ANA TOMIE NAKAYAMA KURAUCHI

**Modelagem do efeito de uma vacina contra a dengue na
redução da evolução da resistência contra o antibiótico devido
uso inadequado em casos de dengue**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Doutor em
Ciências

Programa de Patologia
Orientador: Prof. Dr. Eduardo Massad

Versão corrigida. Resolução CoPGr 6018, de 13 de Outubro de 2011.

A versão original está disponível na Biblioteca da FMUSP.

São Paulo

2020

ANA TOMIE NAKAYAMA KURAUCHI

**Modelagem do efeito de uma vacina contra a dengue na
redução da evolução da resistência contra o antibiótico devido
uso inadequado em casos de dengue**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Doutor em
Ciências

Programa de Patologia
Orientador: Prof. Dr. Eduardo Massad

Versão corrigida. Resolução CoPGr 6018, de 13 de Outubro de 2011.

A versão original está disponível na Biblioteca da FMUSP.

São Paulo

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Kurauchi, Ana Tomie Nakayama
Modelagem do efeito de uma vacina contra a
dengue na redução da evolução da resistência contra o
antibiótico devido uso inadequado em casos de dengue
/ Ana Tomie Nakayama Kurauchi. -- São Paulo, 2020.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Patologia.
Orientador: Eduardo Massad.

Descritores: 1.Dengue 2.Modelagem 3.Simulação
4.Epidemiologia 5.Evolução 6.Antibióticos

USP/FM/DBD-139/20

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Esta Tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011. Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

Agradecimentos

Deus. Agradeço a oportunidade de enredar por caminhos tão diferentes daqueles que considerei para minha vida. Foi desafiador.

Ao Professor Dr. Eduardo Massad, que mais do que orientador, amigo conduzindo com calma para que pudesse estar concluindo mais este desafio.

Ao meu esposo, Mario, que me incentivou a desenvolver este trabalho.

Aos meus filhos Martim e Andrew por acreditarem que ainda é possível.

À minha amiga Prof. Dra. Leuda Oliveira que além de aconselhar ofereceu inúmeras sugestões que foram essenciais para o trabalho.

Ao Prof. Dr. Marcos Amaku que ensinou a modelagem matemática.

Ao Prof. Dr. Paulo Cesar dos Santos pelo incentivo e orientações.

À Vilma, Iracene, Thiago e Ângela que ajudaram solucionar os trâmites burocráticos.

Aos colegas Hélio e Tereza que estiveram comigo no novo objetivo.

Às Professoras Dras. Anna Sara Levin e Izabel Marcílio que facilitaram o manuseio dos prontuários levantados e estudados.

À Prof. Dra. Mara Massad pelo incentivo constante para não esmorecer e terminar o trabalho.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte deste momento de retorno à vida acadêmica.

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas

Lista de Tabelas

Lista de Figuras

Resumo

Abstract

1 INTRODUÇÃO	1
2. JUSTIFICATIVA.....	5
3. OBJETIVO	6
4 REVISÃO DE LITERATURA	6
4.1 Resistência a Antibiótico	6
4.2 Sintomas da Dengue outras doenças.	13
4.3 Modelo Matemático	14
4.3.1 Modelo de resistência a antibiótico.	14
4.3.2 Propriedades de equilíbrio do Modelo de Transferência de Plasmídeo	19
4.3.3 Propriedades de equilíbrio do Modelo Geral sem Mutação	24
4.3.4 Propriedades de equilíbrio do Modelo Geral sem Mutação Reversa	27
4.3.5 Modelo de Ross McDonald	35
5 MÉTODOS	37
5.1 Base de dados.....	38
5.2 Seleção dos sujeitos.....	39
5.3 Critérios de inclusão.....	39
5.4 Critérios de exclusão.....	39
5.5 Processamento e análise de dados.....	40
5.6 Modelo combinado	40
5.6.1 Modelo de Resistência a antibiótico	45
5.6.2 Modelo de Dengue	46
6. ASPECTOS ÉTICOS	47
7. RESULTADOS.....	47

8 DISCUSSÃO	50
9 CONCLUSÃO	54
10. REFERÊNCIAS.....	55
ANEXO I - Autorização	63
ANEXO II – Tabela de dados utilizados nesta tese.....	64

Lista de Abreviaturas

AC	Antes de Cristo
EUA	Estados Unidos da América
FDA	Food and Drug Administration (Estados Unidos)
DNA	Ácido Desoxi Ribonucleico
RNA	Ácido Ribonucleico
CDC	Centro de Controle e Prevenção de Doenças
RAM	Plano de ação sobre resistência bacteriana
OMS	Organização Mundial de Saúde
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
NUVE	Núcleo de Vigilância Epidemiológica do Hospital das Clínicas
US\$	Dólar Americano
S-I-R	Suscetíveis - Infectados - Recuperados
S	Indivíduos Suscetíveis
I	Indivíduos Infectados
R	Indivíduos Recuperados
X (t)	Indivíduos Suscetíveis
Y (t)	Indivíduos Infectados por cepa sensível a drogas de uma dada bactéria
Z (t)	Indivíduos infectados por uma cepa resistente
G	indivíduo infectado por cepa resistente que se torna sensível por mutação
N	Total da população
$\Lambda(t)$	Pacientes internados
I/μ	Atraso esperado da alta do hospital ou óbito
β_1	Coeficiente de transmissão das cepas sensíveis
β_2	Coeficiente de transmissão das cepas resistentes
p	Fração de pacientes tratados com antibióticos
y	Taxa de recuperação
f	Função
t	Tempo
Θ	Taxa natural de mutação
ω	Taxa natural de transferência de plasmídeo
$p\xi$	Taxa de transformação

N	Tamanho total da população
$p\delta$	Taxa de transformação
Cy	Forma de equações de Volterra-Lotka para competição inespecífica
α	Taxa de mutação
σz	Forma de equações de Volterra-Lotka para competição inespecífica
W	Coeficiente de competição
K	Capacidade de transporte
D	Desigualdade
E	Equilíbrio
P	nível crítico de tratamento
H	Equilíbrio ou ponto de nó
m	Proporção de mosquitos infectados
h	Proporção de humanos infectados
M/H	Número de mosquitos fêmeas infectadas por pessoa
α	Taxa de mortalidade induzida pela infecção
Ph	Probabilidade de infecção em humano suscetível pela picada do inseto infectado
Pm	Probabilidade de infecção em mosquito suscetível picar humano infectado
Y	Taxa de recuperação da infecção em humanos
δ	Taxa de morte dos mosquitos
E	Equilíbrio
J	Matriz Jacobiana
σ	Taxa de perda de mutação tornando sensível à cepa
νH	Humanos vacinados
μ	Taxa de nascimento = taxa de morte (assumido no modelo)
CID	Código Internacional de Doença
α	Taxa de picada de mosquitos
b	Fração de picadas infectantes
c	Fração de humanos que infectam mosquitos
p'	Fração de indivíduos infectados por dengue tratados erroneamente com antibióticos
K	Fração de indivíduos não hospitalizados que recuperaram da dengue
d	Taxa de saída dos pacientes com dengue

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Variáveis dos modelos, parâmetros, significados biológicos e valores.	44
--	----

Lista de Figuras

- Figura 1** - Propriedades de equilíbrio do modelo de transferência de plasmídio.
Os resultados possíveis são derivados em termos da proporção p ,
de indivíduos que são tratados com um antibiótico. 25
- Figura 2** - Propriedades de equilíbrio no Modelo Geral sem mutação reversa.
Os resultados possíveis são derivados em termos de proporção p ,
de indivíduos tratados com um antibiótico em particular. 27
- Figura 3** - Propriedades de equilíbrio do Modelo Geral com mutação reversa.
Os resultados possíveis são derivados em termos de proporção p , de
indivíduos tratados com um antibiótico..... 30
- Figura 4** - Modelo combinando modelo de resistência a antibióticos e modelo
de dengue de Ross-MacDonald com vacinação. 41
- Figura 5** - O desempenho do modelo de resistência a antibióticos (linha preta)
simulou com parâmetros como na tabela (1), e evolução real da
resistência de *Klebsiella pneumoniae* contra amicacina (linha
vermelha). Dados reais de Massad, Yang e Lundberg⁽⁷¹⁾ 48
- Figura 6** - Desempenho do modelo completo de resistência a antibióticos e
dengue simulado com proporção crescente de pacientes com
dengue sendo tratados inadequadamente com os antibióticos. 49
- Figura 7** - Desempenho do modelo completo de resistência a antibióticos e
dengue simulado com parâmetros da tabela (1).. 50

Kurauchi ATN. Modelagem do efeito de uma vacina contra a dengue na redução da evolução da resistência contra o antibiótico devido uso inadequado em casos de dengue [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2020.

Sir Alexander Fleming, que descobriu o antibiótico já se inquietava com a indução à resistência pelo seu uso. O antibiótico que deveria ser utilizado para tratamento do doenças em humanos é também utilizado em animais, na pecuária e avicultura e na agricultura para prevenir perdas econômicas. É esperado que antibiótico mate todas as bactérias, entretanto isso não ocorre devido ao aumento da resistência do microrganismo ao antibiótico através de translocação, conjugação e mutação. Sua utilização tem sido descrita até por dificuldade em estabelecer o diagnóstico, principalmente em países com doenças endêmicas como malária. A dengue, doença viral, transmitida por artrópodes, tem manifestação clínica desde um quadro viral inespecífico até um quadro com manifestações graves, como hemorragia e morte. Neste trabalho será utilizado um modelo matemático associando dois trabalhos publicados: um o modelo sobre a evolução da resistência contra antibióticos e o clássico de Ross-MacDonald para transmissão de dengue e verificar como uma vacina hipotética contra dengue pode contribuir na evolução da resistência bacteriana aos antibióticos, reduzindo o número de pacientes que possam ser tratados inadequadamente com antibiótico. Ter uma ideia do comportamento da evolução da resistência a antibiótico, utilizando a fonte de dados do Núcleo de Vigilância Epidemiológica do Hospital das Clínicas de pacientes internados no Instituto Central e no Instituto da Criança no período de janeiro de 2008 a dezembro de 2018. Dos 103 casos confirmados de dengue, 35 (34%) receberam antibióticos de forma inadequada. Esse uso inadequado pode agravar a pressão seletiva que leva à evolução da resistência contra esses antibióticos. Tanto o aumento na proporção de bactérias resistentes devido ao uso indevido de antibióticos em casos de dengue em função da fração de pacientes tratados e da redução dessa proporção em função da cobertura vacinal ocorre de maneira altamente não linear. Concluimos que o uso de uma vacina contra a dengue é útil na redução da taxa de evolução da resistência a antibióticos em um cenário de uso indevido dos antibióticos em pacientes com dengue.

Descritores: Dengue, Modelagem, Simulação, Epidemiologia, Evolução, Antibióticos.

Kurauchi ATN. Modeling the effect of a dengue vaccine on reducing the evolution of antibiotic resistance due to inappropriate use in dengue cases [thesis]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2020.

The use of antibiotics for treatment of diseases in humans and animals may create resistance to its use and even disturbed the discoverer of penicillin, Sir Alexander Fleming. For economic reasons, antibiotics are prophylactically used in agriculture, livestock and poultry farming to decrease losses. It is expected that antibiotics will kill all bacteria, but this does not occur due to the increased resistance of the microorganisms to the antibiotics through translocation, conjugation and mutation. It is even used when correct diagnosis is difficult, especially in countries with endemic diseases such as malaria. Dengue, a viral disease, transmitted by arthropods, has clinical manifestation ranging from an unspecified viral picture to severe manifestations such as hemorrhage and death. In this work, a mathematical model associating two published papers: one model on the evolution of antibiotic resistance and Ross-MacDonald classic for dengue transmission to verify how a hypothetical dengue vaccine can contribute to the evolution of resistance antibiotics, reducing the number of patients who can be treated improperly with antibiotics. Have an idea of the behavior of the evolution of antibiotic resistance, using the data source of the Epidemiological Surveillance Center of the Hospital das Clínicas of patients hospitalized at the Central Institute and the Children's Institute in the period from January 2008 to December 2018. Of the 103 confirmed cases of dengue, 35 (34%) antibiotics were received inappropriately. This inappropriate use can aggravate selective pressure that leads to the evolution of resistance against these antibiotics. Both the increase in the proportion of resistant bacteria due to the misuse of antibiotics in dengue cases due to the fraction of treated patients and the reduction of this proportion due to vaccination coverage occurs in a highly nonlinear manner. We conclude that the use of a dengue vaccine is useful in reducing the rate of antibiotic resistance evolution in a scenario of antibiotic misuse in dengue patients.

Descriptors: dengue, modeling, simulation, epidemiology, evolution, antibiotics.

1 INTRODUÇÃO

A procura por medicamentos para a cura de doenças é perseguida desde a antiguidade. Em ossos de ancestrais da Núbia Sudanesa datados de 350 AC, cerca de 1400 anos antes da descrição de antibióticos, através de microscopia fluorescente, observou-se padrões de fluorescência idênticos ao que hoje são rotulados de tetraciclina ⁽¹⁻⁶⁾.

