

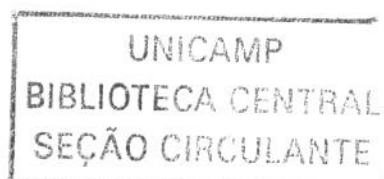
CARLOS MAGNO CASTELO BRANCO FORTALEZA

**FATORES DE RISCO PARA AQUISIÇÃO DE
PSEUDOMONAS AERUGINOSA RESISTENTE
AO IMIPENEM E À CEFTAZIDIMA EM PACIENTES
INTERNADOS NO HOSPITAL DE CLÍNICAS
DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
(HC-UNICAMP)**

CAMPINAS

2005

i



CARLOS MAGNO CASTELO BRANCO FORTALEZA

**FATORES DE RISCO PARA AQUISIÇÃO DE
PSEUDOMONAS AERUGINOSA RESISTENTE
AO IMIPENEM E À CEFTAZIDIMA EM PACIENTES
INTERNADOS NO HOSPITAL DE CLÍNICAS
DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
(HC-UNICAMP)**

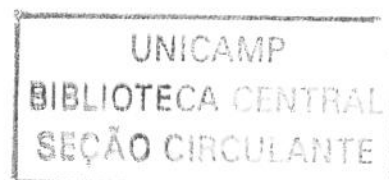
*Tese de Doutorado apresentada à Pós-Graduação da
Faculdade de Ciências Médicas da Universidade
Estadual de Campinas para obtenção do título de
Doutor em Clínica Médica, área de concentração em
Clínica Médica.*

ORIENTADOR: PROF. DR. MARCELO DE CARVALHO RAMOS.

CAMPINAS

2005

iii



UNIDADE	BC
Nº CHAMADA	T/UNI F775f
V	EX
TOMBO BC	6415f
PROC.	16-P-00086-05
C	☐
D	☒
PREÇO	11,00
DATA	10/06/05
Nº CPD	

CAMP

lib-ia 351613

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

F775f

Fortaleza, Carlos Magno Castelo Branco

Fatores de risco para aquisição de *Pseudomonas Aeruginosa* resistente ao Imipenem e à Ceftazidima em pacientes internados no Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas (HC – UNICAMP) / Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza. Campinas, SP : [s.n.], 2005.

Orientador : Marcelo de Carvalho Ramos

Tese (Doutorado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

1. Antibióticos. 2. Antibióticos + beta - lactâmicos. 3. Antibióticos - resistência em microorganismos 4. Infecção hospitalar. I. Ramos, Marcelo de Carvalho. II. Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Ciências Médicas. III. Título. (slb/fcm)

Banca Examinadora da Defesa de Tese de Doutorado

Orientador(a): Prof. Dr. Marcelo de Carvalho Ramos

Membros:

1. Prof(a). Dr(a) .Marcelo de Carvalho Ramos

Marcelo de Carvalho Ramos

2. Prof(a). Dr(a). Sérgio Barsanti Wey

Sérgio Barsanti Wey

3. Prof(a). Dr(a). Sílvia Figueiredo Costa

Sílvia Figueiredo Costa

4. Prof(a). Dr(a).Antonia Terezinha Tresoldi

Antonia Terezinha Tresoldi

5. Prof(a). Dr(a). Plínio Trabasso

Plínio Trabasso

Curso de Pós-Graduação em Clínica Médica, área de concentração Clínica Médica, da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 21/01/2005

DEDICATÓRIA

*Para Felipe
e Davi.*

*“Pelas ruas encontro hostilidade constante
e eu gostaria finalmente de estar só
com os meus filhos, treinados para o amor
e que pretendo deixar como relíquias
de minhas boas intenções.”*

(Robert Creeley, Fragmento)

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao Professor Marcelo de Carvalho Ramos, por exercer com generosidade a função de orientador; por ser exemplo constante de rigor e criatividade; por abraçar com entusiasmo cada nova idéia; por aplacar com parcimônia minhas ansiedades.

A **Maristela Pinheiro Freire**, cujo entusiasmo e engajamento a este projeto tangenciam a co-autoria.

Ao Professor **Djalma Carvalho Moreira Filho**, pelo importante apoio metodológico.

A **Luis Gustavo de Oliveira Cardoso**, por discussões que renderam valiosos *insights*.

Ao Professor **Luiz Jacintho da Silva**, pela grande confiança demonstrada em meu trabalho; pelo apoio que se estendeu muito além da esfera profissional. A extensão de minha dívida é incalculável.

A **Núbia Araújo e Jussara Lischtenstein**, por assumir muitas de minhas obrigações junto ao Centro de Vigilância Epidemiológica para que eu pudesse me dedicar integralmente à fase final desta tese.

Aos meus colegas do Departamento de Doenças Tropicais e Diagnóstico por Imagem da Faculdade de Medicina de Botucatu: Professores **Domingos Alves Meira, Jussara Marcondes Machado, Rinaldo Pôncio Mendes, Benedito Barravieira, Lenice do Rosário de Souza, Paulo Câmara Marques Pereira, Ricardo Augusto Monteiro de Barros Almeida, Valéria Drummond Nagen e Alexandre Naime Barbosa** pelo exemplo e colaboração com as horas de trabalho absorvidas por esta tese.

A todos os **funcionários do Departamento de Informática e do Serviço de Arquivo Médico do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas**, pela cooperação cordial e eficiente com o levantamento de dados.

A **Ana Rachel**, pelo carinho e a dedicação em tempos difíceis.

A **Emília e Francisco Fortaleza**, meus pais.

“(...) para aquelas coisas em que a existência de uma implica na outra, aquilo que é de alguma forma a causa pode ser razoavelmente dito por natureza primeiro em relação ao efeito.”

(Aristóteles, Categorias)

“(...) nenhuma teoria médica por si mesma é suficiente para definir um programa hospitalar. (...) o hospital (...) é uma estrutura complexa de que se conhecem mal os efeitos e as conseqüências, que age sobre as doenças e é capaz de agravá-las, multiplicá-las ou atenuá-las.”

(Michel Foucault, Microfísica do Poder)

	<i>PÁG.</i>
RESUMO	<i>xxvii</i>
ABSTRACT	<i>xxxi</i>
1. INTRODUÇÃO	35
1.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> : epidemiologia e relevância clínica.....	37
1.2. Imipenem e Ceftazidima: impacto da resistência.....	42
2. OBJETIVOS	51
3. MATERIAL E MÉTODOS	55
3.1. Tipo de estudo.....	57
3.2. Local do estudo.....	57
3.3. Definições de casos e controles.....	58
3.4. Investigação de fatores de risco.....	58
3.4.1. Procedimentos para coleta de dados.....	58
3.4.2. Ajuste para gravidade/co-morbidades.....	59
3.4.3. Ajuste para tempo de exposição ao risco.....	59
3.4.4. Dados prévios à internação.....	60
3.4.5. Dados da internação.....	60
3.4.6. Uso de antimicrobianos.....	60
3.5. Análise estatística.....	61
3.5.1. Programas computacionais.....	61
3.5.2. Análise bivariada.....	61
3.5.3. Análise multivariada.....	61

4. RESULTADOS.....	63
4.1. Perfil dos casos no estudo.....	65
4.1.1. Caso-controle 1 (<i>P. aeruginosa</i> resistente ao Imipenem).....	65
4.1.2. Caso-controle 2 (<i>P. aeruginosa</i> resistente à Cefotazidima).....	66
4.2. Análise bivariada.....	68
4.2.1. Caso-controle 1 (<i>P. aeruginosa</i> resistente ao Imipenem).....	68
4.2.2. Caso-controle 2 (<i>P. aeruginosa</i> resistente à Cefotazidima).....	70
4.3. Análise multivariada.....	72
4.3.1. Caso-controle 1 (<i>P. aeruginosa</i> resistente ao Imipenem).....	72
4.3.2. Caso-controle 2 (<i>P. aeruginosa</i> resistente à Cefotazidima).....	73
5. DISCUSSÃO.....	75
6. CONCLUSÃO.....	89
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	93
8. APÊNDICE (Artigo enviado para publicação)	113

LISTA DE ABREVIATURAS

Aids	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (a sigla para a grafia de língua inglesa, <i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i> , foi incorporada ao português como palavra. Referência: DICIONÁRIO HOUAISS, 2001).
APACHE	Pontuação de Avaliação Fisiológica Aguda e Crônica para pacientes críticos (do inglês, <i>Acute Physiological and Chronic Health Evaluation</i>)
CDC	Centros para Controle e Prevenção de Doença (do inglês, <i>Centers for Disease Control and Prevention</i>), órgão de saúde governamental Norte-Americano.
CID 10	Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde, décima revisão.
Clav	Clavulanato, inibidor de enzimas beta-lactamases.
EDTA	Ácido Etileno-Diamino-Tetra-Acético (do inglês, <i>Ethylene-Diamine-Tetraacetic Acid</i>), inibidor de enzimas beta-lactamases.
ESBL	Beta-lactamase(s) de Espectro Estendido (do inglês, <i>Extended-Spectrum Beta-lactamase</i>), enzima(s) responsável(eis) pela clivagem de vários antimicrobianos beta-lactâmicos.
HC-UNICAMP	Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana (do inglês, <i>Human Immunodeficiency Virus</i>)
IC95%	Intervalo de Confiança (95%)

NCCLS	Comitê Norte-americano de Padrões de Laboratório Clínico (do inglês, <i>National Committee on Clinical Laboratory Standards</i>)
NNISS	Sistema Norte-americano de Vigilância Epidemiológica das Infecções Hospitalares (<i>National Nosocomial Infection Surveillance System</i>)
OR	<i>Odds Ratio</i>
UTI	Unidade de Terapia Intensiva

	<i>Pág</i>
Figura 1- Dados do projeto SENTRY, mostrando aumento nas taxas de multirresistência de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	45
Figura 2- Distribuição de casos de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> resistente ao Imipenem nas enfermarias.....	65
Figura 3- Espécimes de cultura nos quais foram isoladas <i>Pseudomonas aeruginosa</i> resistente ao imipenem.....	66
Figura 4- Distribuição de casos de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> resistente à Ceftazidima nas enfermarias.....	67
Figura 5- Espécimes de cultura nos quais foram isoladas <i>Pseudomonas aeruginosa</i> resistente à Ceftazidima.....	67

	Pág
Quadro 1- Estudos multicêntricos de resistência de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> em isolados de pacientes hospitalizados.....	43
Quadro 2- Classificação de Bush-Jacoby-Medeiros para betalactamases, incluindo inibidores.....	46
Quadro 3- Pontuação de Charlson para co-morbididades.....	59
Quadro 4- Resultados da análise bivariada para fatores de risco para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> resistente à Ceftazidima.....	69
Quadro 5- Resultados da análise bivariada para fatores de risco para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> resistente à Ceftazidima.....	71
Quadro 6- Fatores de risco para aquisição de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> resistente ao Imipenem (análise multivariada).....	72
Quadro 7- Fatores de risco para aquisição de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> resistente à Ceftazidima (análise multivariada).....	73
Quadro 8- Comparação entre resultados deste estudo e de outros envolvendo a resistência ao Imipenem e/ou à Ceftazidima.....	82

RESUMO

Taxas de resistência ao Imipenem e à Ceftazidima em *Pseudomonas aeruginosa* têm apresentado crescimento em todo o mundo. Em nosso estudo, procuramos investigar os fatores de risco para a recuperação de cepas de *P. aeruginosa* resistentes ao Imipenem ou à Ceftazidima em pacientes internados no Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas (HC-UNICAMP). Esse hospital possui 400 leitos, três unidades de terapia intensiva (UTI) e diversas enfermarias clínicas, cirúrgicas e pediátricas. Os fatores de risco para resistência ao Imipenem e à Ceftazidima foram avaliados separadamente em dois estudos tipo “caso-controle”. Casos e controles foram selecionados retrospectivamente entre indivíduos internados no período de 1999-2002. Para cada caso, dois controles foram selecionados entre os pacientes internados na mesma enfermaria ao mesmo tempo. As variáveis estudadas incluíram: dados demográficos (sexo, idade), diagnóstico e outras doenças presentes (co-morbididades), procedimentos realizados e antimicrobianos utilizados. Análise bivariada e multivariada foram realizadas para identificação dos fatores de risco. Os resultados foram ajustados para gravidade dos pacientes e tempo de exposição ao risco. Isolados de *P. aeruginosa* resistentes ao Imipenem e à Cefatazidima foram recuperados de 108 pacientes e 55 pacientes, respectivamente. Os fatores de risco significativos para *P. aeruginosa* resistente ao Imipenem foram: transferência de outro hospital (*Odds Ratio*=4,1; Intervalo de Confiança 95%: 1,40-12,66; $p=0,01$), hemodiálise ($OR=7,79$; $IC_{95\%}$: 1,59-38,16; $p=0,01$), e o uso de Imipenem ($OR=18,51$; $IC_{95\%}$: 6,30-54,43; $p<0,0001$), Amicacina ($OR=3,22$; $IC_{95\%}$: 1,40-7,41; $p=0,005$) e Vancomicina ($OR=2,48$; $IC_{95\%}$: 1,08-5,64; $p=0,03$). Para *P. aeruginosa* resistente à Ceftazidima, transferência de outro hospital ($OR=18,69$; $IC_{95\%}$: 2,00-174,28; $p=0,01$) e uso de Amicacina ($OR=3,69$; $IC_{95\%}$: 1,32-10,35; $p=0,01$) foram fatores de risco significativos. Nosso estudo sugere um papel importante para várias classes de antimicrobianos como fatores de risco para aquisição de *P. aeruginosa* resistente ao Imipenem, mas não para isolados resistentes à Ceftazidima. Estratégias baseadas apenas na restrição do uso de Imipenem e Ceftazidima podem não ser adequadas para controlar a disseminação de cepas resistentes de *P. aeruginosa*.

ABSTRACT

Imipenem and ceftazidime-resistance in *Pseudomonas aeruginosa* is increasing worldwide. Our study aimed to investigate risk factors for nosocomial recovery of imipenem-resistant (IRPA) and ceftazidime-resistant *P. aeruginosa* (CRPA) in patients admitted the Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas (HC-UNICAMP). This is a 400-bed general teaching Hospital in Campinas, Brazil, harboring three intensive-care units and several medical, surgical and pediatric wards. Risk factors for IRPA and CRPA were assessed in two separate case-control studies. Cases and controls were selected retrospectively over the 1999-2002 period. Controls were matched to cases (ratio=2:1) on the basis of admission to the same ward at the same time as the case. Variables assessed included: demographic data, comorbid conditions, procedures and classes of antimicrobials used. Bivariate and multivariable analysis (logistic regression) were performed. Results were adjusted for patients severity and time of exposure to risk. IRPA and CRPA isolates were recovered from 108 and 55 patients, respectively. Statistically significant risk factors for IRPA were: previous admission to another hospital (*Odds Ratio*=4.21, 95% Confidence Interval:1.40-12.66, $P=0.01$), hemodialysis (OR=7.79, 95%CI:1.59-38.16, $P=0.01$), imipenem (OR=18.51, 95%CI: 6.30-54.43, $P<0.0001$), amikacin (OR=3.22, 95%CI: 1.40-7.41, $P=0.005$) and vancomycin use (OR=2.48, 95% CI:1.08-5.64, $P=0.03$). For CRPA, previous admission to other hospital (OR=18.69, 95%CI:2.00-174.28, $P=0.01$) and amikacin use (OR=3.69, 95%CI:1.32-10.35, $P=0.01$) were significant risk factors. Our study suggests a definite role for several classes of antimicrobials as risk factors for IRPA but not for CRPA. Limiting the use of only imipenem and ceftazidime may not be a wise strategy to contain the spread of resistant *P. aeruginosa* strains.

1- INTRODUÇÃO

1.1- *Pseudomonas aeruginosa*: epidemiologia e relevância clínica

Pseudomonas aeruginosa é um dos mais importantes agentes de infecção hospitalar ou relacionada a serviços de saúde (POLLACK, 2000). Essa bactéria é classificada entre os bacilos Gram-negativos não fermentadores, grupo que evoluiu em ambientes aquáticos e apresenta grande resistência a condições adversas. *P. aeruginosa* pode ser encontrada na água, no solo e em tecidos de vegetais e animais (FLAHERTY e STOSOR, 2004).

Membro da família *Pseudomonaceae*, *P. aeruginosa* é um bacilo Gram-negativo aeróbio e não esporulado. Cresce em grande variedade de meios de cultura. É móvel, apresenta flagelos polares e pode ser observada, à microscopia, isolada ou formando pequenas cadeias. Produz pigmentos esverdeados (piocianina, pioverdina), avermelhados (piorrubina) ou negros (piomelanina). Seu odor peculiar e suas propriedades bioquímicas facilitam sua identificação em meios de cultura (KISKA e GILLIGAN, 1999).

Estudos clássicos sobre *P. aeruginosa* enfatizam sua capacidade singular para crescimento em ambientes úmidos (ROSENTHAL, 1974; ZIMAKOFF et al, 1983). Ela é capaz de obter carbono e nitrogênio de fontes tão diversas quanto aminoácidos, ácidos graxos e aminas alifáticas (FLAHERTY e STOSOR, 2004). FAVERO et al. (1971) demonstraram seu crescimento em água destilada de hospitais. Observaram que isolados crescidos sob essas condições apresentavam resistência à agressão química por antissépticos. Outros autores detectaram replicação em medicamentos e soluções (NOBLE e SAVIN, 1966; GOETZ e MUDER, 1989). A associação com umidade é um fator importante para a contaminação de superfícies, artigos e equipamentos hospitalares (FIERER et al, 1967; HOUANG et al, 1981; VESS et al, 1993; TRAUTMANN et al, 2001; SILVA et al, 2003; SRINIVASAN et al, 2003; MUSCARELLA, 2004).

Outra característica de *P. aeruginosa* com importantes implicações epidemiológicas e fisiopatológicas é a possibilidade de se organizar em “biofilmes” (DUNNE, 2002). Estes são formados pelo agrupamento de células bacterianas em camadas, fortemente unidas por matriz extracelular. As camadas de base são mais densas e aderidas a uma superfície. Entre os diversos níveis superpostos, permanecem canais hidrofílicos por

onde circulam nutrientes (DONLAN, 2002). A formação de biofilmes no ambiente é comum. Eles podem ser responsáveis pela persistência da contaminação em reservatórios de água e tubulações, inclusive em serviços de saúde (DONLAN e COSTERTON, 2002). Além disso, podem se desenvolver na superfície de próteses, cateteres e outros corpos estranhos utilizados na prática médica (GANDERTON et al, 1992; O'GRADY et al, 2002). Biofilmes estão envolvidos na patogênese da placa bacteriana, endocardite e infecções pulmonares em portadores de bronquiectasia e mucoviscidose (GOVAN e DERETIC, 1996; ROHMANN et al, 1997; LAMONT e JENKINSON, 1998). Uma característica importante dos biofilmes é a sua relativa impermeabilidade para agentes antimicrobianos, fenômeno que dificulta sua eliminação (DONLAN e COSTERTON, 2002).

A presença de *P. aeruginosa* na flora de seres humanos sadios já foi documentada. A percentagem de colonização é baixa. MORRISON e WENZEL (1984) relatam a presença dessa bactéria em mucosa nasal em até 3% da população. Entre 3% e 24% dos indivíduos carregavam *P. aeruginosa* no trato gastrointestinal. Essas taxas atingiam 50% nos pacientes hospitalizados.

Embora seja reconhecida como o mais virulento entre os bacilos Gram-negativos não fermentadores, *Pseudomonas aeruginosa* raramente determina doença em indivíduos hígidos. Acomete neutropênicos, grandes queimados, pacientes cirúrgicos e em ventilação mecânica, além de portadores de mucoviscidose (FLAHERTY e STOSOR, 2004). A colonização de epitélios é um fator determinante na infecção. Demonstrou-se que a aderência é mais eficaz na presença de lesão epitelial. Esse fenômeno de “aderência oportunista” explica a grande prevalência de colonização e infecção de grandes queimados e indivíduos submetidos a procedimentos invasivos. Após a adesão, a produção do biofilme protege essas bactérias contra fatores imunológicos e antimicrobianos (POLLACK, 2000; DONLAN e COSTERTON, 2002).

A maior parte das infecções por *P. aeruginosa* adquiridas na comunidade está associada a contato com a água. Nessa categoria estão enquadradas: otites externas (VAN ASPEREN et al, 1995; VAN BALEN et al, 2003), ceratites relacionadas a lentes de contato (ALFONSO et al, 1986) e endocardites em usuários de drogas endovenosas (RAJASHEKARAI AH et al, 1981; WIELAND et al, 1986).

Infecções por *P. aeruginosa* apresentam especial relevância em portadores de mucoviscidose (FARREL et al, 1997). Essa doença, de transmissão autossômica recessiva, caracteriza-se por alterações de permeabilidade dos canais de cloro na membrana celular que determinam espessamento anormal nas secreções pulmonares. Os pacientes são cronicamente infectados por diversas bactérias, das quais *P.aeruginosa* é a mais devastadora (SAIMAN, 1993). Cepas que infectam pacientes com mucoviscidose desenvolvem alterações fenotípicas que praticamente impossibilitam sua erradicação. Entre essas alterações está o fenótipo “mucóide”, propício à formação de biofilmes. Além disso, mudanças na expressão antigênica (inclusive perda de expressão do sorotipo original) dificultam a atuação do sistema imunológico (OJENIYI, 1994).

