

Titulo:

Bactérias multi-resistentes num hospital pediátrico: experiência de 5 anos

Autores:

Patrícia Mação¹, João Casalta-Lopes², Henrique Oliveira³, Guiomar Oliveira⁴, Fernanda Rodrigues¹

¹Unidade de Infeciologia, Hospital Pediátrico de Coimbra

²Serviço de Biofísica, IBILI, Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

³Laboratório de Microbiologia, Serviço de Patologia Clínica, Centro Hospitalar de Coimbra

⁴Centro do Desenvolvimento, Hospital Pediátrico de Coimbra, Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

Endereço:

Hospital Pediátrico de Coimbra

Av. Afonso Romão – Alto da Baleia

3000 – 062 Coimbra

Resumo:

Introdução: Nos últimos anos tem-se assistido a um aumento preocupante do número de infecções por bactérias multi-resistentes (BMR). As taxas de incidência de infecção por estas bactérias são um indicador de qualidade dos serviços de saúde. Os dados pediátricos são escassos e não há estudos portugueses publicados sobre este assunto.

Objectivos: Avaliar a evolução da incidência de infecções por BMR associadas aos cuidados de saúde num hospital pediátrico. Analisar dados demográficos, clínicos, laboratoriais, terapêuticos e presença de factores de risco nessas infecções.

Material e métodos: Estudo retrospectivo de incidência através de revisão de processos clínicos e base de dados microbiológicos, efectuado nas enfermarias médicas e cirúrgicas e Unidade de Cuidados Intensivos num hospital pediátrico nível III, entre Janeiro 2005 e Dezembro 2009 (5 anos).

Resultados: Durante o período de estudo foram identificadas 106 BMR (17.1% dos isolamentos destas bactérias), correspondentes a 72 crianças, com predomínio do sexo masculino (65.3%). Os gérmens identificados foram *S. aureus* meticilino-resistentes, bacilos gram negativos produtores de β -lactamases de espectro expandido (ESBL), *Enterococcus spp* resistentes à vancomicina, *Pseudomonas aeruginosa* multi-resistentes e *Acinetobacter baumannii* resistente aos carbapenems. Das 106 BMR, 45 (42.5%) foram responsáveis por infecção. Ao longo dos cinco anos do estudo, a proporção anual de infecções por BMR variou entre 32.0% em 2006 e 55.6% em 2009, no entanto esta diferença não atinge significado estatístico. A taxa de incidência global de infecção por estas BMR foi de 0.400 por 1000 dias de internamento, correspondendo a 0.274 infecções por 100 internamentos, valor que se manteve estável ao longo dos 5 anos. Predominaram as infecções da corrente sanguínea, intra-abdominais, associadas a cateter venoso central e da pele e tecidos moles. Não foi encontrada nenhuma criança sem factores de risco e os mais frequentemente identificados foram

antibioticoterapia prévia e doença crónica de base (> 90% dos casos). A maioria dos casos teve evolução favorável, no entanto 6/45 (13.3%) faleceram durante o internamento.

Conclusões: A proporção de BMR apresentou uma tendência de aumento, embora sem significância estatística. Globalmente as taxas de incidência de infecção mantiveram-se estáveis e são inferiores às descritas na literatura, nomeadamente em estudos pediátricos, para o qual poderá contribuir o facto de a maioria dos estudos ser realizada em Unidades de Cuidados Intensivos. A quase totalidade das crianças apresentava factores de risco, nomeadamente antibioticoterapia prévia e doença crónica de base. Este constitui o primeiro estudo desta natureza efectuado na instituição e deverá ser o ponto de partida para uma vigilância continuada que leve à identificação dos problemas e implementação de medidas de resolução dos mesmos.

Palavras-chave: bactérias multi-resistentes, antibióticos, infecção, pediatria

Introdução:

A descoberta dos antibióticos e a sua utilização em terapia anti-infecciosa constituiu um progresso inquestionável da Medicina do século XX. No entanto, a eficácia dos mesmos foi em alguns casos rapidamente superada pela capacidade que as bactérias têm de resistir à sua acção. Podem adquirir resistência modificando o seu genoma por mutação ou incorporando genes provenientes de outros microrganismos por diferentes sistemas de transferência genética (Pak-Leung et al, 2003).

Nos últimos anos tem-se assistido a um aumento preocupante do número de bactérias multi-resistentes (BMR), que não respondem a algumas classes de antimicrobianos, o que representa um problema muito importante à escala mundial, pelo consequente aumento das taxas de morbilidade e mortalidade e pelo incremento dos custos que as infecções por estes gérmens acarretam (Miyakis et al, 2011; Kohlenberg et al, 2009). As taxas de incidência de infecção por estas bactérias são também um indicador de qualidade dos serviços de saúde.

Do ponto de vista clínico, as BMR mais relevantes são os *Staphylococcus aureus* meticilino-resistentes (SAMR), bacilos gram negativos produtores de β -lactamases de espectro expandido (ESBL), *Enterococcus spp* resistentes à vancomicina (ERV), *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas spp* multi-resistentes (Arias et al, 2009).

Estão descritos vários factores de risco para infecções por BMR tais como consumo inadequado de antimicrobianos, não cumprimento de medidas de controlo de infecção tais como higiene das mãos e medidas de isolamento, bem como a gravidade e complexidade dos sobreviventes de doenças crónicas, internamentos prolongados e maior utilização de dispositivos invasivos (tais como cateter venoso central e sonda vesical) (Miyakis et al, 2011; Raymond et al, 2007; Pak-Leung et al, 2003).