Porém, a paternidade da descoberta do antibiótico foi dada a Alexander Fleming em 1948, após uma descoberta casual, que ocorreu depois de fazer uma viagem, em que deixou seus recipientes com culturas sem supervisão. Ao retornar da viagem, percebeu que o conteúdo de uma das suas amostras da bactéria *Staphylococcus aureus* havia vazado, e que a cultura tinha sido contaminada com o mofo da atmosfera. Ele percebeu que onde o mofo havia crescido, as bactérias haviam morrido, e o mofo era constituído do fungo *Penicillium notatum*. Entretanto, apesar de não ter conseguido isolar a substância, ele o chamou de penicilina. O desenvolvimento da penicilina, contudo, devido a múltiplas dificuldades, em especial as condições de temperatura e umidade, ocorreu 10 anos depois por Ernst B. Chain e Howard W. Florey ⁽⁶⁾.

De acordo com a História da medicina, o antibiótico foi e é considerado o medicamento quimioterápico de maior sucesso e tem salvado milhões de vidas. E isso faz com que aumente a expectativa que os antibióticos matem todos os tipos de bactérias. Entretanto não há antibiótico perfeito, e isso acaba restringindo o seu uso ⁽⁷⁻⁹⁾, e seu uso indiscriminado tem criado

gradientes cuja concentração de inibição é menor do que a concentração necessária ^(6,8,10). O uso excessivo é frequente: aproximadamente dois terços (68%) dos antibióticos são prescritos para infecção de doença respiratória superior ^(11,12), mas mais de 80% das prescrições tem se mostrado desnecessária a inapropriada com efeitos adversos incluindo a ameaça de resistência bacteriana. A sua utilização é muito ampla, indo além da área medica, sendo comumente utilizada em outras áreas relacionada a produção de alimentos, trazendo à tona a questão relacionada a resistência bacteriana, tornando-se uma crise crescente de saúde pública, que vem encarecendo o tratamento e aumentando a procura por esses serviços e consequentemente aumentando a morbidade e mortalidade ^(5,8,13–15). A resistência a antibióticos (capacidade dos micróbios de evoluir e suportar os efeitos de antibióticos) é uma causa significativa de morbimortalidade ^(16–18) e o consumo excessivo de antibióticos é o fator principal de resistência a antibióticos ⁽¹⁹⁾. A associação entre o consumo de antibióticos e resistência está bem documentada em escalas espaciais e temporais em hospital ⁽²⁰⁾, casa de repouso ⁽²¹⁾, atenção primária ⁽²²⁾, e comunidades ⁽²³⁾, bem como entre países ^(17,24).

De acordo com os Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC), mais de 2 milhões de americanos adoecem com infecções resistentes a antibióticos todos os anos, com mais de 23.000 mortes resultantes ⁽²⁵⁾. A resistência ao antibiótico faz com que as pessoas não sejam tratadas adequadamente, ficando doentes por um tempo maior, com maior risco de morte, prolongando a epidemia e aumentando o risco de infecção ^(26,27). Na tentativa de diminuir a resistência, muitos países adotaram planos de ação nacionais sobre resistência bacteriana (RAM) que visam reduzir o consumo per

capita de antibióticos. O Plano de Ação Global sobre Resistência antimicrobiana endossada pelos estados membros da Organização Mundial de Saúde (OMS) firmado durante a 71ª Assembleia Geral das Nações Unidas ⁽²⁸⁾, recomenda que todos os países colem e relatem dados de consumo de antibióticos^(29,30). Dados de vigilância sobre o uso de antibióticos são necessários para monitorar as tendências nacionais e globais ao longo do tempo; comparar o uso de antibióticos entre países, fornece uma linha de base para a avaliação de futuros esforços para reduzir o uso de antibióticos e resistência ao longo do tempo ⁽³¹⁾; apoiar políticas que visem reduzir a resistência a antibióticos, Fazer melhor uso das vacinas existentes e desenvolver novas vacinas são formas importantes para combater a resistência a antibióticos e reduzir doenças e mortes evitáveis.

A evolução da resistência antibiótica é provavelmente o caso mais bem documentado de evolução contemporânea ^(8,32). O processo mais conhecido que pode criar essa resistência é a translocação, mas também podem ocorrer conjugação e mutação ^(6,8,33) e o uso inadequado de antibióticos possibilita o aparecimento de resistências, tornando os agentes menos eficiente ^(13,34,35).

Com diversidade de etiologias e sintomas, a febre que é uma das causas mais comuns de procura em serviços de saúde sendo um grande desafio para o diagnóstico em saúde pública ⁽³⁶⁾. Em países com recursos limitados, os conhecimentos de epidemiologia local conduzem o tratamento, muitas vezes sem a identificação da etiologia ^(27,37). Como o espectro das doenças infecciosas varia muito nas nações e continentes, o viajante

internacional pode adquirir ou disseminar as doenças e muitas vezes serem mal diagnosticados, recebendo tratamento inadequado ^(38–40). Na África, por exemplo, por falta de rotina diagnóstica, comumente, as doenças febris são tratadas como malária ou infecções fúngicas ou bacterianas ⁽⁴¹⁾. Com isso, as doenças como dengue passam a ser subnotificadas afetando a compreensão epidemiológica ^(42,43). Um estudo particular na Índia ⁽⁴⁴⁾, de 370 casos confirmados de dengue, em 267 (74,6%) casos foram prescritos antibióticos. Um único antibiótico foi prescrito para 225 casos (60,8% de todos os casos). 2 antibióticos para 33 casos de dengue (8,9%) e 3 antibióticos para 9 casos (2,4%). O tratamento com 3 antibióticos incluiu cefotaxima em todas as prescrições com cefixima, azitromicina, amoxicilina-clavulanato, doxicilina e ceftriaxona em diferentes combinações. O tratamento com 2 antibióticos foi: associação ceftriaxona/doxicilina, cefotaxima ou amoxicilina-clavulanato ou cefotaxima com doxicilina, cefixima ou metronidazol. Outro estudo em Java Ocidental, na Indonésia ⁽⁴⁵⁾, mostrou que havia 547 (17,8%) de 3078 pacientes com dengue que receberam antibióticos.

Os avanços nas pesquisas na área médicas, na segunda metade do século XX, trouxeram vitórias no campo das doenças infectocontagiosas como varíola, malária, febre amarela, dengue, cólera, tuberculose e praga. Entretanto a inadvertência das autoridades de saúde pública frente a doenças infectocontagiosas permitiu o recrudescimento da epidemia de doenças outrora controladas. E contribuíram para essa tendência a ineficiência no controle do *Aedes aegypti*, o crescimento populacional, a falta de planejamento urbano e o transporte aéreo de pessoas, animais e mercadorias ^(46,47). A gravidade dos sintomas da Dengue depende de fatores individuais como idade, etnicidade e

comorbidades tipo: asma brônquica, diabetes mellitus, anemia falciforme e infecção secundária. Crianças menores que 15 anos, por exemplo, podem desenvolver dengue hemorrágica primária com mais frequência do que em outra faixa etária^(46,48). O quadro febril associado a dor abdominal e vômito, associado a diagnóstico equivocado acaba induzindo a indicação do uso de antibiótico. E essa prática acaba consequentemente contribuindo para o aumento da resistência bacteriana ⁽²⁵⁾.

2. JUSTIFICATIVA

A Dengue é uma doença que apresenta sintomas comuns a outras doenças, com febre e dores no corpo e esse quadro associado a uma infraestrutura muitas das vezes caóticas de saúde pública, acaba recebendo um tratamento inadequado com administração de antibiótico. E como consequência dessa má administração, ocorre um aumento na resistência no uso desse tipo de medicamento. Na tentativa de compreender melhor essa dinâmica, utilizaremos neste projeto, um modelo matemático epidemiológico para ter uma ideia do comportamento da evolução da resistência a antibiótico, independentemente de sua utilização em pacientes com ou sem diagnóstico de dengue.

3. OBJETIVO

O objetivo deste projeto é investigar como uma vacina hipotética contra a dengue poderia contribuir para a diminuição da resistência bacteriana. O indivíduo vacinado não adquirindo a dengue, não será internado e, conseqüentemente contribui com a diminuição do número de prescrição de antibiótico desnecessariamente.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Resistência a Antibiótico

Para compreender como os antibióticos atuam e como, a certa altura se tornam ineficazes é necessário conhecer os alvos de atuação das principais classes de antibióticos. Os antibióticos basicamente possuem cinco mecanismos de ação:

1. Inibição da síntese da parede celular:
 - a) Glicopeptídeos: vancomicina e teicoplanina;
 - b) B-lactâmicos: penicilinas, cefalosporinas, carbapenemos, monobactâmicos.
2. Inibição da síntese proteica: (bactericida ou bacteriostático):

- a) Aminoglicosídeos: estreptomicina, gentamicina, tobramicina, netilmicina, ampicilina;
 - b) Macrolídeos e Lincosamidas, Eritromicina, Claritromicina, Azitromicina, Roxitromicina, Clindamicina;
 - c) Cloranfenicol
 - d) Tetraciclina
 - e) Ácido fusídico;
 - f) Oxazolidonas: Linezolid
 - g) Espectinomicina, Glicilinas, Cetolidos, Estreptograminas, Mupirocina, Evernimicina.
3. Inibição da síntese dos ácidos nucleicos (reparação e replicação do DNA):
- a) Quinolonas: Ciprofloxacina, Ofloxacina, Norfloxacina, Levofloxacina;
 - b) Rifampina, Nitrofurantoína;
 - c) Metronidazol.
4. Alteração da membrana celular (antibióticos membrano-ativos):
- a) Polimixinas (Colistina), Gramicidina, Tiotricina, Daptomicina
5. Inibição do metabolismo celular (antibióticos anti-metabólitos ou análogos metabólicos)
- a) Sulfonamidas e PAS (p-amino-salicilato)
 - b) Trimetopim ⁽⁴⁹⁾.

As bactérias são prevalentes em todos os habitantes com o total estimado excedendo a um milhão. Entretanto apenas 10 a 20 espécies de bactérias são conhecidas como patogênicas para humanos, enquanto centenas de espécies são consideradas oportunistas, produzindo doenças somente em algumas condições ⁽⁸⁾.

Apesar da evolução da resistência ao antibiótico ser provavelmente o caso mais bem documentado contemporâneo de evolução, muito pouco se conhece sobre as consequências ecológicas e evolucionárias do uso de antibióticos em humanos ⁽⁸⁾. A resistência ao antibiótico ocorre quando a droga perde a habilidade de inibir o crescimento da bactéria. A bactéria fica resistente e continua a se multiplicar na presença dos níveis terapêuticos de antibióticos. As bactérias quando replicam mesmo na presença de antibióticos são chamadas bactérias resistentes. Pode ocorrer como um processo de seleção natural onde a natureza habilita a toda bactéria algum grau de resistência. O uso indiscriminado de antibiótico é responsável por resistência a antibiótico ⁽¹³⁾.

Já em 1945, Sir Fleming visualizou a possibilidade do uso inadequado de antibiótico e publicou no The New York Times, essa preocupação de que esse uso levaria a seleção de formas mutantes resistentes ⁽¹⁴⁾.

Entender a epidemiologia da resistência ao antibiótico é importante na formulação de intervenções ao controle da transmissão em humanos. O efeito do reservatório em humanos tem sido estudado através do aspecto de fatores de reservatório cruzado. São definidos 5 fatores de risco para fatores de resistência ao antibiótico em humanos:

- Doença subjacente;
- Uso de antibióticos
- Procedimentos invasivos
- Característica do hospital
- Domínio do nível comunitário ⁽⁵⁰⁾.

Paulson & Zaoutis, em 2015, afirmaram que os animais colonizados com microrganismos resistentes podem alcançar os humanos através da cadeia alimentar por contato direto ou contaminação com água ou cultivo com excretas animais, e posteriormente, esses patógenos resistentes podem ser disseminados pelo processamento e embalagem do alimento ou produtos agrícolas ⁽¹⁵⁾.

A adição de penicilina e tetraciclina em ração de frangos para promover crescimento foi aprovada pelo FDA (U.S. Food and Drug Administration) em 1951 e encorajou a indústria farmacêutica a investirem em agricultura e pecuária ⁽¹⁴⁾. O uso indiscriminado de antibióticos pode levar à evolução da resistência por seleção direta de patógenos como também elementos genéticos móveis contaminando humanos e animais. Antibióticos e bactérias resistentes podem ser encontrados no ar, lençóis freáticos e solos ao redor de fazendas e refeições a varejo ^(14,32).