Médicos do século XIX associavam o aparecimento de pus esverdeado em feridas cirúrgicas a mau prognóstico. Após sua identificação, *P. aeruginosa* foi rapidamente reconhecida como um importante agente de infecção no ambiente hospitalar (DOGGET, 1979). Esse papel vem se intensificando nas últimas décadas, em grande parte como consequência dos procedimentos invasivos e do uso de antimicrobianos (FLAHERTY e STOSOR, 2004).

Dados do *National Nosocomial Infection Surveillance System* (NNISS) apontaram para *P. aeruginosa* como o quinto mais freqüente agente de infecções hospitalares em hospitais norte-americanos entre 1986 e 1996. Ela correspondeu a 9% dos isolados clínicos em quadros infecciosos nosocomiais. Considerando-se sítios específicos, ocupou o segundo lugar na etiologia das pneumonias (17%) e a terceira posição entre as causas de infecção urinária (11%). Foi ainda importante causa de infecções de sítio cirúrgico e de corrente sanguínea (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION – CDC, 1996).

Entre os espécimes clínicos de hospitais brasileiros analisados pelo projeto SENTRY, *P. aeruginosa* foi o mais freqüente agente de infecções das vias aéreas inferiores (29%). Esteve em segundo lugar nos materiais de infecções urinárias (13%) e de tegumento (11%) (SADER et al, 1997).

Pneumonias nosocomiais por *P. aeruginosa* são principalmente associadas à ventilação mecânica. O uso prévio de antimicrobianos é um fator de risco reconhecido (RELLO et al, 1994). Diversos estudos utilizando métodos quantitativos para cultura de material respiratório identificaram *P. aeruginosa* como o patógeno mais freqüente em pneumonias associadas à ventilação (FAGON et al, 1989; RELLO et al, 1991; DORÉ et al, 1996). No entanto, a etiologia mostra grande variação entre diferentes serviços (RELLO et al, 1999; BABCOCK et al, 2003). A ocorrência de *P. aeruginosa* é mais expressiva em quadros de início tardio, que ocorrem após o 5º. dia de internação (TABLAN et al, 2004). A invasão das vias aéreas inferiores é precedida por colonização da orofaringe. Estudos recentes sugerem que a formação de biofilmes de *P. aeruginosa* em equipamento respiratório e sonda nasogástrica pode desempenhar um papel importante nesse processo (GORMAN et al, 2001; LEIBOVITZ et al, 2003).

Infecções do trato urinário por *P. aeruginosa* são complicações de intervenções diagnósticas ou terapêuticas. Três importantes fatores de risco são identificados: sondagem vesical, procedimentos em vias urinárias e cirurgia urológica (POLLACK, 2000; BOUZA et al, 2001; YARDY e COX, 2001). A patogênese dessas infecções pode envolver a formação de biofilmes e/ou a colonização do reto, do períneo ou da uretra (GANDERTON et al, 1992; FLAHERTY e STOSOR, 2004).

Fontes de *P. aeruginosa* em infecções de sítio cirúrgico podem ser endógenas (colonização prévia do paciente) ou exógenas (contaminação de antissépticos, dispositivos e equipamentos). Cirurgias torácicas e cardíacas apresentam maior risco de infecção por essa bactéria (FLAHERTY e STOSOR, 2004).

P. aeruginosa é também um importante agente de infecções primárias da corrente sanguínea. Bacteremias causadas por esse agente ocorrem com especial freqüência em pacientes que fazem uso de cateter venoso central ou portadores de imunossupressão grave (FERGIE et al, 1994; CARRATALA et al, 1998). Essas infecções estão associadas a mau prognóstico (BISBE et al, 1988; BLOT et al, 2003). *P. aeruginosa* pode atingir a corrente sanguínea a partir de tecidos colonizados, como o trato gastrointestinal. No entanto, a fonte pode ser exógena, envolvendo a colonização de dispositivos endovenosos e soluções infundidas (GRIGIS et al, 1993; SCHIMPF, 1993; MENDELSON et al, 1994).

Algumas condições patológicas estão especialmente associadas ao risco de aquisição de *P. aeruginosa*. Ela é o principal agente de infecção em queimados. A partir do terceiro dia após a queimadura, bacilos Gram-negativos colonizam a ferida, substituindo os cocos Gram-positivos. Essas bactérias são geralmente adquiridas no hospital (MAYHALL, 2004). Equipamentos de hidroterapia são apontados como a principal fonte das cepas de *P. aeruginosa* que causam infecção de tegumento e bacteremia em queimados (KRALOVIC e LINNEMANN, 2004).

Pacientes com neoplasias malignas, especialmente leucemias, são mais suscetíveis a infecções por *P. aeruginosa* (FANCI et al, 2003). A neutropenia causada pelos esquemas quimioterápicos é um importante fator de risco para bacteremias por esse agente. Pacientes nessa condição necessitam de atenção para prevenção da colonização gastrointestinal por *P. aeruginosa*. Essa colonização é associada a um risco superior a 40% de desenvolvimento de bacteremia em indivíduos neutropênicos (GRIGIS et al, 1993; FLAHERTY e STOSOR, 2004). Incidência e letalidade elevadas dessas infecções tornam mandatória a inclusão de antimicrobianos com atividade anti-pseudomonas no tratamento de quadros febris associados à neutropenia (HUGHES et al, 2002; LINK et al, 2003).

Pacientes em estágios avançados de aids são mais suscetíveis a infecções pulmonares e sepse por *P. aeruginosa* (DROPULIC et al, 1997). Esses quadros podem ser de aquisição hospitalar (FRANK et al, 1997) ou mesmo comunitária (SHUSTER e NORRIS, 1994). A incidência de doença invasiva por *P. aeruginosa* sofreu grande redução após o advento de esquemas potentes para tratamento específico do HIV. Esse fato tem sido apontado como um marcador de recuperação do braço humoral da imunidade após terapia antirretroviral (GOLDEN, 2000). No entanto, ele pode ser apenas um resultado da menor frequência de hospitalização e utilização de antimicrobianos em indivíduos soropositivos para o HIV (SORVILLO et al, 2001).

1.2- Imipenem e Ceftazidima: impacto da resistência

A resistência a múltiplos antimicrobianos é uma característica de *Pseudomonas aeruginosa*. Mesmo isolados da comunidade são intrinsecamente resistentes a diversas Penicilinas, Cefalosporinas e Macrolídeos (FLAHERTY e STOSOR, 2004). Fazem parte do escasso arsenal anti-pseudomonas:

- Aminoglicosídeos;
- Quinolonas (especialmente a Ciprofloxacina);
- Penicilinas anti-pseudomonas (Ticarcilina, Piperacilina);
- Cefalosporinas anti-pseudomonas (Ceftazidima, Cefepima);
- Monobactam (Aztreonam);
- Carbapenêmicos (Imipenem, Meropenem);
- Polimixinas (Polimixina B, Colistina).

Antibióticos Beta-lactâmicos (Penicilinas, Cefalosporinas, Monobactams e Carbapenêmicos) estão entre os agentes mais usados em infecções por *P. aeruginosa*. Entre eles, destacam-se o Imipenem e a Ceftazidima. O espectro desses antimicrobianos inclui várias espécies de bacilos Gram-negativos. O Imipenem apresenta também grande atividade contra a maioria dos cocos Gram-positivos e das bactérias anaeróbias. Ambos são amplamente utilizados em ambiente hospitalar, para o tratamento de infecções graves, polimicrobianas ou causadas por microorganismos multirresistentes.

Imipenem e Ceftazidima se destacam por sua potência e atividade anti-pseudomonas. No entanto, a suscetibilidade de isolados de *P. aeruginosa* a esses agentes vem diminuindo progressivamente. Avaliando cepas de Unidades de Terapia Intensiva (UTI) de hospitais norte-americanos, o sistema NNIS identificou uma tendência preocupante. Comparando isolados de 2002 com aqueles do período de 1997-2001,

observou-se crescimento de resistência: 32% para o Imipenem e 22% para a Ceftazidima (CDC, 2003). Esse e outros estudos multicêntricos mostrados no **quadro 1** demonstram a relevância global da resistência.

Quadro 1- Resultados de estudos multicêntricos de resistência de *P. aeruginosa* em isolados de pacientes hospitalizados.

País	Número de Hospitais	Número de Isolados	Características dos Isolados	Resistência		Referências
				Imipenem	Ceftazidima	
EUA (1998-2001)	65	76.211	UTI	19,7%	16,9%	KARLOWSKI et al, 2003.
			Não-UTI	13,4%	13,4%	
EUA (1998-2003)	52 a 125(*)	10.427 a 16.428(*)	UTI	19,4%	13,8%	CDC, 2003.
			Não-UTI	12,4%	8,5%	
REINO UNIDO (1999)	25	2194	UTI	15,6%	2,9%	HENWOOD et al, 2001.
			Não-UTI	7,2%	2,3%	
ESPANHA (1998)	136	1014	Hospitalares	17,0%	17,0%	BOUZA et al, 2003
			Comunitários	9,0%	9,0%	
BÉLGICA (1999)	40	760	Hospitalares	28,5%	28,5%	ELDERE, 2003
CROÁCIA (1999)	22	(...)	Global	7,0%	7,0%	ANDRASEVIC et al, 2002
BRASIL (1997-2001)	(...)	247	Global	49,8%	49,8%	SADER et al, 2004

(*) Nos dados do sistema NNIS, o número de hospitais e isolados variou para cada antimicrobiano testado. (...) Dados não disponíveis ou não informados.

É digno de nota que somente os trabalhos de BOUZA et al (2003) e VAN ELDERE (2003) fazem distinção de isolados adquiridos no ambiente hospitalar.

Chamam atenção os altos índices de resistência identificados em isolados de hospitais brasileiros (SADER et al, 2004). Esses isolados foram divulgados pelo programa SENTRY, que se propõe a monitorizar a resistência a antimicrobianos em escala mundial. Avaliando resultados desse programa em vários países, JONES (2003) identificou padrões de resistência no período de 1997 a 2001 variando entre 7,8 e 12,5% (para o Imipenem) e 11,8% e 17,0% (para a ceftazidima). O programa acompanhou também a incidência de multirresistência nos diferentes continentes. Foram considerados multirresistentes os isolados com resistência combinada a Ceftazidima, Piperacilina, Gentamicina e Ciprofloxacina. Os resultados mostraram elevação progressiva da multirresistência, especialmente nos isolados da América Latina (**figura 1**).

Informações disponíveis de alguns hospitais brasileiros também apontam para altos índices de resistência de *P. aeruginosa*. Estudando isolados do Hospital São Lucas, em Porto Alegre, ZAVASCKI et al (2004) identificaram dados alarmantes. Taxas de resistência chegavam a 59% para o Imipenem e 49% para a Ceftazidima. No Hospital da Faculdade de Medicina de Botucatu, esses índices foram de 28% e 14%, respectivamente (COMISSÃO PERMANENTE DE CONTROLE DE INFECÇÃO HOSPITALAR - CPCIH, 2004).

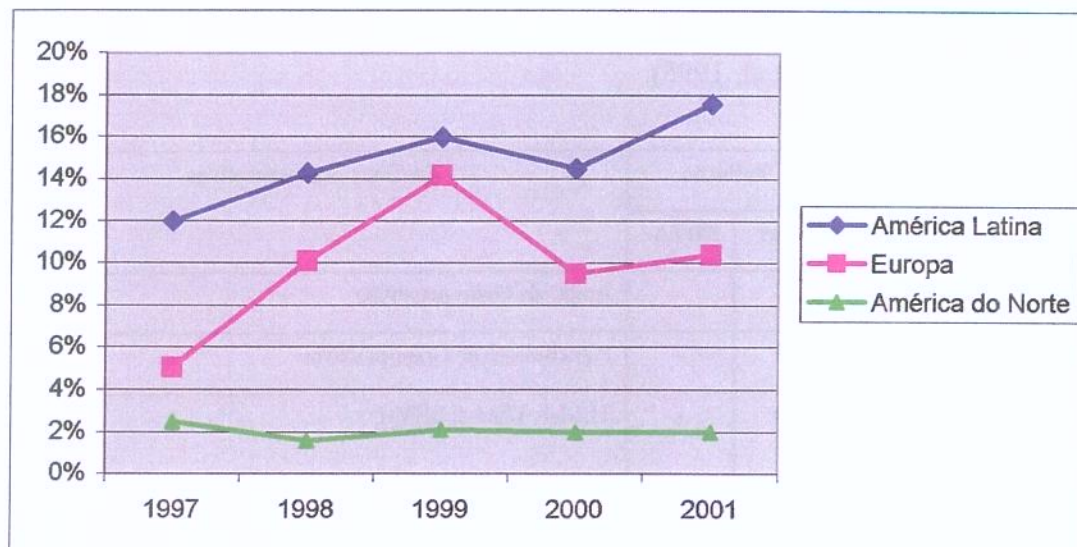


Figura 1- Dados do projeto SENTRY, mostrando aumento nas taxas de multirresistência (resistência combinada a Gentamicina, Quinolonas, Piperacilina e Ceftazidima) em três continentes (JONES, 2003).

No Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas (HC-UNICAMP), isolados clínicos de *P. aeruginosa* do período de 1999-2002 apresentaram taxa de resistência de 13% para o Imipenem e 7% para a Ceftazidima. Esses dados baseiam-se em testes de suscetibilidade por difusão em disco e não incluem culturas de portadores de mucoviscidose.

Mecanismos moleculares de resistência ao Imipenem e à Ceftazidima têm sido objeto de intensa pesquisa. Os principais são: inativação por enzimas, alterações na permeabilidade de membrana e promoção de efluxo (KAYE et al, 2000; RICE, 2004).

Beta-lactamases são enzimas que inativam antimicrobianos beta-lactâmicos. Elas podem ser codificadas em genes presentes no cromossomo bacteriano ou em plasmídeos. Estes são estruturas genéticas extra-cromossômicas facilmente transmissíveis entre bactérias, inclusive de espécies diferentes. Diversas classificações de beta-lactamases foram propostas. A mais didática é, provavelmente, a de Bush-Jacoby-Medeiros (BUSH et al, 1995). Essa classificação é resumida no **quadro 2**.

Quadro 2- Classificação de Bush-Jacoby-Medeiros para beta-lactamases, incluindo agentes inibidores (BUSH et al, 1995).

Grupo	Substrato preferencial	Inibição		Enzimas representativas
		Clav	EDTA	
1*	Cefalosporinas	-	-	AmpC de Gram-negativos
2 a	Penicilinas	+	-	Penicilinases de Gram-positivos
2b*	Penicilinas, Cefalosporinas	+	-	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be*	Penicilinas, Cefalosporinas, Monobactams	+	-	TEM-3 a TEM-26, SHV-2 a SHV-6 K1 (de <i>Klebsiella oxytoca</i>)
2br	Penicilinas	+/-	-	TEM-30 a TEM-36, TRC-1
2c*	Penicilinas, Carbenicilina	+	-	PSE-1, PSE-3, PSE-4
2d*	Penicilinas, Oxacilina	+/-	-	OXA-1 a OXA-11, PSE-2
2e	Cefalosporinas	+	-	Cefalosporinases indutíveis (<i>Proteus vulgaris</i>)
2f	Penicilinas, Cefalosporinas, Carbapenems	+	-	NMC (<i>Enterobacter cloacae</i>) Sme-1 (<i>Serratia marcescens</i>).
3*	Maior parte dos beta-lactâmicos, inclusive Carbapenems	-	+	L1 (<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>) CCrA (<i>Bacteroides fragilis</i>)
4	Penicilinas	-	?	Penicilinase de <i>Bulkholderia cepacia</i>

* Enzimas já descritas em *Pseudomonas aeruginosa*.

Clav = Clavulanato; EDTA = ácido etileno-diamino-tetra-acético

P.aeruginosa produz naturalmente uma beta-lactamase de classe 1. Essa enzima, denominada AmpC, é codificada no cromossomo (SAHM e STORCH, 1998). Nas concentrações usuais, é responsável pela ampla resistência da espécie à maior parte das penicilinas e cefalosporinas. A expressão aumentada do gene AmpC leva a superprodução da beta-lactamase, determinando resistência à Ceftazidima. Alguns antimicrobianos (Ampicilina, a Cefoxitina e Carbapenêmicos) são potentes indutores da expressão de AmpC (HANSON, 2003).

Recentemente, outras beta-lactamases foram identificadas. Essas enzimas são referidas pela sigla ESBL (*Extended Spectrum beta-lactamases*). A maior parte delas é codificada no cromossomo de *P. aeruginosa*. Ao contrário do que ocorre com outros bacilos Gram-negativos, a resistência mediada por plasmídeos é incomum (NORDMANN e GUIBERT, 1998).

O grande espectro de ação das ESBL deve-se a mutações que causam trocas de aminoácidos nos sítios catalíticos. Essas alterações determinam a capacidade de inativar por hidrólise antimicrobianos resistentes às enzimas usualmente presentes (JACOBY, 1997). Várias ESBL descritas até o momento em *P. aeruginosa* pertencem a uma de três classes: derivados da penicilinase (classe 2be); oxacilinases (classe 2d) e metalo-enzimas (classe 3).

Enzimas de classe 2be e 2d possuem capacidade de hidrolisar a Ceftazidima. Elas parecem ter distribuição geográfica característica. Uma importante ESBL de classe 2be, PER-1, foi identificada em 11% dos isolados de *P. aeruginosa* na Turquia. Outras (TEM-42, SHV2a) são mais raras (NORDMANN e GUIBERT, 1998). Beta-lactamases de classe 2d (OXA-11, OXA-14, OXA-15, OXA-16, OXA-18 e OXA-19) foram descritas em *P. aeruginosa* na França (CAVALLO et al, 2000; AUBERT et al, 2001). VAHABOGLU et al (1998) identificaram oxacilinases em 13 de 75 isolados testados na Turquia.

Metallo-beta-lactamases (classe 3) possuem a capacidade de inativar o Imipenem. Por essa razão, são freqüentemente chamadas de carbapenemases. Elas foram descritas em diversos países, entre eles: Japão (SENDA et al, 1996), Portugal (CARDOSO et al, 1999), Itália (ROSSOLINI et al, 2000) e Turquia (BAHAR et al, 2004). TOLEMAN et al (2002) caracterizaram uma nova metalo-beta-lactamase (SPM-1) em isolados brasileiros de *P. aeruginosa*.

No entanto, a redução de permeabilidade de membrana parece exercer papel predominante na determinação da resistência ao Imipenem (QUINN et al, 1998). Esse antibiótico atravessa a membrana externa de *P. aeruginosa* principalmente através de uma porina (OprD). Estudos demonstram que a resistência ao Imipenem emerge rapidamente após a perda da OprD por mutação (QUINN et al, 1986; QUINN et al, 1991; HUANG e HANCOCK, 1993). Por outro lado, essa perda tem menor impacto a atividade do Meropenem. Especula-se que outras porinas estejam envolvidas na permeabilidade a esse antibiótico (PÉREZ et al, 1996). LIVERMORE (1992) observou que a perda da OprD só determina resistência quando há concomitante hiperprodução de AmpC beta-lactamase. Sugere-se que a penetração mais lenta do Imipenem na célula bacteriana pode torná-lo suscetível à atividade hidrolítica dessa enzima. É digno de nota que alterações de permeabilidade não parecem estar envolvidas na resistência de *P. aeruginosa* à Ceftazidima (PEREZ et al, 1997).

A resistência a múltiplos antibióticos é freqüentemente atribuída à coexistência de diversos mecanismos. No entanto, há um mecanismo capaz de promover resistência simultânea a drogas de diferentes classes. As “bombas de efluxo” transportam ativamente os antimicrobianos para fora da célula bacteriana (RICE, 2004). As quatro bombas “multi-droga” descritas em *P. aeruginosa* e alguns de seus substratos são:

- MexA-MexB-OprM: Quinolonas, Meropenem, Ceftazidima.
- MexC-MexD-OprJ: Quinolonas, Cefepima.
- MexE-MexF-OprN: Quinolonas, Imipenem.
- MexX-MexY-OprM: Quinolonas, Aminoglicosídeos, Cefepime.

Estimativas da presença de bombas de efluxo em isolados clínicos de *P. aeruginosa* variam entre 14 e 75%. Fatores relacionados à bactéria, ao hospedeiro e ao antimicrobiano utilizado podem aumentar a expressão desse mecanismo de resistência. Quinolonas selecionam de forma importante mutantes com hiperprodução de uma ou mais bombas de efluxo (AESCHLIMANN, 2003). Por fim, LI et al (2000) identificaram interações entre essas bombas e a redução de permeabilidade de membrana na origem da resistência a múltiplos antibióticos.

A crescente resistência a antimicrobianos apresenta importante impacto sobre morbidade, mortalidade e custos de tratamento. Um estudo publicado pelo “THE BROOKLIN ANTIBIOTIC RESISTANCE TASK FORCE” (2002) estimou os efeitos da resistência ao Imipenem em *P. aeruginosa*. Pacientes com infecção hospitalar por isolados resistentes apresentaram em média hospitalização mais longa que aqueles com cepas sensíveis (36 contra 17 dias). Esse estudo não observou alteração de mortalidade global entre os dois grupos. Por outro lado, RAYMOND et al (2003) encontraram elevação do tempo de permanência e mortalidade em pacientes infectados por *P. aeruginosa* e outros bacilos Gram-negativos multirresistentes. Investigando um surto em UTI, BULKHOLM et al (2002) associaram maior risco de morte à infecção por uma cepa específica de *P. aeruginosa* resistente a vários antimicrobianos

Diversos pesquisadores têm se dedicado a avaliar os fatores determinantes da emergência e disseminação da resistência aos antimicrobianos (KUNIN et al, 1973; KAYE et al, 2002; LIPSITCH e SAMORE, 2002; SAFDAR e MAKI, 2002; MCGEER, 2004). Documentos de sociedades de especialistas sugerem normas para contenção desse fenômeno (SHLAES et al, 1997; MUTO et al, 2003). Essas normas contemplam dois tópicos principais: a prevenção da seleção de cepas resistentes pelo uso adequado de antimicrobianos e a aplicação de normas de precaução para evitar a transmissão cruzada de patógenos.