Há no entanto diferenças importantes entre países, regiões e instituições e entre crianças e adultos no que diz respeito a este tipo de infecções. Dados globais do *European Centre for*

Disease Prevention and Control (ECDC) de 2008, referentes a crianças e adultos, revelam proporções de SAMR que variam entre taxas inferiores a 5% no Norte da Europa e superiores a 25% no Sul da Europa, Irlanda e Reino Unido. Nos últimos anos parece haver uma tendência de diminuição, embora um terço dos países europeus mantenha proporções superiores a 25% e em Portugal esse valor mantém-se acima de 50% (ECDC, 2010). Nos EUA, em 2006, estão descritas proporções de SAMR de 66.4% em adultos internados em Unidade de Cuidados Intensivos (UCI) (Klevens et al, 2006). Dados do Eurosurveillance mostram também que, nalguns países europeus (nomeadamente do Sul da Europa e Reino Unido), 10 a 30% de todas as *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* eram portadoras de ESBL (Coque et al, 2008). A frequência de ERV varia de um nível inferior a 5% no Norte da Europa e superior a 25% na Grécia, Irlanda e Reino Unido (ECDC, 2010). Em 2007, na Europa, foram descritas proporções de *Acinetobacter baumannii* multi-resistente entre 48 e 85% e de *Pseudomonas* multi-resistentes entre 25 e 51% (Souli et al, 2008).

Apesar da escassez de dados pediátricos, este tipo de infecções também tem sido referido também neste grupo etário. Em França, num estudo em UCI pediátricos, cerca de 10.1% dos *S. aureus* eram metilino-resistentes, 23.2% das *Klebsiella pneumoniae* apresentavam fenótipo ESBL e os ERV correspondiam a 0.3% do total de Enterococos isolados (Raymond et al, 2007). Num estudo pediátrico português, de 2007 a 2009, o fenótipo ESBL foi detectado em 16.4% das estirpes de *Klebsiella spp*, maioritariamente em infecções associadas aos cuidados de saúde (Dias et al, 2010). Em 2009, um estudo efectuado num hospital pediátrico nível III no Utah, foram encontradas taxas de incidência de infecção por bacilos gram negativos ESBL entre 0.14 e 0.31/1000 dias de internamento. Em França, num estudo em UCI pediátricos, a taxa de incidência global de infecção por BMR foi de 2.80 casos/1000 dias de internamento (Raymond et al, 2007). Os estudos de incidência são ferramentas muito úteis na

monitorização destas infecções numa determinada população e no conhecimento do seu verdadeiro impacto, permitindo comparações mais fidedignas entre instituições.

Também nas infecções da comunidade se tem revelado crescente a importância destes germens, nomeadamente SAMR (Siegel et al, 2007).

O problema das BMR é ainda mais grave devido à escassez de novos anti-microbianos em investigação (Boucher et al, 2009; Zhanel et al, 2008). Por este motivo, a vigilância epidemiológica nacional e institucional é essencial, de modo a serem identificadas as causas do problema e a serem implementadas medidas de prevenção de aparecimento e disseminação destes germens.

Pretende-se com este trabalho avaliar a evolução das taxas de infecção por BMR em crianças internadas num hospital pediátrico em Portugal e, analisar os dados demográficos, clínicos, laboratoriais e terapêuticos relativos a esses casos. Pretende-se ainda avaliar a existência de factores de risco nas crianças com infecção por estes germens.

Material e métodos:

Estudo populacional

Trata-se de um estudo de incidência retrospectivo, efectuado num hospital pediátrico de nível III que serve uma população de 324 458 crianças e adolescentes, dos 0 aos 18 anos de idade, da região centro do país (Instituto Nacional de Estatística, dados referentes ao ano de 2010, www.ine.pt). Dispõe de 82 camas de internamento (UCI, Oncologia, Transplante Hepático, Enfermarias Cirúrgicas e de Medicina), registando-se anualmente cerca de 3000 internamentos e 50 000 atendimentos no Serviço de Urgência (Fonte: Serviço de Informática do Hospital Pediátrico de Coimbra).

Os dados microbiológicos foram obtidos através da base informática do Serviço de Patologia Clínica, Laboratório de Microbiologia do Centro Hospitalar de Coimbra. Foram identificadas

todas as crianças internadas no hospital com isolamento de um ou mais dos cinco gérmens seguintes: SAMR, bacilos gram negativos produtores de β -lactamases de espectro expandido (ESBL), ERV, *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa* multi-resistentes - em qualquer produto biológico, entre Janeiro de 2005 e Dezembro de 2009 (5 anos). Na nossa instituição a identificação do fenótipo ESBL iniciou-se em Julho de 2007.

Definiu-se multi-resistência como resistência a três ou mais classes de antimicrobianos para *Enterococos spp* e *Pseudomonas spp*, de acordo com critérios do ECDC (Margiorakos et al, 2011), para *S. aureus* definiu-se como resistência à meticilina, para *Acinetobacter baumannii* como resistência aos carbapenems e para os bacilos gram negativos como a presença de β -lactamases de espectro expandido (Falagas et al, 2008; Souli et al, 2008).

Para definição de infecção utilizaram-se os critérios do *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) (Horan et al, 2008). Considerou-se como infecção uma condição sistémica ou localizada resultante de uma reacção orgânica adversa à presença de um agente infeccioso ou da sua toxina, quando o microorganismo foi isolado a partir de fluidos ou tecidos de locais biologicamente estéreis. Foi considerada colonização a presença de microorganismos na pele ou mucosas, feridas abertas ou secreções sem causar sinais ou sintomas adversos (Horan et al, 2008). Nos casos em que se identificou o mesmo gérmem por mais do que uma vez no mesmo doente e no mesmo internamento, este foi apenas contabilizado uma vez, correspondendo sempre ao primeiro episódio de infecção por esta bactéria. Se a bactéria foi identificada em mais do que um produto biológico estéril durante a mesma infecção, foi apenas considerada uma vez, correspondendo ao primeiro produto no qual foi isolada.

Considerou-se infecção associada aos cuidados de saúde quando foi diagnosticada 48 horas depois da admissão hospitalar ou antes das 48 horas após a admissão se o doente teve alta do hospital nas duas semanas anteriores ou se foi transferido de outra unidade hospitalar (McKibben et al, 2005). Ainda de acordo com as definições actuais do CDC (Horan et al,

2008) foram consideradas infecções associadas aos cuidados de saúde quando estavam presentes factores de risco extrínseco (cateter venoso central, algalia, alimentação parentérica, ventilação invasiva) ou cirurgia recente, nomeadamente com colocação de implante.