As bactérias resistentes de animais podem ser espalhadas através de material fecal, águas residuais ou contato ambiental, levando a reservatórios ambientais de patógenos e genes de resistência. As fezes de animais podem contaminar alimentos quando o dejetos contendo organismos resistentes é

aplicado em solos agrícolas e os organismos estão presentes na água que escoia da fazenda. A contaminação cruzada de frutas e hortaliças pode ocorrer quando as águas residuais são usadas para irrigar culturas, e peixes criados em água contaminada também podem ser expostos. Os agentes antimicrobianos ativos foram detectados em águas superficiais e sedimentos fluviais, e genes de resistência idênticos aos encontrados em lagoas de resíduos de suínos foram encontrados em águas subterrâneas e micróbios do solo centenas de metros rio abaixo ⁽¹⁵⁾.

O mecanismo de resistência antimicrobiana pode estar presente em elementos genéticos móveis como plasmídeos ou a transposição conjugativa. Estes elementos podem ser transmitidos horizontalmente entre bactérias de diferentes espécies ⁽⁵¹⁾. Os plasmídeos podem se mover com ou sem genes cromossômicos capturados de uma célula bacteriana para outra, em um método chamado transferência gênica horizontal. Se os plasmídeos carregam genes de resistência antibiótica, as bactérias receptoras serão capazes de expressar resistência aos antibióticos. Em contraste, uma retrospectiva de 10 anos estudo de *Pseudomonas aeruginosa* isolado da pneumonia mostrou que a resistência a antibióticos aumentou significativamente na última década ⁽³⁴⁾.

Segundo Barceló, bacteriófagos são vírus capazes de infectar e matar a bactéria. São inimigos naturais da bactéria e estão presentes em todos os ecossistemas da terra, causando impacto na comunidade de bactérias. São capazes de inserir o DNA ou RNA nas células bacterianas adicionando genes, trazendo consequências inesperadas para a ecologia bacteriana, incluindo um aumento na resistência a antibióticos. Quando a bactéria adquire resistência

antibiótica, novas mutações podem ocorrer espontaneamente pela transferência horizontal entre células de mesma espécie ou de espécies diferentes, através do mecanismo de transdução, descrito em 1951 ⁽¹⁴⁾.

A resistência antimicrobiana é um problema de saúde pública. As infecções resistentes aos antimicrobianos são frequentemente mais caras para tratar, prolongam o uso dos serviços de saúde e aumentam a morbidade e a mortalidade. Os custos nacionais para o sistema de saúde dos Estados Unidos da América (EUA) atribuíveis a infecções resistentes aos antimicrobianos foram estimados em US\$ 21 bilhões a US\$ 34 bilhões anuais, resultando em 8 milhões de dias hospitalares adicionais ⁽¹⁵⁾. Infelizmente, no Brasil não temos disponibilidade de informações que nos permita quantificar esses custos, mas acredita-se que seja de mesma magnitude dos custos do EUA.

A automedicação é praticada em países em desenvolvimento sendo uma alternativa para pessoas que não tem acesso a serviços de saúde. Potencialmente incluem efeitos adversos e interações medicamentosas, mascarando doenças severas. Além de aumentar o risco de desenvolvimento de patógenos mais resistentes ⁽⁵²⁾.

De acordo com a resposta aos antibióticos a resistência bacteriana a drogas podem ser divididas em dois tipos fundamentais: tolerância e destruição da droga. A resposta medicamentosa, frequentemente múltiplas pode ser transmitida pelo contato entre várias bactérias ⁽⁵³⁾.

O uso inadequado de antibióticos sem critério, sem período, sem dose e sem indicação correta, acelera os mecanismos de defesa das bactérias, fazendo com que o medicamento perca sua eficiência ⁽⁵⁴⁾. As bactérias

desenvolvem resistência aos antibióticos numa velocidade maior com que são descobertos e elaborados novos fármacos. A resistência bacteriana refere-se à capacidade das bactérias se multiplicarem na presença de antibióticos em doses mais altas que as que contêm em doses ministradas em pacientes. Trata-se de um processo biológico natural que surgiu com a utilização desses fármacos no tratamento de infecções e, que devido ao uso irracional e indiscriminado desses em humanos e animais, tem aumentado cada vez mais (6).

Os bebês e as crianças são afetados pela transmissão de patógenos zoonóticos alimentares suscetíveis e resistentes através dos alimentos, contato direto com animais e ambiente. Em 2013, um total de 10.056 infecções, 4.200 internações e 80 mortes foram reportadas à Foodborne Diseases Active Surveillance Network, sistema de vigilância do CDC que cobre 15% da população dos EUA (15).

No Brasil, já foram notificados casos de “superbactérias”, intituladas dessa forma por serem organismos multirresistentes aos antibióticos existentes e, como consequência, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) determinou a publicação de medidas regulatórias, publicadas em outubro de 2010, com o propósito de reduzir a exposição da população aos antibióticos e, com isso, combater a resistência bacteriana. Essa determinação inicialmente provocou uma redução significativa nas vendas de antibióticos no país, no entanto em 2012 os números voltaram a crescer atingindo valores apresentados nas medidas regulatórias, mantendo assim o elevado nível de comercialização desses medicamentos. Assim, as infecções causadas por

micro-organismos mutantes resistentes, tendem a comprometer o tratamento de pacientes fazendo com que estes tenham que prolongar o mesmo, elevando os custos e aumentando o risco de morte além de contágio de outras pessoas com essas “superbactérias” ⁽⁶⁾.

4.2 Sintomas da Dengue

Dengue, doença viral transmitida pelo artrópode *Aedes aegypti* ocorre em todo o mundo, principalmente em regiões tropicais e subtropicais ⁽⁵⁵⁾, é causada por quatro sorotipos de vírus, conhecidos por dengue 1, 2, 3 e 4. O surto de dengue é muito difícil de se prever e controlar, devido seu desenvolvimento muito rápido, causando superlotação em hospitais de países endêmicos ⁽⁵⁵⁾. O quadro clínico mais comum é de síndrome febril, caracterizada por febre, cefaleia intensa e dores articulares e musculares. Embora ocorram pacientes sem sintomatologia clínica, pode ocorrer a forma hemorrágica e a mais graves da doença em 3% dos casos ^(56,57). Os casos assintomáticos ou oligo sintomáticos de dengue ocorrem principalmente em crianças. É quadro febril inespecífico, cujo diagnóstico só é confirmado pela sorologia e que poderia ocorrer sem ter diagnóstico firmado. O exantema está presente em apenas 1/3 dos casos ⁽⁴⁰⁾. O diagnóstico diferencial da dengue é com outras doenças febris agudas inespecífica em crianças, embora em adultos está acompanhado de cefaleia, dor abdominal e manifestações hemorrágicas ⁽⁵⁴⁾.

O manejo inadequado de doenças febris como malária e outras infecções bacterianas na África ^(52,58) e até mesmo com resultados negativos para malária, interpretados como falso negativo ⁽⁵⁹⁾, recebem antibióticos indiscriminadamente. Em Karagwe, na África, a falta de rotina diagnóstica para arbovirose induz tratamento de forma comum doenças como malária e infecções fúngicas ou bacterianas ⁽⁴¹⁾.

4.3 Modelo Matemático

4.3.1 Modelo de resistência a antibiótico.

O modelo de resistência a antibiótico baseia-se no modelo epidemiológico determinístico **S-I-R clássico** (Suscetíveis – Infectados – Recuperados) ⁽⁶¹⁾ no qual a classe recuperada é transferida instantaneamente para a suscetível (ou seja, sem classe imunológica).

Considere um sistema como um hospital geral, no qual a população pode ser dividida em **TRÊS** classes:

- Indivíduos suscetíveis,
- Os infectados por uma cepa sensível a drogas de uma dada bactéria e
- Indivíduos infectados por uma cepa resistente.

O número de membros das três classes é indicado por $X(t)$, $Y(t)$ e $Z(t)$, respectivamente. Sua dinâmica é descrita pelo seguinte sistema de equações diferenciais ordinárias:

$$\begin{aligned}\frac{dX(t)}{dt} &= \Lambda(t) - \mu X(t) - \beta_1 X(t)Y(t) - \beta_2 X(t)Z(t) + p\gamma Y(t) \\ \frac{dY(t)}{dt} &= \beta_1 X(t)Y(t) - [(1-p)\alpha + p\gamma]Y(t) - F[Y(t), Z(t)] + G[Z(t)] \\ \frac{dZ(t)}{dt} &= \beta_2 X(t)Z(t) - \alpha Z(t) + F[Y(t), Z(t)] - G[Z(t)]\end{aligned}\tag{1}$$

onde $\Lambda(t)$ é a admissão líquida de pacientes, $1/\mu$ é o período esperado de detenção no hospital (após o qual o paciente é dispensado ou morto por causa da doença que o levou ao hospital em primeiro lugar). O termo $1/\alpha$ é o atraso esperado da alta do hospital ou a longevidade esperada de uma pessoa infectada, dependendo se a infecção hospitalar é fatal ou não. β_1 e β_2 são os coeficientes de transmissão das cepas sensíveis e resistentes, respectivamente. O termo p é a proporção dos pacientes infectados pela cepa sensível que é tratada com o antibiótico e γ é sua taxa de recuperação. A função $F[Y(t), Z(t)]$ descreve a taxa líquida na qual os pacientes Y são transformados em pacientes Z e é definido por:

$$F[Y(t), Z(t)] = (\theta + p\xi)Y(t) + (\omega + p\delta)Y(t)Z(t)\tag{2}$$

Onde: o primeiro termo está relacionado à transformação de casos devido a mutação na população de germes (é independente do número de pacientes infectados pela linhagem resistente) e o segundo a infecção cruzada, cujos efeitos são assumidos como sendo aumentados pela transferência de Fatores de Resistência (presume-se que a taxa seja proporcional ao produto cruzado de Y e Z). Os termos θ e ω representam as taxas naturais (livres de doença) devido à mutação e transferência de plasmídeo. Os termos $p\xi$ e $p\delta$ são adicionados às respectivas taxas de transformação, a fim de levar em conta a mudança na capacidade competitiva entre as cepas dentro dos pacientes devido ao tratamento. Assim, assumimos θ , ξ e $\delta > \theta$, enquanto ω pode ser positivo ou negativo. Supõe-se que seja um custo de resistência tal que a tensão suscetível seja competitivamente superior à resistente na ausência de tratamento. A função $G [Z (t)]$ descreve a taxa na qual pacientes Z são revertidos para pacientes Y , devido a mutações posteriores. G é definido por:

$$G[Z(t)] = \sigma Z(t) \quad (3)$$

onde α é a taxa de mutação.

O modelo definido pelas Equações (1 a 3) será considerado o **modelo geral**. A seguir, discutiremos dois casos especiais, o **modelo de mutação**, em que temos:

$$F [Y(t)] = (\theta + p\xi)Y(t) \quad (4a)$$

$$G[Z(t)] = dL(t) \quad (4b)$$

E o modelo de transferência de plasmídeo/infecção cruzada, definido por:

$$F[Y(t), Z(t)] = (\omega + p\delta)Y(t)Z(t) \quad (5)$$

Assume-se que o antibiótico seja 100% eficiente contra a cepa sensível e, portanto, todos os pacientes tratados acabarão se recuperando e se tornarão suscetíveis novamente. O modelo proposto é basicamente uma adaptação dos modelos de Levin e Krus ^(62,63).

Assume-se que o sistema esteja fechado no sentido de que o tamanho total da população, $N = X + Y + Z$ é constante (ou seja, há um número constante de leitos no hospital). Esta suposição pode ser satisfeita por:

$$\Lambda(t) = \mu X(t) + (1 - p)\alpha Y(t) + \alpha Z(t) \quad (6)$$

Substituindo no conjunto de Equação 1 do Modelo Geral e chamando $X = N - Y - Z$, depois de alguma álgebra, temos,

$$\frac{dy(t)}{dt} = r_1 y(t) \left(1 - \frac{y(t) + W_{12}z(t)}{k_1} \right) - C_y(t) + \sigma z(t) \quad (7)$$

$$\frac{dz(t)}{dt} = r_2(t) \left(1 - \frac{W_{21}y(t) + z(t)}{K_2} \right) + C_y(t) - \sigma z(t)$$

onde $y(t)$ e $z(t)$ são a proporção $Y(t)/N$ e $Z(t)/N$, respectivamente, $C=0$ e $\sigma=0$ para o **modelo de transferência de plasmídeo**, e $C=(\theta+p\xi)$ e $\sigma \neq 0$ para os **modelos de mutação e geral**. Os demais termos são definidos da seguinte forma:

$$r_1 = \beta_1 - [(1-p)\alpha + p\gamma] \quad (8a)$$

$$r_2 = \beta_2 - \alpha \quad (8b)$$

$$K_1 = \frac{\beta_1 - [(1-p)\alpha + p\gamma]}{\beta_1} \quad (9a)$$

$$K_2 = \frac{\beta_2 - \alpha}{\beta_2} \quad (9b)$$

Para os **modelos, geral e de transferência de plasmídeos**, temos:

$$W_{12} = \frac{\beta_1 + (\omega + p\delta)}{\beta_1} \quad (10a)$$

$$W_{21} = \frac{\beta_2 - (\omega + p\delta)}{\beta_2} \quad (10b)$$

Enquanto que para o **modelo com mutação**:

$$W_{12} = W_{21} = 1 \quad (11)$$

Além dos últimos termos Cy e σz nas Eqs. (7), estes são da mesma forma que as equações de Volterra-Lotka para a competição interespecífica. Isto é em analogia com a redução do modelo de uma cepa correspondente à equação logística quando a população hospedeira é mantida constante ⁽⁶¹⁾.

