UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE MEDICINA SOCIAL

MARIANA CORRÊA COELHO SALOMÃO

**Uso de simbiótico para prevenção de infecções hospitalares em
pacientes colonizados e/ou infectados por bacilos Gram-negativos
multirresistentes**

Ribeirão Preto
2015

MARIANA CORRÊA COELHO SALOMÃO

**Uso de simbiótico para prevenção de infecções hospitalares em pacientes colonizados
e/ou infectados por bacilos Gram-negativos multirresistentes**

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Departamento de Medicina Social, da Faculdade
de Medicina de Ribeirão Preto - USP, para
obtenção do título de mestre em Saúde na
Comunidade.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Bellissimo
Rodrigues

Ribeirão Preto

2015

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Coelho-Salomão, Mariana Corrêa

Uso de simbiótico para prevenção de infecções hospitalares em pacientes colonizados e/ou infectados por bacilos Gram-negativos multirresistentes. Ribeirão Preto, 2015.

98 p. : il. : 30cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Saúde da Comunidade.

Orientador: Rodrigues, Fernando Bellissimo.

1.Probiótico. 2. Prebiótico. 3.Simbiótico. 4.Infecção hospitalar.
5. Bacilos Gram-negativos.

Nome: COELHO-SALOMÃO, Mariana Corrêa

Título: Uso de simbiótico para prevenção de infecções hospitalares em pacientes colonizados e/ou infectados por bacilos Gram-negativos multirresistentes.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Departamento de Medicina Social, da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP, para obtenção do título de mestre em Saúde na Comunidade.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr.	_____	Instituição:	_____
Julgamento:	_____	Assinatura:	_____
Prof. Dr.	_____	Instituição:	_____
Julgamento:	_____	Assinatura:	_____
Prof. Dr.	_____	Instituição:	_____
Julgamento:	_____	Assinatura:	_____

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho a todos os profissionais de saúde, que sonham com melhores condições de saúde para a população, que se esforçam todos os dias para fazer a diferença na vida daqueles, pelos quais um dia juramos cuidar com comprometimento, amor, empenho e honestidade.

Dedico também a você, Lazinho, já em outra dimensão, um eterno e precioso amigo, fonte de inspiração e modelo de ser humano capaz de enxergar além e ver o bem acima de tudo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus, pela vida, pela saúde, por ser parte de mim, presente em todos os momentos de minha vida pessoal e profissional.

Ao meu marido, meus pais e irmãs, porto seguro em todos os momentos, fontes de apoio e de encorajamento.

À minha irmã de coração, Rivian Faiolla, a minha gratidão por tudo o que você significa para mim.

Agradeço enormemente ao meu orientador, Prof. Dr. Fernando Bellissimo Rodrigues, por me guiar nessa trajetória, pelos ensinamentos, pela disponibilidade, paciência e principalmente pela compreensão nos momentos necessários.

Ao Mário Augusto Heluany Filho, microbiologista e pesquisador colaborador, peça fundamental para o desenvolvimento deste trabalho.

À equipe de profissionais da Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) do HC FMRP Campus, que me deram suporte técnico, incentivo e acima de tudo oportunidade de conviver com seres humanos ímpares e especiais.

À Equipe da Unidade de Pesquisa Clínica, parte fundamental na condução clínica desse ensaio experimental. Sem vocês esse trabalho provavelmente não teria se concretizado.

Agradeço às equipes multiprofissionais das enfermarias de clínica e cirurgia, do centro de terapia intensiva, unidade coronariana, unidade de transplante renal do HC FMRP-USP, unidade Campus, que participaram de maneira concreta e realista do cotidiano desse ensaio clínico.

Agradeço aos pacientes e seus familiares, todos eles, incluindo aqueles que não participaram, mas que de alguma forma, disponibilizaram seu tempo e suas realidades, compartilhando suas vivências de angústias e esperança de um futuro com mais saúde e menos sofrimento.

Aos professores do Departamento de Medicina Social envolvidos nessa jornada pessoal, bem como aos secretários do Departamento, Paula Maria Pereira e Sérgio Carlos do Nascimento.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo apoio financeiro para a realização dessa pesquisa.

RESUMO

COELHO-SALOMÃO, M.C. **Uso de simbiótico para prevenção de infecções hospitalares em pacientes colonizados e/ou infectados por bacilos Gram-negativos multirresistentes.** 2015. 98 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2015.

Nas últimas décadas, a incidência de infecções hospitalares causadas por bactérias Gram-negativas multirresistentes vem crescendo de maneira vertiginosa em todo o mundo, de modo que a Organização Mundial de Saúde (OMS) recentemente reconheceu essas infecções como uma preocupação mundial devido ao seu impacto negativo sobre as taxas de mortalidade intra-hospitalar e dos custos da assistência à saúde, afetando tanto os países desenvolvidos quanto os em desenvolvimento. Atualmente considera-se que o uso racional de antimicrobianos, a higienização das mãos e o isolamento de contato são as principais medidas disponíveis para contenção desse avanço. Porém, elas são apenas parcialmente efetivas e de implementação trabalhosa e onerosa. Assim, considera-se necessário o desenvolvimento de formas mais simples e eficientes para lidar com esse problema. No presente estudo, nos propusemos a avaliar o impacto da administração de um produto simbiótico a pacientes colonizados e/ou infectados por bactérias Gram-negativas multirresistentes sobre a incidência subsequente de infecções hospitalares relacionadas ao trato respiratório e urinário. Trata-se de um ensaio clínico randomizado, duplamente cego, controlado com placebo, cuja intervenção consistiu na administração oral ou enteral diária de 10^{10} unidades de *Lactobacillus bulgaricus* e 10^{10} unidades de *Lactobacillus rhamnosus* associados a fruto-oligosacarídeos durante 7 dias, a pacientes internados em um hospital terciário, com colonização prévia por bactérias Gram-negativas multirresistentes, demonstrada por meio de cultura seletiva de swab retal. O desfecho primário do estudo foi a incidência de infecção hospitalar posterior à intervenção, que, na análise do tipo “intenção de tratar” foi 18/48 (37,50%) no grupo experimental e 12/53 (22,64%) no grupo controle (odds ratio ajustado=1,95, IC95%=0,69-5,50, $p=0,21$). Os desfechos secundários principais, também de acordo com a análise “intenção de tratar”, foram: o tempo de internação hospitalar; sendo a mediana de 17 dias no grupo controle e 31 dias no grupo experimental ($p=0,07$), taxas de óbito; com valores de 3,77% no grupo placebo e 8,33% no grupo simbiótico (odds ratio ajustado = 1,34, IC95%= 0,45–4,00, $p=0,61$) e ocorrência de eventos adversos; 7,55% no grupo que utilizou placebo e 6,25% no grupo sob intervenção ($p=1,00$). Os dados obtidos pelo estudo nos levam à conclusão de que o simbiótico estudado demonstrou-se inefetivo na prevenção de infecções hospitalares do trato respiratório e urinário em pacientes colonizados e/ou infectados por bactérias Gram-negativas multirresistentes.

Palavras-Chave: Probiótico. Prebiótico. Simbiótico. Infecção hospitalar. Bacilos Gram-negativos.

ABSTRACT

COELHO-SALOMÃO, M.C. **Use of a symbiotic product to prevent nosocomial infections in patients colonized and/or infected by multi-resistant Gram-negative bacilli.** 2015. 98 f. Master of Science thesis – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2015.

In recent decades the incidence of multidrug resistant Gram-negative nosocomial infections has been dramatically raising in the whole world. The World Health Organization (WHO) recently recognized nosocomial infections as a global concern due to its negative impact on patients, health care workers and health care institutions, affecting developed countries as well as developing ones. They negatively impact in-hospital mortality and healthcare related costs. Antibiotic stewardship, hand hygiene promotion and contact precautions are the main available measures to control such multidrug resistant Gram-negative organisms in hospitals. However, they are only partially effective as well as difficult to be implemented and expensive. Therefore, simpler and more effective actions are thought to be helpful and urgent. In the main study, we propose to analyze the impact of the administration of a symbiotic product on patients colonized and/or infected by Gram-negative multidrug resistant bacteria upon the subsequent incidence of respiratory and urinary tract nosocomial infections. A randomized, double- blinded, placebo controlled, clinical trial was proposed in order to provide oral or enteral daily administration of 10^{10} units of *Lactobacillus bulgaricus* and 10^{10} units of *L. rhamnosus* associated with fructo-oligosacharide (FOS) during 7 days, to previously colonized patients with multi-resistant Gram-negative bacteria, identified through selective culture of rectal swab, hospitalized in a tertiary-care hospital. The primary outcome was the incidence of nosocomial infections after the intervention, which in the “intention to treat” analysis was 18/48 (37,50%) in the experimental group versus 12/53 (22,64%) in the control group (adjusted odds ratio= 1,95, IC95%= 0,69-5,50, p=0,21). Secondary outcomes, according to “intention to treat analysis”, were hospital length of stay: median of 17 days in the control group and 31 days in the symbiotic group (p= 0,07), mortality rates: 3,77% in the placebo group versus 8,33% in the experimental group (adjusted odds ratio = 1,34, IC95%= 0,45 – 4,00, p= 0,61) and adverse effects: 7,55% in the control group and 6,25% in the intervention group (p= 1,00). The results of this study leads to the conclusion that the studied symbiotic proved to be ineffective to prevent nosocomial respiratory and urinary tract infections in patients colonized and/or infected by Gram-negative multi-resistant bacteria.

Keywords: Probiotic. Prebiotic. Symbiotic. Nosocomial infection. Gram-negative bacilli.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Placa de cultivo microbiológico com o simbiótico e o placebo testados ... 32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Critérios de multirresistência bacteriana adotados no estudo	29
Tabela 2-	Dados demográficos e clínicos dos grupos placebo e simbiótico	37
Tabela 3-	Locais de internação dos pacientes incluídos	38
Tabela 4-	Detalhamento das unidades de internação dos pacientes incluídos	39
Tabela 5-	Bactérias Gram-negativas multirresistentes isoladas em cultura clínica antes da intervenção	40
Tabela 6-	Locais de isolamento de bacilos Gram-negativos multirresistentes antes da intervenção	41
Tabela 7-	Uso de antimicrobianos nos grupos placebo e simbiótico durante a intervenção	41
Tabela 8-	Variáveis clínicas observadas durante a intervenção como possíveis fatores de risco para os desfechos observados	42
Tabela 9-	Número de doses utilizadas de simbiótico ou placebo e via de administração	44
Tabela 10-	Ocorrência de Infecções Hospitalares (IH) detectadas durante o estudo segundo análise “intenção de tratar” (ITT)	44
Tabela 11-	Ocorrência de Infecções Hospitalares (IH) detectadas durante o estudo segundo análise “per protocol”	45
Tabela 12-	Tempo de internação sem IH e de uso de antibioticoterapia	46
Tabela 13-	Desfechos observados segundo a análise “intenção de tratar” (ITT)	46
Tabela 14-	Desfechos observados segundo a análise “per protocol”	47
Tabela 15-	Análise multivariada, através de regressão logística, dos fatores de risco para o desfecho IH	47
Tabela 16-	Análise multivariada, através de regressão logística, dos fatores de risco para o desfecho óbito	48
Tabela 17-	Eventos adversos segundo a análise “intenção de tratar” (ITT).....	48

LISTA DE SIGLAS

IH	Infecção Hospitalar
ITU	Infecção do Trato Urinário
PAV	Pneumonia Associada a Ventilação Mecânica
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
MRSA	<i>S. aureus</i> Meticilino-Resistentes
VRE	Enterococcus faecium Resistente a Vancomicina
CTI	Centro de Terapia Intensiva
OMS	Organização Mundial da Saúde
FOS	Fruto-oligossacarídeos
HC FMRP USP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
HIV/AIDS	Vírus da imunodeficiência humana/ Síndrome da imunodeficiência adquirida
CCIH	Comissão de Controle de Infecção Hospitalar
UPC	Unidade de Pesquisa Clínica
RNPC	Rede Nacional de Pesquisas Clínicas
DPOC	Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
DAC	Doença Coronariana Crônica
IRA	Insuficiência Renal Aguda
IRC	Insuficiência Renal Crônica
UCO	Unidade Coronariana
NEC	Neurocirurgia
UTR	Unidade de Transplante Renal
VM	Ventilação Mecânica
SNG	Sonda Nasogástrica
SNE	Sonda Nasoentérica
SVD	Sondagem Vesical de Demora
SVA	Sondagem Vesical de Alívio
PNM	Pneumonia

Sumário

1. INTRODUÇÃO	14
1.0 Introdução	15
1.1 Contextualizando infecção hospitalar	15
1.2 Definindo conceitos e conhecendo os custos das infecções hospitalares	16
1.3 O cenário da multirresistência bacteriana	17
1.4 Medidas de prevenção contra bactérias multirresistentes	20
1.5 Novo método de prevenção contra bactérias multirresistentes – Será possível?	21
2. OBJETIVOS	25
2.0 Objetivos	26
2.1 Objetivo primário	26
2.2 Objetivos secundários	26
3. MATERIAIS E MÉTODOS	27
3.0 Materiais e Métodos	28
3.1 Delineamento do estudo	28
3.2 Local de estudo e amostra	28
3.3 Critérios de inclusão e exclusão	29
3.4 Aspectos éticos	30
3.5 Randomização e ocultamento da alocação	31
3.6 Assegurando a viabilidade dos <i>Lactobacillus</i>	31
3.7 Recrutamento, instrumento de busca e coleta de dados	32
3.8 Equipe envolvida e implementação do estudo	33
3.9 Tamanho amostral	34
3.9.1 Preparação e análise dos dados coletados	34
4. RESULTADOS	35
4.0 Resultados	36
4.1 Fluxo dos participantes	36
4.2 Dados colhidos antes do início da intervenção	37
4.3 Dados referentes ao período de intervenção	41
5. DISCUSSÃO	50

5.0 Discussão	51
5.1 Discutindo os fatores de risco para o desenvolvimento de infecções respiratórias nosocomiais.	51
5.2 Discutindo os fatores de risco para o desenvolvimento de infecções urinárias nosocomiais	55
5.3 Efeitos de probiótico/simbiótico na duração da internação hospitalar	57
5.4 Efeitos de probiótico/simbiótico nas taxas de mortalidade hospitalar	57
5.5 Dispositivos invasivos e IH de acordo com a análise multivariada.	58
5.6 Um olhar de esperança para o uso futuro de probióticos/simbióticos?	58
6. CONCLUSÕES	60
6.0 Conclusões	61
7. LIMITAÇÕES DO ESTUDO	62
7.0 Limitações do estudo	63
REFERÊNCIAS	64
Referências*	65
ANEXOS	80
Anexos	81
ANEXO A: Aprovação pelo Comitê de Ética	81
ANEXO B: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	82
ANEXO C: Metodologia laboratorial de detecção de bacilo Gram-negativo multirresistente	84
ANEXO D: Ficha Clínica	90
ANEXO E: Critérios diagnósticos de IH definidos e atualizados pela ANVISA (BRASIL, 2013)	93

1. INTRODUÇÃO

1.0 Introdução

1.1 Contextualizando infecção hospitalar

As bactérias são parte integral e inseparável da vida na terra. Elas são encontradas em qualquer lugar, revestem a pele, as mucosas e cobrem o trato intestinal dos homens e dos animais (SANTOS, 2004). Mais de 1000 espécies de bactérias já foram identificadas no intestino humano, além de fungos comensais e espécies virais (QIN et al., 2010; ECKBURG et al., 2005; WANG et al., 2014a). Elas estão intrinsecamente ligadas às vidas de organismos e aos amplos ambientes em que habitam. Muitas bactérias são inofensivas, outras benéficas para seu hospedeiro (homem, animal, planta) e provêm nutrientes ou proteção contra patógenos e doenças, limitando a habilidade de colonização de bactérias nocivas (SANTOS, 2004). Outras, no entanto, são patogênicas, ocasionando processos infecciosos, potencialmente fatais.

A infecção hospitalar (IH) é um problema tão antigo quanto os primeiros estabelecimentos que surgiram com o objetivo de albergar pessoas doentes (SANTOS, 2004). Mesmo assim continua causando grande preocupação e impacto em termos de saúde pública no âmbito mundial, por ser uma complicação potencialmente prevenível, por prolongar tempo de internação e custos hospitalares, pelo sofrimento humano causado, perda de produtividade e morte.

Em 1847, Ignaz Semmelweis publicou um trabalho que viria a confirmar definitivamente a hipótese da transmissão de doença intra-hospitalar (FONTANA, 2006). Ele demonstrou que a incidência da infecção puerperal era maior nas parturientes assistidas por médicos do que nas assistidas por parteiras e, após muita investigação, detectou que as mãos e os objetos contaminados eram os veículos responsáveis pela transmissão de infecção (NATIONAL NOSOCOMIAL INFECTIONS SURVEILLANCE (NNIS), 1999; PALMER, 1986). Estabeleceu, então, a lavagem das mãos para todos os estudantes e médicos provenientes da sala de anatomia, com uma solução de ácido clórico, ao entrar nas salas de Clínica Obstétrica. Durante um período de mais de 150 anos, desde que Ignaz Semmelweis fixou esse aviso na porta da Clínica Obstétrica no Hospital Geral de Viena, em 1846, até os nossos dias, inúmeras descobertas possibilitaram o conhecimento da causa, epidemiologia, profilaxia e tratamento das infecções hospitalares (TIPPLE, 2003).

Uma das mais importantes descobertas do século XX foi a da penicilina, por Fleming. Desde então, novos antibióticos foram surgindo e por muito tempo criou-se a ilusão de termos vencido a batalha contra as bactérias e processos infecciosos. Entretanto, o uso abusivo e indiscriminado dos antimicrobianos acabou gerando o problema da multirresistência bacteriana, esgotando os recursos terapêuticos e levando a um retrocesso à era pré-penicilina, quando nos deparamos com doenças infecto-contagiosas sem recursos terapêuticos disponíveis para combatê-las (MANANGAN et al., 2002; MONNET, 2000; NNIS, 1999).

1.2 Definindo conceitos e conhecendo os custos das infecções hospitalares

Denomina-se infecção hospitalar ou nosocomial aquela infecção adquirida após a admissão do paciente e que se manifeste durante a internação ou após a alta, quando puder ser relacionada com a internação ou procedimentos hospitalares (BRASIL, 1998). Representa atualmente uma das maiores fontes de danos evitáveis em saúde e uma grande ameaça à segurança do paciente hospitalizado (KOHN; CORRIGAN; DONALDSON, 1999; LEAPE et al., 1991). Análises recentes indicam que, pelo menos, 50% das infecções hospitalares podem ser prevenidas e evitadas (PROVONOST et al., 2006).

Pneumonia hospitalar pode ser definida como um processo infeccioso do trato respiratório inferior, envolvendo o parênquima pulmonar, que ocorre após 48 horas de internação e que não estava incubada no momento da admissão do paciente no hospital (DIRETRIZES, 2007). É a segunda infecção mais comumente adquirida nos hospitais norte-americanos (15 a 20% do total), perdendo apenas para infecções do trato urinário (ITU) (TABLAN et al., 2004). Produz custos adicionais em média de US\$ 40.000 por episódio, prolonga a permanência hospitalar entre 7 e 9 dias e está relacionada à pior evolução do paciente (CHASTRE; FAGON, 2002; FAGON et al., 1993; RELLO et al., 2002). Já em relação à infecção urinária hospitalar, sabe-se que é responsável por aproximadamente 32% das infecções, sendo a infecção nosocomial mais frequente, ocorrendo na maioria das vezes após a inserção de sondagem vesical, cuja indicação muitas vezes é a conveniência, sendo a sua retirada facilmente esquecida (FAKIH et al., 2010; GOKULA; HICKNER; SMITH, 2004; JAIN et al., 1995).

As infecções nosocomiais ocorrem em todo o mundo e afetam tanto países desenvolvidos quanto países em desenvolvimento. Constituem-se como um dos principais

problemas de saúde pública nos países desenvolvidos, cujos números de incidência globais oscilam entre 4 e 9 casos por cada 100 internações hospitalares (EGGIMANN; PITTET, 2001). No Brasil, a taxa média de infecção hospitalar é de cerca 15%, no entanto, cabe lembrar, que o índice de infecção hospitalar varia significativamente, pois está diretamente relacionada com o nível de atendimento e complexidade de cada hospital (TABLAN et al, 2004; BRASIL, 2004).