A análise de possíveis factores de risco para infecção por BMR foi avaliada através da consulta dos processos clínicos, de onde se obtiveram as seguintes informações: idade, género, número de dias de internamento até ao isolamento do germen, número total de dias de internamento, internamento prévio nos últimos três meses, patologia crónica, imunossupressão (incluindo-se imunodeficiência primária ou secundária, neutropenia menos de 1000 neutrófilos/mm³ e terapêutica imunossupressora – quimioterapia e corticoterapia), intervenção cirúrgica prévia (nos últimos doze meses ou mais no caso de cirurgias com colocação de próteses ou transplante), uso de antibióticos nos últimos seis meses, ventilação invasiva, alimentação parentérica e presença de cateter venoso central (CVC).

A informação sobre o número total de internamentos foi fornecida pelo Serviço de Informática do Centro Hospitalar de Coimbra.

Foram usados dois indicadores de vigilância epidemiológica: i) incidência de infecção por BMR por 1000 dias de internamento e ii) incidência de infecção por BMR por cada 100 internamentos. Variações nas taxas de incidência de infecção foram analisadas desde 2005 a 2009.

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética do Centro Hospitalar de Coimbra.

Dados Microbiológicos

As BMR foram isoladas de produtos biológicos (sangue, urina, fezes, líquido cefaloraquídeo, líquido peritoneal, líquido biliar, líquido de abscesso, secreções respiratórias, exsudados, ponta de cateter) através de cultura, no Serviço de Patologia Clínica do Centro Hospitalar de Coimbra. Foram considerados líquidos biológicos e materiais estéreis: sangue, urina, LCR,

líquido peritoneal, bÍlis, líquido pleural, líquido articular, líquido de abcesso, ponta de CVC e dreno torácico.

A identificação do gérmen e o teste de sensibilidade aos antibióticos foram efectuados de acordo com a metodologia em uso no Laboratório de Microbiologia do Centro Hospitalar de Coimbra. As concentrações inibitórias mínimas foram interpretadas de acordo com os valores de referência do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2006). A identificação de *Escherichia coli*, *Klebsiella spp* produtoras de ESBL foi efectuada através de um sistema semi-automatizado baseado em microdiluições, MicroScan WalkAway®, da firma Siemens (Wiegand et al, 2007).

Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados com recurso ao *software* Predictive Analytics SoftWare (PASW) Statistics, versão 18. A análise descritiva foi efectuada pela determinação de frequências absolutas e relativas para variáveis qualitativas e pelo cálculo de média, desvio-padrão, mediana, quartis e extremos para variáveis quantitativas. A adequação das variáveis qualitativas a uma distribuição normal foi avaliada pela análise dos histogramas e com recurso ao teste de Kolmogorov-Smirnov.

O estudo comparativo foi efectuado com recurso ao teste de Qui-quadrado (χ^2) para variáveis qualitativas e o teste de Mann-Whitney para comparação de variáveis quantitativas em dois grupos independentes. Foi considerado um nível de significância de 0.05.

Resultados:

Durante o período em estudo foram internadas 15 448 crianças e adolescentes: 3071, 3081, 3411, 3409, 3476 respectivamente em 2005, 2006, 2007, 2008 e 2009.

No conjunto de bactérias identificadas: 28.5% dos *S. aureus* eram meticilino-resistentes, 13.4% dos Enterococos eram resistentes à vancomicina, 13.9% dos bacilos gram negativos

eram portadores de fenótipo ESBL, 13.9% das *Pseudomonas spp* eram multi-resistentes e 5.9% dos *Acinetobacter baumannii* eram resistentes aos carbapenems.

As 106 BMR isoladas corresponderam a 72 crianças, com predomínio do género masculino (65.3%). A mediana de idades foi de 1 ano (mínimo 6 dias, máximo 25 anos). Os gérmens identificados foram: 38 SAMR (35.8%), 19 bacilos gram negativos com fenótipo ESBL (17.9%), 17 ERV (16.0%), 31 *Pseudomonas aeruginosa* multi-resistentes (29.2%) e 1 estirpe de *Acinetobacter baumannii* resistente aos carbapenems (0.9%). A maioria dos bacilos gram negativos com fenótipo ESBL era da estirpe *K. pneumoniae* (n=12) e a maioria dos enterococos da estirpe *E. faecium* (n=14). A distribuição anual encontra-se descrita na **Tabela I**.

Tabela I: Distribuição anual das bactérias multi-resistentes

Bactéria	Ano de isolamento				
	2005	2006	2007	2008	2009
<i>Staphylococcus aureus</i> MR	4	12	8	7	7
Bacilos gram negativos ESBL*	-	-	2	12	5
<i>Enterococcus spp</i> resistentes à vancomicina	2	4	4	5	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> MR	3	9	6	9	4
<i>Acinetobacter spp</i> R a carbapenems	0	0	0	1	0
Total (n=106)	9	25	20	34	18

(MR=multi-resistente; ESBL= β -lactamases de espectro expandido; R=resistente)

*identificação iniciou-se em Julho 2007

Das 106 BMR, 45 (42.5%) foram responsáveis por infecção. Nas restantes 61 (57.5%), a bactéria identificada não estava a causar sinais ou sintomas adversos e não foi tratada ou não

foi possível distinguir se se tratava de colonização ou infecção por ter sido identificada em amostras não estéreis, nomeadamente secreções respiratórias e exsudados de ferida.

A análise subsequente incidiu sobre as BMR a causar infecção.

Ao longo dos cinco anos do estudo, a proporção anual de infecções por BMR foi de 33.3%, 32.0%, 55.0%, 38.2% e 55.6% respectivamente em 2005, 2006, 2007, 2008 e 2009. Apesar de uma aparente tendência de aumento, a diferença não é estatisticamente significativa (teste χ^2 , $p=0.376$).

