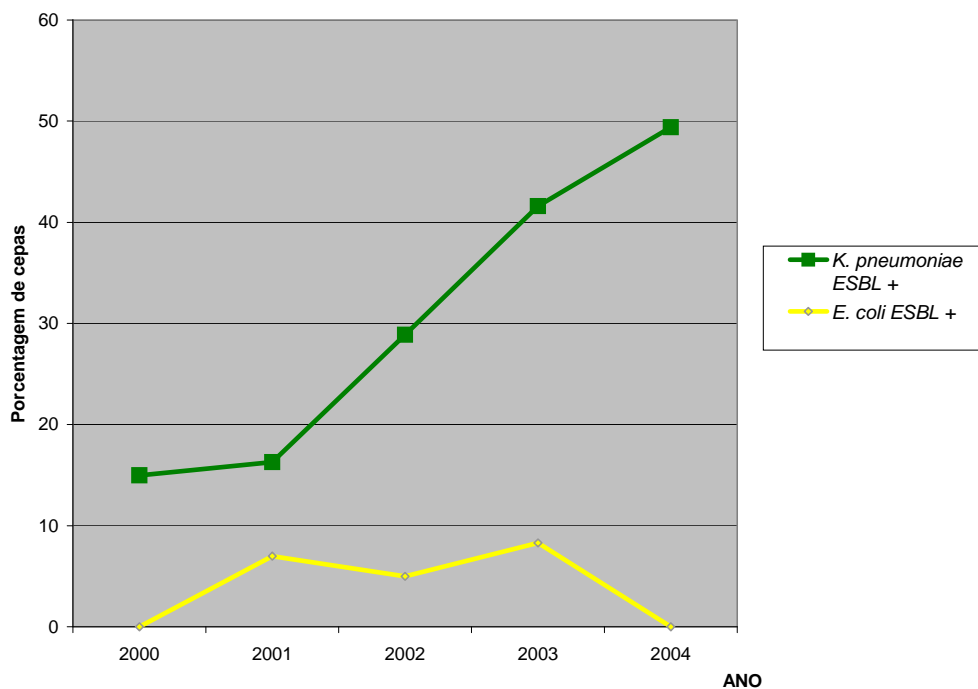


Figura 12- Evolução do isolamento de cepas de *K.pneumoniae* e *E.coli* ESBL positivas, no período de 2000 a 2004.

5- DISCUSSÃO

5.1- Microrganismos mais frequentemente isolados

Em decorrência de inúmeros fatores, pacientes hospitalizados são particularmente susceptíveis à colonização e à infecção por enterobactérias, que apresentam alto grau de resistência aos principais agentes terapêuticos (BLOT et al., 2002).

Com o intuito de conhecer os microrganismos Gram negativos mais isolados a partir de hemoculturas no HC-UNICAMP, foram coletados os dados gerados pelo Laboratório de Microbiologia desta Instituição pelo período de 5 anos (2000 a 2004). Os dados de frequência geral destes agentes encontram-se na Tabela 2 que contempla o total dos bacilos Gram negativos isolados de todas as amostras de hemoculturas colhidas no período de 2000 a 2004.

Os dados da Tabela 3 consideram somente os bacilos Gram negativos mais prevalentes entre todos os pacientes, valorizando apenas uma única amostra positiva de hemocultura para cada paciente. Decorre daí a pequena diferença numérica entre os dados das Tabelas 2 e 3.

A Tabela 3 e a Figura 1 demonstram os cinco microrganismos mais prevalentes e com os quais foram realizadas todas as demais avaliações, que podem ser divididos em dois grupos: o dos bacilos Gram negativos fermentadores de glicose, que inclui as *Enterobacteriaceae: Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae e Enterobacter cloacae* e o dos bacilos Gram negativos não fermentadores de glicose: *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*.

