

Comparação entre os métodos direto e tradicional para avaliação de susceptibilidade antimicrobiana em amostras de secreção respiratória

Comparison of direct and traditional methods for assessing antimicrobial susceptibility in samples of respiratory secretion

Daniela Barbieri Bariani¹, Lycia Mara Jenne Mimica²

Resumo

Introdução: A *Pneumonia Associada à Ventilação Mecânica (PAV)* é pneumonia nosocomial extremamente grave e sua suspeita é suficiente para iniciar tratamento empírico com antibióticos de amplo espectro, uma vez que tal quadro não permite que se espere pelos resultados de culturas. Tal tratamento resulta muitas vezes em antibioticoterapia inadequada, comprometimento do prognóstico do paciente, custos hospitalares e desenvolvimento de resistência bacteriana. Recentemente levantou-se a possibilidade de um método rápido de análise da secreção respiratória do paciente com suspeita de PAV, ganhando-se tempo considerável, de 72 horas para 24 horas, para obtenção dos resultados. **Objetivos:** Verificar a acurácia do teste de sensibilidade rápido comparado ao teste padrão habitualmente utilizado. Estabelecer o perfil de resistência dos patógenos mais frequentemente isolados nas UTIs da Santa Casa de São Paulo. **Métodos:** Utilizamos amostras de secreção respiratória dos pacientes das UTIs Central e do PS com suspeita de PAV, encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia. Estas foram submetidas ao teste rápido, que consiste na aplicação dos discos e Etests

diretamente na secreção respiratória, sem realizar antes a sementeira (tradicionalmente feito), e posterior leitura dos resultados. Procedemos com comparação dos resultados, análise de erro e análise estatística. **Resultados:** Obtivemos 125 amostras entre bacilos gram negativos e cocos gram positivos. Traçamos perfil de prevalência e de susceptibilidade destes agentes, com predomínio do *Acinetobacter baumannii* (36,1%), *Staphylococcus aureus* (25,2%) e *Pseudomonas aeruginosa* (17,7%), e nos deparamos com alarmante resistência. Na comparação entre os métodos tradicional e rápido, utilizando-se o índice Kappa, obtivemos graus de concordância animadores (concordâncias de “boa” a “perfeita”, com apenas uma concordância “justa”). **Conclusões:** Os resultados da comparação entre os métodos rápido e tradicional foram excepcionais, configurando o teste rápido como um promissor horizonte a ser explorado.

Descritores: *Pneumonia associada à ventilação mecânica/microbiologia, Suscetibilidade a doenças, Testes de sensibilidade microbiana, Agentes antibacterianos, Infecção hospitalar*

Abstract

Introduction: The ventilator-associated pneumonia (VAP) is an extremely serious nosocomial infection and its suspicion is enough to start empirical treatment with broad-spectrum antibiotics, as this situation does not allow us to wait for culture results. Such treatment often results in inappropriate antibiotic therapy, worse of patient's prognosis, hospital costs and development of bacterial resistance. Some papers have recently raised the possibility of a rapid method of respiratory secretions analysis, using samples of patients with suspected VAP, earning a considerable time: from 72 hours to 24 hours to obtain the results. **Objectives:** Verify the accuracy of the fast test compared to the pattern one commonly used. Establish the resistance profile of pathogens commonly isolated in the ICUs of Santa Casa de Sao Paulo. **Methods:** Samples of respiratory secretions from patients in Central and ER ICUs with suspected

1. Acadêmico do 6º Ano do Curso de Graduação em Medicina da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo

2. Professor Adjunto da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo – Departamento de Ciências Patológicas. Coordenadora da Disciplina de Microbiologia da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo. Diretora do Serviço de Controle de Infecção Hospitalar da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia São Paulo

Trabalho realizado: Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo. Curso de Graduação em Medicina. Disciplina de Microbiologia. Serviço de Controle de Infecção Hospitalar da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo

Fonte de auxílio à pesquisa: Bolsa de iniciação científica Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP

Endereço para correspondência: Daniela Barbieri Bariani. Rua Diogo Pereira n.1 casa 59, Superquadra Morumbi, 05750-130 – São Paulo – SP – Brasil. Email: danielabariani@yahoo.com.br

VAP were sent to the Microbiology Laboratory. These were subjected to the rapid test, which involves the application of antibiogram disks and Etests directly in respiratory secretions, without seeding them before (as traditionally done), followed by reading of the susceptibility results. We conducted a comparison of results, error analysis and statistical analysis. **Results:** 125 samples of respiratory secretion were obtained, between gram negative and gram-positive cocci. We stipulated prevalence and susceptibility of these agents, with a predominance of *Acinetobacter baumannii* (36,1%), *Staphylococcus aureus* (25,2%) and *Pseudomonas aeruginosa* (17,7%). We faced also an alarming antibiogram resistance. Encouraging degrees of agreement were obtained comparing traditional and fast methods, using the Kappa (concordance of "substantial" to "perfect" with only a "fair" agreement). **Conclusions:** The results of the comparison between traditional and rapid methods were exceptional, setting the rapid test as a promising horizon to be explored.

