

CRISTHIENI RODRIGUES

Avaliação do consumo de antimicrobianos e do tempo de tratamento na sepse hospitalar comparando a utilização da reação em cadeia da polimerase (*PCR*) em tempo real à hemocultura convencional para identificação do agente etiológico: ensaio clínico aleatorizado

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

Programa de Cardiologia

Orientadora: Dr^a. Tânia Mara Varejão Strabelli

**São Paulo
2018**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Rodrigues, Cristhieni

Avaliação do consumo de antimicrobianos e do tempo de tratamento na sepse hospitalar comparando a utilização da reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real à hemocultura convencional para identificação do agente etiológico : ensaio clínico aleatorizado / Cristhieni Rodrigues. -- São Paulo, 2018.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Programa de Cardiologia.

Orientadora: Tania Mara Varejão Strabelli.

Descritores: 1.Sepse 2.Anti-infecciosos
3.Bacteriemia 4.Hemocultura

USP/FM/DBD-135/18

Responsável: Kátia Maria Bruno Ferreira - CRB-8/6008

“Aqueles que passam por nós, não vão sós, não nos deixam sós. Deixam um pouco de si, levam um pouco de nós.”

Antoine de Saint-Exupéry

Aos meus pais, Alberto e Glória por me ensinarem a ser forte e perseverante em todos os momentos da minha vida.

As minhas irmãs, Evelyn e Lucilene por estarem presentes, compreensivas e parceiras durante cada fase desta jornada.

Ao meu esposo, Durval e aos meus filhos Pedro e Lucas por compreenderem minha ausência e iluminarem minha vida.

A Deus, por estar sempre ao meu lado, emanando muita Luz e proteção.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Dra. Tânia Mara Varejão Strabelli, pelo apoio, incentivo e principalmente pela amizade que soube respeitar e me guiar durante todas as fases deste projeto.

Ao amigo Rinaldo Focaccia Siciliano pela inestimada colaboração durante todas as etapas deste estudo.

Aos amigos da Unidade de Controle de Infecção Hospitalar do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Rogério Zeigler, Suzi França Neres, Dirceu Carrara, Hayle Thays, Roselaine e Denise Blini pela colaboração e paciência nos momentos mais difíceis.

Ao Prof. Dr. David E. Uip pelos ensinamentos e apoio profissional e pessoal.

Ao Dr. Moacyr Roberto Cuce Nobre pelos ensinamentos em epidemiologia clínica.

A Prof. Dra. Ludhmila Hajjar pela colaboração e auxílio na elaboração dos artigos científicos.

As amigas Dra. Liliane Kopel, Dra. Claudia Yanet San Martin de Bernoche, Dra. Milena Frota Macatrão Costa e Silvia Vidal Campos pelo inestimável auxílio na inclusão e avaliação clínica dos pacientes.

A todos os enfermeiros e médicos da Unidade Coronariana e da Unidade de Terapia Intensiva do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo pelo auxílio durante a realização deste projeto.

Aos amigos do Laboratório de Biologia Molecular e de microbiologia da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo: Hélio Caiaffa Filho, Luciane de Carvalho Sarahyba da Silva, Cecília Eugenia Charbel, Ana Paula de Paula Rosa Passetti, Dra. Flavia Rossi e Maria Renata Gomes pela disposição e profissionalismo durante todo o estudo.

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

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

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação.
Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias.

Elaborado por Aneliese 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 Documentações; 2011.

Abreviatura 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	1
1.1 Relevância do Uso de Antimicrobianos na Sepses	2
1.2 Detecção e Identificação de Micro-organismos no Sangue	7
1.3 Relevância e Impacto do Uso de Antimicrobianos na Prática Médica.....	11
1.4 Justificativa.....	13
2 OBJETIVOS.....	14
2.1 Primário.....	15
2.2 Secundários	15
3 MÉTODOS	16
3.1 Desenho do Estudo	17
3.2 Local, Período e População.....	17
3.3 Aspectos Éticos, Registros e Recursos Financeiros	17
3.4 Critérios de Inclusão	18
3.5 Critérios de Exclusão	18
3.6 Seleção dos Pacientes e Randomização	19
3.7 Categorização dos Grupos.....	20
3.8 Seleção da Terapia Antimicrobiana Empírica.....	22
3.9 Definições	23
3.9.1 Terapias antimicrobianas	23
3.9.2 Bactérias multirresistentes.....	24
3.9.3 Critérios diagnósticos da sepses	25
3.10 Coleta e Processamento das Amostras.....	26
3.10.1 Hemoculturas	26
3.10.2 Teste molecular (PCR-Multiplex).....	27
3.11 Registro dos Dados Clínicos	28
3.12 Avaliadores Cegados	29
3.13 Mensuração do Consumo de Antimicrobianos	30
3.14 Custo dos Antimicrobianos.....	30
3.15 Tempo de Seguimento	30
3.16 Análise Estatística.....	31
4 RESULTADOS	32
4.1 Distribuição dos Pacientes Avaliados para Inclusão no Estudo.....	33
4.2 Características Gerais dos Pacientes Estudados.....	34

4.3	Dados Microbiológicos	36
4.4	Avaliação dos Pacientes com Detecção e Identificação Microbiológica no Grupo Intervenção e Grupo Controle.....	38
4.4.1	Dados microbiológicos.....	38
4.4.2	Sítios de infecção	39
4.4.3	Análise do tratamento antimicrobiano	39
4.4.4	Ajuste da terapia antimicrobiana empírica	40
4.4.5	Consumo dos antimicrobianos no grupo intervenção e no grupo controle	41
4.4.6	Custo direto dos antimicrobianos utilizados no tratamento no grupo intervenção e grupo controle.....	43
4.4.7	Evolução clínica e laboratorial.....	44
4.5	Análise de Sobrevida	45
5	DISCUSSÃO	47
5.1	Limitações do Estudo.....	55
6	CONCLUSÕES.....	56
7	ANEXOS.....	58
8	REFERÊNCIAS	76
	APÊNDICES	91

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACCP	- <i>American College of Chest Physicians</i>
APACHE II	- <i>Acute physiologic assessment and chronic health evaluation II</i>
CAPPesq	- Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
CDC	- <i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
DLC-HC-FMUSP	- Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
DNA	- Ácido desoxirribonucleico
DOT	- Dia de terapia
DP	- Desvio padrão
EDTA	- Ácido etilenodiamino tetra-acético
FAPESP	- Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
FiO ₂	- Fração inspirada de O ₂
IC 95%	- Intervalo de confiança de 95%
IC	- Insuficiência cardíaca
IDSa	- <i>Infectious Diseases Society of America</i>
IIQ	- Intervalo inter-quartil
InCor HC-FMUSP	- Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
MALDI-TOF	- <i>Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight</i>
OMS	- Organização Mundial da Saúde
PCR RTm	- Reação da polimerase em cadeia em tempo real multiplex
SCCM	- <i>Society of Critical Care Medicine</i>
SF	- <i>LightCycler[®] SeptiFast</i>
SHEA	- <i>Society for Healthcare Epidemiology of America</i>
SOFA	- <i>Sequential organ failure assessment</i>
SRIS	- Síndrome da resposta inflamatória sistêmica
TCLE	- Termo de consentimento livre e esclarecido
UCIH	- Unidade de controle de infecção hospitalar
UTI	- Unidade de terapia intensiva

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Estudos comparativos de terapia antimicrobiana empírica adequada e inadequada na sepse.....	4
Tabela 2 - Estudos comparando a mortalidade na sepse com a estratégia de descalonamento antimicrobiano	6
Tabela 3 - Principais métodos moleculares comercialmente disponíveis para detecção rápida de micro-organismos no sangue.....	9
Tabela 4 - Características demográficas, clínicas e laboratoriais dos pacientes incluídos no grupo intervenção e grupo controle.....	34
Tabela 5 - Características clínicas, laboratoriais e terapia antimicrobiana empírica utilizada nos pacientes incluídos no grupo intervenção e grupo controle.....	35
Tabela 6 - Descrição da terapia antimicrobiana empírica inicial no grupo intervenção e grupo controle	40
Tabela 7 - Ajuste da terapia antimicrobiana empírica inicial no grupo intervenção e no grupo controle	41
Tabela 8 - Consumo dos antimicrobianos em DOT por 1000 pacientes-dia durante os primeiros 14 dias de tratamento dos pacientes do grupo intervenção e grupo controle	41
Tabela 9 - Custo dos antimicrobianos em reais (R\$) durante o tratamento dos pacientes no grupo intervenção e grupo controle (até 14 dias).....	43
Tabela 10 - Evolução clínica e laboratorial no grupo intervenção e grupo controle.....	44
Tabela 11 - Descrição dos resultados dos avaliadores independentes e cegados realizada no final do estudo	45

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Comparação entre os tempos para liberação do resultado dos principais métodos moleculares comparado à hemocultura convencional	10
Figura 2 - Fluxograma do estudo.....	21
Figura 3 - Protocolo de terapia antimicrobiana empírica para pacientes com sepse hospitalar.....	22
Figura 4 - Fluxograma da distribuição dos pacientes com suspeita de sepse hospitalar avaliados para inclusão no estudo no período de 2012 a 2016.....	33

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Critérios diagnósticos da sepse de acordo com a ACCP/SCCM.....	25
Quadro 2 - Bactérias detectadas pelo LightCycler® SeptiFast Test.....	27
Quadro 3 - Descrição dos resultados pareados da hemocultura e do teste molecular (SF) em 174 amostras utilizadas para o cálculo da acurácia do método molecular.....	36
Quadro 4 - Descrição dos micro-organismos identificados nas 56 amostras positivas dos pacientes incluídos no estudo	37
Quadro 5 - Micro-organismos identificados pelo teste molecular (SF) no grupo intervenção e pela hemocultura no grupo controle.....	38
Quadro 6 - Resultado das principais publicações referentes ao LightCycler® SeptiFast Test comparado à hemocultura	49

RESUMO

Rodrigues C. *Avaliação do consumo de antimicrobianos e do tempo de tratamento na sepse hospitalar comparando a utilização da reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real à hemocultura convencional para identificação do agente etiológico: ensaio clínico aleatorizado* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2018.

A sepse é uma doença de alta mortalidade e o uso adequado de antimicrobianos no seu manuseio é essencial na obtenção de melhores resultados. O objetivo deste estudo foi avaliar o consumo de antimicrobianos em pacientes com sepse hospitalar com agente etiológico identificado no sangue, comparando a reação em cadeia da polimerase (PCR) - LightCycler® SeptiFast (SF) para a detecção rápida de micro-organismos à hemocultura convencional nos primeiros 14 dias de tratamento. Os objetivos secundários incluíram descrever o percentual de positividade e a concordância entre o teste molecular e a hemocultura, o tempo de internação hospitalar, os custos diretos dos antimicrobianos utilizados e a letalidade em 10 e 28 dias. Entre outubro de 2012 e maio de 2016, foram incluídos 200 pacientes adultos com sepse hospitalar: 100 alocados no grupo intervenção onde a terapia antimicrobiana foi ajustada após a identificação do micro-organismo pelo SF (dentro de 6 a 12 horas) e 100 pacientes no grupo controle onde a terapia antimicrobiana foi ajustada após a identificação do microorganismo pela hemocultura (dentro de 48 a 72 horas). O consumo de antimicrobianos foi de 1429 (1071-2000) DOT por 1000 pacientes-dia no grupo intervenção *versus* 1889 (1357-2563) DOT por 1000 pacientes-dia no grupo controle ($p = 0,017$). O SF apresentou positividade de 25,9% enquanto a positividade da hemocultura foi de 22,9% ($p = 0,452$). O tempo de descalonamento antimicrobiano foi de 8 horas (7-14) *versus* 54 horas (38-75) ($p < 0,001$), enquanto a mortalidade em 10 e 28 dias foi de 21% e 36,8% no grupo de intervenção *versus* 37% e 44% no grupo controle, ($p = 0,710$ e $p = 0,632$), respectivamente. Não houve diferença no tempo de internação hospitalar e no custo direto dos antimicrobianos utilizados nos dois grupos. A duração média da terapia antimicrobiana em dias foi menor no grupo intervenção (12 ± 5 *versus* 15 ± 4 , $p = 0,039$) em comparação com o grupo controle.

Descritores: sepse; anti-infecciosos; bacteriemia; hemocultura

ABSTRACT

Rodrigues C. *Evaluation of antimicrobial consumption in treatment of nosocomial sepsis comparing polymerase chain reaction (PCR) in real time to the conventional blood culture for etiologic agents identification: randomized clinical trial* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2018.

Sepsis is a high mortality disease. Appropriate use of antimicrobials is essential to improve outcomes. The aim of the present study was to determine whether the use of the multiplex polymerase chain reaction LightCycler® SeptiFast (SF) assay reduces the antibiotic consumption through early de-escalation in patients with nosocomial sepsis compared with conventional blood cultures (BC) in the first 14 days of treatment. Secondary outcomes included the percentage of microorganisms identified through SF and BC (in both groups), timing of antimicrobial de-escalation, length of stay, direct costs of the antimicrobial drugs and mortality at 10 and 28 days. Between October 2012 and May 2016 adult patients with nosocomial sepsis were randomized in intervention group and control group: antimicrobial therapy was adjusted following the identification of microorganisms by SF (within 6 to 12 hours) or BCs (within 48 to 72 hours), respectively. A total of 200 patients were included (100 in each group). The median antimicrobial consumption was 1429 (1071-2000) DOT/1000 patients-day in the intervention group versus 1889 (1357-2563) DOT/1000 patients-day in the control ($p = 0.017$). Microorganism identification was 25.9% versus 22.9% ($p = 0.452$), timing of antimicrobial de-escalation was 8 hours (7-14) versus 54 hours (38-75) ($p < 0.001$) while the mortality rate at 10 and 28 days was 21% and 36.8% in the intervention group versus 37% and 44% in the control group, ($p = 0.710$ and $p = 0.632$), respectively. There was no difference in length of stay and antimicrobial costs between groups. The mean duration of antimicrobial therapy was lower in the SF group (12 ± 5 vs. 15 ± 4 , $p = 0.039$) comparing to BC group. The use of a rapid molecular blood test resulted in a reduction in the antimicrobial consumption and a more rapid de-escalation in patients with nosocomial sepsis when compared to the standard management of blood culture.

Descriptors: sepsis; anti-infective agents, bacteremia; blood culture

1 INTRODUÇÃO

1.1 Relevância do Uso de Antimicrobianos na Sepses

A sepsis representa uma das principais causas de óbito em unidades de terapia intensiva (UTI) não cardíaca no mundo¹.

Nos Estados Unidos, o número de sepsis ultrapassa 750.000 casos por ano e, apesar dos esforços, a mortalidade permanece elevada, podendo atingir 50%-75% dos pacientes¹.

No Brasil, o estudo SPREAD publicado recentemente, relatou uma incidência de sepsis em unidades de terapia intensiva de 36.3/1000 pacientes-dia com mortalidade de 55,7%. Neste estudo, a elevada mortalidade esteve associada à baixa disponibilidade de recursos ($p = 0.045$) e a terapia utilizada ($p = 0.006$)². Taniguchi *et al.*³, em um estudo populacional utilizando um registro nacional com dados de múltiplas causas de morte entre 2002 e 2010, demonstraram o aumento do número absoluto de óbitos por sepsis de 95.972 (9,8%) em 2002 para 186.712 óbitos (16,5%) em 2010.

Além da elevada prevalência e morbiletalidade, os custos diretos estimados em pacientes com sepsis são cerca de seis vezes maiores quando comparados a pacientes sem sepsis, constituindo um preocupante problema para os serviços de saúde, em particular nos países em desenvolvimento⁴. Sogayar *et al.*⁵, descreveram em um estudo prospectivo com 524 pacientes com sepsis em 21 unidades de terapia intensiva localizadas em hospitais públicos e privados do

Brasil, um custo médio total de US\$ 9.632,00 (IC 95%: 8657-10672) por paciente, sendo estes significativamente mais elevados em pacientes que evoluíram a óbito ($p < 0,001$)⁵.

Nas últimas duas décadas, várias estratégias têm sido utilizadas com o objetivo de diminuir a mortalidade e melhorar a qualidade de vida após o evento sepse. Uma destas estratégias inclui o início precoce da terapia antimicrobiana adequada (preferencialmente na primeira hora após o reconhecimento clínico-laboratorial da sepse). Estudos prévios demonstraram que o uso inadequado de antimicrobianos nas primeiras 24 horas tem um efeito negativo na sobrevivência dos pacientes com sepse (Tabela 1).

Tabela 1 - Estudos comparativos de terapia antimicrobiana empírica adequada e inadequada na sepse

Anos	Autores	N	Identificação microbiológica em sangue N (%)	Uso de Antimicrobianos		Mortalidade		Valor p
				Adequado (%)	Inadequado (%)	Uso adequado de antimicrobianos (%)	Uso inadequado de antimicrobianos (%)	
1998	Leibovici <i>et al.</i> ⁶	3413	3413 (100%)	63%	37%	20%	34%	0,0001
1999	Kollef <i>et al.</i> ⁷	655	177 (27%)	74%	26%	12%	52%	< 0,001
2000	Ibrahim <i>et al.</i> ⁸	492	492 (100%)	70%	30%	28%	62%	< 0,001
2003	Zaragoza <i>et al.</i> ⁹	166	166 (100%)	77%	23%	50%	56%	0,512
2003	Harbarth <i>et al.</i> ¹⁰	904	468 (52%)	77%	23%	24%	39%	< 0,001
2009	Kumar <i>et al.</i> ¹¹	5715	2012 (35%)	76%	24%	47%	88%	< 0,0001

N: número de pacientes; (%): porcentagem

Kumar *et al.*¹², demonstraram em um estudo com 2731 pacientes com diagnóstico de choque séptico que, após 6 horas do início da hipotensão arterial, cada hora de atraso na administração da terapia antimicrobiana adequada esteve associada a uma diminuição estimada na sobrevida de 8%.