No entanto, a importância relativa desses dois fatores (uso de antimicrobianos e transmissão cruzada) é motivo de controvérsia. Para os cocos Gram-positivos (*Staphylococcus aureus* e *Enterococcus sp.*) a disseminação através de fômites e dos profissionais da saúde parece ter papel predominante (MUTO et al, 2003). Para os bacilos Gram-negativos, em especial *P. aeruginosa*, o impacto da seleção por antimicrobianos parece ser maior (LIPSITCH e SAMORE, 2002). No entanto, esse aspecto não está completamente elucidado. São necessários estudos com metodologia adequada para a avaliação da relação entre uso de antibióticos e resistência em serviços de saúde e na comunidade. Esses trabalhos podem apontar estratégias para prevenção e controle das infecções por bactérias multirresistentes.

2- OBJETIVOS

- Identificar fatores de risco para aquisição de isolados de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes ao Imipenem em pacientes internados no Hospital de Clínicas da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (HC-UNICAMP).
- Identificar fatores de risco para aquisição de isolados de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes à Ceftazidima em pacientes internados no Hospital de Clínicas da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (HC-UNICAMP).
- Investigar a relação entre uso de antimicrobianos e desenvolvimento de resistência ao Imipenem e à Ceftazidima, eliminando possíveis efeitos confundidores relacionados ao tempo de exposição ao risco (permanência no hospital) e à gravidade (acúmulo de co-morbidades) dos pacientes.

3- MATERIAL E MÉTODOS

3.1- Tipo de Estudo

Dois estudos tipo “caso-controle” foram realizados simultaneamente:

- *Caso-controle 1*: Identificação de fatores de risco para aquisição de isolados de *P. aeruginosa* resistentes ao Imipenem.
- *Caso-controle 2*: Identificação de fatores de risco para aquisição de isolados de *P. aeruginosa* resistentes à Ceftazidima.

3.2- Local do Estudo

O Hospital de Clínicas da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (HC-UNICAMP) possui 400 leitos distribuídos em unidades clínicas, cirúrgicas e pediátricas. Possui ainda:

- Três Unidades de Terapia Intensiva (UTI): Médico-Cirúrgica, Coronariana e Pediátrica.
- Duas unidades de atendimento semi-intensivo (Enfermarias de “Emergência Clínica” e “Emergência Cirúrgica”).
- Unidade de Transplante de Medula Óssea.

O HC-UNICAMP é referência para atendimento terciário para a região de Campinas, área com aproximadamente cinco milhões de habitantes. É um hospital-escola para alunos da Faculdade de Ciência Médica, com programas de Residência Médica e Aprimoramento para diversos profissionais da saúde. Possui Comissão de Controle de Infecção Hospitalar e Laboratório de Microbiologia.

3.3- Definição de Casos e Controles

Culturas clínicas positivas para *P. aeruginosa* foram identificadas no banco de dados do Laboratório de Microbiologia. A rotina de teste de suscetibilidade a antimicrobianos no laboratório consiste em: (1) triagem em sistema automatizado (VITEK); (2) realização de teste de difusão em disco (Kirby-Bauer) conforme padrões do *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS, 1999) para confirmar resistência ao Imipenem e à Ceftazidima. Para seleção dos casos, foram levados em consideração apenas os resultados do teste de suscetibilidade em disco. Culturas de vigilância não foram rotineiramente realizadas no período do estudo.

Casos foram definidos como: pacientes internados entre janeiro de 1999 e dezembro de 2002 com culturas clínicas positivas para *P. aeruginosa* resistente ao Imipenem (*Caso-controle 1*) e/ou à Ceftazidima (*Caso-controle 2*). Foram excluídos pacientes com resultados positivos em culturas ambulatoriais, de admissões anteriores ou realizadas com tempo de internação inferior a 48 horas. Foram também excluídos os portadores de mucoviscidose.

Em ambos os estudos, controles foram pareados com os casos com relação 2:1. Ou seja: para cada caso, foram utilizados dois controles. Estes foram selecionados entre os pacientes internados na mesma enfermaria ao mesmo tempo que os casos. Critérios de exclusão foram: internação por período inferior a 48 horas e diagnóstico de mucoviscidose.

3.4- Investigação dos fatores de risco

3.4.1- Procedimentos para coleta de dados

Dados foram coletados em revisão de prontuário e consulta a bancos de dados de exames complementares. Registraram-se dados demográficos (idade, sexo). Diagnósticos clínicos (principais e secundários) foram definidos em conformidade com categorias da Classificação Internacional de Doenças, 10^a. revisão / CID10 (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 1993). Ajustes para gravidade e tempo de

exposição ao risco foram realizados de acordo com recomendações correntes na literatura (HARRIS et al, 2001).

3.4.2- Ajuste para gravidade/co-morbididades

Para investigar a relação entre a gravidade dos pacientes e a aquisição dos isolados resistentes, foi utilizada a pontuação de Charlson (CHARLSON et al, 1987). Essa pontuação infere a gravidade pelo acúmulo de doenças diagnosticadas (co-morbididades). O resultado é obtido pela soma dos pontos atribuídos a cada um dos diagnósticos (**quadro 3**).

Quadro 3- Pontuação de Charlson para co-morbididades (CHARLSON et al, 1987).

Co-morbididades	Pontuação
IAM, ICC, DPOC, Demência, Doença cerebrovascular, Doença vascular periférica, Úlcera péptica, Doença do tecido conjuntivo, Diabetes mellitus, Hepatopatia Leve	1
Hemiplegia, Doença renal moderada/severa, Neoplasia maligna, Leucemia, Linfoma, Diabetes com dano de órgão	2
Doença hepática moderada/severa	3
Aids, Tumor Sólido Metastático	6

3.4.3- Ajuste para tempo de exposição ao risco

Com o objetivo de identificar a influência do tempo de exposição ao ambiente hospitalar sobre a aquisição de isolados resistentes de *P. aeruginosa*, empregamos a variável “tempo sob risco”.

Para os casos, “tempo sob risco” foi definida como o tempo em dias entre a admissão e a coleta da cultura em que se isolou a cepa resistente. Para os controles, o “tempo sob risco” foi igual ao período total de internação.

3.4.4- Dados prévios à internação

Foram registradas internações prévias no HC-UNICAMP no período de um ano antecedendo a admissão atual. Identificaram-se ainda os casos transferidos de outros hospitais.

3.4.5- Dados da internação

Dados foram avaliados para o período definido como “tempo sob risco”. As variáveis analisadas foram:

- Passagem pela UTI na internação atual.
- Cirurgias e outros procedimentos.
- Uso de esteróides ou outras drogas imunossupressoras (por mais de 48 horas).
- Neutropenia (menos de 500 neutrófilos/mm³ em pelo menos um exame).

3.4.6- Uso de antimicrobianos

Foram revistas as prescrições de todo o período de internação. Registraram-se todos os antimicrobianos utilizados por período superior a 48 horas durante o “tempo sob risco”.

3.5- Análise estatística

3.5.1- Programas computacionais

Para coleta e análise dos dados foram utilizados os *softwares* EPI-INFO for windows, versão 3.2 (©Centers for Disease Control and Prevention) e SAS, versão 8.02 (© SAS institute).

3.5.2- Análise bivariada

Todas as variáveis foram inicialmente submetidas à análise bivariada. A significância estatística (p-valor) foi calculada com base no Teste exato de Fischer (para variáveis binomiais) ou no Teste T de Student (para variáveis contínuas).

3.5.3- Análise multivariada

Variáveis com “p-valor” inferior a 0,1 na análise bivariada foram incluídas em um modelo de regressão logística.

Foi utilizado um processo de seleção por avanços (*forward selection process*), testando os fatores de risco para confundimento e co-linearidade (BLAND, 1995; HARRIS et al, 2002a).

Utilizou-se como critério de significância estatística o “p-valor” inferior a 0,05. Variáveis significativas no primeiro teste de regressão foram analisadas em novos modelos. Estes incluíam, um a um, todos os fatores de risco avaliados no estudo. Aqueles que alteraram em mais de 10% o coeficiente de correlação de qualquer uma das variáveis significativas foram acrescentados ao modelo final.

4- RESULTADOS

4.1- Perfil dos casos no estudo

4.1.1- Caso-controle 1 (*P. aeruginosa* resistente ao Imipenem)

Ao todo, 108 pacientes com culturas clínicas positivas para *P. aeruginosa* resistente ao Imipenem foram incluídos. Pacientes adultos predominaram amplamente, com apenas 6% dos casos identificados em enfermarias pediátricas.

Cerca de 29% dos casos estavam internados em UTI quando a bactéria foi isolada (**figura 2**). Desses, 84% provinham da UTI médico-cirúrgica de adultos. Outros casos estiveram na UTI por algum período durante o “tempo sob risco”.

Outras enfermarias apresentaram número importante de casos: Neurologia/Neurocirurgia, Emergência Cirúrgica, Emergência Clínica e Moléstias Infecciosas.

O isolamento foi mais comum em material do trato respiratório inferior (33%), ocorrendo ainda em espécimes de ferida, sangue e urina (**figura 3**).

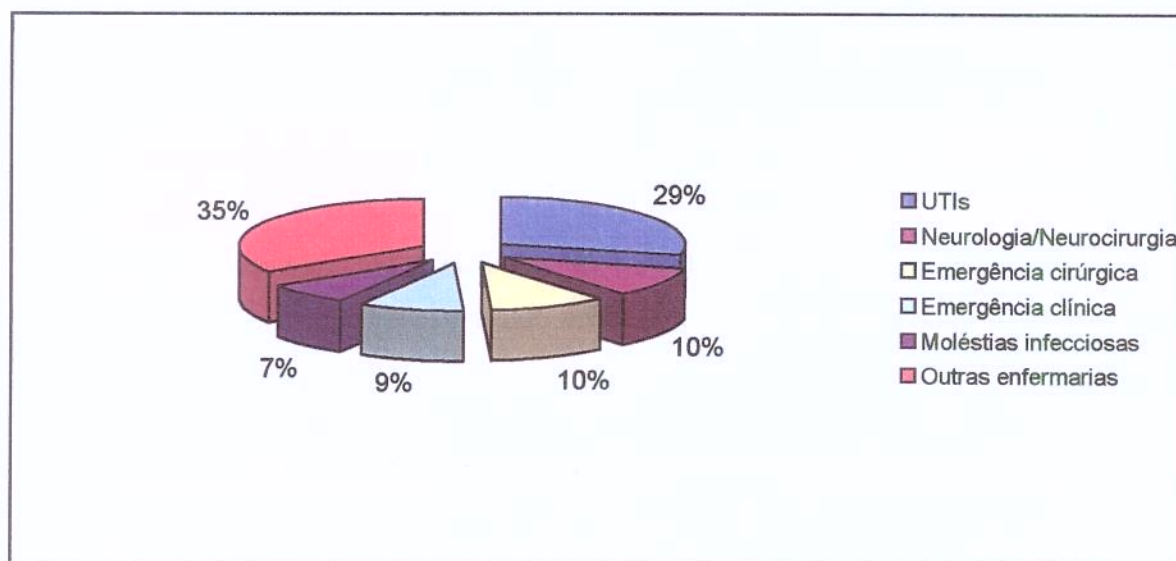


Figura 2- Distribuição de casos de *P. aeruginosa* resistente ao Imipenem nas enfermarias do HC-UNICAMP (n=108).

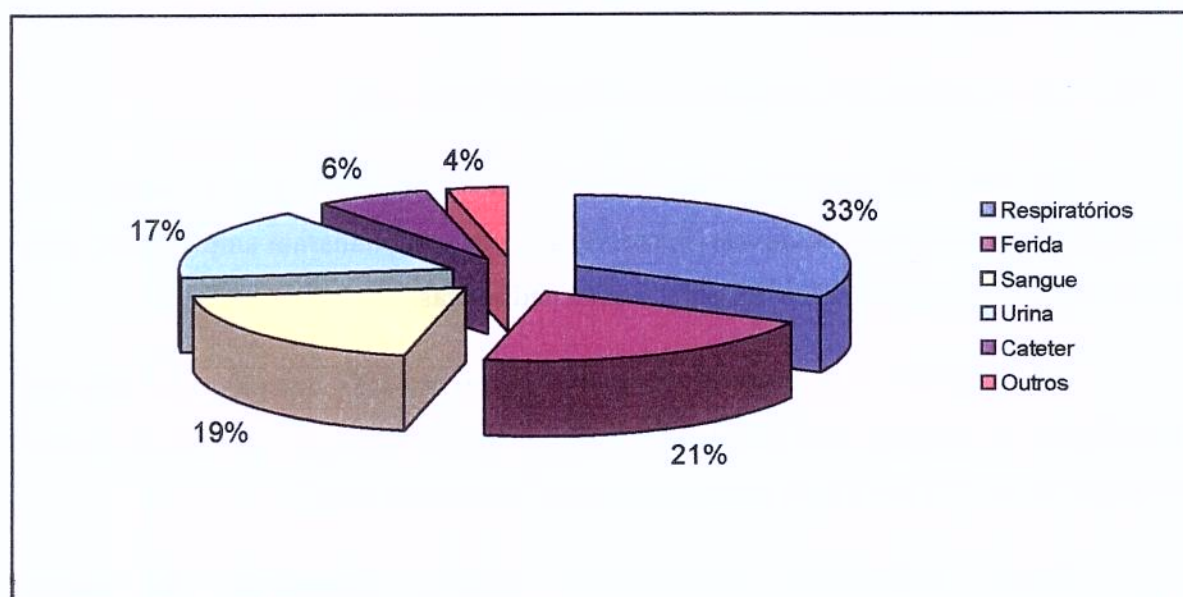


Figura 3- Espécimes de cultura nos quais foi isolada *P. aeruginosa* resistente ao Imipenem (n= 108).

4.1.2- Caso-controle 2 (*P. aeruginosa* resistente à Ceftazidima)

Foram identificados 55 casos com culturas clínicas positivas para *P. aeruginosa* resistente à Ceftazidima. Apesar do franco predomínio de adultos, a participação dos pacientes pediátricos foi maior que no *Caso-controle 1* (15%).

Pacientes de UTI correspondiam a 24% dos casos (77% deles na UTI médico-cirúrgica). Assim como no *Caso-controle 1*, havia outros pacientes com estadia na UTI na internação atual.

As outras enfermarias com maior número de pacientes acometidos foram: Emergências (Clínica e Cirúrgica), Neurologia e Nefrologia (figura 4).

A distribuição dos isolados por materiais de culturas clínicas apresentou diferenças em relação ao *Caso-controle 1*, com predomínio de uroculturas (28%) (figura 5).

Em 31 pacientes os isolados de *P. aeruginosa* apresentavam resistência simultânea ao Imipenem e à Ceftazidima. Esses casos foram incluídos em ambos os estudos “caso-controle”.

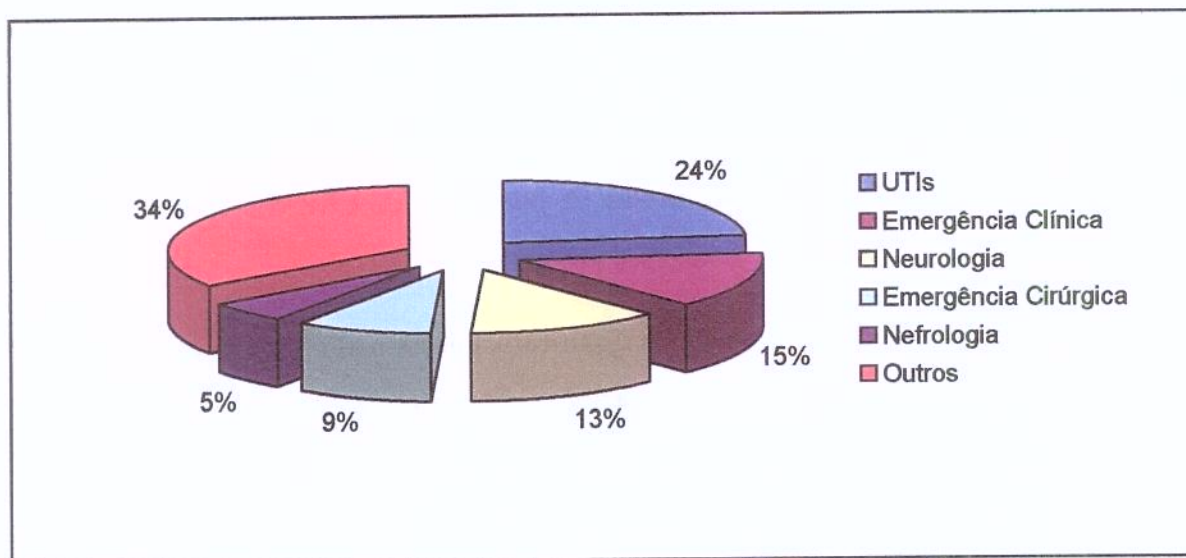


Figura 4- Distribuição de casos de *P. aeruginosa* resistente à Ceftazidima nas enfermarias do HC-UNICAMP (n=55).

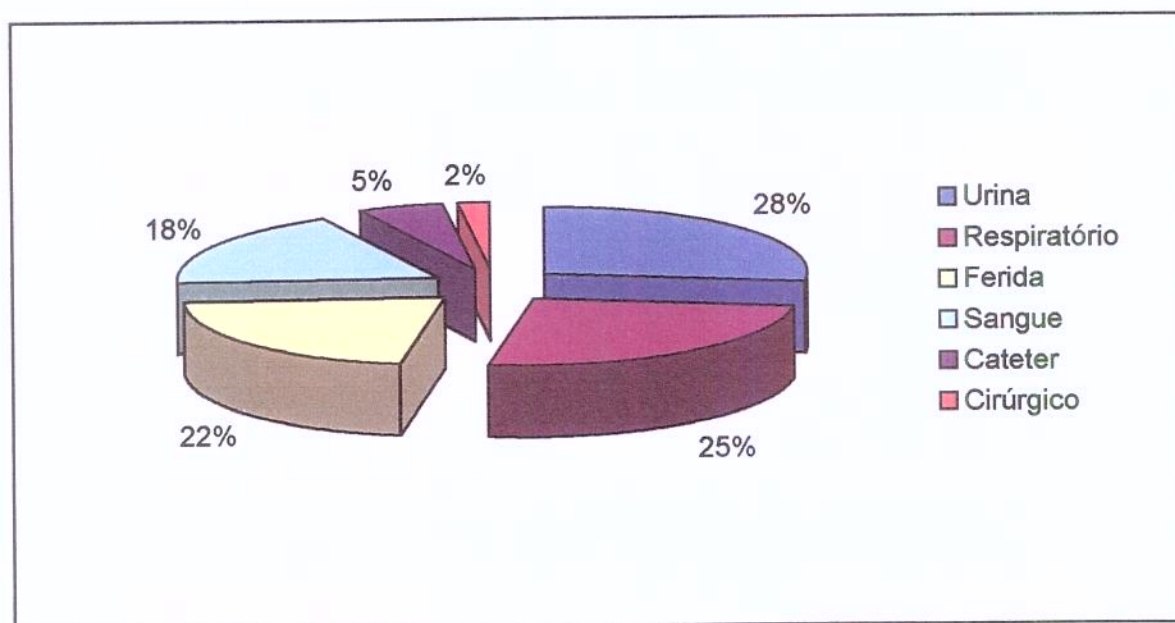


Figura 5- Espécimes de cultura nos quais foi isolada *P. aeruginosa* resistente à Ceftazidima (n=55).

4.2- Análise bivariada

4.2.1- Caso-controle 1 (*P. aeruginosa* resistente ao Imipenem)

A distribuição por sexo e idade não foi significativamente diferente entre os casos e controles. Nos dois grupos observou-se prevalência semelhante para a maior parte das co-morbidades. Doenças renais foram mais frequentes entre os casos, enquanto as cardiopatias predominaram entre os controles. A pontuação de Charlson revelou valores maiores para os casos.

O “tempo sob risco” também foi significativamente maior para os casos. Outros fatores de risco significativos na análise bivariada foram: transferência de outro hospital, cirurgias prévias, hemodiálise e uso de esteróides.

Todos os antibióticos beta-lactâmicos de amplo espectro foram associados a maior isolamento de *P. aeruginosa* resistente ao Imipenem. Outros antimicrobianos representaram risco significativo: Amicacina, Ciprofloxacina, Metronidazol e Vancomicina.

Os resultados da análise bivariada para *P. aeruginosa* resistente ao Imipenem são apresentados no **quadro 4**.

Quadro 4 Resultados da análise bivariada para fatores de risco para *P. aeruginosa* resistente ao Imipenem (*Caso-controle 1*). Dados expressos em número (porcentagem), exceto para idade, Charlson e “tempo sob risco”.

