

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA**

ALÉIA FAUSTINA CAMPOS

Impacto de um programa de intervenção para uso racional de antimicrobianos associado ao diagnóstico rápido em infecções de corrente sanguínea por bacilos gram-negativos

São Paulo

2022

ALÉIA FAUSTINA CAMPOS

Impacto de um programa de intervenção para uso racional de antimicrobianos associado ao diagnóstico rápido em infecções de corrente sanguínea por bacilos gram-negativos

Versão corrigida. Resolução CoPGr 6018/11, de 01 de novembro de 2011. A versão original está disponível na Biblioteca FMUSP.

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

Área de concentração: Infectologia

Orientação: Dra. Thaís Guimarães

São Paulo

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Campos, Aléia Faustina
Impacto de um programa de intervenção para uso
racional de antimicrobianos associado ao diagnóstico
rápido em infecções de corrente sanguínea por bacilos
gram-negativos / Aléia Faustina Campos. -- São
Paulo, 2022.
Tese (doutorado) -- Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Doenças Infecciosas e Parasitárias.
Orientadora: Thaís Guimarães.

Descritores: 1.Gestão de antimicrobianos
2.Testes imediatos 3.Infecção de corrente sanguínea
4.Bactérias gram-negativas 5.Unidades de terapia
intensiva 6.Mortalidade 7.Tempo de internação
8.Terapêutica 9.Consumo de antimicrobianos
10.Resistência bacteriana

USP/FM/DBD-341/22

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

À minha mãe (*in memoriam*) e ao meu pai, por me dar educação e garra.
Vocês são as melhores pessoas deste mundo.

Ao marido, Roberto Dellape Júnior, por estar comigo e fazer parte da minha vida.

Ao meu filho, Henrique Campos Dellape, que me faz sentir que tudo vale a pena.

A Deus por tornar tudo isso possível.

Agradecimentos

Agradeço a Deus por me colocar onde estou e me fazer grata a tudo que recebo Dele.

Minha querida orientadora, Dra Thaís Guimarães, por ter acreditado em mim e na importância deste estudo. Sua força e orientação estiveram presentes em todos os momentos da realização deste trabalho. Idealizamos juntas e soubemos aproveitar os momentos de aprendizado durante a execução. O resultado deste trabalho é fruto de sua competência e de sua generosa capacidade em compartilhar seu grande conhecimento comigo.

A Dra Silvia Figueredo Costa e todos do seu LIM por me apresentar aos testes rápidos moleculares, e contribuir na execução da biologia molecular do estudo. Nossas primeiras reuniões para definição desta parte do estudo aconteceram no seu LIM.

Aos colegas do Laboratório de Microbiologia do Instituto Central do Hospital das Clínicas/USP, em especial Ana Paula Cury e Camila Tiroli, por disponibilizarem a realização do MALDI-TOF e PCR do frasco de hemocultura. A equipe do laboratório avisava os resultados por telefone, à noite, aos finais de semana. Sem esse esforço, a comunicação dos resultados não teria acontecido.

A todos da farmácia do HC/FMUSP, em especial ao meu grande amigo Tiago Arantes. Ter coragem de iniciar o consumo de antimicrobianos nesta enorme instituição é fruto de dedicação, conhecimento técnico da importância do tema e capacidade estruturar a coleta de dados.

Aos médicos assistentes e enfermeiros das UTIs do ICHC. Sem a assistência prestada de vocês não conseguira adquirir os dados deste trabalho. Muita gratidão pela ajuda na coleta de dados, por me receber tão bem nas suas UTIs e confiar nas informações dos resultados microbiológicos que eu entregava.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de pesquisa e apoio ao financiamento para realização deste trabalho.

À *Mobius Life* por disponibilizar a máquina para execução do PCR direto do frasco de hemocultura.

A minha banca de qualificação por ter mostrado os pontos positivos do trabalho e o que poderia ser melhorado.

A Luíza Maria pelo apoio com documentos e sempre me lembrar dos prazos para a pós-graduação. Você não me esquece nunca.

Aos pacientes que participaram do estudo. Espero ter contribuído para ajudar no melhor cuidado de vocês.

*“De tudo, ficaram três coisas: a certeza de que ele estava sempre começando,
a certeza de que era preciso continuar e a certeza de que seria interrompido
antes de terminar.
Fazer da interrupção um caminho novo.
Fazer da queda um passo de dança, do medo uma escada, do sono uma ponte,
da procura um encontro.”*

O Encontro Marcado
Fernando Sabino

NORMATIZAÇÃO ADOTADA

Esta dissertação ou 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.

Sumário

Lista de abreviaturas e siglas

Lista de Tabelas

Lista de Figuras

Lista de Quadros

Resumo

Abstract

| | |
|---|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO | 2 |
| 1.1. O programa de uso racional de antimicrobiano | 4 |
| 1.2. Avaliação do impacto dos programas de uso racional de antimicrobiano | 9 |
| 1.2.1. Desfechos clínicos relacionados aos pacientes | 11 |
| 1.2.2. Desfechos relacionados a consequências não intencionais | 11 |
| 1.2.3. Desfechos relacionados ao consumo e custos de antimicrobianos | 12 |
| 1.2.4. Desfechos relacionados à adesão das ações do programa | 12 |
| 1.3. A participação dos laboratórios de microbiologia nos programas de uso racional de antimicrobiano | 13 |
| 1.3.1. Implantação de testes rápidos para diagnóstico microbiológico | 14 |
| 1.3.2. Espectrometria de massa (EM) por MALDI-TOF | 16 |
| 1.3.3 Painel de detecção de genes de resistência – PCR Multiplex em tempo real | 19 |
| 1.4. Otimização da terapia antimicrobiana | 20 |
| 1.5. Avaliação do consumo do antimicrobiano | 21 |
| 2. JUSTIFICATIVA | 25 |
| 3. OBJETIVOS..... | 28 |
| 3.1. Objetivos primários | 28 |
| 3.2. Objetivos secundário..... | 28 |
| 4. MÉTODOS | 30 |
| 4.1. Local do estudo | 30 |
| 4.2. Tipo e desenho do estudo | 30 |
| 4.3. Critérios de inclusão e exclusão | 30 |
| 4.4. Coleta dos dados | 31 |
| 4.5. Fases do estudo | 33 |
| 4.5.1. 1ª- Fase: Pré- intervenção - Março de 2018 até Maio de 2019 | 33 |
| 4.5.2. 2ª- Fase: Intervenção - Setembro de 2020 até Outubro de 2021 | 34 |
| 4.6. Descrição da análise microbiológica para as fases do estudo | 35 |
| 4.6.1. Identificação bacteriana | 36 |

| | |
|---|-----------|
| 4.6.2. Procedimento para identificação bacteriana pela metodologia de MALDI-TOF direto do frasco da hemocultura | 36 |
| 4.6.3. Procedimento para detecção de genes de resistência por PCR multiplex XGEN MULTI SEPSE LYO FLOW CHIP – HybriSpot HS12 AUTO | 38 |
| 4.6.4. Teste de sensibilidade bacteriana | 42 |
| 4.7. Comunicação dos resultados microbiológicos para o médico pesquisador | 42 |
| 4.8. Desfechos clínicos | 46 |
| 4.9. Desfechos de consumo e custos de antimicrobianos..... | 46 |
| 4.10. Tempo para os resultados de identificação dos micro-organismos e teste de sensibilidade antimicrobiana (<i>turnaround time</i> , TAT)..... | 47 |
| 4.11. Análise estatística | 48 |
| 4.12. Aspectos éticos | 49 |
| 5. RESULTADOS | 51 |
| 5.1. Análise das características demográficas e desfechos clínicos | 52 |
| 5.2. Análise dos genes de resistência - Fase intervenção..... | 56 |
| 5.3. Análise do tempo para processamento das amostras de hemoculturas (<i>turnaround time</i> – TAT)..... | 58 |
| 5.4. Análise de oportunidades para direcionamento da terapia antimicrobiana: escalonamento e descalonamento | 61 |
| 5.5. Análise do consumo e custos de antimicrobianos | 64 |
| 6. DISCUSSÃO | 68 |
| 7. CONCLUSÕES..... | 76 |
| 8. REFERÊNCIAS | 78 |
| 9. ANEXO | 87 |
| Anexo I | 87 |
| Anexo II | 88 |
| Anexo III..... | 91 |

LISTAS

ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-----------|--|
| AIM | Australian imipenemase |
| ANVISA | Agência Nacional de Vigilância Sanitária |
| ASP | <i>Antimicrobial stewardship program</i> |
| ATCC | <i>American Type Culture Collection</i> |
| BGN | Bactéria Gram-Negativa |
| BGN-MDR | Bactéria Gram-Negativa resistentes a múltiplas drogas |
| CDC | <i>Centers for Disease Control and Prevention</i> |
| CDI | infecção por <i>Clostridioides difficile</i> |
| CIM | Concentração inibitória mínima |
| CLSI | <i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i> |
| CVE-SP | Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo |
| COVISA | Coordenadoria de Vigilância em Saúde |
| DIM | Dutch Imipenemase |
| DDD | Dose diária definida |
| DOT | <i>Days of Therapy</i> |
| EM | espectrometria de massa |
| ESBL | <i>Extended-spectrum β-lactamase</i> |
| FDA | <i>Food and Drug Administration</i> |
| GCIH | Grupo de Controle de Infecção Hospitalar |
| HC/FMUSP | Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo |
| ICS | Infecção de corrente sanguínea |
| ICHC | Instituto Central do Hospital das Clínicas |
| IDSA | Sociedade Americana de Doenças Infecciosas |
| HS12A | HS12A: HybriSpot12Auto |
| KPC | <i>Klebsiella pneumoniae carbapenemase</i> |
| MALDI-TOF | <i>Matrix Assisted Laser Desorption Ionization - Time of Flight</i> |
| mPCR | Reação de polimerização em cadeia multiplex |
| MRSA | <i>Staphylococcus aureus</i> meticilino resistentes |

| | |
|------------|--|
| OMS | Organização Mundial de Saúde |
| PCR | Reação de polimerização em cadeia |
| SAPS 3 | Simplified Acute Physiology Score 3 |
| SARS CoV-2 | <i>Severe acute respiratory syndrome</i> coronavírus 2 |
| SCCIH | Subcomissão de Controle de Infecção Hospitalar |
| SHEA | Sociedade Americana de Epidemiologia Hospitalar |
| TAT | <i>turnaround time</i> |
| TSA | Teste de sensibilidade antimicrobiana |
| UTI | Unidade de Terapia Intensiva |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|-------------------|--|----|
| Tabela 1- | Características demográficas, clínicas, laboratoriais e de terapia antimicrobiana dos pacientes incluídos na pré intervenção e intervenção | 53 |
| Tabela 2 - | Frequência de bactérias Gram-negativas isoladas resistentes a carbapenêmicos nas fases pré intervenção e intervenção | 54 |
| Tabela 3 - | Desfechos clínicos nas fases pré intervenção e intervenção | 55 |
| Tabela 4 - | Análise univariada e multivariada dos fatores de risco para mortalidade em 30 dias para pacientes incluídos no estudo (N=216) | 55 |
| Tabela 5 - | Descrição da detecção de genes de resistência em BGN na fase intervenção identificados pelo mPCR (N=51) | 57 |
| Tabela 6 - | Prevalência dos genes de resistência entre os 51 isolados bacterianos na fase intervenção | 58 |
| Tabela 7 - | Intervalo de tempo entre os resultados microbiológicos (TAT, <i>turnaround time</i>) | 59 |
| Tabela 8 - | Momento e conduta para direcionamento do antimicrobiano. Fase pré intervenção. N oportunidades= 142 | 62 |
| Tabela 9 - | Momento e conduta para direcionamento do antimicrobiano. Fase intervenção. N oportunidades = 140 | 63 |
| Tabela- 10 | Consumo de Antimicrobiano baseado em DOT – Dias de Terapia/1.000 dias-presentes* nas fases pré intervenção e intervenção | 65 |
| Tabela 11 | Custo de Antimicrobiano baseado em DOT – Dias de Terapia/1.000 dias-presentes* nas fases pré intervenção e intervenção | 66 |

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|-------------------|---|----|
| Figura 1 - | Descrição da técnica do MALDI-TOF | 17 |
| Figura 2 - | Procedimento para realização do MALDIRETO de frascos de hemocultura | 38 |
| Figura 3 - | Equipamento HS12 AUTO para realização do PCR multiplex direto de frascos de hemocultura | 41 |
| Figura 4 - | Algoritmo para tratamento de bacteremia por BGN baseado em genes de resistência | 44 |
| Figura 5 - | Fluxo de comunicação dos resultados laboratoriais ao médico prescritor durante fase de intervenção | 45 |
| Figura 6 - | Fluxograma de seleção de bacteremias por bactérias Gram-negativas | 52 |
| Figura 7 - | TAT – <i>Turnaround Time</i> (mediana) do processamento das amostras de hemoculturas – Fase pré intervenção e intervenção | 59 |
| Figura 8 - | TAT – Turnaround time (mediana) do processamento das amostras de hemoculturas – Fase pré intervenção | 60 |
| Figura 9 - | TAT – Turnaround time (mediana) do processamento das amostras de hemoculturas – Fase intervenção | 60 |

LISTA DE QUADROS

| | | |
|-------------------|---|----|
| Quadro 1 - | Desfechos analisados pelos programas de uso racional de antimicrobianos | 13 |
|-------------------|---|----|

Resumo

Campos AF. Impacto de um programa de intervenção para uso racional de antimicrobianos associado ao diagnóstico rápido em infecções de corrente sanguínea por bacilos gram-negativos [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2022.

Resumo. A combinação de estratégias para testes de diagnóstico rápido (TDR) com intervenção em tempo real para uso racional de antimicrobianos (ATM) pode melhorar os desfechos em pacientes com infecções de corrente sanguínea (ICS) por bacilos gram-negativos (BGN) em unidades de terapia intensiva (UTIs). O objetivo do estudo foi avaliar o impacto da intervenção de TDR e comunicação rápida em desfechos clínicos e de consumo e custos de antimicrobianos em pacientes com ICS por BGN internados em UTIs. Trata-se de um estudo quase experimental do tipo pré e pós-intervenção realizado nas UTIs do Instituto Central do Hospital das Clínicas (ICHC) durante o período de Março de 2018 a Maio de 2019, período pré intervenção, e de Setembro 2020 a Outubro 2021, período intervenção, sendo incluídos pacientes com ICS por BGN em UTIs. No período pré intervenção foram coletados dados de resultados de testes microbiológicos laboratoriais realizados por metodologia convencional e prescrição do antimicrobiano de forma passiva em prontuário médico eletrônico, sem nenhuma intervenção. No período de intervenção a técnica de *Matrix Assisted Laser Desorption Ionization –Time of Flight* (MALDI-TOF) utilizada para identificação das bactérias passou a ser feita diretamente do frasco da hemocultura positiva, houve comunicação direta do pesquisador com os médicos prescritores para avisar dos resultados microbiológicos (Gram, identificação da espécie e teste de sensibilidade aos antimicrobianos) em tempo real e houve também pesquisa de genes de resistência. A detecção dos genes de resistência foi realizada pela técnica de PCR multiplex através do XGEN MULTI SEPSE FLOW CHIP (Mobius) utilizando o kit para bactérias gram-negativas em associação ao equipamento HybriSpot (HS12 AUTO) diretamente do frasco de hemocultura positivada. Os períodos foram comparados com relação aos desfechos clínicos de mortalidade em 30 dias, tempo de internação hospitalar e na UTI e com relação ao consumo de ATM utilizando-se dias de terapia (DOT) e custos em reais por análise uni e multivariada. Foram incluídos 216 episódios de bacteremia por BGN, sendo 114 no período pré intervenção e 102 no período intervenção. A mediana de idade dos pacientes nos períodos pré intervenção e intervenção foi de 56 anos (41-62) e 59 anos (47-69), $p=0,057$, respectivamente sendo o sexo masculino mais prevalente em ambos os períodos. No período intervenção, os pacientes eram mais graves (SAPS3= 64, IIQ 50-76) e tivemos a prevalência de pacientes infectados pelo SARS-CoV-2 (44%). A origem da maioria dos isolados no período pré intervenção foram provenientes de ICS primárias (50,8%), seguidas de abdominal (14,9%) e do trato respiratório (11,4%). No período de intervenção a origem das ICS foi primária (47,1%), seguida de infecções do trato respiratório (27,5%) e urinárias (8,8%). A *Klebsiella pneumoniae* foi a bactéria mais prevalente para ambos os períodos (43% vs. 32,4%, $p=0,043$) e a distribuição dos patógenos foi semelhante nos dois períodos, exceto pela prevalência significativa maior de *Pseudomonas aeruginosa* no período intervenção (6,1% vs. 21,6%; $p=0,002$). A taxa de Enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos em ambos os períodos foi semelhante, 24,6% vs. 15,7%, $p=0,14$, respectivamente. No período intervenção, *bla_{CTX-M}* foi o gene de resistência mais comumente detectado (68,6%), seguido por *bla_{OXA}* (41,2%) e *bla_{KPC}* (27,4%). O estudo não demonstrou impacto na mortalidade em

30 dias entre o período pré intervenção e intervenção, (25% vs 35%; $p=0,115$), respectivamente. O tempo de permanência no hospital e tempo de permanência na UTI foi significativamente menor no período de intervenção [(44 dias vs. 39 dias; $p=0,005$) e (17 dias vs. 13 dias; $p=0,033$)], respectivamente. Na análise multivariada para fatores de risco relacionados a mortalidade em 30 dias, somente a infecção pelo SARS Cov-2 demonstrou ser variável independente para esse risco (OR= 1,54, IC95% 1,02-2,29; $p=0,036$). O tempo médio de duração da terapia antimicrobiana foi significativamente diferente no período pré e intervenção (9,13 vs. 7,8 dias; $p=0,013$), respectivamente. O tempo para os resultados dos testes microbiológicos (TAT) diretamente do frasco de hemocultura, Gram, MALDI-TOF e teste de sensibilidade, tiveram redução significativa entre os períodos pré e intervenção [(2h43min vs. 1h32min; $p<0,001$), (26h31min vs. 9h31min; $p<0,001$) e 54h14min vs. 48h28min, $p=0,005$], respectivamente]. O consumo geral de antimicrobianos foi de 1.381 DOT/1.000 dias-presentes no período pré intervenção comparado a 1.262 DOT/1.000 dias-presentes no período de intervenção ($p=0,032$). Essa redução do consumo geral foi atribuída ao menor uso de antimicrobianos no tratamento de bactérias gram-positivas e ao menor uso de antimicrobianos da classe dos carbapenêmicos [(475 DOT/1.000 dias-presente vs. 270 DOT/1.000 dias-presente; $p=0,004$) e (836 DOT/1.000 dias-presente vs. 543 DOT/1.000 dias-presente); $p=0,04$], respectivamente. Conclui-se que a intervenção do estudo não demonstrou impacto na mortalidade em 30 dias, muito provavelmente pela presença da infecção pelo SARS CoV-2 no período intervenção e conseqüentemente, maior gravidade dos pacientes, o que pode ter contribuído para não redução da mortalidade. Contudo, houve impacto no tempo de internação hospitalar e na UTI, bem como no consumo e custos de antimicrobianos. Houve também diferenças no TAT com a incorporação do MALDI-TOF realizado diretamente do frasco da hemocultura positiva que deve ser incorporado de maneira rotineira pelos laboratórios que utilizam esta técnica. Todas as ferramentas de uso racional de antimicrobiano baseadas em testes de diagnóstico microbiológico rápido e sua comunicação em tempo real aos médicos prescritores, por agregar valor e informações para uma tomada de decisão segura, são estratégias que resultam em benefícios diretos e indiretos relacionados tanto ao uso racional de antimicrobianos e potencial de menor indução de resistência bacteriana como também ao ônus econômico desta classe de medicamentos.

Descritores: Gestão de antimicrobianos; Testes imediatos; Infecção de corrente sanguínea; Bactérias gram-negativas; Unidades de terapia intensiva; Mortalidade; Tempo de internação; Terapêutica; Consumo de antimicrobianos; Resistência bacteriana.

Abstract

Campos AF. Impact of an antimicrobial stewardship program intervention associated with the rapid identification of microorganisms in patients with gram-negative bacteremia [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina; Universidade de São Paulo”; 2022.

The combination of rapid diagnostic testing (RDT) strategies with real-time intervention for rational use of antimicrobials (ATM) can improve outcomes in patients with bloodstream infections (BSIs) caused by gram-negative bacteria (GNB) in intensive care units (ICUs). The aim of the study was to assess the impact of RDT intervention and rapid communication on clinical and antimicrobial consumption and cost outcomes in patients with BSIs from GNB admitted to ICUs. This is a quasi-experimental study of the pre- and post-intervention type carried out in the ICUs of the Instituto Central do Hospital das Clínicas (IHC) during the period from March 2018 to May 2019, pre-intervention period, and from September 2020 to October 2021, intervention period, including patients with ICS due to BGN in ICUs. In the pre-intervention period, data were collected from the results of laboratory microbiological tests performed by conventional methodology and passively prescribed antimicrobials in electronic medical records, without any intervention. During the intervention period, the *Matrix Assisted Laser Desorption Ionization –Time of Flight* (MALDI-TOF) was performed directly from the positive blood culture bottle with direct and real time communication between the researcher and the prescribing physicians to notify the microbiological results (Gram, species identification and antimicrobial sensitivity test). The detection of resistance genes was performed by the multiplex PCR technique through the XGEN MULTI SEPSE FLOW CHIP (Mobius) using the kit for GNB in association with the HybriSpot equipment (HS12 AUTO) directly from the positive blood culture bottle. The periods were compared with respect to clinical outcomes of 30-day mortality, length of hospital and ICU stay and with respect to ATM consumption using days of therapy (DOT) and costs in reais by univariate and multivariate analysis. A total of 216 episodes of BGN bacteremia were included, 114 in the pre-intervention period and 102 in the intervention period. The median age of patients in the pre-intervention and intervention periods was 56 years (41-62) and 59 years (47-69), $p=0.057$, respectively, with males being more prevalent in both periods. In the intervention period, patients were more severe (SAPS3= 64, IQR 50-76) and we had a prevalence of patients infected with SARS-CoV-2 (44%). The source of most isolates in the pre-intervention period came from primary BSI (50.8%), followed by abdominal (14.9%) and respiratory tract (11.4%). During the intervention period, it was from primary (47.1%), followed by respiratory (27.5%) and urinary tract (8.8%) infections. *Klebsiella pneumoniae* was the most prevalent bacteria for both periods (43% vs. 32.4%, $p=0.043$) and the distribution of pathogens was similar in both periods, except for the significantly higher prevalence of *Pseudomonas aeruginosa* in the intervention period (6.1% vs. 21.6%; $p=0.002$). The rate of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* in both periods was similar, 24.6% vs. 15.7%, $p=0.14$, respectively. In the intervention period, *bla*_{CTX-M} was the most detected resistance gene (68.6%), followed by *bla*_{OXA} (41.2%) and *bla*_{KPC} (27.4%). The

study showed no impact on 30-day mortality between the pre-intervention and intervention periods (25% vs. 35%; $p=0.115$), respectively. Length of hospital stay, and length of ICU stay were significantly shorter in the intervention period [(44 days vs. 39 days; $p=0.005$) and (17 days vs. 13 days; $p=0.033$)], respectively. In the multivariate analysis for risk factors related to 30-day mortality, only SARS Cov-2 infection proved to be an independent variable for this risk (OR= 1.54, 95%CI 1.02-2.29; $p=0.036$). The mean duration of antimicrobial therapy was significantly different in the pre- and intervention period (9.13 vs. 7.8 days; $p=0.013$), respectively. The time for the results of microbiological tests (TAT) directly from the blood culture bottle related to Gram, MALDI-TOF and antimicrobial sensitivity test, had a significant reduction between the pre and intervention periods [(2h43min vs. 1h32min; $p< 0.001$), (26h31min vs. 9h31min; $p<0.001$) and (54h14min vs. 48h28min, $p=0.005$), respectively]. Overall antimicrobial consumption was 1,381 DOT/1,000 present days in the pre-intervention period compared to 1,262 DOT/1,000 present days in the intervention period ($p=0.032$). This reduction in overall consumption was attributed to the lower use of antimicrobials in the treatment of gram-positive bacteria and the lower use of carbapenem-class antimicrobials [(475 DOT/1,000 present days vs. 270 DOT/1,000 present days; $p= 0.004$) and (836 DOT/1,000 present days vs. 543 DOT/1,000 present days); $p=0.04$], respectively. It is concluded that the intervention proposed in this study showed no impact on 30-day mortality, most likely due to the presence of SARS CoV-2 infection in the intervention period and, consequently, greater severity of patients, which may have contributed to the non-reduction of mortality. However, there was an impact on hospital and ICU length of stay, as well as on antimicrobial consumption and costs. There were also differences in TAT with the incorporation of MALDI-TOF performed directly from the positive blood culture bottle, which must be routinely incorporated by laboratories that use this technique. All antimicrobial rational use tools based on RDTs and their communication in real time to prescribing physicians, by adding value and information for safe decision making, are strategies that result in direct and indirect benefits related to both the use rational use of antimicrobials and the potential for lower induction of bacterial resistance as well as the economic burden of this class of drugs.

Descriptors: Antimicrobial stewardship; Point-of-care testing; Bloodstream infection; Gram-negative bacteria; Intensive care units; Mortality; Length of stay; Therapeutics; Antimicrobial consumption; Drug resistance.

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

As infecções de corrente sanguínea (ICS) por bactérias gram-negativas e *Candida spp.* estão associadas a altas taxas de morbidade e mortalidade em pacientes internados, apesar dos avanços na terapia antimicrobiana e de cuidados em terapia intensiva ¹.

Desde 1998, estudos vêm demonstrando altas taxas de mortalidade associada a terapias antimicrobianas inapropriadas. Em um estudo realizado por Leibovici *et al.* demonstrou-se taxas de mortalidade em pacientes com infecções graves da corrente sanguínea tratados com terapia antimicrobiana não apropriada e apropriada de 34% e 20%, respectivamente, com diferença estatística significativa ².

Segundo o CDC (*Centers for Diseases Control and Prevention*), em 2013, aproximadamente 1/3 dos pacientes hospitalizados e mais de 2/3 dos pacientes em unidades de terapia intensiva receberam tratamento antimicrobiano em algum momento da internação. Metade dos regimes de antimicrobianos prescritos nessas unidades não foram necessários ou estavam inapropriadamente prescritos ^{3, 4}.

Atualmente, guias internacionais e nacionais de tratamento empírico de ICS adquiridas em ambiente hospitalar recomendam terapia combinada de antimicrobianos de amplo espectro para o tratamento inicial de pacientes sob risco de adquirir infecções graves. Diversos estudos demonstraram a criticidade de administração oportuna de antimicrobianos em pacientes com choque séptico, resultando em uma redução de 7,6% na sobrevivência dos pacientes a cada hora de atraso do início da terapia ^{5, 6}. Neste cenário, a otimização da terapia antimicrobiana configura um grande desafio, particularmente em pacientes em que a administração antimicrobiana dentro das primeiras horas de reconhecimento de sepse é fundamental, e, um diagnóstico precoce da ICS, é essencial para a instituição de uma terapia adequada.

Se por um lado, a escolha precoce desses antimicrobianos de amplo espectro pode melhorar a sobrevivência de pacientes críticos, por outro, o uso dessas drogas pode, potencialmente, exercer pressão seletiva e contribuir para surgimento indesejado de agentes infecciosos resistentes ⁷. O uso indiscriminado dos antimicrobianos tem sido fortemente correlacionado ao desenvolvimento da resistência bacteriana. Dessa forma, cada vez mais a decisão da prescrição empírica de antimicrobianos requer um balanço entre as consequências do uso indiscriminado de antimicrobianos de amplo espectro (custo, efeitos colaterais e impacto na emergência de resistência), e a possibilidade de cobertura *in vitro* do provável patógeno causador da infecção, avaliada através de resultados de testes de sensibilidade antimicrobiana ².

Ademais, as taxas de resistência aos antimicrobianos entre patógenos causadores de ICS hospitalares estão aumentando, principalmente entre bactérias Gram-negativas como a *Pseudomonas aeruginosa*, o *Acinetobacter baumannii* e a *Klebsiella pneumoniae* ⁸. O aumento destas infecções em pacientes críticos, também é um problema cada vez mais frequente nessas unidades, e, esse aumento, pode estar associado ao uso prolongado de antimicrobianos de amplo espectro.

No Brasil, dados da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) de 2015 revelaram que, entre as bactérias gram-negativas isoladas nas hemoculturas de pacientes adultos em unidade de terapia intensiva, houve altas taxas de resistência aos carbapenêmicos, com porcentagens crescentes ano a ano. Nesse ano, a taxa de resistência aos carbapenêmicos foi relatada em 77,4% para *Acinetobacter spp.*, em 39,1% para *Pseudomonas aeruginosa* e em 43,3% para *K. pneumoniae* ⁹.

No Estado de São Paulo, os dados de 2019 do Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado (CVE-SP) demonstraram uma incidência de 49% de bactérias gram-negativas, 39% de bactérias gram-positivas e 12% de *Candidas spp* para as ICS em unidades de terapia intensiva adultas. O mais preocupante é que 86% dos isolados de *Acinetobacter baumannii* e 49,4% das *Klebsiella pneumoniae* apresentaram fenótipo de resistência a carbapenêmicos¹⁰.

No Instituto Central do HC-FMUSP a introdução de cepas produtoras de enzimas da classe das carbapenemases é um problema que vem aumentando consideravelmente nas unidades de terapia intensiva. Em 2019, a taxa de resistência fenotípica aos carbapenêmicos entre *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa* isolados em ICS nas unidades de terapia intensiva em adultos do ICHC foi de 83%, 41% e 27%, respectivamente (dados não publicados).

Em 2017, a Organização Mundial de Saúde publicou uma lista de agentes bacterianos prioritários resistentes a múltiplos antimicrobianos e chamou atenção da importância de os hospitais no mundo todo implementarem e fortalecerem programas que busquem promover o uso adequado dos antimicrobianos na prática clínica, principalmente, em locais onde há altas taxas de incidência micro-organismos resistentes. Tais programas são conhecidos mundialmente como “*antimicrobial stewardship*” e têm como foco oferecer uma terapia antimicrobiana adequada ao paciente, sem, contudo, expô-lo ao subtratamento ¹¹. A Sociedade Americana de Doenças Infecciosas (IDSA) define amplamente esses programas de uso racional de antimicrobianos (*antimicrobial stewardship program*, ASP) como o conjunto de medidas sistemáticas relacionadas à escolha desses medicamentos com objetivo de alcançar bons resultados na assistência médica dos pacientes ¹¹.