A taxa global de incidência de infecção por BMR foi de 0.400 por 1000 dias de internamento, correspondendo a 0.274 infecções por 100 internamentos. Estes indicadores de vigilância epidemiológica para cada gérmem são apresentados na **Tabela II**, não apresentando variações significativas ao longo dos cinco anos de estudo.

Tabela II: Variação anual das taxas de incidência de infecção por bactérias multi-resistentes

Ano	SAMR		ESBL		ERV		PA MR					
	Incidência n /1000 DI	Incidência /100 I	Incidência n /1000 DI	Incidência /100 I	Incidência n /1000 DI	Incidência /100 I	Incidência n /1000 DI	Incidência /100 I				
2005	1	0.043	0.033	-	-	-	2	0.086	0.065	0	0	0
2006	5	0.219	0.162	-	-	-	1	0.044	0.032	2	0.088	0.065
2007	4	0.183	0.117	1*	-	-	3	0.137	0.088	3	0.137	0.088
2008	3	0.136	0.088	6	0.272	0.176	2	0.091	0.059	2	0.091	0.059
2009	5	0.222	0.134	1	0.044	0.029	1	0.044	0.029	3	0.133	0.086
Média	-	0.161	0.109		0.158*	0.102		0.080	0.055		0.090	0.060

(SAMR=*Staphylococcus aureus* meticilino-resistentes; ESBL=bacilos gram negativos produtores de β -lactamases de espectro expandido; ERV=*Enterococcus spp* resistentes à vancomicina; PAMR=*Pseudomonas aeruginosa* multi-resistente; DI=dias de internamento; I=internamentos; *Desde Julho de 2007)

No grupo de casos com infecção por BMR (n=45) observou-se também predomínio do género masculino (73.3%). A mediana da idade foi 1 ano (mínimo 7 dias, máximo 25 anos). A mediana do tempo de internamento até ao isolamento do gérmen foi de 13 dias (mínimo 0, máximo 140) e em 84.4% dos casos ocorreu mais de 48 horas após a admissão hospitalar. Nos sete casos em que a identificação das BMR ocorreu nas primeiras 48 horas de internamento foram identificados as seguintes bactérias: 4 SAMR, 2 *E. coli* ESBL e 1 PAMR. Os diagnósticos finais foram de sepsis, infecção associada ao CVC, abscesso cutâneo, peritonite e pielonefrite aguda, todos em crianças com doença crónica de base (doença oncológica, cardiopatia, malformações congénitas, paralisia cerebral e escoliose), das quais duas tinham sido transferidas de outras unidades hospitalares e as restantes tinham internamentos recentes no nosso hospital.

A duração total do internamento variou entre 4 e 294 dias, com uma mediana de 40 dias (**Figura 1**). Os valores atípicos (“outliers”) observados correspondem a crianças com complexas doenças crónicas de base, nomeadamente atresia das vias biliares, insuficiência respiratória crónica com necessidade de ventilação invasiva e malformações congénitas como cardiopatias complexas, com necessidade de múltiplas intervenções cirúrgicas.

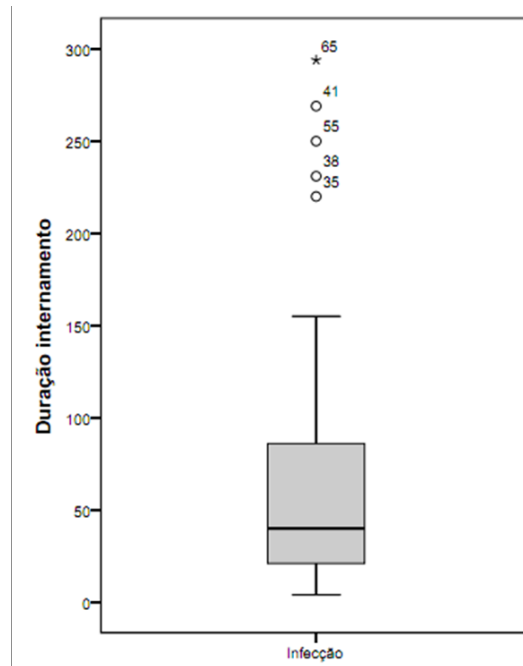


Figura 1. Distribuição da duração do internamento (em dias) no grupo com infecção por bactérias multi-resistentes

Relativamente aos diagnósticos, verificaram-se 14 casos de infecções da corrente sanguínea (sepsis/bacteriémia), 9 de infecções intra-abdominais (peritonite, colangite e abscesso intra-abdominal), 8 de infecções associadas a CVC, 5 de infecções da pele e tecidos moles, 3 de infecções urinárias, 2 meningites, 2 mediastinites, 1 infecção respiratória e 1 infecção osteo-articular. Na **Tabela III** encontram-se distribuídos os diagnósticos por gérmen. Algumas destas infecções apresentavam mais do que uma cultura positiva para o mesmo gérmen em diferentes produtos biológicos, tendo sido apenas considerados os produtos habitualmente estéreis.

Tabela III. Tipo de infecção por gérmen

Tipo de infecção	SAMR	ESBL	PAMR	ERV	Total n (%)
Corrente sanguínea	6	2	5	1	14 (31.1)
Associada ao CVC	6	2	1	1	8 (17.8)
Intra-abdominal	0	3	1	5	9 (20)
Pele e tecidos moles	4	0	1	0	5 (11.1)
Urinária	0	1	2	0	3 (6.7)
SNC	0	0	0	2	2 (4.4)
Mediastinite	1	1	0	0	2 (4.4)
Respiratória	1	0	0	0	1 (2.2)
Osteo-articular	1	0	0	0	1 (2.2)
Total	18	8	10	9	45 (100)

(SAMR=*Staphylococcus aureus* metilino-resistentes; ESBL=bacilos gram negativos produtores de β -lactamases de espectro expandido; ERV=*Enterococcus spp* resistentes à vancomicina; PAMR=*Pseudomonas aeruginosa* multi-resistente; CVC=cateter venoso central; SNC=Sistema nervoso central)

Relativamente à presença de factores de risco para infecção por BMR (**Tabela IV**), mais frequentemente identificados foram antibioticoterapia prévia e doença crónica de base, presentes em mais de 90% dos casos. Apenas 3 crianças (6.7%) não apresentavam diagnóstico de doença crónica, todas pertencentes ao grupo de doentes com infecções por SAMR. Tinham como factores de risco para infecção: antibioticoterapia prévia, presença de CVC e politraumatismo recente.

