

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia

**Incidência de infecções por Enterobactérias resistentes a carbapenêmicos em
pacientes previamente colonizados**

PAULA LÜTTJOHANN RODRIGUES

Porto Alegre, Junho de 2015.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia

**Incidência de infecções por Enterobactérias resistentes a carbapenêmicos em
pacientes previamente colonizados**

PAULA LÜTTJOHANN RODRIGUES

Orientador: Prof. Dr. Afonso Luís Barth

Co-orientadora: Paola Hoff Alves

Porto Alegre, Junho de 2015.

HOSPITAL DE CLÍNICAS DE
PORTO ALEGRE - HCPA /
UFRGS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Incidência de Infecções por Enterobactérias resistentes a carbapenêmicos em pacientes previamente colonizados em swab retal

Pesquisador: Afonso Luis Barth

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 43245715.0.0000.5327

Instituição Proponente: Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.072.821

Situação do Parecer:

Aprovado

Dedico este trabalho principalmente aos meus pais, que são meus principais exemplos de vida, de amor e de força. Estiveram comigo não só nessa etapa da vida, mas em todos os momentos, me apoiando, me ensinando, não me deixando nunca desistir. Aos meus amigos, desde as inseparáveis do colégio, até os mais recentes, que sempre alegram os meus dias. Agradeço muito ao meu orientador, Prof. Dr. Afonso Luís Barth, exemplo de farmacêutico, professor e amigo, o qual tive o prazer de conviver algumas vezes nesses 5 anos ao longo do curso. Por último, mas não menos importante, à minha co-orientadora, também farmacêutica, Paola Hoff Alves, que soube ser compreensiva, paciente e que me passou muitos conhecimentos, tornando este trabalho possível, o meu muito obrigada.

Este trabalho foi elaborado segundo as normas da “Clinical and Biomedical Research (CBR), formalmente Revista HCPA”; apresentadas em anexo.

**Incidência de infecções por Enterobactérias resistentes a carbapenêmicos em
pacientes previamente colonizados**

Colonização e infecção por ERC

**Incidence of Carbapenems Resistant *Enterobacteriaceae* infections in patients
previously colonized**

Paula Lüttjohann Rodrigues¹; Paola Hoff Alves²; e Afonso Luís Barth^{1,3*}

¹Faculdade de Farmácia – Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Porto Alegre,
RS, Brasil

²Serviço de Controle de Infecção do Hospital São Lucas da PUCRS; Associação
Gaúcha de Profissionais em Controle de Infecção (AGIH); Programa de Pós-Graduação
em Ciências Médicas – Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Porto Alegre, RS,
Brasil

³Laboratório de Pesquisa em Resistência Bacteriana (LABRESIS) – Centro de Pesquisa
Experimental – Hospital de Clínicas de Porto Alegre - Porto Alegre, RS, Brasil

*Corresponding author: Afonso Luís Barth, Rua Ramiro Barcelos, nº 2350 - Hospital de
Clínicas de Porto Alegre (HCPA), LABRESIS, bairro Santana, CEP 90035-903, Porto
Alegre, Brasil, email: albarth@hcpa.edu.br

RESUMO

Introdução: Nos últimos anos, a incidência mundial de enterobactérias resistentes a carbapenêmicos (ERC) tem aumentado. A disseminação de ERC é preocupante considerando as limitações terapêuticas e a alta mortalidade de infecções associadas as mesmas. O objetivo deste estudo foi determinar a incidência de infecções por ERC em pacientes previamente colonizados.

Métodos: Estudo transversal, retrospectivo, realizado em hospital universitário misto de Porto Alegre. Foram avaliados prontuários de pacientes internados no período de janeiro a dezembro de 2014, que coletaram, em algum momento da sua internação, swab retal para pesquisa de ERC. A mortalidade bruta foi analisada em 30 dias após o isolamento de ERC em swab retal.

Resultados: No total foram coletados 2733 swabs retais em 2014, sendo 78 (2,85%) destes positivos para ERC (pacientes colonizados). A média de idade dos pacientes com ERC foi de 62,2 anos ($\pm 17,4$), sendo que, 45% (35/78) estavam em Unidades de Tratamento Intensivo, e 63% (49/78) já tinham internação prévia no hospital. Um total de 33% (26/78) dos pacientes colonizados também apresentaram ERC em amostra clínica. O tempo médio entre o isolamento de ERC em swab (colonização) e em material clínico (infecção) foi de 14,9 dias ($\pm 13,6$). A maior parte das amostras clínicas positivas para ERC foi em urina (46,1%; 12/26). A mortalidade foi de 61% (16/26) nos pacientes colonizados com infecção *versus* 46% (24/52) nos pacientes colonizados que não desenvolveram infecção.

Conclusão: Nossos dados demonstram que 1/3 de pacientes colonizados desenvolveram infecção por ERC sendo que a colonização prévia por ERC pode ser considerada como fator de risco para infecção. Foi possível observar uma mortalidade maior em pacientes infectados em relação a pacientes apenas colonizados por ERC.

PALAVRAS-CHAVES: ERC; colonização; infecção

ABSTRACT

Introduction: In the last years, the global incidence of Carbapenems Resistant Enterobacteriaceae (1) has increased. The spread of CRE is worrying considering the therapeutic limitations and the high mortality associated their infections. The objective of this study was to determine the incidence of CRE infections in previously colonized patients.

Methods: Cross-sectional, retrospective study conducted in a joint University Hospital of Porto Alegre. The study evaluated medical records of hospitalized patients from January to December 2014, in which there was the collection of rectal swab for CRE research at some point during their stay. The crude mortality was analyzed 30 days after isolation of CRE in rectal swab.