Os programas de uso racional de antimicrobianos são geralmente complexos, e seus componentes e intervenções algumas vezes compartilham com outros programas de melhorias de qualidade em saúde ¹².

1.1. O programa de uso racional de antimicrobiano

Entende-se como programa de uso de antimicrobianos o conjunto de ações destinadas a orientar a prescrição, a dispensação e a administração dos antimicrobianos, contemplando adoção de protocolos de prevenção, diagnóstico e tratamento das infecções, medidas intervencionistas, educação

dos profissionais de saúde e pacientes e processos de assessoria e de monitoramento do uso de antimicrobianos ¹³.

Em 2016, as Sociedades Americanas de Doenças Infecciosas (IDSA) e de Epidemiologia Hospitalar (SHEA) em última revisão do guia implementação do programa de uso apropriado de antimicrobianos, recomendaram a auditoria prospectiva com intervenção e *feedback* nas unidades assistenciais por médicos infectologistas controladores do uso desses medicamentos como uma das estratégias mais importantes para reduzir o uso inapropriado de antimicrobianos em hospitais ¹¹.

Os principais objetivos desses programas de acompanhamento e monitorização do uso de antimicrobianos no ambiente hospitalar baseiam-se na tentativa de limitar algumas consequências indesejadas com o seu uso indiscriminado, tais como: emergência de resistência microbiana, eventos adversos relacionados ao uso incorreto de doses desses fármacos, seleção de micro-organismos patogênicos (por exemplo, infecção por *Clostridioides difficile*) e aumento de custos médicos hospitalares ¹⁴⁻¹⁶.

Inicialmente esses programas de gestão de antimicrobianos surgiram da necessidade de reduzir gastos com antimicrobianos e depois foram ganhando mais objetivos, estratégias diferentes e desfechos que são desejáveis, tanto do ponto de vista clínico e econômico, quanto do impacto no perfil de resistência dos micro-organismos. É fato que o surgimento da resistência antimicrobiana coincide com o aumento do consumo de antimicrobianos ⁴, e, neste sentido, uma das abordagens para combater este problema é o desenvolvimento de programas de gerenciamento de uso dos antimicrobianos.

Idealmente, o programa deve ter a participação de equipe multidisciplinar com no mínimo três representantes: um médico infectologista, um farmacêutico clínico com treinamento em doenças infecciosas, e um funcionário do laboratório de microbiologia clínica ^{14, 17, 18}.

Sob o ponto de vista da funcionalidade, as instituições hospitalares são livres para adequar o programa às suas maiores necessidades e assim

focarem suas atividades em alguns dos seus objetivos. Isso significa que, se o maior problema de um hospital está relacionado ao custo excessivo e uso inapropriado desses medicamentos, ações desenvolvidas para restringir e orientar o uso mais adequado serão prioritárias ¹⁷. Entretanto, o uso apropriado com a restrição do espectro de ação de um medicamento orientado pelo médico do programa, não necessariamente, poderá repercutir em redução de custos.

Cosgrove *et al.* ¹⁴ publicaram em 2014 um guia descrevendo detalhadamente vários conhecimentos e habilidades que os membros líderes do programa deveriam apresentar sendo todos focados em intervenções para melhorar e medir o uso apropriado de antimicrobianos. Neste cenário de atuação coordenada dos membros da equipe multidisciplinar que compõe o grupo de gerenciamento dos antimicrobianos, chama atenção o papel do farmacêutico clínico por contribuir para implementação dos indicadores dos processos de adesão das auditorias de uso dos antimicrobianos instituídos pelo programa, e do microbiologista clínico que, através da liberação dos resultados laboratoriais, fornecem informações específicas que contribuem para a tomada de decisão propostas na visitas de auditoria e ajuste da terapia antimicrobiana sugerida pelo grupo ao longo do tratamento.

De fato, como estratégia de desencorajar o uso desnecessário ou incorreto dos antimicrobianos, os programas podem criar formulários de restrição físicos ou eletrônicos e auditorias prospectivas com *feedback* para orientar e assegurar o adequado uso desses medicamentos ^{7, 17, 19, 20}.

Os formulários de restrição devem conter informações relevantes que justifiquem a solicitação do médico prescritor, e, a partir daí, inicia-se o processo de avaliação e auditoria pelos médicos controladores do uso desses medicamentos.

As auditorias do tipo pré prescrição baseiam-se na estratégia de melhoria no uso do antimicrobiano por inserir a necessidade de uma autorização para o uso de certos antimicrobianos antes da prescrição médica.

Portanto, por fazer um controle mais restrito do uso de alguns antimicrobianos esta auditoria pode induzir um controle mais direto sobre o uso destes antimicrobianos com redução imediata do uso e custos associados ¹¹.

O que se institui com essa auditoria de pré prescrição é um imediato desestímulo ao médico prescritor do uso de medicamentos desnecessários na terapia inicial pelo fato de introduzir uma barreira e estabelecer a necessidade de justificar, por meio da pré autorização, o tratamento empírico ao médico do programa de uso racional de antimicrobianos. Apesar de eficaz, este tipo de auditoria pode levar a uma perda de autonomia do prescritor devido a necessidade da pré autorização e provocar, em contra partida, o aumento do uso de outros antimicrobianos alternativos para o tratamento ²¹.

Na auditoria de pós prescrição ou prospectivas, preferivelmente, a primeira avaliação do antimicrobiano pelo médico especialista do programa de uso apropriado de antimicrobianos deveria iniciar-se em até 24 horas após a prescrição. Entretanto, na maioria dos centros médicos que não dispõem de testes rápidos de detecção microbiológica, nesta primeira avaliação não estarão prontos os resultados de cultura e/ou de teste de sensibilidade específico do micro-organismo ¹⁷. Desta forma, uma segunda avaliação do médico do programa deverá ser feita quando esses resultados estiverem prontos. O objetivo dessa segunda avaliação seria o de otimizar a terapia antimicrobiana direcionada ao tratamento específico do(s) agente(s) isolado(s) baseando-se no resultado do teste de sensibilidade antimicrobiana. É nesse momento que o médico do programa poderá reduzir o número ou o espectro de ação do antimicrobiano (descalonamento) caso não haja isolamento de micro-organismos resistentes, ou optar por drogas com menor custo ou menor efeito adverso ao paciente, ou até mesmo substituir por uma terapia oral após isolamento do agente sensível inicialmente em tratamento por via parenteral, se as condições clínicas do paciente permitirem ¹⁷. Todas essas decisões de otimização da terapia antimicrobiana pelos médicos do programa requerem reavaliação detalhada e judiciosa do histórico de tratamentos anteriores realizados, assim como experiência e conhecimento teórico sobre os micro-organismos isolados e perfil de sensibilidade aos antimicrobianos. Quanto

maior a porcentagem de descalonamentos apropriados maior será o impacto e sucesso das ações do realizadas pelo programa de uso racional de antimicrobiano ²².

Uma consideração importante da auditoria prospectiva é avaliar quão eficiente, rápida e confiável é a comunicação dos resultados do laboratório de microbiologia ao médico do programa de uso racional de antimicrobiano ao médico prescritor. Neste caso, o uso de sistemas informatizados para transferência rápida dessas informações aos médicos do programa e aos prescritores, além de facilitar a comunicação rápida dos resultados dos exames microbiológicos pelo laboratório, orientam as discussões e decisões quanto a melhor opção terapêutica e conseqüente uso racional do antimicrobiano ¹⁷.

As auditorias prospectivas e *feedback* presenciais entre a equipe do programa de uso racional de antimicrobianos e a equipe médica prescritora proporciona confiança e aumenta a troca de informações e maior conhecimento de detalhes da condição crítica dos doentes. Os trabalhos demonstram que essa atitude tem impacto na mudança de comportamento da prescrição dos antimicrobianos por parte dos prescritores, já que a aceitação das recomendações dos médicos do programa por eles é geralmente voluntária ¹⁷.

Entretanto, ainda existem barreiras para aumento de aceitação das recomendações de tratamento propostas nas auditorias de antimicrobianos realizadas pelo programa. Há médicos que não estão interessados em reduzir o número/espectro do antimicrobiano, apesar de resultados baseado em antibiograma sugerir tal possibilidade. Outro motivo seria por falta de segurança da troca do antimicrobiano em pacientes graves que estão evoluindo bem pela equipe médica assistente que opta por manter o uso de esquemas de tratamento com amplo espectro de ação ainda que desnecessariamente sem evidência microbiológica do agente infeccioso em tratamento ¹.

Alguns antimicrobianos de uso mais crítico, a depender do perfil de resistência dos micro-organismos de cada instituição, podem necessitar de maior restrição de uso. Nesse sentido, os profissionais médicos do programa de uso racional de antimicrobianos deveriam estar envolvidos também em programas de controle de infecção hospitalar, a fim de conhecer o perfil institucional de micro-organismos resistentes para orientar a melhor escolha do antimicrobiano e contribuir na melhor escolha do antimicrobiano durante essas auditorias ^{14, 17}.

1.2. Avaliação do impacto dos programas de uso racional de antimicrobiano

Embora desde 2007 muitas instituições de saúde nos Estados Unidos já tenham implementado o programa de uso racional de antimicrobianos, a avaliação do impacto dos mesmos tem sido um desafio. Ainda não há consenso sobre qual seriam os melhores desfechos alcançados por esses programas que demonstrem a sua real eficácia na prática assistencial ¹¹.

Em 2011, a Sociedade Americana de Doenças Infecciosas (IDSA), realizou uma pesquisa de avaliação do impacto desse programa sob perspectiva do médico clínico e da administração hospitalar. A grande maioria dos administradores hospitalares (83%) ressaltou a importância da evidência de economia de custos, enquanto 63% a 72% dos médicos estavam mais focados nos resultados do paciente, citando reduções na infecção por *Clostridioides difficile* (CDI), em eventos adversos e em taxas de resistência como os mais importantes indicadores para justificar a instituição de um programa de uso racional de antimicrobianos. Em outra pesquisa, médicos e farmacêuticos classificaram a adequação de uso antimicrobiano, a redução da mortalidade relacionada à infecção e do tempo de permanência hospitalar como métricas de maior importância para demonstrar o impacto de um programa de uso racional de antimicrobiano ¹⁵.

Os benefícios associados com a possibilidade do uso apropriado da terapia antimicrobiana têm indicado redução de custos, diminuição de eventos adversos relacionados a essas drogas, e, mesmo que com evidência fraca, a associação da diminuição da pressão seletiva com redução do risco de desenvolvimento de resistência bacteriana e surgimento de micro-organismos multirresistentes ²³. Embora existam publicações que não demonstraram impacto na redução das taxas de resistência antimicrobiana, a tendência geral dos estudos demonstrou que a implementação de programas de uso apropriado de antimicrobianos levaram também a redução de resistência ^{12, 18}.

Ainda no que diz respeito à economia de custos relacionados a gastos com antimicrobianos desnecessários como forma de avaliar o impacto do programa, o ideal é que a mensuração dessa economia seja atribuída não somente a gastos diretamente relacionados à compra de antimicrobianos, mas também à redução de custos agregados a um controle mais rápido da infecção e menor tempo de permanência hospitalar, ou seja, com economia nos custos totais relacionados com cuidados à saúde com a implementação do programa^{12, 15}.

Os resultados do estudo realizado por Bantar *et al.*⁽¹⁹⁾ demonstraram que a elaboração de um programa de uso racional de antimicrobianos por uma equipe multidisciplinar composta de médico, farmacêutico e microbiologista clínico efetivamente comprometidos com os objetivos do programa foi uma estratégia custo-efetiva simplesmente por adequar o uso desses medicamentos. Os autores ressaltam que o impacto do programa foi evidente na redução de prescrição dos antimicrobianos e no perfil de resistência de algumas bactérias eleitas para estudo durante as fases de intervenção, independentemente de qualquer prática adicional de controle de infecção hospitalar instituída no período ^{12, 15, 19, 24}. Sabe-se que o uso de antimicrobiano, por si só, pode ser um fator de risco para emergência de resistência, entretanto, a demonstração dessa associação causal é ainda um desafio ²⁵.

Diante da dificuldade de estabelecer a importância do programa e a necessidade de criar uma abordagem padronizada para avaliar o seu impacto entre hospitais, um grupo de especialistas com membros do Canadá e dos Estados Unidos ^{1,5} identificaram quatro métricas para avaliar o desempenho do programa baseando-se em indicadores de processo e de resultado, a saber.

1.2.1. Desfechos clínicos relacionados aos pacientes

Os resultados dos estudos que documentam um impacto positivo das intervenções do programa de uso apropriado de antimicrobianos relacionados à desfechos clínicos são limitados ²⁶. As métricas sugeridas para essa avaliação são: o tempo de permanência hospitalar relacionado ao uso do antimicrobiano em uma unidade, a taxa de readmissão na unidade no período de 30 dias, a resposta clínica com o antimicrobiano de uso apropriado, a taxa de mortalidade e/ou taxa de mortalidade relacionada a infecção por micro-organismos resistentes ¹⁵.

1.2.2. Desfechos relacionados a consequências não intencionais

A redução de consequências não desejadas com o uso inapropriado de antimicrobianos tais como eventos adversos relacionado a essas drogas, CDI e emergência de resistência antimicrobiana são objetivos de grande importância para os programas. Alguns estudos demonstraram que intervenções com mudança da prescrição de antimicrobianos estiveram associadas à diminuição de CDI, à redução e também de bactérias Gram-negativas resistentes, *Staphylococcus aureus* metilino resistentes (MRSA) e enterococos vancomicina resistentes. Este desfecho é considerado ser de difícil mensuração dada a falta de infraestrutura de alguns laboratórios de microbiologia para capturar dados de resistência bacteriana, ou, até mesmo, necessidade de tempo maior para que haja detecção de tal mudança ¹⁵.

1.2.3. Desfechos relacionados ao consumo e custos de antimicrobianos

São bastante utilizados para avaliar o impacto do programa pois os resultados são, aparentemente, fáceis de mensurar. Além disso, reduções de custos com menor uso de antimicrobianos desnecessários, mesmo não tendo maior importância que objetivos que priorizam melhorias na assistência do paciente, é, sem dúvida, o de maior interesse para os administradores hospitalares ²⁷. Existem duas medidas principais para avaliar o consumo de antimicrobianos: a dose diária definida (DDD) e número de dias de tratamento antimicrobiano (DOT) ¹¹.

1.2.4. Desfechos relacionados à adesão das ações do programa

A mensuração da aceitação das recomendações do programa de uso racional de antimicrobianos na rotina médica é uma importante estratégia para avaliar a adesão aos mesmos por determinar quais ações podem ou não estar associadas a um dado resultado. Os estudos demonstram algumas medidas de processo factíveis de serem coletadas tais como: mudanças na decisão de prescrição de um antimicrobiano, na escolha da droga, na dosagem, na via de administração ou nos intervalos da dose, na duração do tratamento, na adesão das recomendações de prescrições institucionais, e na aceitação de sugestões e mudanças no início da terapia otimizada orientada pelo médico do programa⁽¹³⁾. A tabela abaixo resume os desfechos que podem ser analisados por um programa de *stewardship* de antimicrobianos.

Quadro 1 - Desfechos analisados pelos programas de uso racional de antimicrobianos

| Desfechos clínicos | Desfechos relacionados a consequências não intencionais | Desfechos econômicos consumo e custos de antimicrobianos | Desfechos processos relacionados à adesão das ações do programa |
|--|--|---|---|
| Tempo de permanência hospitalar | Taxa de infecção por <i>Clostridioides difficile</i> | Dose diária definida (DDD) | Mudanças na decisão de prescrição de um antimicrobiano (escalonamento ou descalonamento) |
| Taxa de readmissão na unidade em 30 dias | Incidência de bactérias gram negativas resistentes | Dias de terapia(DOT) | Taxa de aceitação das recomendações do médico do programa relacionados à: agente, dose, via de administração e tempo de uso |
| Resposta clínica ao ATM de uso apropriado | Incidência de <i>Staphylococcus aureus</i> metilino resistentes (MRSA) | Duração da terapia(LOT) | Taxa de adesão aos guias terapêuticos institucionais de prescrições de antimicrobianos |
| Taxa de mortalidade relacionada a infecção | Incidência de Enterococos resistentes a vancomicina (VRE) | Dias livres de terapia antimicrobiana | Tempo para início da terapia orientada pelo médico do programa |
| Taxa de mortalidade relacionada a infecção por MDR | Incidência de eventos adversos relacionados ao uso de ATM | | |

FONTE: Adaptação de Dodds Ashley e colaboradores ¹⁵

1.3. A participação dos laboratórios de microbiologia nos programas de uso racional de antimicrobiano

Os médicos clínicos procuram três informações básicas provenientes do laboratório de microbiologia: primeiramente, se o paciente está infectado, se sim, com qual micro-organismo, e, finalmente, com o que droga devemos tratar ²⁸.

Não há dúvidas de que um atributo essencial no manejo das doenças infecciosas é o isolamento e identificação do micro-organismo ⁵. Nesse sentido, o laboratório de microbiologia clínica tem papel importante, pois permite isolar e identificar os patógenos causadores de infecções e determinar sua sensibilidade aos antimicrobianos, viabilizando a adequação da terapia

antimicrobiana, quase sempre prescrita empiricamente, no manejo das infecções ¹³. A maioria das técnicas microbiológicas padrões utilizadas em laboratórios de microbiologia na identificação de micro-organismos ainda são baseadas em métodos fenotípicos e exigem 48-72 horas para fornecer resultados finais.

Do intervalo de tempo que decorre desde a coleta da amostra clínica, identificação do micro-organismo e a sua determinação quanto ao perfil de suscetibilidade antimicrobiana, uma terapia antimicrobiana empírica e ampla visando alcançar o tratamento eficaz, e, assim reduzir a morbimortalidade atribuída a infecção dos pacientes, é prontamente iniciada ²⁸.

Atualmente, com a incorporação das novas tecnologias de diagnóstico rápido por laboratórios de microbiologia no mundo, os médicos do programa de uso racional de antimicrobianos podem utilizar dessas informações e rapidamente orientar o direcionamento a terapia antimicrobiana escolhida pelo médico prescritor. Os trabalhos demonstraram que as informações rápidas e precisas do isolamento e da identificação de patógenos hospitalares provenientes de laboratórios de microbiologia que implementaram em suas rotinas tais ferramentas diagnósticas, reduziram o tempo para que médico do programa otimizasse a terapia antimicrobiana ²⁷.

O uso de técnicas rápidas de diagnóstico microbiológico e de vigilância contínua das culturas de espécimes clínicos associados à comunicação amigável do perfil de sensibilidade dos micro-organismos e atualização do antibiograma pelos laboratórios de microbiologia têm se tornado estratégias eficazes que podem contribuir para evitar o uso de múltiplos antimicrobianos empiricamente na prática clínica hospitalar ²⁹.

1.3.1. Implantação de testes rápidos para diagnóstico microbiológico

Os laboratórios de microbiologia têm introduzido novas técnicas laboratoriais rápidas, tais como a espectrometria de massa por meio do MALDI-

TOF e biologia molecular por detecção da presença de ácido nucleico bacteriano em painéis multiplex de Reação de Polimerização em Cadeia (mPCR) capazes de identificar o micro-organismo responsável pela infecção e detectar alguns genes de resistência em curto período de tempo ²⁸.

Essas técnicas também têm sido padronizadas e realizadas com suficiente reprodutibilidade com métodos convencionais da identificação do patógeno diretamente do balão de hemocultura.

De fato, os resultados dos testes rápidos diagnósticos podem contribuir para abreviar o tempo de tomada de decisão de direcionamento da terapia empírica baseado na identificação rápida do patógeno e/ou pela detecção de genes de resistência tornando a escolha mais segura e aceita pelos médicos prescritores.

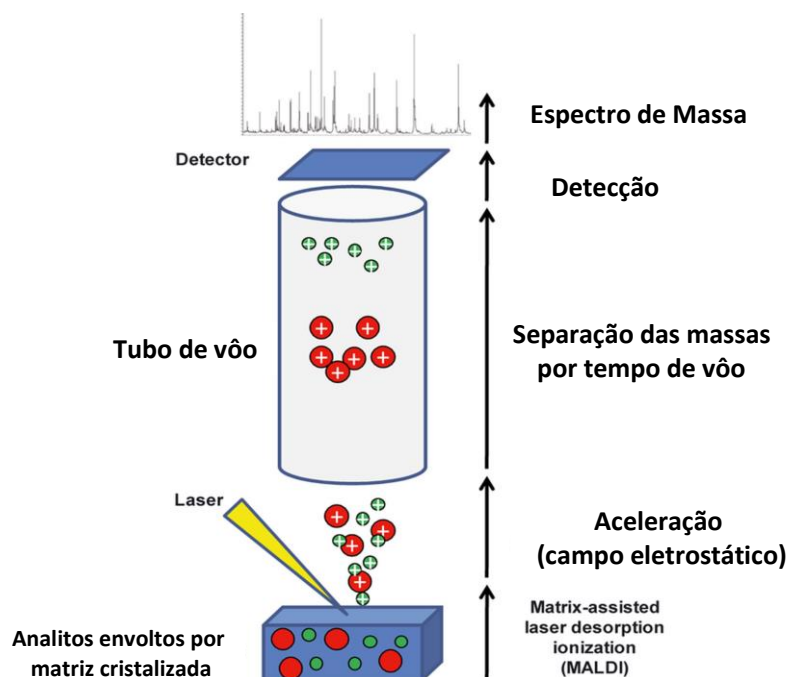
No mesmo conceito teórico relacionado ao uso racional de antimicrobianos, as sociedades médicas vêm introduzindo um outro conceito semelhante quando se faz referência ao uso adequado dos testes rápidos de diagnóstico microbiológico, conhecido como “*diagnostic stewardship*” ²⁸.

Com o uso racional dos testes rápidos diagnósticos, o que se pretende é garantir a utilização da melhor técnica diagnóstica, seja por meio de biologia molecular ou por outras metodologias, o uso do recurso para os pacientes mais indicados e sobretudo aqueles com infecção por bactérias resistentes no teste convencional de sensibilidade fenotípica, e, por fim, a utilização destes testes rápidos no melhor cenário epidemiológico local, como por exemplo, para hospitais em que há alta taxa de resistência bacteriana documentada. Soma-se também a importância da entrega do resultado e a interpretação destes testes para os médicos prescritores em tempo hábil para influenciar na tomada de decisão médica e ajuste da terapia antimicrobiana empírica, e, assim promover o efetivo impacto decorrente da incorporação dessas novas técnicas na rotina médica assistencial ³⁰.

1.3.2. Espectrometria de massa (EM) por MALDI-TOF

Existem vários testes para diagnóstico rápido das infecções comercialmente disponíveis para a identificação de micro-organismos. Um deles é a espectrometria de massa (EM) por MALDI-TOF. O uso da tecnologia surge como uma nova ferramenta laboratorial de diagnóstico rápido do agente infeccioso identificado podendo ser realizada diretamente de hemoculturas colhidas contribuindo para diminuir o tempo de liberação dos resultados (*turnaround time*) de forma expressiva ³¹. A técnica é baseada na Ionização/Dessorção de Matriz Assistida por Laser – MALDI-TOF (sigla do inglês, *Matrix Assisted Laser Desorption Ionization- Time of Flight*), que utiliza células bacterianas inteiras, lisados celulares ou extratos bacterianos nos quais biomarcadores moleculares, geralmente peptídeos ou proteínas ribossômicas são detectados ^{23, 31-33}.

Essa técnica começou a ser utilizada para análise de proteínas em 2002 por Koichi Tanaka, um dos vencedores do prêmio Nobel de química. Inicialmente, a amostra é embebida em uma matriz ácida capaz de fornecer prótons para o processo de ionização dos componentes da amostra. Ocorre uma co-cristalização da amostra com essa matriz e um feixe de laser serve como fonte de dessorção (fenômeno de retirada de substâncias adsorvidas ou absorvidas por outras) e de ionização. O feixe de laser é irradiado sobre a mistura amostra/matriz, e a energia é absorvida pela matriz. Há uma transferência de prótons da matriz para a amostra ionizando as moléculas e ao mesmo tempo é desencadeado o processo de dessorção, possibilitando a passagem da amostra para o estado gasoso. Os íons formados são acelerados por meio de um campo elétrico dentro de um tubo de vácuo e individualmente analisados por um analisador geralmente do tipo TOF (tempo-de-vôo), e posteriormente, detectados pelo detector. Os analitos separados por TOF formam espectros de massa de acordo com sua razão m/z (massa/carga) e os picos indicam quantidades variáveis de cada substância analisada. Para identificação dos analitos, cada pico é comparado com um banco de dados, arquivo contendo as impressões digitais das moléculas e micro-organismos gerando um espectro que é característico de cada espécie ^{32, 33}.



Fonte: Adptado de Croxatto e colaboradores, 2012 ³²

Figura 1 - Descrição da técnica do MALDI-TOF

Foi demonstrado que quando comparado o MALDI-TOF com provas bioquímicas automatizadas ou outros métodos, a exatidão obtida foi entre 98 e 99% para as espécies analisadas ³³. A concordância do exame com o método convencional de cultura é >90% para bactérias gram-negativas e de aproximadamente de 80% para bactérias gram-positivas ³⁴. Essa técnica possui várias vantagens como a utilização de células intactas de micro-organismos (também designada ICM-MS, *intact cell* MALDI-TOF) que podem ser obtidas diretamente do frasco de hemocultura ou do meio de cultivo. A análise produz um espectro de proteínas típicas de cada espécie, o que funciona como uma impressão digital (*"finger printing"*), que pode ser comparado aos espectros previamente identificados e depositados em banco de dados ^{32, 33}.

A integração do MALDI-TOF no fluxo da rotina dos laboratórios de microbiologia diminui o tempo de identificação do micro-organismo em 1,2 a 1,5 dias comparados a métodos convencionais ¹. Esses testes microbiológicos rápidos quando incorporados na rotina são considerados "aceleradores de resultados" e representam grande avanço no manejo das doenças infecciosas⁵.

Huang *et al.* demonstraram que, aliar a informação precoce de identificação do patógeno diretamente de hemocultura por MALDI-TOF pelos médicos do programa de controle de antimicrobianos aos médicos prescritores, reduziu a mortalidade de 20,3% para 14,5% em casos de infecção de corrente sanguínea ¹.

Um estudo realizado por Perez *et al.* demonstrou que, a média de tempo necessário para a identificação do agente em cultura e liberação dos resultados dos testes de sensibilidade, foi bem menor que no grupo que utilizou o MALDI-TOF (24,4 horas x 47,1 horas, $p < 0,001$). Os autores concluíram que, o uso da terapia antimicrobiana orientada por resultados mais precoces de identificação e sensibilidade do agente infeccioso associou-se à desfechos clínicos de melhor assistência ao paciente como menor tempo de permanência hospitalar e diminuição de mortalidade, além de redução de custos médicos hospitalares ^{23,66}.

Um estudo realizado por Tamma *et al.* demonstrou que a escolha do tratamento antimicrobiano baseado em resultados de identificação do agente infeccioso ao nível da espécie pelo MALDI-TOF conseguiu, por si só, reduzir o tempo para início da terapia antimicrobiana otimizada em 29% (n=64) dos pacientes. Ademais, no grupo de pacientes em que o resultado do MALDI-TOF foi orientado pelos médicos do programa de controle de antimicrobianos aos médicos prescritores, essa redução conseguiu ser ainda maior: 45% (n=99) dos pacientes tiveram redução do início da terapia antimicrobiana otimizada, sendo essa diferença estaticamente significativa entre os dois grupos ($p=0,001$) ³⁵.

De fato, os testes rápidos de identificação dos agentes infecciosos são de pouco valor se os médicos responsáveis pelo programa de uso adequado de antimicrobiano em hospitais não realizarem um efetivo papel de orientar e educar prontamente os resultados aos médicos prescritores na assistência médica rotineira ^{5, 19}.

1.3.3 Painel de detecção de genes de resistência – PCR Multiplex em tempo real

Novos métodos de ensaios moleculares estão sendo constantemente desenvolvidos em laboratórios de microbiologia como alternativas rápidas aos métodos convencionais baseados em cultura em meio sólido do micro-organismo. Estudos envolvendo métodos de Reação de Polimerização em Cadeia (PCR) são realizados diretamente de amostras de sangue para identificação de patógenos e de seus genes de resistência sem necessitar do período de incubação para isolamento do micro-organismo em meio sólido.

Neste contexto, a PCR representa a técnica mais utilizada no diagnóstico molecular de micro-organismos, pois possui a capacidade de replicação de DNA, mesmo que este em pequenas quantidades. A metodologia requer em primeiro lugar, a identificação de pelo menos parte do DNA alvo, com auxílio de iniciadores ou sondas, que hibridizam especificamente com a sequência alvo.

Os testes moleculares rápidos baseados em PCR multiplex (mPCR) para detecção de genes e mecanismos de resistência são acurados e podem positivamente impactar na redução do tempo gasto para o direcionamento da terapia empírica antimicrobiana em pacientes, sendo ferramenta importante principalmente para adequação mais rápida da terapia de pacientes graves com ICS em UTIs. Entretanto, pouco se sabe do efeito específico dessas novas tecnologias sobre a mortalidade e tempo de permanência hospitalar ³⁴.

Estudos mais robustos utilizando os testes rápidos moleculares com maior número de pacientes e em populações com altas taxas de genes de resistência necessitam ser desenvolvidos para demonstrar associação de benefícios clínicos. Além disso, faz-se necessário avaliar a performance dos resultados desses testes combinado ao programa de uso racional de antimicrobiano que permite a comunicação rápida e efetiva desses resultados aos médicos prescritores ³⁰. A semelhança com as outras metodologias, os testes laboratoriais de diagnósticos rápidos baseados em PCR terão pouco

valor e aplicação se o programa de uso racional não atuar de forma estruturada para garantir a entrega e interpretação dos resultados diretamente para os médicos prescritores para influenciar na escolha dos antimicrobianos, a fim de garantir o adequado uso desse recurso.

Não há dúvida de que a introdução de técnicas moleculares na medicina diagnóstica e sua aplicação no diagnóstico de doenças infecciosas estabelecem uma nova era na detecção e caracterização de micro-organismos na rotina de processamento de amostras clínicas.