Os antecedentes cirúrgicos, incluindo cirurgia abdominal, cardiotorácica e transplante hepático, estavam presentes em cerca de 73.3% dos casos, chegando a 100% dos casos nas infecções por ERV.

Mais de 60% das crianças tinham estado internadas numa unidade hospitalar nos últimos três meses, chegando esta proporção a 88.9% no caso das infecções por ERV.

Outros factores de risco foram menos frequentes tais como imunossupressão (40%), alimentação parentérica (15.6%) e ventilação invasiva (6.7%).

Tabela IV. Presença de factores de risco para infecção por bactérias multi-resistentes por bactéria

Factores de risco	Gérmem				Total (n=45)
	SAMR (n=18)	ESBL (n=8)	PAMR (n=10)	EVR (n=9)	
Doença crónica	15 (83%)	8 (100%)	10 (100%)	9 (100%)	42 (93%)
Antibiótico <6 m	15 (83%)	8 (100%)	10 (100%)	9 (100%)	42 (93%)
CVC	12 (67%)	7 (88%)	6 (60%)	9 (100%)	34 (75.6%)
Cirurgia <12 m	9 (50%)	7 (88%)	8 (80%)	9 (100%)	33 (73.3%)
Internamento <3 m	9 (50%)	7 (88%)	7 (70%)	8 (89%)	31 (68.9%)
Imunossupressão	3 (17%)	5 (63%)	3 (30%)	7 (78%)	18 (40%)
APT	1 (6%)	1 (13%)	3 (30%)	2 (22%)	7 (16%)
Ventilação invasiva	3 (17%)	0	2 (20%)	1 (11%)	6 (13%)

(SAMR=*Staphylococcus aureus* metilino-resistentes; ESBL=bacilos gram negativos produtores de β -lactamases de espectro expandido; ERV=*Enterococcus spp* resistentes à vancomicina; PAMR=*Pseudomonas aeruginosa* multi-resistente; CVC=cateter venoso central; SNC=Sistema nervoso central; APT=Alimentação parentérica; m=meses)

Não foi identificada nenhuma criança sem factores de risco, e todas as infecções estiveram associados aos cuidados de saúde. A maioria dos casos teve evolução favorável, no entanto 6/45 (13.3%) faleceram durante o internamento (**Tabela V**).

Tabela V. Caracterização das crianças com infecção por bactérias multi-resistentes e evolução desfavorável

Casos	Sexo	Idade	Gérmem	Data de identificação	Diagnóstico	Enfermaria	Patologia de base
1	M	1 m	PA MR	2006	Sepsis + Peritonite	UCI	Onfalocelo
2	F	2 m	SA MR	2006	Sepsis associada CVC	UCI	S. Ondine, S. Hirschprung
3	F	9 a	PA MR	2006	Sepsis	Medicina	LLA
4	M	5 m	<i>K. oxytoca</i> ESBL	2008	Sepsis	UCI	S. intestino curto secundário a NEC
5	M	6 m	PA MR	2008	Sepsis	UCI	Cardiopatia complexa
6	M	9 a	PA MR	2009	Sepsis	Medicina	Aplasia medular

(m=meses, a=anos, PAMR=*Pseudomonas aeruginosa* multi-resistente; SAMR=*Staphylococcus aureus* metilino-resistente; CVC=cateter venoso central, UCI=Unidade de Cuidados Intensivos, LLA=leucemia linfoblástica aguda, NEC=enterocolite necrotizante)

As infecções por BMR ocorreram em todas as enfermarias médicas e cirúrgicas: 19/45 (42%) na Enfermaria de Medicina, 13/45 (29%) na Unidade de Cuidados Intensivos e 13/45 (29%) nas Enfermarias Cirúrgicas. Apesar das ligeiras diferenças percentuais, não se verificou um predomínio de nenhuma das enfermarias em números absolutos. A interpretação destes dados deve também ter em conta que muitas crianças estiveram internadas em mais do que um Serviço no mesmo episódio, não se podendo estabelecer uma relação causal entre infecção e determinada Enfermaria. Também não foi possível estabelecer uma relação causal temporal

entre os isolamentos de BMR que fizessem pensar em não cumprimento de medidas de controlo de infecção.

Discussão:

Os dados pediátricos sobre infecção por BMR são escassos, apresentados frequentemente em conjunto com os da população adulta e incluindo infecções associadas aos cuidados de saúde e infecções adquiridas na comunidade.

Este estudo de incidência de infecção por BMR em idade pediátrica, é o primeiro efectuado na nossa instituição e em Portugal.

Ao longo dos cinco anos, a proporção anual de infecções por BMR passou de 32.3% (em 2006) para 55.6% (em 2009), embora esta diferença não seja estatisticamente significativa. A incidência de infecção por estas bactérias foi de 0.400 casos por cada 1000 dias de internamento, tendo-se mantido relativamente estável, apenas com um discreto aumento no ano de 2008.

No global os SAMR foram as bactérias mais frequentemente identificadas, seguidos por PAMR e bacilos gram negativos ESBL. O tipo de infecção mais frequentemente associado a estes germens foi a infecção da corrente sanguínea, seguida pelas infecções intra-abdominais e as associadas a dispositivos invasivos, nomeadamente CVC.