Nos Estados Unidos estima-se que dois milhões de infecções hospitalares ocorram por ano, com custos anuais em torno de 9.8 bilhões de dólares, sendo que infecções de sítio cirúrgico contribuem com a maioria dos custos, com 33,7%, seguida pela pneumonia associada à ventilação mecânica (PAV), com 31,6%, infecção de corrente sanguínea relacionada a dispositivo invasivo, com 18,9%, infecção por *Clostridium difficile*, com 15,4% e ITU, com menos de 1% dos custos totais. Infecção de corrente sanguínea relacionada à catéter responde pela infecção hospitalar de maior custo individual (US\$ 45.814), seguida pela PAV (US\$ 40.144), pela infecção de sítio cirúrgico (US\$ 20.785), pela infecção por *C. difficile* (US\$ 11.285) e ITU relacionada à sondagem vesical (US\$ 896) (ZIMLICHMAN et al., 2013).

1.3 O cenário da multirresistência bacteriana

Na atualidade, a resistência bacteriana adquirida é descrita em praticamente todas as espécies de bactérias. A importância do problema coincide com a introdução e a ampla utilização de inúmeros antimicrobianos na década de 1950, expandindo-se a partir de 1960, com a introdução dos novos antibióticos beta-lactâmicos, e agravando-se nas décadas de 1980 e 1990, com o surgimento de novas formas de resistência e a disseminação de germes multirresistentes. A importância das substâncias antimicrobianas no aumento do fenômeno da resistência reside no seu papel selecionador dos exemplares resistentes, através da pressão seletiva resultante de seu emprego clínico (humano e veterinário), industrial (conservação de alimentos), comercial (engorda de animais) e experimental (BUU-HOI; GOLDSTEIN; ACAR, 1986; FEINMAN, 1998; LINTON, 1984; SAUNDERS, 1984; SUASSUNA; SUASSUNA, 1971; WITTE, 1998; WORLD HEALTH ORGANIZATION SCIENTIFIC WORKING GROUP, 1983).

Multirresistência bacteriana é atualmente um problema mundial, já que todas as regiões globais enfrentam seus efeitos na prática clínica. Ela representa a evolução contínua

na luta pela sobrevivência das espécies e que se manifesta quer pela capacidade de sofrer mutações, quer pela troca de material genético entre as espécies bacterianas. No primeiro caso, trata-se da pressão seletiva afetada principalmente pelas práticas inadequadas de prescrição de antimicrobianos; o segundo está relacionado com a transmissão cruzada (JOLY-GUILLOU; REGNIER, 2005). Um estudo recente mostrou que de 384 prescrições avaliadas em um hospital da Etiópia, 223 erros de prescrição foram encontrados, o que equivale a 58% do total de prescrições, sendo que, prescrições incompletas e erros de dose foram os erros mais comuns. Antibiótico foi a classe de medicamento mais sujeita a erros, totalizando 54,26% (ZELEKE; CHAINE; WOLDIE, 2014).

Rice (2008) denominou os patógenos *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter sp de “ESKAPE”*, para enfatizar que, estes são atualmente os maiores causadores de infecções hospitalares nos Estados Unidos e conseguem, muitas vezes com total êxito, escapar dos mecanismos de ação dos antimicrobianos (BOUCHER; COREY, 2008). Dados do Centers for Disease Control and Prevention (CDC, 2012) revelam um rápido aumento nas taxas de infecção ocasionadas por *S. aureus* metilino-resistentes (MRSA), *E. faecium* resistente à Vancomicina (VRE) e *Pseudomonas aeruginosa* resistente a fluorquinolonas.

O cenário é ainda pior nas infecções por bactérias Gram-negativas multirresistentes, uma vez que são as infecções nosocomiais que mais crescem no mundo, em especial as ocasionadas por cepas de bactérias como *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* com susceptibilidade reduzida à praticamente todas as drogas disponíveis para uso clínico. Nesse contexto, sabemos que as opções terapêuticas são tão escassas que médicos têm sido forçados a usar drogas antigas, como por exemplo a Polimixina, criada em 1947, cujo uso havia sido abandonado no passado por sua toxicidade (FALAGAS; BLIZIOTIS, 2007; FALAGAS; KASIAKOU, 2005; SOULI; GALANI; GIAMARELLOU, 2008).

Klebsiella spp. é constituinte da microbiota endógena do trato gastrointestinal humano, inclusive da flora bucal. Das espécies patogênicas, a *K. pneumoniae* é a mais prevalente e dotada de relevância clínica. Apesar de ser intrínseca à flora humana habitual, infecções por *K. pneumoniae* são habitualmente adquiridas por via hospitalar e mais frequentes nos pacientes com alguma imunossupressão, inata ou adquirida. Pacientes hospitalizados chegam a ter taxas de colonização por essa enterobactéria de 77%, quando pesquisados por material fecal, 19% na faringe e 42% nas mãos dos pacientes hospitalizados, segundo Podschun e Ullmann (1998). As elevadas taxas de colonização correlacionam-se com o uso prévio de antibióticos

(ASENSIO et al., 2000; PODSCHUN; ULLMANN, 1998; POLLACK et al., 1972) e são extremamente relevantes já que a incidência de infecções nosocomiais por *Klebsiella* spp. é quatro vezes maior nos pacientes colonizados, identificados por investigação fecal (SELDEN et al., 1971). Estima-se que esse bacilo Gram-negativo seja responsável por 3 a 8% de todas as infecções bacterianas hospitalares estadunidenses, especialmente pelas infecções do trato urinário, pneumonia e infecção primária de corrente sanguínea (PODSCHUN; ULMANN, 1998; SCHABERG; CULVER; GAYNES, 1991). São fatores de risco para infecções por *Klebsiella* spp de relevância significativa: uso prévio de antimicrobianos, presença de dispositivos invasivos, tais como sondas vesicais, cânulas endotraqueais e catéteres intravasculares (ASENSIO et al., 2000; HANSEN; GOTTSCHAU; KOLMOS, 1998; PODSCHUN; ULMANN, 1998;).

Acinetobacter baumannii é um bacilo Gram-negativo, de extrema importância atual como agente etiológico de infecções hospitalares em todo mundo, especialmente relevante no cenário da multirresistência bacteriana. Possui a habilidade de adquirir diversos e simultâneos mecanismos diferentes de resistência, levando à emergência de cepas atualmente resistentes a praticamente todos os antibióticos comercialmente disponíveis (LOLANS et al., 2006). Em 2008 um estudo americano, conduzido pelo National Healthcare Safety Network (NHSN), revisou os agentes bacterianos Gram-negativos, mais frequentes na gênese de infecções hospitalares em centros de terapia intensiva (CTI) (HIDRON et al., 2008). *Acinetobacter baumannii* foi responsável por 8,4% do total de PAV, 2,2% de infecções de corrente sanguínea relacionada à catéter intravascular, 1,2% de infecções do trato urinário relacionadas à sondagem vesical e 0,6% de infecções de sítio cirúrgico. Infecções por *A. baumannii* tendem a ocorrer em pacientes criticamente enfermos (MUNOZ-PRICE et al., 2013) e entre residentes de instituições de longa permanência, especialmente aquelas que albergam doentes dependentes de ventilação mecânica. Como fatores de risco adicionais no paciente adulto, podemos citar: pós-operatório recente, presença de acesso venoso central, de traqueostomia, ventilação mecânica, nutrição enteral e tratamento prévio com cefalosporinas de terceira geração, fluorquinolonas ou carbapenêmicos (GARNACHO-MONTERO et al., 2005; MANIKAL et al., 2000; VILLERS et al., 1998). Surtos dramáticos em diversos hospitais foram descritos nos Estados Unidos, Europa, América do Sul, África, Ásia e Oriente Médio, ou seja, em todo o mundo (COELHO et al., 2006; LOLANS et al., 2006; MANIKAL et al., 2000; NAAS et al., 2006), sendo que a ocorrência muitas vezes foi identificada com a mesma origem monoclonal bacteriana sugerindo uma disseminação além de intra-hospitalar, inter-

hospitalar, presumivelmente através da transferência de pacientes colonizados e/ou infectados e equipe de saúde comum a diversos ambientes de trabalho.

Pseudomonas aeruginosa, um bacilo Gram-negativo não fermentador, também é reconhecido e respeitado por seu potencial patogênico principalmente no ambiente hospitalar. Apesar de ser um organismo ubíquo, chamando a atenção por sua predileção pelos meios aquáticos (FAVERO et al., 1971; WARBUTON; BOWEN; KONKLE, 1994), é no ambiente hospitalar que recebe considerável atenção por ser responsável por: 17% das pneumonias nosocomiais (2º agente mais comum), 7% das ITU (sendo o 3º agente mais prevalente), 8% das infecções de sítio cirúrgico (4º agente), 2% das infecções de corrente sanguínea (7º agente) e 9% das infecções dos outros sítios remanescentes (5º agente).

Por aproximadamente quatro décadas (de 1940 a 1970) a indústria farmacêutica avançou e produziu novas classes de drogas antimicrobianas, incluindo antibióticos com novos mecanismos contra o desenvolvimento de resistência às opções terapêuticas iniciais. Desde então, apenas três antibióticos (quinupristina-dalfopristina, linezolida e daptomicina), incluindo duas novas classes (oxazolidinonas e lipopeptídeo) estão no mercado para tratar infecções causadas por bactérias Gram-positivas multirresistentes (CHOPRA et al., 2008).

As intervenções tecnológicas do século 21 prolongaram a expectativa de vida e melhoraram significativamente a qualidade de vida da população, proporcionando recursos como cirurgias cardíacas, transplantes, quimioterapia, implantes protéticos, recursos estes que, para serem bem sucedidos, requerem vigilância rigorosa e manejo eficaz de possíveis complicações infecciosas (WRIGHT, 2014). O número crescente de pacientes submetidos a tais procedimentos intervencionistas (diagnósticos e terapêuticos) e o aumento dramático da população neonatal e geriátrica está produzindo um número ainda maior de indivíduos imunodeprimidos, susceptíveis a internações hospitalares e, conseqüentemente, a infecções nosocomiais, em especial por patógenos multirresistentes com suas devastas conseqüências (CHOPRA et al., 2008).

1.4 Medidas de prevenção contra bactérias multirresistentes

Diversas medidas têm sido preconizadas para controle da transmissão dos agentes multirresistentes, especialmente em unidades críticas como CTI e unidades de transplante. Podemos citar medidas administrativas, como adequado número de profissionais, laboratório

de microbiologia competente e atualizado, o uso racional dos antimicrobianos, retirada precoce dos dispositivos invasivos, higienização das mãos (técnica adequada e frequência necessária), máxima adesão às medidas de precaução de contato, higiene corporal com clorexidine a 2% e o uso de quarto privativo para populações específicas, utilização dos pacotes de medidas (bundles) já estabelecidos para prevenção de infecção por sítio corporal, além de educação continuada dos profissionais de saúde (CDC, 2012). Entretanto, evidências de muitas dessas intervenções são baseadas em estudos pequenos, quasi-experimentais e requerem educação continuada e adesão máxima de toda equipe multiprofissional envolvida no cuidado em saúde (DERDE et al., 2014).

A prevenção da colonização dos pacientes por bactérias multirresistentes é uma iniciativa para a redução das infecções hospitalares, uma vez que significativa porcentagem destes pacientes desenvolverá infecção pelos agentes multirresistentes colonizadores. Estratégias baseadas na administração profilática de antibióticos (como descolonização seletiva gastrintestinal) poderia ser proposta nesse contexto para prevenir infecções endógenas e exógenas e reduzir a mortalidade especialmente na população criticamente enferma. Muito embora a eficácia da descontaminação seletiva do trato gastrintestinal tenha sido confirmada por ensaios clínicos randomizados controlados e revisões sistemáticas (SILVESTRI; VAN SAENE; PETROS, 2012), ela permanece como uma medida controversa, devido à possibilidade de promoção ainda maior da resistência bacteriana com o uso continuado de agentes antimicrobianos por um largo contingente de pessoas. Piora o cenário, o escasso desenvolvimento da indústria farmacêutica no setor de novos antimicrobianos. Nesse contexto, a emergência de novos métodos não dependentes de antibióticos, como a administração de simbióticos parece promissora.

1.5 Novo método de prevenção contra bactérias multirresistentes – Será possível?

Há mais de um século, observações feitas por Elie Metchnikoff, a respeito da longevidade da população búlgara (que fazia uso de iogurtes com bactérias ácido-láticas) se constituíram no fundamento do conceito de probióticos, reintroduzido 60 anos mais tarde, por Lilly e Stillwell. A Organização Mundial da Saúde (OMS) define probióticos como microrganismos viáveis, considerados não patogênicos para o ser humano que, quando administrados vivos por via oral ou enteral, em quantidades pré-definidas, podem produzir

algum benefício clínico à saúde. Entre os mais estudados, podemos citar as bactérias do gênero *Lactobacillus* spp, *Bifidobacterium* e o fungo *Saccharomyces boulardii*, sendo que as primeiras são consideradas mais seguras, já que eventualmente *S. boulardii* pode causar fungemia (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO): WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), 2001; MILLAR et al., 1993).

Os mecanismos de ação dos probióticos contra patógenos do trato gastrointestinal consistem principalmente na competição por nutrientes e sítios de ligação, produção de metabólitos antimicrobianos, mudanças nas condições do ambiente, levando à redução da colonização intestinal bem como a translocação bacteriana e modulação da resposta imune do hospedeiro incluindo incremento da atividade fagocítica de neutrófilos e atividade citotóxica das células natural killers (TIEN; GIRARDIN, 2006).

Duas meta-análises baseadas em sete e nove ensaios clínicos concluíram que a suplementação neonatal de probióticos reduz a incidência de enterocolite necrotizante em pré-termos, diarreia, distensão abdominal e cólicas abdominais e propicia atingir nutrição enteral completa mais precocemente (ALFALEH; BASSLER, 2008; BIN-NUM et al., 2005; LI et al., 2004; MANZONI et al., 2006; MILLAR et al., 1993; WAGNER et al., 2000). Além dos efeitos supracitados, a administração de probióticos comprovadamente auxilia na prevenção de atopia em crianças (FOOLAD et al., 2013).

Um ensaio clínico, randomizado, duplo-cego, controlado com placebo, evidenciou significativa redução na colonização gastrointestinal por espécies de *Candida* entre pré-termos de baixo peso e extremo baixo peso que receberam probióticos além de comprovada redução nas taxas de infecção no grupo que recebeu probiótico bem como de sepse fúngica por *C. albicans* e *C. glabrata* comparado com grupo placebo (ROY et al., 2014).

Esses efeitos parecem ser mediados pela interação dos probióticos com o sistema imune, além do seu papel competitivo com alguns agentes patogênicos (LIN et al., 2005; RAUTAVA, 2007). Além dessas indicações, podemos citar estudos clínicos com resultados promissores de probióticos para prevenção de colite ulcerativa (BOHM; KRUIS, 2006), Doença de Crohn, em que o uso combinado de probiótico com mesalazina reduziu a recorrência pós-operatória da doença quando comparado com o grupo que recebeu apenas o antibiótico (CAMPIERI; GIONCHETTI, 1999). Destacamos ainda a redução da incidência de diarreia relacionada ao *Clostridium difficile* (HICKSON et al., 2007) especialmente na população idosa (PLUMMER et al., 2004).

A presença de *Lactobacillus* na microflora urogenital de mulheres saudáveis e a sua ausência em pacientes que desenvolvem ITU (SCHAEFFER; STAMEY, 1977; SEDDON et

al., 1976; STAMEY, 1973), vaginose bacteriana e outras infecções genitais despertou o interesse no estudo dessa bactéria específica. O uso de probióticos em geral e especificamente de *Lactobacillus* recebeu grande atenção como uma alternativa barata e natural para restaurar e manter a saúde (CHANG, 1996; ELMER; SURAWICZ; McFARLAND, 1996; HAMILTON-MILLER, 1997; MCGROARTY, 1993; REID, 1996; SHALEV et al., 1996). Algumas espécies de *Lactobacillus*, dentre elas, GG e *rhamnosus*, aparentam ser eficazes na colonização e proteção da flora intestinal (BILLER et al., 1995; GORBACH; CHANG; GOLDIN, 1987; ISOLAURI et al., 1991; MILLAR et al., 1993; OKSANEN et al., 1990; SAXELIN; PESSI; SALMINEN, 1995; SIITONEN et al., 1990; WITTE, 1998) e urogenital (BRUCE; REID, 1988; BRUCE et al., 1992; HILTON; RINDOS; ISENBERG, 1995; REID; BRUCE; TAYLOR, 1995; REID; MILLSAP; BRUCE, 1994).

O termo prebiótico foi introduzido por Gibson e Roberfroid em 1995 para descrever suplementos alimentícios, mais especificamente, carboidratos não digeríveis, que podem ser benéficos ao hospedeiro através da estimulação seletiva da atividade e/ou do crescimento de microrganismos presentes no trato gastrintestinal. Adicionalmente, o prebiótico pode inibir a multiplicação de patógenos, garantindo benefícios adicionais à saúde do hospedeiro (GIBSON; ROBERFROID, 1995; MATTILA-SANDHOLM; MERCENIER, 2001; ROBERFROID, 2001). Esses componentes atuam mais frequentemente no intestino grosso, embora eles possam ter também algum impacto sobre os microrganismos do intestino delgado. Entre as substâncias prebióticas, destacam-se a lactulose, o lactitol, o xilitol, a inulina e alguns oligossacarídeos não digeríveis, como por exemplo, os fruto-oligossacarídeos (FOS). Os maiores efeitos benéficos dos prebióticos estão associados à otimização do metabolismo e funções do colón, como, por exemplo, na expressão ou mudança na composição de ácidos graxos de cadeia curta, aumento do peso fecal, redução do PH intestinal, aumento da expressão de proteínas de ligação e de certos biomarcadores do metabolismo lipídico e mineral e modulação do sistema imune (BOURNET et al., 2002; FORCHIELLI; WALKER, 2005; QIANG; YOUNGLIE; QIANBING, 2009).

Um produto referido como simbiótico é aquele no qual um probiótico e um prebiótico estão combinados.

A hipótese principal que subsidia o presente estudo é a de que a administração de um produto simbiótico possa, de maneira competitiva, reduzir a concentração intestinal de bacilos Gram-negativos multirresistentes, em pacientes colonizados por esses agentes, de modo a diminuir sua propensão ao desenvolvimento de infecções hospitalares do trato respiratório e

urinário. Até o presente momento, não temos conhecimento de estudo clínico que tenha avaliado essa hipótese.

Com essa hipótese em mente, desenvolvemos um estudo piloto para identificação dos microrganismos probióticos potencialmente eficazes a serem usados, dentre aqueles comercialmente disponíveis no Brasil, selecionando assim as espécies *Lactobacillus rhamnosus* e *Lactobacillus bulgaricus* para o ensaio clínico definitivo (COELHO et al., 2013) (informação verbal)¹.

¹ Informação fornecida por Coelho et al, em Berlim, no 23º Congresso Europeu de Microbiologia Clínica e Doenças Infecciosas, 2013.

2. OBJETIVOS

2.0 Objetivos

2.1 Objetivo primário

- ✓ Avaliar o impacto da administração do simbiótico em estudo, composto por 10^{10} unidades de *Lactobacillus rhamnosus*, 10^{10} unidades de *Lactobacillus bulgaricus* e fruto-oligossacarídeo, sobre a incidência de infecções hospitalares do trato respiratório e urinário, em pacientes internados, previamente colonizados e/ou infectados por bacilos Gram-negativos multirresistentes.

2.2 Objetivos secundários

- ✓ Avaliar o impacto da administração do simbiótico em estudo sobre o número de episódios de infecção hospitalar ocorridos durante a internação;
- ✓ Avaliar o impacto da administração do simbiótico em estudo sobre o tempo de internação hospitalar;
- ✓ Avaliar o impacto da administração do simbiótico em estudo sobre o risco de óbito intra-hospitalar bruto e atribuível às infecções hospitalares;
- ✓ Avaliar a incidência de eventos adversos relacionados à administração do simbiótico em estudo.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.0 Materiais e Métodos

3.1 Delineamento do estudo

A metodologia escolhida para condução dessa pesquisa foi ensaio clínico randomizado, duplo cego, controlado com placebo, já que ensaios clínicos são considerados padrão-ouro para determinação do efeito de uma intervenção proposta pelo pesquisador. Caracterizam-se pela sua natureza prospectiva, por comparar o valor de uma intervenção, seja ela terapêutica ou preventiva, sobre um grupo que não a recebe, denominado grupo placebo (ESCOSTEGUY, 1999).

A distribuição através de randomização foi proposta em 1923 por Fisher em pesquisas agrícolas e em 1926 foi aplicada pela primeira vez em um ensaio clínico, para testar o valor de um composto de ouro no tratamento da tuberculose. Também nesse ensaio há o primeiro relato da condição cega, isto é, as pessoas-alvo da intervenção desconheciam o tratamento recebido. Em 1938, em um estudo de Diehl sobre vacinação contra resfriado, o termo placebo foi utilizado pela primeira vez. O princípio da randomização se baseia no fato de que os participantes de um determinado estudo tenham a mesma probabilidade de receber tanto a intervenção a ser testada quanto o seu controle. A randomização adotada foi a simples, na qual os participantes são colocados diretamente nos grupos de estudo e controle, sem etapas intermediárias (ESCOSTEGUY, 1999).