4.3.2 Propriedades de equilíbrio do Modelo de Transferência de Plasmídeo

As equações de competição de Volterra-Lotka têm dois equilíbrios limites, com uma das espécies ausentes, e podem ter um único equilíbrio interno que, se for localmente estável, é globalmente estável também ⁽⁶⁴⁾. Esta teoria é diretamente aplicável ao modelo de transferência de plasmídeo / modelo de infecção cruzada, assumindo $\alpha=0$ e $u=0$ na Eqs. (7), os quatro resultados possíveis da análise acima são:

(I) A linhagem sensível "ganha" a competição. Isso ocorre se:

$$K_1 > \frac{K_2}{W_{21}} \quad (12a)$$

e

$$K_2 < \frac{K_1}{W_{12}} \quad (12b)$$

Essas condições podem ser expressas em termos dos parâmetros do modelo original, substituindo os "coeficientes de competição", W_{i2} e W_{2i} , e

as "capacidades de transporte", K_{i2} e K_{2i} , nas Equações (9) e (10) e na desigualdade (12). O que nos interessa é o nível crítico de tratamento, p , no qual há uma mudança na capacidade competitiva em favor de qualquer das cepas. A desigualdade (12a) é obedecida, em termos de p , se

$$p < D_1 \text{ ou } p > D_2 \quad (13)$$

Onde

$$D_1 = \frac{-B}{2A} - \sqrt{B^2 - 4AC}$$

$$D_2 = \frac{-B}{2A} + \sqrt{B^2 - 4AC}$$

$$A = \delta(\gamma - \alpha)$$

$$B = (\beta_2\alpha + \omega\gamma + \alpha\delta - \beta_2\gamma - \beta_1\delta - \omega\alpha)$$

e

$$C = (\beta_1\alpha + \omega\alpha - \beta_2\alpha - \beta_1\omega)$$

As equações (13) são obedecidas se $B^2 > 4AC$. No caso $B^2 \leq 4AC$, qualquer valor de p satisfaz a Equação (12a). A desigualdade (12b) é obedecida se:

$$p < E \quad (14)$$

onde

$$E = \frac{\beta_1\alpha + \omega\alpha - \beta_2\alpha - \beta_2\omega}{\beta_2(\delta - \alpha + \gamma) - \alpha\delta}$$

(II) A cepa resistente “ganha” a competição. Isto ocorre se:

$$K_1 < \frac{K_2}{W_{21}} \quad (15a)$$

e

$$K_2 > \frac{K_1}{W_{12}} \quad (15b)$$

A desigualdade (15a) é obedecida se:

$$D_1 < p < D_2 \quad (16)$$

A desigualdade (15b) é obedecida se:

$$p > E \quad (17)$$

Com E , D_1 e D_2 como acima.

(III) Equilíbrio Interno estável. Isso ocorre se:

$$K_1 < \frac{K_2}{W_{21}} \quad (18a)$$

e

$$K_2 < \frac{K_1}{W_{12}} \quad (18b)$$

A desigualdade (18a) é obedecida se:

$$D_1 < p < D_2 \quad (19)$$

A desigualdade (18b) é obedecida se:

$$p < E \quad (20)$$

com D_1 , D_2 e E como acima.

(IV) Equilíbrio interno instável. Isso ocorre se:

$$K_1 > \frac{K_2}{W_{21}} \quad (21a)$$

e

$$K_2 > \frac{K_1}{W_{12}} \quad (21b)$$

A desigualdade (21a) é obedecida se:

$$p < D_1 \text{ ou } p > D_2 \quad (22)$$

A desigualdade (21b) é obedecida se:

$$p > E \quad (23)$$

com D_1 , D_2 e E como acima.

Sempre que $\beta_1 = \beta_2$ e $\gamma = \alpha$, a cepa resistente prevalecerá se a fração de pacientes for tratada com $p > -\omega/\delta$, enquanto a suscetível recebe uma vantagem se a desigualdade for na direção oposta. O significado biológico

disso é que, para a tensão sensível para ser sustentada, tem um custo de imunidade aos germes que se manifestam em uma transformação de pacientes Z para pacientes Y com baixos valores de p . Não há equilíbrio interno, portanto, quando a fração de pacientes tratada aumenta além do nível crítico, a cepa resistente se torna fixa. Quando $\beta_1 \neq \beta_2$ ou $\gamma \neq \alpha$ ou ambos, um equilíbrio interno pode ser alcançado.

4.3.3 Propriedades de equilíbrio do Modelo Geral sem Mutação

O **modelo de mutação** e o **modelo geral** são mais complicados e desviam-se do **modelo de competição de Lotka-Volterra**. A análise do plano de fase mostra que **QUATRO** casos surgem:

Caso 1 - A cepa SENSÍVEL "ganha" a competição.

Isso nunca ocorre neste caso devido a uma taxa de mutação positiva. Isto implica uma mudança contínua da sensibilidade para a tensão resistente, independentemente do nível de tratamento. Deve-se notar-se que o período de tempo necessário para atingir o equilíbrio estável apenas com a cepa resistente pode ser muito grande. Na verdade, o equilíbrio é um ponto de "nó" e é alcançado assintoticamente. É claro que esta é uma situação muito irreal, já que na ausência de tratamento a tensão resistente não deve ter nenhuma vantagem evolutiva sobre a linhagem sensível. O equilíbrio da seleção de mutações determinará o curso real da evolução da resistência.

	E	D ₁	D ₂	P
Sensível ganha	Tanto Sensível quanto resistente ganha	Resistente ganha	Tanto sensível quanto resistente ganham	
	D ₁	E	D ₂	P
Sensível ganha	Coexistência	Resistente ganha	Tanto sensível quanto resistente ganham	
	D ₁	D ₂	E	P
Sensível ganha	Coexistência	Sensível ganha	Tanto sensível quanto resistente ganham	

Figura 1 - Propriedades de equilíbrio do modelo de transferência de plasmídeo.

Os resultados possíveis são derivados em termos da proporção p , de indivíduos que são tratados com um antibiótico.

Caso 2 - A cepa RESISTENTE "ganha" a competição.

Isso ocorre quando,

$$K_2 > \frac{r_1 - (\theta + p\xi)}{\beta_1 W_{12}} \quad (24)$$

ou, em termos de p

$$p > H_1 \quad (25)$$

Onde

$$H_1 = \frac{\alpha(\beta_1 + \omega) - \beta_2(\alpha + \omega + \theta)}{\beta_2(\delta + \gamma - \alpha - \xi) - \alpha\delta} \quad (26)$$

Caso 3 - Equilíbrio interno ESTÁVEL.

Isso ocorre quando as desigualdades (24) e (25) são invertidas.

Caso 4 - Equilíbrio interno INSTÁVEL.

Isso ocorre quando (25) é invertida,

$$(\theta + p\xi) < r_2 W_{21} \quad (27)$$

ou, em termos de p

$$p < H_2 \quad (28)$$

e

$$z^* \frac{\beta_2 W_{21} z^* - (\theta + p\xi)}{\beta_2 z^{*2} + (\theta + p\xi) y^*} W_{12} > 1 \quad (29)$$

com a variável estrela significando proporção de equilíbrio e

$$H_2 = \frac{\beta_2[\beta_2 - (\alpha + \omega + \theta)] + \alpha\omega}{\beta_2(\xi + \delta) - \alpha\delta} \quad (30)$$

No entanto, esta é uma situação muito improvável, porque isso seria um ponto que implica a existência de dois atratores, ou seja, um ponto estável com a tensão resistente vencendo a competição e um ponto coexistente estável.

H ₁		H ₂	P
Nó de coexistência	Resistente vence	Resistente vence	

H ₂		H ₁	P
Nó de coexistência	Foco de coexistência	Resistente vence	

H ₂		H ₁	P
instável	estável	Foco de coexistência	Resistente vence
Nó de coexistência			

Figura 2 - Propriedades de equilíbrio no Modelo Geral sem mutação reversa. Os resultados possíveis são derivados em termos de proporção p , de indivíduos tratados com um antibiótico em particular.

4.3.4 Propriedades de equilíbrio do Modelo Geral sem Mutação Reversa

Nesta situação, não há possibilidade de qualquer esforço para vencer a competição, a menos que uma delas desapareça por desvio estocástico. Além disso, não há ponto de equilíbrio instável sob o valor realístico dos parâmetros. Assim, a única possibilidade é uma coexistência

estável, que pode variar na predominância relativa de cada cepa, dependendo da relação entre a transferência de plasmídeo e as taxas de mutação em uma direção, e a taxa de mutação de retorno na outra. Assim, podemos ter três resultados possíveis:

1 - Predominância da cepa RESISTENTE.

Isso ocorre quando,

$$\frac{(\theta + p\xi)}{w_{21}} > r_2 - \sigma \quad (31)$$

e

$$\frac{\alpha}{w_{12}} < r_1 - (\theta + p\xi) \quad (32)$$

A desigualdade (31) é obedecida se:

$$p > H_3 \quad (33)$$

Onde

$$H_3 = \frac{\beta_2[\beta_2-(\alpha+\omega+\theta+\sigma)]+(\alpha+\sigma)\omega}{\beta_2(\delta+\xi)-(\alpha+\sigma)\delta} \quad (34)$$

A desigualdade (32) é obedecida se:

$$p < H_4 \quad (35)$$

Onde

$$H_4 = \frac{[(\beta_1 + \omega)(\gamma - \alpha - \xi) - \delta(\beta_1 - \alpha - \theta)]}{2\delta(\gamma - \alpha - \xi)} + \frac{\sqrt{[(\beta_1 + \omega)(\gamma - \alpha - \xi) - \delta(\beta_1 - \alpha - \theta)]^2 + 4\delta(\gamma - \alpha - \xi)[(\beta_1 + \omega)(\beta_1 - \alpha - \theta) - \beta_1\sigma]}}{2\delta(\gamma - \alpha - \xi)} \quad (36)$$

2 - Predominância da linhagem SENSÍVEL.

Isso ocorre quando as desigualdades (31) e (32) são invertidas.

3 - NENHUMA PREDOMINÂNCIA de qualquer tipo de tensão.

Isso ocorre quando,

$$\frac{(\theta+p\xi)}{w_{21}} < r_2 - \alpha \quad (37)$$

e

$$\frac{\alpha}{w_{12}} < r_1 - (\theta + p\xi) \quad (38)$$

A desigualdade (37) e (38) é obedecida se:

$$p < H_3 \text{ e } p > H_4 \quad (39)$$

ou quando (37) e (38) estão invertidos. A figura 3 mostra o resumo das condições acima.

	H ₃	H ₄	P
Nem sensíveis nem resistentes prevalecem	Resistentes prevalecem	Resistentes prevalecem	
	H ₄	H ₃	P
Nem sensíveis nem resistentes prevalecem	Sensíveis prevalecem	Resistentes prevalecem	

Figura 3 - Propriedades de equilíbrio do Modelo Geral com mutação reversa. Os resultados possíveis são derivados em ternos de proporção p , de indivíduos tratados com um antibiótico.

A análise de equilíbrio pode ser feita com a proporção de indivíduos tratados, considerando os parâmetros de transmissão β_1 e β_2 .

A evolução da resistência contra antibióticos pode ser estimada em termos de proporção de indivíduos tratados com um antibiótico p , e em termos de magnitude relativa de transmissão, parâmetros β_1 e β_2 , para cepas sensíveis e resistentes, respectivamente.

Considerando um caso particular onde:

$$\beta_1 > \frac{\alpha\delta - \omega(\gamma - \alpha)}{\delta + \gamma - \alpha} \quad (40)$$

Neste caso particular temos muitos resultados distintos:

Caso 1: Se

$$0 \leq \beta_2 < \frac{\alpha(\beta_1 + \omega + \delta)}{\delta + \gamma + \omega} \quad (41)$$

Temos uma coexistência estável porque:

$$W_{12}W_{21} < 1; 0 \leq p \leq 1 \quad (42)$$

e

$$K_1 - K_2W_{12} > 0; 0 \leq p \leq 1 \quad (43)$$

Caso 2: Se

$$\frac{\alpha}{\alpha + \delta + \omega} (\beta_1 + \omega + \delta) \leq \beta_2 \leq \frac{\alpha}{\alpha + \omega} (\beta_1 + \omega) \quad (44)$$

Temos uma coexistência estável porque (42) é obedecida e

$$K_1 - K_2 W_{12} > 0; 0 \leq p \leq p_2 \quad (45)$$

onde

$$p_2 = \frac{\beta_2 - (\beta_1 + \omega)}{\delta} \quad (46)$$

e a cepa “vence” a competição se a proporção de indivíduos vacinados aumenta porque:

$$K_1 - K_2 W_{12} < 0; p_2 \leq p \leq 1 \quad (47)$$

com p_2 como em (46).