Fator de Risco	Casos n=108	Controles n=216	Odds Ratio (IC 95%)	p-valor
Dados demográficos				
Idade (média)	43,5	42,6		0,36
Sexo masculino	74 (68,5%)	130 (6,2%)	1,44 (0,88-2,35)	0,08
Diagnóstico e Co-morbidades				
Trauma	12 (11,1%)	17 (7,9%)	1,46 (0,67-3,18)	0,21
Doença cardíaca*	16 (14,8%)	55 (25,5%)	0,50 (0,27-0,93)	0,01
Doença pulmonar	18 (16,7%)	35 (16,2%)	1,03 (0,54-1,91)	0,51
Diabetes mellitus	11 (10,2%)	24 (11,1%)	0,90 (0,41-1,91)	0,48
Doença renal*	25 (23,1%)	21 (9,7%)	2,79 (1,48-5,27)	0,001
Doença hepática	13 (12,0%)	24 (11,1%)	1,09 (0,53-2,24)	0,46
Doença do Sistema Nervoso Central	25 (23,1%)	42 (19,4%)	1,24 (0,71-2,18)	0,26
Neoplasia maligna (sólida)	12 (11,1%)	27 (12,5%)	0,87 (0,42-1,80)	0,43
Linfoma e Leucemia	9 (8,3%)	14 (6,5%)	1,31 (0,52-3,13)	0,34
Aids	6 (5,6%)	9 (4,2%)	1,34 (0,46-3,88)	0,38
Pontuação de Charlson (média)*	2,45	1,86		0,01
Dados de hospitalização				
Tempo sob risco (média)*	35,2	16,5		<0,0001
Estadia presente ou passada em UTI	50 (46,3%)	76 (35,2%)	1,58 (0,99-2,54)	0,07
Internações no ano anterior	27 (25,0%)	38 (17,6%)	1,56 (0,89-2,73)	0,07
Transferência de outro hospital*	20 (18,5%)	8 (3,7%)	5,90 (2,50-13,92)	<0,0001
Cirurgia*	58 (53,7%)	91 (42,1%)	1,59 (1,00-2,53)	0,03
Hemodíalise*	12 (11,1%)	4 (1,9%)	6,62 (2,08-21,07)	0,0005
Esteróides*	43 (39,8%)	55 (25,5%)	1,93 (1,18-3,16)	0,006
Outras drogas imunossupressoras	16 (14,8%)	22 (10,2%)	1,56 (0,76-3,05)	0,14
Neutropenia	6 (5,6%)	9 (4,2%)	1,34 (0,46-3,88)	0,38
Antimicrobianos				
Imipenem*	52 (48,1%)	7 (3,2%)	27,72 (11,94-64,37)	<0,0001
Meropenem*	12 (11,1%)	2 (0,9%)	13,37 (2,93-6,92)	<0,0001
Cefepima*	36 (33,3%)	28 (13,0%)	3,35 (1,91-5,89)	<0,0001
Ceftazidima*	22 (20,4%)	17 (7,9%)	2,99 (1,51-5,92)	0,001
Ceftriaxona*	26 (24,1%)	17 (7,9%)	3,65 (1,88-7,22)	<0,0001
Cefazolina	28 (25,9%)	52 (24,1%)	1,10 (0,64-1,87)	0,40
Ampicilina-sulbactam*	27 (25,0%)	23 (10,6%)	2,79 (1,51-5,16)	0,0008
Ampicilina	7 (6,5%)	9 (4,2%)	1,59 (0,57-4,40)	0,25
Oxacilina	11 (10,2%)	21 (9,7%)	1,05 (0,48-2,27)	0,51
Amicacina*	33 (3,6%)	23 (10,6%)	3,69 (2,03-6,69)	<0,0001
Gentamicina	5 (4,6%)	7 (3,2%)	1,44 (0,44-4,67)	0,36
Ciprofloxacina*	26 (24,1%)	24 (11,1%)	2,53 (1,37-4,67)	0,002
Levofloxacina	4 (3,7%)	9 (4,2%)	0,88 (0,26-2,94)	0,55
Vancomicina*	49 (45,4%)	22 (1,2%)	7,32 (4,09-13,09)	<0,0001
Metronidazol*	39 (36,1%)	31 (14,4%)	3,37 (1,95-5,82)	<0,0001
Clindamicina	3 (2,8%)	4 (1,9%)	1,51 (0,33-6,89)	0,42

(*) Variáveis estatisticamente significativas.
IC95%=Intervalo de confiança (95%)

4.2.2- Caso-controle 2 (*P. aeruginosa* resistente à Ceftazidima)

A análise bivariada não demonstrou diferenças entre as características dos pacientes: idade, sexo e presença de co-morbidades. A contrário do que se observou no *Caso-controle 1*, a pontuação de Charlson não foi significativamente maior para os casos.

No entanto, a média de “tempo sob risco” para os casos superou em quase duas vezes o valor registrado para os controles. Transferência de outro hospital e realização de cirurgia foram significativamente associados aos casos.

Assim como no *Caso-controle 1*, diversos antimicrobianos estiveram associados ao risco de aquisição de *P. aeruginosa* resistente à Ceftazidima: Ampicilina-Sulbactam, Cefalosporinas (3^a/4^a. geração), Carbapenêmicos, Amicacina, Vancomicina e Metronidazol.

O **quadro 5** apresenta os resultados da análise bivariada dos fatores de risco para a aquisição de *P. aeruginosa* resistente à Ceftazidima.

Quadro 5- Resultados da análise bivariada para fatores de risco para *P. aeruginosa* resistente à Ceftazidima (Caso-controle 2). Dados expressos em número (porcentagem), exceto para idade, Charlson e “tempo sob risco”.

Fator de Risco	Casos n=55	Controles n=110	Odds Ratio (IC 95%)	p-valor
Dados demográficos				
Idade (média)	37,9	40,0		0,56
Sexo masculino	40 (72,7%)	69 (62,7%)	1,58 (0,78-3,21)	0,13
Diagnóstico e Co-morbidades				
Trauma	8 (14,5%)	7 (6,4%)	2,50 (0,85-7,31)	0,07
Doença cardíaca	10 (18,2%)	30 (27,3%)	0,59 (0,26-1,32)	0,13
Doença pulmonar	14 (25,5%)	18 (16,4%)	1,74 (0,79-3,84)	0,11
Diabetes mellitus	1 (1,8%)	6 (5,5%)	0,32 (0,03-2,73)	0,25
Doença renal	12 (21,8%)	14 (12,7%)	1,91 (0,81-4,48)	0,10
Doença hepática	4 (7,3%)	10 (9,1%)	0,78 (0,23-2,62)	0,47
Doença do Sistema Nervoso Central	9 (16,4%)	27 (24,5%)	0,60 (0,26-1,38)	0,15
Neoplasia maligna (sólida)	5 (9,1%)	13 (11,8%)	0,74 (0,25-2,21)	0,40
Linfoma e Leucemia	3 (5,5%)	5 (4,5%)	1,21 (0,27-5,26)	0,53
Aids	1 (1,8%)	2 (1,8%)	1,00 (0,08-11,27)	0,70
Pontuação de Charlson (média)	1,81	1,67		0,49
Dados de hospitalização				
Tempo sob risco (média)*	34,2	17,4		0,0005
Estadia presente ou passada em UTI	21 (38,2%)	33 (3,0)	1,44 (0,73-2,84)	0,18
Internações no ano anterior	9 (16,4%)	18 (16,4)	1,00 (0,41-2,39)	0,58
Transferência de outro hospital*	8 (14,2%)	2 (1,8)	9,19 (1,88-44,93)	0,002
Cirurgia*	34 (61,8%)	49 (44,5)	2,01 (1,04-3,90)	0,02
Hemodiálise	5 (9,1%)	4 (3,6)	2,65 (0,68-1,29)	0,13
Esteróides	21 (38,2%)	30 (27,3)	1,64 (0,82-3,27)	0,10
Outras drogas imunossupressoras	5 (9,1%)	14 (12,7)	0,68 (0,23-2,01)	0,34
Neutropenia	3 (5,5%)	4 (3,6)	1,52 (0,33-7,08)	0,42
Antimicrobianos				
Imipenem*	14 (25,5%)	9 (8,2%)	3,83 (1,53-9,54)	0,003
Meropenem*	5 (9,1%)	1 (0,9%)	1,9 (1,24-95,75)	0,01
Cefepima*	17 (3,9%)	12 (10,9%)	3,65 (1,59-8,36)	0,001
Ceftazidima*	15 (27,3%)	10 (9,1%)	3,75 (1,55-9,04)	0,002
Ceftriaxona*	13 (23,6%)	8 (7,3%)	3,90 (1,50-1,11)	0,004
Cefazolina	14 (25,5%)	28 (25,5%)	1,00 (0,47-2,10)	0,57
Ampicilina-sulbactam*	12 (21,8%)	8 (7,3%)	3,55 (1,35-9,32)	0,008
Ampicilina	2 (3,6%)	7 (6,4%)	0,55 (0,11-2,76)	0,37
Oxacilina	9 (16,4%)	12 (10,9%)	1,59 (0,62-4,06)	0,22
Amicacina*	22 (40,0%)	16 (14,5%)	3,91 (1,83-8,34)	0,0003
Gentamicina	2 (3,6%)	8 (7,3%)	0,48 (0,09-2,34)	0,29
Ciprofloxacina	13 (23,6%)	14 (12,7%)	2,12 (0,91-4,90)	0,06
Levofloxacina	4 (7,3%)	3 (2,7%)	2,79 (0,60-12,96)	0,16
Vancomicina*	19 (34,5%)	8 (7,3%)	6,72 (2,71-16,70)	<0,0001
Metronidazol*	23 (41,8%)	17 (15,5%)	3,93 (1,86-8,27)	0,0002
Clindamicina	5 (9,1%)	3 (2,7%)	3,56 (0,81-15,51)	0,08

(*) Variáveis estatisticamente significativas.
IC95%=Intervalo de confiança (95%)

4.3- Análise Multivariada

4.3.1- Caso-controle 1 (*P. aeruginosa* resistente ao Imipenem)

O uso do Imipenem foi importante fator de risco para aquisição de cepas resistentes de *P. aeruginosa*. Outros antimicrobianos também apresentaram significância na regressão logística: Amicacina e Vancomicina.

Fatores de risco adicionais foram: transferência de outro hospital e realização de hemodiálise. Tempo de exposição ao ambiente hospitalar e acúmulo de co-morbidades (pontuação de Charlson) não foram independentemente associados à aquisição de *P. aeruginosa* resistente ao Imipenem. Os resultados da análise são apresentados no **quadro 6**.

Quadro 6- Fatores de risco para aquisição de *P. aeruginosa* resistente ao Imipenem (análise multivariada).

Fator de Risco	Beta Estimado*	Desvio Padrão**	Odds Ratio (IC 95%)	p-valor
Transferência de outro hospital	0,71	0,28	4,21 (1,40-12,66)	0,01
Hemodiálise	1,02	0,40	7,79 (1,59-38,16)	0,01
Imipenem	1,45	0,27	18,51 (6,30-54,43)	<0,0001
Amicacina	0,58	0,21	3,22 (1,40-7,41)	0,005
Vancomicina	0,45	0,21	2,48 (1,08-5,64)	0,03

* Intercepto, -2,12

**Intercepto, 0,59

IC95% = Intervalo de Confiança (95%)

4.3.2- Caso-controle 2 (*P. aeruginosa* resistente à Ceftazidima)

A análise multivariada não identificou o uso de Ceftazidima como fator de risco para aquisição de isolados resistentes de *P. aeruginosa*.

Representaram risco significativo apenas a transferência de outro hospital e o uso de Amicacina. Mais uma vez, tempo sob risco e pontuação de Charlson não apresentaram significância na regressão logística. O quadro 7 resume os achados significativos da análise.

Quadro 7- Fatores de risco para aquisição de *P. aeruginosa* resistente à Ceftazidima (análise multivariada).

Fator de Risco	Beta Estimado*	Desvio Padrão**	Odds Ratio (IC 95%)	p-valor
Transferência de outro hospital	1,46	0,56	18,69 (2,00-174,28)	0,01
Amicacina	0,65	0,26	3,69 (1,32-10,35)	0,01

* Intercepto, -2,84

**Intercepto, 1,13

IC95% = Intervalo de Confiança (95%)

5- DISCUSSÃO

Nosso estudo procura acrescentar evidências em uma questão ainda não solucionada: a relação entre o uso de antimicrobianos e a emergência e/ou disseminação de isolados bacterianos resistentes. Apesar de haver um nexó histórico entre o surgimento e popularização dos antibióticos e a intensificação da resistência em bactérias, a busca de relações causais diretas revela complexidades inesperadas (JARVIS, 1996).

Estudos de dados agregados têm buscado estabelecer relação entre o consumo total de antimicrobianos e a incidência de microorganismos resistentes em hospitais (LEIBOVICI et al, 2001; LOEFFLER et al, 2003). Essa abordagem apresenta sérias dificuldades metodológicas. O desconhecimento da associação temporal entre uso e resistência prejudica a avaliação dos resultados. Por outro lado, a análise “ecológica” negligencia aspectos importantes da história individual de exposição. Em um estudo de fatores de risco para resistência em *P. aeruginosa* e enterobactérias, HARBARTH et al (2001) compararam resultados de dados agregados com os fatores de risco individuais. Concluíram que a primeira abordagem não avalia de forma adequada o impacto do uso dos antimicrobianos.

Fatores de risco individuais têm sido investigados em estudos tipo “coorte” e “caso-controle”. A metodologia empregada nesses trabalhos também tem sido alvo de discussões. Em uma revisão sistemática de 37 estudos “caso-controle” que analisavam a relação entre uso de antimicrobianos e resistência bacteriana, HARRIS et al (2001) identificaram um grande número de incorreções metodológicas. Elas incluíam: problemas na seleção de grupo controle (65%), falta de ajuste para “tempo sob risco” (60%) e falta de ajuste para co-morbididades (22%). Esses itens merecem atenção detalhada.

Em diversas publicações, utilizam-se como “controles” indivíduos colonizados ou infectados pela mesma bactéria encontrada nos casos. Os casos apresentam cepas resistentes e os controles, isolados suscetíveis ao antimicrobiano sob investigação. Essa abordagem fere um princípio metodológico básico, que recomenda que os controles sejam selecionados da mesma população onde se encontram os casos (WACHOLDER et al, 1992).

Indivíduos em uso do antibiótico estudado não carregam cepas sensíveis. Não serão, portanto, incluídos entre os controles. Isso introduz um importante viés. HARRIS et al (2002b) demonstraram que o efeito dos antimicrobianos sobre a resistência de microorganismos é superestimado quando se utilizam controles com cepas sensíveis.

Nós selecionamos os controles entre pacientes internados nas mesmas enfermarias onde os casos foram identificados. Com esse procedimento, procuramos identificar indivíduos expostos aos mesmos riscos ambientais e reduzir o efeito da “transmissão cruzada”. Nossos resultados para ambos os estudos caso-controle demonstraram outra vantagem inesperada do método empregado. Casos e controles selecionados na mesma enfermaria apresentavam semelhanças de idade, sexo e incidência de várias co-morbidades.

Outro fator freqüentemente negligenciado em estudos “caso-controle” é o “tempo sob risco”. Sabe-se que pacientes expostos ao ambiente do hospital (ou qualquer outro serviço de saúde) por mais tempo apresentam maior chance de aquisição de microorganismos resistentes. Por outro lado, indivíduos com internação prolongada apresentam maior probabilidade de ter feito uso de antimicrobianos. Os dois fatores (uso de antimicrobiano e aquisição da cepa resistente) podem não ter relação, estando na verdade associados a maior “tempo sob risco”. Em nosso estudo, a importância dessa variável foi investigada nas análises bi e multivariadas. Nos modelos finais de regressão logística, maior “tempo sob risco” não foi significativamente associado à aquisição de *P. aeruginosa* resistente ao Imipenem ou à Ceftazidima.

A suscetibilidade de pacientes à aquisição de cepas multirresistentes também pode ser determinada pela gravidade do quadro clínico. Por essa razão, diversos indicadores de gravidade têm sido utilizados em estudos epidemiológicos (MCCUSKER et al, 2002). Entre os indicadores de gravidade mais utilizados estão o APACHE (KNAUS et al, 1991) e a pontuação de Charlson (CHARLSON et al, 1987). Embora tenha sido concebida para avaliar o risco de óbito em doenças crônicas, essa pontuação parece estimar adequadamente o prognóstico de quadros infecciosos agudos (LESSENS et al, 2003). Além disso, é facilmente calculada a partir de dados colhidos retrospectivamente em prontuários. Por esta razão, foi o indicador de gravidade utilizado neste estudo. Assim como o “tempo

sob risco”, a pontuação de Charlson não foi fator de risco significativo nas análises multivariadas para resistência ao Imipenem ou à Ceftazidima.

Ao todo, foram fatores de risco significativos para aquisição de *P. aeruginosa* resistente ao Imipenem: transferência de outro hospital, hemodiálise e o uso de Imipenem, Amicacina e Vancomicina.

A relação entre transferência de outro hospital e risco aumentado de carregamento de bactérias multirresistentes é um achado freqüente na literatura. Foi relatado em estudos com *S. aureus* (WASHIO et al, 1997), enterococos (TORNIEPOTH et al, 1996; GARBUTT et al, 1999) e bacilos Gram-negativos (SCHIAPPA et al, 1996) – inclusive *P. aeruginosa* (HARRIS et al, 2002a; DEFEZ et al, 2004). A interpretação desse achado apresenta dificuldades. Ele pode ser um indicador indireto da gravidade do paciente. Pode ainda refletir um maior tempo de exposição a ambiente hospitalar. No entanto, é preciso recordar que a pontuação de Charlson e o “tempo sob risco” não foram fatores estatisticamente significativos em nosso estudo. Outra possível explicação seria alta prevalência de cepas resistentes em outros serviços. Entretanto, é importante ressaltar que os pacientes “transferidos” observados em nosso estudo provinham de hospitais com características diversas, muitos deles prestando atendimento secundário de baixa complexidade.

A hemodiálise foi outro fator de risco significativo no *Caso-controle 1*. Esse achado também pode refletir maior “tempo sob risco”, uma vez que a maior parte dos indivíduos submetidos à diálise tinham diagnóstico de insuficiência renal crônica. Outra possibilidade é de ele reflita gravidade. É digno de nota, porém, que doença renal não foi um fator independente de risco na análise multivariada.

O maior valor de *Odds Ratio* foi obtido para o uso de Imipenem: 18,51. Esse achado é coerente com a literatura. Alguns estudos identificaram importante relação entre uso de imipenem e aquisição de cepas resistentes de *P. aeruginosa* (CAILLEAUX et al, 1997; TROILLET et al, 1997; ARRUDA et al, 1999; EL AMARI et al, 2001; CAO et al, 2004). No entanto, os autores selecionaram os controles entre indivíduos que carregavam isolados suscetíveis. Como foi discutido anteriormente, essa abordagem tem o potencial de

superestimar ou mesmo identificar erroneamente o efeito dos antimicrobianos sobre a resistência. Utilizando controles selecionados da população de base, HARRIS et al (2002a) também associaram o uso de Imipenem com o isolamento em culturas de cepas resistentes. Comparando seus resultados com outros da literatura, enfatizam o fato de que a *Odds Ratio* identificada foi bem menor: 4,96 contra 16,9 em TROILLET et al (1997). Para aprofundar a discussão, o mesmo grupo realizou estudo utilizando paralelamente dois tipos de controle. O valor de *Odds Ratio* utilizando controles com *P. aeruginosa* sensível ao Imipenem foi 27,1. Quando estes eram selecionados da população de base, esse valor foi de apenas 6,3 (HARRIS et al, 2002b).

É importante salientar que utilizamos em nosso estudo controles selecionados de acordo com as recomendações de HARRIS et al (2001). Ainda assim, nossos resultados identificaram valor de *Odds Ratio* superior aos encontrados por esses autores.

Amicacina e Vancomicina foram significativamente associadas ao isolamento de *P. aeruginosa* resistente ao Imipenem. Diferentes classes de antimicrobianos já foram identificadas como fatores de risco: Beta-lactâmicos, Aminoglicosídeos, Vancomicina e Fluoroquinolonas (HARRIS et al, 2002a; DEFEZ et al, 2004; ORTEGA et al, 2004). Por outro lado, MUDER et al (1997) relacionaram a aquisição das cepas resistentes ao uso total de antimicrobianos, não a correlacionando a um agente específico.

Um estudo metodologicamente interessante foi conduzido por PARAMYTHIOTHOU et al (2004). Esses autores tentaram identificar a relação entre o tempo do uso de antimicrobianos e a aquisição de *P. aeruginosa* resistente a múltiplas drogas (Imipenem, Ceftazidima, Piperacilina e Ciprofloxacina) em pacientes de UTI. O uso prolongado de Ciprofloxacina foi o único fator de risco significativo em análise multivariada.

O achado de diferentes antimicrobianos como fatores de risco não é incomum. Os agentes podem ter impacto sobre a flora normal ampliando a suscetibilidade à aquisição de cepas resistentes ou aumentando a densidade de microorganismos já carregados pelos pacientes (LIPSITCH e SAMORE, 2002; BHALLA et al, 2003). Esse fenômeno guarda semelhança com a identificação de Metronidazol e Cefalosporinas de 3^a. geração como

fatores de risco para aquisição de enterococos resistentes à Vancomicina (CARMELI et al, 2002).