Results: A total of 2733 swabs were collected in 2014, 78 (2.85%) of these were positive for CRE (colonized patients). The average age of patients with ERC was 62.2 years (\pm 17.4); 45% (35/78) were in intensive care units and 63% (49/78) already had previous hospital stay. A total of 33% (26/78) of patients colonized also showed CRE clinical sample. The average time between the isolation of CRE swab (colonization) and clinical sample (infection) was 14.9 days (\pm 13.6). Most clinical isolates were positive in urine (46.1%; 12/26). Mortality was 61% (16/26) in patients colonized with infection versus 46% (24/52) in colonized patients who did not develop infection.

Conclusion: Our data demonstrated that 1/3 of colonized patients developed CRE infection and prior CRE colonization can be considered a risk factor for infection. It was possible to observe a high mortality in infected patients compared to CRE only colonized patients.

KEYWORDS: CRE, colonization, infection

INTRODUÇÃO

Bactérias da família *Enterobacteriaceae*, que colonizam o trato gastrointestinal de humanos e outros animais¹, têm aumentado em importância ao longo dos últimos anos devido às infecções que estão associadas^{2,3}. A família *Enterobacteriaceae* inclui mais de 70 diferentes gêneros⁴, entre eles *Klebsiella* sp. e *Escherichia* sp. Nas bactérias Gram negativas a principal forma de resistência aos antibióticos β -lactâmicos são enzimas denominadas β -lactamases que agem degradando o anel β -lactâmico⁵. Devido ao aumento da resistência das enterobactérias aos antibióticos de amplo espectro, como as penicilinas e cefalosporinas^{6,7}, faz-se uso de antibióticos da classe dos carbapenêmicos (imipenem, meropenem, doripenem, e ertapenem)⁸. A partir dos anos 2000⁹, algumas espécies dessa família de bactérias começaram a mostrar-se resistentes aos carbapenêmicos, principalmente através do mecanismo de produção enzimática, sendo denominadas ERC (Enterobactérias resistentes a carbapenêmicos) ou CRE (do inglês, “Carbapenem resistant *Enterobacteriaceae*”).

As carbapenemases são enzimas pertencentes a grande família das β -lactamases⁵, que tem a capacidade de inativar os carbapenêmicos através da hidrólise do antibiótico¹⁰. Essas enzimas são classificadas de acordo com suas propriedades funcionais e moleculares: enzimas de Classe A, B e D, segundo Ambler. Como exemplo de carbapenemases de diferentes tipos se destacam: as KPCs (Classe A); NDM (Classe B); as Oxacilinasas, OXA-48 (Classe D)^{3,11}.

Hoje, as ERC são conhecidas como um grande problema devido a características como: alta frequência com que causam infecções¹²; uma alta mortalidade associada a essas infecções¹³⁻¹⁵; e uma possível transmissão dessa resistência através de elementos genéticos móveis^{16,17}. Nos Estados Unidos, *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) é a mais comum¹¹, sendo no Brasil a variante KPC-2 a mais identificada¹⁸. Essa enzima foi descrita pela primeira vez em 2001 na Carolina do Norte (EUA)^{11,17,19}. A partir de 2001, outros casos envolvendo KPC foram relatados, principalmente no nordeste dos EUA¹³, e alguns anos depois, casos em outros locais do mundo foram sendo reconhecidos²⁰.

As ERC tornaram-se um problema de saúde pública¹⁴, e inúmeros fatores estão associados ao desenvolvimento de infecções por estes patógenos, dentre eles podemos citar: uso de antibióticos como fluoroquinolonas^{21,22}, cefalosporinas¹⁴, até mesmo

carbapenêmicos^{14,23}; obstrução pulmonar crônica, ventilação mecânica, transplante de órgãos e traqueostomia^{19,22,24}.

Pacientes hospitalizados, colonizados com ERC parecem ser importantes disseminadores dessas cepas resistentes²⁵⁻²⁷. A partir de 2006, quando casos foram relatados no estado de Recife, outros casos também foram identificados no Brasil, principalmente nos estados de São Paulo e Rio de Janeiro²⁸⁻³⁰. De 2007 para 2011, na Europa, a taxa de resistência entre os isolados de *K. pneumoniae* cresceu mais de 42%, e com sua rápida e ampla disseminação atingiu mais de 68% no ano de 2011³¹. Sabe-se que as ERC podem causar infecções com uma taxa de mortalidade que varia de 40% a 50%^{14,32,33}.

Apesar de o melhor sítio anatômico para a detecção prévia de pacientes colonizados ainda não ser bem estabelecido, o intestino (avaliado por swab retal) parece ser o sítio de maior sensibilidade^{27,34}, pois o trato gastrointestinal é considerado o reservatório de indivíduos colonizados por ERC³⁵. De acordo com a Nota Técnica 01/2013 da ANVISA³⁴, para detecção de uma possível colonização por ERC, o material coletado deve ser por swab retal ou fezes, utilizando meios de transporte como Amies, Cary-Blair ou Stuart.

Este estudo teve como objetivo verificar a incidência de infecções por ERC em pacientes previamente colonizados em swab retal a fim de conhecer a importância epidemiológica e clínica do portador assintomático, assim como o impacto clínico destas infecções^{13,36}.