Caso 3: se

$$\frac{\alpha}{(\alpha + \omega)}(\beta_1 + \omega) < \beta_2 < (\beta_1 + \omega) \quad (48)$$

Temos a cepa resistente “vencendo” a competição porque:

$$W_{12}W_{21} < 1; 0 \leq p \leq 1 \quad (49)$$

e

$$K_1 - K_2W_{12} < 0; 1; 0 \leq p \leq 1 \quad (50)$$

Caso 4: se

$$(\beta_1 + \omega) \leq \beta_2 \leq (\beta_1 + \omega + \delta) \quad (51)$$

Temos também cepas resistentes e sensíveis “vencendo” a competição, dependendo da condição inicial do sistema porque (50) é obedecida e

$$W_{12}, W_{21} > 1; 0 \leq p \leq p_3 \quad (52)$$

Onde

$$P_3 = \frac{(\alpha + \omega) \left[\beta_2 - \frac{\alpha}{\alpha + \omega} (\beta_1 + \omega) \right]}{(\delta + \gamma + \alpha) \left[\beta_2 - \frac{\alpha \delta}{\delta + \gamma - \alpha} \right]} \quad (53)$$

Quando a proporção de indivíduos vacinados aumenta, temos:

$$W_{12} W_{21} < 1; p_3 \leq p < 1, \quad (54)$$

e as cepas resistentes vão “vencer” sempre a competição.

Caso 5: se

$$\beta_2 > (\beta_1 + \omega + \delta) \quad (55)$$

Ambas cepas resistentes e sensível podem “vencer” a competição dependendo da condição inicial do sistema porque,

$$W_{12} W_{21} > 1; 0 \leq p \leq 1 \quad (56)$$

e

$$K_1 - K_2 W_{12} < 0; 0 \leq p \leq 1 \quad (57)$$

4.3.5 Modelo de Ross McDonald

O modelo de Ross-MacDonnald é um modelo compartimental baseado em equações diferenciais ordinárias, que descreve as interações entre a população de mosquitos e humanos na dinâmica de uma enfermidade de transmissão direta. Vamos utilizar um modelo simplificado de Ross-MacDonnald, descrito por Coutinho et al., 2006, Massad et al., 2017, Amaku et al., 2016^(65–67).

A população envolvida na transmissão são hospedeiros humanos e mosquitos. A população é dividida entre os seguintes compartimentos:

- Suscetíveis Humanos (S_H);
- Os que se tornam Humanos Infectados (I_H) através de uma força de infecção (λ) e taxa de contato (β);
- Humanos Recuperados (R_H) através de uma taxa de recuperação (γ);
- Total de humanos (N_H);
- Mosquitos Suscetíveis (S_M);
- Mosquitos infectados latentes (L_M), Mosquitos Infectados (I_M).

Considera-se neste modelo que a população de humanos e vetores se mantém constantes em todo o tempo. O modelo é definido pelas seguintes equações:

$$\frac{dS_H}{dt} = -ab(I_M + \eta_M L_M) \frac{S_H}{N_H} - \mu_H S_H + \sigma_H R_H + \theta_H I_H + \lambda_H \quad (58)$$

$$\frac{dL_H}{dt} = ab (I_M + \eta_M L_M) \frac{S_H}{N_H} - (\mu_H + \delta_H) L_H,$$

$$\frac{dI_H}{dt} = \delta_H L_H - (\mu_H + \alpha_H + \gamma_H + \theta_H) I_H,$$

$$\frac{dR_H}{dt} = \gamma_H I_H - (\mu_H + \sigma_H) R_H,$$

$$\frac{dS_M}{dt} = -ac \frac{(I_H + \eta_H L_H)}{N_H} S_M - \mu_M S_M + \lambda_H,$$

$$\frac{dL_H}{dt} = ac \frac{(I_H + \eta_H L_H)}{N_H} S_M - (\mu_M + \gamma_M) L_M$$

$$\frac{dI_H}{dt} = \gamma_M L_M - \mu_M I_M$$

$$\frac{dN_M}{dt} = 0 \text{ para população de tamanho constante.}$$

$$N_H = S_H + I_H + R_H$$

$$N_M = S_M + L_M + I_M$$

A explicação sobre o significado e as limitações: As variáveis são densidades, isto é, o número de humanos/vetores por unidade de área. Ao usar o modelo, devemos considerar uma área onde a população é aproximadamente homogeneamente distribuída e cada variável multiplicada na área.

5 MÉTODOS

O presente trabalho é um estudo retrospectivo que utilizou como base prontuários médicos de pacientes internados com diagnóstico de dengue e que foram notificados à Vigilância Epidemiológica. O Núcleo de Vigilância Epidemiológica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (NVE-HCFMUSP) forneceu a listagem, através do número de prontuários, os pacientes que estiveram internados com diagnóstico de dengue no Instituto Central e Instituto da Criança. Foram levantados os pacientes internados por pelo menos 24 horas com diagnóstico de dengue CID – 10 A 90 (Dengue (Dengue Clássico)) e A 91 (Febre hemorrágica devida ao vírus da Dengue) no período de 2008 a 2018 no Hospital das Clínicas Instituto Central e Instituto da Criança através do registro de SINAN. Cada prontuário foi estudado para se verificar se houve introdução de antibiótico tanto na internação como durante o período de internação. Os nomes dos pacientes foram preservados e identificados pelo número de prontuário. Dos 132 casos indicados pelo NVE-HCFMUSP foram considerados casos 103 prontuários (78%).

Foi utilizado um modelo que combina dois modelos matemáticos publicados: um sobre a evolução da resistência aos antibióticos proposto anteriormente por Massad, Yang e Lundberg e um clássico Modelo de Ross-MacDonald para transmissão da dengue com possibilidade de vacinação, adaptado por Amaku, Coutinho e Massad,

5.1 Base de dados

As bases de dados utilizadas neste trabalho são referentes ao levantamento de prontuários de pacientes com dengue, internados no período de janeiro de 2008 a dezembro de 2018, do Núcleo de Vigilância Epidemiológica do Hospital das Clínicas (NUVE-HCFMUSP), de prontuários do Instituto Central (IC-FMUSP) e do Instituto da Criança da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (ICR-FMUSP) (anexo autorização). O NUVÉ-HCFMUSP forneceu o número dos prontuários de todos os casos internados com diagnóstico de dengue no período de janeiro de 2008 a dezembro de 2018, notificados através da Notificação à Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo.

Esse levantamento teve objetivo de verificar se foi ou não administrado antibiótico nos pacientes durante a internação e alta hospitalar. Neste estudo foram levantados 132 casos indicados pelo NUVÉ-HCFMUSP através do registro de notificação arquivados. Foram considerados casos 103 prontuários (78%). Os prontuários que não puderam ser utilizados neste estudo 25 (19%) estavam com páginas extraviadas ou não foram encontrados, 2

prontuários (1,5%) não têm resultados do exame laboratorial comprovando o diagnóstico, outros 2 prontuários (1,5%) os pacientes não foram internados sendo tratados em ambulatório. Dos 103 casos, 36 (35%) receberam antibióticos e 67 (65%) não tomaram antibióticos. Este dado foi utilizado no modelo matemático como número de pacientes com dengue que utilizaram antibiótico indevidamente.

5.2 Seleção dos sujeitos

Todos os pacientes internados no Hospital das Clínicas Instituto Central e Instituto da Criança com diagnóstico CID 10 A90 e A91 (dengue).

5.3 Critérios de inclusão

Pacientes que permaneceram internados por pelo menos 1 (um) dia no Hospital das Clínicas Instituto Central com diagnóstico de dengue.

5.4 Critérios de exclusão

Pacientes internados que não têm confirmação de dengue através da sorologia para dengue.

5.5 Processamento e análise de dados

Os dados obtidos foram submetidos a modelagem matemática para análise de dados.

5.6 Modelo combinado

O modelo utilizado neste estudo combina o modelo proposto por Massad et al (1993) ⁽⁶⁸⁾ para o estudo da evolução da resistência a antibióticos, e o modelo de dengue de Ross-Macdonald ⁽⁶⁹⁾, incluindo a possibilidade de vacinação .

O modelo combinado é descrito na Figura 4:

Figura 4 - Modelo combinando modelo de resistência a antibióticos e modelo de dengue de Ross-MacDonald com vacinação.

Na Figura 4, a imagem do lado esquerdo descreve o modelo de Massad, Yang e Lundberg (1993) ⁽⁶⁸⁾, projetados para estudar a evolução da resistência contra antibióticos. Este modelo considerou uma população em um ambiente hospitalar, em que $X(t)$ representa indivíduos que foram hospitalizados por causas diversas com taxa Λ , e são suscetíveis a um determinado agente infeccioso. Estes indivíduos podem adquirir uma infecção do hospital por uma cepa sensível a um antibiótico específico com uma taxa β_1 . Uma vez infectado com a cepa sensível estes indivíduos são denominados $Y(t)$. Uma fração p desses indivíduos $Y(t)$ é tratada com o antibiótico específico e se recupera para o estado suscetíveis com a taxa γ . A fração (

$1 - p$) de indivíduos não tratados morrem da infecção com taxa α . Entretanto, indivíduos $Y(t)$ podem deixar o hospital com taxa μ . Alternativamente, os indivíduos suscetíveis $X(t)$ podem adquirir a infecção por uma cepa do patógeno que é resistente ao antibiótico específico com uma taxa β_2 . Uma vez infectado com a cepa sensível, estes indivíduos são denominados $Z(t)$. Estes indivíduos podem ser deixar o hospital com taxa μ (como todos os outros no modelo), ou morrem da infecção com taxa α . O modelo considera a evolução da resistência antibiótica por dois mecanismos alternativos, um consistindo na mutação, e outro pela transferência do plasmídeo das cepas sensíveis às resistentes. Estes dois mecanismos são representados na figura pela taxa composta F . O componente de mutação da taxa F é descrito pela expressão $(\theta + p\xi)Y(t) + (\omega + p\delta)Y(t)Z(t)$. Nesta expressão, θ é a taxa de mutação independente do tratamento e $p\xi$ é a taxa de mutação induzida pelo tratamento antibiótico (observe o termo de infecção cruzada $Y(t)Z(t)$). O componente com perda da mutação G é descrito pela expressão $\sigma Z(t)$. Nesta expressão, σ é a taxa de perda de mutação.

A expressão do lado direito mostrado na Figura 4 descreve o uso do modelo de Ross-MacDonald para representar a infecção da dengue com um componente de vacinação. O modelo considera que as pessoas nascem com taxa μ_H (assumido como igual à taxa de mortalidade natural) e que são suscetíveis à dengue e denotados $S_H(t)$. Estes indivíduos podem adquirir infecção por dengue com incidência $ab\left(\frac{I_M}{N_H}\right)$, onde a é a taxa de picada dos mosquitos, b é a probabilidade de infecção de mosquitos para os seres

humanos, $I_M(t)$ é o número de mosquitos infectados e N_H é a população humana total (assumido como constante, igualando as taxas de nascimento e morte como μ_H). Os indivíduos infectados pela dengue são denominados $I_H^T(t)$, a fração h destes indivíduos são internados no mesmo hospital do primeiro modelo. Os indivíduos com dengue que não são hospitalizados são denominados $I_H^G(t)$. Alternativamente, os indivíduos suscetíveis podem ser vacinados com taxa ν_H e são então denominados $V_H(t)$. Os indivíduos infectados pela dengue hospitalizados são denominados $I_H(t)$, podem também estar infectados com plasmídeos dos indivíduos infectados por cepa resistente no mesmo hospital $Z_H(t)$ e uma fração deles p' utiliza antibióticos de indicação inadequada (note que a taxa de transferência de plasmídeo δ é a mesma), ou saem do hospital com taxa μ_H (como todos os outros no modelo), ou morrem de infecção por dengue com taxa α_H , ou são recuperados da dengue com taxa γ_H . Entretanto para o termo $p'\delta I_H(t)Z(t)$ representa a transferência de plasmídeos do $Z_H(t)$ para $I_H(t)$ pelo mecanismo de infecção cruzada. Como no modelo clássico de Ross-Macdonald, mosquitos susceptíveis, denotados $S_M(t)$ podem adquirir infecção por dengue com incidência $ac\left(\frac{I_M}{N_H}\right)$, onde novamente a é a taxa de picada dos mosquitos, c é a probabilidade de infecção de humanos para mosquitos, $I_M(t)$ é o número de mosquitos infectados e N_H é a população humana total. Uma vez infectados, esses mosquitos entram em um estado latente, denotados $L_M(t)$ e então morrem ou evoluem para o estado que podem infectar $I_M(t)$. Note-se que os mosquitos nascem e morrem com a

mesma taxa μ_M , o que implica que a população total de mosquitos é assumida constante.