O SAMR correspondeu a 28.5% de todos os *S. aureus*, concordante com os dados recentes do ECDC em adultos e crianças, onde um terço dos países europeus (nomeadamente do Sul da Europa) tem proporções de SAMR acima de 25% (ECDC, 2010). Estas diferenças entre países podem ser atribuídas às diferentes políticas de antibióticos e medidas de controlo de infecção. No entanto, comparando com outros estudos pediátricos, a incidência de infecção por SAMR foi inferior aos 0.9 casos /1000 dias de internamento descritos em França no período entre 1999 e 2003 (Raymond et al, 2007). Esta diferença poderá ser explicada pelo

facto deste estudo não ser limitado à UCI, classicamente associada a maiores taxas de incidência deste tipo de infecções, como ocorreu no estudo francês.

A proporção das bactérias com fenótipo ESBL entre os bacilos gram negativos foi de 14%, o que é ligeiramente inferior ao encontrado noutros estudos pediátricos em França e na Índia, respectivamente 22% e 32% (Prabhu et al, 2010; Raymond et al, 2007). Como referido anteriormente a detecção do fenótipo ESBL só teve início na nossa instituição em Julho de 2007, pelo que o seu contributo no total dos 5 anos de estudo poderá estar subvalorizado. Num estudo metodologicamente semelhante ao nosso, realizado nos EUA, Utah, foram encontrados apenas 1.4% de germens com fenótipo ESBL entre os bacilos gram negativos (Blaschke et al, 2009). A taxa anual de incidência de infecção por germens produtores de ESBL foi, em média, 0.158 casos/1000 dias de internamento, também inferior ao encontrado no estudo pediátrico francês realizado em unidades de cuidados intensivos (Raymond et al, 2007). Esta diferença poderá também dever-se às razões atrás apresentadas.

As ESBL foram descritas pela primeira vez em 1983, na Alemanha, em estirpes de *Escherichia coli* (Paterson et al, 2005). No entanto na nossa amostra o fenótipo de produção de ESBL foi mais vezes registado entre as estirpes de *Klebsiella spp*, tal como também já tinha sido descrito noutros estudos, nomeadamente num realizado num hospital pediátrico em Filadélfia, no período de 1999 a 2003, em que a prevalência de gérmens produtores de ESBL no total de *Escherichia coli* isoladas foi de 7% e entre as estirpes de *Klebsiella spp* de 18% (Zaoutis et al, 2005). A razão da maior predisposição da estirpe *Klebsiella spp* para o desenvolvimento de resistência aos antimicrobianos por produção de ESBL é desconhecida tendo, provavelmente, o seu fundamento a nível molecular (Zaoutis et al, 2005).

A *Pseudomonas aeruginosa* representou neste estudo 29% das BMR. A proporção de *P. aeruginosa* multi-resistente em relação ao número total de identificações desta bactéria em crianças internadas foi de 13.9%. Num estudo italiano, realizado em crianças com doença

oncológica no período de 2000 a 2007, 31% das *Pseudomonas spp* isoladas eram multi-resistentes (Caselli et al, 2010). Estes dados também são sobreponíveis aos encontrados na Europa em 2008 em adultos e crianças (ECDC, 2010).

Relativamente ao ERV representaram 13.4% de todos os Enterococos identificados, e foram maioritariamente da estirpe *E. faecium*, tal como vem sendo descrito na literatura (ECDC, 2010). Num estudo americano, em crianças com bacteriemia por *Enterococcus spp*, 11.5% eram resistentes à vancomicina (Haas et al, 2010). Na nossa população a taxa de incidência anual de infecção por este gérmem foi em média 0.08 casos/1000 dias de internamento, ligeiramente inferior aos 0.13 casos/1000 dias de internamento reportados em adultos internados em UCI na Alemanha (Kohlenberg et al, 2009). Um estudo pediátrico francês, realizado em UCI entre 1999 e 2003, mostrou uma incidência de 0.01 casos/ 1000 dias de internamento (Raymond et al, 2007). Apesar de a taxa de incidência na nossa instituição ser superior à do estudo francês, continua a ser baixa (Raymond et al, 2007).

O *Acinetobacter baumannii* resistente aos carbapenems foi o gérmem menos vezes encontrado, tendo sido isolado apenas em uma criança (5.9% do grupo *Acinetobacter baumannii*). Apesar da escassez de dados na literatura pediátrica, estão descritos alguns casos de surtos por *Acinetobacter baumannii* resistente aos carbapenems nos EUA e na Grécia, com proporções de multi-resistência em adultos acima de 70% (Miyakis et al, 2011; Navon-Venezia et al, 2005). Num estudo pediátrico no Irão foi encontrada multi-resistência em 41% destes germens (Soroush et al, 2010).

Entre nós, as infecções por BMR ocorreram mais frequentemente nos rapazes, tal como já havia sido descrito noutros estudos (Johnson et al, 2010; Zhanel et al, 2008). A mediana da idade das crianças foi de 1 ano, sendo que cerca de 10% eram recém-nascidos (RN). Um estudo recente associou as infecções por SAMR a idades mais jovens, nomeadamente recém-

nascidos com internamentos em UCI e submetidos a múltiplos procedimentos invasivos (Johnson et al, 2010). Entre nós, cerca de metade das infecções nos RN foi por SAMR.

Os internamentos foram prolongados, com mediana de 40 dias e um máximo de 294 dias. Podemos especular uma possível relação entre duração de internamento e infecção por BMR ou apenas relacionar esta duração com a patologia crónica de base, por si só favorecedora de internamentos mais prolongados. Alguns estudos caso-controllo em idade pediátrica evidenciam maior duração de internamento após isolamento de gérmens produtores de ESBL (Zaoutis et al, 2005), enquanto noutros, nomeadamente após isolamento de ERV, não são encontradas diferenças significativas (Haas et al, 2010).

Apesar de este estudo não ser caso-controllo, a descrição epidemiológica indica claramente que a maioria dos casos corresponde a crianças com doença crónica de base e com história de antibioticoterapia prévia (ambos acima de 90%). Vários estudos, em adultos e crianças, consideram o uso de antibióticos prévio um factor de risco independente para infecção por BMR (Miyakis et al, 2011; Ramphal et al, 2006; Zaoutis et al, 2005). A pressão selectiva exercida pelo uso de antibióticos parece ser o factor mais importante na emergência de resistência por parte destes germens.