Assim, a escolha do esquema antimicrobiano empírico adequado para o tratamento de um paciente em sepse deverá contemplar os principais micro-organismos envolvidos na infecção. Esta estratégia aumenta consideravelmente a probabilidade de sucesso terapêutico, porém expõe pacientes ao uso excessivo de antimicrobianos de amplo espectro, com conseqüente aumento do seu consumo, seleção de micro-organismos multirresistentes, reações adversas, interações medicamentosas e elevação dos custos do tratamento^{13,14}.

Na última década, a proposta de ajuste no esquema antimicrobiano empírico mais precocemente (descalonamento) tem surgido como uma importante estratégia para melhorar o uso dos antibióticos nos serviços de saúde. Vários estudos demonstraram que o descalonamento é uma alternativa segura e eficaz, promovendo redução no consumo de antimicrobianos sem aumento da mortalidade nos pacientes submetidos a esta estratégia (Tabela 2).

Tabela 2 - Estudos comparando a mortalidade na sepse com a estratégia de descalonamento antimicrobiano

Anos	Autores	N	Descalonamento (%)	Mortalidade		Valor p
				Com descalonamento antimicrobiano (%)	Sem descalonamento antimicrobiano (%)	
2012	Heenem <i>et al.</i> ¹⁵	216	43%	16%	34%	0,002
2013	Shime <i>et al.</i> ¹⁶	49	57%	0%	18%	0,13
2014	Garnacho <i>et al.</i> ¹⁷	628	35%	27%	32%	0,006
2014	Khasawneh <i>et al.</i> ¹⁸	65	52%	3%	19%	0,06
2014	Leone <i>et al.</i> ¹⁹	116	51%	31%	23%	0,35
2014	Mokart <i>et al.</i> ²⁰	101	44%	18%	26%	0,57

N: número de pacientes/episódios; (%): porcentagem

A identificação do patógeno responsável pela sepse, especialmente no sangue, é o principal elemento utilizado na prática clínica para o descalonamento antimicrobiano. No entanto, para garantir que esta estratégia seja segura e precoce, é importante que a identificação do micro-organismo seja realizada com técnicas laboratoriais mais rápidas, de boa acurácia, confiáveis e comercialmente disponíveis.

1.2 Detecção e Identificação de Micro-organismos no Sangue

Até o momento, o “padrão ouro” para a detecção de micro-organismos no sangue baseia-se em exames de cultura (hemocultura). Apesar dos significantes avanços no processamento laboratorial das hemoculturas, este método apresenta várias limitações, incluindo baixa sensibilidade, baixa probabilidade pré-teste e tempo prolongado para a identificação do micro-organismo (24 a 96 horas), especialmente em pacientes em uso de antibióticos. Em geral, o percentual de positividade da hemocultura não ultrapassa 5%-30% em pacientes com sepse, dependendo da gravidade da doença, da topografia da infecção e do uso de antimicrobianos no momento da coleta. Estas limitações resultam no uso mais prolongado de esquemas antimicrobianos inadequados ou de amplo espectro, com descalonamento mais tardio e suas inevitáveis consequências.

Nos últimos anos, o desenvolvimento de técnicas moleculares com a capacidade de detecção e identificação mais rápida de micro-organismos no sangue, representa uma importante estratégia para melhorar o uso dos antimicrobianos. Alguns destes testes laboratoriais foram desenvolvidos para a identificação de micro-organismos provenientes de frascos de hemoculturas positivas, outros são utilizados para a detecção e identificação do micro-organismo em amostras de sangue total

(sem necessidade de crescimento prévio do patógeno). Muitos deles têm a capacidade de detecção de genes de resistência a determinados antimicrobianos, mas nenhum deles descarta a necessidade da realização do perfil de sensibilidade aos antibióticos (Tabela 3).

Tabela 3 - Principais métodos moleculares comercialmente disponíveis para detecção rápida de micro-organismos no sangue^{21,22}

Métodos moleculares	Patógenos detectados	Deteção de genes de resistência	S (%)	E (%)
Realizado em amostras de hemocultura positivas				
Film Array [®] BC-ID (BioFire, Inc, USA) ²³	24 (bactérias e fungos)	MecA, vanA/B, KPC	88-100	99-100
PNA-FISH [®] (ADVANDX, USA) ^{24,25}	10 (bactérias e fungos)	MecA	94-100	87-100
MALDI-TOF-MS [®] , USA ^{26,27}	> 300 (bactérias e fungos)	Não	76-80	96-100
Prove-it Sepsis [®] (Mobi Diag, Finland) ^{28,29}	50 (bactérias e fungos)	Mec A	95-99	98
Verigene [®] (Nanosphere, USA) ^{30,31}	Bactérias gram-positivo	MecA, vanA/B	92-100	95-100
	Bactérias gram-negativo	CTX-M, IMP, KPC, NDM, VIM, OXA	89-100	93-100
Realizado em amostras de sangue total				
Xpert MRSA/MSSA [®] (Cepheid, USA) ^{32,33}	MRSA/MSSA	MecA	94-100	97
SeptiFast [®] (Roche, Germany) ^{34,35}	25 (bactérias e fungos)	MecA	68-75	86-92
VYOO [®] (Analytic JENA - Germany) ³⁶	34 bactérias e 7 fungos	MecA, van A/B/C, bla _{SHV} e bla _{CTX-M}	60	75
SepsiTest [®] (Molzym-Germany) ³⁷	> 300 (bactérias e fungos)	Não	87	86
MagicPlex [®] (Seegene - Korea) ^{38,39}	73 (bactérias e fungos)	MecA, vanA/B	62-65	92-96
IRIDICA [®] BAC BSI (Abbott, Carlsbad, CA) ⁴⁰	> 300 (bactérias e fungos)	MecA, van A/B, bla _{KPC}	83-91	94-99

S: sensibilidade; E: especificidade; PNA-FISH: hibridização fluorescente *in situ*; MALDI-TOF: espectrometria de massa; Prove it sepsis: PCR multiplex e microarranjo de DNA; Verigene: ácidos nucleicos baseados em microarranjo de DNA; Xpert MRSA/MSSA: PCR em tempo real; SeptiFast: PCR multiplex em tempo real; VYOO: PCR multiplex com eletroforese em gel; SepsiTest: PCR de amplo espectro com sequenciamento; MagicPlex: PCR multiplex em tempo real; IRIDICA[®]BAC BSI: PCR associado e espectrometria de massa; Mec A: gene codificador de resistência a oxacilina; Van A/B: gene codificador de resistência dos enterococos à vancomicina; CTX-M: gene codificador de resistência das enterobactérias às cefalosporinas; IMP, KPC, NDM, VIM, OXA: gene codificador de resistência aos carbapenêmicos; MRSA: *S. aureus* meticilina-resistente; MSSA: *S. aureus* meticilina-sensível

Muitos destes métodos laboratoriais têm sensibilidade superior à hemocultura, mas o principal benefício é a rápida liberação do resultado, possibilitando um ajuste mais precoce e seguro da terapia antimicrobiana empírica (Figura 1)²¹.

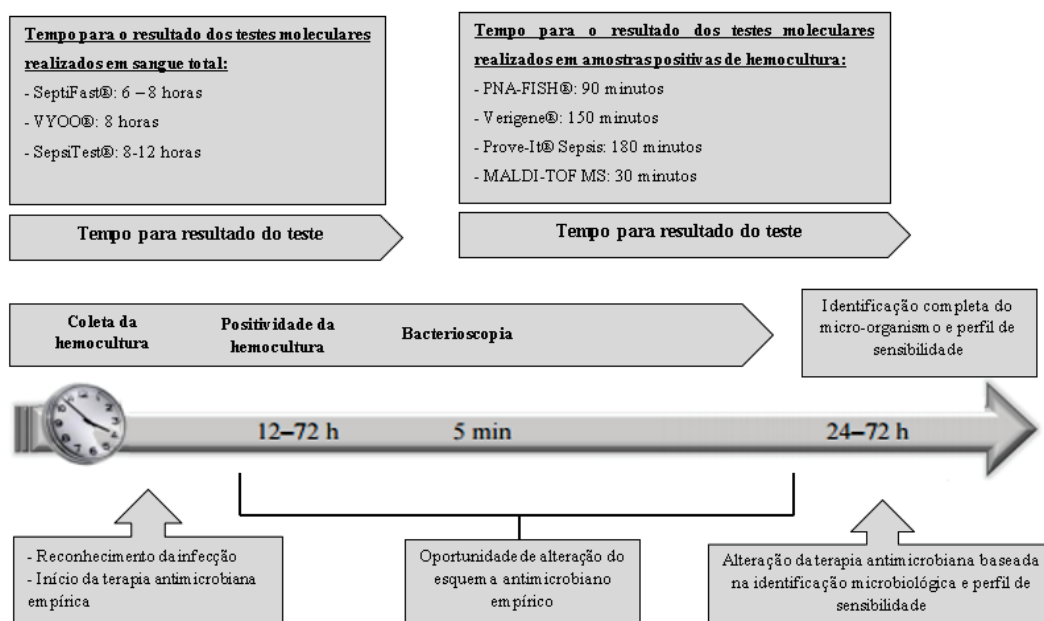


Figura 1 - Comparação entre os tempos para liberação do resultado dos principais métodos moleculares comparado à hemocultura convencional²¹

Mac Vane *et al.*⁴¹, demonstraram os benefícios da utilização de um teste molecular rápido (PCR-Multiplex - Film Array®) na identificação precoce de micro-organismos realizados em balões de hemocultura positivos comparados à hemocultura convencional. O tempo médio para o início da terapia antimicrobiana adequada foi menor com a utilização do teste molecular quando comparado à hemocultura (5 horas *versus* 13 horas - $p < 0,001$) embora não tenha sido evidenciada diferença na mortalidade, tempo de internação em UTI e nos custos do tratamento.

Stevenson *et al.*⁴², publicaram em 2016 uma revisão sistemática comparando a hemocultura a três testes moleculares (LightCycler®SeptiFast, SepsiTst® e IRIDICA®BAC BSI) para a identificação de micro-organismos no sangue. Neste estudo, a terapia antimicrobiana também foi ajustada mais precocemente devido à rápida identificação do micro-organismo pelos testes moleculares, mas não foi evidenciado impacto significativo na evolução, mortalidade e no tempo de internação nas unidades de terapia intensiva.

1.3 Relevância e Impacto do Uso de Antimicrobianos na Prática Médica

Os antimicrobianos representam uma das mais frequentes classes de medicamentos utilizados no ambiente hospitalar e mais de 50% deles são utilizados de forma inadequada, seja na indicação, posologia ou na duração da terapia proposta⁴³.

A prescrição inadequada de antimicrobianos expõe os pacientes a complicações sem benefícios terapêuticos que incluem reações adversas¹⁴, seleção de bactérias multirresistentes¹³ e o aparecimento de superinfecções por alteração da microbiota intestinal, principalmente pelo *Clostridium difficile*⁴⁴.

No ambiente hospitalar, a utilização dos antimicrobianos assume grande importância, pois representa a única classe de medicamentos que tem a capacidade de afetar também indivíduos não expostos diretamente a eles, alterando e repercutindo significativamente no microbioma hospitalar.

Dados internacionais de vigilância epidemiológica demonstram que a emergência de micro-organismos resistentes responsáveis pelas infecções tanto de origem comunitária como hospitalar tem associação direta com a crescente utilização

de antimicrobianos. Contrariamente a essa realidade, esforços para o desenvolvimento de novas classes de antimicrobianos não são esperados para os próximos anos, causando grande preocupação no cenário da saúde pública mundial.

A Organização Mundial da Saúde (OMS) pontuou a resistência antimicrobiana como um dos três mais importantes problemas para a saúde do homem, colocando-a na mesma categoria das alterações climáticas e da pobreza⁴⁵.

Na última década, entidades científicas e governamentais internacionais iniciaram estratégias para evitar o avanço da multirresistência através da implantação de programas de incentivo e promoção do uso adequado dos antimicrobianos.

Em 2013, o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) publicou um relatório apontando os 18 principais patógenos associados à resistência antimicrobiana nos Estados Unidos: *Clostridium difficile*, enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos, *N. gonorrhoeae*, *Acinetobacter spp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Campylobacter spp*, *Shigella spp* e *Salmonella não typhi*, *Candida spp* resistentes à fluconazol, Enterobactérias produtoras de β lactamase de espectro estendido, *Enterococos spp* resistentes à vancomicina, *S. aureus* resistentes à oxacilina, *Streptococcus pneumoniae*, *M. tuberculosis*, Streptococcus do grupo A e B e *S. aureus* resistentes à vancomicina. A estimativa é que mais de dois milhões de indivíduos são infectados anualmente por patógenos resistentes e que aproximadamente 23.000 evoluem para óbito relacionado diretamente ao processo infeccioso⁴⁴.

Em 2016, a Sociedade Americana de Doenças Infeciosas (IDSA) e a Sociedade Americana de Epidemiologia em Saúde (SHEA) recomendaram a utilização de testes moleculares rápidos na identificação de micro-organismos no sangue, objetivando um ajuste mais precoce e direcionado da terapia antimicrobiana⁴⁶.

1.4 Justificativa

Estudos prévios demonstraram que os testes moleculares são capazes de detectar e identificar, mais rapidamente que a hemocultura, o micro-organismo responsável pela infecção. Este fato possibilita que o esquema antimicrobiano empírico seja ajustado mais precocemente, evitando seu uso desnecessário e suas consequências. No entanto, não há, até o momento, estudos que avaliaram o impacto do uso destes novos métodos moleculares no consumo dos antimicrobianos no tratamento da sepse hospitalar, justificando a realização deste estudo.

2 OBJETIVOS

2.1 Primário

Avaliar o consumo de antimicrobianos em pacientes com sepse hospitalar com agente etiológico identificado no sangue, comparando um teste molecular de detecção rápida de micro-organismos (PCR multiplex em tempo real) à hemocultura convencional nos primeiros 14 dias de tratamento.

2.2 Secundários

- Descrever o percentual de positividade e a concordância entre o teste molecular e a hemocultura na identificação da etiologia da sepse hospitalar.
- Descrever o tempo de internação hospitalar após o tratamento da sepse nos dois grupos.
- Descrever os custos diretos dos antimicrobianos utilizados nos dois grupos.
- Descrever a letalidade em 10 e 28 dias nos dois grupos.

3 MÉTODOS

3.1 Desenho do Estudo

Ensaio clínico, aleatorizado, controlado.

3.2 Local, Período e População

O estudo foi realizado no período de 15 de outubro de 2012 a 20 de maio de 2016 no Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (InCor-HC-FMUSP). O InCor é um hospital público, universitário, conveniado ao Sistema Único de Saúde com 535 leitos sendo 168 leitos de unidade de terapia intensiva de alta complexidade, com 11.995 admissões-ano, 4962 cirurgias-ano, especializado em cardiologia, pneumologia e cirurgias cardíacas e torácicas, reconhecido internacionalmente como referência em transplante de coração e pulmão⁴⁷.

3.3 Aspectos Éticos, Registros e Recursos Financeiros

O protocolo do estudo e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo A) foram submetidos à Comissão Científica do Instituto do Coração e aprovados pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP), em sessão de 24 de novembro de 2011 sob o número 0617/11 (Anexos B e C). As informações obtidas foram analisadas em conjunto e a identidade dos participantes foi mantida em sigilo.

O estudo foi registrado no ClinicalTrials.gov em 17 de outubro de 2011 sob o identificador NCT 01450358.

O estudo foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) sob o número de identificação 2011/09865-9.

Os exames microbiológicos e de biologia molecular foram realizados nos respectivos laboratórios da Divisão de Laboratório Central-HC-FMUSP sob o número de protocolo de pesquisa PR-901.

3.4 Critérios de Inclusão

- Pacientes maiores de 18 anos.
- Pacientes internados no InCor-HC-FMUSP há mais 48 horas.
- Pacientes com suspeita clínica de infecção e com critérios clínicos e laboratoriais de sepse detectados nas últimas 24 horas de internação.

3.5 Critérios de Exclusão

- Pacientes submetidos à cirurgia cardiovascular com circulação extracorpórea nos últimos 15 dias.
- Pacientes participantes em outro estudo intervencionista.
- Pacientes em uso de heparina endovenosa (inibidor do teste molecular).
- Pacientes em cuidados paliativos.
- Ausência de preenchimento do termo de consentimento pelo paciente ou responsável legal.

3.6 Seleção dos Pacientes e Randomização

A Unidade de Controle de Infecção Hospitalar (UCIH) do InCor é composta por quatro médicos infectologistas que são responsáveis pela discussão dos casos de pacientes com indicação do uso de antimicrobianos no hospital por meio de visitas diárias nas unidades de internação e terapia intensiva. Adicionalmente, os antibióticos são liberados pela farmácia do hospital somente após a autorização de um dos médicos da UCIH (via sistema informatizado ou telefone).

Os pacientes elegíveis para este estudo foram selecionados após discussão com a equipe da UCIH conforme visita clínica diária. O médico responsável pela pesquisa era imediatamente informado e após avaliação clínica decidia pela inclusão ou não do paciente no estudo. Os pacientes foram incluídos em dias e horários pré-definidos: domingo a 5ª feira das 20:00 horas até as 14:00 horas do dia seguinte. Esta limitação de dias e horários estava vinculada ao funcionamento do laboratório de biologia molecular.