No *Caso-controle 2*, somente Transferência de outro hospital e uso de Amicacina foram associados de forma significativa à aquisição de cepas de *P. aeruginosa* resistentes à Ceftazidima. É digno de nota que a própria Ceftazidima não esteve entre os fatores de risco identificados. Mais uma vez, constata-se que os autores que identificaram associação uso/resistência para esse antimicrobiano utilizaram pacientes carreadores de cepas sensíveis como controles (LEE et al, 1999; EL AMARI et al, 2001). Mesmo utilizando controles sub-ótimos, o estudo de CAILLEAUX et al (1996) identificou como fatores de risco para *P. aeruginosa* resistente à Ceftazidima somente antimicrobianos com pouca ou nenhuma atividade anti-pseudomonas.

No **quadro 8**, nossos resultados são comparados com os de outros estudos caso-controle abordando resistência ao Imipenem e/ou à Ceftazidima. Pode-se perceber que há grande variação entre a metodologia empregada (definição de resistência, seleção de controles) e os resultados obtidos. É digno de nota, porém, que o Imipenem aparece como fator de risco em todos os estudos que avaliam a resistência isolada a este antimicrobiano.

Abordagens metodológicas diferentes do caso-controle podem ser utilizadas para interpretar a relação entre uso de antimicrobianos e resistência para isolados de *P. aeruginosa*. CARMELI et al (1999) acompanharam uma coorte de pacientes com culturas positivas para cepas sensíveis. Seu objetivo era documentar a emergência de resistência e compreender sua relação com uso de quatro antimicrobianos: Imipenem, Ceftazidima, Piperacilina-Tazobactam e Ciprofloxacina. Os autores encontraram maior *Razão de Risco* individual para o Imipenem (44; $p < 0,001$). A Ceftazidima foi o antimicrobiano menos associado ao surgimento de resistência a si próprio (*Razão de Risco* = 0,8; $p = 0,7$). Vale salientar que a emergência de cepas resistentes durante a terapia com o Imipenem é bem descrita na literatura, sendo frequentemente reconhecida como causa de falha da terapia antipseudomonas (QUINN et al, 1986).

Quadro 8- Comparação entre resultados deste estudo e de outros envolvendo a resistência ao Imipenem e/ou à Ceftazidima.

	Critérios de Seleção		Fatores de Risco		Referências
IMIPENEM	culturas positivas (108)	base populacional (216)	Imipenem (18,51) Amicacina Vancomicina	Transferência Hemodálise	Este estudo** (Caso-controle 1)
	culturas positivas (40)	culturas com cepas sensíveis (387)	Imipenem (19,59)	Transplante	TROILLET et al, 1997.
	bacteremias (41)	bacteremias por cepas sensíveis (231)	Imipenem (2,7)	...	EL AMARI et al, 2001.**
	culturas positivas (120)	base populacional (770)	Imipenem (4,96) Aminoglicosídeos Vancomicina	Tempo sob risco Transferência	HARRIS et al, 2002a.
	culturas positivas (120)	culturas com cepas sensíveis (662)	Imipenem (27,12) Aminoglicosídeos Quinolonas	Cirurgia	HARRIS et al, 2002b.+
		base populacional (770)	Imipenem (6,34) Aminoglicosídeos	Tempo sob risco UTI	
CEFTAZIDIMA	culturas positivas (55)	base populacional (110)	Amicacina	Transferência	Este estudo** (Caso-controle 2)
	infecções (35)	infecções por cepas sensíveis (62)	Cefalosporinas de 3ª. geração (3,04) Cefalosporinas de 1ª. geração	...	LEE et al, 1999.
	bacteremias (16)	bacteremias por cepas sensíveis (251)	Ceftazidima (11,4)	...	EL AMARI et al, 2001.**
MULTI++	infecções (44)	infecções por cepas sensíveis (68)	Carbapenêmicos (44,8)	Idade ≥ 60 Doença pulmonar APACHE II ≥ 16 Ventilação	CAO et al, 2004.
	infecções (80)	infecções por cepas sensíveis (75)	Fluoroquinolonas	Transferência Tempo sob risco	DEFEZ et al, 2004.+
		base populacional (240)	Beta-lactâmicos (2,5) Fluoroquinolonas	...	
	culturas positivas (18)	cepas sensíveis (35)	Ceftriaxone	Tempo sob risco Síndromes Não-cirúrgicas	ORTEGA et al, 2004
	culturas positivas (37)	base populacional (37)	Ciprofloxacina Metronidazol	Hemodálise	PARAMYTHIOTOU et al, 2004.

Resultados para este estudo são expostos em negrito.

(n) = número de casos ou controles

* Odds Ratio é apresentada para Imipenem, Ceftazidima ou classe de antimicrobianos que incluía esses agentes.

** Estudos que avaliam a resistência individual para Imipenem e Ceftazidima são apresentados duas vezes.

+ Estudos que utilizaram dois tipos de grupo controle.

++ O conceito de MULTIRRESISTÊNCIA varia entre os diversos artigos, mas sempre inclui resistência ao Imipenem, à Ceftazidima ou a ambos.

Achados diferentes são relatados por MANIAN et al (1996). Esses autores utilizaram estudo de coorte para avaliar a perda de suscetibilidade em bacilos Gram-negativos isolados em UTI. Ticarcilina-Clavulanato e Ceftazidima foram os antimicrobianos mais associados à emergência de resistência a si próprios. O fenômeno era mais freqüente quando esses antibióticos eram associados à Amicacina. Esse resultado os levou a questionar o dogma de prevenção de resistência pela associação de diferentes drogas. É importante ressaltar que esses achados são relacionados ao total de espécies identificadas. Embora *P. aeruginosa* tenha sido o agente mais freqüentemente identificado no estudo, nenhum antimicrobiano foi significativamente associado a maior risco para emergência de resistência para esse microorganismo.

Mesmo que a evidência científica aponte para um papel dos antimicrobianos no desenvolvimento de resistência, uma controvérsia permanece. Será esse o principal fator responsável pela disseminação de cepas resistentes de patógenos nos hospitais ou outros serviços de saúde? Uma tentativa de resposta exige a avaliação do outro fator implicado: a transmissão cruzada de microorganismos entre pacientes.

Tentativas de quantificar o significado da transmissão cruzada ganharam impulso após o desenvolvimento de técnicas de genotipagem para caracterização clones bacterianos (TENOVER et al, 1997). Clones são definidos como isolados de microorganismos cuja similaridade genética sugere origem a partir de um único precursor (ORSKOV e ORSKOV, 1983). O achado de apenas um ou de poucos clones em um hospital é uma evidência indireta da importância da transmissão cruzada.

No entanto, estudos que avaliaram situações endêmicas apontaram com freqüência para a coexistência de vários clones de *P. aeruginosa* em unidades hospitalares. Caracterizando isolados procedentes de uma UTI em um período de seis meses, OLSON et al (1984) perceberam que apenas raramente era documentada a transmissão de um clone entre pacientes. Achados semelhantes foram referidos por GRUNER et al (1993). Também GRIFFITH et al (1990), analisando isolados procedentes de pacientes oncológicos, detectaram a policlonalidade da infecção por esse agente.

Estudando isolados nosocomiais de *P. aeruginosa* do Hospital da Faculdade de Medicina de Botucatu do ano de 1998, nós encontramos evidências de transmissão cruzada em 29,2% dos pacientes (FORTALEZA, 1999). Esse resultado não estava relacionado a perfis específicos de resistência. A transmissão estava concentrada em três enfermarias: Berçário de Alto Risco (50,0%), Neurologia (33,3%) e Gastrocirurgia (16,7%). A coexistência de múltiplos clones foi amplamente predominante.

BONTEN et al (1999) descreveram minuciosamente as características da “endemicidade policlonal” de *P. aeruginosa* em UTI. Os autores acompanharam resultados de 1089 culturas de vigilância (reto, estômago e orofaringe) e 2393 culturas clínicas (secreção traqueal, outros espécimes respiratórios, sangue e urina) colhidas no período de um ano. Técnicas de genotipagem foram utilizadas para determinar as rotas de transmissão de cepas. No momento da admissão, 22% dos pacientes da UTI carregavam *P. aeruginosa* em mucosa retal e 5% tinham a traquéia colonizada. Durante a permanência na UTI, a taxa de colonização adquirida chegava a 20% para o reto e 15% para o trato respiratório. Excluídos os indivíduos colonizados à admissão, o isolamento de *P. aeruginosa* no trato respiratório era freqüentemente simultâneo (32%) ou posterior (20%) ao encontro dessa bactéria em mucosa retal. A colonização primária foi demonstrada em 36%. A transmissão cruzada foi raramente documentada (12%). Ao todo, 16% dos pacientes colonizados desenvolveram infecção. Em nenhum destes foi demonstrada a aquisição de cepas de fontes exógenas. O uso de antimicrobianos foi significativamente associado à colonização. Os autores concluem que a transmissão cruzada é “relativamente desimportante”, apesar das altas taxas de culturas de vigilância positivas para *P. aeruginosa*.

Tomados em conjunto, esses achados reforçam a tese exposta por KROPEC et al (1993) de que a colonização por cepas de *P. aeruginosa* resulta principalmente ampliação de pequenas populações carregadas pelos pacientes. Como enfatizamos anteriormente, esse fenômeno está implicado na disseminação da resistência bacteriana (LIPSITCH e SAMORE, 2002). Desse argumento, pode-se inferir que o uso de antimicrobianos tem papel relevante na epidemiologia de *P. aeruginosa*.

Outros autores, no entanto, defendem a idéia de que a transmissão cruzada desempenha papel epidemiológico predominante nas situações endêmicas. WEIST et al (2002) utilizaram diferentes técnicas de genotipagem para identificar a disseminação de cepas causadoras de infecção hospitalar em UTI. O estudo incluiu sete espécies, entre elas *P. aeruginosa*. Observou-se que pelo menos 37,5% das infecções eram adquiridas por transmissão cruzada. A disseminação geralmente ocorria entre indivíduos internados no mesmo período (63,9%) e/ou no mesmo quarto (38,8%). No entanto, *P. aeruginosa* foi um patógeno minoritário no estudo, representando a 14,4% dos isolados tipados e respondendo apenas por 11,1% dos episódios de transmissão.

Um estudo de FERREIRA et al (2004) avaliou a emergência de resistência em isolados de *P. aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* na Unidade de Queimados dos Hospital das Clínicas (Universidade de São Paulo). Esse fenômeno foi identificado em nove de 22 pacientes. Bactérias resistentes apresentavam padrões genotípicos distintos daqueles identificados entre as suscetíveis. Entre as culturas positivas para *P. aeruginosa*, um único clone compreendia 82% dos isolados resistentes. Os autores concluem que a resistência não emergiu por alterações genéticas nos microorganismos, mas pela aquisição de novas cepas por transmissão cruzada. Inferem desse aspecto que as práticas direcionadas à prevenção da transmissão têm mais impacto sobre a resistência que políticas de uso racional de antimicrobianos. Admitem, no entanto, que os antibióticos podem ter exercido alguma pressão seletiva. É digna de nota a diferença entre os seus achados e os de CARMELI et al (1999). Estes autores encontraram o mesmo clone de *P. aeruginosa* em pares de culturas obtidos antes e após a emergência de resistência. Os resultados enfatizaram o impacto dos antimicrobianos (notadamente o Imipenem) no surgimento de resistência. Vale salientar que em ambos os estudos o número de isolados genotipados foi pequeno.

Extensa disseminação de um ou poucos clones de *P. aeruginosa* tem sido descrita em situações epidêmicas. Esse fenômeno pode dever-se à contaminação de fonte comum (GARLAND et al, 1993; MUYLDERMANS et al, 1998) ou a eventos de transmissão cruzada envolvendo as mãos de médicos e enfermeiros (WIDMER et al, 1993;

MOOLENAR et al, 2000). Os surtos, no entanto, não representam o comportamento predominante das infecções por *P. aeruginosa*.

Pesquisas de colonização de mãos por *P. aeruginosa* têm demonstrado a plausibilidade da transmissão cruzada. Taxas de contaminação em profissionais da saúde variam de 1 a 25%, e a sobrevivência do microorganismo no epitélio pode persistir por até 180 minutos (KAMPF e KRAMER, 2004). No entanto, significado prático desses achados é incerto.

Nosso estudo não se propôs a avaliar a importância da transmissão cruzada para a aquisição de cepas resistentes aos Imipenem ou à Ceftazidima. De fato, o delineamento metodológico busca reduzir o seu efeito, selecionando casos e controles expostos a risco semelhante de aquisição exógena por estarem presentes na mesma unidade ao mesmo tempo. No entanto, a identificação de fatores de risco como transferência (ambos os casos-controle) e hemodiálise (*Caso-controle 1*) pode estar de alguma forma associada à disseminação por transmissão.

Quantificar o papel da transmissão cruzada e do uso de antimicrobianos revela-se uma tarefa difícil. Inferências definitivas sobre o predomínio de um ou outro fator na epidemiologia de bacilos Gram-negativos multirresistentes, em particular de *P. aeruginosa*, não podem ser feitas com segurança com base na literatura vigente.

É razoável imaginar que a ação dos dois fatores dificilmente ocorre separadamente. LIPSITCH e SAMORE (2002) adotaram uma perspectiva populacional para avaliar os efeitos diretos e indiretos do uso de antimicrobianos sobre a resistência. Os mecanismos propostos são:

- Emergência de resistência durante o tratamento.
- Redução da circulação de cepas sensíveis.
- Aumento da suscetibilidade à colonização.
- Aumento da densidade de colonização em indivíduos que já carregavam a cepa resistente, através da inibição dos competidores.

Teoriza-se que os mecanismos ocorram em proporções diferentes nas diversas espécies de microorganismos. Sua importância relativa em *P. aeruginosa* foi analisada ao longo desta discussão. Merece atenção o fato de que, com a possível exceção da emergência de mecanismos de resistência, todos os demais mecanismos estão associados direta ou indiretamente à transmissão cruzada.

Diversos tipos de estudo têm enriquecido a discussão sobre a relação entre uso de antimicrobianos e resistência. Entre eles estão os que buscam detectar *in vitro* a ativação de mecanismos de resistência. ALONSO et al (1999) demonstraram que isolados de *P. aeruginosa* incubados na presença de Tetraciclina desenvolviam resistência a múltiplos antimicrobianos, assim como alterações na expressão de proteínas da membrana externa.

Estudos *in vivo* também podem acrescentar informações relevantes. JUMBE et al (2003) detectaram a ativação de sistemas de efluxo com conseqüente alteração de suscetibilidade em isolados infectando camundongos tratados com Fluoroquinolonas. A emergência das cepas resistentes estava associada a grande inóculo infeccioso e/ou utilização de doses baixas do agente antimicrobiano. A partir de seus resultados, desenvolveram um modelo matemático para estimar a amplificação de populações bacterianas resistentes durante a terapia antimicrobiana. Seus resultados os permitiram concluir que a utilização precoce de doses otimizada pode prevenir a multiplicação de subpopulações resistentes dos microorganismos. A validade dessa conclusão para outros antibióticos e espécies de microorganismos, assim como o significado práticos de seus achados, é um interessante ponto de partida para estudos futuros. Avaliando flora comensal de seres humanos, GUSTAFSSON et al (2003) detectaram relação entre uso de antibióticos e aumento na frequência de mutações em isolados diversas espécies bacterianas.

No entanto, é necessário lembrar que a pesquisa experimental e os modelos matemáticos apenas levantam hipóteses. Estudos epidemiológicos são necessários para definir as intervenções necessárias à prevenção da resistência (LIPSITCH e SAMORE, 2002). Essa foi a nossa proposta.

Características do HC-UNICAMP podem ter exercido alguma influência sobre os nossos resultados. Em primeiro lugar, verifica-se que as taxas de resistência ao Imipenem superam em muito as da Ceftazidima (13% contra 7%). Além disso, o período de 1999 a 2002 coincidiu com uma redução significativa do uso da Ceftazidima. Essa redução foi intencional, e fazia parte de uma estratégia para conter a disseminação de enterobactérias produtoras de Beta-lactamase de Espectro Estendido (ESBL). De fato, comparando-se o período de 1995-1998 com o de 1999-2001, verificamos que o consumo médio de Ceftazidima foi reduzido de 58 para 28 Doses Diárias Definidas por 1000 pacientes-dia (FORTALEZA et al, 2002). Essa redução é estatisticamente significativa ($p < 0,0001$). Além disso, Ticarcilina-Clavulanato e Piperacilina-Tazobactam foram raramente utilizadas no período, e poucos pacientes foram tratados com Meropenem.

A maior limitação do nosso estudo, porém, está na ausência de culturas de vigilância rotineiras. Dessa forma, não podemos assegurar que os controles não carregavam isolados resistentes de *P. aeruginosa*. É, portanto, impossível garantir que eles não fossem realmente casos. Entretanto, esse fato apenas poderia nos levar a subestimar o efeito de um ou mais fatores de risco.

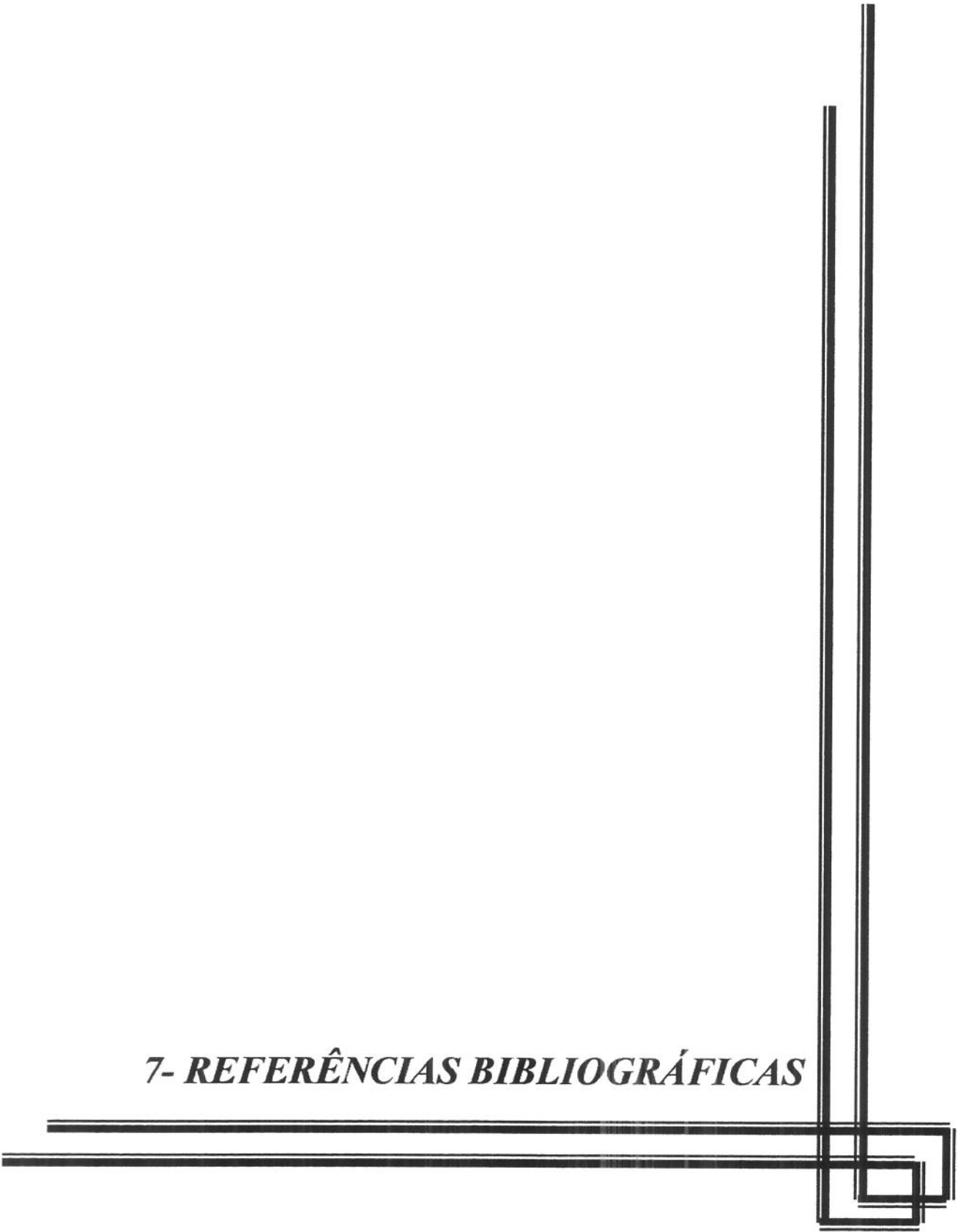
Por outro lado, acreditamos que os resultados obtidos fornecem importante evidência a favor do impacto do uso do Imipenem sobre o risco de aquisição de cepas resistentes de *P. aeruginosa*. Foi ainda importante a identificação de outros antimicrobianos como fatores de risco independentes: a Vancomicina (para resistência ao Imipenem) e a Amicacina (para resistência ao Imipenem e à Ceftazidima). Esse achado tem duas implicações práticas. Primeiro, indica que estratégias centradas no controle restritivo apenas do Imipenem e da Ceftazidima podem ser insuficientes para prevenir a disseminação de cepas resistentes. Reforça também a evidência de que o acréscimo de Aminoglicosídeos não tem efeito de prevenção da emergência de resistência bacteriana.

Por fim, acreditamos que estudos epidemiológicos futuros poderão ser enriquecidos pela identificação de fenótipos específicos de resistência, tais como a produção de metalo-beta-lactamases ou a ativação de bombas de efluxo. A avaliação de fatores de risco específicos para a aquisição ou emergência de cepas apresentando esses fenótipos certamente permitirá uma abordagem mais exata da relação entre o uso de antimicrobianos e a resistência em *P. aeruginosa*.