Foi possível também notar uma alteração na frequência dos microrganismos ao longo dos anos, demonstrado pela Figura 1, apresentando-se a *Klebsiella pneumoniae* com maior frequência, provavelmente em substituição do *Enterobacter cloacae* a partir de 2002. Este aumento da frequência de *Klebsiella pneumoniae* foi também notado em infecções da corrente sanguínea na América Latina segundo o programa SENTRY de vigilância (BIEDENBACH et al., 2004) e em infecções nosocomiais em hospital universitário de Taiwan (HSUEH et al., 2005).

A gradativa substituição de *Enterobacter cloacae* por *Klebsiella pneumoniae*, provavelmente é devida à alteração do perfil de resistência de *K.pneumoniae*, ou ao surgimento das cepas ESBL. Como foi observado pelo estudo Sentry, existe uma taxa epidêmica de *Klebsiella pneumoniae* produtora de ESBL nos hospitais brasileiros, se comparada com hospitais dos Estados Unidos ou da Europa (SADER et al., 2001).

O predomínio de isolados de *Klebsiella pneumoniae*, seguidos de *Enterobacter cloacae*, ultrapassam os valores menores da prevalência de *Escherichia coli*, tida como o mais freqüente dos bacilos Gram negativos causadores de infecções hospitalares, nos anos 90 (HARIRAN, 1996). Dados também em conformidade com os observados pelo estudo Sentry, um programa de vigilância de resistência de microrganismos, dirigido aos países da América Latina (SADER et al., 2001).

Dentre as especialidades clínicas que atuam no HC-UNICAMP, o maior número de solicitações de hemoculturas e de microrganismos Gram negativos isolados a partir destas foram observados em pacientes da gastroenterologia (clínica, cirurgia e transplante) (23,31%), representados em grande parte pelo Serviço de Transplante de fígado, responsável por grande número de intervenções cirúrgicas e de processos invasivos em sua rotina diária. Estes dados podem ser atribuídos as bacteriemias transitórias, que decorrem da instrumentação de superfícies mucosas contaminadas ou de cirurgia do aparelho digestivo (BARON et al, 2005). A porcentagem de hemoculturas positivas também é maior nesta especialidade, se comparada com a as outras enfermarias, mesmo a de Hematologia e Transplante de Medula Óssea (16,91%), que possui, provavelmente, os pacientes mais imunocomprometidos do HC-UNICAMP e da Enfermaria Geral de Adultos (14,50%), como demonstrado na Tabela 4.

5.2- Consumo dos antimicrobianos selecionados e resistência dos microrganismos “in vitro”

Conforme evidenciado na Figura 2 houve um grande aumento do consumo de ceftriaxona e ceftazidima no ano de 2001, seguido de um declínio e concomitante ampliação crescente do uso de cefepima, uma tendência mundial de substituição de

cefalosporinas de terceira geração, pelas de quarta geração devido ao fato de as primeiras serem fortes indutoras de produção de ESBL Estes dados mostram concordância com as publicações internacionais recentes (HUANG et al., 2002) (ARMENIAN et al., 2005).

Ainda considerando a Figura 2, nota-se um aumento de uso da quinolona levofloxacina em 2001 e 2002 no HC-UNICAMP, provavelmente devido a substituição do tratamento empírico de pneumonias.

Demonstrou-se também que a susceptibilidade aos antimicrobianos tem se modificado ao longo deste mesmo período como mostram as Figuras 5, 8 e 11. Estes dados mostram concordância com as publicações internacionais recentes ((HUANG ET AL., 2002). (ARMENIAN ET AL., 2005)).

5.2.1- Consumo de cefalosporinas de terceira geração e resistência dos microrganismos avaliados

De acordo com a Figura 3, não foi estatisticamente significativo o consumo de cefalosporinas de 3^a geração, tanto isoladas, ceftazidima ($p=0.073$) e ceftriaxona ($p= 0.155$), quanto em conjunto ($p=0.131$).