Quando o paciente era elegível para o estudo, o protocolo era explicado ao paciente ou seu responsável e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido era preenchido e assinado.

A seguir, as amostras de sangue eram coletadas (para a realização do teste molecular e da hemocultura) e o esquema antimicrobiano empírico era imediatamente iniciado (até 1 hora após o diagnóstico da sepse). O fluxograma da realização do estudo está descrito na Figura 2.

Após a coleta de exames e início do esquema antimicrobiano, os pacientes eram randomizados em dois grupos: grupo intervenção ou grupo controle. Foi utilizado um programa informatizado para a geração da sequência randômica

(*Research Randomizer*). A sequência randômica gerada foi colocada em envelopes opacos, lacrados e armazenados em ordem sequencial antes do início do estudo.

Os envelopes opacos com o número de alocação estavam disponíveis na Seção de Biologia Molecular da DLC-HC-FMUSP, sendo a sua abertura realizada pelo responsável técnico do laboratório somente após a recepção do material coletado para a realização do teste molecular (Anexo D).

3.7 Categorização dos Grupos

- **Grupo Intervenção:** neste grupo de pacientes o teste molecular para detecção rápida de micro-organismos no sangue foi realizado e seu resultado informado ao médico investigador (6-12 horas), que imediatamente adequava o esquema antimicrobiano baseado no resultado do exame molecular. Nos casos em que o resultado do teste foi negativo, o esquema antimicrobiano foi alterado conforme o resultado da hemocultura ou das evoluções clínica e laboratorial do paciente (48-72 horas).
- **Grupo Controle:** para os pacientes randomizados neste grupo, o material para o teste molecular foi armazenado para realização posterior (final do estudo), sendo o esquema antimicrobiano alterado pelo médico investigador conforme o resultado da hemocultura ou da evolução clínica e laboratorial do paciente (48-72 horas).

Em ambos os grupos, a terapia de suporte (ventilação mecânica, utilização de drogas vasoativas, terapia de substituição renal, nutrição e outros procedimentos) foi decidida e conduzida pela equipe médica da unidade de internação.

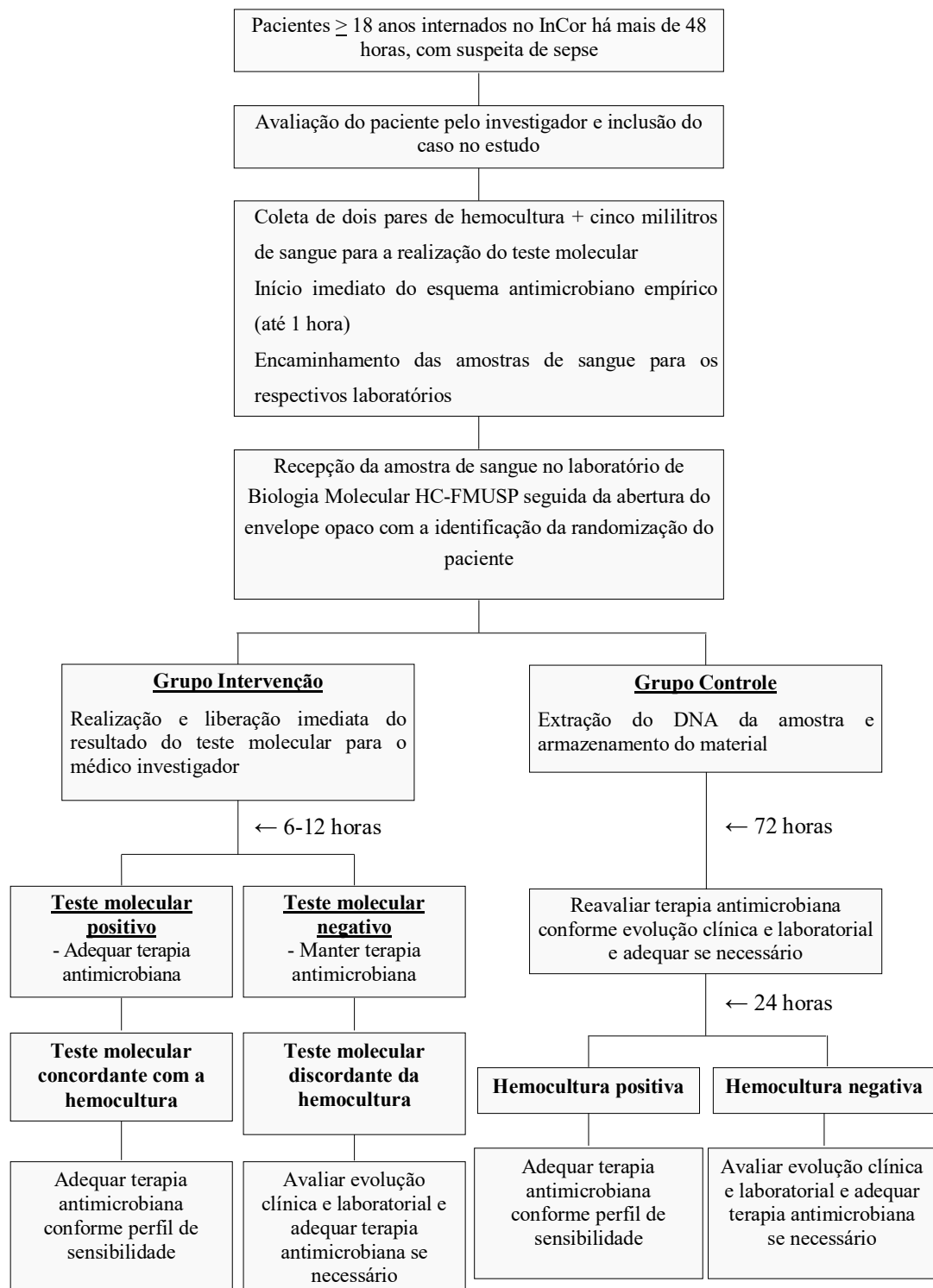
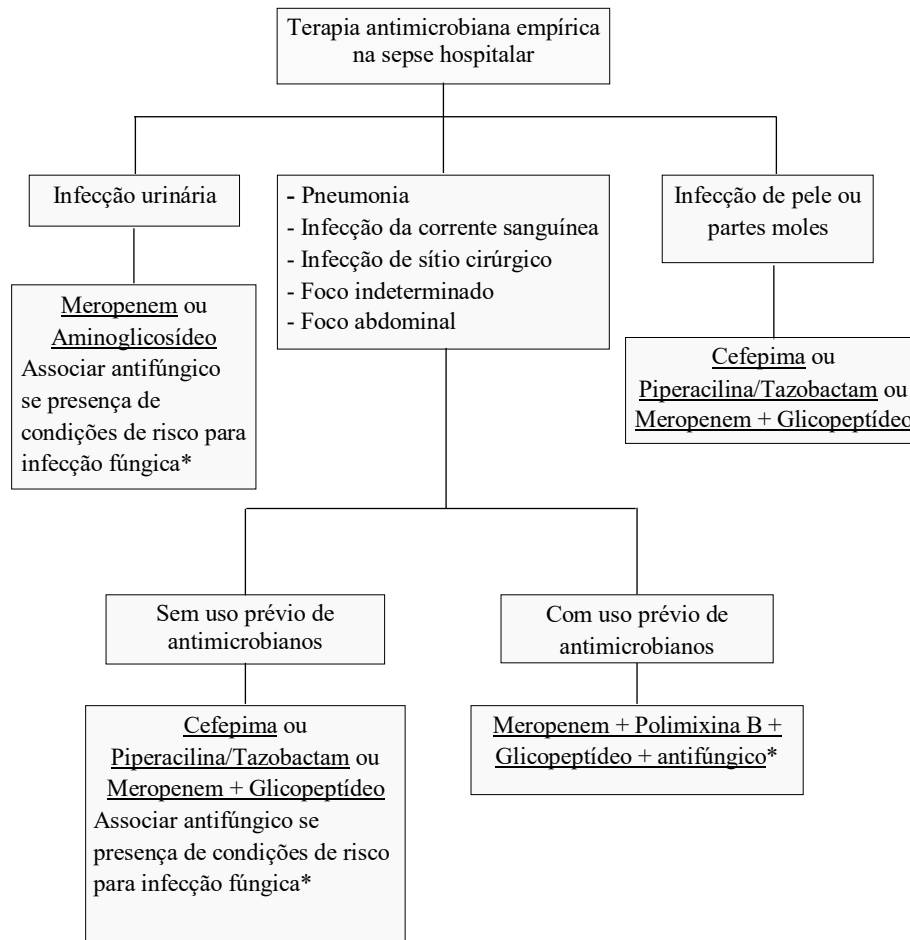


Figura 2 - Fluxograma do estudo

3.8 Seleção da Terapia Antimicrobiana Empírica

A seleção da terapia antimicrobiana empírica inicial foi baseada nas características epidemiológicas da instituição, na topografia da infecção e na gravidade da doença (Figura 3).



***Terapia antifúngica**

Condições de risco para infecção fúngica: uso prévio de antimicrobianos, cateter intravascular, colonização por fungo em mais de um sítio, nutrição parenteral, neoplasia, quimioterapia, hemodiálise, ventilação mecânica, uso de corticóide.

Escolha do antifúngico:

- Sem uso prévio de imidazólico: fluconazol
- Com uso prévio de imidazólico: equinocandinas

Figura 3 - Protocolo de terapia antimicrobiana empírica para pacientes com sepse hospitalar

Devido à alta incidência de enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos nas unidades de internação onde o estudo foi realizado, a identificação deste patógeno no sangue por teste molecular ou hemocultura, apresentava como opção terapêutica a terapia combinada com duas ou três drogas, sendo uma delas o meropenem (o dobro da dose convencional com infusão em 30-40 minutos), conforme padronizado por protocolo institucional.

Todas as alterações dos esquemas antimicrobianos foram realizadas pelo médico responsável pelo estudo incluindo posologia, associações e tempo de terapia antimicrobiana.

Para diminuir a possibilidade de alterações do esquema antimicrobiano por outros profissionais, o serviço de farmácia era notificado diariamente sobre os pacientes em seguimento e caso alterações fossem realizadas, o médico pesquisador era imediatamente comunicado.

3.9 Definições

3.9.1 Terapias antimicrobianas

Terapia empírica: definida como o esquema antimicrobiano administrado antes da identificação do patógeno responsável pelo processo infeccioso. Neste estudo, sua escolha foi baseada na característica epidemiológica do hospital e nos dados clínicos e laboratoriais do paciente levando-se em consideração a presença de fatores de risco para a colonização por patógenos multirresistentes.

Terapia adequada: definida quando no mínimo uma droga efetiva estava incluída ao esquema antimicrobiano empírico inicial conforme o micro-organismo identificado pelo teste molecular ou hemocultura. Nos casos em que o patógeno foi

identificado somente pelo teste molecular, portanto sem perfil de sensibilidade aos antimicrobianos, considerou-se a terapia adequada somente quando os micro-organismos identificados não apresentassem resistência documentada na instituição ou que o paciente estivesse recebendo terapia antimicrobiana que contemplasse a multirresistência. Exemplos: *S. aureus* identificado pelo método molecular e paciente em uso de vancomicina ou identificação de enterobactérias em tratamento com meropenem associado à aminoglicosídeo e ou polimixina.

Descalonamento antimicrobiano: foi considerado descalonamento a alteração do esquema antimicrobiano inicial de amplo espectro para um esquema antimicrobiano de espectro restrito, baseada nos resultados do teste molecular ou da hemocultura. Exemplo: suspensão do antibiótico para *S. aureus* resistente à oxacilina ou bactérias gram-negativo quando estes não fossem necessários (ou por resultado da cultura ou por razões clínicas) ou substituição de uma droga por outra conforme o perfil de sensibilidade⁴⁸.

Reescalonamento antimicrobiano: definido como o reinício de um antimicrobiano de amplo espectro devido piora clínica após o descalonamento inicial.

Espectro de ação dos antimicrobianos: a classificação de espectro de ação foi baseada no estudo de Kollef *et al.*⁴⁹, carbapenêmico > cefalosporina 4ª geração > piperacilina-tazobactam > quinolona > ceftazidima > ceftriaxona.

3.9.2 Bactérias multirresistentes

Foram consideradas bactérias multirresistentes:

- Bactérias gram-positivo: *E. faecalis* e *E. faecium* resistentes à vancomicina.
- Bactérias gram-negativo: enterobactérias, *P. aeruginosa* e *A. baumannii* resistentes aos carbapenêmicos.

Foram considerados fatores de risco para colonização/infecção por bactérias multirresistentes: pacientes com internação superior a 48 horas nos últimos 90 dias, uso prévio de antimicrobianos (até 90 dias), internação atual superior a 5 dias, locais com alta prevalência de patógenos multirresistentes, pacientes provenientes de outros serviços assistenciais de saúde e imunossuprimidos⁵⁰.

3.9.3 Critérios diagnósticos da sepse

Apesar das mudanças nos critérios diagnósticos da sepse publicadas em 2016 (Apêndice A)⁵¹, optou-se por manter os critérios diagnósticos anteriores, respeitando o desenho original do estudo que iniciou a coleta de dados em 2012 (Quadro 1).

Quadro 1 - Critérios diagnósticos da sepse de acordo com a ACCP/SCCM⁵²

<p>Síndrome da resposta inflamatória sistêmica: dois ou mais dos seguintes</p> <ul style="list-style-type: none"> - Temperatura > 38 °C ou < 36 °C - Frequência cardíaca > 90 batimentos por minuto - Frequência respiratória > 20 incursões por minuto ou PaCO₂ < 32 mmHg ou ventilação mecânica - Leucograma >12.000 ou < 4000 células por mm³ ou > 10% de células imaturas
<p>Sepse: Síndrome da resposta inflamatória sistêmica associada à infecção já diagnosticada ou presumida</p>
<p>Sepse grave: sepse associada a pelo menos uma disfunção orgânica (cardiovascular, hepática, renal, coagulação ou neurológica) ou hipoperfusão (acidose láctica, oligúria ou alteração aguda do nível de consciência) ou hipotensão (pressão arterial sistólica < 90 mmHg ou queda superior a 40 mmHg da pressão basal)</p>
<p>Choque séptico: sepse grave com utilização de drogas vasoativas a despeito da reposição volêmica adequada</p>
<p>Síndrome de disfunção de múltiplos órgãos: alterações orgânicas sistêmicas graves associadas a choque séptico culminando na insuficiência de múltiplos órgãos</p>

AACP: *American College of Chest Physicians*; SCCM: *Society of Critical Care Medicine*.

3.10 Coleta e Processamento das Amostras

Foram coletadas amostras de sangue para a realização de ambos os procedimentos (método molecular e hemocultura). Para a hemocultura foi padronizada a coleta de dois pares sendo retirados 40 mililitros de sangue e inoculados nos balões de aeróbio e anaeróbio (8 mL-10 mL por balão). Para pacientes em uso de cateter venoso central, um dos pares de hemocultura poderia ser coletado do cateter, mas, sempre a outra amostra deveria ser proveniente da punção de um vaso sanguíneo periférico. Para o teste molecular, foram coletados cinco mililitros de sangue, da mesma punção de uma das hemoculturas periféricas e inoculados em um tubo com EDTA (Vacutainer[®], Becton Dickison, UK).

3.10.1 Hemoculturas

As hemoculturas foram processadas conforme método laboratorial padronizado pelo laboratório de microbiologia (DLC-HC-FMUSP) utilizando-se o sistema BACTEC FX (Becton Dickinson, USA) para aeróbios, anaeróbios e fungos.

Desde março de 2015, a identificação de micro-organismos passou a ser realizada pelo *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight* (MALDI-TOF)⁵³. Os resultados das culturas foram checados diariamente no período da manhã, por meio de sistema informatizado, conforme rotina padronizada pelo laboratório de microbiologia.

3.10.2 Teste molecular (PCR-Multiplex)

Para a realização deste estudo, optou-se pelo LightCycler® SeptiFast Test (Roche Molecular Systems, Branchburg, NJ), disponível comercialmente no Brasil e que consiste na realização da reação em cadeia da polimerase em tempo real multiplex (PCR RTm) capaz de detectar diretamente no sangue, sem incubação, o material genético de 25 micro-organismos (Quadro 2).

A realização da PCR RTm consistiu em três etapas: (1) extração e purificação do DNA do micro-organismo no sangue total, (2) amplificação da sequência do DNA por PCR em tempo real em três reações paralelas (bactérias gram positivos, gram negativos e fungos), (3) detecção por sondas específicas de hibridização e identificação automatizada das espécies, com o tempo total de execução do teste em aproximadamente 6 horas⁵⁴. Esse ensaio amplifica a região do *internal transcribed spacer* (ITS) entre as sequências 16S e 23 S de bactérias gram negativo e gram positivo de DNA ribossomal, e a sequência 18S e 5.8S de fungos.

Quadro 2 - Bactérias detectadas pelo LightCycler® SeptiFast Test⁵⁴

Bactérias Gram-positivos	Bactérias Gram-negativos	Fungos
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Staphylococcus coagulase negativo*</i>	<i>Klebsiella (oxytoca e pneumoniae)</i>	<i>Candida tropicalis</i>
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Candida parapsilosis</i>
<i>Streptococcus spp**</i>	<i>Enterobacter (cloacae e aerogenes)</i>	<i>Candida glabrata</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Candida krusei</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	
	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	

*: *Staphylococcus coagulase negativo*: *S. hominis* subsp. *novobiosepticus*, *S. pasteurii*, *S. warneri*, *S. cohnii* subsp. *urealyticum*, *S. hominis* subsp. *hominis*, *S. lugdunensis*, *S. cohnii* subsp. *cohnii*, *S. capitis* subsp. *ureolyticus*, *S. capitis* subsp. *capitis*, *S. caprae*, *S. xylosus*, *S. saprophyticus*. **: *Streptococcus spp*: *S. pyogenes*, *S. agalactiae*, *S. anginosus*, *S. bovis*, *S. constellatus*, *S. cristatus*, *S. gordonii*, *S. intermedius*, *S. milleri*, *S. mitis*, *S. oralis*, *S. parasanguinis*, *S. mutans*, *S. salivarius*, *S. thermophilus*, *S. vestibularis*, *S. viridans*.