1.4. Otimização da terapia antimicrobiana

O conceito de otimização da terapia antimicrobiana consiste na mudança de uma terapia empírica, prescrita quase sempre sem o conhecimento definitivo do agente infeccioso causal e pautada na ampla utilização de antimicrobianos para cobertura de prováveis micro-organismos envolvidos na infecção, para uma terapia guiada, com redução e/ou retirada do antimicrobiano ou ampliação do espectro/associação de drogas para alguns micro-organismos improváveis ou prováveis após conhecimento de dados clínicos ou microbiológicos da infecção ³⁶.

Goh Ohji ³⁶ definiu o descalonamento da terapia empírica como a prática da mudança da prescrição de antimicrobianos de amplo espectro para uma de menor espectro tendo em vista os resultados de sensibilidade da cultura ou por outras razões clínicas.

A grande contribuição do descalonamento está no menor tempo de exposição desnecessária do paciente ao antimicrobiano seja pela redução do espectro ou pelo tempo de uso da droga. Tais medidas tendem a evitar risco de seleção e emergência de bactérias resistentes e outros efeitos adversos advindos da seleção da microbiota bacteriana intestinal. No entanto, em relação aos efeitos do descalonamento sobre uma possível redução da emergência de resistência bacteriana, os trabalhos não têm demonstrado a

associação dessa prática com uma menor seleção de bactérias multirresistentes em UTIs ^{22, 37, 38}.

Em linhas gerais, a evidência assertiva da definição do descalonamento ainda permanece escassa devida a inconsistência de como essa prática tem sido descrita nos diferentes estudos disponíveis na literatura ³⁹.

Em relação aos efeitos do descalonamento sobre a mortalidade e tempo de permanência em UTI os estudos são pouco precisos em mensurar esses desfechos e apresentam baixa qualidade de evidência. Leone *et al.* ⁴⁰ em estudo multicêntrico randomizado, controlado e não cegado não demonstraram haver diferença significativa relacionado a mortalidade (31% vs 23%, $p=0,35$) e tampouco relacionado ao tempo de permanência em UTI (15,2 dias vs 11,8 dias, $p=0,71$) entre o grupo que realizou descalonamento e o grupo que não realizou descalonamento, respectivamente. Gonzales *et al.* ⁴¹ em um estudo retrospectivo também não demonstraram haver diferença em termos de mortalidade entre o grupo descalonamento versus grupo não descalonamento mesmo após analisados por tempo superior a um ano de seguimento.

1.5. Avaliação do consumo do antimicrobiano

A mensuração do consumo de antimicrobianos em hospitais é uma das principais estratégias utilizadas para definição de ações em programas de uso racional de antimicrobianos já que produz dados para comparação do uso destas drogas internamente nas diferentes unidades e entre outros hospitais. Entretanto, o melhor método para quantificar o uso dos antimicrobianos ainda necessita ser melhor definido. No que diz respeito à economia de custos relacionados a gastos com antimicrobianos desnecessários como forma de avaliar o impacto do programa, o ideal é que essa economia seja atribuída não somente a gastos com a compra de antimicrobianos, mas também decorrente, por exemplo, do controle mais rápido da infecção de um menor tempo de permanência hospitalar, ou seja, com economia nos custos diretos e indiretos relacionados com o cuidado à saúde ^{3, 4, 11, 42-44}.

Duas métricas são mais usadas: a dose diária definida (DDD) e os dias de terapia (DOT). As diretrizes da *Infectious Diseases Society of America* e da *Society for Healthcare Epidemiology of America* (IDSA) para a implementação de um programa de administração de antimicrobianos já sugerem o uso do método DOT para monitorar antimicrobianos em vez do método DDD. No entanto, como a maioria dos departamentos de farmácia tem um mecanismo para calcular a prescrição geral, dispensação ou consumo de uma quantidade de antimicrobianos, os DDDs são a melhor alternativa para locais que não podem obter esses dados do uso de antimicrobianos baseados em informações de prescrição provenientes de cada paciente ¹¹.

A grande utilidade comum a estas duas métricas de consumo é avaliar as tendências no consumo de antimicrobianos e fazer comparações entre grupos populacionais.

A DDD de um determinado antimicrobiano é determinado anualmente pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e representa a dose média diária de manutenção presumida para um medicamento, expressa em gramas, usado para seu uso principal recomendado em adultos de 70kg ¹³.

A medida da DDD por 1.000 pacientes-dia permite que um hospital compare seu uso de antimicrobianos com outros hospitais, independentemente das diferenças na composição do formulário, potência do antimicrobiano e censo hospitalar ^{11, 44-46}.

A DDD é uma unidade de medida e não reflete necessariamente a dose diária recomendada ou prescrita. Os dados de consumo de antimicrobianos apresentados em DDD apenas dão uma estimativa aproximada do consumo e não uma imagem exata do uso real. Além disso, a DDD não informa o número de pacientes que de fato estiveram expostos aos fármacos ¹³.

Outra métrica de consumo de antimicrobianos, o DOT, vem sendo apontado recentemente como a medida mais apropriada para avaliação do impacto de programas de gerenciamento de uso de antimicrobianos, embora a

maioria dos estudos publicados que descrevem reduções significantes no uso de antimicrobianos, empregaram a DDD como medida padrão ¹³.

O consumo de antimicrobiano expresso em DOT representa os dias de terapia antibiótica administrada a um paciente, independentemente do número de doses administradas ou da dose de ataque. Qualquer dose de um antimicrobiano recebida durante um período de 24 horas representa 1 DOT. Por exemplo, num tratamento com esquema combinado de três antimicrobianos por 10 dias, seriam contados 30 DOTs, 10 DOTs para cada antimicrobiano. O DOT é fácil de aplicar em ambientes onde as prescrições são registradas em um nível individual. Além disso, essa medida não é afetada por ajustes de dose e pode ser usada em populações adultas e pediátricas ^{13, 45, 47}.

No Brasil, existem poucos dados sobre o consumo de antimicrobianos. Um estudo de pesquisa de prevalência pontual realizado em 18 hospitais brasileiros mostrou uma alta prevalência de pacientes internados recebendo pelo menos um antimicrobiano, sendo 91% por via parenteral e 65,9% empiricamente, mas este estudo não avaliou diretamente o consumo de antimicrobianos ⁴⁸.

2.JUSTIFICATIVA

2. JUSTIFICATIVA

A otimização do uso de antimicrobianos é um desafio que merece ser desenvolvido e implementado nos hospitais através da comunicação rápida e eficaz do laboratório com o médico prescritor e da incorporação de novas tecnologias laboratoriais para a rápida adequação da terapia empírica inicial e melhor ajuste do tratamento da infecção.

Os estudos têm demonstrado benefícios com a introdução dessas tecnologias na prática diária dos laboratórios de microbiologia, mais especificamente quando essa ferramenta de diagnóstico preciso e rápido vem acompanhada de um programa médico de uso racional que vise promover a melhor escolha do antimicrobiano para cada situação e otimizando a terapia ⁽¹⁾. Entretanto os testes microbiológicos de diagnóstico rápido terão pouco valor e aplicação clínica se o programa de uso racional de antimicrobianos não atuar de forma estruturada para garantir a entrega e interpretação dos resultados diretamente aos médicos prescritores de modo a influenciar adequadamente na escolha dos antimicrobianos, e, conseqüentemente, o uso correto destes recursos de diagnóstico.

Considerando a disponibilidade do MALDI-TOF uma ferramenta laboratorial para o diagnóstico precoce e preciso na rotina das infecções de corrente sanguíneas microbiologicamente documentadas em nossa instituição desde 2016, associada à introdução da detecção rápida de genes de resistência durante execução do nosso estudo, julgamos apropriado avaliar o impacto dessas ferramentas laboratoriais no manejo das ICS em unidades de terapia intensiva combinado com as estratégias do programa médico de uso racional de antimicrobianos.

Diante da escassez de estudos nacionais avaliando a evidência do benefício do uso destas novas ferramentas diagnósticas rápidas, como parte das estratégias do programa de uso racional de antimicrobianos, nosso estudo se propõe a medir o impacto da incorporação destas ferramentas para

diagnóstico rápido das ICS associada a comunicação rápida dos resultados microbiológicos aos médicos prescritores nos desfechos clínicos e de consumo do uso de antimicrobianos.

3.OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivos primários

Avaliar o impacto da estratégia de um programa de uso racional de antimicrobianos combinando comunicação rápida dos resultados microbiológicos ao médico prescritor e a utilização de ferramentas diagnósticas por meio da técnica de MALDI-TOF e incorporação de biologia molecular realizados diretamente do frasco de hemocultura, mensurando:

- Desfechos clínicos (mortalidade em 30 dias, tempo de internação hospitalar e em unidade de terapia intensiva)
- Desfechos econômicos (consumo e custos de antimicrobianos).

3.2. Objetivos secundário

Comparar o tempo de resultado dos testes laboratoriais (TAT-*turnaround time*) provenientes da colônia bacteriana “método convencional” e diretamente do frasco de hemocultura.

4.MÉTODOS

4. MÉTODOS

4.1. Local do estudo

O estudo foi realizado nas unidades de terapia intensiva (UTI) do Instituto Central do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo (IHC-FMUSP).

O Instituto Central oferece atendimento de alta complexidade (atenção terciária/ quaternária) e apresenta 31 especialidades médicas e cirúrgicas, com 664 leitos de enfermaria e 106 leitos de UTI. Atualmente conta com 10 UTIs separadas por categorias em UTIs clínicas (duas UTIs da clínica médica, UTI da nefrologia, UTI de moléstias infecciosas, UTI do pronto-Socorro e UTI de crônicos) e UTIs cirúrgicas (UTI da Gastrocirurgia, UTI de Trauma, UTI da Anestesia e UTI Pós-operatória) e com diversas unidades de internação divididas por especialidades. O IHC realiza transplantes de fígado, rim e de células tronco-hematopoiéticas.

Em março de 2020, o Instituto Central tornou-se referência para o atendimento de pacientes de COVID-19 passando a ter 200 leitos de UTIs, porém em agosto de 2020 voltou a ser hospital geral permanecendo com 75 leitos de UTIs destinados ao atendimento de pacientes com COVID-19 e 25 leitos como atendimento de pacientes não-COVID-19 até setembro de 2021.

4.2. Tipo e desenho do estudo

Trata-se de um estudo do tipo quasi-experimental com duas fases: pré intervenção e intervenção.

4.3. Critérios de inclusão e exclusão

Foram incluídos todos os pacientes acima de 18 anos que tiveram ICS por BGN durante o período de estudo nas UTIs e coletados dados clínicos e

laboratoriais em prontuário eletrônico em ambas as fases. Foi aplicado um instrumento de pesquisa para coleta de dados nas duas fases do projeto (Anexo I). Os pacientes do estudo foram seguidos durante o período de tratamento da bacteremia por BGN na unidade de terapia intensiva ou na unidade de internação até sua alta hospitalar, óbito ou transferência.

Foram excluídos pacientes com ICS por cocos gram-positivos e polimicrobianas. A infecção polimicrobiana foi definida como o isolamento de mais de um micro-organismo, podendo ser dois agentes gram-negativo e/ou um gram-negativo e um gram-positivo provenientes do mesmo episódio de bacteremia, pacientes que evoluíram a óbito após 24 horas de início do antimicrobiano, pacientes com hemoculturas colhidas apenas do cateter venoso central e pacientes que apresentaram episódio de infecção antes de 14 dias da hemocultura positiva (índice).

4.4. Coleta dos dados

A ficha de coleta de dados continha informações de dados demográficos, diagnóstico de admissão hospitalar, critérios de gravidade (SAPS 3) na admissão na UTI, origem da ICS, uso de cateter venoso central e terapia de substituição renal no momento da bacteremia. Uso prévio de antimicrobianos foi considerado se o paciente usou qualquer antimicrobiano nos últimos 15 dias do episódio da bacteremia.

Para o cálculo do *score* de gravidade de bacteremia de *Pitt* foi considerado os critérios de temperatura axilar, evidência de hipotensão registrados como evento hipotensivo ou necessidade de uso de drogas vasoativas, uso de ventilação mecânica, relato de parada cardíaca e níveis de *status* mental todos esses dados registrados em prontuário médico. Esses critérios foram graduados durante as 48 horas anteriores ou no dia da hemocultura positiva e sendo a maior pontuação do período computada ⁽⁴⁹⁾. Para categorização desta variável consideramos pacientes graves aqueles com uma pontuação ≥ 6 (*score* ≥ 6).

Como indicador de mortalidade, utilizamos o SAPS 3 que é um indicador de prognóstico que estima a mortalidade em UTI. Ele é composto de 20 diferentes variáveis facilmente mensuráveis na admissão do paciente a UTI. As variáveis são divididas em três partes, variáveis demográficas, razões pela admissão na UTI e variáveis fisiológicas, elas representam o grau de comprometimento da doença e avaliação do estado de saúde prévio à admissão hospitalar, indicadora da condição pré-mórbida. Para cada uma das variáveis analisadas confere-se um peso, conforme a gravidade do distúrbio fisiológico. Na teoria, o menor valor atribuído pelo escore é 16 e o maior é 217 pontos⁵⁰. As informações do SAPS3 foram extraídas do prontuário eletrônico e conferidas com os médicos assistentes das UTIs por meio de banco de dados próprios.

Os critérios de definição de infecção de corrente sanguínea utilizados foram aqueles publicados pelo CDC, *Centers for Diseases Control and Prevention*⁵¹.

Para caracterização de agentes multirresistentes isolados nas UTIs participantes do estudo, a SCCIH do ICHC considera como micro-organismos multirresistentes, os seguintes patógenos: *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e Enterobacterales resistentes aos carbapenêmicos e/ou polimixina/colistina⁵².

Para ambas as fases não houve mudança em relação às regras para autorização de antimicrobianos pelos médicos da SCCIH e sua dispensação pela farmácia.

O programa de uso racional de antimicrobianos foi instituído no ano de 2000 no HC-FMUSP e vem sendo atualmente realizado por seis médicos infectologistas controladores de infecção hospitalar.

As auditorias de antimicrobianos consideradas restritas pelo serviço de controle de infecção hospitalar iniciam-se assim que é prescrito pelo médico assistencial em prescrição eletrônica. A partir daí os médicos do serviço de controle de infecção passivamente avaliam as culturas microbiológicas e

decidem pela autorização do antimicrobiano prescrito, e, se necessário, optam por discussão da escolha terapêutica diretamente com os médicos prescritores nas unidades de internação. Os antimicrobianos de uso restrito e de alto custo em nossa instituição (colistina, tigeciclina, fosfomicina, ertapenem, linezolida, daptomicina, equinocandinas e formulações lipídicas das anfotericinas) são controlados 24 horas por dia incluindo finais de semana e feriados com ajuda da farmácia clínica que só os liberam, obrigatoriamente, mediante o código liberado pela equipe de médicos da subcomissão de controle de infecção hospitalar (SCCIH). Através de contato por telefone institucional, o médico da SCCIH de plantão discute o caso clínico com o médico assistente do paciente para avaliação de indicação e posterior liberação do antibiótico. Por ser um hospital de ensino, há sempre um grupo de médicos residentes e preceptores treinados continuamente por esses médicos infectologistas para tomada de decisões relacionadas ao uso racional dos antimicrobianos.

4.5. Fases do estudo

4.5.1. 1ª- Fase: Pré intervenção - Março de 2018 até Maio de 2019

Gram + MALDI-TOF de cultura de colônias bacterianas em meio sólido + “*stewardship*” convencional com comunicação passiva dos resultados microbiológicos em prontuário eletrônico.

Nesta fase a identificação dos micro-organismos foi realizada pela coloração de Gram e o MALDI-TOF por semeadura em meio de cultura sólido após incubação em condições ideais para o crescimento microbiano no Bactec BD®. O teste de sensibilidade antimicrobiana (TSA) foi realizado pelo sistema automatizado tipo Vitek2®.

Os médicos receberam orientação quanto ao uso dos antimicrobianos pelo programa de uso racional, definido como “*stewardship*” convencional, ou seja, os resultados de Gram, MALDI-TOF e TSA foram inseridos no prontuário eletrônico do paciente sem haver comunicação ativa entre

laboratório de microbiologia e o médico prescritor da UTI ou médico pesquisador do estudo. Houve apenas a publicação passiva dos resultados pelo laboratório de microbiologia em prontuário eletrônico, na medida que os mesmos fossem liberados.

4.5.2. 2ª- Fase: Intervenção - Setembro de 2020 até Outubro de 2021

Gram + MALDI-TOF direto de frascos de hemocultura + detecção de genes de resistência por multiplex PCR (mPCR) diretamente do frasco de hemocultura + “*stewardship*” em tempo real com comunicação ativa dos resultados microbiológicos aos médicos prescritores nas UTIs pelo pesquisador

Esta fase iniciou-se somente em setembro de 2020 devido ao fato de o ICHC ter se tornado um hospital referência de COVID-19, a partir de março de 2020. Para não haver viés da população estudada, esperamos o hospital voltar a atender pacientes não COVID-19, a partir de agosto de 2020, para o início da segunda fase do estudo.

Nesta fase a identificação dos micro-organismos foi realizada pela coloração de Gram, pelo MALDI-TOF e por biologia molecular (mPCR) diretamente do frasco de hemocultura. Apenas o TSA foi realizado pelo sistema automatizado tipo Vitek2® seguindo a rotina convencional do laboratório.

Nesta fase, os médicos receberam orientação quanto ao uso dos antimicrobianos pelo programa de uso racional, definido como “***stewardship***” **com intervenção**. Os resultados da identificação pelo Gram foram comunicados diretamente ao pesquisador durante rotina do laboratório 24 horas por dia durante sete dias da semana por meio de mensagem por *WhatsApp*. Resultados de Gram processados após as 22hs foram comunicados de forma direta aos médicos assistentes das UTIs na manhã do dia seguinte para que houvesse o maior número de oportunidades de realização subsequente do MALDI-TOF e do PCR do frasco de hemocultura, já

que o laboratório não conta com profissionais para realizar essas duas últimas técnicas em período noturno. Após a identificação pelo Gram, foram realizados o MALDI-TOF e a detecção de genes de resistência pelo mPCR diretamente dos frascos de hemocultura numa rotina estabelecida pelo laboratório, durante sete dias da semana mediante a demanda das amostras de hemocultura positivadas por BGN em UTIs até 16:00h. A comunicação ativa do pesquisador com o médico assistente das UTIs foi feita por ligações ou mensagens de *WhatsApp* em telefone celular e por visitas presenciais do pesquisador nas unidades.

4.6. Descrição da análise microbiológica para as fases do estudo

O laboratório de microbiologia do ICHC funciona 24 horas durante sete dias. Assim que os frascos de hemocultura chegam ao setor eles são colocados no aparelho de Bactec FX (Becton, Dickinson and Company, BD). Entretanto na prática, devido à ausência de microbiologistas especializados durante todo o tempo da rotina de processamento das amostras, atrasos nos resultados do Gram, MALDI-TOF e TSA podem ter ocorrido, principalmente nos finais de semana e feriado.

As amostras de sangue foram inoculadas em frascos aeróbios e anaeróbios usando Bactec FX (Becton Dickinson Instrument Systems, Sparks, MD) e incubadas a 35° C até aparecimento de sinal positivo ou até 5 dias nos instrumentos automatizados.

Após a positividade em hemoculturas (*flag*), foram coletadas alíquotas para ensaios convencionais com semeadura em ágar sangue e MacConkey além da confecção de esfregaço com coloração de Gram. Em seguida, as placas foram incubadas de 24 a 48h em estufa de CO₂. Após crescimento da colônia pura foi realizado o MALDI-TOF e preparado o cartão para o Vitek2®.

Na fase de intervenção foi realizada, concomitante os ensaios convencionais, análise de identificação pela coloração de Gram, MALDI-TOF e a detecção de genes de resistência por biologia molecular, PCR multiplex diretamente do frasco de hemocultura.

4.6.1. Identificação bacteriana

Os isolados bacterianos foram identificados pelo Vitek MS (BioMerieux-L'Etoile, France) através da metodologia de espectrometria de massa MALDI-TOF. Os espectros de massas foram obtidos e processados pelo software Myla (BioMerieux, França), e posteriormente comparados ao banco de dados com espectros de referência para identificação de espécie. Os resultados produzidos pelo Vitek MS são divididos em categorias como “*good identification* (ID)”, quando o espectro de massa criado encontra perfeita correlação (99,9% valor de probabilidade, valor de confiança), discriminação baixa ou “*low discrimination*” (> 60% - 99,8% de probabilidade, valor de confiança) ou “no ID” (< 60% de probabilidade, valor de confiança).

4.6.2. Procedimento para identificação bacteriana pela metodologia de MALDI-TOF direto do frasco da hemocultura

A metodologia desenvolvida para identificação pelo Vitek MS diretamente de frascos de hemocultura no trabalho foi adaptada de estudos encontrados na literatura ⁵³. O laboratório de microbiologia do HC-FMUSP validou esta técnica previamente, para identificação de BGN diretamente de frascos de hemocultura e encontrou concordância de 88% entre os métodos (dados não publicados).

Se a bacterioscopia sinalizava positiva para BGN em amostras de unidades de terapia intensiva do ICHC, uma etiqueta do paciente era colada no caderno intitulado “MALDIRETO” localizado na área da microscopia.

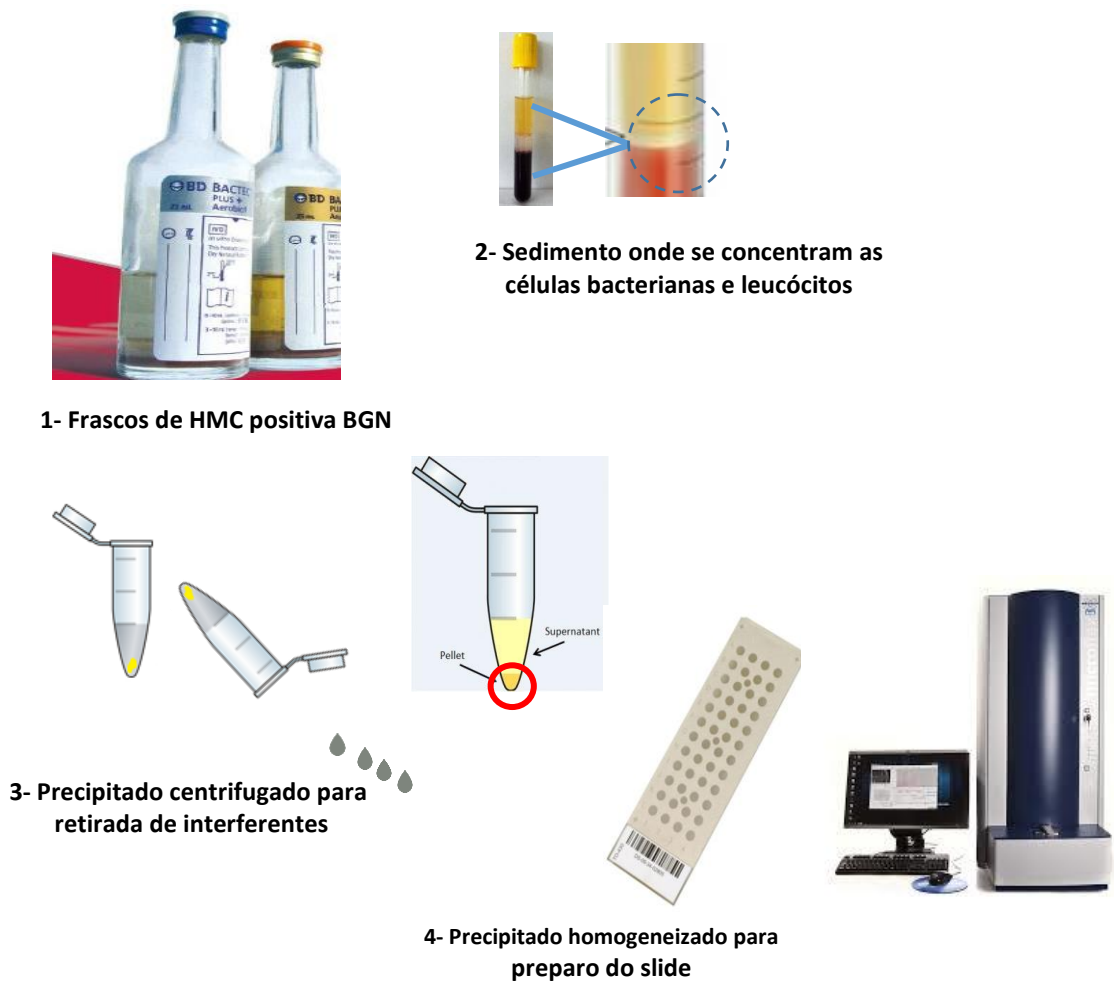
O frasco de hemocultura positivada era selecionado, homogeneizado e retirado 4mL de sangue com seringa para ser inoculado em tubo à vácuo com gel separador (Vacutainer 5mL, BD). O tubo era centrifugado a 2.500 rpm por 15 minutos e o sobrenadante era dispensado para que somente o sedimento permaneça na superfície do gel onde se encontram o preceitado de células bacterianas e leucócitos.

Em seguida, adicionava-se 1mL de solução fisiológica estéril a 0,45% ao tubo homogeneizando cuidadosamente para não romper as células bacterianas utilizando uma pipeta Pasteur a fim de obter uma solução turva. Realizava a transferência de 1mL desta solução para o *ependorf* e posterior centrifugação a 12.000 rpm por 2 minutos para lavagem do sedimento, a fim de retirar interferentes.

Após essa etapa, o sobrenadante era novamente dispensado e o precipitado homogeneizado com ajuda do vórtex. Com essa suspensão turva e concentrada era realizado 4 spots com 1 μ L da suspensão pipetada no slide do MALDI-TOF.

Após secagem de aproximadamente 10-12 minutos, era adicionado 1 μ L de solução de ácido fórmico em cada spot.

Após outra secagem de aproximadamente 22-25 minutos, adicionava-se 1 μ L de matriz , e, após secagem total de aproximadamente 5-6 minutos, introduzia o slide para leitura no equipamento, conforme mostra a figura 2.



Fonte: Laboratório de Microbiologia HCFMUSP, 2021

Figura 2 – Procedimento para realização do “MALDIRETO” de frascos de hemocultura

4.6.3. Procedimento para detecção de genes de resistência por PCR multiplex XGEN MULTI SEPSE LYO FLOW CHIP – HybriSpot HS12 AUTO

A identificação de genes codificadores de resistência bacteriana foi realizada utilizando o XGEN MULTI SEPSE FLOW CHIP (*Mobius®*) kit para bactérias gram-negativas em associação ao equipamento HybriSpot (HS12 AUTO) ⁵⁴. Trata-se de um teste qualitativo *in vitro* que detecta a presença de

ácido nucléico bacteriano além dos principais genes de resistência a antimicrobianos em amostras diretas de hemoculturas positivas sem a necessidade da extração de DNA. Consiste em uma plataforma com kits comerciais fechada que utiliza da metodologia de PCR em tempo real para o diagnóstico rápido das infecções bacterianas em espécies clínicas.

O XGEN MULTI SEPSE LYO é um teste de diagnóstico rápido com habilidade de identificar algumas espécies de bactérias gram-negativas incluídas em seu painel e de interesse ao nosso estudo (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*), dois gêneros de bactérias gram-negativas (*Enterobacteriaceae* e *Proteus spp*) e 17 marcadores de genes de resistência a antimicrobianos (*bla_{SHV}*, *bla_{CTX-M}*, *bla_{KPC}*, *bla_{SME}*, *bla_{IMI}*, *bla_{GES}*, *bla_{VIM}*, *bla_{GIM}*, *bla_{SPM}*, *bla_{NDM}*, *bla_{SIM}*, *bla_{IMP}*, *bla_{OXA23}*, *bla_{OXA24}*, *bla_{OXA48}*, *bla_{OXA51}* e *bla_{OXA58}*) em até quatro horas.

O princípio do ensaio é baseado em metodologia que envolve, simultaneamente, a amplificação multiplex de diferentes bactérias e os marcadores de genes de resistência a antimicrobianos por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) seguido de hibridização reversa (DOT-Blot) com sondas específicas imobilizadas em um chip composto por membrana de nylon, através de um sistema a vácuo (tecnologia *Flow Chip*). O processo de hibridização permite a ligação dos produtos de PCR biotinilados às sondas complementares presentes no chip e o sinal de hibridização é desenvolvido por uma reação colorimétrica imunoenzimática (estreptavidina-fosfatase alcalina e cromógeno NBT-BCIP). A reação substrato-cromógeno gera um precipitado de coloração roxo, na posição em que o fragmento amplificado hibridiza com a sonda específica e este sinal é automaticamente capturado e analisado pelo software do equipamento.

O equipamento automatiza e integra as etapas de extração, amplificação de ácidos nucléicos e a detecção das sequências alvo a partir de isolados bacterianos ou diretamente de espécimes clínicos. Os sistemas são constituídos por um instrumento, um computador e *software* pré-carregado

para executar testes e visualizar os resultados. O *software* é usado para inserir informações do paciente, monitorar o processo do teste em todas suas etapas, visualizar, imprimir, exportar os resultados e gerar relatórios.

O processamento das amostras aconteceu nas seguintes etapas:

- 1- Com uma seringa 10mL, coleta-se aproximadamente 1mL de sangue do frasco de hemocultura positiva para BGN previamente homogeneizado;
- 2- Em seguida, transfere-se 10 μ L do sangue utilizando-se uma micropipeta com ponteira descartável em um tubo do tipo *eppendorf*, com 990 μ L de água ultrapura livre de nucleases (diluição de 1:100);
- 3- A solução formada é então agitada no *vórtex* em alta velocidade por cerca de 10 segundos;
- 4- Em seguida, transfere-se 50 μ L da solução formada utilizando uma micropipeta com ponteira descartável em um outro tubo do tipo *eppendorf* com 450 μ L de água ultrapura livre de nucleases (diluição de 1:500);
- 5- A solução final formada é então agitada no *vórtex* em alta velocidade por cerca de 10 segundos;
- 6- Após a hidratação da pérola da *Master Mix* com 27 μ L de água ultrapura livre de nuclease, transfere-se 3 μ L da solução final formada utilizando uma micropipeta descartável totalizando um volume total de 30 μ L e agita bem a solução manualmente;
- 7- Coloca-se os microtubos do tipo *eppendorf* contendo a *Master Mix* e a solução dentro do termociclador com a posição indicada pelo *software*. Há um fechamento com a placa metálica para firme acondicionamento e processamento do aparelho (visto que esse irá perfurar os tubos ao final das ciclagens de PCR convencional);
- 8- Coloca-se o *Chip* na câmara de reação (sistema a vácuo) para hibridização e detecção dos genes;
- 9- A programação do sistema automatizado inicia-se com o cadastro da amostra no software HybriSoft, cadastro do lote dos reagentes. O processo é iniciado e todo controlado estando o tempo demonstrado ao usuário na tela do computador em cada etapa da realização do exame.