3.2 Local de estudo e amostra

O estudo foi desenvolvido na unidade Campus do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HC FMRP- USP). Esta é uma instituição pública que possui 713 leitos ativos, distribuídos entre 29 especialidades médicas, e 6 unidades de terapia intensiva, focadas na assistência em neonatologia, pediatria geral, cardiologia clínica, cirurgia torácica, neurocirurgia e cuidado geral de adultos. A instituição é considerada referência na assistência à saúde em nível terciário para uma população de aproximadamente 3 milhões de habitantes vivendo ao redor de Ribeirão Preto. O HC FMRP-

USP possui laboratório de microbiologia próprio, o qual processa aproximadamente 3000 amostras clínicas por mês para bactérias aeróbias e anaeróbias, oriundas de pacientes internados e em regime ambulatorial. Para uniformizar de forma adequada a coleta e o transporte dos espécimes para cultura, o hospital disponibiliza, em sua rede interna de microcomputadores, um manual com instruções específicas para cada material a ser colhido.

3.3 Critérios de inclusão e exclusão

Os critérios de inclusão adotados tanto no estudo piloto, desenvolvido em 2012, quanto no estudo definitivo foram: pacientes adultos, internados nas enfermarias das especialidades clínicas e cirúrgicas do HC FMRP- USP Campus, com pelo menos uma cultura clínica com qualquer cepa de bactéria Gram-negativa multirresistente isolada pelo laboratório de microbiologia do serviço além de, swab retal contendo o mesmo perfil bacteriano, ou seja, bactéria Gram-negativa multirresistente, identificada por técnica conforme recomendação do CDC vista no anexo C.

Foram considerados critérios de exclusão a presença de doença abdominal obstrutiva ou perforativa, gestação tópica com feto vivo e imunossupressão grave, como aquela produzida por neoplasia hematológica, infecção avançada pelo HIV/AIDS com CD4 <200 ou uso de imunossupressores com repercussão hematológica ou em doses elevadas. Foram excluídos da pesquisa pacientes com as referidas condições clínicas acima citadas pelo risco potencial de translocação bacteriana a partir do trato digestivo para a corrente sanguínea.

O conceito de multirresistência utilizado baseou-se no critério de 2011 estabelecido pela Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) do referido hospital, como descrito a seguir.

Tabela 1. Critérios de multirresistência bacteriana adotados no estudo.

(Continua)

Bactéria	Resistente à
<i>Klebsiella sp</i> <i>E. coli</i>	Cefotaxima ou Ceftazidima ou Ceftriaxona ou Aztreonam ou Cefepime ou Imipenem ou Ertapenem ou Meropenem ou Polimixina

Tabela 1. Critérios de multirresistência bacteriana adotados no estudo.

Bactéria	Resistente à
<i>Citrobacter spp</i> <i>Enterobacter spp</i> <i>Serratia spp</i> <i>Proteus spp</i> <i>Providencia spp</i> <i>Morganella morganii</i>	(Ceftriaxona e Amicacina e Ciprofloxacina) ou Cefepime ou Imipenem ou Ertapenem ou Meropenem ou Polimixina
<i>Burkholderia cepacia</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Todas as amostras
<i>Acinetobacter sp</i>	Ampicilina-Sulbactam ou Imipenem ou Meropenem ou Polimixina (Ceftazidima e Amicacina e Ciprofloxacina)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Imipenem ou Meropenem ou Polimixina (Ceftazidima e Amicacina e Ciprofloxacina)

3.4 Aspectos éticos

Esse ensaio clínico foi projetado de acordo com as Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisas Envolvendo Seres Humanos (Resolução 196/1996 do Conselho Nacional de Saúde) e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HC FMRP-USP, processo HCRP nº 13914/2011, na data de 06/02/2012, conforme demonstrado no anexo A.

Além de preencher os critérios de inclusão acima descritos, foi exigida a assinatura do termo de consentimento dos candidatos elegíveis ou de seus responsáveis legais, no caso de pacientes com perturbação do nível de consciência, após serem devidamente esclarecidos sobre a natureza e objetivos da pesquisa, através de um “Termo de Consentimento Livre e Esclarecido”, que pode ser visualizado no anexo B, bem como de forma verbal pelos próprios pesquisadores.

A confidencialidade das informações dos pacientes foi preservada, uma vez que as análises de dados foram feitas de forma agrupada, e desvinculada da identificação dos participantes.

3.5 Randomização e ocultamento da alocação

Foi realizada uma randomização simples dos pacientes para receber um sachê de simbiótico, duas vezes ao dia, durante sete dias, contendo os probióticos *L. bulgaricus* e *L. rhamnosus*, 10 bilhões de unidades de cada um, associados a fruto-oligossacarídeo (FOS) e excipiente, constituído de 1% de estearato de magnésio e 99% de lactose, ou a mesma posologia de um sachê placebo contendo apenas o excipiente. Os sachês apresentavam exatamente a mesma embalagem e rótulo e seu conteúdo apresentava o mesmo aspecto, peso e odor, assegurando o desconhecimento de seu conteúdo à equipe de pesquisa e pacientes envolvidos, garantindo o caráter duplo cego do estudo.

A randomização foi realizada pela farmacêutica responsável pela confecção dos simbióticos e do placebo, não envolvida na alocação dos pacientes bem como em qualquer outra etapa da pesquisa. No rótulo dos sachês, além da posologia, constava apenas o número do tratamento, sendo que a codificação dos números de placebo e simbiótico foi entregue, em envelope fosco, lacrado pela farmacêutica, ao orientador que, apenas ao término da alocação de todos os pacientes, abriu o envelope e tomou conhecimento da referida codificação.

A alocação nos grupos, controle e intervenção, foi feita de maneira sigilosa, pela pesquisadora principal do projeto, sendo que os pacientes foram incluídos seguindo exatamente a sequência numérica crescente do número 1 ao número 116.

3.6 Assegurando a viabilidade dos *Lactobacillus*

Quando o recrutamento dos pacientes foi finalizado, alguns sachês não utilizados pelos pacientes incluídos foram enviados ao microbiologista associado à pesquisa para testar a viabilidade de seu conteúdo. O profissional semeou em placas de cultura o conteúdo do sachê constituído de placebo, onde não foi evidenciado crescimento de nenhum agente microbiológico, bem como de simbiótico, com crescimento bacteriano conforme o esperado e demonstrado na figura abaixo.

Figura 1. Placa de cultivo onde foi semeado sachê contendo apenas placebo, à esquerda e placa, à direita, evidenciando crescimento bacteriano onde foi semeado sachê com o simbiótico testado, constituído de *Lactobacillus rhamnosus* e *L. bulgaricus*.

3.7 Recrutamento, instrumento de busca e coleta de dados

A partir dos resultados obtidos com o projeto piloto, iniciou-se o ensaio clínico definitivo com a inclusão de pacientes de agosto de 2012 a dezembro de 2013. Ressalta-se que, também no projeto piloto, foram utilizados os mesmos critérios de inclusão, exclusão e exigida a assinatura do mesmo Termo de Consentimento.

A busca pelos pacientes candidatos à pesquisa foi realizada através do sistema informatizado de resultados de culturas positivas disponíveis para a CCIH do HC FMRP-USP Campus.

Uma ficha clínica, demonstrada no anexo 4, foi estruturada como instrumento de coleta das variáveis de interesse para posterior análise dos dados e desfechos observados. Nela há dados referentes ao perfil epidemiológico dos pacientes incluídos, às variáveis relevantes para o desenvolvimento de infecções nosocomiais e aos desfechos. Para auxiliar no correto preenchimento da ficha clínica durante a internação foi realizada revisão do prontuário médico em busca dos dados clínicos, dos resultados laboratoriais e radiológicos, bem como prescrições de antibióticos que comprovassem a ocorrência das infecções investigadas, causadas por bactérias Gram-negativas multirresistentes. Na maioria das enfermarias em que os pacientes estavam internados, visitas semanais da equipe da CCIH do HC FMRP-USP aconteciam, dando melhor acurácia ao quadro clínico dos pacientes incluídos e corroborando os dados coletados. Além disso, sete dias após a alta hospitalar, foi realizado contato

telefônico com os pacientes ou seus responsáveis, a fim de rastrear os pacientes que, após a alta, desenvolveram infecção relacionada à atual internação ou, feita busca por meio do sistema informatizado do hospital pelos pacientes que estiveram em retorno ambulatorial até 7 dias após a alta, com as respectivas receitas examinadas e exames laboratoriais e radiológicos checados para a busca de possíveis infecções nosocomiais.

3.8 Equipe envolvida e implementação do estudo

A pesquisadora principal rastreou e incluiu os pacientes elegíveis, os distribuiu entre os grupos placebo e intervenção, conforme método já descrito acima. Também preencheu as fichas clínicas, acompanhou o desfecho dos pacientes incluídos e tabulou os dados coletados em um banco do programa Excel. Participaram ativamente da busca pelos pacientes elegíveis as enfermeiras e equipe médica da CCIH do HC FMRP- USP.

A administração dos sachês bem como a coleta dos swabs retais foi realizada por técnicos de enfermagem e enfermeiros da Unidade de Pesquisa Clínica (UPC) do HC FMRP-USP. A UPC faz parte da Rede Nacional de Pesquisas Clínicas (RNPC) e participa dos estudos cooperativos nacionais patrocinados pelo Departamento de Ciência e Tecnologia do Ministério da Saúde. Sua missão é fornecer suporte para que pesquisas em seres humanos realizados no âmbito do HCFMRP-USP estejam em conformidade com as normas nacionais e internacionais de Boas Práticas em Pesquisa Clínica.

Para a coleta de material fecal foram utilizados swabs estéreis, com haste flexível, sem meio de transporte, introduzidos aproximadamente 1 a 2cm do esfíncter retal, realizando movimento rotacional e assegurando material de coloração fecal no algodão do swab após a coleta. Imediatamente após a realização do exame, os swabs eram encaminhados ao laboratório de microbiologia do HC FMRP-USP para serem processados por um microbiologista, associado à pesquisa.

Estabeleceu-se que a administração dos sachês fosse feita preferencialmente por via oral, caso não houvesse contraindicação para a escolha dessa via, com a orientação de realizar um bochecho da solução antes da deglutição com objetivo de colonizar o trato gastrointestinal a partir da cavidade oral. Caso a via oral fosse contraindicada, os sachês seriam então administrados por via enteral. Cada sachê foi diluído em 10 ml de água filtrada, administrado

em duas doses diárias, sendo uma pela manhã e a outra, aproximadamente, 8 horas após a primeira dose, durante sete dias.

3.9 Tamanho amostral

Considerando que a probabilidade de ocorrer infecção hospitalar no HC FMRP-USP Campus, por bactéria Gram-negativa multirresistente durante a internação seja em torno de 50% naqueles pacientes colonizados com alguma das cepas supracitadas (dados da CCIH do HC FMRP-USP Campus, não publicados) e a expectativa de que os simbióticos possam promover a redução das infecções do trato respiratório e urinário adquiridos durante a internação em pelo menos 50% dos pacientes colonizados, estimamos a necessidade de incluir 55 pacientes por grupo, tendo um nível de significância (α) de 5% e um poder do teste ($1-\beta$) de 80%.

3.9.1 Preparação e análise dos dados coletados

As informações colhidas foram tabuladas em um banco de dados do programa Excel (Windows 2000) e analisadas do ponto de vista estatístico no programa STATA[®] (versão 9.0).

Foram utilizados o teste do qui-quadrado, com a correção de Pearson, e o Teste exato de Fisher bicaudal para estudar possíveis associações entre a ocorrência de infecções hospitalares e as variáveis categóricas demográficas, clínicas e microbiológicas avaliadas. Já as variáveis contínuas tiveram sua associação com os desfechos, estudadas por meio da aplicação do Teste de Wilcoxon para amostras não-pareadas.

Para avaliar a interferência de possíveis fatores de confusão na determinação do desfecho primário do estudo, construímos um modelo de regressão logística, tendo como variáveis independentes: sexo, idade, alocação no estudo e o tempo prévio de internação, como um marcador indireto da gravidade da doença de base.

4. RESULTADOS

4.0 Resultados

4.1 Fluxo dos participantes

O diagrama acima evidencia que 275 pacientes, apresentando alguma cultura clínica com bacilo Gram-negativo multirresistente, foram testados com swab retal, sendo que mais da metade dos pacientes testados, 156 pacientes, foram excluídos por não apresentarem exame com identificação de bacilo Gram-negativo multirresistente. Nove pacientes do grupo simbiótico e seis do grupo placebo descontinuaram a intervenção, sendo as razões de descontinuação: óbito ou alta hospitalar precoce, ou seja, antes de terminar os sete dias de medicação e colher o primeiro swab retal após a intervenção. Em nenhum dos grupos houve abandono do estudo por ocorrência de eventos adversos relacionados à medicação avaliada.

Dos 48 pacientes analisados, que utilizaram simbiótico, 37 tomaram as 14 doses prescritas e dos 53 pacientes do grupo placebo, 30 utilizaram todos os sachês, representando na avaliação subsequente a análise per protocol. Foram incluídos na análise “intenção de tratar” (ou “intention to treat”) todos os pacientes que tomaram pelo menos 4 sachês de simbiótico ou placebo, totalizando 48 pacientes no grupo experimental e 53 no grupo controle. De acordo com Fisher et al (1990) a intenção de tratar é uma técnica de análise de ensaios clínicos aleatorizados e controlados, em que os doentes são comparados – em termos de resultados finais – dentro dos grupos para os quais foram inicialmente aleatorizados, independentemente de terem ou não recebido tratamento, terem abandonado o estudo ou por qualquer razão não terem obedecido ao protocolo inicial. Esta definição é geralmente interpretada como incluindo todos os doentes, independentemente de saber se eles realmente satisfaziam os critérios de entrada, do tratamento efetivamente recebido, e do seu eventual afastamento ou desvio do protocolo. Já a análise “per protocol” é uma comparação dos grupos de tratamento que inclui apenas aqueles pacientes que completaram o tratamento inicialmente proposto.

4.2 Dados colhidos antes do início da intervenção

Tabela 2. Dados demográficos e clínicos dos grupos placebo e simbiótico.

(Continua)

Variáveis Demográficas	Grupo Placebo* (n=53)	Grupo Simbiótico* (n=48)
Sexo Feminino	17 (32,07)	23 (47,91)
Idade $\pm$ DP (anos)	58 $\pm$ 18,4	58 $\pm$ 17,32
Tempo até inclusão $\pm$ DP (dias)	34 $\pm$ 26,7	33 $\pm$ 20,9

Tabela 2. Dados demográficos e clínicos dos grupos placebo e simbiótico.

(Conclusão)

Variáveis Clínicas	Grupo Placebo* (n=53)	Grupo Simbiótico* (n=48)
Diabetes Mellitus	17 (32,07)	7 (14,58)
Desnutrição	7 (13,20)	2 (4,16)
DPOC	7 (13,20)	6 (12,5)
HAS	31 (58,49)	24 (50,00)
Doença Coronariana Crônica (DAC)	10 (18,86)	7 (14,58)
Doença Auto - Imune	1 (1,88)	4 (8,33)
IRA ou IRC	28 (52,83)	24 (50,00)
Obesidade	8 (15,09)	9 (18,75)
Neoplasia	13 (24,52)	11 (22,91)
Infecções	40 (75,47)	37 (77,08)

* Os dados das variáveis categóricas são n(%), enquanto que para as variáveis contínuas trata-se da média $\pm$ desvio padrão (DP).

Na tabela 2 podemos observar alguns dados demográficos e clínicos. Nota-se que o sexo feminino constituiu aproximadamente 32% dos pacientes incluídos no grupo placebo e 48% do grupo intervenção. A idade média dos indivíduos incluídos em ambos os grupos foi de 58 anos. Podemos observar em ambos os grupos, proporções muito semelhantes de pacientes portadores de doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), 13,2% e 12,5% nos grupos placebo e simbiótico, respectivamente, e diferentes em relação à diabetes mellitus, tendo uma maior porcentagem de diabéticos no grupo placebo. Pelo menos 50% dos pacientes em ambos os grupos possuíam Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS) e Insuficiência Renal Aguda (IRA) ou Insuficiência Renal Crônica (IRC). Chama a atenção a elevada porcentagem em ambos os grupos de pacientes portadores de alguma infecção no momento da inclusão no estudo, 75,4% e 77% nos grupos placebo e simbiótico, respectivamente.

Tabela 3. Locais de internação dos pacientes incluídos.

Local de Internação	Grupo Placebo (n= 53)	Grupo Simbiótico (n= 48)	Total de pacientes n= 101
	$\xleftrightarrow{\text{n(\%)}}$		
Unidades críticas	17 (32,07)	20 (41,66)	37
Enfermarias	36 (67,92)	28 (58,33)	64

Podemos observar na tabela acima que a maioria dos 101 pacientes incluídos esteve internada em enfermarias (64 pacientes), correspondendo a 63,36% do total de pacientes estudados. Verificamos também que, dos 37 pacientes em unidades críticas, 41,66% foi alocada no grupo experimental e 32,07% no grupo placebo, sendo essa proporção invertida nas enfermarias, com a maioria dos pacientes nessas unidades incluídas no grupo controle.

Tabela 4. Detalhamento das unidades de internação dos pacientes incluídos.

Local de Internação	Grupo Placebo (n= 53)	Grupo Simbiótico (n= 48)	Total de pacientes (n= 101)
<div style="display: flex; align-items: center; justify-content: center;"> ← n(%) → </div>			
Unidades críticas			
UCO	4 (7,54)	0 (0)	4
CTI adulto	4 (7,54)	3 (6,25)	7
Semi-intensivo NEC	1 (1,88)	3 (6,25)	4
Unidade metabólica	1 (1,88)	2 (4,16)	3
Unidade de transplante hepático	1 (1,88)	4 (8,33)	5
UTR	6 (11,32)	8 (16,66)	14
Enfermarias			
Nefrologia	5 (9,43)	3 (6,25)	8
Pneumologia	1 (1,88)	2 (4,16)	3
Infectologia	3 (5,66)	3 (6,25)	6
Neurologia	0	1 (2,08)	1
Imunologia	0	2 (4,16)	2
Dermatologia	0	1 (2,08)	1
Cardiologia	0	1 (2,08)	1
Oftalmologia	0	1 (2,08)	1
Geriatria	2 (3,77)	2 (4,16)	4
Oncologia	1 (1,88)	1 (2,08)	2
Otorrinolaringologia	1 (1,88)	0	1
Gastroenterologia	0	3 (6,25)	3
Clínica Civil	1 (1,88)	1 (50,00)	2
Vascular	1 (1,88)	2 (66,6)	3
Cabeça e pescoço	1 (1,88)	0	1
Gastrocirurgia	6 (11,32)	0	6
Ortopedia	9 (16,98)	4 (30,70)	13
Urologia	4 (7,54)	1 (2,08)	5
Proctologia	1 (1,88)	0	1

Observamos na tabela 4 que, dentre as unidades críticas, a UTR alojou a maior proporção de pacientes, com 14 dos 37 pacientes incluídos, representando 37,83% do total, seguido pelo CTI, com 7 pacientes, correspondendo a 18,91% do número absoluto. Já nas enfermarias podemos observar que a ortopedia foi a unidade com a maioria das inclusões, com 13 de 64 pacientes, correspondendo a 20,31%, seguida pela enfermaria de nefrologia, com 8 pacientes, representando 11,94%.

Tabela 5. Bactérias Gram-negativas multirresistentes isoladas em cultura clínica antes da intervenção.

Isolamento Microbiológico Antes da Intervenção	Grupo Placebo (n= 53)	Grupo Simbiótico (n= 48)
	n (%)	
Klebsiella spp.	21 (39,62)	22(45,83)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	17 (32,07)	12 (25,00)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8 (15,09)	6 (12,50)
<i>Proteus</i> spp.	1 (1,88)	1 (2,08)
Outros bacilos Gram-negativos	6 (11,32)	4 (8,33)
Fermentadores		
Outros bacilos Gram-negativos não fermentadores	1 (1,88)	1 (2,08)
Agente causando doença clínica	38 (71,69)	35 (72,91)

Klebsiella spp. foram as bactérias mais identificadas em culturas clínicas, respondendo por aproximadamente 40% e 45% dos isolados de cultura nos grupos placebo e intervenção, respectivamente, seguida por *Acinetobacter baumannii*, segunda bactéria mais isolada em ambos os grupos e por *Pseudomonas aeruginosa*, terceira mais prevalente. *Proteus* sp. e outros Gram-negativos não fermentadores, como por exemplo *Burkholderia* e *Stenotrophomonas*, foram as espécies menos encontradas, conforme descrito na tabela acima. A grande maioria dessas bactérias identificadas nas culturas supracitadas foi responsável por algum tipo de infecção na população estudada antes da intervenção, conforme descrito na tabela 5.