A amostra de sangue total utilizada para a realização da PCR-multiplex (LightCycler® SeptiFast) foi armazenada em temperatura ambiente no máximo por 4 horas ou até 3 dias em refrigeração a 4°C ou por até 3 meses a -70 °C.

O processamento das amostras foi realizado de acordo com as instruções do fabricante (Apêndice B) utilizando o SeptiFast Lys Kit, o SeptiFast Prep Kit e o Light-Cycler SeptiFast Kit. A extração do DNA foi realizada manualmente utilizando-se o SeptiFast Prep KitMGRADE (Roche Diagnostics GmnH)⁵⁵.

A análise da PCR foi realizada pelo equipamento LightCycler 2.0 (Roche Diagnostic). Todos os insumos descartáveis e reagentes utilizados para o teste eram MGRADE (livres de DNA).

Os micro-organismos contidos na lista da PCR-multiplex foram identificados por meio dos picos característicos reconhecidos por um software específico (SIS, Roche Diagnostics) e uma análise manual dos valores da temperatura de Melting (Tm). O resultado do teste foi reportado negativo quando o controle interno foi positivo e nenhum outro sinal foi detectado.

3.11 Registro dos Dados Clínicos

Um instrumento para coleta de dados foi utilizado para auxílio e organização das informações pertinentes ao estudo (Anexo E).

Para todos os pacientes incluídos no estudo os seguintes dados foram coletados: idade, sexo, diagnóstico da internação, escore *Acute Physiologic Assessment and Chronic Health Evaluation II* (APACHE II) ⁵⁶ nas primeiras 24 horas de internação na UTI. Para a avaliação da disfunção orgânica, o escore

Sequential Organ Failure Assessment (SOFA)⁵⁷ foi calculado diariamente após a inclusão no estudo e até 96 horas de seguimento, escala de coma de Glasgow e critérios diagnósticos de Síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SRIS)⁵⁸, topografia da infecção conforme classificação do CDC⁵⁹, presença de comorbidades, uso de drogas vasoativas, presença de dispositivos e procedimentos invasivos como cateter venoso central, ventilação mecânica, balão intra-aórtico, presença de marcapasso, diálise, tempo de internação hospitalar, colonização por patógenos multirresistentes, uso e modificações do esquema de antimicrobianos, dados microbiológicos, alta ou óbito.

3.12 Avaliadores Cegados

No final do estudo, três médicos (dois infectologistas e um especialista em terapia intensiva) avaliaram a evolução clínica e laboratorial dos pacientes conforme as informações fornecidas em uma ficha contendo dados dos pacientes coletados na inclusão e após 96 horas de seguimento (Anexo F). Estes avaliadores independentes foram mantidos às cegas em relação à alocação dos grupos, ao resultado microbiológico e à terapia antimicrobiana. Eles categorizaram a evolução do paciente como melhora clínica, piora clínica ou sem resposta clínica, de acordo com critério individual.

3.13 Mensuração do Consumo de Antimicrobianos

Para este estudo, o consumo de antimicrobianos foi mensurado através do dia de terapia (DOT) que consiste na mensuração direta do número de dias sob terapêutica antimicrobiana⁶⁰. Um DOT corresponde à administração de um único agente em um determinado dia, independentemente do número de doses ou dosagem administrada. Nos casos da associação de mais antimicrobianos, cada um equivale a um DOT. Exemplo para o cálculo do DOT: paciente em uso de vancomicina por 3 dias associado a meropenem por 7 dias terá um total de 10 DOT (3 DOT para vancomicina + 7 DOT para meropenem). Pacientes com disfunção renal que não utilizaram vancomicina diariamente, mas que apresentavam nível sérico terapêutico da droga foram considerados diariamente como um DOT. O denominador utilizado foi de 1000 pacientes-dia.

3.14 Custo dos Antimicrobianos

Foi avaliado o custo direto do antimicrobiano conforme referência nacional (gasto médio de tratamento por paciente em reais)⁶¹.

3.15 Tempo de Seguimento

Os pacientes foram seguidos até 28 dias após a inclusão no estudo, ou até alta, óbito ou qual dos eventos tenha ocorrido primeiro.

3.16 Análise Estatística

Para detectar uma diminuição no consumo de antimicrobianos mensurado pelo DOT de 1000 DOT por 1000 pacientes-dia no grupo controle para 650 DOT por 1000 pacientes-dia no grupo intervenção com um desvio padrão de 850, utilizou-se o teste qui-quadrado de Pearson. Estimou-se uma amostra de 200 pacientes para um poder estatístico de 80% e um erro tipo I de 0,05.

As variáveis categóricas de todos os pacientes incluídos no estudo foram descritas de acordo com grupos utilizando frequências absolutas e relativas e verificada a associação com o uso de testes qui-quadrado de Pearson, testes exatos de Fisher ou testes de razão de verossimilhança. As variáveis contínuas foram comparadas entre os grupos com o uso de testes t-Student ou testes U de Mann-Whitney.

Os resultados foram expressos como médias (\pm desvio padrão) ou medianas (intervalo interquartil - IQR). A sobrevida em 10 e 28 dias foi estimada utilizando-se a função Kaplan-Meier para cada grupo e comparadas entre os grupos utilizando-se o teste log-rank.

Um valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

A análise estatística foi realizada utilizando o programa estatístico SPSS versão 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA).

4 RESULTADOS

4.1 Distribuição dos Pacientes Avaliados para Inclusão no Estudo

Entre outubro de 2012 a maio de 2016 foram avaliados 499 pacientes com suspeita de sepse hospitalar, sendo que 200 (40%) preencheram os critérios de inclusão. Os pacientes foram randomizados em dois grupos: 100 alocados no grupo intervenção e 100 no grupo controle conforme descrito na Figura 4.

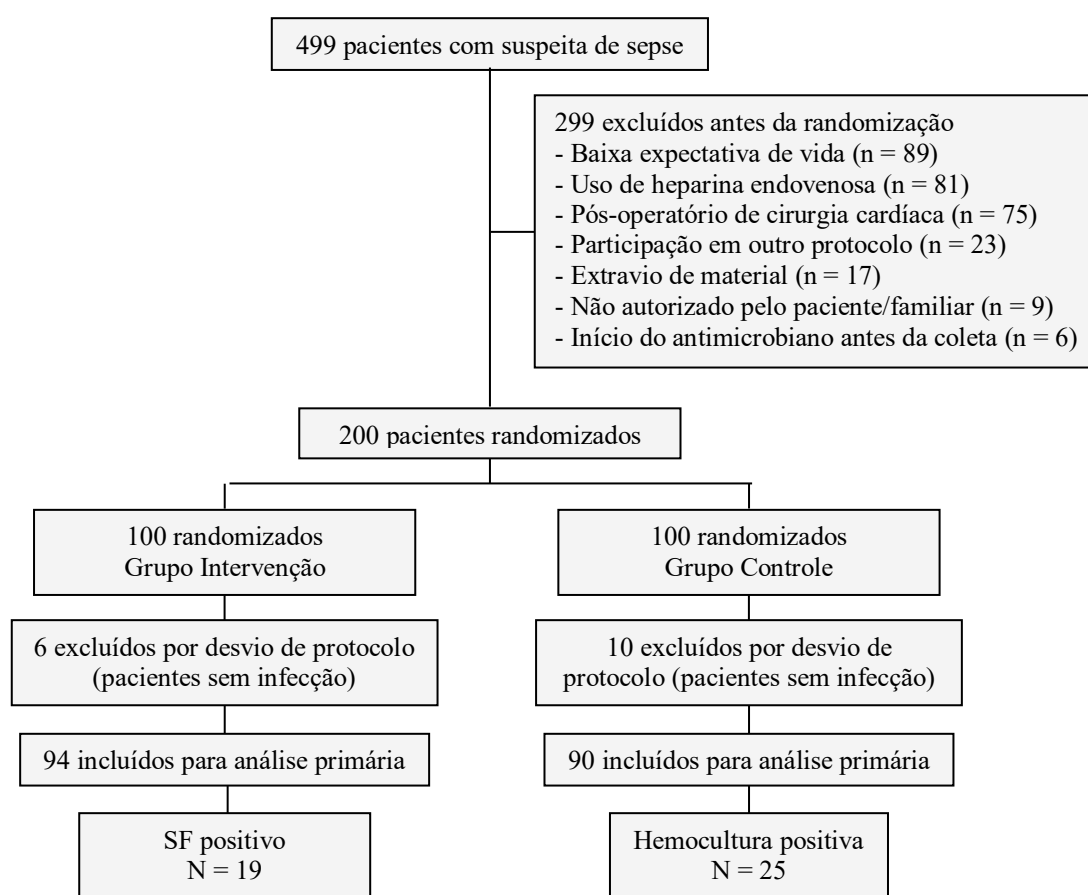


Figura 4 - Fluxograma da distribuição dos pacientes com suspeita de sepse hospitalar avaliados para inclusão no estudo no período de 2012 a 2016

4.2 Características Gerais dos Pacientes Estudados

Para análise, permaneceram no estudo 184 pacientes (92%), sendo 94 pacientes no grupo intervenção e 90 no grupo controle. Os dois grupos mostraram-se homogêneos considerando-se as características demográficas, clínicas, laboratoriais e a terapia antimicrobiana empírica, conforme demonstrado nas Tabelas 4 e 5.

Tabela 4 - Características demográficas, clínicas e laboratoriais dos pacientes incluídos no grupo intervenção e grupo controle

Variável	Grupo intervenção n = 94	Grupo controle n = 90	Valor p
Idade, anos	65 (56-74)	64 (55-72)	0,445**
Idade \geq 65 anos – n (%)	47 (50,0%)	42 (46,7%)	0,651*
Sexo masculino – n (%)	69 (73,4%)	59 (65,6%)	0,247*
Comorbidades – n (%)			
Diabetes mellitus	32 (34,0%)	33 (36,7%)	0,710*
Insuficiência renal crônica	56 (59,6%)	56 (62,2%)	0,713*
Insuficiência renal crônica dialítica	4 (4,3%)	7 (7,8%)	0,314*
Tabagismo	36 (38,3%)	32 (35,6%)	0,700*
Depuração de creatinina $<$ 30 mL/min/1.73m ²	36 (38,3%)	40 (44,4%)	0,397*
IC classe funcional (NHYA) – n (%)			
0	43 (45,7%)	29 (32,2%)	0,069*
I	4 (4,3%)	12 (13,3%)	
II	5 (5,3%)	10 (11,1%)	
III	29 (30,9%)	29 (32,2%)	
IV	13 (13,8%)	10 (11,1%)	
IC classe funcional \geq 3(NHYA) – n (%)	42 (44,7%)	39 (43,3%)	0,854*
Fração de ejeção	38 (25-56)	37 (25-55)	0,726**
Fração de ejeção \leq 35%	47 (50,0)	45 (50,0)	1.000*
Causas da admissão hospitalar – n (%)			
Insuficiência cardíaca	31 (33,0%)	42 (46,7%)	0,055***
Arritmia cardíaca	9 (9,6%)	17 (18,9%)	
Infarto agudo do miocárdio	26 (27,7%)	17 (18,9%)	
Infecção	9 (9,6%)	5 (5,6%)	
Insuficiência coronariana	7 (7,4%)	3 (3,3%)	
Outras causas	12 (12,8%)	6 (6,7%)	
APACHE II	16 (11-19)	15 (10-19)	0,496**
Balão intra-aórtico	25 (27,0%)	17 (19,0%)	0,213*
Ventilação mecânica	46 (48,9%)	44 (48,9%)	0,995*
Tempo de internação antes da inclusão no estudo (dias)	16 (11-30)	18 (9-42)	0,848**
Internação em UTI na inclusão do estudo - n (%)	84 (89,4%)	82 (91,1%)	0,690*
Tempo de internação na UTI antes da inclusão no estudo (dias)	13 (8-21)	12 (7-27)	0,708**

IC: insuficiência cardíaca; NYHA: *New York Heart Association*; APACHE II: *Acute Physiologic Assessment and Chronic Health Evaluation II*; *Teste qui-quadrado; ** Mann-Whitney; *** razão de verossimilhança.

Tabela 5 - Características clínicas, laboratoriais e terapia antimicrobiana empírica utilizada nos pacientes incluídos no grupo intervenção e grupo controle

Variável	Grupo intervenção n = 94	Grupo controle n = 90	Valor p
Topografia da Infecção			0.122***
Infecção primária da corrente sanguínea	38 (40.4%)	43 (47.8%)	
Pneumonia não associada a ventilação mecânica	20 (21.3%)	18 (20.0%)	
Pneumonia associada a ventilação mecânica	15 (16.0%)	13 (14.4%)	
Infecção de pele e partes moles	6 (6.4%)	2 (2.2%)	
Infecção do trato urinário	6 (6.4%)	3 (3.3%)	
Infecção intra-abdominal	1 (1.1%)	5 (5.6%)	
Endocardite	2 (2.1%)	2 (2.2%)	
Infecção do sítio cirúrgico	0 (0%)	2 (2.2%)	
Empiema pleural	2 (2.1%)	0 (0%)	
Outros	2 (2.1%)	1 (1.1%)	
Foco desconhecido	2 (2.1%)	1 (1.1%)	
Sepse grave/choque séptico (Definição Sepse 2001)	83 (88.3%)	71 (90%)	0.711*
Sepse (Definição Sepse 2016)	31(33.0%)	35 (38.9%)	0.403*
Choque séptico (Definição Sepse 2016)	34 (36.2%)	37 (41.1%)	0,491*
Evolução para hemodiálise durante a sepsse	36 (38.3%)	34 (37.8%)	0.942*
SOFA na inclusão do estudo	8 (4-10)	8 (5-10)	0.441**
Protéina C reativa mg/dL	154 (106-237)	168 (104-248)	0.473**
Lactato (mmol/L)	2 (1.6-2.7)	2.2 (1.6-3)	0.268**
Exposição de antimicrobiano na inclusão do estudo, n (%)	56 (59.6)	45 (50.0)	0.192*
Colonização prévia por micro-organismos multirresistentes, n (%)	28 (30.8)	32 (36.0)	0.461*
Terapia antimicrobiana empírica			0.625***
Fluoroquinolonas ou cefalosporinas de 3a. geração	6 (6.4%)	4 (4.4%)	
Piperacilina-tazobactam ou cefepima ou aminoglicosídeos	24 (25.5%)	25 (27.8%)	
Meropenem ou polimixina ou tigeciclina)	63 (67.0%)	61 (67.8%)	
Terapia antimicrobiana empírica para <i>S.aureus</i> resistente a oxacilina (glicopeptídeos, linezolida, daptomicina)	89 (94.7%)	86 (95.6%)	1.000***
Meropenem empírico	58 (61.7%)	59 (65.6%)	0.587*
Esquema antimicrobiano empírico			0.848***
1 antibiótico	6 (6.4%)	4 (4.4%)	
2 antibióticos	67 (71.3%)	63 (70.0%)	
3 antibióticos	16 (17.0%)	19 (21.1%)	
≥ 4 antibióticos	5 (5.3%)	4 (4.4%)	

SOFA: *Sequential Organ Failure Assessment*; *Teste qui-quadrado; ** Mann-Whitney; *** razão de verossimilhança.

4.3 Dados Microbiológicos

Foram analisadas 184 amostras de sangue, porém o laboratório de biologia molecular detectou problemas técnicos em 10 amostras. Sendo assim, para cálculo da acurácia do método molecular, foram utilizadas somente as 174 amostras em que o ensaio laboratorial foi realizado com sucesso.

Cinquenta e seis (32%) das amostras resultaram positivas e 118 (68%) foram negativas. A hemocultura apresentou positividade de 22.4% (39/174) enquanto a positividade do teste molecular foi de 25.9% (45/174) ($p = 0.452$). A taxa de concordância entre o resultado das amostras positivas e negativas foi de 83.9% (Quadro 3).

Quadro 3 - Descrição dos resultados pareados da hemocultura e do teste molecular (SF) em 174 amostras utilizadas para o cálculo da acurácia do método molecular

		Hemocultura		
		Positiva	Negativa	Σ
Teste molecular (SF)	Positivo	28	17	45
	Negativo	11	118	129
	Σ	39	135	174

SF: SeptiFast®; Σ : somatória

A sensibilidade do teste molecular comparado à hemocultura foi de 72% (IC 95%: 55%-84%) e a especificidade de 87% (IC 95%: 80%-92%) com valor preditivo positivo de 62% (IC 95%: 47%-76%) e valor preditivo negativo de 91% (IC 95%: 85%-95%).

Conforme descrito no Quadro 4, foram identificados 67 micro-organismos entre as 56 amostras de sangue positivas, sendo 28 micro-organismos (41.8%) detectados pelo teste molecular e hemocultura, 23 (34.3%) somente pelo teste molecular e 16 (23.9%) somente pela hemocultura. Três micro-organismos

identificados na hemocultura não estavam incluídos na lista de identificação do teste molecular (*Morganella morganii*, *Burkholderia cepacea* e *Rothia spp*).