6- CONCLUSÃO

- Transferência de outro hospital e hemodiálise foram fatores de risco para aquisição de *Pseudomonas aeruginosa* resistente ao imipenem. O uso de Imipenem também mostrou relação significativa com a resistência. Outros antibióticos foram identificados como fatores de risco: Vancomicina e Amicacina. Esses achados são concordantes com a literatura recente.
- Apenas transferência de outro hospital e uso de Amicacina foram fatores de risco para aquisição de *Pseudomonas aeruginosa* resistente à Ceftazidima. Não houve relação entre o uso da Ceftazidima e resistência.
- Políticas de uso de antimicrobianos centradas na restrição da prescrição de Imipenem e Ceftazidima podem ser insuficientes para conter a disseminação de cepas resistentes de *Pseudomonas aeruginosa*.

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS



- AESCHLIMANN, J. R. The role of multidrug efflux pumps in the antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* and other Gram-negative bacteria. **Pharmacotherapy**, 23:916-924, 2003.
- ALFONSO, E.; MANDELBAUM, S.; FOX, M.J.; FOSTER, R.K. Ulcerative keratitis associated with contact lens wear. **Am J Ophthalmol**, 101: 429-33, 1986.
- ALONSO, A.; CAMPANARIO, E.; MARTINEZ, J.L. Emergence of multidrug-resistant mutants is increased under antibiotic selective pressure in *Pseudomonas aeruginosa*. **Microbiology**, 145: 2857-62, 1999.
- ANDRAŠEVIC, A.T.; TAMBIC, T.; KALENIC, S.; JANKOVIC, V. Surveillance for antimicrobial resistance in Croatia. **Emerg Infect Dis**, 8: 14-8, 2002.
- ARRUDA, E.A.; MARINHO, I.S.; BOULOS, M.; SINTO, S.I.; CAIAFFA, H.H.; MENDES, C.M. et al. Nosocomial infections caused by multiresistant *Pseudomonas aeruginosa*. **Infect Control Hosp Epidemiol**, 20: 620-3, 1999.
- AUBERT, D.; POIREL, L.; ALI, A.B.; GOLDSTEIN, F.W.; NORDMANN, P. OXA-35 is an OXA-10-related beta-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. **J Antimicrob Chemother**, 48: 717-21, 2001.
- BABCOCK, H.M.; ZACK, J.E.; GARRISON, T.; TROVILLION, E.; KOLLEF, M.H.; FRASER, V.J. Ventilator-associated pneumonia in a multi-hospital system: differences in microbiology by location. **Infect Control Hosp Epidemiol**, 24: 853-8, 2003.
- BAHAR, G.; MAZZARIOL, A.; KONCAN, R.; MERT, A.; FONTANA, R.; ROSSOLINI, G.M. et al. Detection of VIM-5 metallo-beta-lactamase in a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate from Turkey. **J Antimicrob Chemother**, 49: 282-3, 2004.
- BHALLA, A.; PULTZ, N.J.; RAY, A.J.; HOYEN, C.K.; ECKSTERIN, E.C.; DONSKEY, C.J. 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**, 24: 644-49, 2003.

BISBE, J.; GATELL, J.M.; PUIG, J.; MALLOLAS, J.; MARTINEZ, J.A.; JIMENEZ DE ANTA, M.T. et al. *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia: univariate and multivariate analyses of factors influencing the prognosis in 133 episodes. **Rev Infect Dis**, 10: 629-35, 1988.

BLAND, M. Multifactorial methods. In: BLAND, M. **Medical Statistics**. Oxford: Oxford Medical Publications, 1995. p.306-30.

BLOT, S.; VANDEWOUDE, K.; HOSTE, E.; COLARDYN, F. Reappraisal of attributable mortality in critically ill patients with nosocomial bacteraemia involving *Pseudomonas aeruginosa*. **J Hosp Infect**, 53:18-24, 2003.

BONTEN, M.J.; BERGMANS, D.C.J.J.; SEPIJER, H.; STOBBERINGH, E.E. Characteristic of polyclonal endemicity of *Pseudomonas aeruginosa* colonization in intensive care units. Implications for infection control. **Am J Respir Crit Care Med**, 160: 1212-19.

BOUZA, E.; SAN JUAN, R.; MUNOZ, P.; VOSS, A.; KLUYTMANS, J. A. European perspective on nosocomial urinary tract infections II. Report on incidence, clinical characteristics and outcome (ESGNI-004 study). European Study Group on Nosocomial Infection. **Clin Microbiol Infect**, 7:521-2, 2001.

BOUZA, E.; GARCÍA-GARROTE, F.; CERCENADO, E.; MARÍN, M.; DIÁZ, M.S.; ROMERO, I.S. et al. *Pseudomonas aeruginosa*: estudio multicéntrico en 146 hospitales españoles. **Rev Esp Quimioterap**, 16: 45-52, 2003.

BULKHOLM, G.; TANNAES, T.; KJELSBERG, B.B.; SMITH-ERICHSEN, N. An outbreak of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* associated with increased risk of patient death in an intensive care unit. **Infect Control Hosp Epidemiol**, 23: 441-6, 2002.

BUSH, K.; JACOBY, G.A.; MEDEIROS, A.A. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. **Antimicrob Agents Chemother**, 39: 1211-33, 1995.

CAILLEAUX,V.; MULIN, B.; CAPELLIERM, G.; JULIOT, M.C.; THOUVEREZ, M.; TALON, D. Epidemiological study of variations in beta-lactam antibiotic susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* in two intensive-care units. **J Hosp Infect** , 37: 217-24,1997.

CAO, B.; WANG, H.; SUN, H.; ZHU, Y.; CHEN, M. Risk factors and clinical outcomes of nosocomial multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*. **J Hosp Infect**, 57: 112-8, 2004.

CARDOSO, O.; SOUSA, J.C.; LEITÃO, R.; PEIXE, L. Carbapenem-hydrolysing beta-lactamase from clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in Portugal. **J Antimicrob Chemother**, 44: 135, 1999.

CARMELI, Y.; TROILLET, N.; ELIOPOULOS, G.M.; SAMORE, M.H. Emergence of antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: comparison of risks associated with different antipseudomonal agents. **Antimicrob Agents Chemother**, 43: 1379-82, 1999.

CARMELI, Y.; ELIOPOULOS, G.M.; SAMORE, M.H. Antecedent treatment with different antibiotic agents as risk factor for vancomycin-resistant *Enterococcus*. **Emerg Infect Dis**, 8: 802-7, 2002.

CARRATALA, J.; ROSON, B.; FERNANDEZ-SEVILLA, A.; ALCAIDE, F.; GUDIOL F. Bacteremic pneumonia in neutropenic patients with cancer: causes, empirical antibiotic therapy, and outcome. **Arch Intern Med**, 158:868-72, 1998.

CAVALLO, J.D.; FABRE, R.; LEBLANC, F.; NICOLAS-CHANOINE, M.H.; THABAUT, A. Antibiotic susceptibility and mechanisms of beta-lactam resistance in 1310 strains of *Pseudomonas aeruginosa*: a French multicentre study (1996). **J Antimicrob Chemother**, 46: 133-6, 2000.

CDC (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION). National Nosocomial Infection Surveillance (NNIS) system report, October 1986 – April 1996. **Am J Infect Control**, 24: 380-8, 1996.

CDC (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION). National Nosocomial Infection Surveillance (NNIS) system report – data summary from January 1992 through June 2003, issued August 2003.. **Am J Infect Control**, 31: 481-98, 2003.

CHARLSON, M.E.; POMPEI, P.; ALES, K.L.; MACKENZIE, C.R. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. **J Chron Dis**, 40: 373-83, 1987.

COMISSÃO PERMANENTE DE CONTROLE DE INFECÇÃO HOSPITALAR – HOSPITAL DAS CLÍNICAS, FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU. Sensibilidade bacteriana aos antimicrobianos. Amostras hospitalares. [folder]. FMB-UNESP, 2004.

DEFEZ, C.; FABBRO-PERAY, P.; BOUZIGES, N.; GOUBY, A.; MAHAMAT, A.; DAURÉS, J.P. et al. Risk factors for multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* Nosocomial infections. **J Hosp Infect**, 57: 209-16, 2004.

DOGGET, R.G. Microbiology of *Pseudomonas aeruginosa*. In: DOGGET, R.G. *Pseudomonas aeruginosa . Clinical manifestations of infection and current therapy*. New York: Academic Press, 1979. p.1-7.

DONLAN, R.M. Biofilms: microbial life on surfaces. **Emerg Infect Dis**, 8: 881-90, 2002.

DONLAN, R.M.; COSTERTON, J.W. Biofilms: survival of clinically relevant microorganisms. **Clin Microbiol Rev**, 15: 167-193, 2002.

DORÉ, P.; ROBERT, R.; GROLLIER, G.; ROUFFINEAU, J.; LANQUETOT, H.; CHARRIERE, J.M. et al. Incidence of anaerobes in ventilator-associated pneumonia with use of a protected specimen brush. **Am J Respir Crit Care Med**, 153: 1292-8, 1996.

DROPULIC, L.K.; LESLIE, J.M.; ELDRED, L.J.; ZENILMAN, J.; SEARS, C.L. Clinical manifestations and risk factors of *Pseudomonas aeruginosa* infection in patients with AIDS. **J Infect Dis**, 171:930-7, 1995.

DUNNE, W.M. Bacterial adhesion: seen any good biofilms lately? **Clin Microbiol Rev**, 15: 155-66, 2002.

EL AMARI, E.B.; CHAMOT, E.; AUCHENTHALER, R.; PECHÉRE, J.C.; VAN DELDEN, C. Influence of previous exposure to antibiotic therapy on the susceptibility

pattern of *Pseudomonas aeruginosa* bacteremic isolates. **Clin Infect Dis**, 33: 1859-64, 2001.

FAGON, J.Y.; CHASTRE, J.; DOMART, Y.; TROUILLET, J.L.; PIERRE, J., DARNE, C. et al. Nosocomial pneumonia in patients receiving continuous mechanical ventilation. Prospective analysis of 52 episodes with use of a protected specimen brush and quantitative culture techniques. **Am Rev Respir Dis**, 139:877-84, 1989.

FANCI, R.; PACI, C. ANICHINI, P.; PECILE, P.; MARRA, G.; CASINI, C. et al. Incidence and molecular epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* bacteremias in patients with acute leukemia: analysis by pulsed-field gel electrophoresis. **New Microbiol**, 26:353-51, 2003.

FARRELL, P. M.; SHEN, G.; SPLAINGARD, M.; COLBY, C.E.; LAXOVA, A; KOSOROK, M.R. et al. Acquisition of *Pseudomonas aeruginosa* in children with cystic fibrosis. **Pediatrics**, 100: 2-10, 1997.

FAVERO, M. S.; CARLSON, L.A.; BOND, W.W.; PETERSEN, N.J. *Pseudomonas aeruginosa*: growth in distilled water from hospitals. **Science**, 173: 836-9, 1971.

FERREIRA, A.C.B.; GOBARA, S.; COSTA, S.F.; SAUAIA, N.; MAMIZUKA, E.M.; VAN DER HEIJDEN, I.M. et al. Emergence of resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species after the use of antimicrobials for burned patients. **Infect Control Hosp Epidemiol**, 25: 868-72, 2004.

FERGIE, J.E.; SHEMA, S.J.; LOTT, L.; CRAWFORD, R.; PATRICK, C.C. *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia in immunocompromised children: analysis of factors associated with a poor outcome. **Clin Infect Dis**, 18:390-4, 1994.

FLAHERTY, J.P.; STOSOR, V. Nonfermentative Gram-negative bacilli. In: MAYHALL, C.G. **Hospital epidemiology and infection control**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004. p. 575-602.

FIERER, J.; TAYLOR, P. M.; GEZON, H. M. *Pseudomonas aeruginosa* epidemic traced to delivery-room resuscitators. **N Engl J Med**, 276:991-6, 1971.

FORTALEZA, C.M.C.B. **Aplicação da Reação em Cadeia de Polimerase baseada em elemento repetitivo “ERIC” à caracterização de clones de *Pseudomonas aeruginosa***. Botucatu, 1999 (Dissertação – Mestrado – Universidade Estadual Paulista).

FORTALEZA, C.M.C.B.; TRABASSO, P.; CARVALHO, M.C.S.; RIENZO, A.A.; SARAIVA, I.H.B. Indicadores farmacoepidemiológicos do consumo de antimicrobianos de amplo espectro em dois hospitais públicos da cidade de Campinas. In: VII CONGRESSO BRASILEIRO DE CONTROLE DE INFECÇÃO E EPIDEMIOLOGIA HOSPITALAR. (Anais) Curitiba, 2002.

FRANK, U.; DASCHNER, F.D.; SCHULGEN, G.; MILLS, J. Incidence and epidemiology of nosocomial infections in patients infected with human immunodeficiency virus. **Clin Infect Dis**, 25:318-20, 1997.

FRENCH, G.L. Antimicrobial resistance in hospital flora and nosocomial infections. In: MAYHALL, C.G. **Hospital epidemiology and infection control**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004. p. 1613-36.

GANDERTON, L.; CHAWLA, J.; WINTERS, C.; WIMPENNY, J.; STICKLER, D. Scanning electron microscopy of bacterial biofilm on indwelling bladder catheter. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, 11: 789-96, 1992.

GARLAND, S. M.; MACKAY, S.; TABRIZI, S.; JACOBS, S. *Pseudomonas aeruginosa* outbreak associated with a contaminated blood-gas analyser in a neonatal intensive care unit. **J Hosp Infect**, 33: 145-51, 1993.

GOETZ, A.; MUDER, R.R. *Pseudomonas aeruginosa* infections associated with use of povidine-iodine in patients receiving continuous ambulatory peritoneal dialysis. **Infect Control Hosp Epidemiol**, 10: p.447-50, 1989.

GOLDEN, M.P. Changing Epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* in HIV-Infected Patients. **Infect Med**, 17:109-16, 2000.

- GORMAN, S.P.; MCGOVERN, J.G.; WOOLFSON, A.D.; ADAIR, C.G.; JONES, D.S. The concomitant development of poly(vinyl chloride) related biofilm and antimicrobial resistance in relation to ventilator-associated pneumonia. **Biomaterials**, 22: 2241-7, 2001.
- GOVAN, J.R.W.; DERETIC, W. Microbial pathogenesis in cystic fibrosis: mucoid *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia*. **Microbiol Rev**, 60: 539-74, 1996.
- GRIFFITH, S. J.; NATHAN, C.; SELANDER, R.K.; CHAMBERLIN, W.; GORDON, S.; KABINS, S.; WEINSTEIN, R.A. The epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* in oncology patients in a general hospital. **J Infect Dis**, 160: 1030-6, 1990.
- GRIGIS, A.; GOGGIO, A.; PAREA, M.; GNECCHI, F.; MINETTI, B.; BARBUI, T. Nosocomial outbreak of severe *Pseudomonas aeruginosa* infections in haematological patients. **Eur J Epidemiol**, 9:390-5,1993.
- GRUNER, E.; KROPEC, A.; HUEBNER, J.; ALTWEGG, M.; DASCHNER, F. Ribotyping of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from surgical intensive care patients. **J Infect Dis**, 167: 1216-20, 1993.
- GUSTAFFSON, I.; SJÖLUND, M.; TORELL, E.; JOHANNENSSON, M.; ENGSTRAND, L.; CARL, O. et al. Bacteria with increased mutation frequency and antibiotic resistance are enriched in the commensal flora of patients with high antibiotic usage. **J Antimicrob Chemother**, 52: 645-50, 2003.
- HANSON, N.D. AmpC beta-lactamases: what do we need to know for the future? **J Antimicrob Chemother**, 52: 2-4, 2003.
- HARBARTH, S.; HARRIS, A.D.; CARMELI, Y.; SAMORE, M.H. Parallel analysis of individual and aggregated data on antibiotic exposure and resistance in Gram-Negative bacilli. **Clin Infect Dis**, 33: 1462-8, 2001.
- HARRIS, A.D.; KARCHMER, T.B.; CARMELI, Y.; SAMORE, M.H. Methodological principles of case-control studies that analyzed risk factors for antibiotic resistance: a systematic review. **Clin Infect Dis**, 32: 1055-61, 2001.

HARRIS, A.D.; SMITH, D.; JOHNSON, J.A.; BRADHAM, D.D.; ROGHANN, M-C. Risk factors for imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* among hospitalized patients. **Clin Infect Dis**, 34: 340-5, 2002.

HARRIS, A.D.; SAMORE, M.H.; LIPSITCH, M.; KAYE, K.S.; PERENCEVICH, E.; CARMELI, Y. Control-group selection importance in studies of antimicrobial resistance: examples applied to *Pseudomonas aeruginosa*, enterococci, and *Escherichia coli*. **Clin Infect Dis**, 34: 1558-63, 2002.

HENWOOD, C.J.; LIVERMORE, D.M.; JAMES, D.; WARNER, M. et al. Antimicrobial susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa*: result of a UK survey and evaluation of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy disc susceptibility test. **J Antimicrob Chemother**, 47: 789-99, 2001.

HOUANG, E.T.; BUCKLEY, R.; SMITH, M.; O'RIORDAN, S.M. Survival of *Pseudomonas aeruginosa* in plaster of Paris. **J Hosp Infect**, 2:231-5, 1981.

HUANG, H.; HANCOCK, R.E. Genetic definition of the substrate selectivity of outer membrane porin protein OprD of *Pseudomonas aeruginosa*. **J Bacteriol**, 175: 7793-800, 1993.

HUGHES, W.T.; ARMSTRONG, D.; BODEY, G.P.; BOW, E.J.; BROWN, A.E.; CALANDRA, T. et al. 2002 guidelines for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer. **Clin Infect Dis**, 34:730-51, 2002.

JACOBY, G. A. Extended-spectrum beta-lactamases and other enzymes providing resistance to Oxyimino-beta-lactams. **Infect Dis Clin North Am**, 11: 875-87, 1997.

JARVIS, W.R. Preventing the emergence of multidrug-resistant microorganisms through antimicrobial use control: the complexity of the problem. **Infect Control Hosp Epidemiol**, 17: 490-5, 1996.

JONES, R.N. Global epidemiology of antimicrobial resistance against community-acquired and nosocomial pathogens: a five-year summary from the SENTRY antimicrobial surveillance program (1997-2001). **Semin Resp Crit Care Med**, 24: 121-34, 2003.

- JUMBE, N.; LOUIE, A.; LEARY, R.; LIU, W.; DEZIEL, M.R.; TAM, V.H. et al. Application of a mathematical model to prevent in vivo amplification of antibiotic-resistant bacterial populations during therapy. **J Clin Invest**, 112: 275-85, 2003.
- KAMPF, G.; KRAMER, A. Epidemiological background of hand hygiene and evaluation of the most important agents for scrubs and rubs. **Clin Microbiol Rev**, 17: 863-93, 2004.
- KARLOWSKY, J.A.; DRAGHI, D.C.; JONES, M.E.; THORNSBERRY, C.; FRIEDLAND, I.R.; SAHM, D.F. Surveillance for antimicrobial susceptibility among clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* from hospitalized patients in the United States, 1998 to 2001. **Antimicrob Agents Chemother**, 47: 1681-8, 2003.
- KAYE, K.S.; FRAIMOW, H.S.; ABRUTYN, E. Pathogens resistant to antimicrobial agents. Epidemiology, molecular mechanisms and clinical management. **Infect Dis Clin North Am**, 14: 293-319, 2000.
- KISKA, D.L.; GILLIGAN, P.H. *Pseudomonas*. In: MURRAY, P. et al. **Manual of clinical microbiology**. Washington: ASM press, 1999. p.517-525.
- KNAUS, W.A.; WAGNER, D.P.; DRAPER, E.A.; ZIMMERMAN, J.E.; BERGNER, M.; BASTOS, P.G et al. The APACHE III prognostic system: risk prediction of hospital mortality for critically ill hospitalized patients. **Chest**, 100: 1619-36, 1991.
- KRALOVIC, S.M.; LINNEMANN JR., C. Nosocomial infections associated with physical therapy, including hydrotherapy. . In: MAYHALL, C.G. **Hospital epidemiology and infection control**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004. p. 1173-9.
- KROPEC, A.; HUEBNER, J.; RIFFEL, M.; BAYER, U.; BENZING, A.; GEIGER, K. et al. Exogenous or endogenous reservoirs of nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* infections in a surgical intensive care unit. **Intensive Care Med**, 19: 161-5, 1993.
- KUNIN, C.M.; TUPASI, T.; CRAIG, W.A. Use of antibiotics. A brief exposition of the problem and tentative solutions. **Ann Intern Med**, 79: 555-60, 1973.

LAMONT, R.J.; JENKINSON, H.F. Life bellow gum line: pathogenic mechanisms of *Porphyromonas gingivalis*. **Microbiol Mol Biol Rev**, 62: 1244-63, 1998.

LEE, S-C.; FUNG, C-P.; LIU, P.Y-F.; WANG, T-C.; SEE, L-C.; LEE, N. et al. Nosocomial infections with ceftazidime-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: risk factors and outcome. **Infect Control Hosp Epidemiol**, 20: 205-7, 1999.

LEIBOVICI, L.; BERGER, R.; GRUENEWALD, T.; YAHAV, J.; YEHEZKELLI, Y.; MILO, G. et al. Departmental consumption of antibiotic drugs and subsequent resistance: a quantitative link. **J Antimicrob Chemother**, 48: 535-40, 2001.