MÉTODOS

Estudo de coorte retrospectivo, descritivo, realizado no Hospital São Lucas da PUCRS de Porto Alegre – RS. Foram incluídos no estudo todos os pacientes admitidos no Hospital São Lucas da PUCRS no período de 01 janeiro de 2014 a 31 de dezembro de 2014, que possuíram, em algum momento da sua internação, coleta de swab retal para pesquisa de ERC. A coleta de swab retal para pesquisa de ERC faz parte da política de controle de infecção da instituição e é realizada pela enfermeira da unidade nos seguintes momentos: paciente admitido no hospital com re-internação nos últimos 90 dias, e quando o paciente é transferido ou admitido na unidade de tratamento intensivo adulto. O estudo foi desenhado a fim de estabelecer a incidência de pacientes colonizados por ERC (variável independente) e o subsequente desenvolvimento de infecções (variável dependente) pelos mesmos, considerando como colonizados os pacientes com isolado de ERC em swab retal e infectados aqueles com isolado de ERC na amostra clínica. Para identificação das ERC, o swab foi inoculado em meio líquido BHI contendo 0,25µg/ml de ertapenem e 100µg/ml de ampicilina. A seguir, o meio foi incubado por 12 a 18 horas a 36°C±1. Após, foi realizado subcultivo em ágar MacConkey, onde foram dispostos discos de 10µg de ertapenem. As colônias foram selecionadas baseadas na cor e na morfologia, e identificadas utilizando o sistema automatizado VITEK II® (Biomérieux). Foram utilizadas amostras clínicas coletadas na rotina de atendimento, a critério médico, não havendo período especificado entre coleta do swab e amostra clínica. O perfil de susceptibilidade foi analisado por E-test. Para análise do desfecho bruto (mortalidade), foram considerados 30 dias a partir da coleta do swab retal. Na coleta de dados foram avaliadas as seguintes variáveis: idade, sexo, tempo entre a internação e a colonização, amostra clínica, tempo entre a colonização e a amostra clínica, e desfecho em 30 dias. Os dados foram coletados a partir do prontuário eletrônico do paciente disponibilizado pelo Sistema de Gestão Hospitalar local – SISHOS. O teste qui-quadrado (χ^2) foi utilizado para comparação da variável mortalidade em colonizados *versus* mortalidade em infectados. O projeto de pesquisa foi encaminhado para o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital São Lucas da PUCRS em março de 2015, com aprovação em maio de 2015, sob parecer nº 1.072.821. Os preceitos bioéticos foram respeitados de acordo com as Diretrizes e Normas Regulamentadas de Pesquisas em Seres Humanos da Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

RESULTADOS

No total foram coletados 2733 swabs retais de vigilância no ano de 2014, sendo 93 positivos para presença de ERC, mas excluindo as duplicatas (mesmo paciente), obteve-se o número final de 78 swabs (2,85%) ERC positivos, o que representou um percentual de positividade de 2,85% (Figura 1). Entre os micro-organismos identificados nos swabs positivos, *K. pneumoniae* foi o bactéria mais comumente identificado (92,3%). *Escherichia coli* foi isolada em apenas 6% dos swabs, e em um deles havia duas espécies, *K. pneumoniae* e *E. coli*. A média de idade dos pacientes foi de 62,2 anos ($\pm 17,4$). Dos pacientes em estudo, 45% (35/78) estavam em Unidades de Tratamento Intensivo, 35% (28/78) nas Unidades de Internação e 19% (15/78) na Emergência.

Do total de pacientes colonizados, 63% (49/78) já tinham internação prévia no hospital. Vinte e seis (33%) pacientes colonizados positivaram amostra clínica depois da detecção da colonização. O tempo médio entre a colonização e a infecção foi de 14,9 dias ($\pm 13,6$).

Os materiais clínicos positivos para ERC (26) foram: urina (46,1%), material respiratório (30,7%), hemocultura (11,5%) e outros materiais (11,5%).

Dos isolados de ERC em amostra clínica pós-colonização, todos apresentaram a espécie *K. pneumoniae*, dos quais 42% (11/26) apresentaram resistência a Polimixina B, 96% (25/26) eram resistentes a meropenem, e 100% (26/26) resistentes para imipenem e ertapenem.

A mortalidade foi de 61% (16/26) nos pacientes colonizados com infecção *versus* 46% (24/52) nos pacientes colonizados que não desenvolveram infecção, obtendo um p de 0,20 (Figura 2).

DISCUSSÃO

Atualmente, o conceito de infecção hospitalar estende-se a infecções associadas aos cuidados de saúde (IACS), uma vez que o paciente deixa de ser comunitário quando percorre frequentemente instituições de saúde. O reflexo disso é a alta probabilidade de colonização de diferentes micro-organismos multirresistentes. Portanto, considerando que mais da metade dos pacientes já haviam passado por internação hospitalar prévia, a população em estudo tratava-se de uma amostra com alto risco de colonização por multirresistentes, o que não foi observado especificamente para ERC.

Apesar de um estudo anterior indicar como sítios anatômicos ideais, retal e perianal⁷, para pesquisa de ERC, nosso estudo não obteve um grande número de swabs positivos diante dos 2733 swabs coletados. Considerando que, para detecção de carbapenemases a partir dos swabs retais, fez-se uso de ágar MacConkey, um estudo anterior demonstrou uma alta sensibilidade e especificidade utilizando CHROMagar KPC³⁷. A baixa positividade em swab retal leva ao questionamento da efetividade do swab como política de triagem de pacientes com ERC, utilizada amplamente nas instituições de saúde. Entretanto, em um trabalho conduzido em quatro hospitais terciários de Porto Alegre, a pesquisa de ERC com swab retal foi primordial na identificação de pacientes colonizados³⁷.

Em um estudo semelhante a esse, a idade média dos pacientes infectados por ERC foi de 62,7 anos ($\pm 17,5$)³⁹, conforme demonstrou também nosso estudo (média de idade de 62,2 anos). Pacientes com idade mais avançada parecem ser mais susceptíveis a infecções por ERC, bem como aqueles com doenças crônicas, transplantados, submetidos a ventilação mecânica, entre outros. Pacientes mais jovens também desenvolveram infecções por ERC, porém a mortalidade observada em um intervalo de 30 dias, nesta população, foi menor.

A grande capacidade de disseminação de ERC, faz com que pacientes admitidos anteriormente no hospital tenham mais chances de estarem colonizados, e alas de hospitais que geralmente abrigam pacientes por um tempo mais prolongado, são importantes reservatórios dessas cepas, lembrando que a grande maioria dos pacientes colonizados nesse estudo eram pacientes readmitidos (63%). Desta maneira, o impacto do paciente ainda colonizado, assintomático, é de grande relevância para manejo clínico e epidemiológico destes pacientes.