No entanto, a utilização aumentada de cefalosporinas de terceira geração no ano de 2001 refletiu se no aumento de resistência dos bacilos Gram negativos objeto deste estudo, como demonstrado nas Figuras 4 e 5. Notável é a curva de resistência. de *Klebsiella pneumoniae* ($p=0.025$) (Figura 4), com taxas variando de 10% em 2001 a mais que 55% no ano de 2004 (Figura 5); ilustrando o provável surgimento das cepas ESBL neste hospital e seu predomínio em hemoculturas desde então. Estes dados demonstram concordância com artigos publicados por outros autores, que também puderam correlacionar o consumo de cefalosporinas de 3^a geração e o aumento de resistência de cepas de *Klebsiella pneumoniae* (KANG, 2004) (HSUEH et al., 2005) e (LEE, 2006).

5.2.2- Consumo de cefalosporinas de quarta geração e resistência dos microrganismos avaliados

De modo contrário ao que ocorreu com as cefalosporinas de 3^a geração, o consumo de cefalosporinas de 4^a geração, no período estudado, foi aumentando, embora este aumento não possa ser considerado estatisticamente significativo ($p=0.098$) (Figura 6).

Do mesmo modo que para as cefalosporinas de 3^a geração, também o consumo de cefalosporinas de 4^a geração pode ser implicado no significativo aumento de resistência de cepas de *Klebsiella pneumoniae* ($p= 0.024$) (Figura 7), com taxas variando de menos de 10% em 2001 a cerca de 50% no ano de 2004 (Figura 8). *Acinetobacter baumannii* manteve taxas de 68 a 78% de resistência.

O uso das cefalosporinas de quarta geração como o cefepime vem aumentando em uma curva ascendente desde 2001, como visualizado na Figura 8, porém a resistência dos bacilos Gram negativos tem diminuído, com excessão da *Klebsiella pneumoniae*, devido provavelmente à produção de ESBL. Fato que coincide com dados de literatura recente, publicados por Kim, 2002 e Hsueh et al., 2005.

5.2.3- Consumo de quinolonas e resistência dos microrganismos avaliados

De acordo com a Figura 9, apenas foi estatisticamente significativo o consumo de ciprofloxacina, quando avaliada de forma isolada ($p=0.002$). A levofloxacina, não foi considerada relevante para este estudo por se tratar de indicação principal para tratamento de Gram positivos.

Do mesmo modo que para as cefalosporinas, também o consumo de quinolonas pode ser implicado no significativo aumento de resistência de cepas de *Klebsiella pneumoniae* ($p= 0.006$) (Figura 10), com taxas variando de 22% em 2001 a cerca de 48% no ano de 2004 (Figura 11).

O consumo de ciprofloxacina vem aumentando desde o ano 2000, ocorrendo um aumento da resistência em quase todos os microrganismos Gram negativos até 2002, seguido de declínio desta resistência observado principalmente para as cepas de

Escherichia coli e *Enterobacter cloacae*, conforme mostrado na Figura 11, talvez devido à diminuição da pressão de seleção com o uso ampliado de levofloxacina.

É importante ressaltar os relatos de resistência crescente frente as quinolonas em todos os microrganismos isolados, fato amplamente discutido em literatura médica recente (LIVERMORE et al., 2002) (RODRIGUEZ, 2003).

A utilização indiscriminada de quinolonas, principalmente a ciprofloxacina, mesmo em pacientes não internados, tem levado a um aumento significativo de resistência às quinolonas no meio hospitalar nos Estados Unidos. (NEUHAUSER, 2003). Ainda não existem estudos realizados no Brasil que comprovem estes dados.

Finalmente a Figura 12 evidencia o crescimento exponencial das cepas de *Klebsiella pneumoniae* produtoras de ESBL desde 2001. Este estudo coincide com dados publicados do Hospital São Paulo da UNIFESP (MARRA et al. 2006) com dados publicados na Índia (MATHUR et al. 2002) e em Taiwan (WU 2006).