Tabela 6. Locais de isolamento de bacilos Gram-negativos multirresistentes antes da intervenção.

Local de Isolamento	Grupo Placebo (n=53)	Grupo Simbiótico (n=48)
	n (%)	
Urocultura	26 (49,05)	25 (52,08)
Ferida Cirúrgica	13 (24,52)	12 (25,00)
Hemocultura	9 (16,98)	3 (6,25)
Trato Respiratório	7 (13,20)	6 (12,50)
Pesquisa de Vigilância	3 (5,66)	3 (6,25)
Líquido Peritoneal	0	1 (2,08)

Observamos no presente estudo que urocultura foi a cultura clínica responsável por praticamente 50% dos isolamentos de bactérias Gram-negativas multirresistentes nos dois grupos. Ferida cirúrgica foi o sítio responsável por aproximadamente um quarto dos isolados ocupando a posição de segundo sítio mais prevalente nos dois grupos de estudo.

4.3 Dados referentes ao período de intervenção

Tabela 7. Uso de antimicrobianos nos grupos placebo e simbiótico durante a intervenção.

	Grupo Placebo (n=53)	Grupo Simbiótico (n=48)
	n (%)	
Uso de antibióticos	43 (81,13)	35 (72,91)
Carbapenêmicos	17 (32,07)	12 (25,00)
Polimixina	13 (24,52)	12 (25,00)
Cefalosporinas	9 (16,98)	2 (4,16)
Quinolonas	8 (15,09)	6 (12,50)
Outros antibióticos	3 (5,66)	4 (8,33)
Inibidor p-lactamase	1 (1,88)	4 (8,33)

A tabela 7 evidencia que a imensa maioria dos pacientes incluídos, mais que 70%, utilizou antibióticos durante o período de intervenção, lembrando que, coube à equipe médica responsável pelo paciente, o diagnóstico de infecção e a decisão sobre o uso dos antimicrobianos, não tendo interferência dos pesquisadores envolvidos. Polimixina e carbapenêmicos foram as duas classes de antibióticos mais utilizados em ambos os grupos, evidenciando a alta complexidade das situações clínicas dos doentes internados em um hospital terciário como o HC FMRP - USP, tanto nas unidades de cuidado de pacientes criticamente enfermos, como CTI, UCO, UTR como em unidades de pacientes mais estáveis como nas enfermarias de clínica e cirurgia.

Tabela 8. Variáveis clínicas observadas durante a intervenção como possíveis fatores de risco para os desfechos observados.

	Grupo Placebo (n=53)	Grupo Simbiótico (n=48)
	n (%)	
Uso de bloqueadores de acidez gástrica	45 (84,90)	36 (75,00)
Uso de antisséptico bucal	14 (26,41)	14 (29,16)
Cirurgia torácica/abdominal recente*	7 (13,20)	3 (6,25)
Uso de imunossupressores	8 (15,09)	11 (22,91)
Ventilação mecânica (VM)	8 (15,09)	14 (29,16)
Traqueostomia	16 (30,18)	15 (31,25)
Presença de SNG/SNE	20 (37,73)	26 (54,16)
Presença de SVD	13 (24,52)	14 (29,16)
Presença de sonda vesical intermitente	9 (16,98)	6 (12,50)
Ocorrência de vômito e/ou aspiração	1 (1,88)	3 (6,25)
Litíase renal conhecida	3 (5,66)	4 (8,33)
Disfunção vesical	10 (18,86)	11 (22,91)
Realização de procedimento urológico	4 (7,54)	2 (4,16)

* Cirurgia torácica e/ou abdominal recente foi assim denominada se realizada até 15 dias antes do início da intervenção.

Podemos observar o elevado índice de uso de bloqueadores de acidez gástrica (84,9% no grupo placebo e 75% no grupo experimental), no caso, inibidores da bomba de próton.

Na tabela 8, observamos que menos de 30% dos pacientes estudados, mais precisamente 26,41% no grupo placebo e 29,1% no grupo intervenção, fizeram uso de clorexidine como antisséptico oral para higiene bucal.

Apenas 6,25% dos pacientes no grupo experimental foram submetidos à cirurgia torácica e/ou abdominal, menos da metade da porcentagem encontrada no grupo placebo (13,20%).

Na mesma tabela verifica-se que quase 23% dos pacientes no grupo intervenção recebeu algum tipo de imunossupressor, sendo essa porcentagem igual a 15,09% no grupo placebo, exceto as situações de imunossupressão descritas nos critérios de exclusão.

Quase 30% dos pacientes do grupo simbiótico e apenas 15,09% dos pacientes do grupo placebo estiveram em ventilação mecânica (VM), sendo considerado o principal fator de risco para PAV. Praticamente a mesma porcentagem de pacientes teve a traqueostomia como um dos dispositivos invasivos, 31,25% e 30,18%, respectivamente, nos grupos simbiótico e placebo.

Mais da metade dos pacientes que receberam simbiótico (54,16%) utilizou SNG/SNE enquanto que a taxa de uso do referido dispositivo no grupo controle foi de 37,73%.

Episódios de aspiração e vômitos ocorreram em 6,25% dos pacientes no grupo simbiótico e apenas em 1,88% no grupo controle.

Diferentemente do uso de VM e de SNG/SNE, porcentagens próximas de pacientes em uso de sonda vesical de demora (SVD) foram encontradas nos dois grupos: 29,16% no grupo de simbiótico e 24,52% no grupo placebo. Quando a sondagem se fizer necessária deve-se considerar sempre que possível o uso de alternativas que minimizem o risco de infecção como a sondagem vesical de alívio (SVA), cuja utilização foi maior no grupo placebo, 16,98% contra 12,50% no grupo intervenção.

Litíase renal esteve presente em 5,66% dos pacientes do grupo placebo e em 8,33% no grupo sob intervenção. 7,54% dos pacientes no grupo placebo e 4,16% dos pacientes no grupo simbiótico foram submetidos à realização de procedimentos urológicos.

Tabela 9. Número de doses utilizadas de simbiótico ou placebo e via de administração.

	Grupo Placebo* (n= 53)	Grupo Simbiótico* (n= 48)
Nº doses checadas em prescrição $\pm$ Desvio Padrão (DP)	12,2 $\pm$ 2,7	13,1 $\pm$ 1,9
Administração via oral	35 (66,04)	26 (56,25)
Administração via enteral	18 (33,96)	21 (43,75)

* Os dados das variáveis categóricas são n(%), enquanto que para as variáveis contínuas trata-se da média $\pm$ desvio padrão (DP).

Na tabela 9 podemos observar que o número de doses checadas em prescrição pela equipe de enfermagem que administrou a medicação, foi muito semelhante em ambos os grupos, aproximadamente 12 e 13 sachês pelos grupos placebo e simbiótico, respectivamente. Observa-se que 66,04% dos pacientes no grupo placebo e 56,25% no grupo experimental receberam o excipiente, por via oral.

Tabela 10. Ocorrência de Infecções Hospitalares (IH) detectadas durante o estudo, segundo análise “intenção de tratar” (ITT).

	Grupo Placebo (n= 53)	Grupo Simbiótico (n= 48)	Valor de p *
	← n (%) →		
Ocorrência de IH	12 (22,64)	18 (37,50)	p=0,12
Número de episódios de IH			
Um episódio de IH	10 (18,86)	15 (31,25)	p=0,23
Dois episódios de IH	2 (3,77)	3 (6,25)	p=0,23
Tipo de IH			
Infecção Respiratória	8 (15,09)	8 (16,66)	p=1,0
PAV	3 (5,66)	3 (6,25)	p=1,0
PNM	5 (9,43)	4 (8,33)	p=1,0
Traqueobronquite	0	1 (2,08)	p=0,47
ITU	6 (11,32)	13 (27,08)	p=0,07
Cistite	4 (7,54)	10 (20,83)	p=0,08
Pielonefrite	2 (3,77)	3 (6,25)	p=0,66

* Segundo o Teste Exato de Fisher bicaudal.

Tabela 11. Ocorrência de Infecções Hospitalares (IH) detectadas durante o estudo, segundo análise “per protocol”.

	Grupo Placebo (n= 30)	Grupo Simbiótico (n= 37)	Valor de p *
	← n (%) →		
Ocorrência de IH	4 (13,33)	14 (37,83)	p=0,02
Número de episódios de IH			
Um episódio de IH	3 (10,00)	11 (29,72)	p=0,09
Dois episódios de IH	1 (3,33)	3 (8,10)	p=0,09
Tipo de IH			
Infecção Respiratória	2 (6,66)	6 (16,21)	p=0,28
PAV	1 (3,33)	2 (5,40)	p=1,00
PNM	1 (3,33)	3 (8,10)	p=0,62
Traqueobronquite	0	1 (2,70)	p=1,00
ITU	3 (10,00)	11 (29,72)	p=0,07
Cistite	2 (6,66)	8 (21,62)	p=0,16
Pielonefrite	1 (3,33)	3 (8,10)	p=0,62

* Segundo o teste exato de Fisher.

Observam-se maiores taxas globais de IH, respiratórias e urinárias e maior número de episódios de IH, quer seja pela análise “intenção de tratar” ou pela análise “per protocol”, sendo que, apenas as taxas globais de IH segundo a análise “per protocol”, atingiram significância estatística, conforme visualizado nas tabelas 10 e 11.

Segundo a análise “intenção de tratar”, o grupo experimental apresentou maior ocorrência global de infecções respiratórias, 16,66% versus 15,09% no grupo placebo e maiores taxas de PAV e traqueobronquite. Nesta análise, diferentemente dos outros tipos de infecções respiratórias, PNM foi discretamente menos prevalente no grupo experimental. Já pela análise “per protocol”, o grupo experimental apresentou maiores taxas de PNM, porém sem significância estatística.

Em nenhum dos dois grupos foi observada ocorrência de sinusopatia. Não houve nenhum caso de candidemia durante o ensaio clínico, preocupação inicialmente levantada, uma vez que poderíamos ocasionar mudança da flora gastrointestinal e translocação tanto bacteriana quanto fúngica.

Tabela 12. Tempo de internação sem IH e de uso de antibioticoterapia.

	Grupo Placebo* (n=53)	Grupo Simbiótico* (n=48)	Valor de p**
Tempo de internação, em dias	17 (9 – 39)	31 (17 – 56,5)	p= 0,07
Tempo de internação sem infecção hospitalar, em dias	12 (8 - 27)	19,5 (8,5 - 36)	p= 0,16
Tempo de uso de antibiótico(s) sistêmico(s)	11 (4 – 19)	15 (5,5 – 31)	p= 0,12

* os dados apresentados são a mediana e os percentis 25 e 75 da distribuição

** segundo o teste de Wilcoxon para amostras não pareadas

O grupo que recebeu *Lactobacillus* associado a FOS apresentou quase o dobro de tempo de internação hospitalar, 31 dias no grupo experimental versus 17 no grupo placebo e maior tempo de uso de antibiótico, conforme demonstrado na tabela 10.

Tabela 13. Desfechos observados segundo a análise “intenção de tratar” (ITT).

Desfecho Clínico	Grupo Placebo (n=53)	Grupo Simbiótico (n=48)	Valor de p*
	← n (%) →		
Alta Hospitalar	43 (81,13)	35 (72,91)	p=0,32
Óbito por IH	2 (3,77)	4 (8,33)	p=0,42
Óbito de causa mista	4 (7,54)	5 (10,41)	p=0,73
Óbito não relacionado à IH	4 (7,54)	3 (6,25)	p=1,00

* Teste de qui-quadrado com a correção de Pearson ou Teste Exato de Fisher bicaudal

Tabela 14. Desfechos observados segundo a análise “per protocol”.

Desfecho Clínico	Grupo Placebo	Grupo Simbiótico	Valor de p*
	(n=30)	(n=37)	
	<div style="text-align: center;"> $\longleftrightarrow$ n (%) $\longleftrightarrow$ </div>		
Alta Hospitalar	26 (86,66)	26 (70,27)	p=0,14
Óbito por IH	1 (3,33)	3 (8,10)	p=0,62
Óbito de causa mista	1 (3,33)	5 (13,51)	p=0,21
Óbito não relacionado à IH	2 (6,66)	2 (5,40)	p=1,00

* Teste de qui-quadrado com a correção de Pearson ou Teste Exato de Fisher bicaudal

As tabelas 13 e 14 evidenciam maiores taxas de mortalidade, exclusivamente pela IH desenvolvida durante o estudo ou por causa mista (infecçiosa associada a demais causas) e menor taxa de alta hospitalar, porém sem significância estatística em ambas as análises “intenção de tratar” e “per protocol” no grupo simbiótico. Já em relação a óbitos não relacionados à IH desenvolvida durante o estudo, observamos que o grupo placebo apresentou taxas discretamente maiores que o grupo simbiótico, em ambas as análises, porém novamente sem significância estatística.

Tabela 15. Análise multivariada, através de regressão logística, dos fatores de risco para o desfecho IH.

	Odds Ratio (OR)	IC 95%	Valor de p
Sexo Masculino	0,34	0,12 – 0,98	0,04
Idade	1,01	0,98 – 1,04	0,34
Tempo de internação	1,00	0,98 – 1,02	0,49
Uso de dispositivos invasivos	12,73	3,09 – 52,33	<0,01
Uso do simbiótico	1,94	0,68 – 5,49	0,20
Nº doses	0,89	0,71 – 1,12	0,33

Tabela 16. Análise multivariada, através de regressão logística, dos fatores de risco para o desfecho óbito.

	Odds Ratio (O.D)	IC 95%	Valor de p
Sexo Masculino	0,51	0,16 – 1,55	0,04
Idade	1,01	0,98 – 1,05	0,34
Tempo de internação	1,00	0,98 – 1,02	0,49
Uso de dispositivos invasivos	23,00	2,80 – 190,00	< 0,01
Uso do simbiótico	1,33	0,44 – 4,00	0,20
Nº doses	0,97	0,75 – 1,25	0,33

De acordo com a análise multivariada dos fatores de risco para os desfechos IH e óbito, demonstrado nas tabelas 15 e 16, podemos notar que o único fator de risco, fortemente associado aos desfechos mencionados acima, foi o uso de dispositivos invasivos, elevando em quase 13 vezes a probabilidade de desenvolver IH e exatamente 23 vezes o risco de evolução para óbito.

Tabela 17. Eventos adversos segundo a análise “intenção de tratar” (ITT).

	Grupo Placebo (n=53)	Grupo Simbiótico (n=48)	Valor de p*
	← n (%) →		
Eventos Adversos	4 (7,54)	3 (6,25)	p= 1.0
Diarréia	2 (3,77)	1 (2,08)	p= 1.0
Náuseas	0	1 (2,08)	p= 0,47
Vômitos	0	2 (4,16)	p= 0,21
Cólica abdominal	0	1 (2,08)	p= 0,47
Flatulência	0	1 (2,08)	p= 0,47
Gosto ruim	0	0	-
Bacteremia por <i>Lactobacillus</i>	0	0	-

* Segundo o teste exato de Fisher

O estudo demonstrou que os *Lactobacillus rhamnosus* e *bulgaricus* associados a fruto-oligossacarídeos são seguros e não foram encontrados eventos adversos significativos associados ao seu uso, conforme demonstrado na tabela 17.

5. DISCUSSÃO

5.0 Discussão

5.1 Discutindo os fatores de risco para o desenvolvimento de infecções respiratórias nosocomiais.

Várias condições da saúde bucal, como a presença de cáries profundas, dentes residuais, gengivite, língua saburrosa, elevam a concentração microbiana na boca, favorecendo o desenvolvimento de pneumonia hospitalar. Além disso, o entendimento que a PAV é propiciada pela aspiração do conteúdo da orofaringe amparou a lógica de se tentar erradicar a colonização bacteriana desta topografia, com o objetivo de reduzir a ocorrência de pneumonia, em especial de PAV (BRASIL, 2013).

Diversos estudos têm demonstrado diminuição de PAV quando a higiene oral é realizada com clorexidina, veículo oral. Para os pacientes em respiração espontânea é recomendado o uso de solução oral de clorexidina, a 0,12% para o bochecho, 3 vezes ao dia e para os pacientes em ventilação mecânica recomenda-se formulação em gel, com concentração de 2%, para aplicação nos dentes e gengivas, também 3 vezes ao dia (RODRIGUES, 2009), sendo ambas as preparações padronizadas e utilizadas rotineiramente no HC FMRP- USP, desde que prescritas pelo médico responsável e executada pela equipe de enfermagem. Mais recentemente, um ensaio clínico randomizado provou que, o tratamento dentário, não só é seguro como também efetivo na prevenção de infecções do trato respiratório inferior, em pacientes criticamente enfermos (BELLISSIMO-RODRIGUES et al., 2014). Observamos, infelizmente, que menos de 30% dos pacientes estudados, mais precisamente 26,4% no grupo placebo e 29,1% no grupo intervenção, fizeram uso de solução oral de clorexidina, para higiene bucal.

Mais de 70% dos pacientes em ambos os grupos utilizaram, durante a intervenção, inibidores da bomba de próton, lembrando que seu uso deve ter indicação criteriosa, já que se constitui em fator de risco para ocorrência de pneumonia hospitalar, principalmente de PAV, por aumentar a colonização gástrica por bactérias patogênicas ao mesmo tempo em que diminui a acidez gástrica. A profilaxia de úlcera de estresse deve ser indicada apenas para pacientes com alto risco de sangramento: úlcera gastroduodenal ativa sangrante, sangramento digestivo prévio, traumatismo cranioencefálico, uso de ventilação mecânica, politrauma, coagulopatia e uso de corticosteróides (BRASIL, 2013).

O uso de sonda nasogástrica ou nasoentérica (SNG/SNE) foi considerado relevante para o desfecho de IH, já que nutrição enteral é considerada fator de risco para pneumonia hospitalar, sinusopatia e principalmente para PAV, basicamente pelo uso de dispositivo no trato respiratório superior (para sinusopatia) e pela elevada chance de microaspirações do conteúdo gástrico (para pneumonia). Entretanto, o seu uso em populações específicas deve ser estimulado, uma vez que a nutrição parenteral, alternativa quando contra-indica-se a alimentação pelo trato gastrointestinal, possui mais riscos, como translocação bacteriana e fúngica com possibilidade de consequências infecciosas graves como sepse bacteriana e fúngica, além de ser uma alternativa onerosa comparada à nutrição enteral (AMERICAN THORACIC SOCIETY; INFECTIOUS DISEASES SOCIETY OF AMERICA, 2005).

Sabe-se que intubação orotraqueal e VM aumentam o risco de PAV entre 6 e 21 vezes, devendo, portanto, ser evitada sempre que possível. O risco estimado de contrair PAV é de 3% ao dia nos primeiros cinco dias, 2% ao dia entre o 6º e o 10º dia, por fim 1% ao dia após o 10º dia de VM (RODRIGUES, 2009). A própria microbiota endógena desempenha um importante papel no desenvolvimento de PAV devido à colonização por microrganismos potencialmente patogênicos e sua subsequente translocação. Microaspirações de secreção orofaríngea contaminada pela microbiota endógena ao redor do tubo endotraqueal é a maior fonte etiológica de PAV. A colonização do tubo endotraqueal pelo biofilme de bactérias da orofaringe resulta em embolização para o alvéolo durante procedimentos como aspiração e broncoscopia, sendo este o principal mecanismo patogênico, enquanto a inalação através de aerossóis ou inoculação direta são mecanismos causais menos comuns. Postula-se que o estômago e os seios da face sejam potenciais reservatórios dos patógenos causadores da referida infecção (HAYAKAWA et al., 2012). Observamos no presente estudo que a taxa de ocorrência de infecções respiratórias nos dois grupos não foi proporcional ao uso de VM, uma vez que tivemos quase o dobro de pacientes em VM no grupo experimental comparado com o grupo placebo, 29,1% versus 15%, respectivamente, e discreto aumento das referidas infecções na população em intervenção, comparada com o grupo controle, 16,67% versus 15,09%, segundo a análise ITT.

Sabe-se que possuem mais riscos para o desenvolvimento de pneumonia hospitalar no pós-operatório pacientes obesos, maiores de 65 anos e portadores de DPOC. A pneumonia pós-operatória pode ocorrer em 9 a 40% dos pacientes inseridos neste contexto cirúrgico e a taxa de mortalidade associada à pneumonia pós-operatória é de 30 a 46%, dependendo do tipo de cirurgia realizada (BROOKS-BRUNN, 1997; CRAVEN; STEGER; BARBER, 1991; GARIBALDI et al., 1981). A realização de cirurgia torácica e/ou abdominal, aparentemente

não foi um fator de risco significativo no presente estudo, já que os procedimentos cirúrgicos foram realizados em uma proporção maior que o dobro, no grupo placebo, sem incremento nas taxas de infecções respiratórias nessa população estudada.