O percentual de resistência a Polimixina B em isolados de ERC de amostras clínicas foi considerado elevado pelos autores e não esperado. Os dados são preocupantes uma vez que Polimixina B é considerado tratamento de última linha para estas infecções graves. Já o percentual de resistência a ertapenem era esperado, pois para os carbapenêmicos já é considerado um marcador de resistência, podendo ou não estar associado à produção enzimática⁴⁰.

Nosso estudo demonstrou que 1/3 dos pacientes previamente colonizados desenvolveram infecção, o que sugere a colonização como um importante fator de risco para o desenvolvimento de infecção por ERC. Tais dados parecem não se transferir para outros micro-organismos multirresistentes. Coelho *et al.*, em um estudo com *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM), demonstraram que poucos pacientes colonizados desenvolveram sintomas clínicos infecciosos⁴¹.

Sobre a mortalidade em pacientes infectados (61%; 16/26) *versus* mortalidade em pacientes colonizados (46%; 24/52), apesar dos infectados terem ido mais a óbito, a diferença não foi estatisticamente significativa entre os grupos ($p = 0,20$). Acredita-se que o tamanho da amostra pode ter influenciado neste resultado.

O trabalho possui algumas limitações referentes aos critérios de avaliação de colonização/infecção, uma vez que o sítio urinário é considerado sítio de colonização na ausência de sintomas clínicos. Nós consideramos todos os isolados urinários como infectantes, o que superestima o resultado no grupo dos infectados.

Por fim, trata-se de um trabalho de extrema relevância tanto do ponto de vista clínico quanto epidemiológico, uma vez que conhecer o impacto do paciente colonizado pode contribuir para um melhor manejo terapêutico. Para os Serviços de Controle de Infecção, a identificação do paciente colonizado integra os protocolos de prevenção, pois este passa a ser uma possível fonte de disseminação. Conhecendo pacientes fonte (colonizados), medidas de bloqueio epidemiológicas, embora controversas, podem ser aplicadas mais precocemente; assim, reduzindo o risco de transmissões cruzadas e a instalação de surtos no ambiente hospitalar.

REFERÊNCIAS

1. Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ. Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. 8th ed. Elsevier Health Sciences; 2014.
2. Wellington EM, Boxall AB, Cross P, Feil EJ, Gaze WH, Hawkey PM, et al. The role of the natural environment in the emergence of antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. *Lancet Infect Dis*. 2013;13:155-65.
3. Abbott SL. Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas, and Other Enterobacteriaceae. In: Versalovic J, Carroll K, Funke G, Jorgensen J, Landry M, Warnock D (editors). *Manual of Clinical Microbiology*. 10th ed. ASM Press. Washington, DC; 2011. p. 639-657.
4. Sievert DM, Ricks P, Edwards JR, Schneider A, Patel J, Srinivasan A, et al. Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2009–2010. *Infect Control*. 2013;34:1-14.
5. Alves AP, Behar PRP. Infecções hospitalares por enterobactérias produtoras de KPC em um hospital terciário do sul do Brasil. *Rev AMRIGS*. 2013;57:213-8.
6. Schwaber MJ, Carmeli Y. Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: a potential threat. *JAMA*. 2008;300:2911-3.
7. Wiener-Well Y, Rudensky B, Yinnon A, Kopuit P, Schlesinger Y, Broide E, et al. Carriage rate of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in hospitalised patients during a national outbreak. *J Hosp Infect*. 2010;74:344-9.
8. Kallen M, Ricks P, Edwards J, MStat AS, Fridkin S, Rasheed JK, et al. Vital signs: carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2013;62:165-70.
9. Gaynes RP, Culver DH. Resistance to imipenem among selected gram-negative bacilli in the United States. *Infect Control*. 1992;13:10-4.
10. Sidjabat HE, Kamolvit W, Wailan A, Paterson DL. Multi-drug-resistant Gram-negative bacteria. *Microbiology Australia*. 2013;34:43-6.
11. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile β -lactamases. *Clin Microbiol Rev*. 2007;20:440-58.
12. Hidron AI, Edwards JR, Patel J, Horan TC, Sievert DM, Pollock DA, et al. Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the

- Centers for Disease Control and Prevention, 2006–2007. *Infect Control*. 2008;29:996-1011.
13. Bratu S, Landman D, Haag R, Recco R, Eramo A, Alam M, et al. Rapid spread of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in New York City: a new threat to our antibiotic armamentarium. *Arch Intern Med*. 2005;165:1430-5.
 14. Patel G, Huprikar S, Factor SH, Jenkins SG, Calfee DP. Outcomes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection and the impact of antimicrobial and adjunctive therapies. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2008;29:1099-106.
 15. Schwaber MJ, Klarfeld-Lidji S, Navon-Venezia S, Schwartz D, Leavitt A, Carmeli Y. Predictors of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* acquisition among hospitalized adults and effect of acquisition on mortality. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008;52:1028-33.
 16. Watanabe M, Iyobe S, Inoue M, Mitsuhashi S. Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1991;35:147-51.
 17. Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, Domenech-Sanchez A, Biddle JW, Steward CD, et al. Novel carbapenem-hydrolyzing β -lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001;45:1151-61.
 18. Rossi F. The challenges of antimicrobial resistance in Brazil. *Clin Infect Dis*. 2011;52:1138-43.
 19. Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54:969-76.
 20. Naas T, Nordmann P, Vedel G, Poyart C. Plasmid-mediated carbapenem-hydrolyzing β -lactamase KPC in a *Klebsiella pneumoniae* isolate from France. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49:4423-4.
 21. Gasink LB, Edelstein PH, Lautenbach E, Synnestvedt M, Fishman NO. Risk factors and clinical impact of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae*. *Infect Control*. 2009;30:1180-5.
 22. Falagas ME, Rafailidis PI, Kofteridis D, Vartzili S, Chelvatzoglou FC, Papaioannou V, et al. Risk factors of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infections: a matched case–control study. *J Antimicrob Chemother*. 2007;60:1124-30.
 23. Jeon MH, Choi SH, Kwak YG, Chung JW, Lee SO, Jeong JY, et al. Risk factors for the acquisition of carbapenem-resistant *Escherichia coli* among hospitalized patients. *Diagn Micr Infectious Dis*. 2008;62:402-6.