6- CONCLUSÕES

- Os bacilos Gram negativos mais prevalentes dentre os isolados de hemoculturas de pacientes internados no HC UNICAMP no período de 2000-2004 foram em ordem decrescente: *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa*
- Foi possível avaliar o perfil de susceptibilidade dos bacilos Gram negativos aos antibacterianos mais frequentemente utilizados, demonstrando uma queda em níveis variados da susceptibilidade as cefalosporinas de terceira geração e acentuadamente em *Klebsiella pneumoniae*.
- O consumo aumentado de cefalosporinas de terceira geração no HC-UNICAMP pôde ser correlacionado de forma significativa a maior taxa de resistência de *Klebsiella pneumoniae*.
- O consumo aumentado de cefalosporinas de quarta geração no HC-UNICAMP pôde ser correlacionado de forma significativa a maior taxa de resistência de *Klebsiella pneumoniae* produtora de ESBL.
- O consumo de quinolonas aumentado pôde ser correlacionado de forma significativa ao aumento de resistência dos bacilos Gram negativos até o ano de 2002, quando começou a declinar, e até o ano de 2004 apenas para *Klebsiella pneumoniae*.

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS



Armenian, S.H. Risk Factors for Mortality Resulting from Bloodstream Infections in a Pediatric Intensive Care Unit. *Ped Infect Dis J.*2005; 24(4): 309-14.

Baron LJ, Weinstein MP, Dunne WM, Yagupsky P, Welch DF, Wilson DM. *Blood Cultures IV .CUMITECH 1C:– ASM PRESS 2005;1-32*

Bearmen GML, Wenzel RP. Bacteremias: a leading cause of death. *Arch. Med. Res.* 2005; 36: 646-59

Biedenbach DJ, Moet GJ, Jones RN. Occurrence and antimicrobial resistance pattern comparison among bloodstream infection isolates from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1977-2002).*Diagn Microbiol Infect Dis*2004; 50: 59-69.

Blot S.,Vandewoude K, Bacquer DD, Colardyn F. - Nosocomial bacteremia caused by antibiotic resistant gram-negative bacteria in critically ill patients: clinical outcome and length of hospitalization. *Clin Infect Dis*, 2002; 15; 34(12)1600-6

Conover, W. J. *Practical Nonparametric Statistics*. New York: John Wiley & Sons, 1971.

Diekema DJ, Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Winokur PL, Gales AC, et al. Survey of bloodstream infections due to gram-negatives bacilli: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada and Latin America for the Sentry Antimicrobial Surveillance program. *Clin Infect Dis*1999; 29(3): 595-607.

Dunne W M, Nolte FS, Wilson M L – *Blood Cultures III – CUMITECH 1B: 1-21 - ASM PRESS 1997.*

Fleiss JL, *Statistical Methods for Rates and Proportions*. New York: John Wiley & Sons, 2^a ed. 1981.

Fonseca JS, Martins GA. *Curso de Estatística*. São Paulo: Ed Atlas, 5^a ed. pp 177-179, 1994.

French GL, Philips I. – *Antimicrobial Resistance in Hospital Flora and Nosocomial Infections*. In: Mayhall C. G. *Hospital Epidemiology and Infection Control*. 1^a ed. Maryland, Williams & Wilkins 1996; p980 – 99.

Garner JS – Introduction. Prevention nosocomial infections: progress in 1980s; plans for the 1990s. *Am. J. Med* 1991; 91:3B-1s

Haririri R, Weinstein R. Enterobacteriaceae. In: Mayhall CG. *Hospital Epidemiology and Infection Control*. Baltimore: Williams & Wilkins; 1996; p.345-66.

Hsueh P R, Chen WH, Luh KT. – Relationship between antimicrobial use and antimicrobial resistance in Gram-negative bacteria causing nosocomial infections from 1991-2003 at a university hospital in Taiwan. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2005; 26: 463-72.

Huang SS, Labus BJ, Samuel M C, Wan DT, Reingold AL – Antibiotic resistance Patterns of bacterial Isolates from Blood in San Francisco California, 1996-1999. *Emerg Infect Dis* 2002; 8(2),

Jacoby AG, – Extended- Spectrum B lactamases and other enzymes providing resistance to oxymino-B lactams. *Infectious disease clinics of North America*, 1997; 11(4): 875- 87.