Tabela 1 - Variáveis dos modelos, parâmetros, significados biológicos e valores.

Modelo de Resistência ao Antibiótico ¹			
Parâmetro/Variável		Significado Biológico	Condição inicial/Valor usado nas simulações
$X(t)$		Indivíduos susceptíveis à infecção hospitalar	100
$Y(t)$		Indivíduos infectados com a cepa sensível	1
$Z(t)$		Indivíduos infectados com a cepa resistente	0.41
Λ		Taxa de internação	3.33×10^{-2} dias ⁻¹
μ		Taxa de saída do hospital	3.33×10^{-2} dias ⁻¹
β_1		Taxa de infecção com a cepa sensível	6.45×10^{-3} dias s ⁻¹
β_2		Taxa de infecção com a cepa resistente	6.00×10^{-3} dias ⁻¹
p		Fração tratada com antibiótico	0.7
γ		Recuperados da infecção com cepa sensível	2.50×10^{-1} dias ⁻¹
α		Taxa de mortalidade induzida pela infecção	1.15×10^{-1} dias ⁻¹
θ		Taxa de mutação da cepa sensível para resistente	1.00×10^{-7} dias ⁻¹
ξ		Taxa de mutação induzida pelo tratamento	1.00×10^{-6} dias ⁻¹
ω		Taxa de transferência espontânea de plasmídeos	1.15×10^{-5} dias ⁻¹
δ		Taxa de tratamento induzida pela transferência de plasmídeo	1.15×10^{-4} dias ⁻¹
σ		Taxa de retorno de cepa resistente para sensível	1.00×10^{-8} dias ⁻¹
¹ Valores de parâmetros e condições iniciais da referência(68).			
Modelo de Dengue ²			
Parâmetro/Variável		Significado Biológico	Condição inicial/Valor usado nas simulações
$S_H(t)$		Indivíduos susceptíveis à dengue	1.00×10^5

$I_H^G(t)$	Indivíduos infectados com dengue não internados	1.0
$I_H(t)$	Indivíduos infectados com dengue hospitalizados	0.0
$R_H(t)$	Indivíduos recuperados da dengue	0.0
$V_H(t)$	Indivíduos vacinados contra dengue	0.0
$S_M(t)$	Mosquitos suscetíveis a dengue	1.50×10^5
$L_M(t)$	Mosquitos latentes com dengue	1
$I_M(t)$	Mosquitos infectados com dengue	0
μ_H	Taxa de nascimento/mortalidade em humanos	$3.92 \times 10^{-5} \text{ dias}^{-1}$
ν_H	Taxa de vacinação	Variável
a	Taxa de picadas de mosquitos	10 dias^{-1}
b	Probabilidade de infecção em humanos picados pelos mosquitos	0.6
c	Probabilidade de infecção em mosquitos que picam humanos	0.6
α_H	Taxa de mortalidade induzida por dengue	$1.00 \times 10^{-5} \text{ dias}^{-1}$
p'	Fração de indivíduos infectados por dengue tratados inadequadamente com antibióticos	Variável
h	Fração de indivíduos infectados por dengue internados	0.3
κ	Fração de indivíduos infectados por dengue não hospitalizados que recuperaram da infecção	0.7
δ_H	Taxa de perda de imunidade	
d	Taxa de saída do hospital	$1.00 \times 10^{-2} \text{ dias}^{-1}$

² Valores de parâmetros e condições iniciais da referência(70).

5.6.1 Modelo de Resistência a antibiótico

$$\frac{dX(t)}{dt} = \beta_1 X(t) Y(t) - \beta_2 X(t) Z(t) - \mu X(t) + p_Y Y(t) + A$$

$$\frac{dY(t)}{dt} = \beta_1 X(t)Y(t) - [(1-p)\alpha + p\gamma]Y(t) - \mu Y(t) - F[Y(t), Z(t)] + G[Z(t)]$$

$$\frac{dZ(t)}{dt} = \beta_2 X(t)Z(t) - \alpha Z(t) + F[Y(t), Z(t)] - \mu Z(t) - G[Z(t)] + p'\delta I_H(t)Z(t)$$

$$N = X + Y + Z$$

$$F[Y(t), Z(t)] = (\theta + p\xi)Y(t) + (\omega + p\delta)Y(t)Z(t)$$

$$G[Z(t)] = \alpha Z(t)$$

$$resist(t) = \frac{1}{N} \int_0^1 \{ \beta^2 X(s)Z(s) + p'\delta I_H(s)Z(s) + F[Y(s), Z(s)] \} ds$$

5.6.2 Modelo de Dengue

$$\frac{dS_H(t)}{dt} = -ab \frac{I_M(t)}{N_H} S_H(t) + \mu_H [N_H - S_H(t)] - v_H S_H(t)$$

$$\frac{dI_H^G(t)}{dt} = ab \frac{I_M(t)}{N_H} S_H(t)(1-h) - (\mu_H + \alpha_H) I_H^G(t) - k\gamma_H I_H^G(t)$$

$$\frac{dI_H(t)}{dt} = ab \frac{I_M(t)}{N_H} S_H(t)h - (\mu_H + \alpha_H + d) I_H(t) - (1-p')\gamma_H I_H(t) - p'\delta I_H(t)Z(t)$$

$$\frac{dR_H(t)}{dt} = (1-p')\gamma_H I_H(t) + k\gamma_H I_H^G(t) - \mu_H R_H(t)$$

$$\frac{dV_H(t)}{dt} = v_H S_H(t) - \mu_H V_H(t)$$

$$I_H^T(t) = I_H^G(t) + I_H(t)$$

$$N_H = S_H + I_H + R_H + V_H$$

$$Vac(t) = \frac{1}{N_H} \int_0^1 v_H S_H(s) ds$$

$$\frac{dS_M(t)}{dt} = -ac \frac{I_H^T(t)}{N_H} S_M(t) + \mu_M(N_M - S_M(t))$$

$$\frac{dL_M(t)}{dt} = ac \frac{I_H^T(t)}{N_H} S_M(t) - (\gamma_M + \mu_M)L_M(t)$$

$$\frac{dI_M(t)}{dt} = \gamma_M L_M(t) - \mu_M I_M(t)$$

$$N_M = S_M + L_M + I_M$$

6. ASPECTOS ÉTICOS

Os dados utilizados são identificados pelo número de prontuário, sem identificação do paciente.

7. RESULTADOS

O modelo de resistência a antibiótico foi simulado apenas para reproduzir os resultados obtidos por Massad, Yang e Lundberg ⁽⁷¹⁾ com os

dados de *Klebsiella pneumoniae* cepas resistentes contra o antibiótico amicacina no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Brasil. Os resultados são mostrados na Figura 5.

Figura 5 - O desempenho do modelo de resistência a antibióticos (linha preta) simulou com parâmetros como na tabela (1), e evolução real da resistência de *Klebsiella pneumoniae* contra amicacina (linha vermelha). Dados reais de Massad, Yang e Lundberg⁽⁷¹⁾.

Observe que o modelo contabiliza os dados reais com boa precisão para uma fração de antibióticos tratados com indivíduos de 70%. Em apenas 5 anos, a resistência evoluiu de menos de 10% para mais de 70%.

O modelo completo foi então simulado com variáveis e parâmetros como na tabela (1) a fim de estimar o impacto do tratamento inadequado de pacientes com dengue com os antibióticos e o impacto da vacinação contra a dengue na evolução da resistência antibiótica de indivíduos infectados pela dengue e tratados inadequadamente com o mesmo antibiótico (amicacina)

contra o mesmo patógeno (*Klebsiella pneumoniae*). O resultado pode ser visto nos números 6 e 7, respectivamente.

Figura 6 - Desempenho do modelo completo de resistência a antibióticos e dengue simulado com proporção crescente de pacientes com dengue sendo tratados inadequadamente com os antibióticos.

Observe que a proporção final de bactérias resistentes varia de forma não linear com o aumento da proporção de pacientes com dengue tratados inadequadamente com o antibiótico.

Figura 7 - Desempenho do modelo completo de resistência a antibióticos e dengue simulado com parâmetros como na tabela (1).

A linha amarela contínua representa o equilíbrio após 60 meses de tratamento na ausência da dengue. Outras linhas representam efeito da vacinação com várias proporções de uso indevido de antibióticos contra a dengue, variando de 10% (linha verde inferior) a 50% (linha azul superior)

Note-se que a cobertura vacinal necessária para reduzir a resistência contra o antibiótico nesta situação extrema é muito alta.

8 DISCUSSÃO

Após três décadas observamos que a síntese de um grande número de antibióticos tem causado ameaça de resistência bacteriana ⁽⁷²⁾. A frequência e o espectro de infecções resistentes a antibióticos aumentaram no hospital e

na comunidade ⁽⁷³⁾. O resultado trágico é que certas infecções que se tornaram intratáveis começaram a ocorrer como epidemias. A resistência bacteriana resulta em aumento da morbidade, mortalidade e custos com saúde. Com poucas teorias elaboradas desde Krus e Rvachev ⁽⁷⁴⁾ e tentativa descritiva de Nicoletis et als. ^(75,76). A política de prescrição assumida no modelo é que uma proporção constante dos pacientes é tratada com antibiótico. Essa suposição serve para calcular um nível de tratamento limiar, mas não é uma descrição realista do tipo de política que pode ser adotada pelos médicos durante a vida de um antibiótico. É provável que o nível de tratamento seja influenciado por processos em três níveis:

I. O médico pode experimentar o medicamento a alguns pacientes e, se estas tentativas iniciais forem bem-sucedidas e poderá aumentar o seu “p” pessoal durante a fase entusiasta. Da mesma forma, quando a sensibilidade cai devido a evolução da resistência, ele diminui em fase de desilusão.

II. Alguns médicos “radicais” podem estar interessados em testar novidades que outros conservadores. Então a nova droga é inicialmente testada pelos “radicais” e são utilizadas pelos conservadores.

III. A informação se espalha sobre uma droga nova e uma fração da comunidade médica passa a utilizá-la.

Não foram considerados os do tipo II ou III neste processo e, portanto, prolongam a sua vida útil. No entanto, no caso dos aminoglicosídeos, devido as especificidades variáveis dos substratos das enzimas inativadoras.

Os organismos resistentes a medicamentos (mutantes, portadores de transdutores contendo fatores R) selecionados pela pressão dos antibióticos podem estar em desvantagem na ausência dos medicamentos. Devido a rapidez da evolução microbiana podemos assumir que existem cepas resistentes a todos os antibióticos no mesmo ritmo da evolução microbiana. Do ponto de vista da teoria da evolução, essa “estratégia de corrida armamentista” significa que impomos uma pressão de seleção estabilizadora, afim de manter a população microbiana em equilíbrio com composições genotípicas favoráveis ao homem. Como mencionado por Neu⁽⁷²⁾, a necessidade de novos antibióticos continuará porque as bactérias tem uma capacidade notável de superar cada novo agente sintetizado.

Neste trabalho, propusemos um modelo composto para testar a hipótese de que uma vacina hipotética contra a dengue pode ajudar a dificultar a evolução da resistência contra antibióticos devido ao seu uso indevido em pacientes com dengue. Essa hipótese foi testada com um modelo composto combinando um modelo publicado anteriormente para estudar a evolução da resistência a antibióticos, com um modelo clássico de dengue Ross-Macdonald⁽⁷⁰⁾. A simulação de um cenário real envolvendo o uso excessivo de amicacina em pacientes infectados com *K. pneumoniae* em um grande hospital de São Paulo, Brasil⁽⁷¹⁾ e a inclusão de pacientes com dengue (ver Figura 5) na dinâmica bacteriana do modelo composto. Foram levantados prontuários de pacientes internados com o diagnóstico Dengue durante o período de 2008 a 2018. O uso inadequado de antibióticos em pacientes com dengue aumentou a evolução da resistência contra esses antibióticos de forma não linear. Assim, se 10% dos pacientes com dengue fossem tratados com antibióticos, a

proporção de bactérias resistentes aos medicamentos aumentaria da linha de base de 70% para quase 89% e assim por diante, como visto na Figura 7.

O resultado da simulação do impacto da vacina teórica contra a dengue também resultou em uma diminuição altamente não linear na proporção de bactérias resistentes com o aumento da cobertura vacinal (Figura 6). Embora se deva esperar uma redução na proporção de bactérias resistentes com a redução de indivíduos suscetíveis devido à vacina, as simulações mostram que a cobertura necessária para resultar em uma redução significativa na proporção de bactérias resistentes é muito alta. Além disso, quanto maior a proporção de pacientes com dengue maltratados com antibióticos, maior será a cobertura vacinal necessária para reduzir a resistência a antibióticos ao nível base (Figura 6).