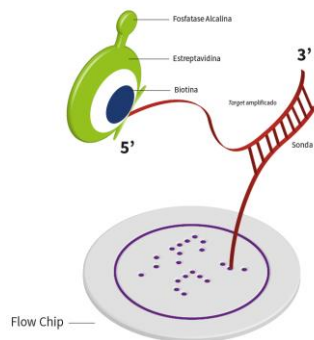
O equipamento e compra dos kits foi viabilizado pelo recurso financeiro concedido pelo projeto Fapesp 2018/24021-0. Após aquisição do equipamento em dezembro/2019 e compra dos kits, procedeu-se uma validação interna do equipamento no laboratório de microbiologia utilizando-se de cepas ATCC de bactérias sabidamente portadora de genes de resistência e presentes no teste.



**Cromógeno
(NBT / BCIP)**



Precipitado roxo



3-Reação colorimétrica enzimática

Substrato + cromógeno = precipitado roxo

Presença do alvo e/ou do gene de resistência

- 1-Sondas específicas de DNA imobilizadas em uma membrana de nylon: Tecnologia Flow Chip
- 2-Ligação dos produtos de PCR biotinizados às sondas complementares presentes no chip

Fonte: Mobius, 2021

Figura 3 – Equipamento HS12 AUTO para realização do PCR multiplex direto de frascos de hemocultura

4.6.4. Teste de sensibilidade bacteriana

Os ensaios convencionais e subculturas de rotina dessas amostras seguiram fluxo pré estabelecido para realização do teste de sensibilidade fenotípica aos antimicrobianos.

Os testes de sensibilidade antimicrobiana foram realizados no sistema Vitek 2 XL (BioMerieux-L'Etoile, France) através dos cartões AST-239 (BioMerieux-L'Etoile, France). Na presença de Enterobacterales resistentes a carbapenêmicos produtores de carbapenemase foram realizados também os métodos de disco-difusão (Kirby-Bauer) e elipsométrico através da fita E-test (BioMerieux-L'Etoile, France).

Para realização de teste de sensibilidade os isolados bacterianos foram suspensos em 3 mL de solução fisiológica 0,45% para obtenção de uma turvação correspondente a escala de 0,5 McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL). Esta suspensão foi semeada em ágar Mueller Hinton (OXOID LTD, Basingstoke, Hampshire, England) e/ou inserida no equipamento para a obtenção e interpretação da concentração inibitória mínima (CIM) aos antimicrobianos. Os resultados foram interpretados de acordo com os pontos de corte estabelecidos pelo CLSI, documento M100 ⁵⁵.

4.7. Comunicação dos resultados microbiológicos para o médico pesquisador

Após detecção de crescimento pelo Bactec, os frascos de hemocultura foram encaminhados para área técnica de realização do Gram. Quando se detectou na leitura da lâmina a presença de BGN monobacteriana o funcionário do laboratório realizava uma foto da lâmina e a encaminhava por *WhatsApp* para o pesquisador do estudo com informações do horário da realização do Gram. O médico pesquisador se encarregava de enviar o resultado e iniciar a

discussão sobre proposta de descalonamento ou introdução da terapia para o tratamento da infecção para a BGN identificada.

O laboratório de microbiologia separava o frasco de hemocultura positiva para o BGN para realização do procedimento de “MALDIRETO” e detecção de genes de resistência.

Após resultado do “MALDIRETO” registrado no Myla (sistema de banco de dados do VITEK MS), o funcionário do laboratório imprimia o laudo do resultado, anexava na pasta do protocolo “MALDIRETO” e encaminhava foto do resultado para o médico pesquisador.

Neste momento, o pesquisador entrava em contato novamente com médico prescritor na UTI e encaminhava o resultado da identificação do micro-organismo em gênero e espécie para nova tentativa de novo ajuste da terapia antimicrobiano.

Após o resultado da detecção de genes de resistência diretamente do frasco da hemocultura, o pesquisador comunicava o resultado ao médico da UTI por meio de *WhatsApp* e/ou presencialmente na unidade de terapia intensiva ao médico prescritor para oportunidade de novo ajuste da terapia antimicrobiana em uso.

Foi elaborado um algoritmo para tratamento de bacteremia baseado em genes de resistência para orientação quanto ao direcionamento do tratamento antimicrobiano após resultado de genes de resistência. O algoritmo foi discutido com a equipe médica da SCCIH ICHC e baseado nos resultados prévios do perfil de resistência fenotípica da instituição conforme mostra figura

4.

Algoritmo para tratamento de bacteremia por bactéria Gram negativa baseado em genes de resistência

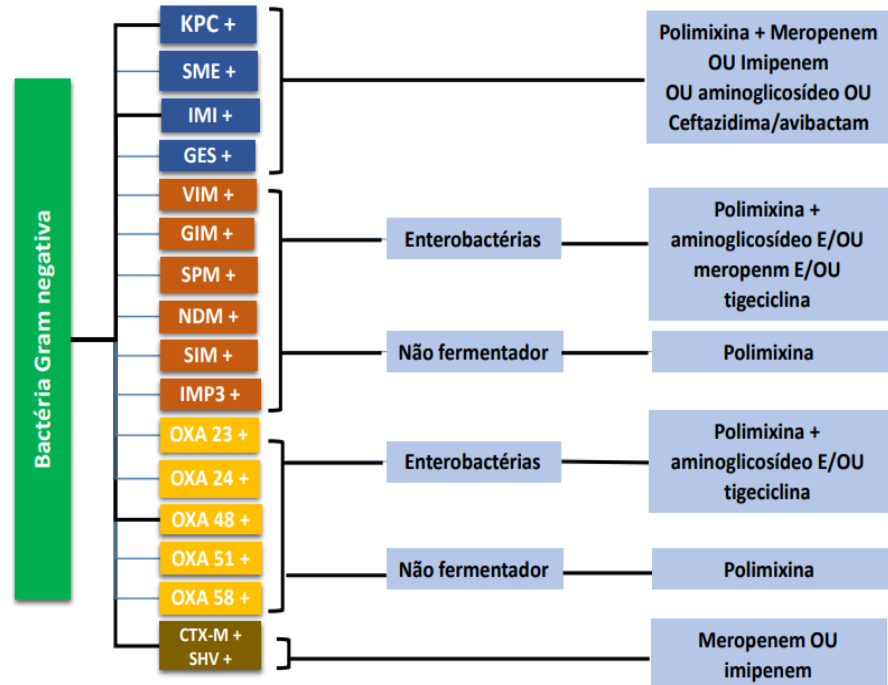
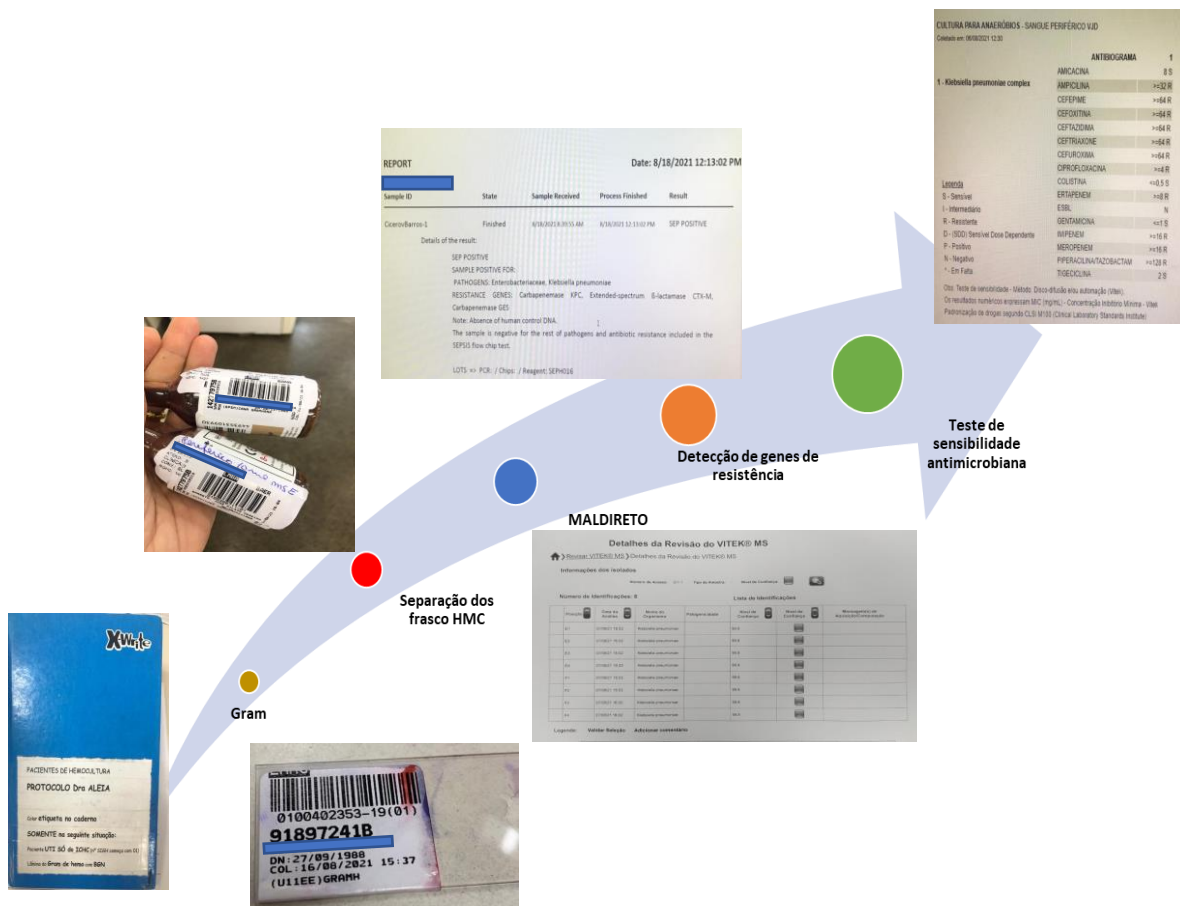


Figura 4 - Algoritmo para tratamento de bacteremia por BGN baseado em genes de resistência

Finalmente, quando o laboratório de microbiologia disponibilizava o resultado final de perfil de sensibilidade antimicrobiana do micro-organismo isolado, ocorria outra comunicação direta com o médico prescritor e tentativa de ajuste da terapia após o resultado final do teste de sensibilidade antimicrobiana.



Fonte: Laboratório de Microbiologia HCFMUSP, 2021

Figura 5 - Fluxo de comunicação dos resultados laboratoriais ao médico prescritor durante fase de intervenção

4.8. Desfechos clínicos

Foram analisados os seguintes desfechos:

Taxa de mortalidade em 30 dias: episódios de óbito de pacientes participantes do estudo seguidos até 30 dias após o diagnóstico de ICS dividido pelo número total de pacientes participantes.

Tempo de permanência hospitalar: intervalo de tempo entre a positividade da hemocultura com BGN até alta, transferência ou óbito.

Tempo de permanência em UTI: intervalo de tempo entre a positividade da hemocultura com BGN até alta, transferência ou óbito na unidade de terapia intensiva.

4.9. Desfechos de consumo e custos de antimicrobianos

Foram analisados os seguintes desfechos:

DOT (dias de terapia): é uma unidade de consumo representada pelos dias de utilização de cada droga de um esquema de antimicrobiano no tratamento de uma determinada infecção.

Dia-presente: é o número de dias em que um paciente com bacteremia por BGN permaneceu na unidade de terapia intensiva contados a partir da detecção da hemocultura positiva para BGN até o fim do tratamento ou até máximo de 21 dias de permanência. Os dias-presentes de cada paciente serão somados para determinar o número total de dias-presentes para cada fase do estudo.

Consumo de antimicrobianos (DOT/1.000 dias-presentes): soma da quantidade de dias de uso de cada antimicrobiano consumido isoladamente no período de tempo considerado, dividido pelo número de dias-presentes no mesmo período X 1.000 ^{13,56}.

Para cálculo do DOT foi utilizada a seguinte fórmula ^{13,56}.

$$\text{DOT: } \frac{\text{Número total (somatória) de dias de uso de cada antimicrobiano X 1000}}{\text{Total de dias-presentes}}$$

Foi denominado dias-presentes (denominador) o número de dias entre o seguimento após a coleta da hemocultura positiva para BGN e o fim do tratamento antimicrobiano ou até máximo de 21 dias. O tempo de seguimento de 21 dias foi estabelecido pelos autores para tentar abranger o máximo de dias possíveis de tratamento de ICS para ambas as fases do estudo.

Custo de antimicrobianos: número de DOT utilizados no tratamento da ICS multiplicado pelo valor em reais de 1 DOT de cada medicamento. Para cálculo do custo foi disponibilizado pela farmácia do ICHC um valor que representou a média da variação de preço de cada antimicrobiano em ambas as fases do estudo.

4.10. Tempo para os resultados de identificação dos micro-organismos e teste de sensibilidade antimicrobiana (*turnaround time*, TAT)

Na fase pré intervenção, a análise do tempo para os resultados microbiológicos (*turnaround time* – TAT) foi medida em horas e minutos desde a detecção bacteriana, após a positividade no frasco de hemocultura, até a coloração de Gram, à identificação do MALDI-TOF e ao TSA.

Na fase intervenção, a análise do tempo para os resultados microbiológicos (*turnaround time* – TAT) foi medida em horas e minutos desde a detecção bacteriana, após a positividade no frasco de hemocultura, até a coloração de Gram, à identificação do 'MALDIRETO', à detecção de genes e ao TSA.

4.11. Análise estatística

Resultados de um estudo publicado ⁶¹ encontraram uma redução em 36% no risco de mortalidade quando os resultados microbiológicos de identificação de BGN por meio de MALDI-TOF ou por PCR foram combinados com a orientação quanto à escolha dessas terapias pelo médico do programa de uso racional de antimicrobiano. Portanto, baseado em resultados de literatura (diferença absoluta de 36%, ou seja, magnitude do efeito entre os grupos) referente ao desfecho primário proposto em nosso trabalho (mortalidade ou tempo de internação) e considerando um poder estatístico de 80% e uma significância estatística de 5% (erro tipo I), encontramos necessidade de 44 pacientes em cada grupo.

Os dados foram coletados por meio de instrumento estruturado (ANEXO I) e digitados num banco de dados padronizado no software Microsoft® Excel®. As análises descritivas foram realizadas de acordo com as características das variáveis: medidas de tendência central e dispersão para variáveis contínuas com desvio padrão (DP) e intervalo interquartil (IIQ), e medida de frequência absoluta e relativas para variáveis categóricas. Em todos os casos a inclusão do intervalo de confiança de 95% (IC95%) foi utilizada.

A análise inferencial das variáveis qualitativas baseou-se na determinação de associação utilizando o teste Qui-quadrado de Pearson χ^2 ou o Teste Exato de Fisher (TEF) quando a suposição para aplicar χ^2 não fosse satisfeita. Para a análise das diferenças entre as médias das variáveis quantitativas foi utilizado o método ANOVA de um fator. Para comparar as medianas de variáveis contínuas de distribuição não normal das duas fases foi utilizado o teste U de Mann-Whitney. Os períodos foram comparados com relação aos desfechos clínicos de mortalidade em 30 dias, tempo de internação hospitalar e na UTI e com relação ao consumo de ATM utilizando-se dias de terapia (DOT) e custos em reais. Os fatores potenciais relacionados ao risco para mortalidade em 30 dias, foram comparados por análise univariada e todos os fatores identificados por essa análise como significantes foram submetidos à análise multivariada, realizada pelo modelo de regressão logística múltipla.

As variáveis independentes foram expressas através de sua razão de risco ("odd ratios" - OR) e os seus respectivos intervalos de confiança (IC) de 95% foram estimados.

Todas as probabilidades de significância apresentadas foram do tipo bilateral e realizadas considerando um nível de significância de 0,05 ou 5,0 %. Os cálculos estatísticos foram realizados através do EPI-INFO versão 7.0 e SPSS versão 27.0.

4.12. Aspectos éticos

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da FMUSP com parecer número 7370 e recurso financeiro concedido pela FAPESP, projeto 2018/24021-0.

O termo de consentimento dos pacientes participantes não foi necessário porque as atividades propostas no estudo fazem parte da rotina assistencial do médico pesquisador sendo isento pelo comitê de ética local. (ANEXO II)

Não ocorreu novas coletas de amostras dos pacientes participantes que não foram aquelas já solicitadas durante a assistência dos mesmos em suas respectivas unidades de terapia intensiva pelo médico assistente durante as duas fases do estudo. O armazenamento e vigilância de micro-organismos multirresistentes na instituição já fazem parte da rotina do laboratório de microbiologia. A identidade dos participantes do estudo foi mantida em sigilo.

5. RESULTADOS

5. RESULTADOS

A fase pré intervenção do projeto iniciou-se em março/2018 e finalizou em maio/2019. Durante este período foram avaliados 196 episódios totais de bacteremias e excluídos 82 episódios, a saber: 35 hemoculturas colhidas apenas do cateter venoso central, 34 óbitos ocorridos nas 24 horas após o início do tratamento e 13 amostras excluídas por ter uma segunda hemocultura positiva ou o isolamento de outros agentes infecciosos em outros sítios em menos de 14 dias da hemocultura índice. Foi incluído então, um total de 114 episódios de bacteremias por BGN.

A fase intervenção iniciou-se em setembro/2020 e foram coletados dados até 31/outubro/2021. Foram avaliados 129 episódios de bacteremias e excluídos 27 episódios: 8 óbitos ocorridos em 24 horas após o início do tratamento e 17 amostras excluídas por microbiota polimicrobiana após detecção da identificação no MALDI-TOF e duas amostras por falha técnica na identificação pelo MALDI-TOF. Foi incluído então, um total de 102 episódios de bacteremias por BGN. Os números estão descritos na figura 6.

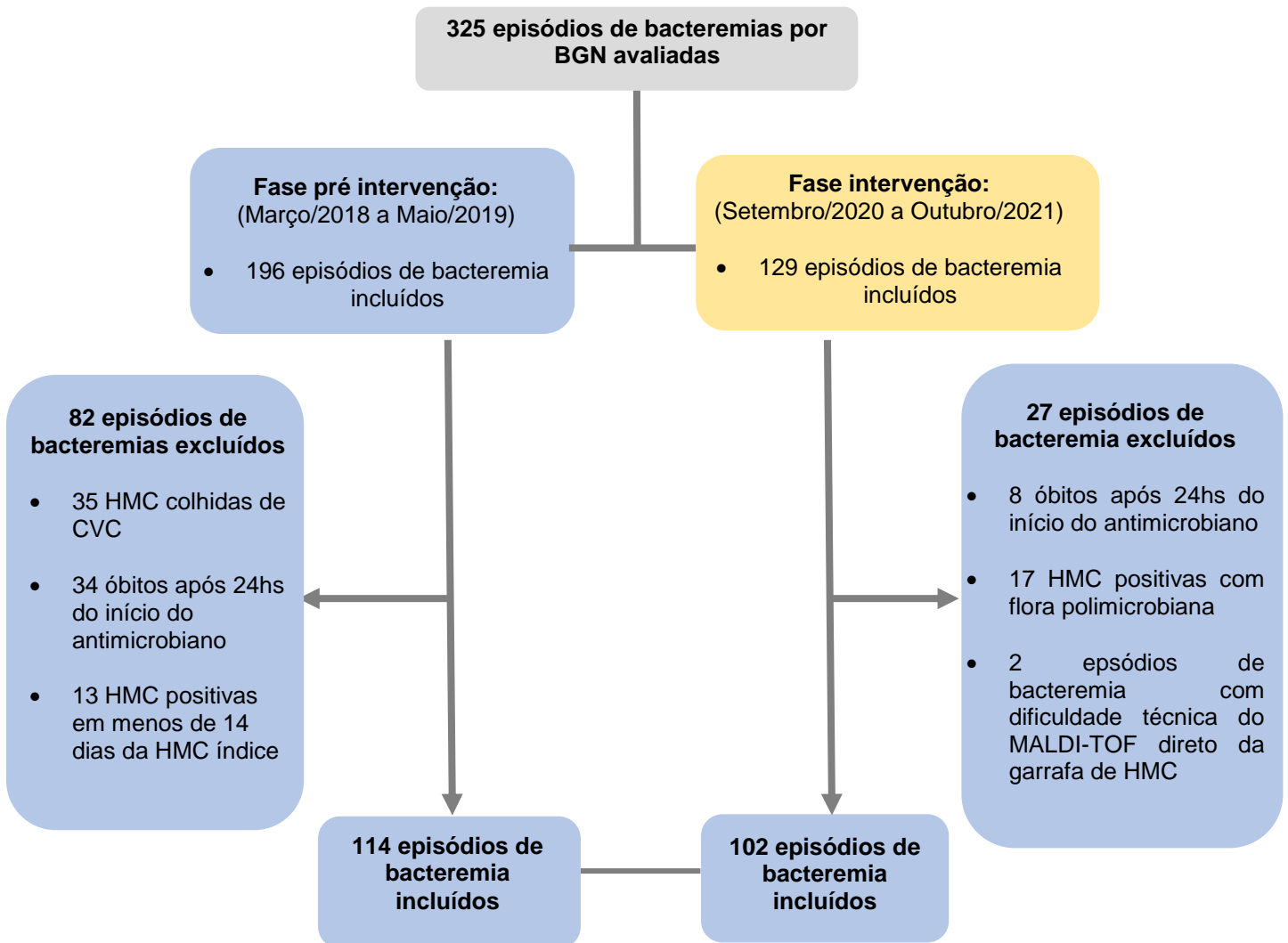


Figura 6 - Fluxograma de seleção de bacteremias por bactérias Gram-negativas

5.1. Análise das características demográficas e desfechos clínicos

As características demográficas, clínicas e laboratoriais dos pacientes incluídos no estudo em ambas as fases do estudo estão demonstradas na tabela 1.

Tabela 1 - Características demográficas, clínicas, laboratoriais e de terapia antimicrobiana dos pacientes incluídos nas fases pré intervenção e intervenção

| Variável | Pré intervenção (N=114) | Intervenção (N=102) | Valor-p |
|--|-------------------------|---------------------|----------------------|
| Idade, anos, mediana, IIQ | 56 (41-62) | 59 (47-69) | 0,057 ^a |
| Sexo masculino N (%) | 78 (68,4%) | 65 (63,7%) | 0,466 ^b |
| Terapia de substituição renal, N (%) | 37 (32,5%) | 42 (41,2%) | 0,184 ^b |
| Presença de CVC, N (%) | 81 (71,1%) | 84 (82,4%) | 0,051 ^b |
| SAPS3, mediana, IIQ | 56 (45-68) | 64 (50-76) | 0,005 ^a |
| Gravidade de bacteremia (PITT score) ≥ 6, N (%) | 60 (52,6%) | 62 (60,8%) | 0,228 ^b |
| Causas de admissão hospitalar, N (%) | | | |
| Síndrome respiratória aguda grave por Coronavírus-2 (SARS CoV-2) | 0 (0%) | 45 (44,1%) | <0,0001 ^b |
| Doença Gastrointestinal | 25 (21,9%) | 5 (4,9%) | 0,0003 ^b |
| Infecção | 26 (21,9%) | 8 (7,8%) | 0,002 ^b |
| AVCH/I | 16 (14%) | 10 (10%) | 0,34 ^b |
| Trauma | 13 (11,4%) | 10 (10%) | 0,7 ^b |
| Doença renal | 8 (7%) | 5 (5%) | 0,51 ^b |
| Doença cardiovascular | 5 (4,4%) | 5 (5%) | 0,85 ^b |
| Doença metabólica | 3 (2,6%) | 1 (1%) | 0,36 ^b |
| Outros | 19 (16,6%) | 13 (13%) | 0,33 ^b |
| Origem da bacteremia, N (%) | | | 0,007 ^b |
| Primária | 58 (50,8%) | 48 (47,1%) | 0,671 ^b |
| Pulmão | 13 (11,4%) | 28 (27,5%) | 0,005 ^b |
| Urina | 9 (7,9%) | 9 (8,8%) | 1,0 ^b |
| Abdome | 17 (14,9%) | 7 (6,9%) | 0,096 ^b |
| Pele e partes moles | 7 (6,1%) | 8 (7,8%) | 0,823 ^b |
| Outros | 10 (8,7%) | 2 (2,0%) | 0,06 ^b |
| Distribuição dos micro-organismos, N (%) | | | 0,002 ^b |
| <i>K. pneumoniae</i> | 49 (43,0%) | 33 (32,4%) | 0,043 ^b |
| <i>E. coli</i> | 19 (16,6%) | 13 (12,7%) | 0,536 ^b |
| <i>A. baumannii</i> | 9 (7,8%) | 17 (16,7%) | 0,077 ^b |
| <i>P. aeruginosa</i> | 7 (6,1%) | 22 (21,6%) | 0,002 ^b |
| <i>Enterobacter spp</i> | 15 (13,1%) | 5 (4,9%) | 0,064 ^b |
| Outras Enterobacterales | 13 (11,4%) | 8 (7,8%) | 0,515 ^b |
| Outros não fermentadores | 2 (1,7%) | 4 (3,9%) | 0,580 ^b |
| Uso prévio de ATM, N (%) | 75 (65,8%) | 72 (70,6%) | 0,450 ^b |
| Uso prévio de carbapenêmicos, N (%) | 27 (23,7%) | 32 (31,4%) | 0,206 ^b |
| Tempo de tratamento com o ATM, média, DP | 9,13 (± 4,04) | 7,80 (±3,71) | 0,013 ^a |

a=Teste de Mann-Whitney; b: Teste qui-quadrado de Pearson;

AVCH/I= acidente vascular cerebral hemorrágico/isquêmico; CVC= cateter venoso central; IIQ: intervalo interquartil; DP: desvio padrão, SAPS3= *Simplified Acute Physiology Score III*; UTI=unidade de terapia intensiva; ATM=antimicrobiano

Espécies de *Klebsiella* spp foram os micro-organismos mais frequentemente isolados (43,0% e 32,4%), seguido por *E. coli* (16,6% e 12,7%), *Acinetobacter baumannii* (7,8% e 16,7%) e *Pseudomonas aeruginosa* (6,1% e 21,6%) nas fases pré intervenção e intervenção, respectivamente.

Conforme dados da tabela 2, em relação ao perfil de resistência na fase pré intervenção, 24,6% (28) de Enterobacterales, 7% (8) dos *A. baumannii* e 2,7% (3) *P. aeruginosa* isoladas foram resistentes aos carbapenêmicos. Na fase intervenção, 15,7% (16) Enterobacterales, 15,7% (16) dos *A. baumannii*, e 5% (5) *P. aeruginosa* isoladas foram resistentes.

Tabela 2 - Frequência de bactérias gram-negativas isoladas resistentes a carbapenêmicos nas fases pré intervenção e intervenção

| Micro-organismos resistentes a carbapenêmicos N=76 | Pré intervenção N= 39 (%) | Intervenção N= 37 (%) | Valor-p |
|--|------------------------------|--------------------------|--------------------|
| Enterobacterales | 28 (24,6%) | 16 (15,7%) | 0,141 ^b |
| <i>P. aeruginosa</i> | 3 (2,7%) | 5 (5%) | 0,602 ^b |
| <i>A. baumannii complex</i> | 8 (7%) | 16 (15,7%) | 0,071 ^b |
| Total | 39/114 (34,2%) | 37/102 (36,3%) | |

b: Teste qui-quadrado de Pearson

Não houve impacto na mortalidade até 30 dias para ambas as fases do estudo, havendo 25% de taxa de mortalidade fase pré intervenção e 35% na fase intervenção, sendo $p=0,115$. Entretanto, houve significativa redução do tempo de permanência hospitalar (44 dias vs. 39 dias, $p=0,005$), do tempo de permanência em UTI (17 dias vs. 13 dias, $p=0,033$) e tempo médio de tratamento antimicrobiano da ICS por BGN (9 dias vs. 8 dias, $p=0,013$) respectivamente, conforme demonstra a tabela 3.

Tabela 3 - Desfechos clínicos nas fases pré intervenção e intervenção

| Variáveis | Pré intervenção | Intervenção | Valor-p |
|---|-----------------|-------------|--------------------|
| | N=114 | N=102 | |
| Mortalidade até 30 dias, N (óbitos), (%) | 29 (25%) | 36 (35%) | 0,115 ^b |
| Tempo de permanência hospitalar, N (dias), mediana, IIQ | 44 (20-59) | 39 (14-48) | 0,005 ^a |
| Tempo de permanência em UTI, N (dias), mediana, IIQ | 17 (7-22) | 13 (5-16) | 0,033 ^a |

a=Teste de Mann-Whitney; b: Teste qui-quadrado de Pearson; IIQ: intervalo interquartil

A tabela 4 demonstra a análise uni e multivariada dos fatores de risco correlacionados com o desfecho clínico primário de mortalidade em 30 dias. Identificamos apenas o SARS CoV-2 como uma variável independente relacionada ao maior risco de óbito na população estudada.