A presença de dispositivos invasivos, nomeadamente CVC e os antecedentes de cirurgia, nomeadamente transplante, surgem em mais de 70% dos doentes da nossa amostra, tal como vem referido na literatura, sendo considerados factores de risco para infecção por BMR (Miyakis et al, 2011).

A ventilação mecânica no nosso estudo esteve apenas presente em 13% dos casos, o que difere de outros estudos previamente efectuados na nossa instituição, em que esta foi referida como factor de risco independente, nomeadamente para infecção por germens produtores de ESBL (Dias et al, 2010). Novos estudos com amostras de maiores dimensões e avaliação de

casos e controlos terão que ser efectuados para confirmar estes resultados e comprovar a associação entre infecções por BMR e factores de risco.

Em relação à localização, as infecções mais frequentes foram as da corrente sanguínea, seguidas pelas infecções intra-abdominais e infecções associadas a CVC. Tal como descrito na literatura, o SAMR esteve associado a infecções da corrente sanguínea, infecções associadas ao CVC e infecções da pele e tecidos moles. Ao contrário do que era esperado, os bacilos gram negativos produtores de β -lactamases não foram responsáveis por infecções urinárias ou infecções respiratórias, mas sim por infecções intra-abdominais, da corrente sanguínea e associadas ao CVC. Tal pode ser explicado pela reduzida dimensão da amostra e pelo facto de a maioria dos doentes com infecções urinárias não ficar internado, tendo sido excluídos desta amostra.

Não foi possível estabelecer uma relação causal temporal entre os isolamentos destas bactérias, tendo as infecções ocorrido em enfermarias diferentes e ao longo de todo o período de estudo. No entanto, não foi efectuado o estudo molecular dos gérmens isolados que nos permita garantir a ausência de relação, sendo essa uma das limitações deste estudo. Contudo, noutros trabalhos, a análise epidemiológica molecular demonstrou a ausência de relação entre as estirpes isoladas, considerando como principal factor de risco a pressão exercida pelo uso indiscriminado de antibióticos (Zaouti et al, 2005).

Embora esteja demonstrada uma associação positiva entre infecção por BMR e mortalidade (Miyakis et al, 2011; Kim et al, 2002), na nossa população não foi possível estabelecer essa relação. As seis crianças falecidas apresentavam patologia de base de mau prognóstico, que poderá ter condicionado a evolução clínica desfavorável, não sendo possível atribuir a causa da morte directamente à infecção.

O presente estudo baseia-se num período limitado de tempo, numa amostra reduzida e foi realizado em crianças internadas num hospital pediátrico central, onde são prestados cuidados

terciários a grande proporção de crianças com patologia crónica grave, podendo deste modo não reflectir a realidade pediátrica a nível nacional. Serão de extremo interesse, no futuro, estudos prospectivos multicêntricos no sentido de avaliar eficazmente a emergência destas estirpes resistentes e implementar atempadamente medidas de controlo.

Este estudo não avaliou as infecções por BMR da comunidade, que têm sido referidas como tendo uma importância crescente nos últimos anos (Siegel et al, 2007). Estudos futuros deverão alargar-se a esta área.

Em conclusão, a proporção de BMR em crianças internadas com infecção associada aos cuidados de saúde, apresentou uma tendência de aumento. Globalmente as taxas de incidência de infecção por BMR mantiveram-se estáveis ao longo dos cinco anos e são inferiores às descritas na literatura, nomeadamente em estudos pediátricos, para o qual poderá contribuir o facto de a maioria dos estudos ser realizado exclusivamente em doentes de maior gravidade uma vez que estavam internados em UCI. A quase totalidade das crianças apresentava factores de risco nomeadamente antibioticoterapia prévia e doença crónica de base. Este constituiu o primeiro estudo desta natureza efectuado na instituição e deverá ser o ponto de partida para uma vigilância continuada que leve à identificação dos problemas e implementação de medidas para resolução dos mesmos.

Referências:

1. Arias CA, Murray BE. (2009) Antibiotic-resistant bugs in the 21st century – a clinical super-challenge. NEMJ 360;5:439-443

2. Blaschke A, Korgenski K, Daly J, LaFleur B, Pavia AT, Byington CL. (2009) Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Pathogens in a Children's Hospital: A Five-Year Experience. *Am J Infect Control* 37;6:435–441
3. Boucher HW, Talbot GH, Bradley JS, Edwards JE, Gilbert D, Rice LB, Scheld M, Spellberg B, Bartlett J. (2009) Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 48(1):1-12
4. Caselli D, Cesar S, Ziino O, Zanazzo G, Manicone R, Livadiotti S, Cellini M, Frenos S, Milano GM, Cappelli B, Licciardello M, Beretta C, Aricò M, and Castagnola E. (2010) Multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection in children undergoing chemotherapy and hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica* 95;9:1612-1615
5. Clinical and Laboratory Standards Institute. (2006) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; sixteenth informational supplement. 26:3:M100-S16.
6. Coque TM, Baquero F, Canton R (2008) Increasing prevalence of ESBL-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Eurosurveillance* 13:1-11
7. Dias A, Cancelinha C, Oliveira G, Oliveira H, Marques M, Rodrigues F. (2010) Bacilos gram negativos produtores de β -lactamases de espectro expandido num hospital pediátrico. *Acta Pediátrica Portuguesa*. In press
8. European Centre for Disease Prevention and Control. (2010) Annual Epidemiological Report on Communicable Diseases in Europe 2010.