Key words: Pneumonia, ventilator-associated; Disease susceptibility; Microbial sensitivity tests; Anti-bacterial agents; Cross infection

Introdução

Pneumonia Associada à Ventilação Mecânica (PAV) é definida como pneumonia nosocomial que ocorre depois de o paciente ter sido submetido à ventilação mecânica e que não estava presente no momento do ingresso, sendo diagnosticada a partir das 48 horas seguintes à intubação^[2]. A frequência de PAV em Unidades de Terapia Intensiva (UTIs) varia de 8 a 28%, e sua taxa de mortalidade de 20 a 40%^[1-5], constituindo-se na principal causa de morte para as infecções adquiridas em hospitais^[4]. Pacientes em estado crítico que desenvolvem PAV têm duas vezes mais risco de evoluir para óbito quando comparados com pacientes similares sem PAV; pacientes com PAV têm maior tempo de permanência na UTI, utilizam por mais tempo a ventilação mecânica e ficam mais dias internados no hospital, o que gera um aumento de custos para o hospital, variando entre US\$ 10.019 a US\$40.000 por paciente^[5].

O impacto da antibioticoterapia no prognóstico da PAV tem sido estudado por diversos pesquisadores^[7-9], cujos trabalhos têm sido as bases para o conceito de que a antibioticoterapia inicial inadequada está associada a altas taxas de mortalidade. Além disso, o tratamento adequado contribui para o controle da resistência bacteriana, já que o aumento da mesma é resultado de alguns fatores como o longo tempo de permanência no hospital e falhas nos tratamentos envolvendo antibióticos^[3,6,8]. Dessa maneira, métodos de diagnóstico etiológico e de sensibilidade aos antibióticos mais rápidos e acurados são necessários para iniciar um tratamento antibiótico adequado, assim que a pneumonia é suspeitada^[7]. A

busca por metodologias que respondam a esta urgência tem sido uma preocupação constante nos laboratórios de microbiologia.

O diagnóstico etiológico da pneumonia é difícil e diferentes critérios já foram propostos^[10-12]. A maioria dos métodos rápidos consiste na análise direta do material colhido do paciente, como o BAL-D, análise microscópica direta do lavado bronco-alveolar^[11]; o INNO-LiPA Rif TB[®] (Innogenetics, Bélgica), que permite detectar bacilos multi-resistentes da tuberculose^[13], e mais recentemente o BD Phoenix[®] (Becton Dickinson), testado para cocos gram positivos em hemoculturas^[27]. Atualmente, tem sido explorada a possibilidade de se usar o Etest[®] (AB Biodisk, Suécia) (fita com gradiente de concentração de um determinado antimicrobiano para determinação da concentração inibitória mínima – CIM – e cujo resultado independe do tamanho do inóculo) e discos de antibiogramas diretamente em amostras clínicas^[13-17,19,20] para agilizar a informação de susceptibilidade.

Bouza et al^[16] avaliaram o impacto clínico e financeiro do uso de Etest em amostras obtidas do trato respiratório inferior de pacientes com PAV. Comparou-se um grupo controle que utilizou o procedimento padrão, com um grupo que, além do procedimento padrão foi realizado a determinação de sensibilidade com o Etest diretamente na amostra clínica. Os resultados da susceptibilidade aos antimicrobianos do grupo controle só foram disponibilizados para o médico 48 a 72 horas após a coleta da amostra; já os do grupo do Etest estavam disponíveis para a equipe médica em 24 horas. O uso do Etest foi associado com menos dias de febre, menos dias de ventilação mecânica, menos dias de administração e menor consumo de antibióticos, além de menores gastos hospitalares^[16].

O presente estudo visa avaliar os resultados obtidos pela utilização do Etest e dos discos de antibiogramas diretamente em amostras de secreções pulmonares, colhidas de pacientes com suspeita de PAV, internados na UTI da Santa Casa de São Paulo, quando comparadas com o método tradicional. Espera-se, dessa maneira, obter um teste de análise de sensibilidade seguro para o tratamento da PAV em menos tempo do que o usual, o que traria benefícios tanto para o paciente quanto para o hospital, na medida em que haveria uma redução no tempo de internação, no consumo de antibióticos e, consequentemente, nos gastos hospitalares. Adicionalmente, obter-se-ia uma efetiva diminuição da resistência bacteriana, já que o uso de antibioticoterapia de amplo espectro seria diminuído.