24. Scarpate ECB, Cossatis JJ. A presença da *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -lactamase de espectro estendido no ambiente hospitalar. *Saúde & Amb Rev.* 2009;4:1-11.
25. Endimiani A, DePasquale JM, Forero S, Perez F, Hujer AM, Roberts-Pollack D, et al. Emergence of blaKPC-containing *Klebsiella pneumoniae* in a long-term acute care hospital: a new challenge to our healthcare system. *J Antimicrob Chemother.* 2009;64:1102-10.
26. Won SY, Munoz-Price LS, Lolans K, Hota B, Weinstein RA, Hayden MK. Emergence and rapid regional spread of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Clin Infect Dis.* 2011;53:532-40.
27. Thurlow CJ, Prabaker K, Lin MY, Lolans K, Weinstein RA, Hayden MK. Anatomic sites of patent colonization and environmental contamination with *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase—producing *Enterobacteriaceae* at long-term acute care hospitals. *Infect Control.* 2013;34:56-61.
28. Monteiro J, Santos AF, Asensi MD, Peirano G, Gales AC. First report of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* strains in Brazil. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53:333-4.
29. Peirano G, Seki LM, Passos VLV, Pinto MCF, Guerra LR, Asensi MD. Carbapenem-hydrolysing β -lactamase KPC-2 in *Klebsiella pneumoniae* isolated in Rio de Janeiro, Brazil. *J Antimicrob Chemother.* 2009;63:265-8.
30. Pavez M, Mamizuka EM, Lincopan N. Early dissemination of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* strains in Brazil. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53:2702-.
31. Prevention ECfD, Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2012. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). ECDC Stockholm; 2013.
32. Schwaber MJ, Lev B, Israeli A, Solter E, Smollan G, Rubinovitch B, et al. Containment of a country-wide outbreak of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in Israeli hospitals via a nationally implemented intervention. *Clin Infect Dis.* 2011;52:848-55.
33. Chitnis AS, Caruthers PS, Rao AK, Lamb J, Lurvey R, De Rochars VB, et al. Outbreak of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* at a long-term acute care hospital: sustained reductions in transmission through active surveillance and targeted interventions. *Infect Control.* 2012;33:984-92.

34. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Nota Técnica n° 1/2013 – Medidas de prevenção e controle de infecções por enterobactérias multiresistentes. Brasília (DF): ANVISA; 2013.
35. Hosoglu S, Gundes S, Kolayli F, Karadenizli A, Demirdag K, Gunaydin M, et al. Extended-spectrum beta-lactamases in ceftazidime-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates in Turkish hospitals. *Indian J Med Microbiol.* 2007;25:346.
36. Scheduler V, Kotlovsky T, Tarabeia J, Kazma M, Schwartz D, Navon-Venezia S, et al. Predictors of rectal carriage of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) among patients with known CRE carriage at their next hospital encounter. *Infect Control.* 2011;32:497-503.
37. Samra Z, Bahar J, Madar-Shapiro L, Aziz N, Israel S, Bishara J. Evaluation of CHROMagar KPC for rapid detection of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. *J Clin Microbiol.* 2008;46:3110-1.
38. Pinto FM, Simas DM, Baldin CP, Limberger II, Silva RCF, Antchevis LC, et al. Prevalência de carbapenemases em enterobactérias resistentes a carbapenêmicos em quatro hospitais terciários de Porto Alegre [Prevalence of carbapenemases in carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* in four tertiary care hospitals in Porto Alegre]. *Clin Biomed Res.* 2014;34.
39. Daikos GL, Tsaousi S, Tzouveleki LS, Anyfantis I, Psychogiou M, Argyropoulou A, et al. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections: lowering mortality by antibiotic combination schemes and the role of carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58:2322-8.
40. Almeida L, Carvalho F, Marques AG, Pereira AS, Bortoleto RP, Martino M. Desempenho do disco de ertapenem como preditor da produção de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase por bacilos Gram-negativos isolados de culturas em um hospital municipal de São Paulo. *Einstein.* 2012;10.
41. Coello R, Glynn J, Gaspar C, Picazo J, Fereres J. Risk factors for developing clinical infection with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) amongst hospital patients initially only colonized with MRSA. *J Hosp Infect.* 1997;37:39-46.