Seis pacientes (3,3%) apresentaram hemocultura com identificação de estafilococos coagulase negativo sendo considerados como contaminantes. Nas amostras pareadas destes pacientes, o teste molecular resultou negativo. O resultado do teste molecular no grupo controle foi obtido apenas no final do estudo.

Quadro 4 - Descrição dos micro-organismos identificados nas 56 amostras positivas dos pacientes incluídos no estudo

Micro-organismos	Método de detecção e identificação			Total
	Teste molecular	Hemocultura	Teste molecular e Hemocultura	
Incluídos da lista da PCR				
Bactérias gram-negativos				
<i>Enterobacter cloacae/aerogenes</i>	5	-	4	9
<i>Escherichia coli</i>	2	-	1	3
<i>Klebsiella pneumoniae/oxytoca</i>	4	5	7	16
<i>Serratia marcescens</i>	1	-	1	2
<i>Acinetobacter baumannii</i>	-	2	1	3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	-	2	5
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	-	2	3
Bactérias gram-positivos				
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	1	9	15
<i>Staphylococcus coagulase negativo*</i>	-	3	1	4
<i>Streptococcus spp**</i>	1	-	-	1
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	1	-	1
Fungos				
<i>Candida albicans</i>	-	1	-	1
<i>Aspergillus fumigatus</i>	1	-	-	1
Não incluídos na lista da PCR				
<i>Morganella morganii</i>	-	1	-	1
<i>Burkholderia cepacea</i>	-	1	-	1
<i>Rothia spp</i>	-	1	-	1
Número de micro-organismos	23	16	28	67
Número de pacientes	17	11	28	56

*: *Staphylococcus coagulase negativa*: *S. hominis subsp. novobiosepticus*, *S. pasteurii*, *S. warneri*, *S. cohnii subsp. urealyticum*, *S. hominis subsp. hominis*, *S. lugdunensis*, *S. cohnii subsp. cohnii*, *S. capitis subsp. ureolyticus*, *S. capitis subsp. capitis*, *S. caprae*, *S. xylosus*, *S. saprophyticus*. **: *Streptococcus spp*: *S. pyogenes*, *S. agalactiae*, *S. anginosus*, *S. bovis*, *S. constellatus*, *S. cristatus*, *S. gordonii*, *S. intermedius*, *S. milleri*, *S. mitis*, *S. oralis*, *S. parasanguinis*, *S. mutans*, *S. salivarius*, *S. thermophilus*, *S. vestibularis*, *S. viridans*.

4.4 Avaliação dos Pacientes com Detecção e Identificação Microbiológica no Grupo Intervenção e Grupo Controle

4.4.1 Dados microbiológicos

Para a comparação dos desfechos primários e secundários foram considerados somente os casos em que houve identificação do agente etiológico da infecção no sangue [teste molecular positivo no grupo intervenção (n = 19) e hemocultura positiva no grupo controle (n = 25)].

Os micro-organismos identificados no grupo intervenção e no grupo controle estão descritos no Quadro 5.

Quadro 5 - Micro-organismos identificados pelo teste molecular (SF) no grupo intervenção e pela hemocultura no grupo controle

Micro-organismos	Grupo intervenção (Teste molecular positivo)	Grupo controle (Hemocultura positiva)
Bactérias gram-negativo		
<i>Enterobacter cloacae/aerogenes</i>	4	2
<i>Escherichia coli</i>	2	1
<i>Klebsiella pneumoniae/oxytoca</i>	4	7
<i>Serratia marcescens</i>	1	0
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	1
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0	2
<i>Morganella morganii</i> *	-	1
Bactérias gram-positivo		
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	8
<i>Coagulase negative staphylococci</i> **	1	1
<i>Rothia spp</i> *	-	1
Total micro-organismos identificados	21	26
Total de pacientes	19	25

* Micro-organismos não incluídos na lista da PCR; ** O grupo de staphylococci inclui *S. epidermidis* e *S. haemolyticus*.

4.4.2 Sítios de infecção

O principal sítio de infecção foi infecção primária da corrente sanguínea, com 15 (79%) episódios no grupo intervenção e 16 (64%) no grupo controle. Pneumonia foi o segundo foco de infecção mais comum em ambos os grupos, com 3 (16%) episódios no grupo intervenção e 5 (20%) no grupo controle. Endocardite foi responsável por 1 (5%) caso no grupo intervenção e 2 (8%) casos no grupo controle. No grupo controle, ocorreram 2 (8%) episódios de infecção intra-abdominal.

4.4.3 Análise do tratamento antimicrobiano

Em relação à seleção do esquema antimicrobiano empírico, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p = 0.565$). Dos 19 pacientes no grupo intervenção, 14 (74%) receberam terapia empírica com dois antimicrobianos e 5 (26%) receberam três ou mais antimicrobianos associados. No grupo controle, 17 (68%) receberam dois antimicrobianos e 8 (32%) mais de duas drogas associadas como terapia empírica inicial (Tabela 6).

Tabela 6 - Descrição da terapia antimicrobiana empírica inicial no grupo intervenção e grupo controle

Antimicrobianos	Todos Pacientes	Grupo intervenção (Teste molecular positivo) n = 19	Grupo controle (Hemocultura positiva) n = 25	Valor p
Meropenem	32 (73%)	15 (79%)	17 (68%)	0,468*
Piperacilina/Tazobactam	8 (18%)	2 (11%)	6 (24%)	0,710*
Polimixina	10 (23%)	4 (21%)	6 (24%)	> 0,999*
Amicacina	3 (7%)	2 (11%)	1 (4%)	0,570*
Sulfametoxazol-trimetoprim	4 (9%)	0 (0%)	4 (16%)	0,122*
Ciprofloxacina	2 (5%)	1 (5%)	1 (4%)	> 0,999*
Ceftazidima/Cefepima	2 (5%)	1 (5%)	1 (4%)	> 0,999*
Vancomicina	35 (80%)	14 (74%)	21 (84%)	0,467*
Teicoplanina	7 (16%)	5 (26%)	2 (8%)	0,210*
Linezolida	2 (4%)	0 (0%)	2 (8%)	0,498*
Antifúngicos	4 (10%)	1 (5%)	3 (12%)	0,622*
Esquema Antimicrobiano				0,565**
Empírico, n (%)				
1 antimicrobiano	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	
2 antimicrobianos	31 (71%)	14 (74%)	17 (68%)	
3 antimicrobianos	8 (18%)	4 (21%)	4 (16%)	
> 3 antimicrobianos	5 (11%)	1 (5%)	4 (16%)	

*Teste exato de Fisher; ** Teste Mann-Whitney.

4.4.4 Ajuste da terapia antimicrobiana empírica

A terapia empírica inicial foi adequada em 76,5% dos casos no grupo intervenção e 75% no grupo controle, não havendo diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos ($p = 1.000$). O mesmo resultado foi observado em relação ao ajuste, descalonamento e necessidade de ampliação do esquema antimicrobiano nos dois grupos (Tabela 12).

Tabela 7 - Ajuste da terapia antimicrobiana empírica inicial no grupo intervenção e no grupo controle

	Grupo intervenção (Teste molecular positivo) n = 19	Grupo controle (Hemocultura positiva) n = 25	Valor p
Terapia empírica adequada – n (%)	13 (76,5%)	18 (75,0%)	1.000*
Descalonamento antimicrobiano após resultado do teste molecular ou hemocultura – n (%)	17 (89,5%)	21 (84,0%)	0,700**
Necessidade de ampliação do esquema antimicrobiano ≤ 7 dias por piora clínica e/ou laboratorial – n (%)	2 (10,5%)	7 (28,0%)	0,260**
Tempo para o ajuste da terapia antimicrobiana empírica em horas (IIQ)	8 (7-14)	54 (38-75)	< 0,001*
Duração da terapia antimicrobiana em dias, mediana (IIQ)	15 (11-15)	15 (15-16)	0,011*
Duração da terapia antimicrobiana em dias, média (DP)	12 ± 5	15 ± 4	0,039***

* Teste Mann-Whitney; ** Teste exato de Fisher; ***: teste t-student; IIQ: intervalo inter-quartil; DP: desvio padrão.

4.4.5 Consumo dos antimicrobianos no grupo intervenção e no grupo controle

O consumo dos antimicrobianos utilizados no tratamento no grupo intervenção e no grupo controle nos primeiros 14 dias de seguimento está descrito na Tabela 8.

Tabela 8 - Consumo dos antimicrobianos em DOT por 1000 pacientes-dia durante os primeiros 14 dias de tratamento dos pacientes do grupo intervenção e grupo controle

Consumo dos antimicrobianos	Grupo intervenção (Teste molecular positivo) n = 19	Grupo controle (Hemocultura positiva) n = 25	Valor p
DOT - todos antimicrobianos (IIQ)	1429 (1071-2000)	1889 (1357-2563)	0,017*
DOT - todos antimicrobianos com espectro de ação para bactérias gram-positivo	71 (71-1000)	786 (354-1000)	0,013*
DOT - todos antimicrobianos com espectro de ação para bactérias gram-negativo	1000 (786-1429)	1286 (536-1857)	0,427*
DOT - carbapenêmicos	1000 (71-1000)	500 (214-1000)	0,038*

DOT: dia de terapia por 1000 pacientes-dia; * teste de Mann-Whitney; IIQ: intervalo inter-quartil. Todos antimicrobianos com espectro de ação para bactérias gram-negativo: carbapenêmicos, polimixinas, piperacilina/tazobactam, quinolonas, cefalosporinas, aminoglicosídeo, tigeciclina e sulfametoxazol-trimetoprim. Todos antimicrobianos com espectro de ação para bactérias gram-positivo: glicopeptídeos, oxacilina, linezolida e daptomicina.

O consumo de todos os antimicrobianos utilizados no tratamento dos pacientes com identificação microbiológica mensurado pelo DOT foi menor e estatisticamente significante no grupo intervenção quando comparado ao grupo controle [1429/1000 pacientes-dia *versus* 1889/1000 pacientes-dia ($p = 0.017$)], assim como o consumo de antimicrobianos com espectro de ação para bactérias gram-positivo [71/1000 pacientes-dia *versus* 786/1000 pacientes-dia ($p = 0.013$)]. O consumo de antimicrobianos com espectro de ação para bactérias gram-negativo foi semelhante entre os dois grupos [1000/1000 pacientes-dia *versus* 1286/1000 pacientes-dia ($p = 0.427$)], no entanto, o consumo de carbapenêmicos foi maior e estatisticamente significante no grupo intervenção [1000/1000 pacientes-dia *versus* 500/1000 pacientes-dia ($p = 0.038$)].

Dos 19 pacientes no grupo intervenção com teste molecular positivo, foram identificadas 16 bactérias gram-negativo em 15 pacientes (quatro *Enterobacter cloacae/aerogenes*, quatro *Klebsiella pneumoniae/oxytoca*, duas *E. coli*, uma *Serratia marcescens*, quatro *Pseudomonas aeruginosa*, um *Acinetobacter baumannii*) e cinco bactérias gram-positivo em quatro pacientes (quatro *Staphylococcus aureus* e um *Staphylococcus coagulase negativa*). Dos 19 pacientes, 15 (79%) receberam terapia empírica inicial com carbapenêmico. Após o resultado do teste molecular e da hemocultura, somente em sete pacientes foi possível compor um esquema antimicrobiano final sem carbapenêmico (quatro pela identificação de bactérias gram-positivo e três conforme perfil de sensibilidade) (Anexo G).

Dos 25 pacientes no grupo controle, foram identificadas 16 bactérias gram-negativo em hemocultura (sete *Klebsiella pneumoniae*, duas *Enterobacter aerogenes*, duas *Acinetobacter baumannii*, duas *Stenotrophomonas maltophilia*, uma *E. coli*, uma

Morganella morganii, uma *Pseudomonas aeruginosa*) e 10 bactérias gram-positivo (oito *Staphylococcus aureus*, um *Staphylococcus* coagulase negativa e uma *Rothia spp*). Dos 25 pacientes deste grupo, 17 (68%) iniciaram terapia empírica com carbapenêmico. Após o resultado final da hemocultura, somente cinco pacientes permaneceram em uso de carbapenêmico conforme o resultado do perfil de sensibilidade (Anexo H).

4.4.6 Custo direto dos antimicrobianos utilizados no tratamento no grupo intervenção e grupo controle

Não houve diferença estatisticamente significativa no custo direto total dos antimicrobianos utilizados nos dois grupos ($p = 0,804$). O custo direto do tratamento para bactérias gram positivo foi menor no grupo intervenção em relação ao grupo controle ($p = 0,004$) (Tabela 9).

Tabela 9 - Custo dos antimicrobianos em reais (R\$) durante o tratamento dos pacientes no grupo intervenção e grupo controle (até 14 dias)

Custo dos antimicrobianos	Grupo intervenção (Teste molecular positivo) n = 19	Grupo controle (Hemocultura positiva) n = 25	Valor p
Tratamento para bactérias gram-positivo #	219 (109-1.645)	1645 (384-1.998)	0,004*
Tratamento para bactérias gram-negativo # #	8.811 (721-9.886)	5.098 (2.033-8.960)	0,492*
Custo total (R\$) do tratamento	8.921 (4.275-1.418)	7.769 (3.689-10.581)	0,804*

glicopeptídeos, oxacilina, linezolida e daptomicina. # # carbapenêmicos, polimixinas, piperacilina/tazobactam, quinolonas, cefalosporinas, aminoglicosídeo, tigeciclina e sulfametoxazol-trimetoprim. * Mann-Whitney.

4.4.7 Evolução clínica e laboratorial

Utilizando-se o escore SOFA para avaliação e seguimento das disfunções orgânicas, não foi observada diferença estatisticamente significativa no Δ SOFA (variação do escore entre o dia da inclusão no estudo e o quarto dia de seguimento), no Δ Proteína C Reativa (variação da queda entre o dia da inclusão no estudo e o quarto dia de seguimento) assim como no tempo de internação e na letalidade (Tabela 10).

Tabela 10 - Evolução clínica e laboratorial no grupo intervenção e grupo controle

Variável	Grupo intervenção (Teste molecular positivo) n = 19	Grupo controle (Hemocultura positiva) n = 25	Valor p
Tempo de internação hospitalar em dias, (IIQ)	20 (10-40)	17 (9-31)	0,317**
Δ SOFA	2 (0-3)	2 (0-3)	0,266**
Δ Proteína C Reativa	88,29 \pm 84,47	90,38 + 65,03	0,721***
Letalidade:			
- 10 dias	4 (21,1%)	4 (16%)	0,710*
- 28 dias	7 (36,8%)	11 (44%)	0,632*
- Hospitalar durante internação	8 (42,1%)	16 (64%)	0,149*

IIQ: interval interquartil; * Pearson Chi-Square; ** Mann-Whitney; *** teste t-student

A avaliação da evolução clínica e laboratorial dos pacientes conforme informações fornecidas por uma ficha clínica (Anexo E) foi realizada por três médicos independentes e cegados, classificando a evolução dos pacientes como melhora clínica, piora clínica ou quadro clínico inalterado. Para esta análise foram excluídos dois pacientes no grupo intervenção e um paciente no grupo controle, pois evoluíram a óbito antes do 4º dia de seguimento. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos intervenção e controle ($p = 0,701$), conforme descrito na Tabela 11.

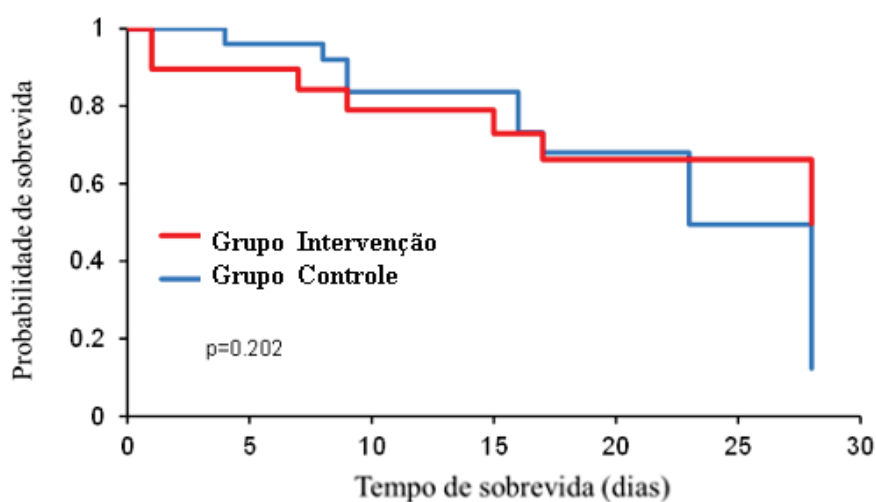
Tabela 11 - Descrição dos resultados dos avaliadores independentes e cegados realizada no final do estudo

	Grupo intervenção (Teste molecular positivo) n = 17	Grupo controle (Hemocultura positiva) n = 24	Valor p
Resultado dos Avaliadores independentes e cegados			
- Melhora clínica/laboratorial	12 (71%)	17 (71%)	0,701
- Piora clínica/laboratorial	1 (6%)	3 (12%)	
- Inalterado	4 (23%)	4 (17%)	

4.5 Análise de Sobrevida

Não houve diferença estatisticamente significativa no tempo de sobrevida dos pacientes nos grupos intervenção e controle no seguimento até 28 dias (Gráficos 1 e 2).