Objetivos

- Verificar a acurácia do teste de sensibilidade rápido com Etest e discos de antibiograma comparado

ao teste de sensibilidade padrão, habitualmente utilizado pela rotina dos laboratórios clínicos.

- Determinar quais são os patógenos mais frequentemente isolados de pacientes com PAV na UTI da Santa Casa de São Paulo.
- Estabelecer o perfil de resistência destes agentes.

Materiais e Métodos

As amostras de secreção respiratória dos pacientes das Unidades de Terapia Intensiva da Santa Casa de São Paulo (UTIs Central e do Pronto Socorro), com suspeita de Pneumonia Associada à Ventilação Mecânica (PAV), encaminhadas de rotina ao Laboratório de Microbiologia do Serviço de Controle de Infecção Hospitalar, após o processamento habitual, foram utilizadas para a realização deste projeto.

A rotina padrão consiste em recebimento da amostra em frasco de coleta especial para amostras respiratórias coletadas a partir de aspiração (Transbac C), semeadura quantitativa, incubação, aguardo do eventual crescimento para realização do teste de sensibilidade através de um método quantitativo que é a disco-difusão ou Kirby-Bauer [22].

Os discos de antibiograma consistem em discos de papel-filtro impregnados com diferentes antibióticos que são colocados sobre a superfície de uma placa de Petri com Agar Mueller Hinton, semeada com a bactéria. Por meio de difusão do antibiótico para o ágar, quando o antibiótico é inibidor, forma-se um halo sem crescimento bacteriano em torno do disco, tornando-se zona de inibição, e cujo diâmetro é medido. O resultado final é dado sob a forma de uma planilha que comporta, para cada antibiótico, uma interpretação qualitativa; a cepa pode ser: sensível (S), intermediária (I) ou resistente (R) ao antibiótico [21]. Usualmente, o método de disco difusão direta é utilizado para amostras de urina e sangue, tendo uma eficácia (quando comparado ao método padrão de Kirby-Bauer) em torno de 95%.

Já o Etest consiste de uma fita com gradiente de concentração de um determinado antimicrobiano para determinação da concentração inibitória mínima (CIM); é utilizado na rotina laboratorial como um método quantitativo para determinação da susceptibilidade bacteriana, através da semeadura de uma suspensão das colônias obtidas após a incubação do material clínico a ser estudado. Alguns estudos têm mostrado a possibilidade de sua aplicação diretamente no material clínico encaminhado ao laboratório, com um ganho de tempo considerável em relação ao teste padrão que espera primeiro o isolamento bacteriano. Isto tem sido descrito na literatura em amostras de cultura provenientes de sangue e urina [13,17]; porém, apenas recentemente, considerou-se sua utilidade em

amostras de secreções pulmonares [14,16]. O princípio para a aplicação direta do E-test no material clínico deve-se ao fato de este não depender do tamanho do inóculo, como ocorre no método da disco-difusão, o que o torna ideal para as amostras de secreções que não têm uma concentração bacteriana conhecida [15,18].

Tanto os disco de antibiograma como o Etest, aplicados diretamente na secreção respiratória, têm a vantagem de seu resultado estar pronto em 24 horas [19,20].

Neste trabalho, processamos o material conforme as seguintes etapas:

1. Teste de controle de qualidade dos discos de antibiograma e das fitas de Etest conforme recomendações do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), através da utilização dos mesmos em três cepas provenientes do American Type Culture Collection: *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, e *Escherichia coli* ATCC25922 [23].
2. Coloração de Gram diretamente da amostra para visualização de bactérias Gram positivas ou Gram negativas.
3. No caso de observação de > 1 bactéria/campo, o material foi inoculado em uma placa de Petri (150 mm) com Mueller Hinton Agar com o auxílio de um "swab", e espalhado em todas as direções.
4. Após secagem de 5 a 10 minutos, seguiu-se a colocação de discos de antibiograma e uma fita de Etest na placa.
5. De acordo com o resultado da coloração de Gram os seguintes antimicrobianos foram testados:
 - Cocos Gram positivos: discos de vancomicina, oxacilina, eritromicina, moxifloxacina e teicoplanina. Etest de teicoplanina.
 - Bacilos Gram negativos: discos de imipinem, ampicacina, ciprofloxacina, ceftazidima e fita de E-test de cefotaxima/ácido clavulânico (para detecção da produção de ESBL).
6. A placa foi incubada a 35°C durante 24 horas.
7. Leitura do teste de susceptibilidade: para os discos, medida do diâmetro do halo de inibição de crescimento em milímetros, e para o Etest, determinação da concentração inibitória mínima (em mcg/ml) na intersecção do halo de inibição de crescimento com a fita.
8. A interpretação destes valores foi feita de acordo com as recomendações do CLSI [24].