Tabela 4 - Análise univariada e multivariada dos fatores de risco para mortalidade em 30 dias para pacientes incluídos no estudo (N=216)

| Univariada | | | | |
|---|------------------------|---------------|------------------|---------|
| Variável | Mortalidade em 30 dias | | | Valor-p |
| | Não (N=151) | Sim (N=65) | HR (IC95%) | |
| Pré intervenção, N (%) | 78 (68%) | 36 (32%) | | |
| Intervenção, N (%) | 73 (71%) | 29 (29%) | 1,38 (0,97-1,95) | 0,072 |
| SARS-CoV-2, N (%) | 9 (20%) | 36 (80%) | 1,74 (1,17-2,59) | 0,006 |
| SAPS3 (mediana, IIQ) | 51 (45 - 67) | 62 (50 - 74) | 1,01 (1,00-1,02) | 0,083 |
| Doença Gastrointestinal, N (%) | 17 (56,6%) | 13 (43,3%) | 1,18 (0,85-1,64) | 0,333 |
| Infecção, N (%) | 12 (14,5%) | 22 (16,5%) | 0,83 (0,52-1,32) | 0,432 |
| Origem da bacteremia pulmão, N (%) | 18 (43,9%) | 23 (56,1%) | 1,39 (1,07-1,80) | 0,036 |
| Micro-organismo isolado <i>P. aeruginosa</i> , N(%) | 11 (37,9%) | 18 (62,1%) | 1,38 (1,09-1,74) | 0,002 |
| Multivariada* | | | | |
| | OR (IC95%) | | Valor-p | |
| SARS-CoV-2 | 1,54 (1,02-2,29) | | 0,036 | |
| Origem da bacteremia pulmão, N (%) | 1,75 (0,87-3,51) | | 0,113 | |
| Micro-organismo isolado <i>P. aeruginosa</i> , N(%) | 1,26 (0,56-2,83) | | 0,573 | |

* Risco proporcional de Cox.

HR: hazard ratio; **IC:** interval de confiança; **OR:** odds ratio; **IIQ:** intervalo interquartil; **SARS CoV-2:** severe acute respiratory syndrome coronavirus 2; **SAPS3-** simplified acute physiology score III

5.2. Análise dos genes de resistência - Fase intervenção

Dos 102 episódios de bacteremia na fase intervenção, analisamos em 96 amostras o perfil de detecção de genes de resistência bacteriana. Não foi possível realizar a detecção em seis amostras devido a problemas de manutenção técnica do aparelho (três *A. baumannii*, duas *P. aeruginosa*, uma *B. cepacia*).

Encontramos ao todo 53% (51/96) dos isolados com a detecção de algum dos genes de resistência a enzimas da classe das β -lactamases pesquisados pelo equipamento de detecção de PCR multiplex.

Os genes de resistência mais prevalentes entre os isolados de BGN foram os relacionados a produção de enzimas da classe das ESBLs, sendo 78,6% (35) dos micro-organismos com *bla*_{CTX-M} e/ou *bla*_{SHV}, seguido pela carbapenemase KPC, com 27,4% (14) de detecção do gene *bla*_{KPC}.

Em nossa amostra, o gene *bla*_{SHV} esteve presente apenas em isolados de *K. pneumoniae*, já o gene *bla*_{CTX-M} esteve presente em isolados de *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Enterobacter spp* e *B. cepacia*.

Em relação a detecção de genes de resistência para enzimas da classe das carbapenemases encontramos a seguinte proporção: 27,4% (14) *bla*_{KPC}, 15,7% (8) *bla*_{OXA-24}, 13,7% (7) *bla*_{OXA-51}, 11,8% (6) *bla*_{OXA-23}, 2,0% (1) *bla*_{NDM}.

A tabela 6 descreve o perfil da detecção dos genes de resistência em episódios de bacteremia por micro-organismos com algum gene de resistência e a tabela 7 traz informações sobre a prevalência dos genes entre as espécies bacterianas.

Tabela 5 - Descrição da detecção de genes de resistência em BGN nas fases intervenção identificados pelo mPCR (N= 51)

| ID | MICRO-ORGANISMO | <i>bla</i> | | | | | | | | |
|-----|-------------------------------------|------------|--------------|------------|------------|---------------|---------------|---------------|---------------|------------|
| | | <i>SHV</i> | <i>CTX-M</i> | <i>KPC</i> | <i>NDM</i> | <i>OXA-23</i> | <i>OXA-24</i> | <i>oxa-48</i> | <i>oxa-51</i> | <i>GES</i> |
| 1 | <i>A. baumannii complex</i> | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | SIM | NÃO | SIM | NÃO |
| 2 | <i>A. baumannii complex</i> | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |
| 9 | <i>A. baumannii complex</i> | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | SIM | NÃO | NÃO | SIM | NÃO |
| 10 | <i>A. baumannii complex</i> | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |
| 25 | <i>A. baumannii complex</i> | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | SIM | NÃO | NÃO | NÃO |
| 34 | <i>A. baumannii complex</i> | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | SIM | NÃO | SIM | NÃO |
| 46 | <i>A. baumannii complex</i> | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | SIM | NÃO | SIM | NÃO |
| 51 | <i>A. baumannii complex</i> | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | SIM | NÃO | SIM | NÃO |
| 55 | <i>A. baumannii complex</i> | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | SIM | NÃO | SIM | NÃO |
| 65 | <i>A. baumannii complex</i> | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |
| 82 | <i>A. baumannii complex</i> | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |
| 86 | <i>A. baumannii complex</i> | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | SIM |
| 89 | <i>A. baumannii complex</i> | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | SIM | SIM | NÃO | SIM | NÃO |
| 7 | <i>K. pneumoniae</i> | NÃO | SIM | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |
| 8 | <i>K. pneumoniae</i> | SIM | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |
| 12 | <i>K. pneumoniae</i> | SIM | SIM | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |
| 20 | <i>K. pneumoniae</i> | NÃO | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |
| 21 | <i>K. pneumoniae</i> | NÃO | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |
| 26 | <i>K. pneumoniae</i> | NÃO | SIM | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |
| 29 | <i>K. pneumoniae</i> | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |
| 35 | <i>K. pneumoniae</i> | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |
| 43 | <i>K. pneumoniae</i> | NÃO | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |
| 45 | <i>K. pneumoniae</i> | NÃO | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |
| 48 | <i>K. pneumoniae</i> | NÃO | SIM | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |
| 53 | <i>K. pneumoniae</i> | NÃO | SIM | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |
| 56 | <i>K. pneumoniae</i> | NÃO | SIM | NÃO | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |
| 57 | <i>K. pneumoniae</i> | NÃO | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |
| 58 | <i>K. pneumoniae</i> | NÃO | SIM | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |
| 61 | <i>K. pneumoniae</i> | NÃO | SIM | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |
| 62 | <i>K. pneumoniae</i> | NÃO | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |
| 66 | <i>K. pneumoniae</i> | NÃO | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |
| 69 | <i>K. pneumoniae</i> | NÃO | SIM | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |
| 71 | <i>K. pneumoniae</i> | NÃO | NÃO | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |
| 72 | <i>K. pneumoniae</i> | NÃO | NÃO | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |
| 81 | <i>K. pneumoniae</i> | NÃO | SIM | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |
| 83 | <i>K. pneumoniae</i> | SIM | SIM | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | SIM |
| 94 | <i>K. pneumoniae</i> | NÃO | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |
| 98 | <i>K. pneumoniae</i> | NÃO | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |
| 102 | <i>K. pneumoniae</i> | NÃO | SIM | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |
| 84 | <i>K. oxytoca</i> | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | SIM |
| 4 | <i>E. coli</i> | NÃO | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |
| 6 | <i>E. coli</i> | NÃO | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |
| 28 | <i>E. coli</i> | NÃO | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |
| 73 | <i>E. coli</i> | NÃO | NÃO | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |
| 100 | <i>E. coli</i> | NÃO | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |
| 50 | <i>P. aeruginosa</i> | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | SIM | NÃO | NÃO | NÃO |
| 59 | <i>P. aeruginosa</i> | NÃO | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |
| 42 | <i>Enterobacter cloacae complex</i> | NÃO | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |
| 47 | <i>Enterobacter hormaechei</i> | NÃO | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |
| 92 | <i>Serratia marcescens</i> | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | SIM |
| 55 | <i>Burkholderia cepacia complex</i> | NÃO | SIM | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO | NÃO |

Tabela 6 - Prevalência dos genes de resistência entre os 51 isolados bacterianos na fase intervenção

| Prevalência de genes de resistência (N, %) | | | | | | | | | |
|--|-------------|--------------------|----------------------|----------------------|--------------------|----------------------|----------------------|----------------------|--------------------|
| Micro-organismos N=51 | % | <i>bla</i> SHV | <i>bla</i> CTX-M | <i>bla</i> KPC | <i>bla</i> NDM | <i>bla</i> OXA-23 | <i>bla</i> OXA-24 | <i>bla</i> oxa-51 | <i>bla</i> GES |
| <i>A. baumannii</i> complex (n=13) | 25,4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 (46,1%) | 7 (53,8%) | 7 (53,8%) | 1 (7,7%) |
| <i>K. pneumoniae</i> (n=26) | 51,0 | 5 (19,2%) | 22 (84,6%) | 13 (50%) | 1 (3,8%) | 0 | 0 | 0 | 2 (7,6%) |
| <i>P. aeruginosa</i> (n=2) | 3,9 | 0 | 1 (50%) | 0 | 0 | 0 | 1 (50%) | 0 | 0 |
| <i>E. coli</i> (n=5) | 9,8 | 0 | 4 (80%) | 1 (20%) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Enterobacter</i> <i>sp.</i> (n=2) | 3,9 | 0 | 2 (100%) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>S. marcescens</i> (n=1) | 2,0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 (100%) |
| <i>B. cepacia</i> complex (n=1) | 2,0 | 0 | 1 (100%) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>K. oxytoca</i> (n=1) | 2,0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 (100%) |
| Total | | 5 (9,8%) | 30 (68,6%) | 14 (27,4%) | 1 (2,0%) | 6 (11,8%) | 8 (15,7%) | 7 (13,7%) | 5 (9,8%) |

5.3. Análise do tempo para processamento das amostras de hemoculturas (turnaround time –TAT)

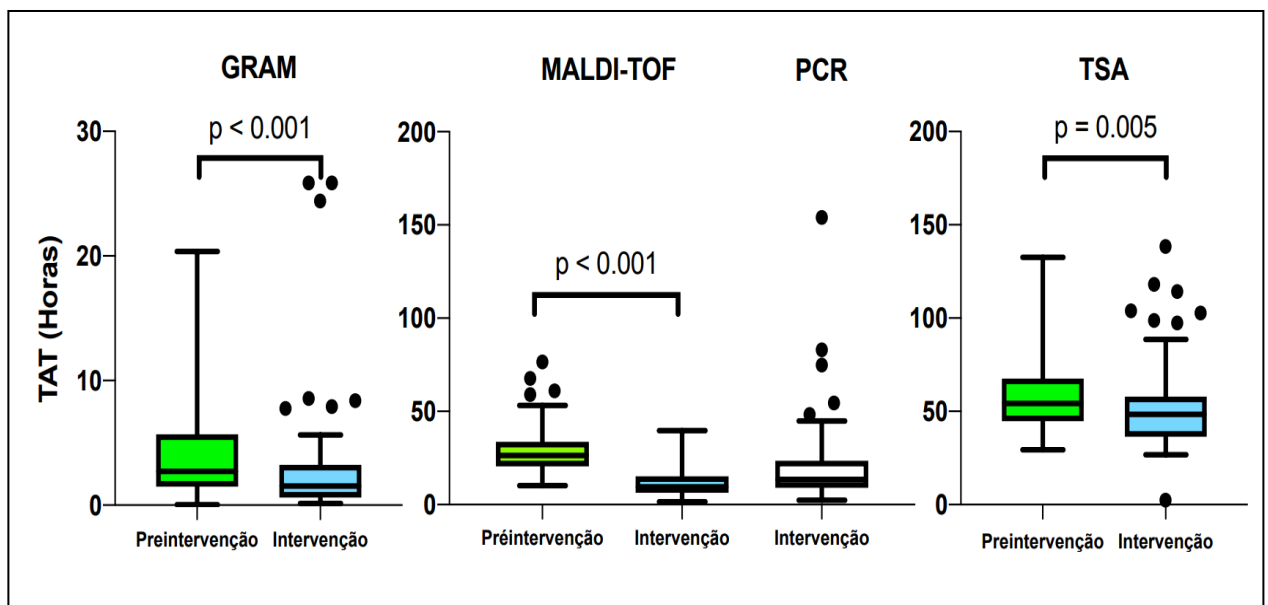
Em relação ao tempo para detecção dos micro-organismos isolados em hemoculturas na fase pré intervenção e intervenção, tivemos uma mediana de 11h53min (9h47min – 17h26min) e 12h29 min (10h07min – 18h18min), sendo $p=0,302$, respectivamente.

O intervalo de tempo entre todas as etapas do processamento das amostras está representado na tabela 7 e figura 7.

Tabela 7 - Intervalo de tempo entre os resultados microbiológicos (TAT, *turnaround time*)

| TAT (turnaround time) (mediana, horas) | Pré intervenção N=114 | Intervenção N=102 | Valor-p |
|---|-----------------------------------|---------------------------------|---------------------|
| Tempo para detecção bacteriana, mediana, (IIQ) | 11h 53min (9h47min – 17h26min) | 12h29min (10h07min-18h18min) | 0,302 ^a |
| Δt detecção bacteriana ao Gram, mediana, (IIQ) | 2h43min (1h30min – 5h40min) | 01h32min (37min – 3h11min) | <0,001 ^a |
| Δt detecção bacteriana ao MALDI-TOF, mediana, (IIQ) | 26h31min (20h33min – 33h42min) | 9h31min (6h28min – 15h10min) | <0,001 ^a |
| Δt detecção bacteriana ao PCR, mediana, (IIQ) | - | 8h49min (7h57min – 13h33min) | - |
| Δt global (detecção bacteriana até TSA), mediana, (IIQ) | 54h14min (44h49min – 67h12min) | 48h28min (36h33min-57h47min) | 0,005 ^a |

a: Teste de Mann-Whitney; IIQ: intervalo interquartil

**Figura 7** - TAT – *Turnaround time* (mediana) do processamento das amostras de hemoculturas – Fase pré intervenção e intervenção

As figuras 8 e 9 demonstram a representação gráfica do TAT em ambas as fases.

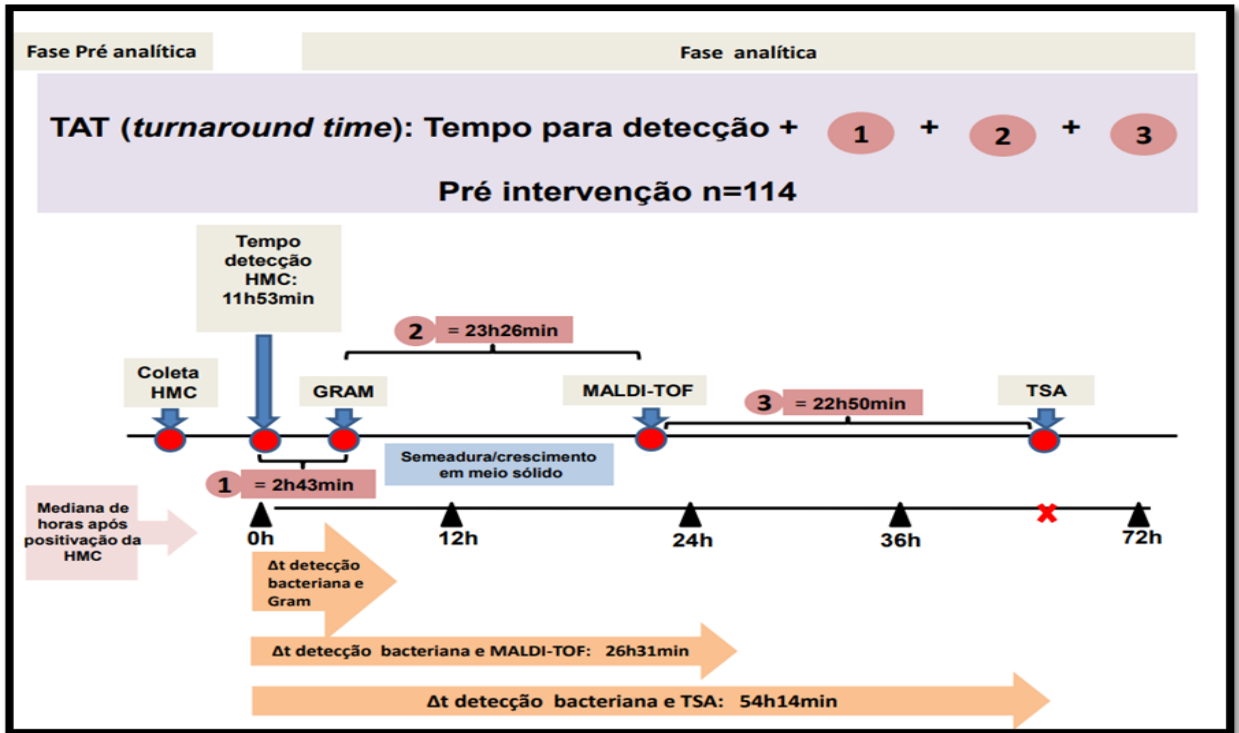


Figura 8 - TAT – Turnaround time (mediana) do processamento das amostras de hemoculturas – Fase pré intervenção

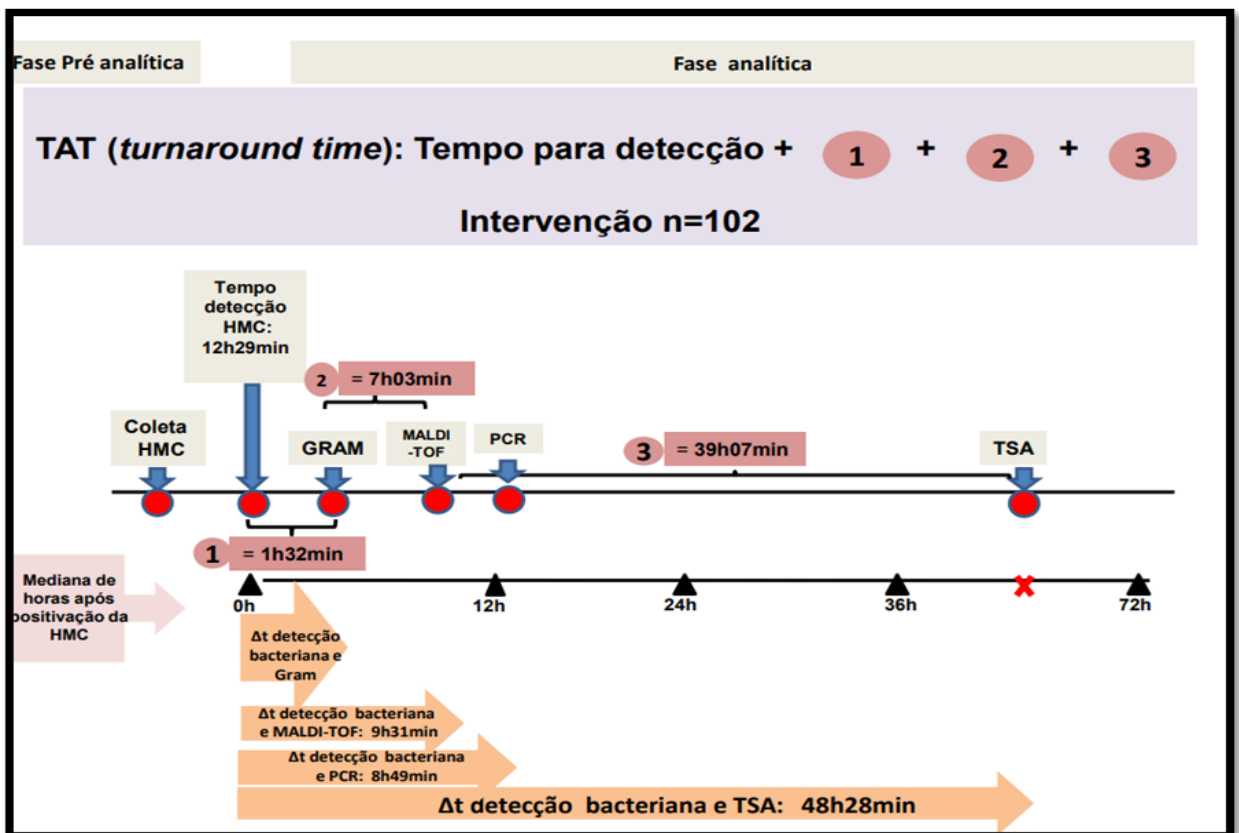


Figura 9 - TAT – Turnaround time (mediana) do processamento das amostras de hemoculturas – Fase intervenção

5.4. Análise de oportunidades para direcionamento da terapia antimicrobiana: escalonamento e descalonamento

Em nosso estudo avaliamos as oportunidades para o direcionamento do antimicrobiano pelo médico assistente nas unidades de terapia intensiva após o resultado baseado na identificação pela coloração de Gram, pelo MALDI-TOF, detecção de genes de resistência pelo PCR, e, finalmente pelo resultado do TSA.

Na tabela 8 analisamos 142 oportunidades de direcionamento na fase pré intervenção. Nesta fase, as oportunidades de direcionamento do tratamento antimicrobiano dos pacientes foram coletadas de registro médico em prontuário eletrônico relacionadas a cada um dos três momentos dos resultados dos testes laboratoriais publicados na página do prontuário eletrônico sem a comunicação direta e rápida pelo médico pesquisador. A categorização do momento do direcionamento da terapia, foi combinada com a informação de mudança da prescrição médica do antimicrobiano, assumindo como a motivação para tal, o resultado microbiológico disponível pelo Gram ou MALDI-TOF ou TSA imediatamente anterior ao registro em prescrição médica.

As condutas de direcionamento da terapia foram categorizadas em descalonamento e escalonamento, conforme descrito na tabela.

Tabela 8- Momento e conduta para direcionamento do antimicrobiano. Fase pré intervenção. N oportunidades= 142

| Conduta | Momento do direcionamento do ATM | | | | |
|-----------------------------|---|-------------------|------------------|------------------|--------------|
| | Após coloração Gram, N | Após MALDI-TOF, N | Após TSA, N | Total, N (%) | |
| Descalona- mento | Redução de espectro OU retirada de ATM para bactéria Gram-negativa | 6 | 17 | 33 | 56 (39,4) |
| | Retirada do ATM para bactéria Gram-positiva | 20 | 7 | 8 | 35 (24,6) |
| Escalona- mento | Ampliação de espectro OU associação de ATM para bactéria Gram-negativa e positiva | 8 | 22 | 21 | 51 (36) |
| | Total, N (%) | 34/142 (24) | 46/142 (32,4) | 62/142 (43,6) | 142 |

Observamos 24% (34) de mudanças para direcionamento da terapia empírica logo após o resultado de identificação pelo Gram. Entre essas mudanças, a principal decisão tomada pelo médico prescritor foi a de descalonamento (26), seja por descontinuação da cobertura inicial de provável bactéria Gram-positiva (20 decisões de mudança) ou por redução ou retirada de um antimicrobiano para bactéria Gram-negativa (6 decisões de mudança).

Após a identificação da bactéria em gênero e espécie pelo MALDI-TOF observamos maior número de mudanças para o direcionamento da terapia perfazendo 32,4% (46). Observamos um pequeno maior número de oportunidades de descalonamento (24) em relação ao escalonamento (22) após resultado do MALDI-TOF.

Em seguida, um maior número de direcionamento da terapia se concentrou após o resultado do TSA, havendo 43,6% (62) de oportunidades e a maioria caracterizada como descalonamento (41).

Na fase intervenção analisamos 140 condutas de mudanças no tratamento para direcionamento do antimicrobiano a cada um dos quatro momentos dos resultados dos testes laboratoriais.

Nesta fase foi realizado identificação bacteriana por MALDI-TOF e detecção genes de resistência por mPCR diretamente do frasco de hemoculturas, e, além disso, os resultados dos quatro momentos dos resultados microbiológicos foram comunicados rapidamente ao médico prescritor por meio de visitas diretas nas unidades de terapia intensiva ou por telefone usando a publicação do exame em mensagens de texto enviadas por *WhatsApp* e/ou ligação telefônica. Semelhante ao realizado na fase pré intervenção, as condutas de direcionamento da terapia foram categorizadas em descalonamento e escalonamento, conforme definidas na tabela 9.

Tabela 9- Momento e conduta para direcionamento do antimicrobiano. Fase intervenção. N oportunidades = 140

| Conduta | Momento do direcionamento do ATM | | | | Total, N (%) | |
|---------------------------------|---|-------------------|-------------------|-------------------|----------------|--------------|
| | Após coloração Gram, N | Após MALDI-TOF, N | Após PCR, N | Após TSA, N | | |
| Descalona- mento | Redução de espectro OU retirada de ATM para bactéria Gram-negativa | 0 | 6 | 12 | 25 | 43 (30,7) |
| | Retirada do ATM para bactéria Gram-positiva | 28 | 10 | 3 | 2 | 43 (30,7) |
| Escalona- mento | Ampliação de espectro OU associação de cobertura do ATM para BGN OU BGP | 2 | 20 | 19 | 13 | 54 (38,5) |
| Total, N (%) | 30/140 (21,4%) | 36/140 (25,7%) | 34/140 (23,4%) | 40/140 (28,6%) | 140 | |
| Intervenções aceitas (%) | 29 (96,7%) | 21 (58,3%) | 26 (76,5%) | 26 (65%) | 102 (72,8%) | |

Ao todo tivemos 86 (61,4%) mudanças da terapia antimicrobiana definidas como descalonamento e 54 (38,5%) escalonamentos.

Observamos 21,4% (30) de oportunidades para direcionamento da terapia empírica logo após o resultado de identificação pelo Gram, sendo a maioria classificadas como descalonamento baseada na decisão tomada pelo médico prescriptor de descontinuação da cobertura inicial para provável cobertura de bactéria Gram-negativa. (28 decisões de mudança).

Após identificação da bactéria em gênero e espécie pelo MALDI-TOF observamos 25,7% (36) de oportunidades para direcionamento da terapia, sendo que, 16 foram atribuídas ao descalonamento e 20 oportunidades de escalonamento.

Na fase de intervenção realizamos a identificação do micro-organismo e detecção de genes de resistência e tivemos 23,4% (34) de oportunidades para o direcionamento da terapia dentre as quais 15 foram descalonamentos e 19 escalonamentos. À semelhança da primeira fase, na fase intervenção, houve uma maior proporção de número de direcionamento da terapia após o resultado do TSA havendo 28,6% (40). Destas oportunidades, 27 foram descalonamentos e 13 escalonamentos.

Após os resultados microbiológicos comunicados pelo laboratório medimos a taxa de aceitação das propostas feitas pelo médico pesquisador do estudo para direcionamento da terapia antimicrobiana ao médico prescriptor na UTI. Ao todo tivemos uma taxa de aceitação de 72,8% das propostas sugeridas sendo que a maior parte se concentrou mais precocemente com a liberação do resultado de identificação pelo Gram (96,7%).

5.5. Análise do consumo e custos de antimicrobianos

A medida do consumo de antimicrobiano do nosso estudo foi baseada na definição de dias de tratamento administrados levando em consideração 1.000 dias presentes (DOT, *days of therapy*). Ao longo do seguimento dos pacientes nas fases pré intervenção e intervenção, obtivemos 1.034 e 784 dias-presentes, respectivamente.

Tabela 10 - Consumo de Antimicrobiano baseado em DOT – Dias de Terapia/1.000 dias-presentes* nas fases pré intervenção e intervenção

| Consumo de ATM (DOT – dias de terapia/1.000 dias-presentes, mediana, IIQ | Pré intervenção | Intervenção | Valor-p |
|--|-----------------------------|-----------------------------|--------------------------|
| Todos antimicrobianos, | N=114 1381 (1103 - 2251) | N=102 1262 (1063 - 1662) | 0,032^a |
| Antimicrobianos com espectro de ação para bactérias gram-negativas | N=114 1281 (1004 - 1775) | N=102 1172 (1006 - 1427) | 0,067 ^a |
| Antimicrobianos com espectro de ação para bactérias gram-positivas | N= 52 475 (238 - 761) | N=43 270 (139 - 467) | 0,004^a |
| Carbapenêmicos | N=76 836 (504 - 1056) | N=72 543 (301 - 991) | 0,040^a |
| Colistina/Polimixina B | N=45 722 (390 - 932) | N=40 881 (462-1001) | 0,299 ^a |
| Ceftazidima/avibactam | N=3 931 (725 – 1022) | N=8 911 (823 – 940) | 0,865 ^a |

Antimicrobianos com espectro de ação para bactérias gram-negativas: carbapenêmicos, colistina/polimixina B, ciprofloxacino/levofloxacino, ampicilina, ceftriaxone, piperacilina/tazobactam, tigeciclina, ceftazidima, ceftazidima/avibactam, fosfomicina, gentamicina. Antimicrobianos com espectro de ação para bactérias gram-positivas: oxacilina, vancomicina e linezolida; Carbapenêmicos: imipenem, meropenem e ertapenem.

a: Teste de Mann-Whitney; **IIQ:** intervalo interquartil

* dias-presentes: soma de dias entre hemocultura positiva para BGN até fim do tratamento ou até 21 dias

Observamos uma redução significativa do consumo de todos antimicrobianos e para cobertura de bactérias gram-positivas durante o seguimento dos pacientes nas fases pré intervenção e intervenção. Em relação a classes dos antimicrobianos, apenas para o grupo dos carbapenêmicos foi encontrada uma redução de consumo significativa entre os grupos.

Tabela 11 - Custo de Antimicrobiano baseado em DOT – Dias de Terapia/1.000 dias-presentes* nas fases pré intervenção e intervenção

| Custo de ATM (DOT – dias de terapia/1.000 dias-presentes) soma em reais | Pré intervenção | Intervenção | Valor-p | % diferença |
|--|-------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------|
| Todos antimicrobianos, | N=114 R\$ 124.475,52 | N=102 R\$ 161.855,46 | 0,030 ^a | + 30% |
| Antimicrobianos com espectro de ação para bactérias gram-negativas | N=114 R\$ 121.322,76 | N=102 R\$ 157.728,42 | 0,283 ^a | + 33% |
| Antimicrobianos com espectro de ação para bactérias gram-positivas | N= 52 R\$ 3.260,40 | N=43 R\$ 1.053,93 | 0,008^a | - 78% |
| Carbapenêmicos | N=76 R\$ 31.216,64 | N=72 R\$ 20.480,87 | 0,039^a | - 34% |
| Colistina/Polimixina B | N=45 R\$ 28.341,35 | N=40 R\$ 15.760,57 | 0,067 ^a | - 47% |
| Ceftazidima/avibactam | N=3 R\$ 23.251,80 | N=8 R\$ 103.738,80 | 0,008 ^a | + 346% |

Antimicrobianos com espectro de ação para bactérias gram-negativas: carbapenêmicos, colistina/polimixina B, ciprofloxacino/levofloxacino, ampicilina, ceftriaxone, piperacilina/tazobactam, tigeciclina, ceftazidima, ceftazidima/avibactam, fosfomicina, gentamicina. Antimicrobianos com espectro de ação para bactérias gram-positivas: oxacilina, vancomicina e linezolida; Carbapenêmicos: imipenem, meropenem e ertapenem.

a: Teste de Mann-Whitney; IIQ: intervalo interquartil

R\$= soma em reais

* dias-presentes: soma de dias entre hemocultura positiva para BGN até fim do tratamento ou até 21 dias

Em relação ao custo dos antimicrobianos na fase intervenção e pré intervenção, os resultados demonstraram uma redução significativa para drogas com cobertura de bactérias gram-positivas, com redução de 78% e $p=0,008$ e para os carbapenêmicos, com redução de 34% e $p=0,039$.