A colonização e a invasão microbiana geram uma resposta imune no hospedeiro (mecânica, humoral e celular) que pode interromper o processo infeccioso. Quando essa resposta não é capaz de impedir a colonização e, principalmente, a invasão microbiana, ocorre a infecção, justificando o interesse em analisar o uso de imunossuppressores. O grupo experimental apresentou maior taxa de uso de imunossupressor, aproximadamente 8% maior comparado com o grupo placebo (22,9 versus 15%, nos grupos, experimental e controle, respectivamente).

Oitenta e um por cento dos pacientes no grupo placebo e 72,9% no grupo experimental utilizaram antibiótico em algum momento da intervenção. Um número substancial de estudos mostra que o consumo crescente de carbapenêmicos, cefalosporinas de espectro estendido, β -lactâmicos/inibidores de β -lactamases e fluorquinolonas tem sido associado ao desenvolvimento de bacilos Gram-negativos multirresistentes (BANTAR et al., 2004; NEUHAUSER et al., 2003; RICE et al., 1996) e o consumo excessivo de cefalosporinas de espectro estendido tem sido apontado como causa do aumento da prevalência de enterobactérias produtoras de β -lactamase de espectro estendido (ESBL) (BANTAR et al., 2004). Nas últimas décadas o cenário piorou, pois, além do aumento da prevalência de enterobactérias produtoras de β -lactamase de espectro estendido (ESBL), vimos surgir na população de Gram-negativos, resistência à carbapenêmicos (JESUDASON; KANDATHIL; BALAJI, 2005). A primeira descrição de enterobactérias produtoras de carbapenemases data de 1993 (NAAS; NORDMANN, 1994). Desde então, muitas variedades de carbapenemases foram identificadas. As carbapenemases são usualmente capazes de hidrolisar não só carbapenêmicos, mas também os demais beta-lactâmicos, como cefalosporinas, penicilinas e monobactâmicos (QUEENAN; BUSH, 2007), sendo reconhecidas atualmente como um grande problema mundial (CARMELI et al., 2010; CORNAGLIA; GIAMARELLOU; ROSSOLINI, 2011). Os números do presente estudo a respeito do uso de antibióticos na população estudada são alarmantes e despertam uma grande preocupação, principalmente nos controladores de infecção hospitalar, a respeito do uso atual, indiscriminado de antimicrobianos, refletindo uma prática não apenas regional e nacional como também internacional.

O interesse em estudar o efeito de probióticos, como potenciais coadjuvantes na prevenção de PAV através de ensaios clínicos controlados, surgiu em 2005 quando esse

alimento funcional foi utilizado pela primeira vez com esta finalidade (MORROW et al., 2005). O grupo que recebeu probiótico mostrou melhores resultados em relação à manutenção da flora orofaríngea, comparado com o grupo controle, eliminando microrganismos potencialmente patogênicos na cavidade oral e no suco gástrico. Apesar do resultado não ter atingido resultados favoráveis com significância estatística, a terapêutica microbiana resultou no surgimento de uma série de estudos explorando o efeito desses compostos em pacientes graves. O efeito de probióticos na prevenção de PAV tem sido controverso, uma vez que há limitados ensaios clínicos randomizados de boa qualidade e com resultados inconsistentes.

Liu et al.(2012), através de uma meta-análise, analisou 12 estudos onde probióticos foram testados em um grupo experimental, comparado com grupo placebo, para analisar incidência de pneumonia nosocomial, em pacientes críticos. Foi possível concluir que o uso de probióticos reduziu, com significância estatística, a incidência de pneumonia nosocomial na população estudada, diferentemente do presente estudo, onde esta redução não pôde ser observada. Nesta meta-análise, sete estudos compararam a incidência de PAV em pacientes que receberam probióticos e placebo, sendo que para essa infecção específica, não foi demonstrada diferença estatisticamente significativa, corroborando os achados de Wang et al. (2013) e do presente estudo. Ainda nessa mesma meta-análise, oito estudos avaliaram as taxas de pneumonia nosocomial apenas em pacientes críticos cirúrgicos, tendo sido notada uma discreta redução de sua incidência em pacientes que receberam probióticos comparados com o grupo placebo, porém sem atingir significância estatística. A mesma meta-análise também conclui que o uso do probiótico não afetou a duração da internação hospitalar em geral, da internação em CTI e tão pouco modificou as taxas de mortalidade intra-hospitalar.

Wang et al. (2013) investigou como desfecho primário o efeito de probióticos na prevenção de PAV, e como desfechos secundários o seu efeito nas taxas de mortalidade intra-hospitalar e no tempo de internação em CTI. Foram encontrados cinco ensaios clínicos com um total de 844 pacientes incluídos, sendo que, quatro deles avaliaram taxa de mortalidade hospitalar e não encontraram diferenças entre os grupos, placebo e probiótico. Três ensaios clínicos avaliaram e não encontraram diferença entre os grupos, em relação ao número de dias de internação em CTI. Em relação ao principal objetivo, prevenção de PAV através do uso de probióticos, a meta-análise não encontrou redução de suas taxas com resultados estatisticamente significativos. A meta-análise conclui que não se pode dizer haver efeito preventivo de probióticos sobre PAV e que seu efeito preventivo em termos de pneumonia hospitalar parece estar bem estabelecido para populações específicas, como: vítimas de trauma, pacientes submetidos a procedimentos cirúrgicos em geral e neuro-cirúrgicos,

transplantes hepáticos, pacientes com falência de múltiplos órgãos (DE ARRUDA; DE AGUILAR, 2004; GU et al., 2013; RAYES et al., 2007; SPINDLER-VESEL et al., 2007).

Ressalta-se que não há na literatura, até o presente momento, nenhum estudo avaliando especificamente o simbiótico testado para redução de infecções do trato respiratório nosocomial.

5.2 Discutindo os fatores de risco para o desenvolvimento de infecções urinárias nosocomiais

Ao contrário das infecções respiratórias nosocomiais, não há na literatura ensaios clínicos, meta-análises avaliando o uso de probióticos, muito menos de simbióticos, para redução de infecções urinárias nosocomiais, apesar da relevância de ITU no contexto das infecções hospitalares.

Infecção do trato urinário (ITU) é a segunda infecção nosocomial mais comum em todo mundo (MORGAN; MCKENZIE, 1993), sendo o uso de cateterização vesical o principal fator de risco associado a esse processo infeccioso (HOOTON et al, 2010). Apesar da estreita relação existente entre cateterismo vesical e ITU, percebe-se a fragilidade na implantação de estratégias de medidas preventivas simples, tanto no Brasil quanto no exterior. É possível que uma percepção universalmente errônea do caráter menos agressivo quanto à morbidade, mortalidade e impacto econômico das ITU em relação às outras infecções nosocomiais seja a explicação para tal atitude (CONWAY et al., 2012; DIAS NETO et al., 2003; MARANGONI et al., 1986; RUMMUKAINEN et al., 2012; SAINT et al., 2008; STAMM; COUTINHO, 1999).

ITU e sepse de foco urinário são complicações que podem preceder ou suceder o tratamento de litíase urinária, sendo esta um fator sabidamente de risco para ITU (ZANETTI et al., 2008). Uma diferença relativamente pequena foi encontrada na incidência de litíase urinária entre as populações estudadas, 8,3% no grupo experimental e 5,6% no grupo controle.

Dezesseis a vinte e cinco por cento dos pacientes de um hospital serão submetidos a cateterismo vesical, de alívio ou de demora, em algum momento de sua hospitalização, muitas vezes com indicação clínica equivocada ou inexistente e até mesmo sem conhecimento médico. Muitos pacientes permanecerão com o dispositivo além do necessário, (BURKE, 2003; HOOTON et al., 2010), apesar das complicações infecciosas (locais e sistêmicas) e não

infecções (desconforto para o paciente, restrição da mobilidade, traumas uretrais por tração), dos custos hospitalares e prejuízos ao sistema de saúde público e privado (KNOLL et al., 2011; MEDDINGS et al., 2010). Entende-se que o tempo de permanência da sondagem vesical é o fator crucial e mais importante para colonização e infecção do trato urinário (bacteriana e fúngica). Estudos mostram que até 25% dos pacientes submetidos à sondagem vesical por período superior a sete dias desenvolvem infecção, com risco diário de 5% para a referida infecção (GOKULA; HICKNER; SMITH, 2004).

Em situações específicas, antibióticos podem prevenir complicações graves como pielonefrite e perda da função renal em populações susceptíveis, em especial a infantil com ITU de repetição. Embora a antibiótico-profilaxia a longo prazo reduza os episódios de ITU de comunidade, os benefícios devem ser contrabalanceados com o risco de resistência bacteriana (MONTINI; TULLUS; HEWITT, 2011). Muitos métodos com a finalidade de redução da recorrência de ITU de origem comunitária foram propostos, como o uso de cranberry e de probióticos (GURLEY, 2011; HEAD, 2008; KONTIOKARI et al., 2003). Dado que, bactérias do trato gastrointestinal são os agentes causadores da maioria das ITU, parece ser lógico assumir que a dieta e especificamente o alimento funcional possa interferir diretamente nas recorrências de ITU (GURLEY, 2011; HEAD, 2008).

Vinte anos de estudo demonstraram que espécies selecionadas de probióticos, tais como *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 e *Lactobacillus fermentum* B- 54 ou RC-14, administrados por via vaginal, foram capazes de colonizar e competir com agentes uropatogênicos e diminuir o risco de ITU (REID, BRUCE; TAYLOR, 1995; REID; MILLSAP; BRUCE, 1994). Altos índices de *Lactobacillus* foram identificados como parte integrante da microbiota vaginal de mulheres saudáveis (MCLEAN; ROSENSTEIN, 2000), sendo *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. plantarum* e *L. rhamnosus* as espécies mais comumente observadas (BURTON; REID, 2002). Mulheres com ITU de repetição, por sua vez, apresentam menores índices de cada espécie supracitada na vagina e na uretra (BRUCE et al., 1973).

É conhecido que *L. rhamnosus* GR-1 e *L. reuteri* RC-14 inibem a adesão de patógenos urogenitais, dentre eles *Escherichia coli*. Pesquisas mostram que os *Lactobacillus* podem induzir um estresse mecânico sobre a membrana externa da *E. coli*, afetando adversamente a estrutura de suas fímbrias e levando a uma expressão aumentada (“upregulation”) das proteínas de sua membrana externa, OmpA e OmpX. Tanto a OmpA quanto a OmpX são altamente imunogênicas e o aumento de sua expressão pode induzir a uma resposta imune antimicrobiana no hospedeiro (CADIEUX et al., 2009).

Stapleton et al. (2011) realizaram um ensaio clínico comparando o uso de óvulos vaginais de *Lactobacillus crispatus* CTV-05 com placebo, concluindo que, o grupo sob intervenção, teve um risco menor de ITU comparado com o placebo, alcançando colonização vaginal na maioria das mulheres estudadas. Baerheim, Larsen e Digranes (1994) também compararam óvulos vaginais contendo *Lactobacillus*, porém *L. rhamnosus*, com grupo placebo, porém diferentemente de Stapleton et al. (2011), não foi observada diferença nas taxas de ITU entre os grupos estudados.

5.3 Efeitos de probiótico/simbiótico na duração da internação hospitalar

A meta-análise citada anteriormente (LIU et al., 2012) analisou 12 estudos onde probióticos foram testados em um grupo experimental, comparado com placebo, para analisar incidência de pneumonia nosocomial, em pacientes críticos. Esse estudo concluiu que o uso do probióticos não afetou a duração da internação hospitalar em geral e da internação em CTI.

No presente estudo, o grupo que recebeu o simbiótico testado apresentou quase o dobro de tempo de internação hospitalar, conforme demonstrado na tabela 10, porém muito provavelmente relacionado ao perfil de pacientes incluídos e um fator de risco específico a ser descrito posteriormente.

5.4 Efeitos de probiótico/simbiótico nas taxas de mortalidade hospitalar

Na meta-análise realizada por LIU et al. (2012) nove ensaios clínicos forneceram dados a respeito do efeito de probióticos na taxa de mortalidade hospitalar, não sendo encontrada nenhuma diferença de sua taxa nos grupos experimental e controle. Apenas 3 dos 12 ensaios clínicos forneceram dados a respeito da taxa de mortalidade em CTI, onde novamente, não houve nenhuma diferença encontrada entre os grupos estudados.

Wang et al. (2013) investigou como desfecho secundário o efeito de probióticos nas taxas de mortalidade intra-hospitalar geral. Foram encontrados oito ensaios clínicos com um total de 844 pacientes incluídos, não sendo encontrada diferença nas taxas de mortalidade entre os grupos, placebo e probiótico.

Uma terceira meta-análise, com 1,439 pacientes incluídos, observou que o uso de probióticos, reduziu o número de dias de internação em unidades de terapia intensiva porém não foi capaz de reduzir as taxas de mortalidade hospitalar, em geral e relacionadas à internação em CTI (BARRAUD; BOLLAERT; GIBOT, 2013), diferentemente do presente estudo, que observou maior mortalidade no grupo sob intervenção, quer seja diretamente associado à IH desenvolvida, quer seja por outras causas, porém novamente sem significância estatística em ambas análises, “intenção de tratar” e “per protocol”.

5.5 Dispositivos invasivos e IH de acordo com a análise multivariada.

De acordo com a análise multivariada dos fatores de risco para os desfechos IH e óbito, demonstrada nas tabelas 15 e 16, podemos notar que o único fator de risco fortemente associado aos desfechos mencionados acima foi o uso de dispositivos invasivos, elevando em quase 13 vezes a probabilidade de desenvolver IH e exatamente 23 vezes o risco de evolução para óbito. Observamos na tabela 3 que, a alocação nas unidades críticas, teve uma maior proporção de pacientes no grupo simbiótico, com uma diferença de 9,59% entre os dois grupos. Sabendo que, nas unidades críticas encontram-se pacientes mais graves, que utilizam dispositivos invasivos em maior número e por mais tempo, podemos inferir que, na verdade, o resultado apresentado de maiores taxas de IH no grupo simbiótico, reflita o maior número de pacientes críticos incluídos nesse grupo, com todas as consequências clínicas de um estado de maior gravidade. Esse é um erro sujeito a ocorrer quando o “n” proposto no estudo é limitado. Deve ser dito que o “n” inicialmente proposto de 110 pacientes não foi atingido por limitação da farmácia participante do estudo, em adquirir, em uma etapa posterior, a mesma matéria prima, do mesmo lote inicialmente comprado. Foram incluídos 116 pacientes, porém, finalizaram o estudo apenas 101 pacientes. Arriscamos encerrar a inclusão dos pacientes sem os nove participantes remanescentes para os 110 inicialmente propostos, para evitar o viés de possuir um simbiótico diferente do originalmente comprado e testado.

5.6 Um olhar de esperança para o uso futuro de probióticos/simbióticos?

Probióticos, prebióticos e simbióticos têm sido administrados na prática clínica, na maioria das vezes, como tratamentos suplementares, devido ainda à escassez de efeitos terapêuticos bem documentados e a avaliação limitada das cepas disponíveis. Até o presente momento, apenas a aplicação clínica do transplante fecal exibe resultados clínicos indubitavelmente efetivos, especialmente no tratamento das infecções recorrentes por *C. difficile* e doenças inflamatórias intestinais (ANDERSON; EDNEY; WHELAN, 2012; GOUGH; SHAIKH; MANGES, 2011; KELLY, 2013; MATTILA et al., 2012). Há pouco tempo o transplante fecal foi considerado terapêutica substitutiva ao uso de antibióticos nos casos recorrentes e refratários de infecção por *C. difficile*, uma vez que um recente ensaio clínico randomizado demonstrou que, após o transplante fecal, 81% dos pacientes com infecções recorrentes por essa bactéria obteve remissão dos sintomas após o procedimento, contra apenas 31% dos pacientes do grupo que recebeu vancomicina oral (VAN NOOD et al., 2013). Apesar dos promissores resultados, ainda não há consenso a respeito da seleção e screening dos doadores, o volume fecal ideal, a via de administração, o preparo pré-tratamento, a durabilidade da eficácia dos resultados e o perfil de segurança a longo prazo. Além disso, estudos a respeito do mecanismo de ação do transplante fecal para a recuperação da homeostase da microbiota intestinal e a resposta imune do hospedeiro, ainda não existem, portanto, não podem prover suporte teórico para a aplicação clínica dessa nova opção terapêutica.

Estudos ainda mais recentes mostram remissão de infecção recorrente por *C. difficile* através de transplante sintético de microbiota, em substituição ao transplante fecal em dois pacientes avaliados. O material fecal sintético foi constituído de 33 cepas bacterianas, isoladas a partir de fezes de doadores não aparentados, cultivados em cultura e administrados subsequentemente como uma suspensão estéril salina (PETROF et al., 2013). Entretanto, assim como o transplante fecal, o transplante sintético como uma opção terapêutica para o restabelecimento da microbiota intestinal e suas consequentes repercussões clínicas, também necessita de subseqüentes investigações (WANG et al., 2014b).

6. CONCLUSÕES

6.0 Conclusões

Em resumo, os dados apresentados nos levam à conclusão de que o uso de *Lactobacillus rhamnosus* associado a *Lactobacillus bulgaricus*, e a FOS, demonstrou-se inefetivo para reduzir a incidência de infecções hospitalares relacionadas ao trato respiratório e urinário, em pacientes internados, colonizados e/ou infectados por bacilos Gram-negativos multirresistentes.

De maneira similar, o simbiótico estudado também não influenciou significativamente o tempo de internação hospitalar e a mortalidade intra-hospitalar.

Por outro lado, identificamos que o simbiótico estudado demonstrou-se seguro, uma vez que seu uso não se relacionou a eventos adversos graves.

7. LIMITAÇÕES DO ESTUDO

7.0 Limitações do estudo

Devemos citar as limitações do estudo percebidas, tais como, ter sido unicêntrico, utilizar o simbiótico por um período relativamente curto de tempo (sete dias) e não durante toda a internação hospitalar (apesar de não possuir referência literária sobre o período ideal de uso), não ter atingido o “n” inicialmente proposto. Deve ainda ser mencionada a metodologia empregada para a detecção de colonização gastrointestinal, já que o padrão-ouro para identificação de bactérias Gram-negativas multirresistentes nesse sítio corporal é a cultura de fezes. Swabs retais, no entanto, são utilizados com maior frequência do que cultura de fezes pelo fato de serem mais facilmente coletados, transportados e analisados. Além disso, são utilizados há décadas em substituição à cultura fecal (MCFARLAND et al., 1987).

A cultura de fezes, para programas de controle de infecção hospitalar e para fins de pesquisa, torna-se impraticável. Além disso, epidemiologistas e pesquisadores frequentemente confiam nos swabs retais ou peri-retais para identificação de organismos multirresistentes (BAUM; FRANZ; GEISS, 2000; CARRATALA et al., 1996; MUTO et al., 2003). Apesar do avanço dessa metodologia, não há na literatura, dados bem estabelecidos a respeito da sensibilidade e especificidade para detecção de bacilos Gram-negativos através de swab retal comparados com o padrão-ouro, a cultura de fezes. Um estudo avaliou e comparou a sensibilidade e especificidade de swab retal e peri retal com cultura de fezes para identificação de *E.coli* resistente a fluorquinolonas. Foram colhidas 63 amostras, sendo 42 culturas negativas e 21 amostras de fezes nas quais foi identificada a bactéria em estudo, *E. coli* resistente a fluorquinolonas. Destas 21 amostras, 19 (90%) também tiveram a mesma identificação bacteriana nos swabs retais e peri retais. Das 42 culturas de fezes negativas, 42 (100%) também tiveram negatividade na metodologia por swab. (LAUTENBACH et al., 2005).

Um último questionamento a ser levantado é se o uso de antibiótico sistêmico, em associação com simbióticos, não possa ter inviabilizado esse alimento funcional e, portanto, ter dificultado a capacidade de recolonização do trato gastrointestinal. Apesar de termos testado e comprovado a viabilidade dos *Lactobacillus*, não há como garantir que o antimicrobiano utilizado não tenha de alguma maneira interferido na capacidade funcional do simbiótico estudado.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS *

ALFALEH, K.; BASSLER, D. Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants. **Cochrane Database Syst Rev** 2008; n.1, CD005496.

AMERICAN THORACIC SOCIETY,; INFECTIOUS DISEASES SOCIETY OF AMERICA. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, New York, v. 171, n. 4, p. 388-416, 2005.