Comparação e Análise de Erro

Foi feita a comparação dos resultados obtidos pelo método rápido com os do método tradicional utilizado rotineiramente pelo laboratório. Foram analisados eventuais erros obtidos nas leituras pelos diferentes métodos, considerando como padrão o teste tradicio-

TABELA 1

Classificação da concordância dos antimicrobianos pelo índice Kappa.

KAPPA		Classificação
Limite Inferior	Limite Superior	
<0,00		Ruim (No agreement)
0	0,2	Fraca (Slight agreement)
0,21	0,4	Justa \ Sofrível (Fair agreement)
0,41	0,6	Regular (Moderate agreement)
0,61	0,8	Boa (Substantial agreement)
0,81	0,99	Ótima (Almost perfect)
1		Perfeita (Perfect)

nal. Para avaliação das provas de susceptibilidade, utilizou-se as seguintes convenções [25]:

- Erro muito importante (EMI): caracterização de um isolamento resistente como sensível. Erro importante (EI): caracterização de um isolamento sensível como resistente. Erro menor (EM): caracterização de um isolamento sensível ou resistente como intermediário, ou caracterização de um isolamento intermediário como sensível ou resistente.

Análise estatística

Para avaliar a concordância entre o método padrão e rápido, foi utilizado o índice Kappa. O índice foi calculado pelo programa EPIINFO versão 6 (Who/CDC), e classificado conforme proposto pelos autores (TABELA 1) [26]. Juntamente com o índice Kappa adotou-se intervalo de confiança 95% com valor significativo $p < 0,05$. Quando não era possível tecnicamente calcular o índice Kappa, aplicou-se o Teste de Proporção (teste de Hipótese Z de uma proporção), definindo o grau de confiabilidade (também adotado intervalo de confiança 95% e valor significativo $p < 0,05$):

Resultados

Obtivemos 120 amostras de secreção respiratória por aspiração endotraqueal, nas UTIs (central e pronto socorro) de adultos da Santa Casa de São Paulo, no período compreendido entre setembro de 2008 e setembro de 2009. Em algumas amostras havia o crescimento de mais de uma espécie de bactéria em número significativo, no total foram testados $n=125$; sendo 91 bacilos gram negativos e 34 cocos gram positivos. O GRÁFICO 1 mostra as bactérias mais freqüentemente isoladas.

Os GRÁFICOS 2, 3 e 4 mostram o perfil de susceptibilidade destes agentes microbianos, levando-se em consideração apenas os três mais frequentes: *Acinetobacter baumannii* (36,1%), *Staphylococcus aureus* (25,2%) e *Pseudomonas aeruginosa* (17,7%), sendo a mesma prevalência pelo teste rápido e pelo teste tradicional. O GRÁFICO 5 mostra as 10 cepas de bacilos gram negativos identificadas como produtoras de ESBL. Estes perfis foram obtidos a partir dos resultados do método padrão, para que não houvesse vieses.