9. Falagas ME, Rafailidis PI, Matthaïou DK, Vitzili S, Nikita D, Michalopoulos A. (2008) Pandrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* infections: characteristics and outcome in a series of 28 patients. *Int J Antimicrob Agents* 32: 450-454
10. Haas EJ, Zaoutis TE, Prasad P, Li M, Coffin SE. (2010) Risk Factors and Outcomes for Vancomycin-Resistant *Enterococcus* Bloodstream Infection in Children. *Infect Control Hosp Epidemiol* 31;10:1038-1042
11. Horan T, Andrus M, Dudeck M. (2008) CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infection Control* 36:309-322
12. Johnson AP, Sharland M, Goodall CM; Blackburn R, Kearns AM, Gilbert R, Lamagni TL, Charlett A, Ganner M, Hill R, Cookson B, Livermore D, Wilson J, Cunney R, Rossney A, Duckworth G. (2010) Enhanced surveillance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) bacteraemia in children in the UK and Ireland. *Arch Dis Child* 95:781-785
13. Kim YK, Pai H, Lee HJ, Park SE, Choi EH, Kim J, Kim JH, Kim EC (2002) Bloodstream infections by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in children: epidemiology and clinical outcome. *Antimicrob Agents Chemother* 46:1481-1491

14. Klevens RM, Edwards JR, Tenover FC, McDonald LC, Horan T, Gaynes R, National Nosocomial Infections Surveillance System. (2006) Changes in the epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in intensive care units in US hospitals, 1992-2003. Clin Infect Dis 42:386-391
15. Kohlenberg A, Schwab F, Meyer E, Behnke M, Geffers C, Gastmeier P. (2009) Regional trends in multi-drug-resistant infections in German intensive care units: a real time model for epidemiological monitoring and analysis. J Hosp Infect 73:239-245
16. Margiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, Harbarth S, Hindler JF, Kahlmeter G, Olsson-Liljequist B, Paterson DL, Rice LB, Stelling J, Struelens MJ, Vatopoulos A, Weber JT, Monnet DL. (2011) Multidrug resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clinical Microbiology and Infection. In press
17. McKibben L, Horan T, Tokars JI, Fowler G, Cardo DM, Pearson ML, Brennan PJ, and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (2005) Guidance on Public Reporting of Healthcare-Associated Infections: Recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Am J Infect Control 33:217-226
18. Miyakis S, Pefanis A, Tsakris A. (2011) The Challenges of Antimicrobial Drug Resistance in Greece. CID 53(2):177–184

19. Navon-Venezia S, Ben-Ami R, Carmeli Y. (2005) Update on *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* infections in the healthcare setting. *Curr Opin Infect Dis.* 18;4:306-13
20. Pak-Leung H. (2003) Carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, ceftazidime-resistant Gram-negative bacilli, and vancomycin-resistant enterococci before and after invasive care unit admission. *Crit Care Med* 31:1175-1182
21. Paterson DL, Bonomo RA (2005) Extended-Spectrum β -Lactamases: a Clinical Update. *Clin Microbiol Rev* 18:657–686
22. Prabhu K, Bhat S, Rao S. (2010) Bacteriologic profile and antibiogram of blood culture isolates in a pediatric care unit. *J Lab Physicians.* 2;2:85-8
23. Ramphal R, Ambrose PG (2006) Extended-spectrum lactamases and clinical outcomes: current data. *CID* 42:164-172
24. Raymond J, Nordmann P, Doit C, Thien HV, Guibert M, Ferroni A, Aujard Y. (2007) Multidrug-Resistant Bacteria in Hospitalized Children: A 5 year Multicenter Study. *Pediatrics* 119:789-803
25. Siegel J, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L, Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. (2007) Management of multidrug-resistant organisms in healthcare settings. *Am J Infect Control.* 35;10:S165-93

26. Souli M, Galani I, Giamarellou H. (2008) Emergence of extensively drug-resistant and pandrug-resistant Gram-negative bacilli in Europe. *Euro Surveill* 13;47:1-11
27. Soroush S, Haghi-Ashtiani MT, Taheri-Kalani M, Emaneini M, Aligholi M, Sadeghifard N, Pakzad I, Abedini M, Yasemi M, Paiman H. (2010) Antimicrobial resistance of nosocomial strain of *Acinetobacter baumannii* in Children's Medical Center of Tehran: a 6-year prospective study. *Acta Med Iran*. 48;3:178-84
28. Wiegand I, Geiss HK, Mack D, Sturenburg E, Seifert H (2007). Detection of extended-spectrum beta-lactamases among Enterobacteriaceae by use of semiautomated microbiology systems and manual detection procedures. *J Clin Microbiol* 45:1167-1174
29. Zaoutis TE, Goyal M, Chu JH, Coffin SE, Bell LM, Nachamkin I, McGowan KL, Bilkes WB, Lautenbach E (2005) Risk factors for and outcomes of bloodstream infection caused by Extended-spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* species in children. *Pediatrics* 115:942-949
30. Zhanel G, DeCorby M, Laing N, Weshnoweski B, Vashisht R, Tailor F, Nichol K, Wierzbowski A, Baudry P, Karlowisky J, Lagacé-Wiens P, Walkty A, McCracken M, Mulvey M, Johnson J. (2008) Antimicrobial-Resistant Pathogens in Intensive Care Units in Canada: Results of the Canadian National Intensive Care Unit (CAN-ICU) Study, 2005-2006. *Antimicrob Agents Chemother* 52:1430-1437

Agradecimentos

À Professora Doutora Guiomar Oliveira por ter aceitado orientar este trabalho de forma incondicional, estando presente desde a elaboração inicial deste projecto até à sua realização plena, cujos conselhos permitiram a sua valorização.

À Dra. Fernanda Rodrigues, minha orientadora, não apenas pelo rigor científico e conhecimento, mas por toda a dedicação, disponibilidade e amizade que permitiram a valorização e finalização deste projecto.

Ao Dr. João Casalta-Lopes, do Departamento de Biofísica da Faculdade de Medicina, pela ajuda no tratamento estatístico dos dados.

A toda a equipa do Laboratório de Microbiologia do Serviço de Patologia Clínica do Centro Hospitalar de Coimbra, nomeadamente aos Técnicos Trindade Marques e Jorge Marques, pelos dados microbiológicos disponibilizados.

A todos os meus colegas de trabalho, que me apoiaram e incentivaram na realização deste projecto.

À minha família e amigos, cujo apoio não se traduz em palavras.