Nosso modelo tem várias simplificações e limitações. Em primeiro lugar, assume uma transmissão homogênea, tanto para a infecção bacteriana quanto para a infecção por dengue. O modelo é determinista, ignorando eventuais flutuações estocásticas na dinâmica dos compartimentos. Muitos dos parâmetros utilizados nas simulações não são baseados em observações empíricas, embora a parte resistente a antibióticos do modelo reproduza um cenário real com uma precisão razoável. O modelo de dengue não é estratificado por sorotipos, mas considera a dengue uma infecção total ou nada. E, finalmente, a vacina teórica é considerada 100% eficiente para todos os sorotipos da dengue. Portanto, se tal vacina estivesse disponível e se 100% das pessoas suscetíveis fossem vacinadas, então não ocorreria nenhum caso de dengue e nenhum uso indevido de antibiótico. Considerando 50 milhões de

casos de dengue por ano em todo o mundo, considerando que entre 20% e 40% são tratados com antibióticos inadequadamente e considerando o custo médio de um antibiótico US\$ 9,91 ⁽⁷⁴⁾ para cada episódio de infecção de trato respiratório superior diagnosticado erroneamente infecção (a principal causa de uso indevido de antibióticos em pacientes com dengue) ⁽¹⁰⁾, então deve-se esperar um ganho econômico entre US\$ 99.100.000,00 e US\$ 198.200.000,00 por ano.

9 CONCLUSÃO

Apesar das simplificações acima, achamos que o modelo composto serviu aos seus propósitos, uma vez que foi projetado para investigar qualitativamente como uma vacina hipotética poderia conter a evolução da resistência contra antibióticos causados pelo uso inadequado dessas drogas em pacientes com dengue.

É possível, portanto, com base nos resultados da simulação do nosso modelo que uma vacina contra a dengue reduziria a taxa de evolução da resistência a antibióticos em um cenário em que os pacientes com dengue são tratados inadequadamente com a droga.

10. REFERÊNCIAS

1. Nelson ML, Dinardo A, Hochberg J, Armelagos GJ. Brief communication: Mass spectroscopic characterization of tetracycline in the skeletal remains of an ancient population from Sudanese Nubia 350-550 CE. *Am J Phys Anthropol.* 2010;143(1):151–4.
2. Megan C, El M, C. A. Fluorochrome labelling in roman period skeletons from dakhleh oasis, Egypt. *Am J Phys Anthropol.* 1989;80(2):137–43.
3. Aminov RI. A brief history of the antibiotic era: Lessons learned and challenges for the future. *Front Microbiol.* 2010;1:1–7.
4. Nelson ML, Levy SB. The history of the tetracyclines. 2011;1241:17–32.
5. Ventola CL. The Antibiotic Resistance: part 1: causes and treats. *P T a peer Rev J Formul Manag.* 2015;40(4):277–83.
6. Martins GDS, Mangiavacchi BM, Borges FV, Lima NB. Uso Indiscriminado De Antibióticos Pela População De São José Do Calçado (ES) E O Perigo Das Superbactérias. *Acta Biomédica Bras.* 2016;6(2):84.
7. Davies J. Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiologia.* 1996;12(1):9–16.
8. Hiltunen T, Virta T, Laine AL. Antibiotic resistance in the wild : an eco-evolutionary perspective. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2017;372(1712):2016.0039.
9. Medical milestones: celebrating key advances since 1840. *BMJ.* 2007;334(1–20).
10. Frost I, Van Boeckel TP, Pires J, Craig J LR. Global geographic trends in antimicrobial resistance: the role of international travel. *J Travel Med.* 2019;22:taz036.
11. Scott JG, Cohen D, DiCicco-Bloom B, Orzano AJ, Jaen CR, Crabtree BF. Antibiotic use in acute respiratory infections and the ways patients pressure physicians for a prescription. *J Fam Pr.* 2001;50(10):853–8.
12. Nyquist AC, Gonzales R, Steiner JF, Ma S. Antibiotic prescribing for

- children with colds, upper respiratory tract infections, and bronchitis. *Respir Care*. 1998;43(7):542.
13. Zaman S Bin, Hussain MA, Nye R, Mehta V, Mamun KT, Hossain N. A Review on Antibiotic Resistance: Alarm Bells are Ringing. *Cureus*. 2017;9(6).
 14. Pacifici SI. An HSUS report: human health implications of non-therapeutic antibiotic use in animal agriculture. *Assessment*. 2009;1–11.
 15. Paulson JA, Zaoutis TE. Nontherapeutic Use of Antimicrobial Agents in Animal Agriculture: Implications for Pediatrics. *Pediatrics*. 2015;136(6):e1670–7.
 16. Laxminarayan R, Matsoso P, Pant S, Brower C, Røttingen JA, Klugman K, et al. Access to effective antimicrobials: A worldwide challenge. *Lancet*. 2016;387(10014):168–75.
 17. Laxminarayan R, Duse A, Wattal C, Zaidi AKM, Wertheim HFL, Sumpradit N, et al. Antibiotic resistance-the need for global solutions. *Lancet Infect Dis*. 2013;13(12):1057–98.
 18. Lim C, Takahashi E, Hongsuwan M, Wuthiekanun V, Thamlikitkul V, Hinjoy S, et al. Epidemiology and burden of multidrug-resistant bacterial infection in a developing country. *Elife*. 2016;5(September):1–18.
 19. Malhotra-Kumar S, Lammens C, Coenen S, Van Herck K, Goossens H. Effect of azithromycin and clarithromycin therapy on pharyngeal carriage of macrolide-resistant streptococci in healthy volunteers: a randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Lancet*. 2007;369(9560):482–90.
 20. Fridkin SK, Edwards JR, Courval JM, Hill H, Tenover FC, Lawton R. Article. *Ann Intern Med*. 2001;135(3):175–83.
 21. Daneman N, Bronskill SE, Gruneir A, Newman AM, Fischer HD, Rochon PA, et al. Variability in antibiotic use across nursing homes and the risk of antibiotic-related adverse outcomes for individual residents. *JAMA Intern Med*. 2015;175(8):1331–9.
 22. Costelloe C, Metcalfe C, Lovering A, Mant D, Hay AD. Effect of antibiotic

- prescribing in primary care on antimicrobial resistance in individual patients: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2010;340:c2096.
23. Steinke D, Davey P. Association between Antibiotic Resistance and Community Prescribing: A Critical Review of Bias and Confounding in Published Studies. *Clin Infect Dis*. 2001;33(s3):S193–205.
 24. Goosens H, Ferech M, Vander Stiechele R EME-P group. Outpatients antibiotic use in Europe and association with resistance. A cross-national database study. *Lancet*. 2005;365:57–587.
 25. U.S. Departmente of Health and Human Services. Centers for Disease Control and Preventiob. Antibiotic resistance threats in the United States, 2013. Washington: U.S. Departmente of Health and Human Services, 2013.
 26. World Health Organization. Essential Drugs Monitor No. 028-029. Editorial - Antimicrobial resistance: a global threat. [Acesso em 27 de setembro de 2019]. Geneva: World Health Organization. Disponível em: <http://digicollection.org/hss/en/d/Js2248e/1.html>.
 27. Roth PJ, Grant DS, Ngegbai AS, Schieffelin J, McClelland RS, Jarrett OD. Factors associated with mortality in febrile patients in a government referral hospital in the Kenema district of Sierra Leone. *Am J Trop Med Hyg*. 2015;92(1):172–7.
 28. United Nations. Draft political declaration of the high-level meeting of the General Assembly antibiotic resistance. 2016:1-5.
 29. World Health Organization. Global action plan on antimicrobial resistance. [Internet]. Geneva: World Health Organization. [Acesso em 27 de setembro de 2019]. Disponível em: www.who.int/antimicrobial-resistance/publications/globalaction-plan/en/.
 30. Collineau L, Belloc C, Stärk KDC, Hémonic A, Postma M, Dewulf J, et al. Guidance on the Selection of Appropriate Indicators for Quantification of Antimicrobial Usage in Humans and Animals. *Zoonoses Public Health*. 2017;64(3):165–84.

31. World Health Organization. Integrated surveillance of antimicrobial resistance [Internet]. Geneva: World Health Organization. [Acesso em 27 de setembro de 2019]. Disponível em: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/91778/9789241506311_eng.pdf;jsessionid=7C1284F3A5AE74619D3951A9FCE15719?sequence=1.18.
32. Torres-Barceló C. The disparate effects of bacteriophages on antibiotic-resistant bacteria. *Emerg Microbes Infect.* 2018;7(1).
33. Geisinger E, Isberg RR. Interplay Between Antibiotic Resistance and Virulence During Disease Promoted by Multidrug-Resistant Bacteria. *J Infect Dis.* 2017; 215(Suppl 1):S9-S17.
34. Subedi D, Vijay AK, Willcox M. Overview of mechanisms of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: an ocular perspective. *Clin Exp Optom.* 2018;101(2):162–71.
35. Blummer JL; Reed MD. Clinical Pharmacology of Aminoglycoside Antibiotics in Pediatrics. *Pediatr Clin North Am.* 1983;30(1):195–208.
36. Patil SN, Korochikar SP, Rural BKLW, College M. Study of acute undifferentiated fever cases and their etiologies in rural Konkan area of Maharashtra state. 2016;(3):10–8.
37. Sharma B, Matlani M, Gaiind R, Pandey K. Malaria and typhoid co-infection in india: a diagnostic difficulty. *IOSR J Dent Med Sci.* 2016;15(9):101–4.
38. Regunath H. Pre-travel risk assessment, travel health precautions, and post-travel illnesses: an overview. *Infectious Disease Special Edition.* 2015:35-41.
39. Tartof SY, Kuntz JL, Chen LH, Wei R, Puzniak L, Tian Y, et al. Development and assessment of risk scores for carbapenem and extensive β -lactam resistance among adult hospitalized patients with *pseudomonas aeruginosa* infection. *JAMA Netw Open.* 2018;1(6):e183927.

40. Nogueira SA. [The challenge of diagnosing dengue in children]. *J Pediatr (Rio J)*. 2005;81(3):191–2.
41. Kinimi E, Patrick BN, Misinzo G. Serological evidence of chikungunya and malaria co-infection among febrile patients seeking health care in Karagwe district, Tanzania. *Tanzan J Health Res*. 2018;20(4):1-8.
42. Ayukekbong JA; Oyero OG; Nmukwu SE; Mesumbe HN; Fobisong CN. Value of routine dengue diagnosis in endemic countries. *World J Virol*. 2017;6(1):9–16.
43. Whitehead SS. Development of TV003/TV005, a single dose, highly immunogenic live attenuated dengue vaccine; What makes this vaccine different from the Sanofi-Pasteur CYD™ vaccine? *Expert Rev Vaccines*. 2016;15(4):509–17.
44. Sandopa D, Nethi SK, Sreeram SC, Vijay NKG, Biradavolu V, Kakimani JV. Prescribing antibiotics to pediatric dengue: increasing risk of bacterial resistance. *Paediatr Indones*. 2018;58(1):53.
45. Adrizain R, Setiabudi D, Chairulfatah A. The inappropriate use of antibiotics in hospitalized dengue virus-infected children with presumed concurrent bacterial infection in teaching and private hospitals in Bandung, Indonesia. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019;13(6):1–11.
46. Gubler DJ. Epidemic dengue/dengue haemorrhagic fever: a global public health problem in the 21st century. *Dengue Bull*. 1997;21:1–14.
47. Ribeiro AF, Tengan C, Sato HK, Spinola R, Mascheretti M, França ACC, et al. A public health risk assessment for yellow fever vaccination: A model exemplified by an outbreak in the state of São Paulo, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2015;110(2):230–4.
48. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Febre Amarela e Dengue. Guia de Vigilância em saúde. Brasília (DF): Ministério da Saúde, 2016. p. 399-459.
49. Machado SC. Resistência aos antibióticos: O uso inadequado dos