Obtivemos o seguinte perfil de susceptibilidade

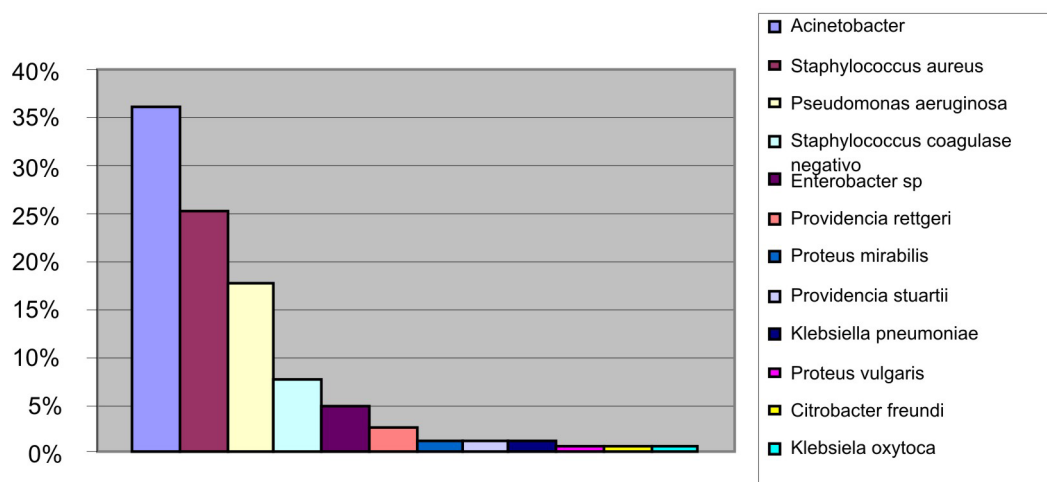


GRÁFICO 1 - Frequência dos agentes isolados nas UTIs da Santa Casa de São Paulo

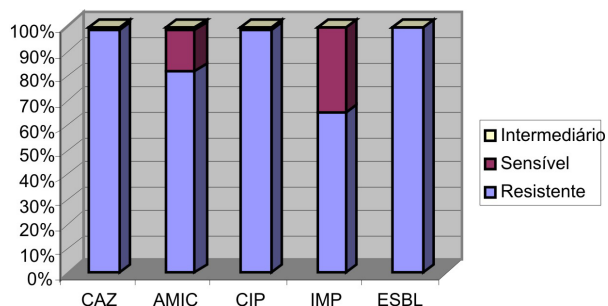


GRÁFICO 2 - Perfil de sensibilidade: *Acinetobacter baumannii*

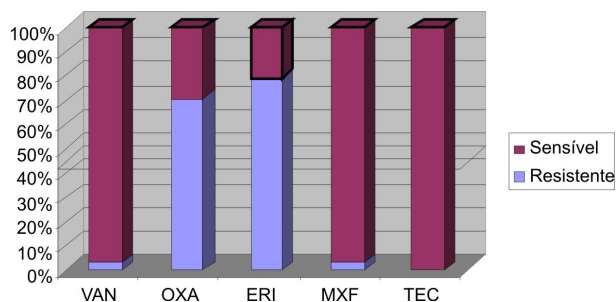


GRÁFICO 3 - Perfil de sensibilidade: *Staphylococcus aureus*

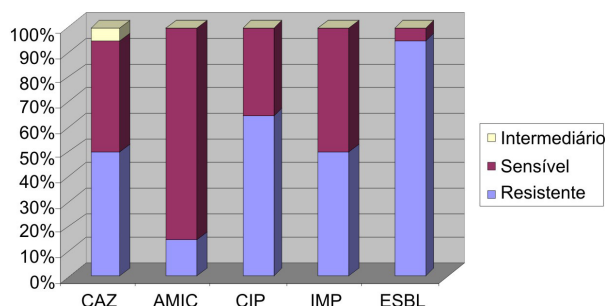


GRÁFICO 4 - Perfil de sensibilidade: *Pseudomonas aeruginosa*

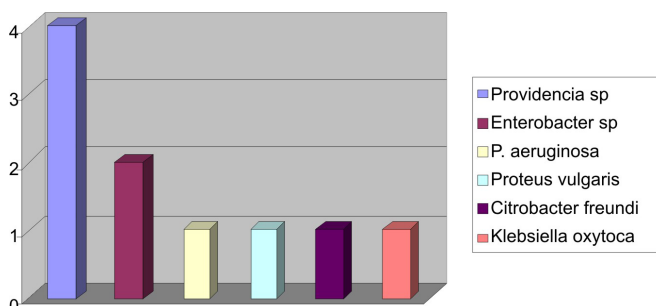


GRÁFICO 5 - Distribuição das cepas produtoras de ESBL

Legenda dos Gráficos: CAZ = ceftazidima, AMIC = amicacina, CIP = ciprofloxacina, IMP = imipenem, VAN = vancomicina, OXA = oxacilina, ERI = eritromicina, MXF = moxifloxacina, TEC= teicoplanina. Note-se que os termos “resistente” e “sensível” para o ESBL significam respectivamente: produtor de ESBL e não produtor de ESBL.

destes agentes frente aos antibióticos: em relação ao *Acinetobacter baumannii*, este apresenta 98% de resistência à ceftazidima e ciprofloxacina, sendo 100% das cepas produtoras de ESBL. Apresenta ainda alguma sensibilidade à amicacina e imipenem (16% e 35%, respectivamente). Em relação ao *Staphylococcus aureus*, 71% das cepas foram oxacilina-resistentes, apresentando também resistência de 79% à eritromicina, e mantendo sensibilidade de 97% à vancomicina, de 97% à moxifloxacina e de 100% à teicoplanina. Finalmente, as cepas de *Pseudomonas aeruginosa* apresentaram 95% de produção de ESBL, com perfil de susceptibilidade aos antibióticos variável, predominando a sensibilidade de 85% à amicacina, seguido de cerca de 50% de sensibilidade à ceftazidima e imipenem e 35% de sensibilidade à ciprofloxacina.