Jang TN, Kuo BI, Fung CP, Lee SH, Yang TL, Huang CS – Nosocomial gram negative bacteremia in critically ill patients: epidemiologic characteristics and prognostic factors in 147 episodes. *J Formos Med Assoc China*, 1999; 98(7)465-473

Kang CI, Kim SH, Park WB, Lee KD, Kim HB, Kim EC et al. Bloodstream infections caused by Antibiotic resistant Gram negative bacilli: risk factors for mortality and impact of inappropriate initial antimicrobial therapy on outcome. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 2005; 49:760-66.

Kim YK, Pay H, Lee HJ, Park SE, Choy EH, Kim J et al. Bloodstream infections by extended-spectrum β lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in children: epidemiology and clinical outcome. *2002 Antimicrob Agents Chemotherapy*; 46:1481-91.

Lee SY, Kotapaki S, Kut JL, Nightingale CH, Nicolau DP. . Impact of Extended-Spectrum beta -Lactamase-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* Species on Clinical Outcomes and Hospital Costs: A Matched Cohort Study. *2006*; 27(11):1226-32

Livermore DM, James D, Reacher M, Graham C, Nichols TS, Stephens P, George AR – Trends in Fluoroquinolone (Ciprofloxacin) Resistance in Enterobacteriaceae bacteremias, England and Wales, 1990-1999. *Emerg Infect Dis* 2002; 8(5).

Mathur P, Kapil A, Das B, Dawan B. prevalence of extended spectrum beta lactamase producing Gram negative bacteria in a tertiary care hospital. Indian J med Res 2002; 115:153-7.

Marra A, Wey S, Castelo A, Gales AC, Cal RGR, Carmo JRF, et al. Nosocomial bloodstream infections caused by Klebsiella pneumoniae: impact of extended-spectrum β lactamase (ESBL) production on clinical outcome in a hospital with high ESBL prevalence. BMC Infectious Diseases 2006;6(24): 1-8.

Mendes CMF, Rossi F. – O papel do laboratório de microbiologia. Rodrigues et al. Infecções Hospitalares Prevenção e Controle 1ª ed. São Paulo Sarvier 1997 p 539-48.

Mendonça, J. S. _ Mecanismos de resistência bacteriana e suas implicações. In: Rodrigues, E. A. C.; Mendonça, J.S.; Amarante, J. M. B.; Alves, M. B.; Grinbaum, R.S.; Richtman, R. -Infecções Hospitalares Prevenção e Controle 1ª ed. São Paulo Sarvier 1997 p 561 – 72.

Montgomery, D.C. & Peck, E.A. (1982), *Introduction to Linear Regression Analysis*. New York: John Wiley & Sons.

Neuhauser, M. M.; Weinstein, R.A.; Rydman, R.; Danziger, L.H.; Karam, G.; Quinn, J.P. – Antibiotic resistance among Gram negative bacilli in US Intensive care Units. Implications for Fluoroquinolone use. JAMA 2003; 289(7) 885- 88.

Nimri L Batchoun R. Community acquired bacteremia in a rural area: predominant bacterial species and antibiotic resistance. J Med Microbiol 2004; 53: 1045-49

Pereira CA, Boschirolli AM, Marra AR, Nunes CZ, Zardo CBDF, Barata CH et al. Antibióticos e Quimioterápicos. In: Salomão R, Pignatari AC-Guias de Medicina Ambulatorial e Hospitalar UNIFESP / Escola Paulista de Medicina – Infectologia. Ed Manole 2004 p 357-416

PROBAC; <http://www.probac.com.br>

Raymond DP, Pelletier SJ, Crabtree TD, Evans HL, Pruett TL, Sawyer RG. - Impact of antibiotic resistant gram negative Bacilli infections on Outcome in Hospitalized patients. Crit Care Med 2003;31(4): 1035 – 41.