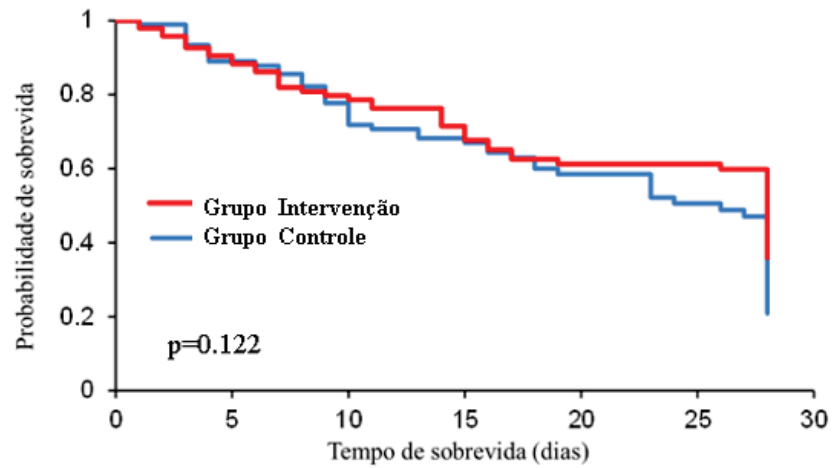
Gráfico 1 - Estimativas por Kaplan Meier do tempo de sobrevida em 28 dias dos pacientes no grupo intervenção com teste molecular positivo e no grupo controle com hemocultura positiva



Pacientes sob risco

Grupo Intervenção	19	17	15	12	10	8
Grupo Controle	25	24	19	18	11	8

Gráfico 2 - Estimativas por Kaplan Meier do tempo de sobrevida em 28 dias de todos os pacientes no Grupo intervenção e grupo controle



Pacientes sob risco

Grupo Intervenção	94	83	70	54	47	47
Grupo Controle	90	80	61	55	39	31

5 DISCUSSÃO

Este estudo foi desenhado com o objetivo de demonstrar como um teste laboratorial novo, destinado à detecção e identificação rápida de micro-organismos no sangue, pode ser utilizado na rotina clínica, modificando conceitos prévios sobre o uso de antimicrobianos na sepse.

Classicamente, os esquemas antimicrobianos empíricos utilizados em pacientes com sepse são compostos por antibióticos de amplo espectro com a finalidade de abranger precocemente todos os prováveis patógenos envolvidos no processo infeccioso. O uso de antimicrobianos inadequados administrados nas primeiras horas do tratamento da sepse está relacionado a elevadas taxas de mortalidade nesta população^{11,62}. Geralmente, o ajuste da terapia antimicrobiana em pacientes com sepse, em especial o descalonamento, está vinculado à identificação do micro-organismo.

Na prática clínica, quando o patógeno responsável pela sepse não é identificado, o esquema antimicrobiano raramente é descalonado, independente da boa evolução clínica e laboratorial. Em muitas situações, a falta de informação sobre o micro-organismo responsável pela infecção associada à gravidade do evento sepse, resulta na ampliação precoce do esquema antimicrobiano empírico, especialmente nos casos onde não há uma resposta imediata à terapia utilizada. Diante deste fato, o uso de técnicas laboratoriais mais sensíveis e rápidas que a hemocultura convencional utilizada para a detecção e identificação de micro-organismos no

sangue, exerceria importante papel no ajuste mais adequado e seguro dos antimicrobianos, resultando em benefício individual e coletivo, especialmente na prevenção da multirresistência^{21,22}.

Este estudo utilizou uma técnica molecular realizada em sangue total, disponível comercialmente no Brasil (LightCycler® SeptiFast), que consiste na detecção e identificação do DNA de bactérias e fungos por meio da reação em cadeia da polimerase em tempo real (PCR-multiplex). A presente casuística demonstrou uma taxa de detecção de micro-organismos semelhante entre os dois métodos utilizados: 25,9% pelo teste molecular e 22,4% pela hemocultura ($p = 0,452$) com sensibilidade de 72% (IC 95%: 55%-84%) e especificidade de 87% (IC 95%: 80%-92%). Em comparação a estudos publicados anteriormente, que tinham por objetivo demonstrar a acurácia deste método molecular, os resultados obtidos foram semelhantes (Quadro 6). Em uma metanálise publicada recentemente por Dark *et al.*³⁵, a sensibilidade observada foi de 68% (IC 95%: 63%-73%) e a especificidade de 86% (IC 95%: 84%-89%).

Quadro 6 - Resultado das principais publicações referentes ao LightCycler® SeptiFast Test comparado à hemocultura

Ano	Autores	N pacientes	Hemocultura positiva (%)	SF positivo (%)	S	E
2008	Louie <i>et al.</i> ⁶³	200	22%	23%	56%	89%
2009	Dierkes <i>et al.</i> ⁶⁴	77	23%	27%	61%	83%
2009	Westh <i>et al.</i> ⁶⁵	359	13%	25%	68%	75%
2010	Tsalik <i>et al.</i> ⁶⁶	263	25%	20%	61%	93%
2013	Herne <i>et al.</i> ⁶⁷	144	21%	34%	88%	99%
2015	Ortiz Ibarra <i>et al.</i> ⁶⁸	86	15%	31%	69%	65%
2016	Dinç <i>et al.</i> ⁶⁹	67	34%	48%	80%	69%

SF: SeptiFast®; S: sensibilidade; E: especificidade

A associação do teste molecular à hemocultura ocasionou um aumento na taxa de identificação do micro-organismo responsável pela sepse de 22,4% para 32,2%. Considerando-se o grande número de casos de sepse ao redor do mundo, este aumento na identificação microbiológica associado a um resultado mais rápido poderá ter um impacto positivo no uso mais adequado e direcionado dos antimicrobianos, contribuindo estrategicamente nos programas de gerenciamento de antimicrobianos⁴⁶.

Yanagihara *et al.*⁷⁰ e Pasqualini *et al.*⁷¹ descreveram que a detecção de micro-organismos pelo LightCycler® SeptiFast (SF) foi superior a hemocultura quando as amostras foram coletadas na vigência de antimicrobianos. Este achado deve-se ao fato de que a detecção de patógenos na hemocultura está restrita a presença de micro-organismos viáveis no sangue, diferente do teste molecular que tem a capacidade de detectar a presença de DNA não viável de micro-organismos⁷². Vários estudos interrogam a valorização da presença de DNA de micro-organismos no sangue como responsável pelo processo infeccioso. Para minimizar a possibilidade de o teste molecular ser positivo e não expressar o agente infeccioso, os pacientes selecionados neste estudo preenchiam no mínimo dois critérios de SIRS e tinham foco infeccioso suspeito. Mesmo com estes cuidados, 16 pacientes foram excluídos da amostra após a randomização, pois o diagnóstico de infecção foi descartado após reavaliação clínica e laboratorial.

Apesar de diversos estudos relatarem uma positividade superior do SF em relação à hemocultura em pacientes em uso prévio de antimicrobianos, este fato não foi observado no presente estudo ($p = 0,452$). Por outro lado, o uso dos dois testes (molecular e hemocultura) identificou, adicionalmente, 23 micro-organismos em 17 pacientes com sepse.

A discordância observada na detecção e identificação entre os dois métodos utilizados foi descrita em estudos prévios^{35,54} e parece ter associação com a presença de inibidores da PCR incluindo mioglobina, IgG, colágeno, heparina ou algumas substâncias antivirais, além da ausência de alguns micro-organismos na lista de detecção do próprio LightCycler® SeptiFast.⁷²

Nos últimos anos, programas de gerenciamento de antimicrobianos têm estimulado o uso de métodos moleculares como um dos mais promissores pilares para a prescrição mais adequada e segura dos antimicrobianos na prática médica⁴⁶. O principal motivo é a rápida detecção do patógeno responsável pela infecção e, conseqüentemente, o ajuste mais precoce do esquema antimicrobiano empírico, evitando o uso prolongado de antibióticos de amplo espectro. No presente estudo, a detecção mais precoce do micro-organismo pelo teste molecular permitiu o ajuste da antibioticoterapia 46 horas antes no grupo SF positivo, levando à redução do tempo total de uso de antibióticos quando comparado ao grupo controle hemocultura positiva ($12,5 \pm 5$ versus 15 ± 4 dias $p = 0,039$).

Estudos prévios sobre descalonamento demonstraram que esta estratégia é segura, mesmo em pacientes com quadro infeccioso grave^{17,18}. No entanto, estes estudos foram realizados com descalonamento direcionado pela identificação do patógeno conforme o resultado de exames de cultura.

Tabah *et al.*⁷³, publicaram em 2016 uma revisão sistemática incluindo dois ensaios clínicos randomizados e 12 estudos de coorte ($n = 2461$ pacientes) avaliando o descalonamento antimicrobiano em várias populações (neutropênicos, UTI, sepse grave, choque séptico) evidenciando uma taxa de descalonamento de 35%-81%. A maior incidência de descalonamento foi observada nos casos com documentação

microbiológica, nos pacientes com terapia empírica inicial adequada, baixos escore de gravidade e com sinais de melhora clínica no momento do resultado das culturas. O descalonamento não reduziu o tempo de internação, os custos do tratamento antimicrobiano, o tempo total em dias de terapia antimicrobiana, mas mostrou um efeito protetor na mortalidade. A identificação de patógenos multirresistentes, infecções polimicrobianas, infecções múltiplas e infecções com alto risco de não identificação do micro-organismo (como topografia intra-abdominal) estiveram associadas a um baixo índice de descalonamento antimicrobiano.

Até o momento, não foram publicados estudos na literatura que avaliassem o descalonamento antimicrobiano precoce baseado na identificação microbiológica por um teste molecular rápido, independente da gravidade, topografia de infecção ou micro-organismo identificado. No presente estudo, o descalonamento no grupo intervenção com SF positivo foi realizado logo após a primeira dose do esquema antimicrobiano empírico, antes de qualquer evidência de resposta ao tratamento, independente da gravidade ou da topografia da infecção. A evolução dos pacientes não foi diferente entre os grupos, sugerindo que esta prática, embora pouco descrita na literatura, seja segura⁷⁴. Além disso, a necessidade de ampliação do esquema antimicrobiano após o descalonamento, por piora clínica ou laboratorial e o tempo de internação hospitalar foi similar nos dois grupos.

Quanto à análise de sobrevida, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos estudados. Estudos publicados anteriormente mostraram uma tendência na diminuição da mortalidade com a estratégia de descalonamento. Recente metáanálise publicada com 23 estudos demonstrou que o descalonamento antimicrobiano não esteve associado a um aumento na mortalidade, mesmo em pacientes graves⁴⁸.

A hipótese inicial de que o descalonamento precoce direcionado pela rápida identificação do micro-organismo responsável pela sepse influenciaria no consumo de antibióticos nesta população foi confirmada pelo presente estudo.

O consumo de todos os antimicrobianos utilizados no tratamento da sepse, nos grupos onde o micro-organismo foi identificado, foi 24% menor no grupo intervenção SF positivo quando comparado ao grupo controle com hemocultura positiva (DOT 1429/1000 pacientes-dia *versus* 1889/1000 pacientes-dia $p = 0,017$). Ao analisar o consumo dos antimicrobianos somente com cobertura para bactérias gram-positivo, também foi observada significativa diminuição do seu uso (DOT 71/1000 pacientes-dia *versus* 786/1000 pacientes-dia $p = 0,013$). Este fato esteve associado à rápida suspensão destes antimicrobianos após a identificação de bactérias gram-negativo no sangue pelo teste molecular.

Por outro lado, o consumo de antimicrobianos para bactérias gram-negativo não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos (DOT 1071/1000 pacientes-dia *versus* 1286/1000 pacientes-dia $p = 0,427$). Nestes pacientes, o esquema antimicrobiano era geralmente composto pela associação de duas ou mais drogas sinérgicas, estratégia utilizada no grupo do presente estudo devido ao alto risco de infecção por enterobactérias multirresistentes nesta população. Nos casos em que a hemocultura concomitante foi positiva, o ajuste antimicrobiano foi realizado conforme o perfil de sensibilidade. Dos 15 pacientes onde o teste molecular rápido identificou bactérias gram-negativo, nove (60%) receberam terapia antimicrobiana combinada. Este fato deve ter contribuído para a ausência de diferença de consumo entre os dois grupos, independentemente da identificação mais precoce do agente pelo teste molecular.

Recentemente, novos testes moleculares rápidos com capacidade de detecção de genes de resistência, especialmente para bactérias gram-negativo, como os genes de carbapenemase blaOXA-48, blaVIM, blaIMP, blaNDM e blaKPC, tornaram-se comercialmente disponíveis. Esses testes podem limitar o uso de esquemas antimicrobianos empíricos com múltiplas drogas, especialmente na demora no resultado ou na ausência dos testes de sensibilidade^{31,75}.

Classicamente, o uso mais restrito de antimicrobianos diminuiria a pressão seletiva sobre o microbioma reduzindo conseqüentemente a emergência de patógenos multirresistentes. O presente estudo não foi desenhado com o objetivo de detectar impacto na prevenção da resistência aos antimicrobianos. No entanto, o ajuste precoce da terapia antimicrobiana com conseqüente diminuição do seu uso é uma das mais importantes estratégias globais na prevenção da multirresistência bacteriana⁷⁶.

Até o momento, este estudo foi o primeiro a avaliar o consumo de antimicrobianos usando um teste molecular rápido para o diagnóstico microbiológico precoce na sepse hospitalar. Os presentes resultados reforçam a ideia de que esta possa ser uma ferramenta útil e promissora no manejo do tratamento da sepse, diminuindo o uso desnecessário e inadequado dos antibióticos e suas conseqüências, melhorando a qualidade e a segurança da assistência ao paciente.

5.1 Limitações do Estudo

A casuística relativamente pequena de casos positivos tanto pela detecção dos micro-organismos pelo teste molecular como pela hemocultura limitou uma análise estatística mais robusta em relação aos desfechos secundários além da realização do estudo incluir um único centro de cardiologia de referência, podendo comprometer a generalização dos achados presentes, frente a uma população diferenciada.

Durante o estudo, observou-se que o LightCycler® SeptiFast, apresentava consideráveis dificuldades técnicas incluindo à necessidade da realização de várias etapas laboratoriais assim como cuidados para a prevenção da contaminação das amostras durante todo o processo, necessitando de uma grande estrutura de área física e de equipe bem treinada. Além da dificuldade técnica descrita acima, para cada bateria de amostra processada, era necessária a realização de um controle interno para validação do método para bactérias gram-negativo, gram-positivo e fungos. Na maioria dos casos, devido ao desenho do estudo, somente a amostra de um único paciente era processada, inviabilizando a disponibilidade de recursos técnicos e financeiros para a utilização do SF na rotina laboratorial. Na ocasião, o SF era o único método laboratorial disponível no Brasil e que atendia ao escopo do presente trabalho. Outra dificuldade foi a indisponibilidade do laboratório de biologia molecular 24 horas por dia, limitando a realização do exame nos finais de semana e no período noturno.

A ausência de detecção de genes de resistência pelo SF, especialmente para bactérias gram-negativo resultou no uso de esquemas antimicrobianos com múltiplas drogas e mais complexos podendo representar um grande problema na era da multirresistência.

6 CONCLUSÕES

- O uso de um teste molecular de detecção rápida de micro-organismos no sangue (PCR multiplex em tempo real) em pacientes com sepse hospitalar reduziu em 24 % o consumo total de antimicrobianos quando comparado ao uso da hemocultura convencional.
- A positividade do teste molecular (SF) foi similar à da hemocultura (25,9% *versus* 22,9% $p = 0,452$) com concordância de 83,9%.
- O tempo de internação hospitalar em dias foi semelhante no grupo intervenção e no grupo controle quando o agente etiológico foi identificado ($p = 0,317$).
- O custo total do tratamento antimicrobiano foi similar no grupo intervenção e no grupo controle quando o agente etiológico foi identificado ($p = 0,804$).
- Não houve diferença estatisticamente significativa na letalidade em 10 e 28 dias no grupo intervenção e no grupo controle quando o agente etiológico foi identificado.

Anexo A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HC - FMUSP

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**I. Dados de Identificação do Sujeito da Pesquisa ou Responsável Legal**

Nome: _____

Documento de identidade nº: _____ Sexo: M F

Data de nascimento: ____/____/____

Endereço: _____ nº: _____

Bairro: _____ Cidade: _____ Estado: _____

Cep: _____ Telefone: () _____ Celular: () _____

Responsável legal: _____

Natureza (grau de parentesco, tutor, curador, etc.): _____

Documento de identidade nº: _____ Sexo: M F

Data de nascimento: ____/____/____

Endereço: _____ nº: _____

Bairro: _____ Cidade: _____ Estado: _____

Cep: _____ Telefone: () _____ Celular: () _____

Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HC - FMUSP

II. Dados sobre a Pesquisa Científica

a) Título do Projeto de Pesquisa

“Avaliação do consumo de antimicrobianos e do tempo de tratamento na sepse hospitalar comparando a utilização da reação da Polimerase em Cadeia em Tempo Real Multiplex à hemocultura convencional para identificação do agente etiológico. Ensaio Clínico Aleatorizado”.

b) Pesquisador Responsável: Dra. Tania Mara Varejão Strabelli

- Cargo / Função: diretora da Unidade de Controle de Infecção Hospitalar do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (InCor-HC-FMUSP).
- Inscrição no Conselho Regional de Medicina nº: 48217

c) Pesquisador Executante: Dra. Cristhieni Rodrigues

- Cargo / Função: médica da Unidade de Controle de Infecção Hospitalar do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (InCor-HC-FMUSP).
- Inscrição no Conselho Regional de Medicina nº: 79099

d) Avaliação do risco da Pesquisa

- Risco mínimo
 Risco baixo
 Risco médio
 Risco maior

e) Duração da Pesquisa

Vinte e quatro meses

Avaliação do risco da Pesquisa

- Risco mínimo
 Risco baixo
 Risco médio
 Risco maior

Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HC - FMUSP

III. Explicações do Pesquisador ao indivíduo ou seu representante legal sobre a pesquisa

Você está sendo convidado (a) a participar de um estudo clínico para avaliar um novo exame laboratorial que auxiliará no diagnóstico de infecções graves no sangue (sepse).