Comparação e Análise de Erro

Testou-se n=125 amostras, totalizando 641 comparações entre os resultados de susceptibilidade obtidos pelo método padrão e pelo método direto. Do total de 641 comparações, houve 19 erros:

a) Bacilos Gram Negativos: n=91; para a ceftazidima obteve-se 3 EMI, ou seja, 3 amostras foram caracterizadas pelo método direto como sensíveis, enquanto que pelo método padrão as mesmas foram

classificadas como resistentes. Para a amicacina duas amostras apresentaram EM, ou seja, no método direto foram classificadas como sensível ou resistente e no método padrão foi caracterizada como intermediária. Para a ciprofloxacina e o imipenem não houve erros na classificação da susceptibilidade dos agentes isolados. Para o ESBL (no qual foi utilizada a fita de Etest) houve 2 EMI, ou seja, o teste direto o classificou como não produtor de ESBL, enquanto que o método padrão o classificou como produtor.

b) Cocos Gram Positivos: n= 34; para a vancomicina houve apenas um EMI; para a oxacilina houve três EI, ou seja, o teste direto classificou como resistente, uma cepa identificada como sensível pelo método padrão; para a eritromicina houve dois EM e um EI; para a moxifloxacina houve 3 EM e dois EI; para a teicoplanina não houve discordância. Ainda em relação à teicoplanina, os resultados do disco e da fita de Etest foram 100% concordantes.

Análise estatística

a) Bacilos Gram Negativos: para a ceftazidima foi encontrado um índice Kappa =0,90, com um p<0,001 (adotado intervalo de confiança 95% com valor significativo p<0,05), isto corresponde a uma concordância ótima; para a amicacina obteve-se um índice Ka-

ppa=0,95, com um $p < 0,001$, o que também corresponde a um grau de concordância ótimo. Os antibióticos ciprofloxacina e imipenem não apresentaram qualquer discordância entre os métodos tradicional e rápido, obtendo Índice Kappa =1 (concordância perfeita) e $p < 0,001$. Para o Etest de ESBL foi encontrado um índice Kappa=0,87, com um $p < 0,001$, o que corresponde a uma concordância ótima.

b) Cocos Gram Positivos: para a eritromicina e a oxacilina foram encontrados os respectivos Índices Kappa 0,73 e 0,76, ambos com $p < 0,001$, o que corresponde a um grau de concordância bom. Para a moxifloxacina o Índice Kappa foi de 0,25 com $p = 0,002$, correspondendo a uma concordância justa\sofrível, porém estatisticamente significativa em grau de confiabilidade, configurando como o pior resultado obtido. Em relação à vancomicina e teicoplanina foram realizados os testes de proporção, devido à impossibilidade de se calcular o índice Kappa, e os resultados obtidos foram ambos $p < 0,001$. Os resultados do disco de teicoplanina e da fita de Etest foram totalmente concordantes, obtendo-se $p < 0,001$.

Discussão

Comparando-se os resultados obtidos com a literatura, observamos a cerca de:

• Patógenos isolados:

Bouza et al [16] obtiveram *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e enterobactérias como os agentes mais frequentemente isolados (42%, 28,4% e 28,4%, respectivamente). O presente trabalho mostrou a predominância de *Acinetobacter baumannii* (36,1%), *Staphylococcus aureus* (25,2%) e *Pseudomonas aeruginosa* (17,7%). Tal divergência indica a importância de se conhecer a fundo em cada serviço quais os patógenos mais presentes em suas UTIs, uma vez que a frequência dos diferentes agentes microbianos varia para cada serviço. Além disso, o resultado obtido neste trabalho é convergente com a literatura atual, que trata da preocupante emergência do *Acinetobacter baumannii* com agente importante de infecção nosocomial, e particularmente de PAV [28].

• Perfil de susceptibilidade

O perfil de susceptibilidade dos agentes mais frequentes frente aos antibióticos é preocupante: o *Acinetobacter baumannii* apresenta praticamente 100% de suas cepas resistentes à ceftazidima e ciprofloxacina e produtoras de ESBL, porém ainda com alguma sensibilidade à amicacina e imipenem. Este cenário é compatível com a literatura, que vem mostrando crescente resistência do *Acinetobacter baumannii* aos antibióticos comumente empregados (resistência ao imipenem varia de 29.2% a 46,3%) [29]. Em relação ao

Staphylococcus aureus, 71% das cepas foram caracterizadas como oxacilina-resistentes, perfil este compatível com estudos multicêntricos, cuja resistência variou de 56.8%, a 84,1% [29]. Observamos também que entre as cepas de *Staphylococcus aureus*, 3% delas já apresentam resistência à vancomicina e igual percentual apresenta resistência à moxifloxacina. Provavelmente, devido ao uso restrito da teicoplanina nas UTIs da Santa Casa, 100% das cepas de *Staphylococcus aureus* mostraram-se sensíveis a este antimicrobiano. Finalmente, as cepas de *Pseudomonas aeruginosa* apresentaram 95% de produção de ESBL, com perfil de sensibilidade em ordem decrescente à amicacina, ceftazidima, imipenem e ciprofloxacina.

Em vista deste cenário de resistência crescente, há trabalhos na literatura que sugerem ampliação do espectro de ação antibiótica assim que identificados *P. aeruginosa* ou *A. baumannii* ou *S. aureus* metilicina-resistente (MRSA) em culturas de secreção respiratória de pacientes submetidos à ventilação mecânica [30].