- antibióticos na prática clínica. *Rev la OFIL*. 2004;14(1):45–68.
50. Chatterjee A, Modarai M, Naylor NR, Boyd SE, Atun R, Barlow J, et al. Quantifying drivers of antibiotic resistance in humans: a systematic review. *Lancet Infect Dis*. 2018;18(12):e368–78.
 51. Agersø Y, Bjerre K, Brockmann E, Johansen E, Nielsen B, Siezen R, et al. Putative antibiotic resistance genes present in extant *Bacillus licheniformis* and *Bacillus paralicheniformis* strains are probably intrinsic and part of the ancient resistome. *PLoS One*. 2019;14(1):1–24.
 52. Chipwaza B, Mugasa JP, Mayumana I, Amuri M, Makungu C, Gwakisa PS. Self-medication with anti-malarials is a common practice in rural communities of Kilosa district in Tanzania despite the reported decline of malaria. *Malar J*. 2014;13(1):1–11.
 53. Tepper BS. Microbial resistance to drugs. In: Sladen BK, Bang FB, editors. *Biology of Population*. New York: American Elsevier Publishing Company Inc.;1969.
 54. Vita WP, Nicolai CCDA, Azevedo MB De, De MF, Baran M. [Dengue : clinical and laboratory alerts of the evolution of the serious illness]. *Rev Bras Clin Medica*. 2009;7:11–4.
 55. Tozan Y. Current issues in the economics of vaccination against dengue. *Expert Rev Vaccines*. 2016;15(4):519–28.
 56. Luz PM, Grinsztejn B, Galvani AP. Disability adjusted life years lost to dengue in Brazil. *Trop Med Int Heal*. 2009;14(2):237–46.
 57. Dias LB, Almeida SCL, Haes TM, Mota LM, Roriz-Filho JS. Dengue: transmissão, aspectos clínicos, diagnóstico e tratamento. *Medicina (Ribeirão Preto)*. 2010;43(2):143–52.
 58. Chipwaza B, Mhamphi GG, Ngatunga SD, Selemani M, Amuri M, Mugasa JP et al. Prevalence of Bacterial Febrile Illnesses in Children in Kilosa District , Tanzania. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015 May; 9(5): e0003750.
 59. Tarimo DS. Challenges of malaria diagnosis in clinical settings and disease surveillance under reduced malaria burden in Tanzania. *Asian*

- Pacific J Trop Dis. 2017;7(1):1–7.
60. Kotil S, Jakobsson E. Rationally designing antisense therapy to keep up with evolving bacterial resistance. *PLoS One*. 2019;14(1):1–19.
 61. Vynnycky E, White RG. *An Introduction to infectious disease modelling*. Oxford: Oxford University Press; 2010. p. 914–1546.
 62. Levin S, Pimentel D. Selection of Intermediate Rates of Increase in Parasite-host Systems. *Am Nat*. 1981;117(3):308–15.
 63. Krus VP, Rvachev LA. The Mathematical Theory of Epidemics: A Study of Evolution of Resistance in Microorganisms. *Adv Appl Probab*. 1971;3(2):206–8.
 64. Vandermeer J. *Elementary Mathematical Ecology*. Sons WJ and, editor. New York, Chichester, Brisbane, Toronto; 1981.
 65. Massad E, Amaku M, Coutinho FAB, Struchiner CJ, Lopez LF, Wilder-Smith A, et al. Estimating the size of *Aedes aegypti* populations from dengue incidence data: Implications for the risk of yellow fever outbreaks. *Infect Dis Model*. 2017;2(4):441–54.
 66. Amaku M, Azevedo F, Burattini MN, Coelho GE, Coutinho FAB, Greenhalgh D, et al. Magnitude and frequency variations of vector-borne infection outbreaks using the Ross-MacDonald model: explaining and predicting outbreaks of dengue fever. *Epidemiol Infect*. 2016;144(16):3435–50.
 67. Massad E, Burattini MN, Coutinho FAB, Lopez LF. The 1918 influenza A epidemic in the city of São Paulo, Brazil. *Med Hypotheses*. 2007;68(2):442–5.
 68. Massad E, Lundberg S, Yang HM. Modeling and simulating the evolution of resistance against antibiotics. *Int J Biomed Comput*. 1993;33(1):65–81.
 69. Smith DL, Battle KE, Hay SI, Barker CM, Scott TW, McKenzie FE. Ross, Macdonald, and a theory for the dynamics and control of mosquito-transmitted pathogens. *PLoS Pathog*. 2012;8(4) e1002588.
 70. Burattini MN, Chen M, Chow A, Coutinho FAB, Goh KT, Lopez LF, et al.

- Modelling the control strategies against dengue in Singapore. *Epidemiol Infect.* 2008;136(3):309–19.
71. Massad E, Lundberg S YH. Modeling and simulating the evolution of resistance against antibiotics. *Int J Biomed Comput.* 1993;33:65–81.
 72. Neu H. The crisis in Antibiotic Resistance. *Science.* 1992;257(5073):1064–73.
 73. Cohen ML. Epidemiology of Drug Resistance: Implications for a Post-Antimicrobial Era. *Science.* 1992;257:10511055.
 74. Mainous AG 3rd, Hueston HW. The cost of antibiotics in treating upper respiratory tract infections in a medicaid population. *Arch Fam Med.* 2018;7(1):45–9.
 75. Nicolelis MA, Baccala LA. Rhythmic Bacterial Susceptibility to Antibiotics At a Large Hospital. *J Clin Epideiology.* 1991;44(2):191–205.
 76. Nicolelis MA, Massad E, Hutzler RU, Engel A, Rodrigues E, Bazzone JC TM. Mathematical model of *Klebsiella pneumoniae* resistance to amikacin and gentamicin. *Rev Bras Pesqui Med Biol.* 1986;20(1):35–41.

ANEXO I - Autorização

São Paulo, 04 de fevereiro de 2019

Solicitação de Pesquisa

À

Profa. Dra. Izabel Marcilio

Coordenadora do Núcleo de Vigilância Epidemiológica do HCFMUSP

Solicito à vossa senhoria pesquisa referente a *Estimativa de idade ótima para vacina da dengue em 5 municípios de São Paulo*. Aprovado sob nº 477/13, conforme anexo. Dados referentes a número de prontuário e data de notificação de pacientes internados no Hospital das Clínicas e Instituto da Criança com diagnóstico de dengue, através do CID 10 A90 e A91, no período de 01 de janeiro de 2010 a 31 de dezembro de 2018.

Constando número de registro, data de notificação e saída (alta, encaminhamento ou óbito)

Desde já agradeço.

Ana Tomie Nakayama Kurauchi

Pós graduanda do Depto de Patologia

CRM/SP 36.228

De acordo:
Dra. Izabel Marcilio
Vice - Coordenadora
Núcleo de Vigilância Epidemiológica - NVE
HCFMUSP

Scanned with
CamScanner

nº	Registro Geral	Idade	Registro	Unidade	Data de Notificação	Antibiótico
1	14128685J	0	1379191	ICR	06/04/2015	Sim
2	55712347G	0	1016993	ICR	26/02/2015	Não
3	6142322A	0	1820124	ICR	16/04/2015	Sim
4	6139956A	1	1016502	ICR	18/02/2015	Não
5	6144178K	2	2384242	ICR	09/06/2015	Não
6	15105872E	2	1820236	ICR	04/05/2015	Não
7	6195183K	3	2384180	ICR	26/05/2015	Não
8	6167068B	5	1016902	ICR	27/03/2015	Sim
9	6137661C	6	1397031	ICR	24/03/2015	Não
10	14072448A	6	1016941	ICR	26/03/2015	Não
11	6143314H	6	1175888	ICR	26/05/2015	Não
12	6142908D	7	2605675	ICR	26/05/2015	Sim
13	6148131J	7	2605699	ICR	05/05/2015	Sim
14	6125945I	7	135327	ICR	15/04/2014	Não
15	6141711E	7	1016563	ICR	25/02/2015	Sim
16	15027626I	7	6583439	ICR	26/05/2010	Não
17	6141053H	8	1175887	ICR	26/05/2015	Não
18	33609197E	8	227994	ICR	22/05/2014	Não
19	6141064D	8	1016847	ICR	18/03/2015	Não
20	6155080I	8	6376881	ICR	13/02/2009	Não
21	14042526A	9	1379201	ICR	10/04/2015	Sim
22	6118466B	9	1820095	ICR	16/04/2015	Não

23	6118274I	9	2605677	ICR	05/05/2015	Não
24	6189733J	10	7606707	ICR	25/05/2012	Não
25	55440224K	10	1624617	ICR	26/05/2015	Não
26	15090773H	10	135438	ICR	22/04/2014	Não
27	13681504K	10	1016894	ICR	06/04/2015	Não
28	6141532F	10	1379113	ICR	31/03/2015	Não
29	6110096E	10	1820235	ICR	04/05/2015	Não
30	6195807C	11	1379245	ICR	22/04/2015	Não
31	15133670G	11	5467995	ICr	03/03/2017	Sim
32	6089393D	12	284384	ICR	16/04/2014	Não
33	6129193H	12	1015958	ICR	04/05/2015	Não
34	15067669C	12	1820167	ICR	17/04/2015	Não
35	6140602E	12	1016555	ICR	06/03/2015	Não
36	6143177F	12	3950311	ICR	19/02/2008	Não
37	6142142C	12	1379261	ICR	13/04/2015	Não
38	6176452E	12	6383787	ICR	21/02/2011	Não
39	6128415A	13	9520880	ICR	02/06/2014	Não
40	6157997H	13	2106014	ICR	15/02/2017	Não
41	6097482H	13	227987	ICR	13/05/2014	Sim
42	44119377B	13	1820177	ICR	06/05/2015	No
43	15042424J	13	5424702	ICR	10/05/2011	Sim
44	6121157A	14	1016897	ICR	02/04/2015	Não
45	13476294B	15	2605585	ICR	05/05/2015	Sim
46	15027308C	15	5424645	ICR	17/05/2010	Não

47	6103087I	15	1820175	ICR	05/05/2015	Sim
48	13918727B	16	5424802	ICHC	04/05/2010	Não
49	6084508J	16	1379123	ICR	06/04/2015	Não
50	6130369I	16	8854690	ICR	14/05/2013	Não
51	6149493F	16	1820136	ICR	16/04/2015	Não
52	6060006I	16	6583436	ICR	31/03/2011	Não
53	13871323F	16	5619079	ICHC	27/04/2009	Não
54	6169394H	17	5619059	ICr	29/05/2017	Não
55	6144563C	17	1820166	ICR	15/04/2015	Não
56	6070322K	18	2605695	ICR	26/05/2015	Sim
57	90601594A	18	2384345	ICHC	28/05/2015	Não
58	91120212	18	5470981	ICHC	26/01/2017	Não
59	6100218C	18	6475277	ICR	18/03/2015	Sim
60	55414662E	19	7791273	ICHC	23/08/2011	Não
61	5263225H	21	227910	ICHC	29/04/2014	Não
62	13920591G	21	5424796	ICHC	08/06/2010	Não
63	13822528G	23	6376906	ICHC	13/05/2008	Sim
64	90176397G	23	1016953	ICHC	28/04/2015	Não
65	3115907E	23	5424643	ICR	20/04/2010	Não
66	14128131E	24	1015999	ICHC	05/03/2015	Sim
67	13477401H	25	5424794	ICHC	08/06/2010	Não
68	14089357F	25	8997021	ICHC	07/04/2014	Não
69	13909010H	27	5569665	ICHC	15/03/2010	Não
70	2368967B	28	7192325	ICHC	17/05/2010	Não

71	13973957G	29	1016716	ICHC	09/03/2015	Não
72	13623144H	30	1016840	ICHC	18/03/2015	Sim
73	13873795A	32	5619120	ICHC	13/05/2009	Sim
74	90011231D	32	1820168	ICHC	16/04/2015	Sim
75	13813708F	32	3763399	ICHC	19/02/2008	Não
76	90561533B	34	1379152	ICHC	06/04/2015	Não
77	14076722C	37	9520705	ICHC	19/05/2014	Sim
78	13639166H	38	9427743	ICHC	29/04/2014	Sim
79	13905068E	38	5569666	ICHC	10/02/2010	Não
80	14053822D	38	227916	ICHC	14/05/2014	Sim
81	77117450H	39	1379015	ICHC	24/03/2015	Sim
82	13945595J	42	227908	ICHC	25/04/2014	Sim
83	13910416C	49	5898770	ICHC	01/03/2010	Não
84	13879234J	49	2383627	ICHC	10/06/2015	Sim
85	13901920I	50	2605570	ICHC	22/05/2015	Sim
86	90592315B	51	5039875	ICHC	27/05/2015	Não
87	13665557G	55	7192420	ICHC	14/03/2011	Não
88	13972556G	55	1016744	ICHC	12/03/2015	Não
89	14002547G	57	9592822	ICHC	05/06/2014	Sim
90	46078	59	9520854	ICHC	04/06/2014	Sim
91	13486871C	59	1175826	ICHC	28/04/2015	Sim
92	13904108B	61	1820149	ICHC	16/04/2015	Não
93	13585891F	62	6475180	ICHC	22/03/2011	Não
94	13853602C	63	1016626	ICHC	05/03/2015	Sim

95	3164650F	64	227912	ICHC	05/05/2014	Não
96	14093018I	64	9520894	ICHC	29/05/2014	Não
97	14008142I	67	1175834	ICHC	20/05/2015	Sim
98	55372960I	69	6376176	ICHC	01/04/2014	Sim
99	55378044F	71	2605618	ICHC	06/05/2015	Sim
100	2673462C	73	1820028	ICHC	23/04/2015	Não
101	13951096J	74	2382561	ICHC	12/05/2015	Sim
102	3314231J	84	1379231	ICHC	23/04/2015	Sim
103	2516957I	85	1175874	ICHC	27/04/2015	Sim