6. DISCUSSÃO

6. DISCUSSÃO

Este estudo foi desenhado com objetivo de avaliar, na prática, desempenho de um programa de uso racional de antimicrobiano baseado nas estratégias de comunicação rápida dos resultados laboratoriais ao médico prescritor e a utilização de ferramentas rápidas de diagnóstico microbiológico para acelerar a identificação do micro-organismo em infecções por BGN em hemoculturas em pacientes internados em UTIs ^{57,58}.

Os resultados encontrados demonstraram que a identificação rápida do agente infeccioso combinado à comunicação em tempo real dos resultados microbiológicos de ICS por BGN em pacientes em UTI, não apresentou associação de redução de mortalidade em 30 dias, mas teve impacto na redução significativa do tempo de internação hospitalar e em UTI e também no consumo e nos custos de antimicrobianos.

Perez e colegas ²³ também conduziram um estudo quasi-experimental pré-pós intervenção integrando identificação do micro-organismo por MALDI-TOF associado a administração antimicrobiana em pacientes com bacteremia por BGN. Assim como nosso estudo, eles demonstraram uma redução não significativa na mortalidade (10,7% vs. 5,6%, $p = 0,19$). No entanto, eles demonstraram significância estatística nas reduções no tempo de internação hospitalar (11,9 vs. 9,3 dias, $p = 0,01$) e nos custos totais (\$ 45.709 vs \$ 26.126, $p = 0,009$). O encontro do benefício de redução de mortalidade é difícil em estudos do tipo pré e pós intervenção nos quais fatores confundidores não podem ser controlados. Ademais, em nosso cálculo amostral levamos em consideração o desfecho de tempo de internação hospitalar. Para melhor avaliação do desfecho mortalidade, o tamanho da amostra estudada pode ter sido insuficiente.

Em uma meta-análise de 31 estudos avaliando o efeito das ferramentas de diagnóstico microbiológico rápido em desfechos clínicos, Timbrook *et al.* ⁵⁹, ressaltaram a dificuldade de demonstrar benefícios relacionados a redução da

mortalidade em estudos de pré e pós intervenção dada a dificuldade de controlar os fatores confundidores. Entretanto, os resultados dessa metanálise demonstraram haver um risco de morte menor apenas quando os hospitais empregavam técnicas de diagnósticos rápido na presença de uma prática bem estabelecida de um programa de uso racional de antimicrobianos (OR: 0,64; IC95% 0,51-0,79) em relação a ausência destes programas (OR: 0,72; IC95% 0,46 - 1,12). Os autores desta meta-análise chamam a atenção, especificamente, em relação ao efeito entre o uso de ferramentas rápidas de diagnóstico microbiológico e os programas de uso racional de antimicrobianos em desfechos clínicos resultantes dos estudos selecionados ⁵⁹. Por outro lado, Beganovic et al. ⁶⁰ demonstraram a importância da presença do programa de uso racional associado a utilização do MALDI-TOF por diminuir o tempo de identificação do micro-organismo. Neste estudo, não foi medido o impacto na mortalidade, porém o grupo que teve os resultados de identificação do agente infeccioso pelo MALDI-TOF associado a comunicação aos médicos prescritores em tempo real, obteve menor tempo de internação hospitalar e em UTI ⁶⁰.

Nosso estudo, mesmo acompanhado de um programa de uso racional de antimicrobiano, não observou impacto na redução da taxa de mortalidade até 30 dias do episódio de ICS, sendo 25% vs. 35%, $p=0,115$, para fase pré e intervenção, respectivamente.

Uma outra metanálise recentemente publicada incluindo seis estudos do tipo randomizados e controlados com 1.638 participantes, também não observou benefícios em redução da mortalidade associada ao uso dos testes rápidos diagnósticos, independente da presença de programas de uso racional de antimicrobianos ⁶¹.

Apesar da redução da mortalidade ser o desfecho mais importante, infelizmente nosso estudo também não conseguiu demonstrar tal benefício, provavelmente devido à gravidade dos pacientes internados em unidades de terapia intensiva onde o agravante da ICS é certamente um importante fator de risco para mortalidade.

O primeiro caso de COVID-19 no Brasil foi detectado em fevereiro de 2020, na cidade de São Paulo, e nosso hospital tornou-se referência para o atendimento da COVID-19 com todos os leitos destinados ao atendimento desta doença. Por isso, o estudo foi interrompido, regressando apenas a partir de setembro de 2020. Durante o período de intervenção, vivenciamos a coexistência do SARS-CoV-2 em nossas UTIs ^{62,63}, o que certamente contribuiu para a maior gravidade dos pacientes (vide SAPS 3) e que pode ter influenciado na não redução da mortalidade.

A análise univariada, demonstrou que ICS de origem pulmonar, presença de infecção pelo SARS CoV-2 e maior prevalência de bacteremia por *P. aeruginosa* estiveram associadas a risco de morte em 30 dias. Esses achados estiveram presentes no cenário de maior prevalência de SARS-CoV-2 onde o pulmão é o órgão alvo e pode resultar em infecções secundárias. De fato, *P. aeruginosa* mostrou-se mais prevalente no período de intervenção uma vez que a bacteremia de foco pulmonar também está associada ao SARS-CoV-2, conforme descrito por Rouze *et al.* ⁶⁴. Ressaltamos que nesse período não foram registrados surtos desse agente e, tanto a bacteremia por *P. aeruginosa* quanto a origem da ICS não permaneceram como fatores de risco independentes na análise multivariada. No entanto, quando analisados os demais desfechos de tempo de internação hospitalar e na UTI, a intervenção foi benéfica.

Em relação aos micro-organismos isolados, embora *K. pneumoniae* e *A. baumannii* demonstraram prevalência semelhante nos dois períodos, notamos um aumento de *P. aeruginosa* no período de intervenção. Este fato pode ser explicado pela pandemia pelo SARS CoV-2, em que vários estudos também demonstraram um aumento de ICS por *P. aeruginosa* ⁶⁵.

Por outro lado, a resistência global aos carbapenêmicos foi de 35,2% (76/216) não sendo estatisticamente diferente nas duas fases, tanto para Enterobacterales quanto para BGN não fermentadores. A taxa de resistência para Enterobacterales representa um verdadeiro desafio para as decisões de tratamento empírico em UTIs, uma vez que bactérias gram-negativas

resistentes aos carbapenêmicos são prevalentes em UTIs adultos, sendo a *K. pneumoniae* o patógeno mais prevalente ⁶⁵ e a antibioticoterapia empírica combinada, uma realidade. Dados de estudo brasileiro de prevalência pontual, mostraram uma alta prevalência de uso de antimicrobianos em UTIs destacando a alta proporção de terapia combinada (51%) para lidar com a alta taxa de MDROs neste cenário ⁴⁸. Sendo assim, espera-se que os resultados de testes moleculares rápidos sejam benéficos nas tomadas de decisões.

Em nosso estudo, quando realizamos a detecção de genes de resistência na fase de intervenção obtivemos alta prevalência de isolados microbiológicos produtores de ESBL (68,6%), seguido da presença de oxacilinases (41,2%) e do gene *bla_{KPC}* (27,4%). O conhecimento do mecanismo de resistência antes do teste de sensibilidade antimicrobiana é uma ferramenta muito útil para ser usada já após a hemocultura positiva e altamente recomendada para o pronto ajuste do regime antimicrobiano ^{58,66,67}. Entretanto, mais estudos são necessários para averiguar a longo prazo, o real impacto desta metodologia na redução da resistência bacteriana.

Na análise dos resultados econômicos, notamos uma redução geral no consumo de antimicrobianos. Isso ocorreu, porque nossa intervenção era focada em ICS por BGN o que influenciou significativamente na descontinuação de antimicrobianos contra bactérias gram-positivas (vancomicina). A comunicação imediata do patógeno envolvido na infecção e a discussão sobre a racionalização da terapia certamente melhoram o tratamento proposto justamente por se basear em resultados confiáveis e rápidos e promover ajustes na terapia antimicrobiana mais precocemente.

A análise global demonstrou um aumento no custo dos antimicrobianos (incremento de 30%), e quando analisamos os custos agrupando os antimicrobianos por espectro de ação, houve um aumento nos custos de antimicrobianos para bactérias gram-negativas devido a introdução de ceftazidima-avibactam no nosso arsenal terapêutico. Em contrapartida, houve uma redução de custos dos antimicrobianos para bactérias gram-positivas.

Optamos por analisar especificamente o consumo e custos de carbapenêmicos, polimixinas e ceftazidima-avibactam porque esses antimicrobianos são os mais usados empiricamente em nosso cenário de micro-organismos multirresistentes. Os resultados demonstraram uma redução significativa no consumo de carbapenêmicos que pode ser explicado pela maior prevalência de *P. aeruginosa* sensível. Embora esse micro-organismo tenha sido mais prevalente, não houve alteração na sensibilidade já que apenas 3,7% dos isolados de *P. aeruginosa* foram resistentes aos carbapenêmicos. A classe das polimixinas não apresentou redução no consumo, mas demonstrou redução no custo resultante do uso de polimixina B no período de intervenção, que é uma molécula mais barata do que a colistina em nossa instituição.

A diminuição do tempo para os resultados microbiológicos (TAT) provavelmente impactou em nossos desfechos encontrados, principalmente naqueles relacionados ao uso de antimicrobianos, por permitir o direcionamento da terapia antimicrobiana em uso^{23, 59, 67}. Em nosso estudo, a mediana do TAT dos resultados de MALDI-TOF, realizados diretamente a partir de hemoculturas sinalizadas como positivas, foi 17 horas menor em comparação com o grupo de estudo pré intervenção (26 h 31 min vs. 9 h 31 min, $p < 0,001$).

Considerando que muitos laboratórios de microbiologia possuem a metodologia de MALDI-TOF, o procedimento descrito em nosso estudo para realizar a identificação de micro-organismos diretamente da amostra de hemocultura positiva deve ser executado e incorporado rotineiramente para propiciar um impacto positivo nas decisões terapêuticas. Também demonstramos uma redução no tempo médio de detecção bacteriana e nos resultados de testes de sensibilidade antimicrobiana (TSA) no período de intervenção (54 h 14 min vs. 48 h 28 min, $p = 0,005$) provavelmente devido à intervenção em etapas anteriores de identificação bacteriana. Munson et al. demonstraram que a comunicação do resultado de coloração do Gram por telefone ao clínico teve uma influência ainda maior na mudança da prescrição do antimicrobiano do que quando finalizado o resultado do teste de

sensibilidade antimicrobiana ⁶⁹. Esta questão reforça a importância da comunicação eficaz e rápida do resultado da coloração de Gram, que é um método simples, barato, disponível em qualquer laboratório de microbiologia. Embora a incorporação da detecção de genes de resistência seja uma estratégia dispendiosa, e diante do cenário atual de multirresistência, a presença da técnica de PCR multiplex diretamente do frasco de hemocultura, pode ser útil para a tomada de decisões a beira leito e justificar o investimento ^{28, 70}.

Em relação a conduta de direcionamento do ATM, observamos maiores oportunidades para desescalamento e menores de escalonamento em etapas precoces do resultado microbiológico já disponível pelo GRAM, sendo mais pronunciada na fase intervenção com o modelo de *stewardship* ativo, com a comunicação direta ativa e em tempo real ao médico prescritor do resultado para direcionamento da terapia. Huang e colegas, analisando a conduta médica das oportunidades de direcionamento da terapia tiveram a mesma percepção quanto na presença do médico do programa de *stewardship* ¹. Chama atenção, o maior número de oportunidades para o escalonamento da terapia quando se usa métodos moleculares como o PCR. De fato, em ambientes hospitalares com alta prevalência de MDR esta ferramenta pode ser capaz de produzir efeito benéfico, ainda que por ampliação do ATM ⁷⁰.

Nosso estudo possui algumas limitações. Trata-se de um estudo observacional do tipo quasi-experimental que utilizou uma amostra de conveniência sem randomização. Isso pode ter levado a viés de seleção da amostra e ter contribuído para impossibilidade de controlar fatores confundidores. A melhor metodologia para avaliar a eficácia das intervenções em saúde a nível populacional são estudos de séries interrompidas, amplamente utilizados para avaliar medidas terapêuticas ⁷². No entanto, fomos surpreendidos pela pandemia da infecção pelo SARS CoV-2, o que certamente contribuiu para a heterogeneidade da amostra na fase de intervenção onde os pacientes eram mais graves, contribuindo para que na análise multivariada esta variável se apresentasse como a única preditora de mortalidade.

Outra limitação foi que introduzimos, concomitantemente, o MALDI-TOF e mPCR diretamente de hemoculturas associado à comunicação rápida ao médico prescritor dos resultados microbiológicos, dificultando assim o impacto de cada intervenção individual.

Uma outra limitação foi que não correlacionamos resultados genotípicos com resultados fenotípicos de micro-organismos isolados, e não calculamos os custos indiretos relacionados ao menor tempo de permanência hospitalar. Estudos de farmacoeconomia avaliando custo-efetividade em programas de *antimicrobial stewardship* têm mostrado grandes benefícios e devem ser incentivados⁷³.

Ressaltamos que nossa intervenção não mostrou impacto na mortalidade em 30 dias, mas demonstrou impacto no tempo de internação hospitalar e na UTI, bem como no consumo e custos de alguns antimicrobianos. Acreditamos que o tempo para os resultados microbiológicos (TAT) pode ser abreviado ao usar MALDI-TOF diretamente de hemoculturas combinadas com uma estratégia de programa de uso racional de antimicrobianos. Incorporar o conhecimento dos genes de resistência antes do perfil de sensibilidade agrega valor e informações para a tomada de decisões seguras que podem resultar em benefícios diretos e indiretos relacionados ao uso excessivo de antibióticos e a resistência bacteriana.

Entretanto, mais estudos são necessários com um tamanho amostral maior, maior tempo de avaliação e comparando populações semelhantes sem o viés da infecção pelo SARS CoV-2 para melhor analisar o desfecho de mortalidade.

7. CONCLUSÕES

7. CONCLUSÕES

A estratégia de um programa de uso racional de antimicrobianos combinando comunicação rápida dos resultados microbiológicos ao médico prescritor e a utilização de ferramentas diagnósticas (MALDI-TOF e incorporação de biologia molecular realizados diretamente do frasco de hemocultura) não mostrou redução na mortalidade em 30 dias, mas demonstrou redução do tempo de internação hospitalar e nas UTIs; no consumo global e nos custos diretos dos antimicrobianos com cobertura para bactérias gram-positivas e carbapenêmicos.

A incorporação do conhecimento dos genes de resistência antes dos resultados do TSA agrega valor e informações para uma tomada de decisão segura podendo resultar em melhores benefícios clínicos, entretanto com incremento financeiro relacionados ao uso de antibióticos de amplo espectro e mais caros em cenários de bactérias multirresistentes.

A redução do tempo para o resultado microbiológico (TAT – *turnaround time*) da identificação realizada pela técnica de MALDI-TOF diretamente dos frascos de hemocultura foi estatisticamente significativamente, contribuindo para a rapidez dos resultados e tomada de decisão no direcionamento da terapia antimicrobiana.

A mudança da técnica de MALDI-TOF convencional após semeadura em placa para realização direta do frasco da hemocultura pelo laboratório de microbiologia necessita ser implementada na rotina como uma estratégia exitosa do programa de uso racional de antimicrobiano em nossa instituição.

8. REFERÊNCIAS

8. REFERÊNCIAS

1. Huang AM, Newton D, Kunapuli A, Gandhi TN, Washer LL, Isip J, et al. Impact of rapid organism identification via matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight combined with antimicrobial stewardship team intervention in adult patients with bacteremia and candidemia. *Clin Infect Dis.* 2013;57(9):1237-45.
2. Leibovici L, Shraga I, Drucker M, Konigsberger H, Samra Z, Pitlik SD. The benefit of appropriate empirical antibiotic treatment in patients with bloodstream infection. *J Intern Med.* 1998;244(5):379-86.
3. Karanika S, Paudel S, Grigoras C, Kalbasi A, Mylonakis E. Systematic Review and Meta-analysis of Clinical and Economic Outcomes from the Implementation of Hospital-Based Antimicrobial Stewardship Programs. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016;60(8):4840-52.
4. Morris AM. Antimicrobial Stewardship Programs: Appropriate Measures and Metrics to Study their Impact. *Curr Treat Options Infect Dis.* 2014;6(2):101-12.
5. Bauer KA, Perez KK, Forrest GN, Goff DA. Review of rapid diagnostic tests used by antimicrobial stewardship programs. *Clin Infect Dis.* 2014;15;59 Suppl 3:S134-45.
6. Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy MM, Antonelli M, Ferrer R, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. *Intensive Care Med.* 2017;43(3):304-77.
7. Gross R, Morgan AS, Kinky DE, Weiner M, Gibson GA, Fishman NO. Impact of a hospital-based antimicrobial management program on clinical and economic outcomes. *Clin Infect Dis.* 2001;1;33(3):289-95.
8. Marra AR, Camargo LF, Pignatari AC, Sukiennik T, Behar PR, Medeiros EA, et al. Nosocomial bloodstream infections in Brazilian hospitals: analysis of 2,563 cases from a prospective nationwide surveillance study. *J Clin Microbiol.* 2011;49(5):1866-71.
9. ANVISA. Boletim de Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de Saúde nº 14: Avaliação dos indicadores nacionais das Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) e Resistência microbiana. 2015.

10. CVE. Sistema de Vigilância das Infecções Hospitalares do Estado de São Paulo. 2016.
11. Barlam TF, Cosgrove SE, Abbo LM, MacDougall C, Schuetz AN, Septimus EJ, et al. Implementing an Antibiotic Stewardship Program: Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America. *Clin Infect Dis*. 2016;15;62(10):e51-77.
12. McGowan JE. Antimicrobial stewardship--the state of the art in 2011: focus on outcome and methods. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2012;33(4):331-7.
13. ANVISA. Diretriz Nacional para o Uso de Antimicrobianos em Serviços de Saúde. 2016.
14. Cosgrove SE, Hermsen ED, Rybak MJ, File TM, Jr., Parker SK, Barlam TF. Guidance for the knowledge and skills required for antimicrobial stewardship leaders. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2014;35(12):1444-51.
15. Dodds Ashley ES, Kaye KS, DePestel DD, Hermsen ED. Antimicrobial stewardship: philosophy versus practice. *Clin Infect Dis*. 2014;15;59 Suppl 3:S112-21.
16. Elligsen M, Walker SA, Pinto R, Simor A, Mubareka S, Rachlis A, et al. Audit and feedback to reduce broad-spectrum antibiotic use among intensive care unit patients: a controlled interrupted time series analysis. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2012;33(4):354-61.
17. Leuthner KD, Doern GV. Antimicrobial stewardship programs. *J Clin Microbiol*. 2013;51(12):3916-20.
18. Chung GW, Wu JE, Yeo CL, Chan D, Hsu LY. Antimicrobial stewardship: a review of prospective audit and feedback systems and an objective evaluation of outcomes. *Virulence*. 2013;15;4(2):151-7.
19. Bantar C, Sartori B, Vesco E, Heft C, Saul M, Salamone F, et al. A hospitalwide intervention program to optimize the quality of antibiotic use: impact on prescribing practice, antibiotic consumption, cost savings, and bacterial resistance. *Clin Infect Dis*. 2003;15;37(2):180-6.
20. Reed EE, Stevenson KB, West JE, Bauer KA, Goff DA. Impact of formulary restriction with prior authorization by an antimicrobial stewardship program. *Virulence*. 2013;15;4(2):158-62.

21. ANVISA. Diretriz Nacional para Elaboração de Programa de Gerenciamento do Uso de Antimicrobianos em Serviços de Saúde. 2017.
22. De Waele JJ, Schouten J, Beovic B, Tabah A, Leone M. Antimicrobial de-escalation as part of antimicrobial stewardship in intensive care: no simple answers to simple questions-a viewpoint of experts. *Intensive Care Med.* 2020;46(2):236-44.
23. Perez KK, Olsen RJ, Musick WL, Cernoch PL, Davis JR, Land GA, et al. Integrating rapid pathogen identification and antimicrobial stewardship significantly decreases hospital costs. *Arch Pathol Lab Med.* 2013;137(9):1247-54.
24. Bertollo LG, Lutkemeyer DS, Levin AS. Are antimicrobial stewardship programs effective strategies for preventing antibiotic resistance? A systematic review. *Am J Infect Control.* 2018;46(7):824-36.
25. Schechner V, Temkin E, Harbarth S, Carmeli Y, Schwaber MJ. Epidemiological interpretation of studies examining the effect of antibiotic usage on resistance. *Clin Microbiol Rev.* 2013;26(2):289-307.
26. Moehring RW, Anderson DJ, Cochran RL, Hicks LA, Srinivasan A, Dodds Ashley ES. Expert Consensus on Metrics to Assess the Impact of Patient-Level Antimicrobial Stewardship Interventions in Acute-Care Settings. *Clin Infect Dis.* 2017,1;64(3):377-83.
27. Wenzler E, Wong JR, Goff DA, Jankowski CA, Bauer KA. Controversies in Antimicrobial Stewardship: Focus on New Rapid Diagnostic Technologies and Antimicrobials. *Antibiotics (Basel).* 2016,14;5(1).
28. Messacar K, Parker SK, Todd JK, Dominguez SR. Implementation of Rapid Molecular Infectious Disease Diagnostics: The Role of Diagnostic and Antimicrobial Stewardship. *J Clin Microbiol.* 2017;55(3):715-23.
29. Weiss E, Zahar JR, Lesprit P, Ruppe E, Leone M, Chastre J, et al. Elaboration of a consensual definition of de-escalation allowing a ranking of beta-lactams. *Clin Microbiol Infect.* 2015;21(7):649 e1-10.
30. Rivard KR, Athans V, Lam SW, Gordon SM, Procop GW, Richter SS, et al. Impact of antimicrobial stewardship and rapid microarray testing on patients with Gram-negative bacteremia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2017;36(10):1879-87.

31. Almeida-Júnior JN. Padronização da espectrometria de massa MALDI-TOF para identificação de cepas de *Trichosporon* spp. de importância médica: USP; 2014.
32. Croxatto A, Prod'hom G, Greub G. Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology. *FEMS Microbiol Rev.* 2011;36(2):380-407.
33. Melo LF. A Utilização da Espectrometria de Massa Maldi-TOF na Identificação de Micro-organismos no Controle de Qualidade Farmacêutico: UFMG; 2014.
34. Timsit JF, Ruppe E, Barbier F, Tabah A, Bassetti M. Bloodstream infections in critically ill patients: an expert statement. *Intensive Care Med.* 2020;46(2):266-84.
35. Tamma PD, Tan K, Nussenblatt VR, Turnbull AE, Carroll KC, Cosgrove SE. Can matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF) enhance antimicrobial stewardship efforts in the acute care setting? *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2013;34(9):990-5.
36. Ohji G, Doi A, Yamamoto S, Iwata K. Is de-escalation of antimicrobials effective? A systematic review and meta-analysis. *Int J Infect Dis.* 2016;49:71-9.
37. De Bus L, Denys W, Catteeuw J, Gadeyne B, Vermeulen K, Boelens J, et al. Impact of de-escalation of beta-lactam antibiotics on the emergence of antibiotic resistance in ICU patients: a retrospective observational study. *Intensive Care Med.* 2016;42(6):1029-39.
38. Paul M, Dickstein Y, Raz-Pasteur A. Antibiotic de-escalation for bloodstream infections and pneumonia: systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect.* 2016;22(12):960-7.
39. Tabah A, Bassetti M, Kollef MH, Zahar JR, Paiva JA, Timsit JF, et al. Antimicrobial de-escalation in critically ill patients: a position statement from a task force of the European Society of Intensive Care Medicine (ESICM) and European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) Critically Ill Patients Study Group (ESGCIP). *Intensive Care Med.* 2020;46(2):245-65.
40. Leone M, Bechis C, Baumstarck K, Lefrant JY, Albanese J, Jaber S, et al. De-escalation versus continuation of empirical antimicrobial treatment in

severe sepsis: a multicenter non-blinded randomized noninferiority trial. *Intensive Care Med.* 2014;40(10):1399-408.

41. Gonzalez L, Cravoisy A, Barraud D, Conrad M, Nace L, Lemarie J, et al. Factors influencing the implementation of antibiotic de-escalation and impact of this strategy in critically ill patients. *Crit Care.* 2013,12;17(4):R140.

42. Vlahovic-Palcevski V, Pulcini C. What is the most appropriate metric for the assessment of volume of antibiotic use? *J Antimicrob Chemother.* 2020,1;75(10):2723-4.

43. Versporten A, Gyssens IC, Pulcini C, Monnier AA, Schouten J, Milanic R, et al. Metrics to assess the quantity of antibiotic use in the outpatient setting: a systematic review followed by an international multidisciplinary consensus procedure. *J Antimicrob Chemother.* 2018,1;73(suppl_6):vi59-vi66.

44. Stordeur F, Miliani K, Lacave L, Rogues AM, Dumartin C, Alfandari S, et al. How to measure hospital antibiotic consumption: comparison of two methods from data surveillance in France. *JAC Antimicrob Resist.* 2020;2(3):dlaa059.

45. Valles J, Fernandez S, Cortes E, Moron A, Fondevilla E, Oliva JC, et al. Comparison of the defined daily dose and days of treatment methods for evaluating the consumption of antibiotics and antifungals in the intensive care unit. *Med Intensiva (Engl Ed).* 2020;44(5):294-300.

46. Vettese N, Hendershot J, Irvine M, Wimer S, Chamberlain D, Massoud N. Outcomes associated with a thrice-weekly antimicrobial stewardship programme in a 253-bed community hospital. *J Clin Pharm Ther.* 2013;38(5):401-4.

47. Polk RE, Fox C, Mahoney A, Letcavage J, MacDougall C. Measurement of adult antibacterial drug use in 130 US hospitals: comparison of defined daily dose and days of therapy. *Clin Infect Dis.* 2007,1;44(5):664-70.

48. Porto APM, Goossens H, Versporten A, Costa SF. Global point prevalence survey of antimicrobial consumption in Brazilian hospitals. *J Hosp Infect.* 2020;104(2):165-71.

49. Paterson DL, Ko WC, Von Gottberg A, Mohapatra S, Casellas JM, Goossens H, et al. International prospective study of *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: implications of extended-spectrum beta-lactamase production in nosocomial Infections. *Ann Intern Med.* 2004;140(1):26-32.

50. Silva Junior JM, Malbouisson LM, Nuevo HL, Barbosa LG, Marubayashi LY, Teixeira IC, et al. Applicability of the simplified acute physiology score (SAPS 3) in Brazilian hospitals. *Rev Bras Anesthesiol.* 2010;60(1):20-31.
51. CDC/NHSN. CDC/NHSN Surveillance Definitions for Specific Types of Infections 2021.
52. Levin ASS. Guia de utilização de anti-infecciosos e recomendações para a prevenção de infecções relacionadas à assistência à saúde. 7a edição Sao Paulo; 2018.
53. Prod'hom G, Bizzini A, Durussel C, Bille J, Greub G. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for direct bacterial identification from positive blood culture pellets. *J Clin Microbiol.* 2010;48(4):1481-3.
54. Galiana A, Coy J, Gimeno A, Guzman NM, Rosales F, Merino E, et al. Evaluation of the Sepsis Flow Chip assay for the diagnosis of blood infections. *PLoS One.* 2017;12(5):e0177627.
55. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. M100-S24: performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 24th informational supplement. In: M100-S20 Cd, editor.: Wayne PA; 2014.
56. Robinson ED, Stilwell AM, Attai AE, Donohue LE, Shah MD, Hill BK, et al. Implementation of a Rapid Phenotypic Susceptibility Platform for Gram-Negative Bloodstream Infections With Paired Antimicrobial Stewardship Intervention: Is the Juice Worth the Squeeze? *Clin Infect Dis.* 2021;7;73(5):783-92.
57. Wimmer JL, Long SW, Cernoch P, Land GA, Davis JR, Musser JM, et al. Strategy for rapid identification and antibiotic susceptibility testing of gram-negative bacteria directly recovered from positive blood cultures using the Bruker MALDI Biotyper and the BD Phoenix system. *J Clin Microbiol.* 2012;50(7):2452-4.
58. Rodrigues C, Siciliano RF, Filho HC, Charbel CE, de Carvalho Sarahyba da Silva L, Baiardo Redaelli M, et al. The effect of a rapid molecular blood test on the use of antibiotics for nosocomial sepsis: a randomized clinical trial. *J Intensive Care.* 2019;7:37.

59. Timbrook TT, Morton JB, McConeghy KW, Caffrey AR, Mylonakis E, LaPlante KL. The Effect of Molecular Rapid Diagnostic Testing on Clinical Outcomes in Bloodstream Infections: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Infect Dis*. 2017;1;64(1):15-23.
60. Beganovic M, Costello M, Wieczorkiewicz SM. Effect of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) Alone versus MALDI-TOF MS Combined with Real-Time Antimicrobial Stewardship Interventions on Time to Optimal Antimicrobial Therapy in Patients with Positive Blood Cultures. *J Clin Microbiol*. 2017;55(5):1437-45.
61. Anton-Vazquez V, Hine P, Krishna S, Chaplin M, Planche T. Rapid versus standard antimicrobial susceptibility testing to guide treatment of bloodstream infection. *Cochrane Database Syst Rev*. 2021;4;5:CD013235.
62. Polly M, de Almeida BL, Lennon RP, Cortes MF, Costa SF, Guimaraes T. Impact of the COVID-19 pandemic on the incidence of multidrug-resistant bacterial infections in an acute care hospital in Brazil. *Am J Infect Control*. 2021;50(1):32-8.
63. Musuuza JS, Watson L, Parmasad V, Putman-Buehler N, Christensen L, Safdar N. Prevalence and outcomes of co-infection and superinfection with SARS-CoV-2 and other pathogens: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2021;16(5):e0251170.
64. Rouze A, Martin-Loeches I, Pova P, Makris D, Artigas A, Bouchereau M, et al. Relationship between SARS-CoV-2 infection and the incidence of ventilator-associated lower respiratory tract infections: a European multicenter cohort study. *Intensive Care Med*. 2021;47(2):188-98.
65. Coordenadoria de Vigilância em Saúde do Município de São Paulo. Disponível online: https://www.prefeitura.sp.gov.br/cidade/secretarias/saude/vigilancia_em_saude (Acesso em 1 Maio 2022).
66. Perez KK, Olsen RJ, Musick WL, Cernoch PL, Davis JR, Peterson LE, et al. Integrating rapid diagnostics and antimicrobial stewardship improves outcomes in patients with antibiotic-resistant Gram-negative bacteremia. *J Infect*. 2014;69(3):216-25.