Este documento, chamado de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido possui informações importantes e detalhadas que ajudarão você a decidir sobre a sua participação neste estudo.

Leia cuidadosamente este documento e sinta-se a vontade em fazer quantas perguntas quiser a respeito de sua participação ao médico do estudo ou aos membros da equipe de pesquisa.

Você só deve assinar este termo após ter lido e compreendido os motivos pelo qual este estudo está sendo realizado e ter conhecimento dos riscos, benefícios e procedimentos que serão realizados durante a pesquisa.

A sua participação neste estudo é voluntária. Após ter entendido, e caso você concorde em participar, será solicitado que você assine este documento. Este documento será assinado e datado em duas vias. Uma via ficará com o médico do estudo e a outra será entregue a você.

a) Justificativa e objetivos da pesquisa

A sepse é uma infecção grave no sangue com grande possibilidade de morte, principalmente quando o tratamento com antibióticos demora a ser iniciado (mais de seis horas). O motivo que nos leva a estudar esta doença é a possibilidade de identificarmos mais rapidamente o seu agente causador, através de um novo exame laboratorial, proporcionando um tratamento correto mais rápido, modificando provavelmente a história natural desta doença.

Atualmente o exame laboratorial utilizado para a identificação do agente causador desta infecção é a cultura de sangue, cujo resultado pode demorar até 96 horas para identificar qual a bactéria ou fungo que está causando a infecção. Este novo exame laboratorial tem a capacidade de identificar o agente causador da infecção em aproximadamente 6 horas, diminuindo as chances de erro no tratamento com antibióticos nestes pacientes.

O objetivo desta pesquisa é avaliar o consumo de antibióticos, o tempo de tratamento e a evolução clínica dos pacientes com sepse através da utilização deste novo exame laboratorial, comparando-o ao exame que temos disponível no momento (cultura de sangue).

Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HC - FMUSP

b) Descrição dos procedimentos que serão realizados

Os pacientes que participarão do estudo realizarão os mesmos exames que os pacientes que não participarão desta pesquisa exceto por uma coleta adicional de 5 mililitros de sangue para a realização deste novo teste laboratorial. Esta pesquisa apresentará dois grupos de pacientes que serão sorteados em grupo I e grupo II. O tratamento inicial com antibióticos será o mesmo nos dois grupos. Nos pacientes sorteados para o grupo I, o antibiótico poderá ser alterado conforme o resultado deste novo exame laboratorial (que ocorrerá mais rapidamente, uma vez que este teste é rápido). Já os pacientes sorteados para o grupo II terão seus antibióticos direcionados pela cultura de sangue seguindo as recomendações já existentes no hospital. O resultado do teste coletado do grupo II será divulgado somente no final do estudo.

Todos os pacientes do estudo serão acompanhados pelo médico pesquisador até a alta hospitalar ou 28 dias após a entrada no estudo.

c) Benefícios esperados, Riscos e possíveis Desconfortos

Este novo exame laboratorial além de ser mais rápido, parece identificar um número maior de bactérias e fungos nos pacientes com sepse, quando comparado à cultura de sangue. No entanto, não há estudos anteriores que modifiquem o tratamento de pacientes com sepse conforme o resultado obtido através deste exame laboratorial, não sendo possível garantir quais os reais benefícios que serão obtidos pelos pacientes no final desta pesquisa.

Entretanto, acreditamos que a identificação mais rápida do agente causador da infecção possa auxiliar no uso adequado dos antibióticos, incluindo menor tempo de uso, menores efeitos colaterais, e menor tempo de internação, melhorando assim evolução clínica dos pacientes acometidos por esta infecção.

d) Garantia de esclarecimentos antes e durante o estudo

O médico do estudo lhe informará imediatamente sobre quaisquer descobertas relacionadas a esta pesquisa clínica que possam ter importância para você. Você terá acesso aos resultados dos seus exames em qualquer etapa do estudo e poderá tirar suas dúvidas com o médico responsável.

**Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HC - FMUSP**

Pode ocorrer que o médico do estudo ao receber novas informações ou por algum outro motivo, considere que é importante para você, que sua participação na pesquisa seja encerrada. Neste caso, o médico lhe explicará o motivo e se assegurará que seu tratamento médico seja adequadamente mantido, sem possibilidades de prejuízo algum. De qualquer forma, o estudo só será interrompido após revisão e acordo do Comitê de Ética em Pesquisa que aprovou este estudo, a não ser que problemas sérios de segurança com a utilização deste teste laboratorial ocorram e requeiram sua interrupção imediata.

e) Custos e pagamentos para a participação no estudo

Você não terá custo algum para participar deste estudo. Todos os gastos relacionados ao estudo serão pagos pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

A sua participação neste estudo é voluntária e não haverá nenhum tipo de pagamento pela sua participação.

f) Esclarecimentos adicionais dos pesquisadores

Os pesquisadores responsáveis pelo estudo colocam-se a disposição para esclarecer, a qualquer momento, eventuais dúvidas sobre os procedimentos, riscos e benefícios relacionados à participação neste estudo.

O médico e a equipe do estudo tomarão todas as medidas necessárias para evitar que você sofra algum dano durante sua participação neste estudo. Caso você sofra qualquer dano resultante da sua participação nesta pesquisa, imediato ou tardio, esperado ou não, será oferecido tratamento médico adequado a você.

Enfatizamos que, você tem o direito de se retirar a qualquer momento do estudo, sem que isso resulte em transtornos ou prejuízo no seu tratamento.

O médico do estudo e toda equipe tomarão todos os cuidados necessários para manter seu sigilo e privacidade em relação aos dados confidenciais (aqueles que identifiquem você pessoalmente) envolvidos durante a realização deste estudo. Você não será identificado (a) em nenhuma publicação que possa resultar esta pesquisa.

Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HC - FMUSP

g) Endereços e telefones dos responsáveis pelo seguimento do estudo

Este estudo será conduzido pela Dra. Cristhieni Rodrigues, médica infectologista, assistente da Unidade de Controle de Infecção Hospitalar do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (InCor-HC-FMUSP). Em caso de dúvidas sobre o estudo, você pode entrar em contato com a Dra. Cristhieni Rodrigues na Unidade de Controle de Infecção Hospitalar localizada no 2º. andar do Bloco I do InCor-HC-FMUSP ou pelo telefone (11) 26615358.

h) Observações Complementares

Caso você tenha alguma consideração ou dúvida sobre a ética desta pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovidio Pires de Campos, 225 – 5º andar – telefone: 2661-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 2661-6442 ramal 26 ou pelo e-mail: cappesq@hcnet.usp.br.

IV. Assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Eu, _____

RG _____ fui informado (a) dos objetivos da pesquisa acima de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que em qualquer momento da pesquisa poderei solicitar novas informações tendo a liberdade de permanecer ou me retirar do estudo, sem prejuízo algum. Fui comunicado (a) de que todos os dados desta pesquisa serão confidenciais. Também sei que, caso existam gastos adicionais, estes serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa.

Confirmo que recebi cópia deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e concordo em participar deste estudo e a divulgar os resultados provenientes desta pesquisa.

Assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal

Assinatura do pesquisador

São Paulo, ____/____/____

São Paulo, ____/____/____

Anexo B - Aprovação da Comissão de Ética e Pesquisa para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq)



Hospital das Clínicas da FMUSP
Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
CAPPesq

Nº Protocolo: 0617/11

Título: AVALIAÇÃO DO CONSUMO DE ANTIMICROBIANOS E DO TEMPO DE TRATAMENTO NA SEPSE HOSPITALAR COMPARANDO A UTILIZAÇÃO DA REAÇÃO DA POLIMERASE EM CADEIA EM TEMPO REAL MULTIPLEX À HEMOCULTURA CONVENCIONAL PARA IDENTIFICAÇÃO DO AGENTE ETIOLÓGICO. ENSAIO CLÍNICO ALEATORIZADO.

Pesquisador Responsável: Tania Mara Varejão Strabelli

Pesquisador Executante: cristhieni rodrigues

Co-autores: Roberta Ferreira Mariano, Cecília E. Charbel, Flávia Rossi, Luciane de C. Sarahyba da Silva, Alberto Jose da Silva Duarte, Maria Renata G. Franco, Helio H. Caiaffa Filho.

Departamento: COMISSÃO CIENTÍFICA DO INCOR

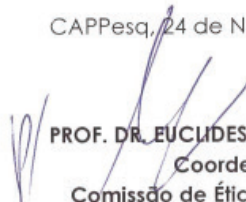
A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, **APROVOU / TOMOU CIÊNCIA** na sessão datada de 23/11/2011, o protocolo acima.

A CAPPesq em obediência à Resolução CNS 196/96, solicita ao pesquisador (a) s elaboração de relatório parcial e final.


No caso de relatório parcial é necessário informar o tempo previsto para a conclusão do protocolo e breve resumo dos resultados obtidos.

CAPPesq, 24 de Novembro de 2011

COMISSÃO CIENTÍFICA
RECEBIDO
30/11/2011
DbaO


PROF. DR. EUCLIDES AYRES DE CASTILHO
Coordenador
Comissão de Ética para Análise de
Projetos de Pesquisa - CAPPesq

Anexo C - Prorrogação da Comissão de Ética e Pesquisa para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq)

	<p>Hospital das Clínicas da FMUSP <i>3655/11/093</i> Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa CAPPesq</p>
<p>Nº Protocolo: 0617/11</p>	
<p>Título: Avaliação do consumo de antimicrobianos e do tempo de tratamento na sepse hospitalar comparando a utilização da reação da Polimerase em Cadeia em Tempo Real Multiplex à hemocultura convencional para identificação do agente etiológico. Ensaio Clínico Aleatorizado.</p>	
<p>Pesquisador Responsável: Tania Mara Varejão Strabelli</p>	
<p>Pesquisador Executante: Crísthieni Rodrigues</p>	
<p>Finalidade Acadêmica: Doutorado</p>	
<p>Disciplina: Cardiologia</p>	
<p>Departamento: COMISSÃO CIENTÍFICA DO InCor</p>	
<p>A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, APROVOU / TOMOU CIÊNCIA na sessão datada de 26/03/2014, do(s) documento(s) abaixo mencionado(s):</p>	
<p>• Carta datada de 06/03/14- solicitação de prorrogação para término do estudo para março de 2018, Relatório Parcial e Comunicado que o estudo será lésse de Doutorado da aluna Crísthieni Rodrigues tendo como orientadora a Dra. Tania Mara Varejão Strabelli.</p>	
<p>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.</p>	
<p>CAPPesq, 26 de Março de 2014</p>	
<p>COMISSÃO CIENTÍFICA RECEBIDO</p>	<p><i>Alfredo Mansur</i> Prof. Dr. Alfredo José Mansur Coordenador</p>
<p><i>29/10/2014</i> <i>Fabiana</i></p>	<p>Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq</p>
<p>Rua Dr. Ovídio Pires de Campos, 225 - Prédio de Administração - 5º andar - CEP 05403-010 - São Paulo - SP. 55 11 2661-7686 - 55 11 2661-6442 ramal: 16, 17, 18 marcia.carvalho@hc.fm.usp.br</p>	

Anexo D - Envelopes de randomização

Paciente 1

Conjunto: 1

Paciente número: 1
Alocação: **GRUPO II**

Realizar a extração do DNA da amostra e armazenar o material

Paciente 4

Conjunto: 1

Paciente número: 4
Alocação: **GRUPO I**

Realizar imediatamente a PCR e liberar o resultado para o médico investigador

Anexo E - Instrumento de coleta de dados

<p style="text-align: center;">INSTRUMENTO PARA COLETA DE DADOS</p> <p>DADOS GERAIS DO PACIENTE - ADMISSÃO HOSPITALAR</p> <p>1. Nome: _____ Registro: _____</p> <p>2. Data de Nascimento: ____/____/____ Idade: ____ Sexo: (1) masculino (2) feminino</p> <p>3. Data da internação no Incor: ____/____/____ Unidade de internação na admissão: () UTI () ENF () PS Se UTI data: ____/____/____</p> <p>4. Causa da internação: _____</p> <p>5. Doenças associadas:</p> <p>() HAS () Dislipidemia () Doença coronariana () IAM prévio () Doença valvar () ICC - Classe funcional (NYHA): () I () II () III () IV Fração de ejeção: ____ % - Perfil: () A () B () C () L () Tabagismo () DPOC () IRC não dialítica () IRC dialítica – tipo: _____ () Diabetes () Outros _____</p>	<p>Grupo: () I () II Número: _____ Data: _____ Horário: _____</p>
<p>DADOS DA INTERNAÇÃO</p> <p>A) DISPOSITIVOS E PROCEDIMENTOS INVASIVOS DURANTE A INTERNAÇÃO</p> <p>() Cateter venoso central () Ventilação mecânica () Sonda vesical de demora () Balão intra-aórtico () Swan-Ganz () Procedimentos hemodinâmicos () Hemodiálise () Diálise peritoneal () Sonda nasoenteral () Nutrição parenteral () Transfusão de sangue ou hemoderivados () Cirurgia – Especificar: _____ Data: ____/____/____ () Outros Procedimentos invasivos: _____</p> <hr/> <p>B) DADOS CLÍNICOS PREVIOS A INCLUSÃO NO ESTUDO</p> <p>6. Se UTI: Apache II: _____ () NR Risco de óbito: ____ %</p> <p>7. Pressão arterial: _____ mmHg Pressão arterial média: _____ mmHg</p> <p>8. Uso de drogas vasoativas: () N () S - Especificar: _____ Dose: ____ Mcg/Kg/min - Especificar: _____ Dose: ____ Mcg/Kg/min - Especificar: _____ Dose: ____ Mcg/Kg/min</p> <p>9. Uso de vasodilatadores: () N () S - Especificar: _____ Dose: _____ - Especificar: _____ Dose: _____ - Especificar: _____ Dose: _____</p>	

10. Uso de imunossupressores: () S () N Qual: _____
11. Infecção nos últimos 15 dias: (N) (S)
- Topografia da infecção: _____
- Micro-organismo isolado: () N () S: _____ Data: ___/___/___
- Uso de antimicrobianos: () N () S:
- Qual: _____ Início: ___/___/___ Término: ___/___/___ Total: _____ dias
- Qual: _____ Início: ___/___/___ Término: ___/___/___ Total: _____ dias
- Qual: _____ Início: ___/___/___ Término: ___/___/___ Total: _____ dias
- Qual: _____ Início: ___/___/___ Término: ___/___/___ Total: _____ dias
12. Colonização por micro-organismo multirresistente: () N () S
- Especificar: _____ Fluido _____
- Especificar: _____ Fluido _____
- Especificar: _____ Fluido _____

DADOS DURANTE A INCLUSAO NO ESTUDO (últimas 24 horas)

- () Febre ($> 38^{\circ}\text{C}$) **OU** () Hipotermia ($< 36^{\circ}\text{C}$)
- () Frequência cardíaca > 90 batimentos por minuto
- () Frequência respiratória > 20 incursões por minuto **OU** () $\text{PaCO}_2 < 32$ mmHg ou ventilação mecânica
- () Leucograma > 12.000 **OU** () < 4000 células por mm^3 **OU** () $> 10\%$ de células imaturas
- () Sepsis: SRIS associada à infecção já diagnosticada ou presumida
- () Sepsis grave: sepsis associada a pelo menos uma disfunção orgânica (cardiovascular, hepática, renal, coagulação ou neurológica) ou hipoperfusão (acidose láctica, oligúria ou alteração aguda do nível de consciência) ou hipotensão (pressão arterial sistólica < 90 mmHg ou queda superior a 40 mmHg da pressão basal)
- () Choque séptico: sepsis grave com utilização de drogas vasoativas a despeito da reposição volêmica adequada
- () Síndrome de disfunção de múltiplos órgãos: alterações orgânicas sistêmicas graves associadas a choque séptico culminando na insuficiência de múltiplos órgãos

13. Febre () S () N Hipotermia () S () N Escala de coma de Glasgow: _____ (3-15)
14. Hipotensão arterial () S () N Pressão arterial: _____ mmHg
15. Necessidade de ventilação invasiva:
- () Não: () Ar ambiente () Cateter/máscara: _____ l/minuto () Ventilação mecânica não invasiva
- () Sim, início: FiO_2 _____ %
- () Sim, manutenção de ventilação anterior: FiO_2 : _____ %
16. Estatina: () S () N Qual: _____ dose: _____
17. Necessidade de () alteração ou () início de drogas vasoativas: () N () S
- Especificar: _____ Dose: _____ Mcg/Kg/min
- Especificar: _____ Dose: _____ Mcg/Kg/min
- Especificar: _____ Dose: _____ Mcg/Kg/min

b) Espécimes coletados para cultura:

- Sangue:

a) Periférica () Não coletada () Sim: número o balão: _____ Hora da coleta: _____

Bacterioscopia: () Negativa () Positiva: _____ Data: ___/___/___ Hora: _____

b) Central () Não coletada () Sim: número o balão: _____ Hora da coleta: _____

Bacterioscopia: () Negativa () Positiva: _____ Data: ___/___/___ Hora: _____

Resultado final: () Negativa () Positiva: _____ Data: ___/___/___ Hora: _____

Observações: _____

- Urina: () Não coletada () Sim: Data: ___/___/___ Resultado: _____

- Cateteres: () Não coletada () Sim: Data: ___/___/___ Resultado: _____

- Secreção respiratória: () Não coletada () Sim: Data: ___/___/___ Resultado: _____