Rayner B, Willcox P. Community acquired bacteremia: a prospective survey of 239 cases. *Q J Med* 1988; 69: 907-19

Ramphal R, Ambrose PA – Extended-Spectrum- β -Lactamases and clinical Outcome: Current data. *Clin. Infect. Dis* 2006; 42:S164-72

Reymer LG, Wilson ML, Winstein MP. – Update on Detection of Bacteremia and Fungemia. *Clin. Microbiol. Rev* 1997; 10: 444-65

Rodrigues CH, Juarez J, de Mier C, Pugliese L, Blanco G, Famiglietti A. Bacterial resistance to antibiotics in Gram negative rods isolated from intensive care units. Comparative analysis between two periods(1998 and 2001). *Medicina (B Aires)* 2003; 63(1): 21-7.

Rossi F, Andreazzi DB – Resistência Bacteriana: interpretando o antibiograma. Atheneu – São Paulo, 2005.

Sader HS, Gales AC, Pfaller MA, Mendes RE, Zoccoli C, Barth A et al. Pathogen frequency and resistance patterns in Brazilian hospitals: summary of results from three years of the SENTRY antimicrobial surveillance program. *BJID* 2001;5(4): 200-14.

Siegel, S. *Estatística Não-Paramétrica para as Ciências do Comportamento*. São Paulo: McGraw – Hill. 1975.

Tumbarello Ms, Panu T, Sanguinetti M, Citton M, Montuori E, Leone F et al. – Bloodstream infections caused by Extended-Spectrum- β -Lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*: Risk factors, Molecular epidemiology, and Clinical Outcome. *Antimicrob. Agents. Chemother* 2006; 50(2):498-504

Weinstein MP, Murphy JR, Reller LB – The clinical significance of positive blood cultures: a comprehensive analysis of 500 episodes of bacteriemia and fungemia in adults II Clinical observations with special reference to factors influencing prognosis. *Rev. Infect Dis* 1983; 5: 54-70 .

Weinstein MP, Towns ML, Quartey SM, Mirrett S, Reimer LG, Parmigiani G et al. The clinical significance of positive blood cultures in the 1990s: a prospective comprehensive evaluation of the microbiology, epidemiology, and outcome of bacteremia and fungemia in adults. *Clin Infect Dis* 1997; 24:584-92.

Wenzel RP, Edmond MB. The impact of hospital acquired bloodstream infections. *Emerg Infect Dis* 2001; 7(2)

Whitelaw D, Rayner B, Willcox P. Community acquired bacteremia in the elderly: a prospective study of 121 cases. *J Am Geriatr Soc* 1992; 40:996-1000.

Wisplinghoff H, Seifert H, Tallent SM, Bischoff T, Wenzel RP, Edmond MB. – Nosocomial bloodstream infections in pediatric patients in United States hospitals: Epidemiology, clinical features and susceptibilities. *Pediatr. Infect. Dis J* 2003; 22:686-91

Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond M - Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis* 2004; (39):309-17

Wong-Beringer A. Therapeutic challenges associated with extended-spectrum, beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Pharmacotherapy*. 2001;21(5):583-92.

Wu CJ, Lee HC, Lee NY, Ko NY, Wang LR, Ko WC. Predominance of Gram negative bacilli and increasing antimicrobial resistance in nosocomial bloodstream infections at a university hospital in southern Taiwan, 1996-2003. *J Microbiol Immunol Infect* 2006;(39):135-43

BIBLIOGRAFIA DE NORMATIZAÇÃO

- Normas, Procedimentos e Orientações para Publicação de Dissertações e Teses. Faculdade de Ciências Médicas, UNICAMP, 2004.
- Elaboração de Trabalhos Científicos, Trabalho de Conclusão de Curso: Monografia, Dissertação e Tese. Seção de Referência – Diretoria de Serviços ao Público, Biblioteca Central, SBU - Campinas, 2003.

8- ANEXOS

Anexo 1- Microrganismos Gram negativos isolados a partir de hemoculturas coletadas de pacientes adultos atendidos no HC-UNICAMP no período de 2000-2004.