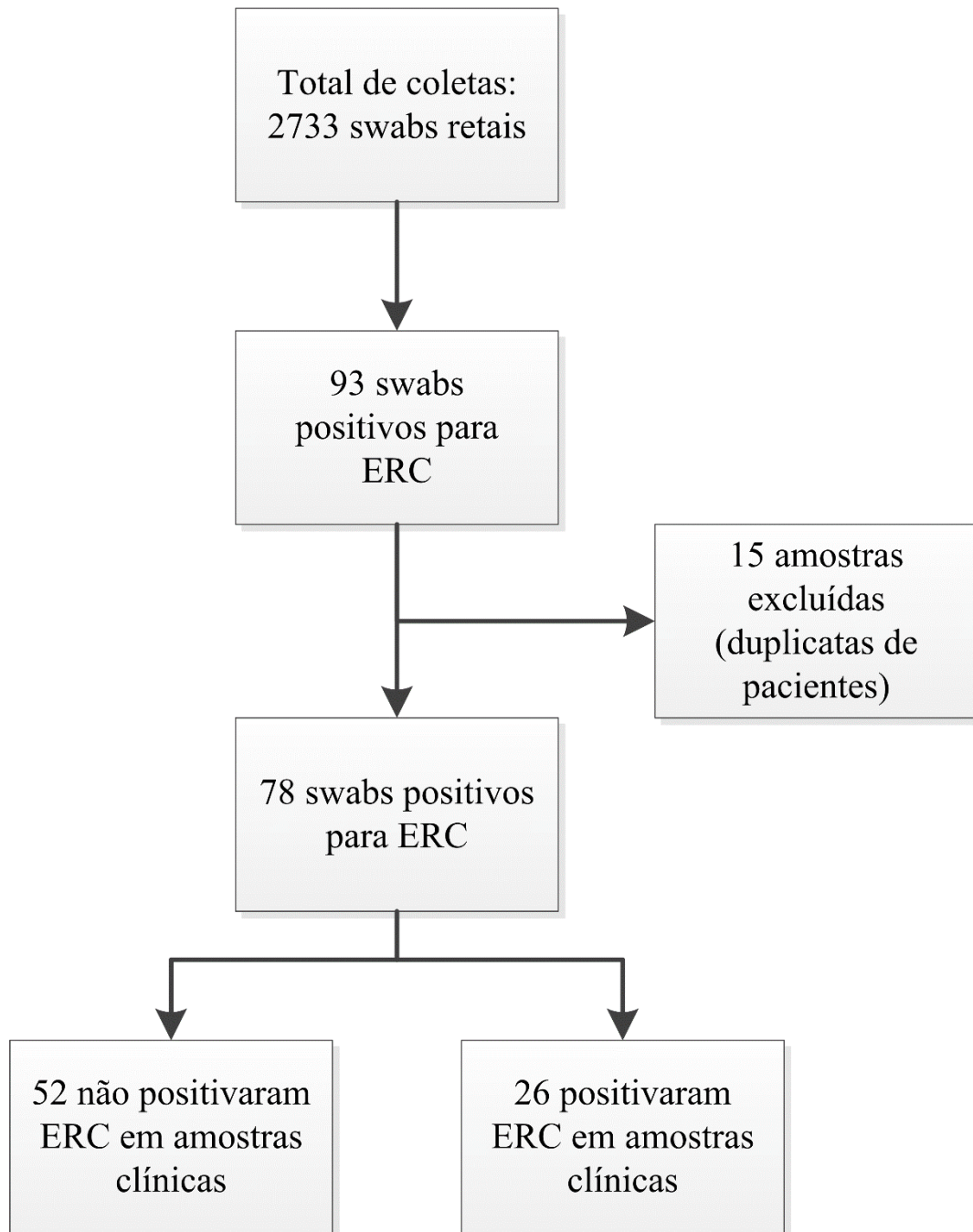


Figura 1. Fluxograma de seleção das amostras

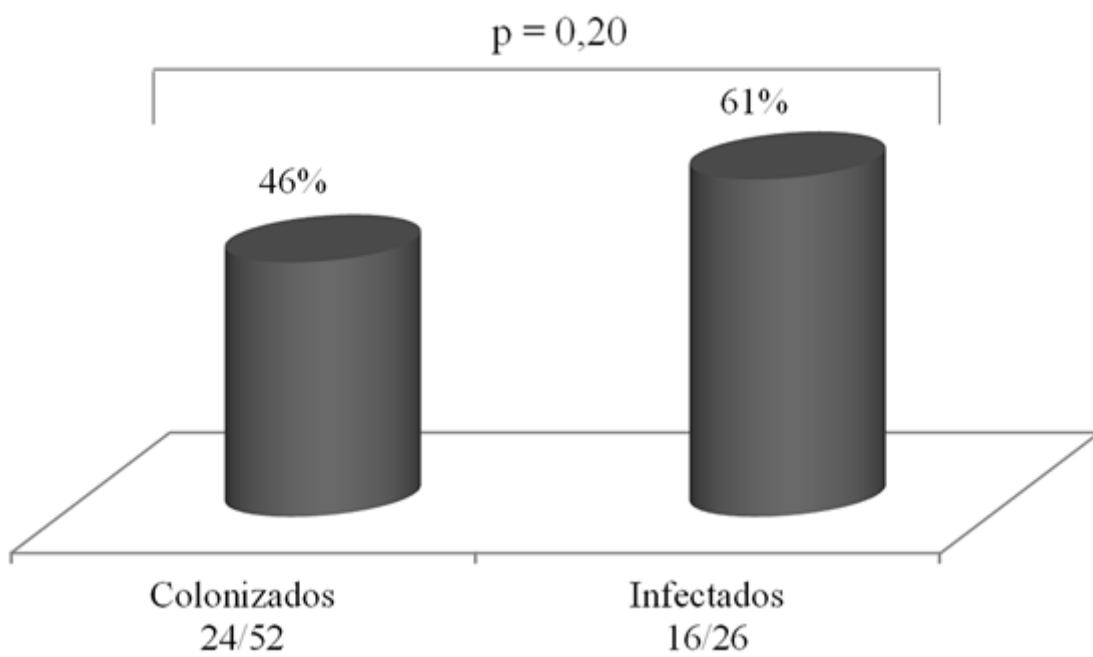


Figura 2. Comparação da mortalidade nos pacientes somente colonizados *versus* pacientes colonizados que desenvolveram infecção.

Instructions for authors
Clin Biomed Res 2014 1

SCOPE AND POLICY

Clinical and Biomedical Research (CBR), formerly “Revista HCPA”, is a scientific publication from Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) and the School of Medicine of Universidade Federal do Rio Grande do Sul (FAMED/UFRGS). It is a free access scientific periodic that aims to publish papers from all relevant areas in the Health Sciences, including clinic and basic research. The selection criteria for publication include: originality, relevance of the theme, methodological quality, and adequacy to the journals’ editorial norms.

CBR supports the policies for the registration of clinical trials of the World Health Organization (WHO) [<http://www.who.int/ictrp/en/>] and the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) [<http://www.icmje.org/>]. Therefore, CBR will only accept clinical research articles that have received an identification number from the Brazilian Clinical Trials Registry (*Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos - ReBEC*) [<http://www.ensaiosclinicos.gov.br>] or other official database dedicated to the registry of clinical trials.