LEIBOVITZ, A.; DAN, M.; ZINGER, J.; CARMELI, Y.; HABOT, B.; SEGAL, R. *Pseudomonas aeruginosa* and the oropharyngeal ecosystem of tube-fed patients. **Emerg Infect Dis**, 9: 956-9, 2003.

LESSENS, O.; METHLIN, C.; HANSMANN, Y.; REMY, V.; MARTINOT, M.; BERGIN, C. et al. Role of comorbidity in mortality related to *Staphylococcus aureus* bacteremia: a prospective study using the Charlson weighted index of comorbidity. **Infect Control Hosp Epidemiol**, 24: 890-6, 2003.

LI, X.Z.; ZHANG, L.; POOLE, K. Interplay between the MexA-MexB-OprM multidrug efflux system and the outer membrane barrier in the multiple antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa*. **J Antimicrob Chemother**, 45: 433-6, 2000.

LINK, H.; BOHME, A.; CORNELLY, O.A.; HOFFKEN, K.; KELLNER, O.; KERN, W.V. et al. Antimicrobial therapy of unexplained fever in neutropenic patients - guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Oncology (DGHO), Study Group Interventional Therapy of Unexplained Fever, Arbeitsgemeinschaft Supportivmassnahmen in der Onkologie (ASO) of the Deutsche Krebsgesellschaft (DKG-German Cancer Society). **Ann Hematol**, 82 (supl.2):105-17.

LIPSITCH, M.; SAMORE, M.H. Antimicrobial use and resistance: a population perspective. **Emerg Infect Dis**, 4: 347-54, 2002.

LIVERMORE, D.M. Interplay of impermeability and chromosomal beta-lactamase activity in imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. **Antimicrob Agents Chemother**, 36: 2046-8, 1992.

LOEFFLER, J.M.; GARBINO, J.; LEW, D.; HARBARTH, S.; ROHNER P. Antibiotic consumption, bacterial resistance and their correlation in a Swiss university hospital and its adult intensive care units. **Scand J Infect Dis**, 35: 843-50, 2003.

MANIAN, F.A.; MEYER, L.; JENNE, J.; OWEN, A.; TAFF, T. Loss of antimicrobial susceptibility in aerobic Gram-negative bacilli repeatedly isolated from patients in intensive-care units. **Infect Control Hosp Epidemiol**, 17: 222-6, 1996.

MAYHALL, C.G. Nosocomial burn wound infections. In: MAYHALL, C.G. **Hospital epidemiology and infection control**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004. p. 385-99.

MCCUSKER, M.E.; PÉRISSE, A.R.S.; ROGHMANN, M-C. Severity-of-illness markers as predictors of nosocomial infection in adult intensive care unit patients. **Am J Infect Control**, 30: 139-44, 2002.

MCGEER, A. News in antimicrobial resistance: documenting the progress of pathogens. **Infect Control Hosp Epidemiol**, 25: 97-8, 2004.

MENDELSON, M.H.; GURTMAN, A.; SZABO, S.; NEIBART, E.; MEYERS, B.R.; POLICAR, M. et al. *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia in patients with AIDS. **Clin Infect Dis**, 18:886-95, 1994.

MOOLENAR, R.L.; CRUTCHER, J.M.; SAN JOAQUIN, V.H.; SEWELL, L.V.; HUTWAGNER, L.C.; CARSON, L.A. et al. A prolonged outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* in a neonatal intensive care unit: did staff fingernails play a role in transmission? **Infect Control Hosp Epidemiol**, 21: 80-5, 2000.

MORRISON, A.J.; WENZEL, R.P. Epidemiology of infectious due to *Pseudomonas aeruginosa*. **Rev Infect Dis**, 6 (supl. 1): 627-42, 1984.

- MUDER, R.R.; BRENNEN, C.; DRENNING, S.D.; STOUT, J.E.; WAGENER, M.M. Multiply antibiotic-resistant gram-negative bacilli in long-term care facility: a case control study of patient risk factors and prior antibiotic use. **Infect Control Hosp Epidemiol**, 18: 809-13, 1997.
- MUSCARELLA, L.F. Contribution of tap water and environmental surfaces to nosocomial transmission of antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. **Infect Control Hosp Epidemiol**, 25: 342-5, 2004.
- MUTO, C.A.; JERNIGAN, J.A.; OSTROWSKY, B.E.; RICHET, H.M.; JARVIS, W.R.; BOYCE, J.M. et al. SHEA guideline for preventing nosocomial transmission of multidrug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus*. **Infect Control Hosp Epidemiol**, 24: 362-86, 2003.
- MUYLDERMANS, G.; DE SMET, F.; PIERARD, D.; STEENSSENS, L.; STEVENS, D.; BOUGATEF, A. et al. Neonatal infections with *Pseudomonas aeruginosa* associated with a water-bath used to thaw fresh frozen plasma. **J Hosp Infect**, 39: 309-14, 1998.
- NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. **Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests**. Wayne: NCCLS, 1999.
- NOBLE, W. C.; SAVIN, J. A. Steroid cream contaminated with *Pseudomonas aeruginosa*. **Lancet**, 7443: 347-9, 1966.
- NORDMANN, P.; GUIBERT, M. Extended-spectrum beta-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*. **J Antimicrob Chemother**, 42: 128-32, 1998.
- O'GRADY, N.P.; ALEXANDER, M.; DELLINGER, E. P.; GERBERDING, J.L.; HEARD, S.O.; MAKI, D.G. et al. Guidelines for prevention of intravascular catheter-related infections. **Infect Control Hosp Epidemiol**, 23: 759-69, 2002.
- OJENIYI, B. Poliagglutinable *Pseudomonas aeruginosa* from cystic fibrosis patients: a survey. **APMIS**, 102 (supl. 46): 1-44, 1994.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **CID10 - Classificação estatística internacional de doenças e problemas relacionados à saúde**. Genebra: OMS, 1993.

ORSKOV, F.; ORSKOV, I. Summary of a workshop on the clone concept in the epidemiology, taxonomy, and evolution of the enterobacteriaceae and other bacteria. **J Infect Dis**, 148: 346-57, 1983.

ORTEGA, B.; GROENEVALD, B.J.; SCHULTSZ, C. Endemic multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in critically ill patients. **Infect Control Hosp Epidemiol**, 25: 825-31, 2004.

OLSON, B.; WEINSTEIN, R.A.; NATHAN, C.; CHAMBERLIN, W.; KABINS, S.A. Epidemiology of endemic *Pseudomonas aeruginosa*: why infection control efforts have failed. **J Infect Dis**, 150: 808-16, 1984.

PARAMYTHIOTHOU, E.; LUCET, J-C.; TIMSIT, J-F.; VANJAK, D.; PAUGAM-BURTZ, C.; TROUILLET, J-L. et al. Acquisition of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in patients in Intensive Care Units: role of antibiotics with antipseudomonal activity. **Clin Infect Dis**, 38: 670-7, 2004.

PÉREZ, F.J.; GIMENO, G.; NAVARRO, D.; GARCIA-DE-LOMAS, J. Meropenem permeation through the outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* can involve pathways other than the OprD porin channel. **Chemotherapy**, 42: 210-4, 1996.

PÉREZ, F.J.; GIMENO, G.; NAVARRO, D.; GARCIA-DE-LOMAS, J. Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* isolates to ceftazidime is unrelated to the expression of the outer membrane protein OprC. **Chemotherapy**, 43: 27-30, 1997.

POLLACK, M. *Pseudomonas aeruginosa*. In: MANDELL, G.L.; BENNET, J.E.; DOLIN, R. **Principles and practice of infectious diseases**. Philadelphia: Churchill-Livingstone, 2000. p. 2310-35.

QUINN, J.P.; DUDEK, E.J.; DIVICENZO, C.A.; LUCK, D.A.; LERNER, S.A. Emergence of resistance to Imipenem during therapy for *Pseudomonas aeruginosa* infections. **J Infect Dis**, 154: 289-94, 1986.

- QUINN, J.P.; STUDEMEISTER, A.E.; DIVICENZO, C.A.; LERNAR, S.A. Resistance to imipenem in *Pseudomonas aeruginosa*: clinical experience and biochemical mechanisms. **Rev Infect Dis**, 10: 892-8, 1988.
- QUINN, J.P.; DARZINS, A.; MIYASHIRO, D.; RIPP, S.; MILLER, R.V. Imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa* PAO: mapping of the OprD2 gene. **Antimicrob Agents Chemother**, 35: 753-5, 1991.
- RAJASHEKARAIAH, K.R.; RICE, T.W.; KALLICK, C.A. Recovery of *Pseudomonas aeruginosa* from syringes of drug addicts with endocarditis. **J infect Dis**, 144: 482, 1981.
- RAYMOND, D.P.; PELLETIER, S.J.; CRABTREE, T.D.; EVANS, H.L.; PRUETT, T.L.; SAWYER, R.G. Impact of antibiotic-resistant Gram-negative bacilli infections on outcome in hospitalized patients. **Crit Care Med**, 31: 1033-41, 2003.
- RELLO, J.; QUINTANA, E.; AUSINA, V.; CASTELLA, J.; LUQUIN, M.; NET, A. et al. Incidence, etiology, and outcome of nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients. **Chest**, 100: 439-44, 1991.
- RELLO, J.; RICART, M.; AUSINA, V.; Puzo, C.; QUINTANA, E.; NET, A. et al. Risk factors for infection by *Pseudomonas aeruginosa* in patients with ventilator-associated pneumonia. **Intensive Care Med**, 20:193-8, 1994.
- RELLO, J.; SÁ-BORGES, M.; CORREA, H.; LEAL, S.R.; BARAIBAR, J. Variations in etiology of ventilator-associated pneumonia across four treatment sites. **Am J Crit Care Respir Med**, 160: 608-13, 1999.
- RICE, L.B. Mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. In: MAYHALL, C.G. **Hospital epidemiology and infection control**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004. p. 1593-611.
- ROHMANN, S.; ERHEL, R.; DARIUS, H.; MAKOWSKI, T.; MEYER, J. Effect of antibiotic treatment on vegetation size and complication rate in infective endocarditis. **Clin Cardiol**, 20: 132-40.

- ROSENTHAL, S.L. Sources of *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species found found in human culture material. **Am J Clin Pathol**, 62: 807-11, 1974.
- ROSSOLINI, G.M.; RICCIO, M.L.; CORNAGLIA, G.; PAGANI, L.; LAGATOLLA, C.; SELAN, L. et al. Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* with acquired blavim metallo- β -lactamase determinants, Italy. **Emerg Infect Dis**, 6: 3, 2000.
- SADER, H.S.; GALES, A.C.; PFALLER, M.A.; MENDES, R.E.; ZOCOLLI, 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. **Braz J Infect Dis**, 5: 200-14, 2001.
- SADER, H.S.; JONES, R.N.; GALES, A.C.; SILVA, J.B.; PIGNATARI, A.C. et al. SENTRY Antimicrobial Surveillance Program report: Latin American and Brazilian results for 1997 through 2001. **Braz J Infect Dis**, 8: 25-79, 2004.
- SAHM, D.F.; STORCH, G. AmpC beta-lactamases. **Pediatr Infect Dis J**, 17: 421-2, 1998.
- SAIMAN, L. Treatment of infections in patients with cystic fibrosis. **Infect Med**, 10:37-43, 1993.
- SCHIAPA, D.A.; HAYDEN, M.K.; MATUSHEK, M.G.; HASHEMI, N.; SULLIVAN, J.; SMITH, K.Y. et al. Ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* bloodstream infection: a case-control and molecular epidemiologic investigation. **J Infect Dis**, 174: 529-36, 1996.
- SCHIMPFF, S.C. Gram-negative bacteremia. **Support Care Cancer**, 1:5-18, 1993.
- 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**, 136: 834-44, 2002.
- SENDA, K.; ARAKAWA, Y.; NAKASHIMA, K.; ITO, H.; ICHIYAMA, S.; SHIMOKATA, K. et al. Multifocal outbreaks of metallo-beta-lactamase-producing

Pseudomonas aeruginosa resistant to broad-spectrum beta-lactams, including carbapenems. **Antimicrob Agents Chemother**, 40: 349-53, 1996.

SHLAES, D.M.; GERDING, D.N.; JOHN JR., J.; CRAIG, W.A.; BORNSTEIN, D.L.; DUNCAN, R.A. et al. Society for Healthcare Epidemiology of American and Infectious Diseases Society of America Joint Committee on The Prevention of Antimicrobial Resistance: guidelines for the prevention of antimicrobial resistance in hospitals. **Clin Infect Dis**, 25: 584-99, 1997.

SHUSTER, M.G.; NORRIS, A.H. Community-acquired *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia in patients with HIV infection. **AIDS**, 8: 1437-31, 1994.

SILVA, C.V.; MAGALHAES, V.D.; PEREIRA, C.R.; KAWAGOE, J.Y.; IKURA, C.; GANC, A.J. Pseudo-outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* and *Serratia marcescens* related to bronchoscopes. **Infect Control Hosp Epidemiol**, 24:195-7, 2003.

SORVILLO, F.; BEALL, G.; TURNER, P.A.; BEER, V.L.; KOVACS, A.A.; KERNDT, P.R. Incidence and determinants of *Pseudomonas aeruginosa* infection among persons with HIV: association with hospital exposure. **Am J Infect Control**, 29: 79-84, 2001.

SRINIVASAN, A.; WOLFENDEN, L.L.; SONG, X.; MACKIE, K.; HARTSELL, T.L.; JONES, H.D. et al. An outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* infections associated with flexible bronchoscopes. **N Engl J Med**, 348: 221-7, 2003.

TABLAN, O.C.; ANDERSON, L.J.; BESSER, M.D.; HAJJEH, R. Guidelines for preventing health-care-associated pneumonia, 2003. **MMWR**, 53: 1-36, 2004.

TENOVER, F.; ARBEIT, R. D.; GOERING, R. V. How to select and interpret molecular strain typing methods for epidemiological studies of bacterial infections: a review for healthcare epidemiologists. **Infect Control Hosp Epidemiol**, 18: 426-39, 1997.

THE BROOKLYN ANTIBIOTIC TASK FORCE. The cost of antibiotic resistance: effect of resistance among *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, and *Pseudomonas aeruginosa* on length of hospital stay. **Infect Control Hosp Epidemiol**, 23: 106-8, 2003.

TOLEMAN, M.A.; SIMM, A.M.; MURPHY, T.A.; GALES, A.C.; BIEDENBACH, D.J.; JONES, R.N. et al. Molecular characterization of SPM-1, a novel metallo-beta-lactamase isolated in Latin America: report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme. **J Antimicrob Chemother**, 50:673-9, 2002.

TORNIEPORTH, N.G.; ROBERTS, R.B.; JOHN, J.; HAFNER, A.; RILERY, L.W. Risk factors associated with vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* infection or colonization in 145 case patients and control patients. **Clin Infect Dis**, 23: 767-72, 1996.

TRAUTMANN, M.; MICHALSKY, T. WIEDECK, H.; RADOSAVLJEVIC, V.; RUHNKE, M. Tap water colonization with *Pseudomonas aeruginosa* in a surgical intensive care unit (ICU) and relation to *Pseudomonas* infection of ICU patients. **Infect Control Hosp Epidemiol**, 22: 49-52, 2001.

TROILLET, N.; SAMORE, M.H.; CARMELI, Y. Imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: risk factors and antibiotic susceptibility patterns. **Clin Infect Dis**, 25: 1094-8, 1997.

VAHABOGLU, H.; OZTURK, R.; AKBAL, H.; SARIBAS, S.; TANSEL, O.; COSKUNKAN, F. Practical approach for detection and identification of OXA-10-derived ceftazidime-hydrolyzing extended-spectrum beta-lactamases. **J Clin Microbiol**, 36: 827-9, 1998.

VAN ASPEREN, I.A.; DE ROVER, C.M.; SCHIJVEN, J.F.; OETOMO, S.B.; SCHELLEKENS, J.F.; VAN LEEUWEN, N.J. et al. Risk of otitis externa after swimming in recreational fresh water lakes containing *Pseudomonas aeruginosa*. **BMJ**, 311: 1407-10, 1995.

VAN BALEN, F.A.M.; SMIT, W.M.; ZUITHOFF, N.P.A.; VERHEIJ, T.J.M. Clinical efficacy of three common treatments in acute otitis externa in primary care: randomised controlled trial. **BMJ**, 327: 1201-6, 2003.

VAN ELDERE, J.V. Multicentre surveillance of *Pseudomonas aeruginosa* susceptibility patterns in nosocomial infections. **J Antimicrob Chemother**, 51: 347-52, 2003.

VESS, R.W.; ANDERSON, R.L.; CARR, J.H.; BOND, W.W.; FAVERO, M.S. The colonization of solid PVC surfaces and the acquisition of resistance to germicides by water micro-organisms. **J Appl Bacteriol**, 74: 215-21, 1993.

WASHIO, M.; MIZOUE, T.; KAJIOKA, T.; YOMISITU, T.; OKAYAMA, M.; HAMADA, T. Risk factors for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection in a Japanese geriatric hospital. **Public Health**, 11: 187-90, 1997.

WACHOLDER, S.; SILVERMAN, D.T.; MCLAUGHLIN, J.K.; MANDEL, J.S. Selection of controls in case-control studies. II. Types of controls. **Am J Epidemiol**, 135: 1029-41, 1992.

WEINSTEIN R.A.; HAYDEN, M.K. Multiply drug-resistant pathogens: epidemiology and control. In: BENNET, J.V.; BRACHMAN, P.S. **Hospital Infections**. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1998, p.215-36.

WEIST, K.; POLLEGE, K.; SCHULZ, I.; RÜDEN, H.; GASTMEIER, P. How many nosocomial infections are associated with cross-transmission? A prospective cohort study in a surgical intensive care unit. **Infect Control Hosp Epidemiol**, 23: 127-32, 2002.

WIDMER, A.F.; WENZEL, R.P.; TRILLA, A.; BALE, M.J.; JONES, R.N.; DOEBBELING, B.N. Outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* infections in a surgical intensive care unit: probable transmission via hands of a health care worker. **Clin Infect Dis**, 16: 372-6, 1993.

YARDY, G.W.; COX, R.A. An outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* infection associated with contaminated urodynamic equipment. **J Hosp Infect**, 47:60-3, 2001.

ZAVASCKI, A.P.; CRUZ, R.P.; GOLDANI, L.Z. High rate of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* at a tertiary-care teaching hospital in Southern Brazil. **Infect Control Hosp Epidemiol**, 25: 805-7, 2004.

ZIMAKOFF, J.; HOIBY, N.; ROSENDAL, K.; GILBERT, J.P. Epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* infection and the role of contamination of the environment in a cystic fibrosis clinic. **J Hosp Infect**, 4: 31-40, 1983.

APÊNDICE

Artigo enviado para publicação

Revista; Infection Control and Hospital Epidemiology

Fator de impacto: 1,89

Risk factors for imipenem and ceftazidime-resistant *Pseudomonas aeruginosa* among patients admitted to a teaching hospital in Brazil.

Carlos Magno C.B. Fortaleza^{1,2}; Maristela P. Freire¹; Djalma de C. Moreira Filho¹; Marcelo de Carvalho Ramos¹.

¹ Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Sao Paulo State, Brazil.

² Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, Botucatu, Sao Paulo State, Brazil.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Imipenem and ceftazidime-resistance in *Pseudomonas aeruginosa* is increasing worldwide. Our study aimed to investigate risk factors for nosocomial recovery of imipenem-resistant (IRPA) and ceftazidime-resistant *P. aeruginosa* (CRPA).

DESIGN: Risk factors for IRPA and CRPA were assessed in two separate case-control studies. Controls were matched to cases (ratio=2:1) on the basis of admission to the same ward at the same time as the case. Variables assessed included: demographic data, comorbid conditions and classes of antimicrobials used.

SETTING: The study was conducted in a 400-bed general teaching Hospital in Campinas, Brazil, harboring three intensive-care units. Cases and controls were selected retrospectively over the 1999-2002 period.

RESULTS: IRPA and CRPA isolates were recovered from 108 and 55 patients, respectively. Statistically significant risk factors for IRPA were: previous admission to another hospital (OR 4.21, 95%CI:1.40-12.66, $P=.01$), hemodialysis (OR 7.79, 95%CI:1.59-38.16, $P=.01$), imipenem (OR 18.51, 95%CI: 6.30-54.43, $P<.0001$), amikacin (OR 3.22, 95%CI: 1.40-7.41, $P=.005$) and vancomycin use (OR 2.48, 95% CI:1.08-5.64, $P=.03$). For CRPA, previous admission to other hospital (OR 18.69, 95%CI:2.00-174.28, $P=.01$) and amikacin use (OR 3.69, 95%CI:1.32-1.35, $P=.01$) were significant risk factors.

CONCLUSION: Our study suggests a definite role for several classes of antimicrobials as risk factors for IRPA but not for CRPA. Limiting the use of only imipenem and ceftazidime may not be a wise strategy to contain the spread of resistant *P. aeruginosa* strains.