Microrganismos	Ano									
	2000		2001		2002		2003		2004	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>Acinetobacter calcoaceticus - baumannii</i>	29	15,7	52	18,3	53	18,5	41	15,5	38	13,2
<i>Citrobacter freundii</i>	0	0	7	2,5	4	1,4	4	1,5	1	0,3
<i>Citrobacter koseri</i>	0	0	0	0	2	0,7	2	0,8	1	0,3
<i>Enterobacter aerogenes</i>	21	11,4	18	6,3	16	5,6	7	2,7	10	3,5
<i>Enterobacter cloacae</i>	50	27	68	23,9	47	16,4	50	18,9	32	11,2
<i>Escherichia coli</i>	28	15,1	43	15,1	40	14	46	17,4	58	20,3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	22	11,9	40	14	64	24,4	68	25,8	82	28,7
<i>Morganella morganii</i>	0	0	6	2,1	2	0,7	3	1,1	3	1
<i>Pantoea agglomerans</i>	1	0,5	2	0,7	1	0,3	4	1,5	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	1	0,5	0	0	4	1,4	4	1,5	4	1,4
<i>Proteus vulgaris</i>	0	0	0	0	0	0	1	0,4	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	26	14,1	32	11,2	34	11,9	30	11,4	43	15
<i>Serratia marcescens</i>	7	3,8	17	6	19	6,6	4	1,5	14	4,9

Anexo 2- Consumo de antimicrobianos selecionados no HC-UNICAMP, no período de 2000-2004.

Antimicrobiano	Consumo (DDD)/ano				
	2000	2001	2002	2003	2004
Ceftazidima	37,05	42,54	31,46	26,22	26,41
Ceftriaxona	48,47	74,81	29,96	24,66	22,41
Cefepima	47,60	36,48	50,05	53,76	70,04
Ciprofloxacina	9,06	11,85	14,73	15,46	18,79
Levofloxacina	14,35	42,58	46,00	15,74	23,26
Moxifloxacina	0,00	0,00	0,00	0,00	0,13
Gatifloxacina	0,00	0,00	0,00	0,00	5,03
Pacientes-dia	127,81	126,20	127,04	122,91	116,58

Anexo 3- Dados de resistência frente às drogas em estudo nos anos de 2000 a 2004.

Ano 2000

Microrganismos	Cefalosp.3a		Cefepima		Ciprofloxacina	
	n	%	n	%	n	%
<i>Acinetobacter calcoaceticus - anitratus</i>	17	54,8	21	67,7	20	64,5
<i>Citrobacter freundii</i>	ni	ni	ni	ni	ni	ni
<i>Citrobacter koseri</i>	ni	ni	ni	ni	ni	ni
<i>Enterobacter aerogenes</i>	11	55,0	9	45	12	57,1
<i>Enterobacter cloacae</i>	14	28,0	3	6	10	19,6
<i>Escherichia coli</i>	0	0,0	0	0	10	32,2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3	15,0	3	15,0	0	0
<i>Morganella morganii</i>	ni	ni	ni	ni	ni	ni
<i>Pantoea agglomerans</i>	ni	ni	ni	ni	ni	ni
<i>Proteus mirabilis</i>	1	100,0	1	100	0	0
<i>Proteus vulgaris</i>	ni	ni	ni	ni	ni	ni
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11	42,3	5	19,2	7	26,9
<i>Serratia marcescens</i>	0	0,0	0	0	0	0

ni = não isolado no período

Ano 2001

Microrganismos	Cefalosp.3a		Cefepima		Ciprofloxacina	
	n	%	n	%	n	%
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1	100	1	100	1	100
<i>Acinetobacter calcoaceticus -anitratus</i>	36	73,5	38	77,6	38	76
<i>Acinetobacter calcoaceticus - baumannii</i>	2	66,7	3	100	3	100
<i>Citrobacter freundii</i>	0	0	0	0	2	28,6
<i>Citrobacter koseri</i>	ni	ni	ni	ni	ni	ni
<i>Enterobacter aerogenes</i>	15	75	12	60	13	65
<i>Enterobacter cloacae</i>	34	47,9	24	33,8	64	47,2
<i>Escherichia coli</i>	3	7	3	7	15	34,9
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4	9,3	4	9,3	0	0
<i>Morganella morganii</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Pantoea agglomerans</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	ni	ni	ni	ni	ni	ni
<i>Proteus vulgaris</i>	ni	ni	ni	ni	ni	ni
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	19	63,3	11	36,7	15	48,4
<i>Serratia marcescens</i>	1	5,9	0	0	3	17,6