All published articles are reviewed by anonymous peers. Once the article is accepted for publication, its copyrights are automatically transferred to the journal. The content of manuscripts submitted for publication to CBR implies that it has not been published previously and that it has not been submitted to another journal. To be published elsewhere, even in part, articles published in CBR require written approval of the editors. The concepts and declarations contained in the papers are the authors’ full responsibility. The articles may be written in Portuguese, English, or Spanish. The submissions in English are strongly encouraged by the editors.

The manuscript should fit into one of the different categories of articles published by the journal, as follows:

FORM AND PREPARATION OF ARTICLES

The following categories of contributions will be considered for publication

Editorial

Critical and thorough review, prepared at the invitation of the editors, and submitted by an author with renowned knowledge on the subject. Editorials can have up to 1,000 words. This section may include the Journal's editorial of presentation, signed by the editor, besides special editorials that comprise requested collaborations about current themes or about articles published on the Journal.

Review Articles

Articles that aim to synthesize and critically evaluate the present knowledge on a particular theme. They should contain no more than 6,000 words. These articles should present an unstructured abstract, with no more than 200 words (except for systematic reviews – see abstract structure in 'Original Articles') and a comprehensive list, but preferably with no more than 80 references. Tables should be included in the same manuscript file (after references) and the figures should be submitted as additional documents in individual files.

Special Articles

Manuscripts exclusively requested by the editors, on a subject of scientific relevance, to authors with recognized expertise in the area, and that do not meet the criteria for Editorials.

Original Articles (written entirely in English)

Articles with unpublished research results, including full-length studies that contain all relevant information so that the reader may evaluate its results and conclusions, as well as replicate the research. Its formal structure should present the following topics: Introduction, Methods, Results and Discussion. The conclusions should be in the last paragraph of the Discussion, not requiring a specific section. Clinical implications and limitations of the study should be mentioned. For original articles, a structured abstract should be presented (Introduction, Methods, Results, and Conclusions) in Portuguese and

English, in cases where the article is not written entirely in English. The Abstracts (Portuguese, Spanish, or English) should not exceed 250 words.

Articles submitted in this category should not exceed 3,000 words. Tables should be included together in the same manuscript file (after references) and figures should be submitted as an additional document in individual files.

Case Reports (written entirely in English)

Articles based on peculiar cases and brief comments on the importance of the case in relation to the existing knowledge in the field. They should contain up to 1,000 words, with a total of no more than two tables or figures and 15 references, once presenting a literature review is not the purpose of the reports.

Their structure should present the following topics: Introduction, explaining the relevance of the case; Presentation of the case (Case Report), and Discussion. Case reports should describe novel or unusual findings, or offer new insights into a given problem. The content should be limited to facts relevant to the case. The confidentiality regarding patient identification is critical, so authors should not report any precise dates, initials, or any other information irrelevant to the case, but that may possibly identify the patient.

Case reports should have an unstructured abstract with no more than 150 words.

Tables should be included in the same manuscript file (after references) and figures should be sent as additional documents in individual files.

Case Reports: Images in Medicine (written entirely in English)

Section devoted to the publication of informative images, which are unusual and/or of broad interest in clinical situations. It should contain no more than 500 words and a total of 5 references. Two to three images (at a resolution of at least 300 dpi).

Letters

Opinions and comments on an article published in the Journal, on subjects of scientific relevance, and/or preliminary clinical observations. The text should be concise, with no more than 500 words. Only one table and one figure are allowed, and a maximum of five references. They should not have an abstract.

Brief Communication

Brief Communications are original but preliminary or more specific research results that contain all relevant information so that the reader may evaluate its results and conclusions, as well as replicate the research. The structure is similar to original articles; however, the Abstracts (Portuguese, Spanish, or English) should not exceed 150 words and the text should not exceed 1,200 words. A maximum of two Tables/Figures are accepted.

Supplements

In addition to regular issues, CBR publishes the supplement of the HCPA Science Week.

CONFLICTS OF INTEREST

Conflicts of interest arise when the author has financial or personal relationships that could inappropriately influence their professional judgment. These relationships may create favorable or unfavorable tendencies towards a paper and impair the objectivity of the analysis. Authors must disclose possible conflicts of interest.

This extends to editorials and review articles, and should be done at the time of submission of the manuscript.

It is at the editor's discretion to decide whether this information should be published or not and whether to use it for editorial decisions. A common form of conflict of interest is the funding of research by third parties who may be companies, government agencies, or others. This obligation to the funding entity may lead the researcher to obtain tendentious results, inappropriately influencing (bias) their work. Authors should describe the interference of the funding entity at any stage of the research, as well as the form of funding, and the type of relationship established between the sponsor and the author. The authors may choose to inform the peer reviewers' names for which their article should not be sent, justifying themselves.

PRIVACY AND CONFIDENTIALITY

Information and pictures of patients that allow their identification should only be published with formal written authorization of the patient, and only when necessary for the purpose of the study. For formal authorization, the patient must know the content of

the article and be aware that this article may be made available on the Internet. If in doubt about the possibility of identifying a patient, such as in the case of photos with stripes over the eyes, a formal authorization should be obtained. In the case of distortion of data to prevent identification, authors and editors should ensure that such distortions do not compromise the results of the study.

EXPERIENCES WITH HUMANS AND ANIMALS

All content related to research with humans and animals must have previous approval by the Research Ethics Committee or the Animal Ethics Committee, respectively. The works should be in accordance with the recommendations of the Declaration of Helsinki (current or updated), the CNS Resolution n. 196/96 and its complementary regulations, as well as the Law n. 11.794/2008 for studies in animals. It is important to indicate the number of the project's registration in the respective Committee or Ethics Committee, as well as in the National Committee for Research Ethics, if applicable.

PREPARATION OF THE ARTICLE

The registration on the system and subsequent access or login are mandatory to submit and verify the status of submissions.