ANDERSON, J. L.; EDNEY, R. J.; WHELAN, K. Systematic review: faecal microbiota transplantation in the management of inflammatory bowel disease. **Aliment. Pharmacol. Ther.**, v. 36, n.6, p. 503-16, 2012.

ASENSIO, A. et al. Outbreak of multiresistant *Klebsiella pneumonia* strain in an intensive care unit: antibiotic use as a risk factor for colonization and infection. **Clin. Infect. Dis.**, Madri, v. 30, n. 1, p. 55-60, 2000.

BAERHEIM, A.; LARSEN, E.; DIGRANES, A. Vaginal application of lactobacilli in the prophylaxis of recurrent lower urinary tract infection in women. **Scand. J. Prim. Health Care**, Bergen, v. 12, n. 4, p. 239-43, 1994.

BANTAR, C. et al. Replacement of broad-spectrum cephalosporins by piperacillin/tazobactam: impact on sustained high rates of bacterial resistance. **Antimicrob. Agents Chemother.**, Entre Rios, v. 48, n.2, p. 392-5, 2004.

BAUM, H. V.; FRANZ, U.; GEISS, H. K. Prevalence of ciprofloxacin-resistant *Escherichia coli* in hematologic-oncologic patients. **Infection**, Heidelberg, v. 28, n. 5, p. 278-81, 2000.

BARRAUD, D.; BOLLAERT, P. E.; GIBOT, S. Impact of the administration of probiotics on mortality in critically ill adult patients: a meta-analysis of randomized controlled trials. **Chest**, Guangxi, v. 143, n. 3, p. 646-55, 2013.

BELLISSIMO-RODRIGUES, W. T. et al. Effectiveness of a dental care intervention in the prevention of lower respiratory tract nosocomial infections among intensive care patients: a randomized clinical trial. **Infect. Control Hosp. Epidemiol.**, Ribeirão Preto, v. 35, n. 11, p. 1342-1348, 2014.

BILLER, J. A. et al. Treatment of recurrent *Clostridium difficile* colitis with *Lactobacillus GG*. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**, Dover, v. 21, n. 2, p. 224-6, 1995.

BIN-NUN, A. et al. Oral probiotics prevent necrotizing enterocolitis in very low birth weight neonates. **J. Pediatr.**, Jerusalem, v. 147, n. 2, p. 192-6, 2005.

BOHM, S.; KRUIS, W. Probiotics in chronic inflammatory bowel disease. **MMW Fortschr. Med.**, Koln, v. 148, n. 35-36, p. 30-4, 2006.

BOUCHER, H. W.; COREY, G. R. Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Clin. Infect. Dis.**, Caracas, v. 46, p. 344-9, 2008. Supplement 5.

BOURNET, F. R. et al. Nutritional aspects of short-chain fructooligosaccharides: Natural occurrence, chemistry, physiology, and health implications. **Dig. Liver Dis.**, Rueil-Malmaison, v. 34, n. 2, p. S111-S120, 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Manual de microbiologia clínica para controle de infecção em Serviço de Saúde**. Brasília, DF, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Medidas de prevenção de infecção relacionada à assistência à saúde**. Brasília, DF, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 2616 de 13 de maio de 1998. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, 15 maio 1998. Seção I.

BROOKS-BRUNN, J. A. Predictors of postoperative pulmonary complications following abdominal surgery. **Chest**, Indianapolis, v. 111, n. 3, p. 564-71, 1997.

BRUCE, A. W.; REID, G. Intravaginal instillation of lactobacilli for prevention of recurrent urinary tract infections. **Can. J. Microbiol.**, Toronto, v. 34, n. 3, p. 339-43, 1988.

BRUCE, A. W. et al. Recurrent urethritis in women. **Can. Med. Assoc. J.**, Ontario, v. 108, n. 8, p. 973-6, 1973.

BRUCE, A. W. et al. Preliminary study on the prevention of recurrent urinary tract infections in ten adult women using intravaginal lactobacilli. **Int. Urogynecol. J.**, Ontario, v. 3, n. 3, p. 22-5, 1992.

BURKE, J. P. Infection control - a problem for patient safety. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 348, n. 7, p. 651-6, 2003.

BURTON, J. P.; REID, G. Evaluation of the bacterial vaginal flora of 20 postmenopausal women by direct (Nugent score) and molecular (polymerase chain reaction and denaturing

gradient gel electrophoresis) techniques. **J. Infect. Dis.**, Londres, v. 186, n. 12, p. 1770-80, 2002.

BUU-HOI, A.; GOLDSTEIN, F. W.; ACAR, J. F. R-factors in gram-positive and gram-negative aerobic bacteria selected by antimicrobial therapy. **Scand. J. Infect. Dis. Suppl.**, Stockholm, v. 49, p. 46-55, 1986.

CADIEUX, P. A. et al. Lactobacillus by-products inhibit the growth and virulence of uropathogenic Escherichia coli. **J. Physiol. Pharmacol.**, v. 60, p. 13-8, 2009. Supplement 6.

CAMPIERI, M.; GIONCHETTI, P. Probiotics in inflammatory bowel disease: new insight to pathogenesis or a possible therapeutic alternative? **Gastroenterology**, v. 116, n. 5, p. 1246-9, 1999.

CARMELI, Y. et al. Controlling the spread of carbapenemase-producing Gram-negatives: therapeutic approach and infection control. **Clin. Microbiol. Infect.**, Tel Aviv, v. 16, n. 2, p. 102-11, 2010.

CARRATALA, J. et al. Emergence of fluoroquinolone-resistant Escherichia coli in fecal flora of cancer patients receiving norfloxacin prophylaxis. **Antimicrob. Agents Chemother.**, Barcelona, v. 40, n. 2, p. 503-5, 1996.

CHANG, H. Genetic engineering to enhance microbial interference and related therapeutic applications. **Nat. Biotechnol.**, Rockville, v. 14, n. 4, p. 444-7, 1996.

CHASTRE, J.; FAGON, J. Y. Ventilator-associated pneumonia. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, Paris, v. 165, n. 7, p. 867-903, 2002.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Guidance for Control of Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE)**. Atlanta, 2012.

CONWAY, L. J. et al. Adoption of policies to prevent catheter-associated urinary tract infections in United States intensive care units. **Am. J. Infect. Control**, Nova Iorque, v. 40, n. 8, p. 705-10, 2012.

CORNAGLIA, G.; GIAMARELLOU, H.; ROSSOLINI, G. M. Metallo- β -lactamases: a last frontier for β -lactams? **Lancet Infect. Dis.**, Verona, v. 11, n. 5, p. 381-93, 2011.

COELHO, J. M. et al. Occurrence of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* clones at multiple hospitals in London and Southeast England. **J. Clin. Microbiol.**, v. 44, n. 10, p. 3623-7, 2006.

COELHO, M. C. et al. **Efficacy evaluation of *Lactobacillus* spp. for decolonising hospitalised patients carrying multidrug-resistant Gram-negative bacteria**: a randomized pilot study. Poster of the European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 23th., Berlin, 2013.

CHOPRA, I. et al. Treatment of health-care-associated infections caused by Gram-negative bacteria: a consensus statement. **Lancet Infect. Dis.**, Leeds, v. 8, n. 2, p. 133-9, 2008.

CRAVEN, D. E.; STEGER, K. A.; BARBER, T. W. Preventing nosocomial pneumonia: state of the art and perspectives for the 1990s. **Am. J. Med.**, Massachusetts, v. 91, n. 3B, p. 44S-53S, 1991.

DE ARRUDA, I.; DE AGUILAR-NASCIMENTO, J. E. Benefits of early enteral nutrition with glutamine and probiotics in brain injury patients. **Clin. Sci.**, Cuiabá, v. 106, n. 3, p. 287-92, 2004.

DERDE, L. P. et al. Interventions to reduce colonisation and transmission of antimicrobial-resistant bacteria in intensive care units: an interrupted time series study and cluster randomised trial. **Lancet Infect. Dis.**, Utrecht, v. 14, n. 1, p. 31-9, 2014.

DIAS NETO, J. A. et al. Prevalence and bacterial susceptibility of hospital acquired urinary tract infection. **Acta Cir Bras.**, Ribeirão Preto, v. 18, p. 36-38, 2003. Suplemento 5.

DIRETRIZES brasileiras para tratamento das pneumonias adquiridas no hospital e das associadas à ventilação mecânica - 2007. **J. Bras. Pneumol.**, São Paulo, v. 33, p. S1-S30, 2007. Suplemento 1.

ECKBURG, P. B. et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. **Science**, Stanford, v. 308, n. 5728, p. 1635-8, 2005.

ELMER, G. W.; SURAWICZ, C. M.; MCFARLAND, L. V. Biotherapeutic agents. A neglected modality for the treatment and prevention of selected intestinal and vaginal infections. **JAMA**, Chicago, v. 275, n. 11, p. 870-6, 1996.

EGGIMANN, P.; PITTET, D. Infection control in the ICU. **Chest**, Geneva, v. 120, n. 6, p. 2059-93, 2001.

ESCOSTEGUY, C. C. Tópicos metodológicos e estatísticos em ensaios clínicos controlados randomizados. **Arq. Bras. Cardiol.**, Rio de Janeiro, v. 72, n. 2, p. 139-43, 1999.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO); WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Expert Consultation Group Health and Nutrition Properties of probiotics in food including powder milk with live lact acid bacteria**. Geneva, 2001.

FAKIH, M. G. et al. Urinary catheters in the emergency department: very elderly women are at high risk for unnecessary utilization. **Am. J. Infect. Control.**, Grosse Pointe Woods, v. 38, n. 9, p. 683-8, 2010.

FALAGAS, M. E.; BLIZIOTIS, I. A. Pandrug-resistant Gram-negative bacteria: the dawn of the post-antibiotic era? **Int. J. Antimicrob. Agents**, Atenas, v. 29, n. 6, p. 630-6, 2007.

FALAGAS, M. E.; KASIAKOU, S. K. Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. **Clin. Infect. Dis.**, Atenas, v. 40, n. 9, p. 1333-41, 2005.

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

FAVERO, M. S. et al. Pseudomonas aeruginosa: growth in distilled water from hospitals. **Science**, Fênix, v. 173, n. 3999, p. 836-38, 1971.

FEINMAN, S. E. Antibiotics in animal feed - Drug resistance revisited. **ASM News**, v. 64, n. 1, p. 24-30, 1998.

FISHER, L. D. et al. Intention to treat in clinical trials. In: PEACE, K. E. (Ed.). **Statistical issues in drug research and development**. New York: Marcel Dekker, 1990. p. 331-50.

FONTANA RT. As infecções hospitalares e a evolução histórica das infecções. **Rev Bras Enferm.**, Santo Ângelo, v. 59, n. 5, p. 703-6, 2006.

FOOLAD, N. et al. Effect of nutrient supplementation on atopic dermatitis in children: a systematic review of probiotics, prebiotics, formula, and fatty acids. **JAMA Dermatol.**, Chicago, v. 149, n. 3, p. 350-5, 2013.

FORCHIELLI, M.L.; WALKER, W. A. The effect of protective nutrients on mucosal defense in the immature intestine. **Acta Paediatr. Suppl.**, Bolonha, v. 94, n. 449, p. 74-83, 2005.

GARIBALDI, R. A. et al. Risk factors for postoperative pneumonia. **Am. J. Med.**, v. 70, n. 3, p. 677-80, 1981.

GARNACHO-MONTERO, J. et al. Acinetobacter baumannii ventilator-associated pneumonia: epidemiological and clinical findings. **Intensive Care Med.**, Sfax, v. 17, n. 12, p. 1225-1228, 2005.

GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **J. Nutr.**, Cambridge, v. 125, n. 6, p. 1401-12, 1995.

GOKULA, R. R.; HICKNER, J. A.; SMITH, M. A. Inappropriate use of urinary catheters in elderly patients at a midwestern community teaching hospital. **Am. J. Infect. Control.**, East Lansing, v. 32, n. 4, p. 196-9, 2004.

GORBACH, S. L.; CHANG, T. W.; GOLDIN, B. Successful treatment of relapsing Clostridium difficile colitis with Lactobacillus GG. **Lancet**, London, v. 2, n. 8574, p. 1519, 1987.

GOUGH, E.; SHAIKH, H.; MANGES, A. R. Systematic review of intestinal microbiota transplantation (fecal bacteriotherapy) for recurrent Clostridium difficile infection. **Clin. Infect. Dis.**, Montreal, v. 53, n. 10, p. 994-1002, 2011.

GU, W. J. et al. The effects of probiotics in early enteral nutrition on the outcomes of trauma: a meta-analysis of randomized controlled trials. **J. Parenter. Enteral Nutr.**, Guangxi, v. 37, n. 3, p. 310-7, 2013.

GURLEY, B. J. Cranberries as antibiotics? Comment on "Cranberries vs antibiotics to prevent urinary tract infections: a randomized double-blind noninferiority trial in premenopausal women". **Arch. Intern. Med.**, Amsterdam, v. 171, n. 14, p. 1279-80, 2011.

HAMILTON-MILLER, J. M. Living in the 'post-antibiotic era': could the use of probiotics be an effective strategy? **Clin. Microbiol. Infect.**, Londres, v. 3, n. 1, p. 2-3, 1997.

HANSEN, D. S.; GOTTSCHAU, A.; KOLMOS, H. J. Epidemiology of Klebsiella bacteraemia: a case control study using Escherichia coli bacteraemia as control. **J. Hosp. Infect.**, Copenhagen, v. 38, n. 2, p. 119-32, 1998.

HAYAKAWA, M. et al. Synbiotic therapy reduces the pathological gram-negative rods caused by an increased acetic acid concentration in the gut. **Dig. Dis. Sci.**, Hokkaido, v. 57, n. 10, p. 2642-9, 2012.

HEAD, K. A. Natural approaches to prevention and treatment of infections of the lower urinary tract. **Altern. Med. Rev.**, Dover, v. 13, n. 3, p. 227-44, 2008.

HICKSON, M. et al. Use of probiotic Lactobacillus preparation to prevent diarrhoea associated with antibiotics: randomised double blind placebo controlled trial. **BMJ**, Londres, v. 335, n. 7610, p. 80, 2007.

HIDRON, A. I. J et al. NHSN annual update: antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006-2007. **Infect. Control. Hosp. Epidemiol.**, Atlanta, v. 29, n. 11, p. 996-1011, 2008.

HILTON, E.; RINDOS, P.; ISENBERG, H. D. Lactobacillus GG vaginal suppositories and vaginitis. **J. Clin. Microbiol.**, Ferrara, v. 33, n. 5, p. 1431-32, 1995.

HOOTON, T. M. et al. Diagnosis, prevention, and treatment of catheter-associated urinary tract infection in adults: 2009 International Clinical Practice Guidelines from the Infectious Diseases Society of America. **Clin. Infect. Dis.**, Miami, v. 50, n. 5, p. 625-63, 2010.

ISOLAURI, E. et al. A human Lactobacillus strain (Lactobacillus casei sp strain GG) promotes recovery from acute diarrhea in children. **Pediatrics**, Lima, v. 88, n. 1, p. 90-7, 1991.

JAIN, P. et al. Overuse of the indwelling urinary tract catheter in hospitalized medical patients. **Arch. Intern. Med.**, Stony Brook, v. 155, n. 13, p. 1425-9, 1995.

JESUDASON, M. V.; KANDATHIL, A. J.; BALAJI, V. Comparison of two methods to detect carbapenemase & metallo-beta-lactamase production in clinical isolates. **Indian J. Med. Res.**, Vellore, v. 121, n. 6, p. 780-3, 2005.

JOLY- GUILLOU, M. L.; REGNIER, B. **L'infection liée aux soins**: stratégie de maîtrise des infections nosocomiales. Lyon: Éditions BioMérieux, 2005.

KELLY, C. P. Fecal microbiota transplantation--an old therapy comes of age. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 368, p. 474-5, 2013.

KOHN, L. T.; CORRIGAN, J. M.; DONALDSON, M. S. **To err is human**: building a safer health system. Washington, DC: National Academy Press, 1999.

KONTIOKARI, T. et al. Dietary factors protecting women from urinary tract infection. **Am. J. Clin. Nutr.**, Oulu, v. 77, n. 3, p. 600-4, 2003.

KNOLL, B. M. et al. Reduction of inappropriate urinary catheter use at a Veterans Affairs hospital through a multifaceted quality improvement project. **Clin. Infect. Dis.**, Mineapolis, v. 52, n. 11, p. 1283-90, 2011.

LAUTENBACH, E. et al. Test characteristics of perirectal and rectal swab compared to stool sample for detection of fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* in the gastrointestinal tract. **Antimicrob. Agents Chemother.**, Pensilvânia, v. 49, n. 2, p. 798-800, 2005.

LEAPE, L. L. et al. The nature of adverse events in hospitalized patients. Results of the Harvard Medical Practice Study II. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 324, n. 6, p. 377-84, 1991.

LI, Y. et al. Effects of bifidobacterium breve supplementation on intestinal flora of low birth weight infants. **Pediatr. Int.**, Tóquio, v. 46, n. 5, p. 509-15, 2004.

LIN, H. C. et al. Oral probiotics reduce the incidence and severity of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. **Pediatrics**, Taichung, v. 115, n. 1, p. 1-4, 2005.

LINTON, A. H. Antibiotic-resistant bacteria in animal husbandry. **Br. Med. Bull.**, v. 40, n. 1, p. 91-5, 1984.

LIU, K. et al. Probiotics' effects on the incidence of nosocomial pneumonia in critically ill patients: a systematic review and meta-analysis. **Crit. Care**, Xangai, v. 16, n. 3, p. R109, 2012.

LOLANS, K. et al. Multicity outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates producing the carbapenemase OXA-40. **Antimicrob. Agents Chemother.**, Chicago, v. 50, n. 9, p. 2941-45, 2006.

MANANGAN, L. P. et al. Feasibility of national surveillance of health-care-associated infections in home-care settings. **Emerg. Infect. Dis.**, Atlanta, v. 8, n. 3, p. 233-6, 2002.

MANIKAL, V. M. et al. Endemic carbapenem-resistant *Acinetobacter* species in Brooklyn, New York: citywide prevalence, interinstitutional spread, and relation to antibiotic usage. **Clin. Infect. Dis.**, Nova Iorque, v. 31, n.1, p. 101-6, 2000.

MANZONI, P. et al. Oral supplementation with *Lactobacillus casei* subspecies *ramnosus* prevents enteric colonization by *Candida* species in preterm neonates: a randomized study. **Clin. Infect. Dis.**, Turim, v. 42, n. 12, p. 1735-42, 2006.

MARANGONI, D. V et al. Infecções urinárias. **Ars. Cvrandi**, v. 19, n. 4, p. 17-25, 1986.

MATTILA, E. et al. Fecal transplantation, through colonoscopy, is effective therapy for recurrent *Clostridium difficile* infection. **Gastroenterology**, Helsinki, v. 142, n. 3, p. 490-6, 2012.

MATTILA-SANDHOLM. T.; MERCENIER, A. The "Food, GI-tract functionality and human health" European Research Cluster, PROEUHEALTH. **Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.**, Lille, v. 11, n. 4, p. 109-13, 2001. Supplement.

MEDDINGS, J. et al. Systematic review and meta-analysis: reminder systems to reduce catheter-associated urinary tract infections and urinary catheter use in hospitalized patients. **Clin. Infect. Dis.**, Michigan, v. 51, n. 5, p. 550-60, 2010.

MCFARLAND, L. V. et al. Rectal swab cultures for *Clostridium difficile* surveillance studies. **J. Clin. Microbiol.**, Seattle, v. 25, n. 11, p. 2241-2, 1987.

MCGROARTY, J. A. Probiotic use of lactobacilli in the human female urogenital tract. **FEMS Immunol. Med. Microbiol.**, Glasgow, v. 6, n. 4, p. 251-64, 1993.

MCLEAN, N. W.; ROSENSTEIN, I. J. Characterisation and selection of a *Lactobacillus* species to re-colonise the vagina of women with recurrent bacterial vaginosis. **J. Med. Microbiol.**, Londres, v. 49, n. 6, p. 543-52, 2000.

MILLAR, M. R. et al. Enteral feeding of premature infants with *Lactobacillus* GG. *Arch. Dis. Child.*, Winchester, v. 69, n. 5, p. 483-7, 1993. Special Number.

MONNET, D. L. Toward multinational antimicrobial resistance surveillance systems in Europe. **Int. J. Antimicrob. Agents**, Copenhagen, v. 15, n. 2, p. 91-101, 2000.

MONTINI, G.; TULLUS, K.; HEWITT, I. Febrile urinary tract infections in children. **N. Engl. J. Med.**, Bolonha, v. 365, n. 3, p. 239-50, 2011.