ni = não isolado no período

Ano 2002

Microrganismos	Cefalosp.3a		Cefepima		Ciprofloxacina	
	n	%	n	%	n	%
<i>Acinetobacter baumannii</i>	ni	ni	ni	ni	ni	ni
<i>Acinetobacter calcoaceticus -anitratu</i> s	35	71,4	39	79,6	41	82
<i>Acinetobacter calcoaceticus - baumannii</i>	1	50	1	50	1	50
<i>Citrobacter freundii</i>	1	25	0	0	0	0
<i>Citrobacter koseri</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter aerogenes</i>	8	53,3	7	46,7	6	40
<i>Enterobacter cloacae</i>	26	53,1	24	49	24	49
<i>Escherichia coli</i>	3	7,5	3	7,5	15	37,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	17	23,9	17	23,9	17	23,9
<i>Morganella morganii</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Pantoea agglomerans</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Proteus vulgaris</i>	ni	ni	ni	ni	ni	ni
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	23	67,6	11	32,4	14	41,2
<i>Serratia marcescens</i>	1	5	2	10	1	5

ni = não isolado no período

Ano 2003

Microrganismos	Cefalosp.3a		Cefepima		Ciprofloxacina	
	n	%	n	%	n	%
<i>Acinetobacter baumannii</i>	ni	ni	ni	ni	ni	ni
<i>Acinetobacter calcoaceticus -anitratu</i> s	24	55,8	29	67,4	26	60,5
<i>Acinetobacter calcoaceticus - baumannii</i>	ni	ni	ni	ni	ni	ni
<i>Citrobacter freundii</i>	1	25	0	0	2	50
<i>Citrobacter koseri</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter cloacae</i>	20	39,2	17	33,3	17	33,3
<i>Escherichia coli</i>	3	6,1	2	4,1	16	32,7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	24	34,8	24	34,8	26	37,7
<i>Morganella morganii</i>	1	33,3	1	33,3	1	33,3
<i>Pantoea agglomerans</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	1	25	2	50	0	0
<i>Proteus vulgaris</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	18	62,1	6	20,7	14	48,3
<i>Serratia marcescens</i>	0	0	0	0	0	0

ni = não isolado no período

Ano 2004

Microrganismos	Cefalosp.3a		Cefepima		Ciprofloxacina	
	n	%	n	%	n	%
<i>Acinetobacter baumannii</i>	ni	ni	ni	ni	ni	ni
<i>Acinetobacter calcoaceticus -anitratu</i> s	0	0	14	66,7	14	66,7
<i>Acinetobacter calcoaceticus - baumannii</i>	7	41,2	14	82,4	13	76,5
<i>Citrobacter freundii</i>	1	100	0	0	1	100
<i>Citrobacter koseri</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	11,1	0	0	0	0
<i>Enterobacter cloacae</i>	10	32,3	7	22,6	9	28,1
<i>Escherichia coli</i>	1	1,7	1	1,7	17	29,3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	48	53,9	44	49,4	42	47,2
<i>Morganella morganii</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Pantoea agglomerans</i>	ni	ni	ni	ni	ni	ni
<i>Proteus mirabilis</i>	1	25	1	25	0	0
<i>Proteus vulgaris</i>	ni	ni	ni	ni	ni	ni
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	31	70,5	12	27,3	15	34,1
<i>Serratia marcescens</i>	2	12,5	1	6,3	2	12,5

ni = não isolado no período

Anexo 4- Cepas produtoras de ESBL.

Cepas produtoras de ESBL	Porcentagem de isolados por ano									
	2000		2001		2002		2003		2004	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>E. coli</i>	0	0	3	7	2	5	4	8,3	0	0
<i>K. pneumoniae</i>	3	15	4	9,3	17	23,9	23	33,3	44	49,4