INTRODUCTION

Pseudomonas aeruginosa is a major threat for hospitalized patients. Data from the SENTRY program, showed that *P. aeruginosa* ranks first among pathogens recovered from patients with lower respiratory tract infections in selected Brazilian hospitals.¹ Also, data from the this database show alarming resistance rates among *P. aeruginosa* isolates for imipenem (37.8% for other Latin American countries; 49.0% for Brazil) and ceftazidime (43.7% for other Latin America countries; 49.8% for Brazil).² The National Nosocomial Infection Surveillance (NNIS) system reported lower Intensive Care Unit (ICU) based resistance rates among US hospitals (19.4% for imipenem; 13.8% for ceftazidime), but it also points to an increasing trend from the 2002 prevalence data as compared to the 1997-2001 period (22% and 30% respectively).³

The role of antimicrobial usage as a risk factor for acquisition of resistant bacterial strains is of major interest. As emphasized by others, the conduction of studies using the same methodological approaches in several settings is particularly important to corroborate their findings.⁴ Also, in our perspective the geographic distribution of strains possibly holding

different resistance mechanisms, as well as the wide variation of prescription patterns may account for changes in the epidemiological behavior of these organisms.

The aim of this study was to assess risk factors for the recovery of imipenem-resistant *P. aeruginosa* (IRPA) and of ceftazidime-resistant *P. aeruginosa* (CRPA) strains from patients admitted to a Brazilian university hospital. The study was designed to meet current methodological recommendations.⁵

METHODS

Two separate case-control studies were performed: one for Ceftazidime-resistant and another for Imipenem-resistant *P. aeruginosa*.

Setting

The study was conducted at the Hospital das Clinicas da Universidade Estadual de Campinas, Sao Paulo, Brazil, a 400-bed, general, teaching facility. It serves an area with an estimated population of 5 million people as a reference hospital.

Case and control definition

Cases were selected from the microbiology laboratory database. Antimicrobial susceptibility tests were routinely performed according to NCCLS standards for disk diffusion. We searched for results of clinical cultures of samples obtained from hospitalized patients from 1 January 1999 through 31 December 2002. Patients in whom IRPA or CRPA was isolated were selected. Exclusion criteria were: cultures from outpatients, samples obtained within 48h of admission and respiratory samples from cystic fibrosis patients. Surveillance cultures were not routinely performed in the hospital during the period of the analysis. Controls were matched to cases (ratio 2:1) on the basis of admissions to the same ward at the same time as the case. Patients who stayed less than two days in the hospital were excluded from the investigation.

Investigation of risk factors

Patient data were recovered from medical files and laboratory database. Demographic data were analyzed. Definition of underlying conditions followed categories from the International Classification of Diseases (Tenth Revision). The burden of comorbid conditions was assessed using the Charlson score.⁶ Hospital admissions during the past year and transfer from other hospitals were also recorded. All other data were analyzed from admission until the isolation of *P. aeruginosa* (for cases) or until discharge (for controls). Those data included: present or previous ICU stay; surgery or other procedure; use of steroids or other immune-suppressing drugs. For cases, time at risk was defined as the number of days from admission to the isolation of *P. aeruginosa*. For controls time at risk was equal to total length of stay. Antimicrobial use was considered when the drug was administered for at least 48h during time at risk.

Statistical analysis

Data were analyzed using Epiinfo version 3.2 for Windows (Centers for Disease Control and Prevention) and SAS software, version 8.02 (SAS institute). Each variable was submitted to bivariate analysis. Fischer's exact test (for binomial variables) and Student's T test (for continuous variables) were used for calculation of *P* values.

For multivariable analysis, we used a forward selection process as described by Harris et al.⁴ Variables for which *P* value was $<.1$ in bivariate analysis were included in a logistic regression model. A *P* value of $<.05$ was considered significant. New multivariable models were done, testing risk factors for collinearity and confounding. Confounders were included in the model whenever they changed the coefficient of any statistically significant variable in the logistic regression model by $>10\%$.

RESULTS

108 patients with IRPA and 55 patients with CRPA met the inclusion criteria for cases. Combined imipenem and ceftazidime resistance was found in 31 cases, which were assigned to both case-control studies.

IRPA was recovered from respiratory secretions (32.4%), wound (21.3%), blood samples (19.4%), urine (16.7%), central venous catheter (6.5%) and other specimens (3.7%). CRPA was recovered from urine (27.3%), respiratory secretions (25.5%), wound (21.8%), blood samples (18.2%), central venous catheter (5.5%) and tissue fragment obtained from surgical procedures (1.8%). About 28.5% of IRPA and 23.6% of CRPA originated from patients admitted to one of the ICUs at the time the pathogen was isolated. Other case patients were in medical, surgical and pediatric wards, although some had been in an ICU for some time during hospitalization.

Results of the bivariate analysis of risk factors for IRPA and CRPA are listed in tables 1 and 2. Results of multivariable analysis for IRPA and CRPA are presented in table 3.

Multivariable analysis showed that patients with IRPA were likely to be transferred from another hospital, submitted to hemodialysis, or had imipenem, amikacin or vancomycin administered. Only transfer from another hospital and use of amikacin were significant risk factors for CRPA. The use of ceftazidime was not associated with CRPA acquisition.

DISCUSSION

Antimicrobial resistance in *P. aeruginosa* is a challenge for clinicians and healthcare epidemiologists. The acquisition or emergence of IRPA or CRPA strains may be influenced by several factors, including individual susceptibility and the indirect effect of cross-transmission.⁷ The role of antimicrobials as risk factors for resistance is not fully elucidated.

A recent review lists major methodological problems in case-control studies that assess risk factors for antimicrobial resistance: sub-optimal control selection and no adjustment for comorbidities or for time at risk.⁵ That means, the effect of antimicrobials could be overestimated, or confounded by individual susceptibility or length of stay in the hospital.

Our study was designed to avoid these problems. Selection of controls that shared the same unit as the cases had several advantages. These controls represented individuals exposed to the same risks as the cases, and we expected to reduce confounding effects of cross-

transmission. Furthermore, comorbidities proved to be quite similar among individuals sharing the same ward.

Both IRPA and CRPA patients were more likely to have been transferred from another hospital. This could represent an indirect measure of disease severity or greater time at risk. However, neither time at risk nor the comorbidity burden measured by the Charlson score represented significant risk factors for IRPA or CRPA in the multivariable analysis. Also, previous admissions to our hospital were not found to predispose individuals for IRPA or CRPA.

No specific underlying disease was associated with increased risk for IRPA or CRPA. The greater acquisition of IRPA in patients with renal disease was in fact related to hemodialysis procedure. Of note, surgery was not statistically significant for both IRPA or CRPA multivariable analysis. This may be due to the fact that cases and controls were equally distributed among medical and surgical wards.

Imipenem, amikacin and vancomycin were significant risk factors for IRPA. There is a considerable amount of literature data on this issue. Muder et al found that total antimicrobial use, rather than any specific agent, increased risk.⁸ Studies by Cailleaux et al⁹ and Troillet et al¹⁰ found a clear relationship between imipenem use and the acquisition of IRPA. In these earlier publications, controls were selected among patients in whom imipenem-susceptible strains were recovered. Harris et al emphasize that such approach can overestimate Odds Ratio and even falsely identify antimicrobials as risk factors for resistance.¹¹

A recent publication with careful methodological approach also found relation between imipenem use and resistance.⁴ A case-control study focusing on multidrug-resistant *P. aeruginosa* (resistant to imipenem, ceftazidime, piperacillin and ciprofloxacin) had similar results.¹² Using different study designs, Quinn et al¹³ and Carmeli et al¹⁴ documented the emergence of resistance to imipenem during therapy for *P. aeruginosa* infections.

Other authors found additional antimicrobials as risk factors for IRPA or multidrug-resistant *P. aeruginosa*: aminoglycosides, vancomycin⁴ and fluoroquinolones.^{15,16} These

agents may have an impact over the normal flora enhancing vulnerability to acquisition of new strains or increasing the density of resistant organisms already harbored by the patient.⁷

Amikacin, but not ceftazidime, was related to CRPA isolation in our study. Again, authors that identified ceftazidime as a risk factor for CRPA enrolled patients with susceptible strains as controls.^{17,18} In the study by Carmeli et al ceftazidime use was associated with a lower risk for emergence of resistance when compared to ciprofloxacin, piperacillin and imipenem.¹⁴

Certain characteristics of our hospital might have exerted some influence over our results. First, IRPA greatly outnumbers CRPA strains in cultures from clinical samples. Besides, the study period coincides with a decrease of ceftazidime use as part of a strategy to contain the spread of extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteria. Drugs such ticarcilin-clavulanate and piperacillin-tazobactam were rarely used, and only a few patients were treated with meropenem. Since active surveillance cultures were not routinely done, we cannot assure that controls enrolled in our study did not harbor IRPA or CRPA. This could lead to underestimation of risk factors impact.

In conclusion, our study suggests a greater role for antimicrobials as risk factors for IRPA than for CRPA, and that control of imipenem and ceftazidime use may not be the only strategy to be adopted to contain the spread of resistant *P. aeruginosa*. Finally, further case-control study designs focusing on specific resistance phenotypes may enhance our knowledge on the hospital epidemiology of such organism.

REFERENCES

1. Sader HS, Gales AC, Pfaller MA, Mendes RE, Zocolli C, Barth A, Jones RN. Pathogen frequency and resistance patterns in Brazilian hospitals: summary of results from three years of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Braz J Infect Dis* 2001;5:200-214.
2. Sader HS, Jones RN, Gales AC et al. SENTRY Antimicrobial Surveillance Program report: Latin American and Brazilian results for 1997 through 2001. *Braz J Infect Dis*, 2004;8:25-79.
3. National Nosocomial Infection Surveillance (NNIS) System report, data summary from January 1992 through June 2003, issued August 2003. *Am J Infect Control* 2003;31:481-498.
4. Harris AD, Smith D, Johnson JA, Bradham DD, Roghmann MC. Risk factors for imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* among hospitalized patients. *Clin Infect Dis* 2002;34:340-345.
5. Harris AD, Karchmer TB, Carmeli Y, Samore MH. Methodological principles of case-control studies that analyzed risk factors for antibiotic resistance: a systematic review. *Clin Infect Dis*, 2001;32:1055-1061.
6. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis* 1987;40:373-383.
7. Lipsitch M, Samore MH. Antimicrobial use and antimicrobial resistance: a population perspective. *Emerg Infect Dis* 2002;8:347-354.
8. Muder, RR, Brennen C, Drenning SD, Stout JE, Wagener MM. Multiply antibiotic-resistant gram-negative bacilli in long-term care facility: a case control study of patient risk factors and prior antibiotic use. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1997;18:809-813.

9. Cailleaux V, Mulin B, Capellier G, Juliot MC, Thouverez M, Talon D. Epidemiological study of variations in beta-lactam antibiotic susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* in two intensive-care units. *J Hosp Infect* 1997;37:217-224.
10. Troillet N, Samore MH, Carmeli Y. Imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: risk factors and antibiotic susceptibility patterns. *Clin Infect Dis* 1997;25:1094-1098.
11. Harris AD, Samore MH, Lipsitch M, Kaye KS, Perencevich E, Carmeli Y. Control-group selection importance in studies of antimicrobial resistance: examples applied to *Pseudomonas aeruginosa*, enterococci and *Escherichia coli*. *Clin Infect Dis* 2002;24:1558-1563.
12. Cao B, Wang H, Sun H, Zhu Y, Chen M. Risk factors and clinical outcomes of nosocomial multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections. *J Hosp Infect* 2004;57:112-118.
13. Quinn JP, Dudek EJ, DiVincenzo CA, Lucks DA, Lerner SA. Emergence of resistance to imipenem during therapy for *Pseudomonas aeruginosa* infection. *J Infect Dis* 1986;154:289-294.
14. Carmeli Y, Troillet N, Eliopoulos GM, Samore MH. Emergence of antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: comparison of risks associated with different antipseudomonal agents. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:1379-1382.
15. Defez C, Fabbro-Peray P, Bouziges N, Gouby A, Mahamat A, Daures JP, Sotto A. Risk factors for multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* nosocomial infection. *J Hosp Infect* 2004;57:209-216.
16. Paramythiotou E, Lucet JC, Timsit JF. et al. Acquisition of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in patients in intensive care units: role of antibiotics with antipseudomonal activity. *Clin Infect Dis*, 2004;38:670-667.
17. Lee SC, Fung CP, Liu PYK et al. Nosocomial infections with ceftazidime-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: risk factors and outcome. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999;20:205-207.

18. El Amari, EB Chamot E, Auckenthaler R, Pechere JC, Van Delden C, Influence of previous exposure to antibiotic on the susceptibility patterns of *Pseudomonas aeruginosa* bacteremic isolates. *Clin Infect Dis* 2001;33:1859-1864.

Table 1. Results of bivariate analysis of risk factors for imipenem-resistant *P. aeruginosa*. Results are in number(%) unless otherwise specified.

Risk factor	Case Patients n=108	Control Patients n=216	Odds Ratio (95% CI)	P value
Demographic data				
Age in years (mean)	43.5	42.6		.36
Male sex	74 (68.5)	130 (6.2)	1.44 (0.88-2.35)	.08
Diagnosis and Comorbidities				
Trauma-related disease	12 (11.1)	17 (7.9)	1.46 (0.67-3.18)	.21
Cardiac disease	16 (14.8)	55 (25.5)	0.50 (0.27-.93)	.01
Pulmonary disease	18 (16.7)	35 (16.2)	1.03 (0.54-1.91)	.51
Diabetes mellitus	11 (1.2)	24 (11.1)	0.90 (0.41-1.91)	.48
Renal disease*	25 (23.1)	21 (9.7)	2.79 (1.48-5.27)	.001
Liver disease	13 (12.0)	24 (11.1)	1.09 (0.53-2.24)	.46
Central nervous system disease	25 (23.1)	42 (19.4)	1.24 (0.71-2.18)	.26
Malignancy (solid)	12 (11.1)	27 (12.5)	0.87 (0.42-1.80)	.43
Lymphoma or leukemia	9 (8.3)	14 (6.5)	1.31 (0.52-3.13)	.34
AIDS	6 (5.6)	9 (4.2)	1.34 (0.46-3.88)	.38
Charlson comorbidity score (mean)*	2.45	1.86		.01
Data related to hospitalization				
Time at risk in days (mean)*	35.2	16.5		<.0001
Present or previous stay in ICU	50 (46.3)	76 (35.2)	1.58 (0.99-2.54)	.07
Hospital admission(s) during past year	27 (25.0)	38 (17.6)	1.56 (0.89-2.73)	.07
Transfer from another hospital*	20 (18.5)	8 (3.7)	5.90 (2.50-13.92)	<.0001
Surgery*	58 (53.7)	91 (42.1)	1.59 (1.00-2.53)	.03
Hemodialysis*	12 (11.1)	4 (1.9)	6.62 (2.08-21.07)	.0005
Steroids*	43 (39.8)	55 (25.5)	1.93 (1.18-3.16)	.006
Other immune-suppressing drugs	16 (14.8)	22 (1.2)	1.56 (0.76-3.05)	.14
Neutropenia	6 (5.6)	9 (4.2)	1.34 (0.46-3.88)	.38
Antimicrobials				
Imipenem*	52 (48.1)	7 (3.2)	27.72 (11.94-64.37)	<.0001
Meropenem*	12 (11.1)	2 (.9)	13.37 (2.93-6.92)	<.0001
Cefipime*	36 (33.3)	28 (13.0)	3.35 (1.91-5.89)	<.0001
Ceftazidime*	22 (2.4)	17 (7.9)	2.99 (1.51-5.92)	.001
Ceftriaxone*	26 (24.1)	17 (7.9)	3.65 (1.88-7.22)	<.0001
Cefazolin	28 (25.9)	52 (24.1)	1.10 (0.64-1.87)	.40
Ampicillin-sulbactam*	27 (25.0)	23 (1.6)	2.79 (1.51-5.16)	.0008
Ampicillin	7 (6.5)	9 (4.2)	1.59 (0.57-4.40)	.25
Oxacillin	11 (1.2)	21 (9.7)	1.05 (0.48-2.27)	.51
Amikacin*	33 (3.6)	23 (1.6)	3.69 (2.03-6.69)	<.0001
Gentamycin	5 (4.6)	7 (3.2)	1.44 (0.44-4.67)	.36
Ciprofloxacin*	26 (24.1)	24 (11.1)	2.53 (1.37-4.67)	.002
Levofloxacin	4 (3.7)	9 (4.2)	0.88 (0.26-2.94)	.55
Vancomycin*	49 (45.4)	22 (1.2)	7.32 (4.09-13.09)	<.0001
Metronidazole*	39 (36.1)	31 (14.4)	3.37 (1.95-5.82)	<.0001
Clindamycin	3 (2.8)	4 (1.9)	1.51 (0.33-6.89)	.42

(*) Statistically significant variables.

Table 2. Results of bivariate analysis of risk factors for ceftazidime-resistant *P. aeruginosa*. Results are in number(%) unless otherwise specified.

Risk factor	Case Patients n=55	Control Patients n=110	Odds Ratio (95% CI)	P value
Demographic data				
Age in years (mean)	37.9	4.0		.56
Male sex	40 (72.7)	69 (62.7)	1.58 (0.78-3.21)	.13
Diagnosis and Comorbidities				
Trauma-related disease	8 (14.5)	7 (6.4)	2.50 (0.85-7.31)	.07
Cardiac disease	10 (18.2)	30 (27.3)	0.59 (0.26-1.32)	.13
Pulmonary disease	14 (25.5)	18 (16.4)	1.74 (0.79-3.84)	.11
Diabetes mellitus	1 (1.8)	6 (5.5)	0.32 (0.03-2.73)	.25
Renal disease	12 (21.8)	14 (12.7)	1.91 (0.81-4.48)	.10
Liver disease	4 (7.3)	10 (9.1)	0.78 (0.23-2.62)	.47
Central nervous system disease	9 (16.4)	27 (24.5)	0.60 (0.26-1.38)	.15
Malignancy (solid)	5 (9.1)	13 (11.8)	0.74 (0.25-2.21)	.40
Lymphoma or leukemia	3 (5.5)	5 (4.5)	1.21 (0.27-5.26)	.53
AIDS	1 (1.8)	2 (1.8)	1.00 (0.08-11.27)	.70
Charlson comorbidity score (mean)	1.81	1.67		.49
Data related to hospitalization				
Time at risk in days (mean)*	34.2	17.4		.0005
Present or previous stay in ICU	21 (38.2)	33 (3.0)	1.44 (0.73-2.84)	.18
Hospital admission(s) during past year	9 (16.4)	18 (16.4)	1.00 (0.41-2.39)	.58
Transfer from another hospital*	8 (14.2)	2 (1.8)	9.19 (1.88-44.93)	.002
Surgery*	34 (61.8)	49 (44.5)	2.01 (1.04-3.90)	.02
Hemodialysis	5 (9.1)	4 (3.6)	2.65 (0.68-1.29)	.13
Steroids	21 (38.2)	30 (27.3)	1.64 (0.82-3.27)	.10
Other immune-suppressing drugs	5 (9.1)	14 (12.7)	0.68 (0.23-2.01)	.34
Neutropenia	3 (5.5)	4 (3.6)	1.52 (0.33-7.08)	.42
Antimicrobials				
Imipenem*	14 (25.5)	9 (8.2)	3.83 (1.53-9.54)	.003
Meropenem*	5 (9.1)	1 (0.9)	1.9 (1.24-95.75)	.01
Cefipime*	17 (3.9)	12 (1.9)	3.65 (1.59-8.36)	.001
Ceftazidime*	15 (27.3)	10 (9.1)	3.75 (1.55-9.04)	.002
Ceftriaxone*	13 (23.6)	8 (7.3)	3.90 (1.50-1.11)	.004
Cefazolin	14 (25.5)	28 (25.5)	1.00 (0.47-2.10)	.57
Ampicillin-sulbactam*	12 (21.8)	8 (7.3)	3.55 (1.35-9.32)	.008
Ampicillin	2 (3.6)	7 (6.4)	0.55 (0.11-2.76)	.37
Oxacillin	9 (16.4)	12 (1.9)	1.59 (0.62-4.06)	.22
Amikacin*	22 (4.0)	16 (14.5)	3.91 (1.83-8.34)	.0003
Gentamycin	2 (3.6)	8 (7.3)	0.48 (0.09-2.34)	.29
Ciprofloxacin	13 (23.6)	14 (12.7)	2.12 (0.91-4.90)	.06
Levofloxacin	4 (7.3)	3 (2.7)	2.79 (0.60-12.96)	.16
Vancomycin*	19 (34.5)	8 (7.3)	6.72 (2.71-16.70)	<.0001
Metronidazole*	23 (41.8)	17 (15.5)	3.93 (1.86-8.27)	.0002
Clindamycin	5 (9.1)	3 (2.7)	3.56 (0.81-15.51)	.08

(*) Statistically significant variables.

Table 3. Results of multivariable analysis of risk factors for imipenem (IRPA) and ceftazidime-resistant *P. aeruginosa* (CRPA).

Risk factor	Estimate*	S.E.†	O.R. (95% CI)	P value
IRPA				
Transfer from another hospital	0.71	0.28	4.21 (1.40-12.66)	.01
Hemodialysis	1.02	0.40	7.79 (1.59-38.16)	.01
Imipenem	1.45	0.27	18.51 (6.30-54.43)	<.0001
Amikacin	0.58	0.21	3.22 (1.40-7.41)	.005
Vancomycin	0.45	0.21	2.48 (1.08-5.64)	.03
CRPA				
Transfer from another hospital	1.46	0.56	18.69 (2.00-174.28)	.01
Amikacin	0.65	0.26	3.69 (1.32-10.35)	.01

*Intercept, -2.12 (IRPA), -2.84 (CRPA)