Identification: must include: a) Title of the article, which should be clear and concise.

Do not use abbreviations.

There should be a version of the reduced title to appear in the header as well as a title in the English language; b) authors' full names; c) institution and the sector or unit of the institution to which each author is affiliated (personal titles and positions held should not be mentioned); d) name of the institution where the study was performed; e) indication of the corresponding author, accompanied by the electronic address; and f) if it has been presented at a scientific meeting, the name of the event, the place, and the date of completion should be indicated.

ALL NAMES OF ALL AUTHORS INCLUDED IN THE MANUSCRIPT SHOULD BE REGISTERED IN THE SYSTEM

Abstract and Keywords: The articles should have an abstract in Portuguese and English. Check the structure and the number of words described for each specific type of article (see above). The structured abstracts, required only for original articles, should present the name of the subdivisions that make up the formal structure of the article at the beginning of each paragraph (Introduction, Methods, Results and Conclusions). The keywords - expressions that represent the subject of the paper - should be in number from 3 to 10, provided by the author, based on the DeCS (Health Sciences Descriptors) published by Bireme, which is a translation from the MeSH (Medical Subject Headings) from the National Library of Medicine, available in the following electronic address: <http://decs.bvs.br>.

The keywords should be presented in Portuguese and English.

Manuscript: it must conform to the structure required for each category of article. Text citations and references cited in the legends of tables and figures should be numbered consecutively in the order they appear in the text, with Arabic numerals.

References should be cited in the text as in the example: Reference¹.

Tables: they should be numbered consecutively, with Arabic numerals, in the order they were cited in the text, and headed by a suitable title. They should be cited in the text, but duplicated information should be avoided. The tables, with titles and footnotes, should be self-explanatory. The abbreviations should be specified as footnotes without numerical indication. The remaining footnotes should be numbered in Arabic numerals and written in superscript.

Figures and charts: Illustrations (photographs, charts, drawings, etc.) should be sent in separate articles, in JPG format (at a high resolution – at least, 300 dpi). They should be numbered consecutively with Arabic numerals, in the other they are cited in the text and should be clear enough for reproduction and in the same language as the text. Photocopies will not be accepted. If there are figures extracted from other previously published studies, the authors should provide a written permission for their reproduction. This authorization shall accompany the manuscripts submitted for publication. The figures must have a title and subtitle (if necessary), which should both must precede the figure itself.

Abbreviations: abbreviations must be explained at first mention. On the rest of the article, it is not necessary to repeat the full name.

Name of medications: the generic name should be used.

In case of citing appliances/equipment: all appliances/equipment cited should include model, manufacturer's name, state, and country of manufacture.

Acknowledgements: should include the collaboration of people, groups, or institutions that have contributed to the study, but whose contributions do not justify their inclusion as authors; this item should also include the acknowledgements for financial support, technical assistance, etc. This item should come before the references.

Conflicts of interest: If there is any conflict of interest (see above), it should be declared. In case there is not, place in this section: "The authors declare no conflicts of interest" or "None to declare."

References: should be numbered consecutively, in the order in which they are mentioned in the text, and identified with Arabic numerals. The presentation must be based on a format called "Vancouver Style", as the examples below, and the titles of journals should be abbreviated according to the style presented by the List of Journal Indexed in Index Medicus, from the National Library of Medicine, available at: <ftp://nlmpubs.nlm.nih.gov/online/journals/ljiweb.pdf>. The authors should ensure that the cited references in the text appear in the reference list with exact dates and authors' names correctly spelt. The accuracy of references is the authors' responsibility. Personal communications, unpublished or unfinished articles could be cited when absolutely necessary, but should not be included in the reference list and only cited in the text. The submission of the unpublished works mentioned in the manuscript may be requested at the discretion of the editors.

Examples of citing references:

Journal articles (from one to six authors)

Almeida OP. A autoria de artigos científicos: o que fazem os tais autores? Rev Bras Psiquiatr. 1998;20:113-6.

Journal articles (more than six authors)

Slatopolsky E, Weerts C, Lopez-Hilker S, Norwood K, Zink M, Windus D, et al. Calcium carbonate as a phosphate binder in patients with chronic renal failure undergoing dialysis. *N Engl J Med.* 1986;315:157-61.

Articles without the author's name

Cancer in South Africa [editorial]. *S Afr Med J.* 1994;84:15.

Books

Ringsven MK, Bond D. Gerontology and leadership skills for nurses. 2nd ed. Albany (NY): Delmar Publishers; 1996.

Chapters from a book

Phillips SJ, Whisnant JP. Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management. 2nd ed. New York: Raven Press; 1995. p. 465-78.

Books in which editors (organizers) are authors

Norman IJ, Redfern SJ, editors. Mental health care for elderly people. New York: Churchill Livingstone; 1996.

Theses

Kaplan SJ. Post-hospital home health care: the elderly's access and utilization [dissertation]. St. Louis (MO): Washington Univ.; 1995.

Papers presented at conferences

Bengtsson S, Solheim BG. Enforcement of data protection, privacy and security in medical informatics. In: Lun KC, Degoulet P, Piemme TE, Rienhoff O, editors. MEDINFO 92. Proceedings of the 7th World Congress on Medical Informatics; 1992 Sep 6-10; Geneva, Switzerland. Amsterdam: North-Holland; 1992. p. 1561-5.

Electronic Journal Articles

Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. Emerg Infect Dis [serial online] 1995 Jan-Mar [cited 1996 Jun 5];1(1):[24 screens]. Available from: URL:<http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>.

Other types of reference should follow the document

International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) Uniform Requirements for Manuscripts

Submitted to Biomedical Journals: Sample References

(http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html)

Technical requirements

Microsoft Word document (.doc or .rtf), singled space, font size 10, 2-cm margins in each side, title page, abstract and descriptors, text, acknowledgements, references, tables and legends, and the figures should be sent in jpg or tiff at a resolution of at least 300 dpi.