67. Vlek AL, Bonten MJ, Boel CH. Direct matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry improves appropriateness of antibiotic treatment of bacteremia. *PLoS One*. 2012;7(3):e32589.
68. Clerc O, Prod'hom G, Vogne C, Bizzini A, Calandra T, Greub G. Impact of matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry on the clinical management of patients with Gram-negative bacteremia: a prospective observational study. *Clin Infect Dis*. 2013;56(8):1101-7.
69. Munson EL, Diekema DJ, Beekmann SE, Chapin KC, Doern GV. Detection and treatment of bloodstream infection: laboratory reporting and antimicrobial management. *J Clin Microbiol*. 2003;41(1):495-7.
70. Cattoir L, Coorevits L, Leroux-Roels I, Claeys G, Verhasselt B, Boelens J. Improving timelines in reporting results from positive blood cultures: simulation of impact of rapid identification on therapy on a real-life cohort. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2018;37(12):2253-60.
71. Rivard KR, Athans V, Lam SW, Gordon SM, Procop GW, Richter SS, Neuner E. Impact of antimicrobial stewardship and rapid microarray testing on patients with Gram-negative bacteremia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2017;36(10):1879-1887.
72. Bernal JL, Cummins S, Gasparrini A. Interrupted time series regression for the evaluation of public health interventions: a tutorial. *Int J Epidemiol*. 2017;46(1):348-355. Erratum in: *Int J Epidemiol*. 2020;49(4):1414.
73. Okumura LM, Riveros BS, Gomes-da-Silva MM, Veroneze I. A cost-effectiveness analysis of two different antimicrobial stewardship programs. *Braz J Infect Dis*. 2016;20(3):255-61.

9. ANEXOS

9. ANEXO

Anexo I

Instrumento de coleta de dados na fase pré intervenção e intervenção

| ANEXO 1- FICHA DE COLETA DADOS - STEWARDSHIP | | |
|---|--------------------------------|--|
| DADOS DA INTERNAÇÃO E EVOLUÇÃO | | |
| Nome: _____ | | RGHC: _____ |
| DT Nasc: _____ | Sexo: () M () F | Clínica: _____ |
| DT Admissão HC: ___/___/___ | DT Internação UTI: ___/___/___ | DT Saída UTI: ___/___/___ |
| Unid. de origem: _____ | Origem infec. _____ | CVC? () S () N Retirado CVC? () N () S DT: _____ |
| SAP3: _____ | PITT: _____ | Diálise: () Sim () Não |
| Diagnóstico na admissão hospitalar: | | |
| Trauma () | Respiratória () | Neurológica() |
| Genitourinária () | Cardiovascular () | Onco-hematológica () |
| Metabólico ou endócrino () | Gastrointestinal () | Musculoesquelético/pele () |
| Data de saída: ___/___/___ | Alta() | Óbito() Motivo: _____ |
| Óbito relacionado a IH? () S () N | | |
| DADOS DE USO DE ANTIMICROBIANO EMPÍRICO | | |
| DT início: ___/___/___ Hora: _____ | DOT: _____ | DT fim: ___/___/___ Hora: _____ |
| Antimicrobiano: _____ | | Adequado: () S () N |
| DT início: ___/___/___ Hora: _____ | DOT: _____ | DT fim: ___/___/___ Hora: _____ |
| Antimicrobiano: _____ | | Adequado: () S () N |
| DT início: ___/___/___ Hora: _____ | DOT: _____ | DT fim: ___/___/___ Hora: _____ |
| Antimicrobiano: _____ | | Adequado: () S () N |
| DT início: ___/___/___ Hora: _____ | DOT: _____ | DT fim: ___/___/___ Hora: _____ |
| Antimicrobiano: _____ | | Adequado: () S () N |
| Uso prévio de ATB últimos 15 dias? () S () N | | |
| Uso prévio de carbapenêmicos últimos 15 dias? () S () N | | |
| Direcionamento da terapia empírica após GRAM? S () N () () descalonamento () escalonamento | | |
| () 1. ampliação do espectro atb () 2. diminuição do espectro atb () 3. descontinuação de atb a agente não ID | | |
| 1. Qual droga foi retirada? _____ 2. Para qual droga reduzida OU TROCADA? _____ | | |
| Direcionamento da terapia empírica após PCR? S () N () () descalonamento () escalonamento | | |
| () 1. ampliação do espectro atb () 2. diminuição do espectro atb () 3. descontinuação de atb a agente não ID | | |
| 1. Qual droga foi retirada? _____ 2. Para qual droga reduzida OU TROCADA? _____ | | |
| Direcionamento da terapia empírica após MALDIRETO? S () N () () descalonamento () escalonamento | | |
| () 1. ampliação do espectro atb () 2. diminuição do espectro atb () 3. descontinuação de atb a agente não ID | | |
| 1. Qual droga foi retirada? _____ 2. Para qual droga reduzida OU TROCADA? _____ | | |
| Direcionamento da terapia empírica após TSA? S () N () () descalonamento () escalonamento | | |
| () 1. ampliação do espectro atb () 2. diminuição do espectro atb () 3. descontinuação de atb a agente não ID | | |
| 1. Qual droga foi retirada? _____ 2. Para qual droga reduzida OU TROCADA? _____ | | |
| DADOS DA INFECÇÃO | | |
| DT Coleta da HMC: ___/___/___ _____: _____ | | |
| DT da Detecção: ___/___/___ _____: _____ | | |
| DT ID agente pelo Gram: ___/___/___ _____: _____ PCR: ___/___/___ _____: _____ | | |
| DT ID agente pelo MALDI-TOF: ___/___/___ _____: _____ | | |
| DT do teste de sensibilidade: ___/___/___ _____: _____ | | |
| Agente (s) isolado (s): | | |
| 1- _____ MDR? () sim () não | | |
| 2- _____ MDR? () sim () não | | |
| DADOS AUDITORIA DE PRESCRIÇÃO | | |
| AUDITORIA 7 DIAS APÓS INÍCIO DO ATB | | |
| Fim de tratamento? S () N () Motivo: _____ | | |
| Se manutenção do ATB avaliar tempo de uso do ATB: _____ | | |
| AUDITORIA 14 DIAS APÓS INÍCIO DO ATB | | |
| Fim de tratamento? S () N () Motivo: _____ | | |
| Se manutenção do ATB avaliar tempo de uso do ATB: _____ | | |

Anexo II

Parecer consubstanciado do CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Impacto da identificação rápida pela espectrometria de massa por matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight (MALDI -TOF) em bacteremias por bacilos Gram negativos combinada ao programa de uso racional de antibióticos em tempo real em unidades de terapia intensiva

Pesquisador: Thaís Guimarães

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 04399018.3.0000.0068

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.279.996

Apresentação do Projeto:

Impacto da identificação rápida pela espectrometria de massa por matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight (MALDI -TOF) em bacteremias por bacilos Gram negativos combinada ao programa de uso racional de antibióticos em tempo real em unidades de terapia intensiva.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Avaliar o impacto da identificação rápida de microrganismos por EM MALDI-TOF associada ao programa de intervenção para uso racional de antimicrobianos "stewardship" em unidades de terapia intensiva do instituto central do Hospital das Clínicas da universidade de São Paulo/FMUSP.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Já havia analisado tal projeto de Estudo. Havia questão sobre dispensa de TCLE. Os Pesquisadores responderam adequadamente, Concordo com a dispensa do TCLE.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa de importância científica

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SÃO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 3.279.996

Adequados

Recomendações:

Aprovação

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há Inadequações

Considerações Finais a critério do CEP:

Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

| Tipo Documento | Arquivo | Postagem | Autor | Situação |
|---|---|------------------------|-----------------|----------|
| Informações Básicas do Projeto | PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1220205.pdf | 22/02/2019 09:19:25 | | Aceito |
| Outros | resposta_TCLEFEV.pdf | 22/02/2019 09:19:04 | Thaís Guimarães | Aceito |
| Outros | Justificativa_custos.pdf | 10/12/2018 10:55:17 | Thaís Guimarães | Aceito |
| Outros | Isencao_TCLE.pdf | 10/12/2018 08:10:16 | Thaís Guimarães | Aceito |
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador | projeto.doc | 03/12/2018 08:26:01 | Thaís Guimarães | Aceito |
| Folha de Rosto | Folha_rosto.pdf | 03/12/2018 08:25:05 | Thaís Guimarães | Aceito |
| Outros | Projeto_assinado.pdf | 03/12/2018 08:23:27 | Thaís Guimarães | Aceito |
| Outros | cronograma.doc | 03/12/2018 08:23:10 | Thaís Guimarães | Aceito |
| Outros | Parecer_espectrometria.pdf | 27/11/2018 16:54:32 | Thaís Guimarães | Aceito |

Situação do Parecer:

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 3.279.996

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

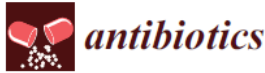
Não

SAO PAULO, 24 de Abril de 2019

Assinado por:
ALFREDO JOSE MANSUR
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br

Anexo III

Artigo publicado na revista *Antibiotics*

Article

Impact of an Antimicrobial Stewardship Program Intervention Associated with the Rapid Identification of Microorganisms by MALDI-TOF and Detection of Resistance Genes in ICU Patients with Gram-Negative Bacteremia

Aleia Faustina Campos ^{1,*}, Tiago Arantes ², Amanda Magalhães Vilas Boas Cambiais ², Ana Paula Cury ³, Camila Guimarães Tirolí ³, Flávia Rossi ³, Luiz Marcelo Sa Malbouisson ⁴, Sílvia Figueiredo Costa ⁵ and Thais Guimarães ¹

¹ Department of Infection Control, Instituto Central, Hospital das Clínicas, University of São Paulo, São Paulo 05508-220, Brazil

² Pharmacy Division, Hospital das Clínicas, University of São Paulo, São Paulo 05508-220, Brazil

³ Microbiology Laboratory, Central Laboratory Division, Hospital das Clínicas, University of São Paulo, São Paulo 05508-220, Brazil

⁴ Division of Anesthesiology, Hospital das Clínicas, University of São Paulo, São Paulo 05508-220, Brazil

⁵ Infectious Diseases Department, Hospital das Clínicas, University of São Paulo, São Paulo 05508-220, Brazil

* Correspondence: aleia.campos@hc.fm.usp.br



Citation: Campos, A.F.; Arantes, T.; Cambiais, A.M.V.B.; Cury, A.P.; Tirolí, C.G.; Rossi, F.; Malbouisson, L.M.S.; Costa, S.F.; Guimarães, T. Impact of an Antimicrobial Stewardship Program Intervention Associated with the Rapid Identification of Microorganisms by MALDI-TOF and Detection of Resistance Genes in ICU Patients with Gram-Negative Bacteremia. *Antibiotics* **2022**, *11*, 1226. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11091226>

Academic Editors: Masafumi Seki and Mehran Monchi

Received: 28 July 2022

Accepted: 6 September 2022

Published: 9 September 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Combination of strategies for rapid diagnostics tests (RDT) with real-time intervention could improve patient outcomes. We aimed to assess the impact on clinical outcomes, antimicrobial consumption, and costs in patients with gram-negative bacteremia. We designed a quasi-experimental study among 216 episodes of gram-negative bacteremia using RDT (MALDI-TOF and detection of resistance genes) directly from blood culture bottles combined with real-time communication of results. Our study did not demonstrate impact on 30-day mortality (25% vs. 35%; $p = 0.115$). Hospital and ICU length of stay were significantly lower in the intervention period ((44 days vs. 39 days; $p = 0.005$) and (17 days vs. 13 days; $p = 0.033$)), respectively. The antimicrobial consumption was 1381 DOT/1000 days in the pre-intervention period compared to 1262 DOT/1000 days in the intervention period ($p = 0.032$). Antimicrobials against gram-positive and carbapenems had a significantly reduced consumption in the intervention period. Our intervention showed no impact on 30 days-mortality, but demonstrated an impact on hospital and ICU length of stay, as well as antimicrobials consumption and costs. Knowledge of resistance genes adds value and information for safe decision making that can result in direct and indirect benefits related to the economic burden of antibiotic overuse and bacterial resistance.

Keywords: antimicrobial stewardship; rapid diagnostics tests; gram-negative bacteremia; mortality; days of therapy; antimicrobial consumption

1. Introduction

Despite advances in antimicrobial therapy, gram-negative bloodstream infections are still a threat to hospitalized patients. To minimize these threats, early administration of appropriate antimicrobial therapy is critical, as is antimicrobial streamlining to optimal therapy, particularly in a setting of a high prevalence of multidrug-resistant organisms (MDROs) and in low-income countries with scarce therapeutic options. The benefits associated with the de-escalation of antimicrobial therapy include improvements in clinical outcomes, decreased healthcare costs, lower risk of adverse drug events, and less selective pressure for resistance and superinfections [1,2]. Indeed, patients who develop bloodstream infections (BSIs) by MDROs have limited therapeutic options and are at great risk for mortality, complications, and prolonged hospitalization [3].

In 2016, the Infectious Diseases Society of America (IDSA) published the antimicrobial stewardship program (ASP) guidelines. To improve clinical outcomes, in addition to conventional methods for blood specimens, they specifically recommend the use of rapid diagnostic tests (RDTs) with ASP support as well as an intervention. The implementation of RDTs aimed at identifying the causative pathogen in bacteremia may allow for earlier narrowing of antimicrobial therapy [4,5].

Several studies have established that the combination of strategies for RDT with real-time intervention by antimicrobial stewardship teams could improve patient outcomes [6–8]. However, in a recent meta-analysis, the authors demonstrated that rapid detection of pathogens did not influence mortality [9]. There is very little data in Brazil assessing the impact of stewardship programs on clinical outcomes.

Therefore, the primary purpose of this study was to assess the impact on clinical outcomes, antimicrobial consumption, and its related cost in patients with gram-negative bacteremia using rapid organism identification through MALDI-TOF and detection of resistance genes directly from blood culture bottles combined with real-time communication of results. The second purpose was to compare the time taken to perform antimicrobial identification (turnaround time, TAT) of pathogens in the pre-intervention and intervention periods.

2. Materials and Methods

2.1. Study Design and Patient Population

This was a single-center, pre-post intervention, quasi-experimental study conducted in a 925-bed quaternary care teaching facility in Instituto Central, located in São Paulo, Brazil. All adult patients (>18 years old) admitted to the intensive care units (ICUs) with blood culture positive for gram-negative organism between March 2018 to May 2019 (pre-intervention period) and September 2020 to October 2021 (intervention period) were screened for eligibility (Figure 1). Excluded were patients whose index blood culture grew >1 microorganism species (polymicrobial cultures), who died 24 h after treatment, with blood cultures collected only from the central venous catheter, who had a new episode of infection before 14 days of positive blood culture (index), and who had bacteremia not identified from MALDI-TOF. Pre-intervention patients were evaluated via retrospective chart review, while patients in the intervention period were prospectively reviewed as cultures became positive without blinding.

The design of this study was in accordance with the ethical standards of our local ethics committee and was approved under protocol number 7370; financial resources were granted by FAPESP no.2018/24021-0.

2.2. Laboratory Procedures

For both periods, blood cultures were identically analyzed for the presence of microorganisms using the BACTEC FX™ automated blood culture system, which contains culture media with suitable nutritional and environmental conditions for the most common organisms found in the blood. Inoculated bottles are placed into the instrument (BACTEC FX™, Becton Dickinson Instrument Systems, Sparks, MD, USA), incubated, and continuously monitored for growth. Once an organism was flagged as positive, Gram staining was performed, and results were posted in the patient's electronic medical record (EMR). A pallet sample from positive blood culture bottles was inoculated on solid media and incubated overnight in 5% CO₂ at 35 °C. After bacterial growth on these plates, MALDI-TOF MS (VITEK MS, bioMérieux, Rio de Janeiro, Brazil) was performed from the colonies. Antimicrobial susceptibility testing was performed with the VITEK-2 XL system (bioMérieux, MarcyL'Étoile, France) using AST-239 cards (bioMérieux, MarcyL'Étoile, France), E-test (bioMérieux, Durham, NC, USA), disk diffusion (Becton Dickinson, Sparks, MD, USA), or broth microdilution according to the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) document [10]. In both the pre- and intervention periods, positive blood cultures were evaluated by using the same conventional microbiologic procedures described. However, in the

intervention period, the laboratory performed MALDI-TOF MS directly from blood culture bottles after an organism flagged positive and performed genetic resistance determinants as described by Prod'hom et al. and Galiana et al. [11,12].

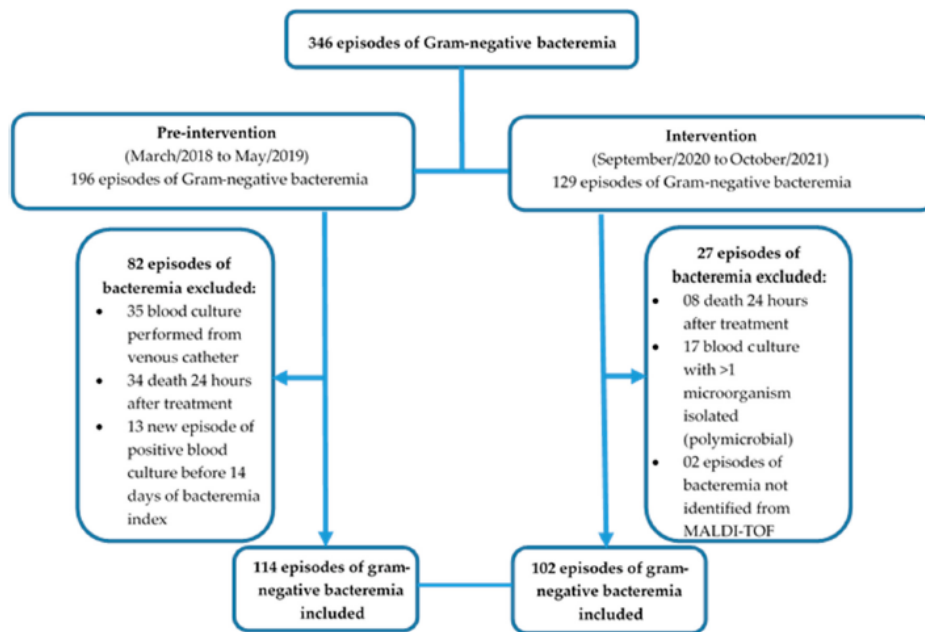


Figure 1. Patient selection flowchart.

During the pre-intervention period, the microbiology laboratory results were reported once a day, seven days a week, on the patient's electronic medical record (EMR) without verbal notification to the ICUs prescribers. Gram stains were routinely performed 24 h a day, every day.

Only during the intervention period were Gram stain results promptly communicated by the microbiology laboratory personnel to the researcher of this study and then directly to a prescriber at the ICUs. Gram stain results received from 5 p.m. to 6 a.m. were communicated to the prescriber in the following morning. In this period, we incorporated detection of resistance genes.

The identification of genetic resistance determinants was performed using the XGEN MULTI SEPSIS FLOW CHIP (Mobius) kit for gram-negative bacteria with the HybriSpot equipment (HS12 AUTO). It is a 4-h run time qualitative in vitro test that detects the presence of bacterial nucleic acid in addition to the main antimicrobial resistance genes directly from a positive blood culture bottle without the need for DNA extraction. It consists of a closed platform with commercial kits that uses the real-time PCR methodology for the rapid diagnosis of bacterial infections in clinical species. The XGEN MULTI SEPSIS LYO is an RDT with the ability to detect gram-negative bacteria species of interest to our study (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*), two genera of gram-negative bacteria (Enterobacterales and *Proteus* spp.) and 17 β -lactamase encoding genes: *bla_{SHV}*, *bla_{CTX-M}*, *bla_{KPC}*, *bla_{SME}*, *bla_{IMI}*, *bla_{GES}*, *bla_{VIM}*, *bla_{GIM}*, *bla_{SPM}*, *bla_{NDM}*, *bla_{SIM}*, *bla_{IMP}*, *bla_{OXA23}*, *bla_{OXA24}*, *bla_{OXA48}*, *bla_{OXA51}*, and *bla_{OXA58}*.

The MALDI-TOF and the detection of the molecular genes were performed twice daily (morning and afternoon), seven days a week, and all results were communicated on the same day to the researcher of this study. This notification process coming from the laboratory was performed 24 h a day, seven days a week throughout the intervention period only. The antimicrobial stewardship team for this study was composed of two infectious diseases physicians. One of them who received a real-time notification of ICU patients with positive blood cultures containing gram-negative bacteria rapidly provided the information to prescribers. Then, antimicrobial therapy was managed according to the blood culture results and evidence-based antibiotic recommendations available within institutional guideline [13] and international literature [14,15]. Empirical therapy was defined as antibiotic administration before pathogen identification. Carbapenem resistance was defined as gram-negative microorganisms resistant to imipenem and/or meropenem.

2.3. Data Collection

We collected data on demographic characteristics, clinical conditions at admission, microbiology data, antibiotic therapy, the severity of illness based on SAPS 3 at ICU admission and PITT score on the day of bacteremia, reason of hospital admission, and antimicrobial empiric therapy prescribed. Infection-related characteristics collected included source, causative pathogen, and susceptibility data. The source of bacteremia was determined according to the definitions published by the Centers for Disease Control and Prevention (CDC) [16]. Data from antibiotics used was described as days of therapy (DOT) [4,17].

2.4. Outcomes

The outcomes evaluated included 30-day all-cause mortality, hospital and ICU length of stay after blood culture positivity, time to identification of Gram stain, MALDI-TOF, PCR and antibiotic susceptibility test (TSA) from bottles following blood culture positivity (turnaround time, TAT), antimicrobial consumption (DOT/1000 days present), and costs.

The length of ICU and hospital stay was measured from positive blood culture date until death or ICU/hospital discharge.

Antimicrobial days of therapy (DOT) were collected for all antibacterial agents administered during the maximum twenty-one inpatient days post-culture collection or end of treatment. It was expressed as DOT per 1000 days present. DOT per 1000 days present was calculated as the sum of the days on therapy for all systemic antibiotics, normalized per 1000 days present.

Antimicrobial costs were calculated based on drug acquisition costs by the pharmacy department for each drug. We calculated the costs in local currency, but for the analysis, we made the conversion to United States dollar (quotation of 12 May 2022).

2.5. Statistical Analysis

We calculated the sample size considering an absolute difference of 36% between the groups regarding the mortality outcome as described by Timbrook (6) and considering a statistical power of 80% and a statistical significance of 5%, and we found a need for 44 patients in each group.

Descriptive statistics were performed for all continuous (median, IQR) and categorical (number, percent) data. Continuous variables were compared using the Student's *t*-test or the Mann–Whitney U test where appropriate, and categorical variables were compared using Pearson's chi-square test and Fisher's exact test, if appropriate. Univariate and multivariate analyses were performed with SPSS for Windows, version 27.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA), and a two-tailed *p* value of 0.05 was considered statistically significant.

To identify independently associated with mortality at 30-day, a multivariate forward, stepwise logistic regression analysis was performed with *p* < 0.05 to report. This was preceded by conducting univariate analysis to determine variables to be included in the multivariable model by Cox regression. Odds ratio (OR) with 95% confidence interval (CI) were calculated.

3. Results

Adult patients admitted in an ICU setting from March 2018 to May 2019 (pre-intervention period) with a positive blood culture of gram-negative bacteria identified through Gram stain were included and compared to patients with the same conditions during the period of September 2020 to October 2021 (intervention period) (Figure 1). A total of 346 episodes of bacteremia were evaluated for inclusion. After the defined inclusion criteria, 216 episodes of bacteremia from 213 patients were included in the final analysis: 114 bacteremia from 112 patients in the pre-intervention period and 102 bacteremia from 101 patients in the intervention period.

The groups analyzed in the two periods were similar, except for the severity where we could note a larger SAPS3 in the intervention period, as well as the presence of BSI secondary to pulmonary focus was more prevalent in the intervention period. The median age of patients in the pre-intervention and intervention periods was 56 years (41–62) and 59 years (47–69), $p = 0.057$, respectively, and males were more prevalent in both periods. Most isolates in the pre-intervention period were primary BSIs (50.8%), followed by abdominal (14.9%) and respiratory (11.4%) sources. In the intervention period, the source of BSIs were primary (47.1%), followed by respiratory (27.5%) and urinary (8.8%). Pathogen prevalence was similar in both periods, with *K. pneumoniae* being the most prevalent bacteria (43% vs. 32.4%, $p = 0.043$). The distribution of microbiological isolates was similar in both periods, except for the prevalence of *P. aeruginosa* where we noticed a significant difference in the second period (6.1% vs. 21.6%; $p = 0.002$). In addition, the rate of carbapenem-resistant Enterobacterales in both periods was similar, 24.6% vs. 15.7%, $p = 0.14$, respectively. In the intervention period, the CTX-M encoding gene was the most common resistance gene detected (68.6%), followed by OXA (41.2%) and KPC (27.4%) encoding genes. There were no VIM or IMP-encoding genes detected during the study period and only one metallo- β -lactamase was identified (an NDM-encoding gene in *K. pneumoniae*). We also found a statistical difference during the intervention period when we compared the empirical antimicrobial regimens based on three drugs. We evaluated the mean duration of antimicrobial therapy that was significantly different (9.13 vs. 7.8 days; $p = 0.013$) between periods; however, the median of both periods was identical (8 days). Table 1 demonstrates patients' demographic characteristics.

Table 1. Baseline patient characteristics, resistance genes detection, and empirical antimicrobial therapy of patients.

| Variable | Pre-Intervention (N = 114) | Intervention (N = 102) | p-Value |
|--|-------------------------------|---------------------------|----------------------|
| Median age (range in years) | 56 (41–62) | 59 (47–69) | 0.057 ^a |
| Males (%) | 78 (68.4%) | 65 (63.7%) | 0.466 ^b |
| End stage renal diseases requiring dialysis, N (%) | 37 (32.5%) | 42 (41.2%) | 0.184 ^b |
| Central venous catheter, N (%) | 81 (71.1%) | 84 (82.4%) | 0.051 ^b |
| SAPS3 (median, IQR) | 56 (45–68) | 64 (50–76) | 0.005 ^a |
| PITT bacteremia score ≥ 6 , N (%) | 60 (52.6%) | 62 (60.8%) | 0.228 ^b |
| ICU admission, N (%) | | | |
| Severe acute respiratory syndrome SARS-CoV-2 | 0 (0%) | 45 (44.1%) | <0.0001 ^b |
| Gastrointestinal diseases | 25 (21.9%) | 5 (4.9%) | 0.0003 ^b |
| Infectious diseases | 26 (21.9%) | 8 (7.8%) | 0.002 ^b |
| Cerebrovascular diseases | 16 (14%) | 10 (10%) | 0.34 ^b |
| Trauma | 13 (11.4%) | 10 (10%) | 0.7 ^b |
| Kidney diseases | 8 (7%) | 5 (5%) | 0.51 ^b |
| Cardiovascular diseases | 5 (4.4%) | 5 (5%) | 0.85 ^b |
| Metabolic diseases | 3 (2.6%) | 1 (1%) | 0.36 ^b |
| Others | 19 (716.6%) | 13 (13%) | 0.33 ^b |

Table 1. Cont.

| Variable | Pre-Intervention (N = 114) | Intervention (N = 102) | p-Value |
|--|-------------------------------|---------------------------|--------------------|
| Blood stream infection source, N (%) | | | |
| Primary | 58 (50.8%) | 48 (47.1%) | 0.671 ^b |
| Pulmonary | 13 (11.4%) | 28 (27.5%) | 0.005 ^b |
| Urinary | 9 (7.9%) | 9 (8.8%) | 1.0 ^b |
| Intra-abdominal | 17 (14.9%) | 7 (6.9%) | 0.096 ^b |
| Skin and soft tissue | 7 (6.1%) | 8 (7.8%) | 0.823 ^b |
| Other sites | 10 (8.7%) | 2 (2.0%) | 0.060 ^b |
| N (%) of organisms isolated | | | |
| <i>K. pneumoniae</i> | 49 (43.0%) | 33 (32.4%) | 0.043 ^b |
| <i>E. coli</i> | 19 (16.6%) | 13 (12.7%) | 0.536 ^b |
| <i>A. baumannii</i> | 9 (7.8%) | 17 (16.7%) | 0.077 ^b |
| <i>P. aeruginosa</i> | 7 (6.1%) | 22 (21.6%) | 0.002 ^b |
| Enterobacter spp. | 5 (3.1%) | 5 (4.9%) | 0.064 ^b |
| Others Enterobacteriales | 13 (11.4%) | 8 (7.8%) | 0.515 ^b |
| Others non fermentative | 2 (1.7%) | 4 (3.9%) | 0.580 ^b |
| N (%) Carbapenem-resistance (N = 76) | | | |
| Enterobacteriales | 28 (24.6%) | 16 (15.7%) | 0.141 ^b |
| <i>P. aeruginosa</i> | 3 (2.7%) | 5 (5.0%) | 0.602 ^b |
| <i>A. baumannii</i> | 8 (7.0%) | 16 (15.7%) | 0.071 ^b |
| N (%) Genes Resistance (N = 51) | | | |
| <i>bla</i> _{CTX-M} | - | 30 (68.6%) | |
| <i>K. pneumoniae</i> | - | 22 | |
| <i>E. coli</i> | - | 4 | |
| Enterobacter spp. | - | 2 | |
| <i>P. aeruginosa</i> | - | 1 | |
| Burkholderia cepacia complex | - | 1 | |
| <i>bla</i> _{KPC} | - | 14 (27.4%) | |
| <i>K. pneumoniae</i> | - | 13 | |
| <i>E. coli</i> | - | 1 | |
| <i>bla</i> _{OXA-23} , <i>bla</i> _{OXA-24} , <i>bla</i> _{OXA-51} | - | 21 (41.2%) | |
| <i>A. baumannii</i> | - | 20 | |
| <i>P. aeruginosa</i> | - | 1 | |
| SHV-enzymes | - | 5 | |
| <i>K. pneumoniae</i> | - | 5 (9.8%) | |
| <i>bla</i> _{NDM} | - | 1 | |
| <i>K. pneumoniae</i> | - | 1 (2.0%) | |
| Empirical Antimicrobial regimen | | | |
| Monotherapy | 56 (49.1%) | 50 (49.0%) | 0.988 ^b |
| 2 antibiotics | 38 (33.3%) | 48 (47.1%) | 0.040 ^b |
| 3 antibiotics | 20 (17.5%) | 4 (3.9%) | 0.001 ^b |
| Duration of antimicrobial therapy (mean; days) | 9.13 | 7.8 | 0.013 ^a |

Data presented as N (%) or median, interquartile range (IQR). a = Mann-Whitney, b = Pearson Chi-Square, SAPS3—simplified acute physiology score 3, ICU—intensive care unit, CTX-M—Cefotaximase, KPC—*K. pneumoniae* carbapenemase, OXA—oxacilinsases, SHV—Sulphydryl Variable, NDM—New Delhi metallo-β-lactamase.