• Comparação entre os resultados obtidos com o método rápido e com o padrão:

Em relação à análise de erro de susceptibilidade ao antibiótico testado, obtivemos 19 erros do total de 641 comparações entre o método rápido e o padrão (2,96% de erro, sendo 1,09% para bacilos gram-negativos e 1,87% para cocos gram-positivos), sendo 6 EMI (erro muito importante – caracterização de um isolamento resistente como sensível), 6 EI (erro importante – caracterização de um isolamento sensível como resistente) e 7 EM (erro menor – caracterização de um isolamento sensível ou resistente como intermediário, ou caracterização de um isolamento intermediário como sensível ou resistente). O valor de 97,04% de concordância de comparação entre os métodos é bastante significativo. Bouza et al obtiveram 3,54% de erro [16].

Em relação à análise estatística, todos os resultados de comparação entre os dois métodos para os 12 antibióticos testados (fitas de Etest e discos) obtiveram grau de confiabilidade estatisticamente significativa. O índice Kappa classificou as concordâncias de “boa” a “perfeita”, com apenas uma concordância “justa” (moxifloxacina). Assim como Bouza et al [16], obtivemos uma correlação satisfatória entre o método rápido e o tradicional para análise de susceptibilidade antimicrobiana.

Conclusão

Concluimos que a resistência bacteriana configura como uma preocupação real e alarmante, e que métodos rápidos de identificação da bactéria e de sua susceptibilidade são primordiais. Tal identificação permite o uso do antibiótico adequado em menor tempo,

previne o aumento da resistência microbiana pelo uso indiscriminado de antibióticos de amplo espectro, além de diminuir custos, dias de internação e a própria morbi-mortalidade, com impacto importantíssimo no prognóstico do paciente ^[5].

Concluimos que este presente estudo foi absolutamente válido e que os resultados foram além das expectativas, mostrando graus de concordância entre o método rápido e o tradicional excepcionais, especialmente para os bacilos gram negativos, e, em menor grau, porém mesmo assim confiável, para os cocos gram positivos.

Os resultados foram animadores e novos estudos fazem-se necessários a fim de no futuro próximo implantarmos o método rápido como método de rotina e confiável nos laboratórios de microbiologia, sempre vislumbrando o benefício do paciente. Concluimos finalmente que o teste rápido representa um amplo e verdadeiramente promissor horizonte a ser explorado, e que mais pesquisas sobre tal são bem-vindas, e, principalmente, são necessárias.