MORGAN, M. G.; MCKENZIE, H. Controversies in the laboratory diagnosis of community-acquired urinary tract infection. **Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 12, n. 7, p. 491-504, 1993.

MORROW, L. E. et al. Probiotic manipulation of the native flora in critically ill patients: an opportunity for ventilator-associated pneumonia prophylaxis. **Chest**, Omaha, v. 128, n. 4, p. 128-44, 2005.

MUNOZ-PRICE, L. S. et al. Eighteen years of experience with *Acinetobacter baumannii* in a tertiary care hospital. **Crit. Care Med.**, v. 41, n. 12, p. e480-81, 2013.

MUTO, C. A. et al. SHEA guideline for preventing nosocomial transmission of multidrug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and enterococcus. **Infect. Control Hosp. Epidemiol.**, Pensilvânia, v. 24, n. 5, p. 362-86, 2003.

NAAS, T. et al. VEB-1 Extended-spectrum β -lactamase-producing *Acinetobacter baumannii*, France. **Emerg. Infect. Dis.** Le Kremlin- Bicêtre, v. 12, n. 8, p. 1214-22, 2006.

NAAS, T.; NORDMANN, P. Analysis of a carbapenemhydrolyzing class A β -lactamase from *Enterobacter cloacae* and of its LysR-type regulatory protein. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, Basiléia, v. 91, n. 16, p. 7693-7, 1994.

NATIONAL NOSOCOMIAL INFECTIONS SURVEILLANCE (NNIS). System Report, Data Summary from January 1990- May 1999. **AJIC Am. J. Infect. Control.**, Atlanta, v. 27, n. 6, p. 520-32, 1999.

NEUHAUSER, M. M. et al. Antibiotic resistance among gram-negative bacilli in US intensive care units: implications for fluoroquinolone use. **JAMA**, Chicago, v. 289, n. 7, p. 885-8, 2003.

OKSANEN, P. J. et al. Prevention of travellers' diarrhoea by *Lactobacillus GG*. **Ann. Med.**, Vantaa, v. 22, n. 1, p. 53-6, 1990.

PALMER, M. B. **Manual de control de infecciones**. Madrid: Interamericana, 1986.

PETROF, E. O. et al. Stool substitute transplant therapy for the eradication of *Clostridium difficile* infection: 'RePOOPulating' the gut. **Microbiome**, Kingston, v. 1, n. 3, p. 1-12, 2013.

PODSCHUN, R.; ULLMANN, U. *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. **Clin. Microbiol. Rev.**, Kiel, v. 11, n. 4, p. 589-603, 1998.

POLLACK, M. et al. Factors influencing colonisation and antibiotic-resistance patterns of gram-negative bacteria in hospital patients. **Lancet**, London, v. 2, n. 7779, p. 668-71, 1972.

PROVONOST, P. et al. An intervention to decrease catheter-related bloodstream infections in the ICU. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 355, n. 26, p. 2725-32, 2006.

PLUMMER, S. et al. Clostridium difficile pilot study: effects of probiotic supplementation on the incidence of C. difficile diarrhoea. **Int. Microbiol.**, Swansea, v. 7, n. 1, p. 59-62, 2004.

QUEENAN, A. M.; BUSH, K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. **Clin. Microbiol. Rev.**, Raritan, v. 20, n. 3, p. 440-58, 2007.

QIN, J. et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. **Nature**, Shenzhen, v. 464, p. 59-65, 2010.

QIANG, X.; YONGLIE, C.; QIANBING, W. Health benefit application of functional oligosaccharides. **Carbohydr. Polym.**, Chengdu, v. 77, n. 3, p. 435-41, 2009.

RAUTAVA, S. Potential uses of probiotics in the neonate. **Semin. Fetal Neonatal Med.**, Turku, v. 12, n. 1, p. 45-53, 2007.

RAYES, N. et al. Effect of enteral nutrition and synbiotics on bacterial infection rates after pylorus-preserving pancreatoduodenectomy: a randomized, double-blind trial. **Ann. Surg.**, Berlin, v. 246, n. 1, p. 36-41, 2007.

REID, G.; BRUCE, A. W.; TAYLOR, M. Instillation of Lactobacillus and stimulation of indigenous organisms to prevent recurrence of urinary tract infections. **Microecol. Ther.**, Ontario, v. 23, p. 32-45, 1995.

REID, G.; MILLSAP, K.; BRUCE, A. W. Implantation of Lactobacillus casei var rhamnosus into vagina. **Lancet**, London, v. 344, n. 8931, p. 1229, 1994.

RELLO, J. et al. Epidemiology and outcomes of ventilator-associated pneumonia in a large US database. **Chest**, Tarragona, v. 122, n. 6, p. 2115-21, 2002.

RICE, L. B. et al. Ceftazidime-resistant Klebsiella pneumoniae isolates recovered at the Cleveland Department of Veterans Affairs Medical Center. **Clin. Infect. Dis.**, Cleveland, v. 23, n. 1, p. 118-124, 1996.

ROBERFROID, M. B. Functional foods: concepts and strategy. **J. Pharm. Belg.**, Lovânia, v. 56, n. 2, p. 43-4, 2001.

RODRIGUES, F. B. **Uso de solução oral de clorexidina para prevenção de infecções respiratórias nosocomiais em terapia intensiva**. 2009. Tese (Doutorado em Clínica Médica) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

ROY, A. et al. Role of enteric supplementation of probiotics on late-onset sepsis by candida species in preterm low birth weight neonates: a randomized, double blind, placebo-controlled trial. **N. Am. J. Med. Sci.**, Bengala Ocidental, v. 6, n. 1, p. 50-7, 2014.

RUMMUKAINEN, M. L. et al. Reduction in inappropriate prevention of urinary tract infections in long-term care facilities. **Am. J. Infect. Control.**, Jyväskylä, v. 40, n. 8, p. 711-4, 2012.

SAINT, S. et al. Preventing hospital-acquired urinary tract infection in the United States: a national study. **Clin. Infect. Dis.**, Michigan, v. 46, n. 2, p. 243-5, 2008.

SANTOS, NQ. A Resistência Bacteriana no Contexto da Infecção Hospitalar. **Texto Contexto Enferm.**, Florianópolis, v. 13, p. 64-70, 2004.

SAUNDERS, J. R. Genetics and evolution of antibiotic resistance. **Br. Med. Bull.**, v. 40, n. 1, p. 54-60, 1984.

SAXELIN, M.; PESSI, T.; SALMINEN, S. Fecal recovery following oral administration of Lactobacillus strain GG (ATCC 53103) in gelatine capsules to healthy volunteers. **Int. J. Food Microbiol.**, Helsinki, v. 25, n. 2, p. 199-203, 1995.

SEDDON, J. M. et al. Introital bacterial flora - effect of increased frequency of micturition. **Br. J. Urol.**, v. 48, n. 3, p. 211-8, 1976.

SELDEN, R. et al. Nosocomial klebsiella infections: intestinal colonization as a reservoir. **Ann. Intern. Med.**, Atlanta, v. 74, n. 5, p. 657-64, 1971.

SILVESTRI, L.; VAN SAENE, H. K.; PETROS, A. J. Selective digestive tract decontamination in critically ill patients. *Expert Opin. Pharmacother.*, Gorizia, v. 13, n. 8, p. 1113-29, 2012.

SIITONEN, S. et al. Effect of Lactobacillus GG yoghurt in prevention of antibiotic associated diarrhoea. **Ann. Med.**, Tampere, v. 22, n. 1, p. 57-9, 1990.

SOULI, M.; GALANI, I.; GIAMARELLOU, H. Emergence of extensively drug-resistant and pandrug-resistant Gram-negative bacilli in Europe. **Euro Surveill.**, Atenas, v. 13, n. 47, p. 19045, 2008.

SUASSUNA, I.; SUASSUNA, I. R. Perspectivas do emprego clínico dos antibióticos. **Tribuna Médica**, v. 14, n. 1, p. 10-7, 1971.

SCHAEFFER, A. J.; STAMEY, T. A. Studies of introital colonization in women with recurrent urinary infections. IX. The role of antimicrobial therapy. **J. Urol.**, v. 118, n. 1 Pt 2, p. 221-4, 1977.

SPINDLER-VESEL, A. et al. Synbiotics, prebiotics, glutamine, or peptide in early enteral nutrition: a randomized study in trauma patients. **JPEN J. Parenter. Enteral Nutr.**, Ljubljana, v. 31, n. 2, p. 119-26, 2007.

SCHABERG, D. R.; CULVER, D. H.; GAYNES, R. P. Major trends in the microbial etiology of nosocomial infection. **Am. J. Med.**, Michigan, v. 91, n. 3B, p. 72S-75S, 1991.

SHALEV, E. Ingestion of yogurt containing *Lactobacillus acidophilus* compared with pasteurized yogurt as prophylaxis for recurrent candidal vaginitis and bacterial vaginosis. **Arch. Fam. Med.**, Afula, v. 5, n. 10, p. 593-6, 1996.

STAMM, A. M. N. F.; COUTINHO, M. S. S. A. Infecção do trato urinário relacionada ao cateter vesical de demora: incidência e fatores de risco. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, Florianópolis, v. 45, n. 1, p. 27-33, 1999.

STAMEY, T. A. The role of introital enterobacteria in recurrent urinary infections. **J. Urol.**, v. 109, n. 3, p. 467-72, 1973.

STAPLETON, A. E. et al. Randomized, placebo-controlled phase 2 trial of a *Lactobacillus crispatus* probiotic given intravaginally for prevention of recurrent urinary tract infection. **Clin. Infect. Dis.**, Seattle, v. 52, n. 10, p. 1212-7, 2011.

TABLAN, O. C. et al. Guidelines for preventing health-care-associated pneumonia, 2003: recommendations of CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. **MMWR Recomm. Rep.**, Atlanta, v. 53, n. RR-3, p. 1-36, 2004.

VAN NOOD, E. et al. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 368, n. 5, p. 407-15, 2013.

TIEN, M. T.; GIRARDIN, S. E. Anti-inflammatory effect of *Lactobacillus casei* on *Shigella*-infected human intestinal epithelial cells. **J. Immunol.**, Paris, v. 176, n. 2, p. 1228-37, 2006.

TIPPLE A.F.V. et al. O ensino do controle de infecção: um ensaio teórico-prático. **Latino-am Enfermagem.**, Goiânia, v. 11, n. 2, p. 245-50, 2003.

VILLERS, D. et al. Nosocomial *Acinetobacter baumannii* infections: microbiological and clinical epidemiology. **Ann. Intern. Med.**, Nantes, v. 129, p. 182-9, 1998.

WAGNER, R. D. et al. Probiotic effects of feeding heat-killed *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* to *Candida albicans*-colonized immunodeficient mice. **J. Food Prot.**, Madison, v. 63, n. 5, p. 638-44, 2000.

WANG, J. et al. Probiotics for preventing ventilator-associated pneumonia: a systematic review and meta-analysis of high-quality randomized controlled trials. **PLoS One**, Xangai, v. 8, n. 12, p. e83934, 2013.

WANG, Z. K. et al. Review article: fungal microbiota and digestive diseases. **Aliment. Pharmacol. Ther.**, Beijing, v. 39, n. 8, p. 751-66, 2014a.

WANG, Z. K. et al. Intestinal microbiota pathogenesis and fecal microbiota transplantation for inflammatory bowel disease. **World J. Gastroenterol.**, Beijing, v. 20, n. 40, p. 14805-20, 2014b.

WARBUTON, D. W.; BOWEN, B.; KONKLE, A. The survival and recovery of *Pseudomonas aeruginosa* and its effects upon salmonellae in water: methodology to test bottled water in Canada. **Can. J. Microbiol.**, Ottawa, v. 40, n. 12, p. 987-92, 1994.

WITTE W. Medical consequences of antibiotic use in agriculture. **Science**, Wernigerode, v. 279, n. 5353, p. 996-7, 1998.

WORLD HEALTH ORGANIZATION SCIENTIFIC WORKING GROUP (WHO). Antimicrobial resistance. **Bull. World Health Organ.**, Geneva, v. 61, n. 3, p. 383-94, 1983.

WRIGHT, G. D. Something old, something new: revisiting natural products in antibiotic drug discovery. **Can. J. Microbiol.**, Hamilton, v. 60, n. 3, p. 147-54, 2014.

ZANETTI, G. et al. Infections and urolithiasis: current clinical evidence in prophylaxis and antibiotic therapy. **Arch. Ital. Urol. Androl.**, Milão, v. 80, n. 1, p. 5-12, 2008.

ZELEKE, A.; CHANIE, T.; WOLDIE, M. Medication prescribing errors and associated factors at the pediatric wards of Dessie Referral Hospital, Northeast Ethiopia. **Int. Arch. Med.**, Dessie, v. 7, p. 18, 2014.

ZIMLICHMAN, E. et al. Health care-associated infections: a meta-analysis of costs and financial impact on the US health care system. **JAMA Intern. Med.**, Chicago, v. 173, n. 22, p. 2039-46, 2013.

* De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023.

ANEXOS

Anexos

ANEXO A: Aprovação pelo Comitê de Ética

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Ribeirão Preto, 08 de fevereiro de 2012

Ofício nº 461/2012
CEP/MGV

Prezados Senhores,

O trabalho intitulado **“USO DE PROBIÓTICOS PARA PREVENÇÃO DE INFECÇÕES HOSPITALARES EM PACIENTES HOSPITALIZADOS PORTADORES DE BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS MULTIDROGARRESISTENTES”**, foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 339ª Reunião Ordinária realizada em 06/02/2012, e enquadrado na categoria: **APROVADO**, bem como o **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**, de acordo com o Processo HCRP nº 13914/2011.

De acordo com Carta Circular nº 003/2011/CONEP/CNS, datada de 21/03/2011, o sujeito de pesquisa ou seu representante, quando for o caso, deverá rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE – apondo sua assinatura na última do referido Termo; o pesquisador responsável deverá da mesma forma, rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE – apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

Este Comitê segue integralmente a Conferência Internacional de Harmonização de Boas Práticas Clínicas (ICH-GCP), bem como a Resolução nº 196/96 CNS/MS.

Lembramos que devem ser apresentados a este CEP, o Relatório Parcial e o Relatório Final da pesquisa.

Atenciosamente,

DRª. MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA
Coordenadora do Comitê de Ética em
Pesquisa do HCRP e da FMRP-USP

Ilustríssimos Senhores
MARIANA CORRÊA COELHO
PROF. DR. FERNANDO BELLÍSSIMO RODRIGUES(Orientador)
Depto. de Medicina Social

ANEXO B: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Prezado paciente ou responsável:

Os avanços da assistência médica hospitalar tornam possível hoje salvar muitas pessoas que anteriormente morriam em decorrência de suas doenças. Entretanto, estes avanços não são isentos de risco, sendo um desses riscos a aquisição pelo paciente de bactérias resistentes a vários tipos de antibióticos e o desenvolvimento de infecção hospitalar. Apesar de todos os esforços preventivos, esta complicação infelizmente continua a ocorrer com relativa frequência nos hospitais brasileiros, assim como em vários outros países do mundo.

Essas bactérias podem simplesmente “habitar” o corpo humano, sem causar doença, como também podem causar infecções de diversos órgãos, como pneumonia, infecção urinária e infecção generalizada, na dependência das reações de defesa que o paciente apresentar contra elas.

Atualmente, os antibióticos disponíveis são capazes de tratar as infecções causadas por estas bactérias, mas não são capazes de eliminá-las completamente do organismo humano. Geralmente, mesmo após o tratamento com antibióticos, elas permanecem vivas no sistema digestivo do corpo (boca, esôfago, intestino) por várias semanas ou meses. Nesta condição, a pessoa portadora pode sofrer novas infecções pela mesma bactéria, ou transmiti-la a outros pacientes e outras pessoas de seu convívio, após a alta hospitalar.

Por este motivo, para minimizar este problema é necessário descobrir um meio eficaz de eliminar estas bactérias do corpo humano e assim diminuir as taxas de infecção hospitalar, sendo esta a justificativa da pesquisa que agora lhe apresentamos.

Um dos exames de cultura colhidos do seu corpo, ou da pessoa por quem você é responsável, acusou o crescimento de uma dessas bactérias de que falamos anteriormente. Gostaríamos então de convidar o(a) senhor(a) à participar, ou autorizar a participação daquele sob sua responsabilidade, em uma pesquisa científica, que tem justamente por objetivo descobrir uma maneira de remover estas bactérias do corpo humano para que ela não desenvolva infecção hospitalar. No caso do senhor(a) estar autorizando a participação de um paciente sob sua responsabilidade temporariamente incapaz de decidir, o mesmo será também consultado quando ele se recuperar e puder decidir por si próprio se deseja ou não continuar a participar da pesquisa.

Nesta pesquisa, uma parte dos pacientes participantes receberá diariamente pela boca, de 12 em 12 horas, durante 7 dias, sachês contendo microrganismos que habitualmente não fazem mal à saúde humana (probióticos), como aqueles encontrados em iogurtes, na expectativa de que eles “expulsem” as bactérias resistentes do sistema digestivo. Outros pacientes receberão sachês contendo apenas farinha e serão considerados o grupo de controle do experimento.

A distribuição dos pacientes num grupo ou no outro se dará por sorteio aleatório e os médicos e enfermeiros que cuidam dos pacientes não saberão qual o tipo de sachê que eles estão usando e tratarão a todos os pacientes da mesma forma, conforme suas necessidades.

Ao longo do estudo, uma vez por semana realizaremos exames de cultura do trato digestivo por meio de um cotonete especial, coletando as amostras do ânus, o que

eventualmente poderá causar pequeno desconforto para o paciente. Serão coletadas as amostras de ambos os grupos de pacientes para compararmos se a taxa de eliminação das bactérias resistentes será diferente entre eles ou não. A pesquisa acontecerá durante todo o período de internação do paciente, e não afetará a programação de alta do paciente, isto é, ele não terá de permanecer no hospital além do necessário para a sua recuperação.

Como já dito antes, estes microrganismos probióticos são comercializados livremente no Brasil, na forma de cápsulas ou iogurtes, por serem considerados inofensivos à saúde humana. Mesmo assim, se algum efeito colateral inesperado ocorrer com você ou a pessoa sob sua responsabilidade, o uso da substância será interrompido imediatamente e o problema será avaliado pela equipe médica responsável.

O(A) senhor(a), ou o paciente sob sua responsabilidade, será acompanhado normalmente pela equipe de profissionais de saúde do hospital e pelos médicos infectologistas da comissão de controle de infecção hospitalar, que auxiliarão a condução dos casos, na prevenção e tratamento de quaisquer infecções, para que você ou seu responsável fiquem seguros e bem orientados sobre os procedimentos. A identidade dos pacientes inclusos será preservada em segredo e os resultados da pesquisa serão analisados apenas em conjunto.

Caso você opte por não participar da pesquisa, isso não afetará seu tratamento em nenhum aspecto. Caso opte por ser incluído e depois resolva deixar o estudo durante sua realização, também isto não afetará a continuidade do seu tratamento. Queremos que você se sinta livre para escolher a opção que melhor lhe convém.

A participação na pesquisa não acarretará qualquer despesa financeira ao paciente ou a seus familiares.

Todas as informações adicionais referentes a esta pesquisa que o paciente ou seu responsável familiar deseje obter serão prestadas pelo pesquisador responsável antes, durante ou mesmo após o término de sua participação no estudo.

Atenciosamente,
Prof. Dr. Fernando Bellissimo Rodrigues
Dra. Mariana Corrêa Coelho Salomão
Mário Augusto Heluany Filho

Pesquisadores responsáveis:

Mário Augusto Heluany Filho/ Telefone: (16) 8117-9190

Mariana Corrêa Coelho Salomão/ Telefone: (16) 8193-8103

Assinatura do paciente: _____ Data: ____ / ____ / ____

Assinatura do responsável: _____ Data: __ / __ / ____

ANEXO C: Metodologia laboratorial de detecção de bacilo Gram-negativo multirresistente

Laboratory Protocol for Detection of Carbapenem-Resistant or Carbapenemase-Producing, *Klebsiella* spp. and *E. coli* from Rectal Swabs

Purpose

To identify patients colonized with carbapenem-resistant or carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in the intestinal tract. Patients who grow these organisms should be placed on Contact Precautions (5) to prevent transmission of the resistant bacteria. The procedure described below is a modification of the procedure described by Landman et al. (4). See the procedural notes for steps in the procedure which can be modified.

Background

Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) are usually resistant to all β -lactam agents as well as most other classes of antimicrobial agents. The treatment options for patients infected with CRE are very limited. Healthcare-associated outbreaks of CRE have been reported. Patients colonized with CRE are thought to be a source of transmission in the healthcare setting (1). Identifying patients who are colonized with CRE and placing these patients in isolation precautions may be an important step in preventing transmission (6).

Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae occurs when an isolate acquires a carbapenemase or when an isolate produces an extended-spectrum cephalosporinase, such as an AmpC-type β -lactamase, in combination with porin loss. In the United States, the most common mechanism of carbapenem resistance is the *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC).

Detection of carbapenemase production is complicated because some carbapenemase-producing isolates demonstrate elevated but susceptible, carbapenem MICs. CLSI has published guidelines for detection of isolates producing carbapenemases (CLSI document M100) (2). For isolates that test susceptible to a carbapenem but demonstrate reduced susceptibility either by disk diffusion or MIC testing, performing a phenotypic test for carbapenemase activity, the Modified Hodge Test (MHT), is recommended.

Carbapenem resistance and carbapenemase-production in any species of Enterobacteriaceae is an infection control concern. However, the methodology described here focuses on the detection of carbapenem-resistant or carbapenemase-producing *Klebsiella* spp and *E. coli* as this facilitates performance of the test in the microbiology laboratory and, more importantly, because these organisms, especially *Klebsiella* spp. represent the vast majority of CRE encountered in the United States (3).

Reagents

5 ml Trypticase Soy Broth
10- μ g carbapenem disks
MacConkey agar

Equipment

Vortex
35 $\pm$ °C, ambient air

Supplies

100 μ l calibrated pipettes
Forceps
Sterile loops

Specimen

Rectal swab or perianal swab specimen in suitable transport media

Special safety precautions

Biosafety Level 2

Quality Control (QC)

The carbapenem disks that are used in this procedure should be quality control tested using disk diffusion methods and quality control strains as described in the CLSI guideline documents M2 and M100 (2,(2). For example, if the 10- μ g/mL meropenem disk is used in this procedure, test *E. coli* ATCC 25922 by the disk diffusion method using meropenem disks from the same lot. An acceptable control test will yield a zone size between 28-34 mm. Follow CLSI guidelines for frequency of disk QC testing and corrective action if results are out of range.

Procedure

Step 1 Day One	<p>Aseptically, place one 10-μg ertapenem or meropenem disc in 5 ml trypticase soy broth (TSB) (see procedure note 1)</p> <p>Immediately inoculate the broth with the rectal culture swab</p> <p>Incubate overnight at 35 ± 2°C, ambient air</p>
Step 2 Day Two	<p>Vortex and subculture 100 μl of the incubated broth culture onto a MacConkey agar plate (see procedure note 2)</p> <p>Streak for isolation</p> <p>Incubate overnight at 35 ± 2°C, ambient air</p>
Step 3 Day Three	<p>Examine the MacConkey agar for lactose-fermenting (pink-red) colonies. More than one colony morphology may represent different species of Enterobacteriaceae (see procedure note 3).</p> <p>It may be necessary to subculture representative colonies of each morphology type to a non-selective media for isolation and/or for susceptibility testing.</p> <p>Screen representative isolated colonies using a phenotypic test for carbapenemase production, such as the Modified Hodge Test (MHT) or test for carbapenem susceptibility using a standardized method and follow the CLSI guidelines for identification of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (see procedure note 4).</p>
Step 4 Day Four	<p>For CRE and/or MHT-positive isolates, perform species-level identification.</p>

Interpretation/Results

Report all cultures that are positive for CRE or carbapenemase-producing Enterobacteriaceae to the appropriate infection control personnel. Contact Precautions should be implemented for all patients with positive cultures for CRE or carbapenemase-producing Enterobacteriaceae.

Quality assurance

The ability to recover CRE using this procedure could be assessed as follows: Inoculate 5mL of TSB containing the 10-ug carbapenem disk with a swab that was used to sample a known CRE-negative stool specimen. In addition, inoculate the TSB with 0.5 mL of a 1×10^5 CFU/mL suspension of a known carbapenemase-producing isolate (e.g., *K. pneumoniae* ATCC BAA-1705), (see procedural note 5 for suspension preparation) Proceed with Step 2 of the procedure. The carbapenemase-producing *K. pneumoniae* should be recovered on the MacConkey agar.

To test for specificity of the procedure, use a carbapenem susceptible *Klebsiella pneumoniae*, (e.g. ATCC 700603) and follow the same steps. The carbapenem susceptible *K. pneumoniae* isolate should not grow on the MacConkey agar.

Method limitations

1. Patients may be colonized with CRE or carbapenemase-producing Enterobacteriaceae at a concentration that is not detectable by this method. Studies described by Landman et al. and studies performed at the CDC suggest that the lower limit of detection is between ranges from 1×10^3 CFU/mL to 1×10^6 CFU/mL (4).
2. Non-fermenting gram-negative bacilli with intrinsic mechanisms of carbapenem-resistance, such as *Acinetobacter* spp. and *P. aeruginosa*, will be detected on the MacConkey agar. These isolates should be identified as non-lactose fermenters on the MacConkey agar and therefore would not be picked for characterization. If carbapenem-resistant non-fermenters are present at high concentration, they could overgrow CRE or carbapenemase-producing Enterobacteriaceae on the media and prevent detection of colonization.
3. Enterobacteriaceae can be resistant to carbapenems by mechanisms other than a carbapenemase, the most common of which is expression of an extended-spectrum cephalosporinase, such as an AmpC-type enzyme or an ESBL, combined with porin loss. These isolates will also grow on the MacConkey agar and be identified as carbapenem-intermediate or resistant by standard susceptibility testing but these isolates are negative by the MHT. For isolates that test intermediate or resistant to carbapenems, it may not be necessary to distinguish between these mechanisms of resistance because all carbapenem-nonsusceptible Enterobacteriaceae produce a broad-spectrum β -lactamase, and are therefore an infection control concern. Implementing Contact Precautions for patients colonized with these bacteria would be appropriate. Laboratories may choose to test carbapenem-intermediate or resistant isolates with the MHT to identify carbapenemase-production for epidemiological purposes.

Procedure notes

1. The procedure described by Landman et al. (4) describes using a 10- μ g imipenem disk for step 1. However, there are species of Enterobacteriaceae which have intrinsic mechanisms of resistance to imipenem other than a carbapenemase (See CLSI document M100, Appendix G)(2). Therefore, ertapenem or meropenem may provide more specific selection for acquired carbapenem resistance in Enterobacteriaceae.
2. Some laboratories performing cultures for isolation of CRE from rectal specimens place a 10- μ g carbapenem disk in the first quadrant of the MacConkey plate. Only colonies growing "close" to the carbapenem disk are picked for characterization. No clear criteria for "close" have been established. However, it may be helpful to use either a meropenem or ertapenem disk and then apply the CLSI disk diffusion screening criteria to identify potential carbapenemase-producing isolates (i.e., an ertapenem or meropenem disk zone ≤ 21 mm). Note: These zone size criteria

- 4 -

were validated for standardized disk diffusion testing methods as described in CLSI document M2.

3. Carbapenemases are known to exist in several different species of gram-negative bacilli including species of Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa*. However, carbapenemases are more common in lactose-fermenting species of Enterobacteriaceae (e.g., *K. pneumoniae* and *E. coli*) than in non-lactose fermenting Enterobacteriaceae (e.g., *Serratia marcescens* and some *Enterobacter* spp.) and *P. aeruginosa*. In this procedure, it is suggested that laboratories focus their efforts on detection of resistant lactose-fermenting bacteria to reduce workload. Healthcare facilities that have identified clinical infections with carbapenemase-producing non-lactose fermenting gram-negative species should consider altering this procedure to include characterization of colonies with a morphology that is consistent with those species.
4. The exact procedure for confirmation of CRE or carbapenemase-production should be laboratory-specific and chosen based upon laboratory workflow and the types of isolates causing clinical infections in the patient population served. It may be helpful to refer to the CLSI guidelines for identification of carbapenemase production in isolates that test susceptible to carbapenems in document M100 (2).
5. A 1×10^4 CFU/mL suspension of the known carbapenem-resistant or carbapenem-susceptible isolates could be prepared as follows: Dilute 0.1 mL of a 0.5 McFarland standard suspension (equals approximately 1×10^8 CFU/mL), in 9.9 mL sterile water or saline for a 1:100 dilution. From the 1:100, dilute 1.0 mL in 9.0 mL water or saline for a 1:1000 dilution. Add 0.5 mL of the 1:1000 dilution (equals approximately 1×10^5 CFU/mL), suspension to the 5 mL TSB for a final concentration of approximately 1×10^4 CFU/mL.

References

1. Calfee, D., and S. G. Jenkins. 2008. Use of active surveillance cultures to detect asymptomatic colonization with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in intensive care unit patients. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 29:966-8.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. 2009. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. Nineteenth informational supplement. M100-S19. CLSI, Wayne, PA.
3. Deshpande, L. M., R. N. Jones, T. R. Fritsche, and H. S. Sader. 2006. Occurrence and characterization of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2000-2004). *Microb. Drug Resist.* 12:223-230.
4. Landman, D., J. K. Salvani, S. Bratu, and J. Quale. 2005. Evaluation of techniques for detection of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in stool surveillance cultures. *J. Clin. Microbiol.* 43:5639-5641.

5. Siegel, J. D., E. Rhinehart, M. Jackson, L. Chiarello, and HICPAC. 2007. Guideline for Isolation Precautions: Preventing Transmission of Infectious Agents in Healthcare Settings 2007. www.cdc.gov/ncidod/dhqp/pdf/isolation2007.pdf
6. Siegel, J. D., E. Rhinehart, M. Jackson, L. Chiarello, and HICPAC. 2006. Management of Multidrug-Resistant Organisms in Healthcare Settings 2006. www.cdc.gov/ncidod/dhqp/pdf/ar/mdroGuideline2006.pdf

ANEXO D: Ficha Clínica**DADOS DE INCLUSÃO**

Nome: _____ Sexo: _____ Registro no HC: _____
 Idade: _____
 Local de Internação: _____ Data de admissão: ____ / ____ / ____
 Tempo de internação até a inclusão no estudo: _____
 Condição clínica à admissão:
☐ Diabetes mellitus ☐ IRA/IRC ☐ Hepatopatia crônica
☐ DPOC ☐ Doença cerebro-vascular ☐ Obesidade
☐ Desnutrição ☐ Doença neuro-muscular ☐ HAS
☐ HIV com CD4 > 200 ☐ Sd do Intestino Curto ☐ Neoplasia maligna
☐ Doença auto imune ☐ Politrauma recente ☐ Doença coronariana
☐ Infecções: _____

☐ Outras: _____

ACHADOS MICROBIOLÓGICOS ANTES DA INTERVENÇÃO

- Bacilo(s) Gram-negativo(s) MDR isolado(s) em culturas clínicas:
☐ *Klebsiella* spp. ☐ *Acinetobacter* spp.
☐ *Enterobacter* spp. ☐ *Pseudomonas aeruginosa*
☐ *Serratia* spp. ☐ *Proteus* spp.
☐ Outros Gram ☐ fermentadores ☐ Outros Gram ☐ não-fermentadores
- Local de isolamento dos agentes etiológicos:
☐ Hemocultura ☐ Cultura de vigilância da CCIH
☐ Trato respiratório ☐ Urocultura
☐ Líquido peritoneal ☐ Líquido pleural
☐ Líquor ☐ Outros: _____
- O agente está ou esteve envolvido em doença clínica: ☐

DADOS OBSERVADOS DURANTE A INTERVENÇÃO:

- Uso de antimicrobianos: ☐
☐ Cefalosporinas ☐ Quinolonas ☐ Carbapenems

- ☐ Polimixinas ☐ Aminoglicosídeos ☐ Inibidores de β -lactamase
- ☐ Outros
- Tempo de uso do antibiótico em relação à intervenção experimental:
 - ☐ Dia de início ☐ Dia de fim
- Uso de bloqueadores da acidez gástrica: ☐
- Uso de antissépticos bucais: ☐
- Cirurgia torácica/abdominal recente: ☐
- Uso de imunossupressores: ☐ - Tipo de imunossupressor: ☐
- Contra- indicação para cabeceira elevada: ☐
- Uso de dispositivos invasivos: ☐
 - ☐ Ventilação mecânica invasiva ☐ N° de dias em VM durante a intervenção
 - ☐ Tubo com aspiração subglótica ☐ Traqueostomia
 - ☐ SNG ou SNE
 - ☐ Sondagem vesical de demora ☐ N° de dias em SVD durante a intervenção
 - ☐ Sondagem vesical intermitente
- Presença de vômitos e/ou aspiração: ☐
- Litíase urinária conhecida: ☐
- Presença de disfunção vesical: ☐
- Realizado procedimento urológico: ☐

DADOS DA INTERVENÇÃO

- Número de alocação no experimento: ☐ Grupo experimental ☐
- Número de doses de *Lactobacillus* checadas na prescrição: ☐
- Via de administração dos *Lactobacillus*:
 - ☐ SNG ou SNE ☐ Via oral

DESFECHOS OBSERVADOS

- Resultado da descolonização:
 - ☐ Totalmente efetiva ☐ N° do primeiro swab negativo
 - ☐ Parcialmente efetiva
 - ☐ Totalmente inefetiva
- Ocorreu alguma das referidas IH durante a intervenção e até 1 semana após a alta: ☐
 - ☐ Inf. respiratória ☐ PAV ☐ PNM ☐ Traqueobronquite ☐ Sinusite
 - ☐ Infecção urinária ☐ Cistite ☐ Pielonefrite
 - ☐ Candidemia confirmada

☐ Diarréia

- Intervalo entre a admissão no estudo e o 1º episódio das referidas IH, em dias: ()
- Intervalo entre a admissão no estudo e a alta, em dias: ()
- Tempo de antibioticoterapia sistêmica durante o estudo, em dias: ()
- Desfecho final da internação hospitalar:
 - ☐ Alta médica
 - ☐ Óbito diretamente causado pelas referidas IHs desenvolvidas durante o estudo
 - ☐ Óbito relacionado à IH desenvolvida durante o estudo, conjuntamente com outras causas
 - ☐ Óbito não relacionado à IH desenvolvida durante o estudo

EVENTOS ADVERSOS DO AGENTE EM ESTUDO

- ☐ Diarréia ☐ Cólica abdominal ☐ Flatulência
 - ☐ Náuseas ☐ Vômitos ☐ Obstrução da
- SNG/SNE**
- ☐ Gosto desagradável
 - ☐ Bacteremia por *Lactobacillus* spp.
 - ☐ Nenhum
 - ☐ Outros. Descrever:

ANEXO E: Critérios diagnósticos de IH definidos e atualizados pela ANVISA (BRASIL, 2013)

2. Definição de infecção do trato urinário relacionada à assistência à saúde no adulto

- ITU-RAS no adulto pode ser classificada em: 1. ITU relacionada a procedimento urológico, mais frequentemente cateterismo vesical; 2. ITU não relacionada a procedimento urológico; 3. ITU sintomática; e 4. ITU assintomática, também chamada de bacteriúria assintomática.
- ITU-RAS é definida como: 1. qualquer infecção ITU relacionada a procedimento urológico; e 2. ITU não relacionada a procedimento urológico diagnosticada após a admissão em serviço de saúde e para a qual não são observadas quaisquer evidências clínicas e não está em seu período de incubação no momento da admissão.

2.1 ITU-RAS Sintomática

- ITU-RAS sintomática é definida pela presença de ao menos um dos seguintes critérios:
 1. Paciente tem pelo menos 1 dos seguintes sinais ou sintomas, sem outras causas reconhecidas: febre ($>38^{\circ}\text{C}$), urgência, frequência, disúria, dor suprapúbica ou lombar E apresenta uma cultura de urina positiva com $\geq 10^5$ unidades formadoras de colônias por mL de urina (UFC/mL) de um uropatógeno (bactérias Gram negativas, *Staphylococcus saprophyticus*, ou *Enterococcus* spp), com até duas espécies microbianas. Como a cultura de *Candida* spp. não é quantitativa, considerar qualquer crescimento;
 2. Paciente com pelo menos 2 dos seguintes sinais ou sintomas, sem outras causas reconhecidas: febre ($>38^{\circ}\text{C}$), urgência, frequência, disúria, dor suprapúbica ou lombar E pelo menos 1 dos seguintes:
 - a. Presença de esterase leucocitária ou nitrito na análise da urina;
 - b. Presença de piúria em espécime urinário com ≥ 10 leucócitos/ μL ou ≥ 10 leucócitos por campo em aumento de 400X (amostra centrifugada) ou ≥ 3 leucócitos por campo em aumento de 400X (urina não centrifugada);
 - c. Presença de micro-organismos no Gram da urina não centrifugada;
 - d. Pelo menos 2 urinoculturas com repetido isolamento do mesmo uropatógeno com $\geq 10^2$ UFC/mL em urina não coletada por micção espontânea;
 - e. Isolamento de $\leq 10^5$ UFC de um único uropatógeno em urinocultura obtida de paciente sob tratamento com um agente efetivo para ITU;
 - f. Diagnóstico de ITU pelo médico assistente;
 - g. Terapia apropriada para ITU instituída pelo médico.

2.2 ITU-RAS assintomática

- ITU-RAS assintomática é definida pela presença de ao menos 1 dos seguintes critérios:
 1. Paciente está ou esteve com um cateter vesical (CV) em até 7 dias antes da urinocultura E apresenta urinocultura positiva com ≥ 105 UFC/mL de até duas espécies microbianas E não apresenta febre ($>38^{\circ}\text{C}$), urgência, frequência, disúria, dor suprapúbica ou lombar;
 2. Paciente do sexo feminino que não utilizou CV nos 7 dias anteriores à coleta de urina E apresenta duas urinoculturas com ≥ 105 UFC/mL com isolamento repetido do mesmo micro-organismo (até duas espécies microbianas) em urina colhida por micção espontânea OU apresenta uma urinocultura positiva com > 105 UFC/mL de até duas espécies microbianas em urina colhida por CV E não apresenta febre ($>38^{\circ}\text{C}$), urgência, frequência, disúria, dor suprapúbica ou lombar;
 3. Paciente do sexo masculino que não utilizou CV nos 7 dias anteriores à coleta de urina E apresenta uma urinocultura positiva com > 105 UFC/mL de até duas espécies microbianas em urina colhida por micção espontânea ou por CV E não apresenta febre ($>38^{\circ}\text{C}$), urgência, frequência, disúria, dor suprapúbica ou lombar.

Comentários

- Cultura de ponta de cateter urinário não é um teste laboratorial aceitável para o diagnóstico de ITU;
- As culturas de urina devem ser obtidas com a utilização de técnica apropriada: coleta limpa por meio de micção espontânea ou cateterização. A urina coletada em paciente já cateterizado deve ser aspirada assepticamente do local próprio no circuito coletor e a cultura processada de forma quantitativa. Não há indicação de troca do cateter para obter urina para cultura.

2. Critérios nacionais de infecção do trato respiratório

2.1 Infecções respiratórias: pneumonia – adulto

2.1.1 Pneumonia associada à ventilação mecânica – PAV: infecção Diagnosticada após 48h de ventilação mecânica até a sua suspensão.

2.1.2 Pneumonia relacionada à assistência à saúde em paciente sem ventilação mecânica

3. Infecções respiratórias – trato respiratório superior

3.1 Faringite, laringite, epiglote em pacientes sem ventilação mecânica invasiva

As infecções do trato respiratório superior devem apresentar pelo menos uma das definições a seguir:

1. O paciente tem 02 (dois) ou mais dos seguintes sinais e sintomas sem nenhuma outra causa associada: febre (temperatura axilar $> 38^{\circ}\text{C}$), dor de garganta, tosse, rouquidão, eritema ou exsudato faríngeo purulento associado a pelo menos 01 (um) dos critérios abaixo:
 - a. cultura positiva de microorganismos do sítio de infecção;
 - b. hemoculturas positivas;
 - c. antígeno positivo no sangue ou secreções faríngeas;
 - d. IgM positivo ou aumento de 4 X IgG pareado para o patógeno;
 - e. diagnóstico de infecção respiratória alta, estabelecido pelo médico assistente.

OU

2. O paciente tem um abscesso visto no exame direto, durante cirurgia ou em exame histopatológico.

3.2 Sinusite

O diagnóstico de sinusite deve contemplar pelo menos 01 (um) dos critérios a seguir:

1. Cultura positiva de microorganismos em material purulento da cavidade sinusal
2. O paciente tem pelo menos 01 (um) dos seguintes sinais e sintomas sem nenhuma outra causa: febre (temperatura axilar $> 38^{\circ}\text{C}$), aumento da sensibilidade ou dor no seio da face, cefaléia, obstrução nasal ou exsudato purulento.

Associados a pelo menos 01 (um) dos critérios a seguir:

1. Transiluminação positiva (opacidade do seio maxilar visível após incidência direta de luz);
2. Exame de imagem positivo (Raio X, Ultrassom, Tomografia Computadorizada)

4.1 Bronquite, traqueobronquite, bronquiolite, traqueíte sem evidência de pneumonia