Our study did not demonstrate impact-related 30-day mortality between periods. Hospital length of stay was significantly lower in the intervention period (44 days vs. 39 days; $p = 0.005$) as the ICU length of stay (17 days vs. 13 days; $p = 0.033$). The clinical outcomes are summarized in Table 2.

The multivariate analysis of 30-day mortality identified only SARS-CoV-2 as an independent predictor as presented in Table 3.

The median of antimicrobial consumption over the 21 days post-culture collection was 1.381 DOT/1000 days present (IQR 1.103–2.251) in the pre-intervention period compared to 1.262 DOT/1000 days present (IQR 1.063–1.662) in the intervention period ($p = 0.032$) as

shown in Table 4. When analyzing antibiotic consumption according to gram-negative or gram-positive coverage, only the agents against gram-positive bacteria had a significant reduced consumption in the intervention period, 475 (238–761) vs. 270 (139–467), $p = 0.004$, respectively. Despite having performed an analysis of all gram-negative agents, no difference was noted between the periods ($p = 0.067$), but there was a statistical difference for the specific consumption of carbapenem drugs between periods ($p = 0.04$). In addition, considering only the direct antimicrobial costs for all drugs, a lower cost was noted for gram-positive bacteria coverage drugs and for carbapenem drugs in the intervention group.

Table 2. Clinical outcomes of patients included in the study.

| Characteristic Median, IQR | Pre-Intervention N = 114 | Intervention N = 102 | p-Value |
|-------------------------------|-----------------------------|-------------------------|--------------------|
| 30-day mortality | 29 (25%) | 36 (35%) | 0.115 ^b |
| Hospital LOS | 44 (20–59) | 39 (14–48) | 0.005 ^a |
| ICU LOS | 17 (7–22) | 13 (5–16) | 0.033 ^a |

a = Mann–Whitney, b = Pearson Chi-Square, ICU—Intensive care unit, LOS—Length of stay.

Table 3. Univariate and multivariate analysis of the risk factors of 30-day mortality in patients included in the study.

| Variable | Univariate Analysis | | | |
|---|-----------------------|-----------------|------------------|---------|
| | Death | | HR (CI 95%) | p-Value |
| | No (N = 151) | Yes (N = 65) | | |
| Pre intervention, N | 49 (43%) | 65 (57%) | | |
| Intervention, N | 34 (33.3%) | 68 (66.6%) | 1.38 (0.97–1.95) | 0.072 |
| SARS-CoV-2, N | 9 (20%) | 36 (80%) | 1.74 (1.17–2.59) | 0.006 |
| SAPS3 (median, IQR) | 51 (45–67) | 62 (50–74) | 1.01 (1.00–1.02) | 0.083 |
| Gastrointestinal diseases, N | 17 (56.6%) | 13 (43.3%) | 1.18 (0.85–1.64) | 0.333 |
| Infectious diseases, N | 12 (14.5%) | 22 (16.5%) | 0.83 (0.52–1.32) | 0.432 |
| Blood stream infection source: pulmonary, N | 18 (43.9%) | 23 (56.1%) | 1.39 (1.07–1.80) | 0.036 |
| Organism isolated: <i>P. aeruginosa</i> | 11 (37.9%) | 18 (62.1%) | 1.38 (1.09–1.74) | 0.002 |
| | Multivariate analysis | | | |
| | OR | CI95% | p-value | |
| SARS-CoV-2 | 1.54 | (1.02–2.29) | 0.036 | |
| Blood stream infection source: pulmonary | 1.75 | (0.87–3.51) | 0.113 | |
| Organism isolated: <i>P. aeruginosa</i> | 1.26 | (0.56–2.83) | 0.573 | |

HR: Hazard Ratio; OR: Odds Ratio; CI: confidence intervals.

The median time to positivity (TTP) for the index blood culture was 11 h 53 min (9 h 47 min–17 h 26 min) vs. 12 h 29 min (10 h 07 min–18 h 18 min) and not significant between periods ($p = 0.302$), as shown in Table 5. However, in the second period the performance of MALDI-TOF directly from blood culture significantly reduced the median time of identification from 26 h 31 min (20 h 33 min–33 h 42 min) to 9 h 31 min (6 h 28 min–15 h 10 min) with a statistically significant difference. In addition, the TAT between TTP and Gram stain and AST were lower in the intervention group. Figure 2 demonstrate TAT between periods.

Table 4. Antimicrobial consumption in DOT per 1000 days present and costs following culture collection (21 days).

| Antimicrobial Consumption and Cost | Pre-Intervention | Intervention | p-Value | Percent of Change |
|---|-----------------------------------|-----------------------------------|--------------------|-------------------|
| Consumption (DOT/1000 days present, median, IQR) | | | | |
| All antimicrobials | N = 114 1.381 (1.103–2.251) | N = 102 1.262 (1.063–1.662) | 0.032 ^a | |
| Antimicrobial for gram-negative bacteria | N = 114 1.281 (1.004–1.775) | N = 102 1.172 (1.006–1.427) | 0.067 ^a | |
| Antimicrobial for gram-positive bacteria | N = 52 475 (238–761) | N = 43 270 (139–467) | 0.004 ^a | |
| Carbapenems | N = 76 836 (504–1056) | N = 72 543 (301–991) | 0.040 ^a | |
| Colistin/Polymyxin B | N = 45 722 (390–932) | N = 40 881 (462–1001) | 0.299 ^a | |
| Ceftazidime/avibactam | N = 3 931 (725–1022) | N = 8 911 (823–940) | 0.865 ^a | |
| Costs (Sum USD) | | | | |
| All antimicrobials | N = 114 \$23,937.60 | N = 102 \$31,126.05 | 0.30 | +30% |
| Gram-negative antimicrobials | N = 114 \$23,331.30 | N = 102 \$30,332.39 | 0.283 | +33% |
| Gram-positive antimicrobials | N = 52 \$627.00 | N = 43 \$202.68 | 0.008 | −78% |
| Carbapenems | N = 76 \$6003.20 | N = 72 \$3938.63 | 0.039 | −34% |
| Colistin/Polymyxin B | N = 45 \$5450.26 | N = 40 \$3030.88 | 0.067 | −47% |
| Ceftazidime/avibactam | N = 3 \$4471.50 | N = 8 \$19,949.77 | 0.008 | +346% |

Antimicrobial for gram-negative bacteria coverage: carbapenem, colistin/polymyxin B, ciprofloxacin/levofloxacin, amikacin, ceftriaxone, piperacillin/tazobactam, tigecycline, ceftazidime, cefepime, ceftazidime/avibactam, gentamycin. Antimicrobial for gram-positive bacteria coverage: oxacillin, vancomycin, and linezolid. Carbapenem: imipenem, meropenem and ertapenem. a: Mann-Whitney test, IQR—interquartile range, DOT—Days of therapy. USD = United States dollars.

Table 5. Turnaround time (TAT) comparison between pre-intervention and intervention period.

| Turnaround Time (TAT) (Hours, Minutes) | Pre-Intervention N = 114 | Intervention N = 102 | p-Value |
|--|--|--|---------------------|
| Time to positivity (TTP), median, (IQR) | 11 h 53 min (9 h 47 min–17 h 26 min) | 12 h 29 min (10 h 07 min–18 h 18 min) | 0.302 ^a |
| Time between TTP and Gram stain, median, (IQR) | 2 h 43 min (1 h 30 min–5 h 40 min) | 01 h 32 min (37 min–3 h 11 min) | <0.001 ^a |
| Time between TTP and MALDI-TOF, median, (IQR) | 26 h 31 min (20 h 33 min–33 h 42 min) | 9 h 31 min (6 h 28 min–15 h 10 min) | <0.001 ^a |
| Time between TTP and PCR, median, (IQR) | | 8 h 49 min (7 h 57 min–13 h 33 min) | |
| Time between TTP and AST, median, (IQR) | 54 h 14 min (44 h 49 min–67 h 12 min) | 48 h 28 min (36 h 33 min–57 h 47 min) | 0.005 ^a |

a: Mann-Whitney test, IQR—interquartile range, MALDI-TOF—matrix-assisted laser desorption ionization—Time of Flight matrix assay, TAT—turnaround time, TTP—time to positivity, AST—antimicrobial susceptibility test.

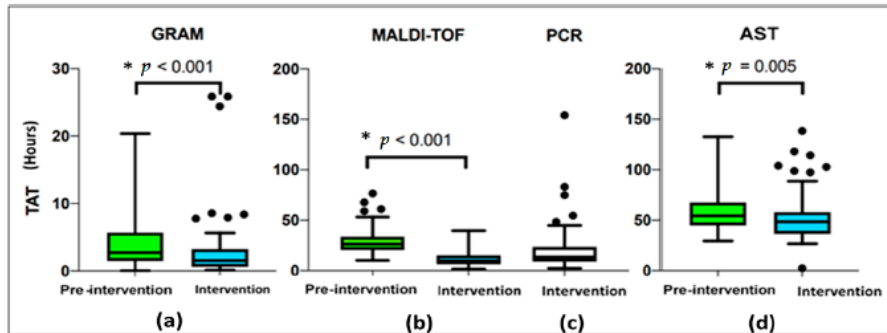


Figure 2. TAT: Turnaround time between pre-intervention and intervention period. (a): GRAM: time from bacteria detection until Gram stain. (b): MALDI-TOF: time from bacteria detection until MALDI-TOF. (c): PCR: time from bacteria detection until PCR for the intervention group only. (d): AST: time from bacteria detection until antimicrobial susceptibility test. *: Mann-Whitney test.

4. Discussion

We conducted a pre- and post-intervention study to evaluate its influence on clinical and economic outcomes. Our initial objective was to verify whether the implementation of MALDI-TOF in our hospital had brought benefits in terms of clinical outcomes. Thus, we started collecting data without intervention. During this period, we observed that the microbiology laboratory, despite having the MALDI-TOF, waited the 24-h incubation period for bacteria identification. Therefore, after identifying the species directly from bottles of positive blood culture, we started to perform this technique during the intervention period, in addition to a rapid communication to the prescribing physician and the detection of resistance genes [11,12,18].

In our study, rapid organism identification and susceptibility reporting with real-time antimicrobial stewardship efforts were not associated with a significant reduction in all-cause 30-day mortality, but it was statistically significant for the hospital and ICU LOS and for direct antimicrobial costs.

Perez and colleagues [19] conducted a pre-post quasi-experimental study integrating MALDI-TOF organism identification plus antimicrobial stewardship in patients with gram-negative bacteremia. Like our study, they demonstrated a non-significant reduction in mortality (10.7% vs. 5.6%, $p = 0.19$). However, they demonstrated statistically significant reductions in length of hospitalization (11.9 vs. 9.3 days, $p = 0.01$) and total hospital costs (\$45,709 vs \$26,126, $p = 0.009$). Mortality benefits may be difficult in pre- and post-intervention studies where confounding factors cannot be controlled. In a systematic review and meta-analysis of 31 studies, RDT was associated with a decreased mortality risk and LOS, as well as improved time to effective therapy, compared with conventional microbiologic methods. However, they found that mortality risk decreased significantly with RDT in the presence of antimicrobial stewardship, (OR, 0.64; 95% CI (0.51–0.79)) with ASP vs. (OR, 0.72; 95% CI (0.46–1.12)) without ASP [4]. In a recent review published by the Cochrane Library, including six trials with 1638 participants, the results showed that the benefits of RDT have not demonstrated to improve mortality [9].

Despite the benefit of reduced mortality being the most important outcome, unfortunately our study was also unable to demonstrate such benefit, most likely due to the severity of patients hospitalized in intensive care units where the aggravating bloodstream infection is certainly a risk factor for mortality. The first case of COVID-19 in Brazil was detected in March 2020, in the city of São Paulo, and our hospital became a reference for the care of COVID-19 with all beds destined for COVID-19. Then, the study was interrupted, only returning from September 2020. During the intervention period, we experienced the

appearance of SARS-CoV-2 in our ICUs [20,21], which certainly contributed to the greater severity of patients (see SAPS 3) and did not influence the reduction of mortality. Univariate analysis also showed a higher prevalence of pulmonary bloodstream and *P. aeruginosa* as the most prevalent agent in the intervention period. It is correlated with the scenario of higher prevalence of SARS-CoV-2 where the lung is the target organ and can result in secondary infections. Indeed, *P. aeruginosa* showed more prevalent in the intervention period since bacteremia of pulmonary focus is also associated with SARS-CoV-2, as described by Rouzé et al. [22]. We pointed out that during this period, no outbreaks by this agent were identified and both did not remain independent risk factors in the multivariate analysis. However, when the other outcomes of hospital and ICU length of stay were analyzed, the intervention was beneficial.

Regarding the isolated microorganisms, although *K. pneumoniae* and *A. baumannii* sp. showed stability in two periods, we noted an increase in the prevalence of *P. aeruginosa* in the intervention period. This fact can be explained by the COVID-19 pandemic, where several studies have also shown an increase in BSI by *P. aeruginosa* [23]. On the other hand, carbapenem resistance was not statistically different in both periods, both for Enterobacterales and for non-fermenting bacilli.

The resistance rate for Enterobacterales represents a real challenge for empiric treatment decisions in ICUs since more than one-third of gram-negative bacteria were found to be resistant to the carbapenem (20.37%, $n = 44/216$). Brazilian data show that carbapenem-resistant *K. pneumoniae* is the most prevalent pathogen causing BSIs in adults in ICUs [23]. Therefore, empiric combination antibiotic therapy is a reality.

As reported in a Brazilian point prevalence survey, results coming from five ICUs showed a high prevalence of antimicrobial use highlighting the high proportion of combination therapy (51%) to deal with the high rate of MDROs in this setting [24]. Our results from rapid molecular tests performed on blood cultures flagged positive during the intervention period showed a high prevalence of microbiological isolates producers of ESBL (68.6%), oxacilinases (41.2%), and KPC (27.4%). Knowledge of the resistance mechanism before the susceptibility test is a very useful point-of-care and highly recommended tool that certainly contributes to the de-escalation and adjustment of the antimicrobial regimen [3,18,19,25]. It remains to be seen what the long-term impact will be of reducing bacterial resistance.

Considering the economic outcomes, we noted a general reduction in antimicrobial consumption. This was due to the reduction of antimicrobial consumption of gram positives, obviously, because our intervention significantly influenced the discontinuation of unnecessary antimicrobials related to vancomycin. An explanation for this is because a prompt pathogen communication and discussion of streamlining therapy certainly improve treatment considering real-time results that enhance the ICU physician's ability to adjust antimicrobial therapy sooner.

We chose to analyze the consumption and costs of carbapenems, polymyxins and ceftazidime–avibactam because these antimicrobials are the most empirically used in our multidrug resistance scenario, and we found a significant reduction in the consumption of carbapenems. This can be explained by the higher prevalence of susceptible *P. aeruginosa*. Although this microorganism was more prevalent, there was no change in susceptibility profile since only 3.7% of *P. aeruginosa* isolates were resistant to carbapenems.

We observed an increase in the total cost of antimicrobials. There was an increase in the costs of antimicrobials for gram negatives and in the specific cost of ceftazidime–avibactam. Cost reduction was noted for gram positives, carbapenems, and polymyxins antimicrobials. Our total cost analysis was not lower during the intervention period due to the introduction and standardization of ceftazidime–avibactam in 2020, a novel beta-lactamase inhibitor used for the treatment of carbapenem-resistant Enterobacterales that is a very expensive drug in our country and was not available in the pre-intervention period. The polymyxin class showed no reduction in consumption, but demonstrated a reduction in the cost resulting from the use of polymyxin B in the intervention period, which is a cheaper molecule than colistin.

Decreasing the turnaround time (TAT) of microbiological results seems to improve outcomes, especially in those related to antimicrobial use, as it could promote a faster escalation or de-escalation of the antibiotic treatment [6,8,19]. In our study, the median TAT of the MALDI-TOF results, performed directly from positive-flagged blood cultures, was one day quicker compared with the pre-intervention study group (26 h 31 min vs. 9 h 31 min, $p < 0.001$). Our study also reinforces that performing MALDI-TOF directly from positive blood cultures is safe and reduces TAT. Considering that many microbiology laboratories have the MALDI-TOF MS methodology, the procedure described in our study to carry out the identification of microorganisms directly from the positive blood culture sample must be routinely performed and incorporated in order to have a positive impact on decisions therapeutics. We also demonstrated a reduction in the median time of bacterial detection and reporting of antimicrobial susceptibility (AST) results in the intervention period (54 h 14 min vs. 48 h 28 min, $p = 0.005$) most likely due to the intervention of the researcher in the previous stages of bacterial identification. Munson et al. demonstrated that the Gram stain results reported by telephone to the clinician had an even greater influence on the antibiotic regimen than antimicrobial susceptibility testing [26]. This issue reinforces the importance of effective and real-time communication of positive blood culture from Gram staining, which is a simple, inexpensive method, available in any microbiology laboratory. Although the incorporation of the detection of resistance genes is a costly strategy, it is currently necessary for decision-making. In the scenario of multidrug resistance due to the epidemiology of MDROs, detection of resistance genes in direct multiplex PCR may advocate the investment [27,28].

Our study has some limitations. It was a quasi-experimental study that utilized a convenience sample and therefore lacked randomization. The best methodology to evaluate the effectiveness of health interventions at a population level is interrupted time series studies, which are widely used to evaluate therapeutic measures. However, as we were surprised by the COVID-19 pandemic, it might have contributed to a heterogeneity of the sample in the intervention period where patients were more severe due to SARS-CoV-2 infection, so that the multivariate analysis showed it as the only predictor of mortality. This may have been an important factor for not having found lower mortality in the intervention period.

We also did not measure the impact of RDT on the time it took to change empiric therapy between periods as this is already widely covered in the literature. As an intervention plan, we introduced, concurrently, the MALDI-TOF and genes detection directly from blood cultures plus antimicrobial stewardship communication, thus making it difficult to delineate the impact of each individual intervention. As pointed out by Doern, there is a confounding role of active antimicrobial stewardship intervention in evaluating outcomes after the implementation of RDTs, as using a paired intervention limits the ability to determine the degree to which each component individually contributes to clinical outcomes [29]. Another limitation was that we did not correlate genotypic results with phenotypic results of isolated microorganisms, and we did not calculate the indirect costs related to the shorter length of hospital stay.

The main strength of our study is to show that a same-day strategy for the communication of MALDI-TOF and molecular resistance genes pathogen results directly from positive blood cultures bottles to the prescriber's physician at ICUs would represent another opportunity to increase the appropriateness of empirical antibiotic therapy, even though in a setting with a high prevalence of MDROs.

We pointed out that our intervention showed no impact on 30 days-mortality, but demonstrated an impact on hospital and ICU length of stay, as well as antimicrobials consumption and costs. We did demonstrate that TAT could be improved when using MALDI-TOF directly from positive-flagged blood cultures combined with a strategy of stewardship program. Incorporating knowledge of resistance genes before susceptibility testing adds value and information for safe decision making that can result in direct and indirect benefits related to the economic burden of antibiotic overuse and bacterial resistance.

More studies are needed with a larger sample size, longer evaluation time and comparing similar populations without COVID-19 bias to better analyze the mortality outcome.

Author Contributions: Conceptualization, A.F.C. and T.G.; methodology, A.F.C., A.P.C., F.R. and C.G.T.; validation, T.G., S.F.C. and F.R.; formal analysis, L.M.S.M.; investigation, A.F.C.; resources, A.F.C. and C.G.T.; data curation, T.A. and A.M.V.B.C.; writing—original draft preparation, A.F.C. and T.G.; writing—review and editing, S.F.C. and L.M.S.M.; visualization, L.M.S.M.; supervision, T.G.; project administration, A.F.C. and T.G.; funding acquisition, T.G. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo), under grant number no.2018/24021-0.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, and approved by the local ethics committee, CONEP of Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, approved under protocol number 7370, 24 April 2019.

Informed Consent Statement: The local ethics committee granted a waiver from collecting informed consent for this study as there were no new samples involved. Included were only samples taken during routine care within the two periods of the research. The institution's storage and surveillance of multidrug-resistant microorganisms are already part of the routine of the microbiology laboratory. The study participants' identities were kept confidential.

Data Availability Statement: Not applicable.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

- Beganovic, M.; Costello, M.; Wieczorkiewicz, S.M. Effect of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) Alone versus MALDI-TOF MS Combined with Real-Time Antimicrobial Stewardship Interventions on Time to Optimal Antimicrobial Therapy in Patients with Positive Blood Cultures. *J. Clin. Microbiol.* **2017**, *55*, 1437–1445. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Timsit, J.F.; Bassetti, M.; Cremer, O.; Daikos, G.; de Waele, J.; Kallil, A.; Kipnis, E.; Kollef, M.; Laupland, K.; Paiva, J.A.; et al. Rationalizing antimicrobial therapy in the ICU: A narrative review. *Intensive Care Med.* **2019**, *45*, 172–189. [\[CrossRef\]](#)
- Perez, K.K.; Olsen, R.J.; Musick, W.L.; Cernoch, P.L.; Davis, J.R.; Peterson, L.E.; Musser, J.M. Integrating rapid diagnostics and antimicrobial stewardship improves outcomes in patients with antibiotic-resistant Gram-negative bacteremia. *J. Infect.* **2014**, *69*, 216–225. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Barlam, T.F.; Cosgrove, S.E.; Abbo, L.M.; MacDougall, C.; Schuetz, A.N.; Septimus, E.J.; Srinivasan, A.; Dellit, T.H.; Falck-Ytter, Y.T.; Fishman, N.O.; et al. Implementing an Antibiotic Stewardship Program: Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America. *Clin. Infect. Dis.* **2016**, *62*, e51–e77. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Rivard, K.R.; Athans, V.; Lam, S.W.; Gordon, S.M.; Procop, G.W.; Richter, S.S.; Neuner, E. Impact of antimicrobial stewardship and rapid microarray testing on patients with Gram-negative bacteremia. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **2017**, *36*, 1879–1887. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Timbrook, T.T.; Morton, J.B.; McConeghy, K.W.; Caffrey, A.R.; Mylonakis, E.; LaPlante, K.L. The effect of molecular rapid diagnostic testing on clinical outcomes in bloodstream infections: A systematic review and meta-analysis. *Clin. Infect. Dis.* **2017**, *64*, 15–23. [\[CrossRef\]](#)
- Huang, A.M.; Newton, D.; Kunapuli, A.; Gandhi, T.N.; Washer, L.L.; Isip, J.; Collins, C.D.; Nagel, J.L. Impact of rapid organism identification via matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight combined with antimicrobial stewardship team intervention in adult patients with bacteremia and candidemia. *Clin. Infect. Dis.* **2013**, *57*, 1237–1245. [\[CrossRef\]](#)
- Clerc, O.; Prod'homme, G.; Vogne, C.; Bizzini, A.; Calandra, T.; Greub, G. Impact of matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry on the clinical management of patients with gram-negative bacteremia: A prospective observational study. *Clin. Infect. Dis.* **2013**, *56*, 1101–1107. [\[CrossRef\]](#)
- Anton-Vazquez, V.; Hine, P.; Krishna, S.; Chaplin, M.; Planche, T. Rapid versus standard antimicrobial susceptibility testing to guide treatment of bloodstream infection. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2021**, *5*, CD013235. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Clinical and Laboratory Standards Institute M100-S18. 40. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 30th Informational Supplement; CLSI: Wayne, PA, USA, 2020.
- Prod'homme, G.; Bizzini, A.; Durussel, C.; Bille, J.; Greub, G. Matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry for direct bacterial identification from positive blood culture pellets. *J. Clin. Microbiol.* **2010**, *48*, 1481–1483. [\[CrossRef\]](#)
- Galiana, A.; Coy, J.; Gimeno, A.; Guzman, N.M.; Rosales, F.; Merino, E.; Royo, G.; Rodríguez, J.C. Flow Chip assay for the diagnosis of blood infections. *PLoS ONE* **2017**, *12*, e0177627. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

13. Levin, A.S.S. *Guia de Utilização de Anti-Infeciosos e Recomendações Para a Prevenção de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde*; 7a edição: Sao Paulo, Brazil, 2018.
14. Claeys, K.C.; Schlaffer, K.E.; Heil, E.L.; Leekha, S.; Johnson, J.K. Validation of an Antimicrobial Stewardship-Driven Verigene Blood-Culture Gram-Negative Treatment Algorithm to Improve Appropriateness of Antibiotics. *Open Forum. Infect. Dis.* **2018**, *5*, ofy233. [CrossRef] [PubMed]
15. Kollef, M.H.; Morrow, L.E.; Niederman, M.S.; Leeper, K.V.; Anzueto, A.; Benz-Scott, L.; Rodino, F.J. Clinical characteristics, and treatment patterns among patients with ventilator-associated pneumonia. *Chest* **2006**, *129*, 1210–1218. [CrossRef] [PubMed]
16. Garner, J.S.; Jarvis, W.R.; Emori, T.G.; Horan, T.C.; Hughes, J.M. CDC definitions for nosocomial infections, 1988. *Am. J. Infect. Control.* **1988**, *16*, 128–140. [CrossRef]
17. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Diretriz Nacional para o Uso de Antimicrobianos em Serviços de Saúde*; ANVISA: Brasília, Brazil, 2016.
18. Rodrigues, C.; Siciliano, R.F.; Filho, H.C.; Charbel, C.E.; de Carvalho Sarahyba da Silva, L.; Baiardo Redaelli, M.; de Paula Rosa Passetti, A.P.; Franco, M.R.G.; Rossi, F.; Zeigler, R.; et al. The effect of a rapid molecular blood test on the use of antibiotics for nosocomial sepsis: A randomized clinical trial. *J. Intensive Care* **2019**, *7*, 37. [CrossRef] [PubMed]
19. Perez, K.K.; Olsen, R.J.; Musick, W.L.; Cernoch, P.L.; Davis, J.R.; Land, G.A.; Peterson, L.E.; Musser, J.M. Integrating rapid pathogen identification and antimicrobial stewardship significantly decreases hospital costs. *Arch. Pathol. Lab. Med.* **2013**, *137*, 1247–1254. [CrossRef]
20. Musuuza, J.S.; Watson, L.; Parmasad, V.; Putman-Buehler, N.; Christensen, L.; Safdar, N. Prevalence and outcomes of co-infection and superinfection with SARS-CoV-2 and other pathogens: A systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE* **2021**, *16*, e0251170. [CrossRef]
21. Polly, M.; de Almeida, B.L.; Lennon, R.P.; Cortês, M.F.; Costa, S.F.; Guimarães, T. Impact of the COVID-19 pandemic on the incidence of multidrug-resistant bacterial infections in an acute care hospital in Brazil. *Am. J. Infect. Control.* **2022**, *50*, 32–38. [CrossRef]
22. Rouzé, A.; Martin-Loeches, I.; Pova, P.; Makris, D.; Artigas, A.; Bouchereau, M.; Lambiotte, F.; Metzeldard, M.; Cuchet, P.; Boule Geronimi, C.; et al. Relationship between SARS-CoV-2 infection and the incidence of ventilator-associated lower respiratory tract infections: A European multicenter cohort study. *Intensive Care Med.* **2022**, *47*, 188–198. [CrossRef]
23. Coordenadoria de Vigilância em Saúde do Município de São Paulo. Available online: https://www.prefeitura.sp.gov.br/cidade/secretarias/saude/vigilancia_em_saude (accessed on 1 May 2022).
24. Porto, A.P.M.; Goossens, H.; Versporten, A.; Costa, S.F.; Brazilian Global-PPS Working Group. Global point prevalence survey of antimicrobial consumption in Brazilian hospitals. *J. Hosp. Infect.* **2020**, *104*, 165–171. [CrossRef] [PubMed]
25. Vlek, A.L.M.; Bonten, M.J.M.; Boel, C.H.E. Direct Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry Improves Appropriateness of Antibiotic Treatment of Bacteremia. *PLoS ONE* **2012**, *7*, e32589. [CrossRef]
26. Munson, E.L.; Diekema, D.J. Detection and treatment of bloodstream infection: Laboratory reporting and antimicrobial management. *J. Clin. Microbiol.* **2003**, *41*, 495–497. [CrossRef] [PubMed]
27. Cattoir, L.; Coorevits, L.; Leroux-Roels, I.; Claeys, G.; Verhasselt, B.; Boelens, J. Improving timelines in reporting results from positive blood cultures: Simulation of impact of rapid identification on therapy on a real-life cohort. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **2018**, *37*, 2253–2260. [CrossRef] [PubMed]
28. Messacar, K.; Parker, S.K.; Todd, J.K.; Dominguez, S.R. Implementation of Rapid Molecular Infectious Disease Diagnostics: The Role of Diagnostic and Antimicrobial Stewardship. *J. Clin. Microbiol.* **2017**, *55*, 715–723. [CrossRef] [PubMed]
29. Doern, C.D. The Confounding Role of Antimicrobial Stewardship Programs in Understanding the Impact of Technology on Patient Care. *J. Clin. Microbiol.* **2016**, *54*, 2420–2423. [CrossRef]