Referências Bibliográficas

1. Craven D, Steger K, Barber T. Preventing nosocomial pneumonia: state of the art and perspectives for the 1990s. *Am J Med*. 1991; 91:44S-53S.
2. Rios Santana, Carlos y Aira Sifonte, Yanet. Comportamiento de la neumonía asociada a ventilación mecánica. *Rev Cubana Enfermer*. 2005; 21:1-1.
3. Rello J. Bench-to-bedside review: therapeutic options and issues in the management of ventilator-associated bacterial pneumonia. *Crit Care Med*. 2005; 9:259-65.
4. Baughman R, Tapsos V, McIvor A. The diagnosis and treatment challenges in nosocomial pneumonia. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 1999; 33:131-9.
5. Safdar N, Dezfulian C, Collard HR, Saint S. Clinical and economic consequences of ventilator-associated pneumonia: a systematic review. *Crit Care Med*. 2005; 33:2184-93.
6. Kollef MH. Gram-negative bacterial resistance: evolving patterns and treatment paradigms. *Clin Infect Dis*. 2005; 40 (Suppl 2):S85-8.
7. Alvarez-Lerma F. Modification of empiric antibiotic therapy in patients with pneumonia acquired in the intensive care unit. *Intensive Care Med*. 1996; 22:387-94.
8. Kollef MH. Appropriate empirical antibacterial therapy for nosocomial infections: getting it right the first time. *Drugs*. 2003; 63:2157-68.
9. Rello J, Vidaur L, Sandiumenge A. De-escalation therapy in ventilator-associated pneumonia. *Crit Care Med*. 2004; 32:2183-90.
10. Koeman M, Van der Ven AJAM, Ramsay G, Hoepelman IM, Bonten MJ. Ventilator associated pneumonia: recent issues on pathogenesis, prevention and diagnosis. *J Hosp Infect*. 2001; 49:155-62.
11. Timsit JF, Cheval C, Gachot B, Bruneel F, Wolff M, Carlet J, et al. Usefulness of a strategy based on bronchoscopy with direct examination of bronchoalveolar lavage fluid in the initial antibiotic therapy of suspected ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Med*. 2001; 27:640-7.
12. Bodi M, Ardanuy C, Rello J. Impact of Gram-positive resistance on outcome of nosocomial pneumonia. *Crit Care Med*. 2001; (Suppl):N82-N86.
13. Cirillo DM, Piana F, Frisciale L, Quaranta M, Riccabone A, Penati V, et al. Direct rapid diagnosis of rifampicin-resistant *M. tuberculosis* infection in clinical samples by line probe assay (INNO LiPA Rif-TB). *New Microbiol*. 2004; 27:221-7.
14. Zebouh M, Thomas C, Honderlick P, Lemee L, Segonds C, Walle F, et al. Etude multicentrique portant sur l'évaluation d'une méthode simplifiée d'analyse bactériologique dans la surveillance des infections bronchiques à *Pseudomonas aeruginosa* survenant au cours de la mucoviscidose. *Pathol Biol (Paris)*. 2005; 53:490-4.
15. Ozakin C, Sinirtas M, Sevgican E, Kazak E, Gedikoglu S. Comparison of the E-test method with an automated bacterial identification and antimicrobial susceptibility detection system for screening extended-spectrum beta-lactamase producers. *Scand J Infect Dis*. 2003; 35:700-3.
16. Bouza E, Torres MV, Radice C, Cercenado E, de Diego R, Sánchez-Carrillo C, et al. Direct E-test (AB Biodisk) of respiratory samples improves antimicrobial use in ventilator-associated pneumonia. *Clin Infect Dis*. 2007; 44:382-7.
17. Soloaga R, Defain V, Blanco M, Fernández A, Gutfraind Z, Nagel C, et al. Hemocultivos: utilidad de los antibiogramas presuntivos. *Rev Argent Microbiol*. 2000; 32:149-52.
18. Chomarat M, Fredenucci I, Barbe G, Boucaud-Maitre Y, Boyer M, Carricajo A, et al. Observatoire Rhône-Alpes du pneumocoque en 1999 : 35 cas de méningites. *Pathol Biol (Paris)*. 2002; 50:595-8.
19. Mukerjee C, Reiss-Levy E. Evaluation of direct disc diffusion susceptibility testing for bacteriuria using diluted urine against standard CDS method. *Pathology*. 1994; 26:201-7.
20. Johnson JE, Washington JA 2nd. Comparison of direct and standardized antimicrobial susceptibility testing of positive blood cultures. *Antimicrob Agents Chemother*. 1976; 10:211-4.
21. Fréjaville JP, Kamoun P. Exame bacteriológico – generalidades. In: Fréjaville JP, Kamoun P. Manual de exames de laboratório: 500 exames: indicações, técnica, interpretação, diagnóstico. São Paulo: Atheneu; 1989. p 31-60.
22. Sociedade Paulista de Infectologia. Diretrizes sobre Pneumonia Associada à Ventilação mecânica (PAV). 2006. [on line] [citado em 2009 Nov 10] Disponível em: http://www.infectologia.org.br/anexos/Consenso%20SPI_Diretrizes%20sobre%20PAV.pdf
23. Yechouron A, Dascal A, Stevenson J, Mendelson J. Ability of National Committee for Clinical Laboratory Standards-recommended quality control strains from the American Type Culture Collection to detect errors in disk diffusion susceptibility tests. *J Clin Microbiol*. 1991; 29: 2758-62.
24. CLSI – Clinical Laboratory Standards Institutes. [on line] Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard – eight edition. M07-A8; 2009. [cited 2010 Jan 23] Available from: <http://www.clsi.org/source/orders/free/m07-a8.pdf>
25. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC Jr. Provas de sensibilidade e agentes antimicrobianos. In: Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC Jr. Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido. 5ª ed. Rio de Janeiro: Medsi; 2001. p.794-865.
26. Louis C, Kennon F. Measures of clinical agreement for nominal and categorical data: the Kappa coefficient. *Compur Blol Med*. 1992; 22:239-46.
27. Lupetti A, Barnini S, Castagna B, Nibbering PH, Campa M. Rapid identification and antimicrobial susceptibility testing of Gram-positive cocci in blood cultures by direct inoculation into the BD Phoenix system. *Clin Microbiol Infect*. 2009 Jul 22. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 19681952.
28. Michalopoulos A, Falagas ME. Treatment of *Acinetobacter* infections. *Expert Opin Pharmacother*. 2010;11:779-88.

29. Rosenthal VD, Maki DG, Jamulitrat S, Medeiros EA, Todi SK, Gomez DY, et al. International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC) report, data summary for 2003-2008, issued June 2009. *Am J Infect Control*. 2010; 38:95-104.e2.
30. Joseph NM, Sisla S, Dutta TK, Badhe AS, Parija SC. Ventilator-

associated pneumonia: role of colonizers and value of routine endotracheal aspirate cultures. *Int J Infect Dis*. 2010; 14:e723-9.

Trabalho recebido: 17/03/2010
Trabalho aprovado: 04/08/2010