Outros: () N () S Especificar: _____ Data: ___/___/___

Resultado: _____

GRUPO I:

Micro-organismo identificado pelo PCR: () N () S

Especificar: _____

Troca de esquema antimicrobiano direcionado pelo PCR: () N () S

Especificar: _____

Troca de esquema antimicrobiano direcionado pela hemocultura: () N () S

Especificar: _____

Micro-organismo identificado em outro fluido corpóreo: () S () N Data: ___/___/___

Fluido: _____ Micro-organismo: _____

Outra troca de esquema antimicrobiano: () N () S

Motivo: _____

- Data da coleta do PCR: ___/___/___ Hora da coleta: _____ h

- Data do resultado PCR: ___/___/___ Hora do resultado: _____ h

Tempo: _____ min

- Data da entrada do PCR no lab: ___/___/___ Hora entrada: _____ h

- Data do resultado PCR: ___/___/___ Hora do resultado: _____ h

Tempo: _____ min

- Descalonado antibiótico pelo PCR: () N () S

- Data: ___/___/___ Hora: _____ h

Tempo: _____ min

- Bacterioscopia da hemocultura: () Negativo () Positivo: _____ Data: _____ Hora: _____ h

- Data da liberação do resultado final da hemocultura: ___/___/___

Tempo: _____ min

GRUPO II:

Micro-organismo identificado na hemocultura: () N () S

Qual: _____

Troca de esquema antimicrobiano direcionado pela hemocultura: () N () S

Especificar: _____

Micro-organismo identificado em outro fluido corpóreo: () S () N Data: ____/____/____

Fluido: _____ Micro-organismo: _____

Outra troca de esquema antimicrobiano: () N () S

Motivo: _____

- Bacterioscopia da hemocultura: () Negativo () Positivo: _____ Data: _____ Hora: _____ h
 - Descalonado antibiótico pela Bacterioscopia: () N () S Data: ____/____ Hora: _____ h

Tempo: _____ min

- Data da liberação do resultado final da hemocultura: ____/____

- Resultado: _____

- Descalonado antibiótico pela Hemocultura: () N () S Data: ____/____ Hora: _____ h

Tempo: _____ min

25. Diarréia por *C. difficile*: () N () S

26. Desfecho: () Alta hospitalar () Alta do seguimento (28 dias) () Óbito até 28 dias () Óbito após 28 dias

Causa: _____

Data: ____/____/____

Anexo F - Ficha de evolução clínica e laboratorial utilizada para a análise dos avaliadores médicos após o término do estudo

Paciente número: 92	Idade: 74 anos	Sexo: feminino	Interação em UTI: sim
Motivo da internação: ICC descompensada + Traqueobronquite		Apache: 20	
Comorbidades: HAS + ICC-CF III + IRC não dialítica			
Inclusão no estudo: choque séptico		Topografia da infecção: Pneumonia associada à ventilação mecânica	

Dados clínicos e laboratoriais do paciente:

	48 horas antes da inclusão no estudo	Dia da inclusão no estudo	96 horas após inclusão no estudo
T. axilar nas últimas 24h $\geq 37,8^\circ\text{C}$	Não	Não	Não
T. axilar nas últimas 24h $< 36^\circ\text{C}$	Não	Não	Não
Hipotensão arterial:			
P. arterial sistólica (PAs) ≤ 90 mmHg OU	Não	Não	Não
Diminuição da PAs de base > 40 mmHg OU	Não	Não	Não
P. arterial média (PAm) \leq ou 70 mmHg	Não	Sim	Não
Uso de drogas vasotivas:			
Dobutamina	(X) Sim: 5 mcg/kg/min	(X) Sim: 5 mcg/kg/min	(X) Sim: 5 mcg/kg/min
Noradrenalina	(X) Não	(X) Sim: 0,2 mcg/kg/min	(X) Não
Ventilação mecânica: () N () S	(X) Sim	(X) Sim	(X) Sim
Qual: () Invasiva FiO ₂ : _____ % () Não invasiva	(X) Invasiva FiO ₂ : 35 % Relação pO ₂ /FiO ₂ : 440	(X) Invasiva FiO ₂ : 60 % Relação pO ₂ /FiO ₂ : 132	(X) Invasiva FiO ₂ : 40 % Relação pO ₂ /FiO ₂ : 192
Suplementação O ₂ por c. nasal: _____			
Relação PaO ₂ /FiO ₂ : _____			
Dados laboratoriais:			
- Leucograma	3110 (74%N)	5920 (84%N)	5740 (81%N)
- Plaquetas	172.000	243.000	259.000
- Bilirrubinas totais	0,5 mg/dl	0,5 mg/dl	Não realizado
- Lactato arterial	14 mg/dl	21 mg/dl	Não realizado
- Creatinina	2,7 mg/dl	2,8 mg/dl	3,4 mg/dl
- Proteína Creativa	184 mg/dl	166 mg/dl	126 mg/dl
SOFA	-	10	6

Parecer do avaliador:

- a) () Paciente com **melhora** do quadro clínico e ou laboratorial
- b) () Paciente com **piora** do quadro clínico e ou laboratorial
- c) () Paciente com **manutenção** do quadro clínico e ou laboratorial (inalterado)
- d) () **Impossível** avaliação com os dados clínicos e laboratoriais fornecidos e desejo mais dados a respeito do paciente. Especificar: _____

Data: ____/____/____

Anexo G - Descrição do ajuste do esquema antimicrobiano empírico no Grupo intervenção (n=19) após o resultado do teste molecular e após o resultado da hemocultura conforme o perfil de sensibilidade

Paciente	Micro-organismo identificado pelo teste molecular	Micro-organismo identificado pela hemocultura	Terapia antimicrobiana empírica	Terapia antimicrobiana ajustada conforme resultado do teste molecular	Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos conforme antibiograma	Terapia antimicrobiana final	Óbito até 10 dias
17	<i>P. aeruginosa</i>	Negativa	MER+VAN+AM	MER+AM	NA	MER + POL	Sim
19	<i>E. aerogenes/cloacae</i>	<i>E. cloacae</i>	MER+VAN+POL	POL	AM, MER, POL	MER	Não
20	<i>K. pneumoniae/oxytoca</i>	Negativa	MER+VAN	MER	NA	MER	Não
38	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa + B. cepacea</i>	MER+VAN+AM	MER	AM, CIP, MER, POL, CEF	CEF	Não
46	<i>A. baumannii</i>	<i>A. baumannii</i>	MER+VAN+POL+FLU	MER+POL	AM, POL, TIG	AM + POL	Sim
49	<i>S. marcescens</i>	<i>S. marcescens</i>	MER+VAN+POL	MER	AM, MER, POL	MER	Não
65	<i>S. coagulase negativo</i>	<i>S. epidermidis</i>	PIP/TAZ+VAN	VAN	VAN, LIN	VAN	Não
87	<i>E. coli</i>	Negativa	MER+VAN	MER	NA	MER	Não
107	<i>E. coli</i>	Negativa	MER+VAN	*	NA	MER+VAN	Sim
117	<i>E. aerogenes/cloacae</i>	Negativa	MER+VAN	*	NA	MER+VAN	Sim
130	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus + E. faecalis</i>	MER+TEI	TEI	VAN/LIN	DAP	Sim
135	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>	MER+VAN	VAN	VAN/LIN/TEI	VAN	Não
138	<i>E. aerogenes/cloacae</i>	Negativa	CEF+TEI	MER + AM	NA	MER + AM	Não
152	<i>K. pneumoniae/oxytoca + S.aureus</i>	Negativa	CIP+VAN	MER+VAN	NA	MER+VAN	Não
162	<i>E. aerogenes/cloacae</i>	<i>E. cloacae + K.pneumoniae</i>	MER+VAN+POL	MER + POL	MER, AM, POL, CEF,	CEF	Não
164	<i>P. aeruginosa</i>	Negativa	MER+TEI	MER	NA	MER	Não
177	<i>P. aeruginosa + K. pneumoniae/oxytoca</i>	<i>K. pneumoniae</i>	MER+VAN	MER+POL	AM, MER, POL	MER	Não
180	<i>K. pneumoniae/oxytoca</i>	<i>K. pneumoniae</i>	MER+TEI	MER	POL	MER + POL	Não
193	<i>S. aureus</i>	Negativa	PIP/TAZ+VAN	VAN	VAN/LIN/TEI	VAN	Não

AM: amicacina, MER: meropenem; POL: polimixina; CIP: ciprofloxacina; TIG: tigeciclina; PIP/TAZ: Piperacilina/tazobactam; VAN: vancomicina; PIP/TAZ: Piperacilina/tazobactam; LIN: linezolida; TEI: teicoplanina; DAP: daptomicina; FLU: fluconazol; NA: não se aplica; *: óbito antes da liberação do resultado do teste molecular

Anexo H - Descrição do ajuste do esquema antimicrobiano empírico no grupo controle (n = 25) após o resultado da hemocultura conforme o perfil de sensibilidade

Paciente	Bactérias identificadas pela Hemocultura	Terapia antimicrobiana empírica	Sensibilidade aos seguintes antimicrobianos	Terapia antimicrobiana após resultado do perfil de sensibilidade	Óbito até 10 dias
1	<i>S. aureus</i>	MER+LIN+POL+FLU	VAN/LIN/TEI	TEI	Sim
2	<i>S. aureus</i>	PIP/TAZ+VAN	OXA	OXA	Não
5	<i>K. pneumoniae</i>	MER+VAN	MER, AM, POL, CEF, CIP	CIP	Sim
23	<i>S. aureus</i>	PIP/TAZ+VAN	VAN/LIN/TEI	VAN	Não
24	<i>M. morgani</i>	MER+LIN+POL+SMT	MER, AM	MER	Não
37	<i>S. aureus</i>	CIP+VAN	OXA	OXA	Não
42	<i>K. pneumoniae</i>	PIP/TAZ+VAN	POL, AM, TIG	POL+AM	Não
53	<i>K. pneumoniae</i>	PIP/TAZ+VAN	MER, AM, POL	MER	Não
69	<i>E. cloacae</i>	MER+VAN	POL	MER+POL+DAP+MIC	Não
77	<i>K. pneumoniae</i>	MER+VAN+SMT	AM+TIG	AM+TIG	Não
92	<i>A. baumannii</i>	MER+TEI+POL+SMT+MIC	POL+TIG	POL	Não
94	<i>K. pneumoniae</i>	MER+VAN	MER, AM, POL, CEF, CIP	CEF	Não
100	<i>S. aureus</i>	PIP/TAZ+VAN	VAN/LIN/TEI	VAN	Não
101	<i>K. pneumoniae + Rothia spp</i>	MER+VAN+AM	AM, TIG	MER+VAN+AM	Não
144	<i>A. baumannii</i>	MER+VAN	POL+TIG	POL	Não
156	<i>S. maltophilia</i>	MER+VAN+POL+MIC	MR	TIG+POL+CEF	Sim
157	<i>S. aureus</i>	MER+VAN+POL	VAN/LIN/TEI	VAN	Não
166	<i>S. maltophilia</i>	MER+VAN+SMT	SMT	MER + SMT	Não
178	<i>S. aureus</i>	MER+VAN	OXA	OXA	Não
185	<i>P. aeruginosa</i>	MER+VAN	MER, AM, CEF, CIP	CIP	Não
186	<i>E. aerogenes</i>	MER+VAN	MER, AM, CEF, CIP	CIP	Não
187	<i>S. epidermidis</i>	MER+TEI+POL	VAN, TEI, LIN	TEI	Sim
190	<i>E. coli</i>	CEF+VAN	MER, AM, CEF, CIP	CEF	Não
194	<i>S. aureus</i>	MER+VAN	VAN, TEI, LIN	VAN	Sim
195	<i>K. pneumoniae</i>	PIP/TAZ+VAN	MER, AM, POL, CEF, CIP	*	Sim

AM: ampicilina, MER: meropenem, POL: polimixina, CIP: ciprofloxacina, TIG: tigeciclina, SMT: sulfametoxazol-trimetoprim; CEF: cefalosporina VAN: vancomicina; PIP/TAZ: Piperacilina/tazobactam; LIN: linezolida; OXA: oxacilina; TEI: teicoplanina; DAP: daptomicina; FLU: fluconazole; MIC: micafungina; *, óbito antes do resultado do perfil de sensibilidade

8 REFERÊNCIAS

1. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med*. 2001;29(7):1303-10.
2. Machado FR, Cavalcanti AB, Bozza FA, Ferreira EM, Angotti Carrara FS, Sousa JL, Caixeta N, Salomao R, Angus DC, Pontes Azevedo LC. The epidemiology of sepsis in Brazilian intensive care units (the Sepsis PREvalence Assessment Database, SPREAD): an observational study. *Lancet Infect Dis*. 2017;17(11):1180-9.
3. Taniguchi LU, Bierrenbach AL, Toscano CM, Schettino GP, Azevedo LC. Sepsis-related deaths in Brazil: an analysis of the national mortality registry from 2002 to 2010. *Crit Care*. 2014;18(6):608.
4. Edbrooke DL, Hibbert CL, Kingsley JM, Smith S, Bright NM, Quinn JM. The patient-related costs of care for sepsis patients in a United Kingdom adult general intensive care unit. *Crit Care Med*. 1999;27(9):1760-7.
5. Sogayar AM, Machado FR, Rea-Neto A, Dornas A, Grion CM, Lobo SM, Tura BR, Silva CL, Cal RG, Beer I, Michels V, Safi J, Kayath M, Silva E. A multicentre, prospective study to evaluate costs of septic patients in Brazilian intensive care units. *Pharmacoeconomics*. 2008;26(5):425-34.

- 6 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.
- 7 Kollef MH, Sherman G, Ward S, Fraser VJ. Inadequate antimicrobial treatment of infections: a risk factor for hospital mortality among critically ill patients. *Chest.* 1999;115(2):462-74.
- 8 Ibrahim EH, Sherman G, Ward S, Fraser VJ, Kollef MH. The influence of inadequate antimicrobial treatment of bloodstream infections on patient outcomes in the ICU setting. *Chest.* 2000;118(1):146-55.
- 9 Zaragoza R, Artero A, Camarena JJ, Sancho S, Gonzalez R, Nogueira JM. The influence of inadequate empirical antimicrobial treatment on patients with bloodstream infections in an intensive care unit. *Clin Microbiol Infect.* 2003;9(5):412-8.
- 10 Harbarth S, Garbino J, Pugin J, Romand JA, Lew D, Pittet D. Inappropriate initial antimicrobial therapy and its effect on survival in a clinical trial of immunomodulating therapy for severe sepsis. *Am J Med.* 2003;115(7):529-35.
- 11 Kumar A, Ellis P, Arabi Y, Roberts D, Light B, Parrillo JE, Dodek P, Wood G, Simon D, Peters C, Ahsan M, Chateau D. Initiation of inappropriate antimicrobial therapy results in a fivefold reduction of survival in human septic shock. *Chest.* 2009;136(5):1237-48.

- 12 Kumar A, Roberts D, Wood KE, Light B, Parrillo JE, Sharma S, Suppes R, Feinstein D, Zanotti S, Taiberg L, Gurka D, Cheang M. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med.* 2006;34(6):1589-96.
- 13 Costelloe C, Metcalfe C, Lovering A, Mant D, Hay AD. Effect of antibiotic prescribing in primary care on antimicrobial resistance in individual patients: systematic review and meta-analysis. *BMJ.* 2010;340:c2096.
- 14 Lin RY, Nuruzzaman F, Shah SN. Incidence and impact of adverse effects to antibiotics in hospitalized adults with pneumonia. *J Hosp Med.* 2009;4(2):E7-15.
- 15 Heenen S, Jacobs F, Vincent JL. Antibiotic strategies in severe nosocomial sepsis: why do we not de-escalate more often? *Crit Care Med.* 2012;40(5):1404-9.
- 16 Shime N, Kosaka T, Fujita N. De-escalation of antimicrobial therapy for bacteraemia due to difficult-to-treat Gram-negative bacilli. *Infection.* 2013;41(1):203-10.
- 17 Garnacho-Montero J, Gutierrez-Pizarra A, Escosca-Ortega A, Corcia-Palomo Y, Fernandez-Delgado E, Herrera-Melero I, Ortiz-Leyba C, Marquez-Vacaro JA. De-escalation of empirical therapy is associated with lower mortality in patients with severe sepsis and septic shock. *Int Care Med.* 2014;40(1):32-40.

- 18 Khasawneh FA, Karim A, Mahmood T, Ahmed S, Jaffri SF, Tate ME, Mehmood M. Antibiotic de-escalation in bacteremic urinary tract infections: potential opportunities and effect on outcome. *Infection*. 2014;42(5):829-34.
- 19 Leone M, Bechis C, Baumstarck K, Lefrant JY, Albanese J, Jaber S, Lepape A, Constantin JM, Papazian L, Bruder N, Allaouchiche B, Bezulier K, Antonini F, Textoris J, Martin C. De-escalation versus continuation of empirical antimicrobial treatment in severe sepsis: a multicenter non-blinded randomized noninferiority trial. *Int Care Med*. 2014;40(10):1399-408.
- 20 Mokart D, Slehofer G, Lambert J, Sannini A, Chow-Chine L, Brun JP, Berger P, Duran S, Faucher M, Blache JL, Saillard C, Vey N, Leone M. De-escalation of antimicrobial treatment in neutropenic patients with severe sepsis: results from an observational study. *Int Care Med*. 2014;40(1):41-9.
- 21 Riedel S, Carroll KC. Early identification and treatment of pathogens in sepsis: molecular diagnostics and antibiotic choice. *Clin Chest Med*. 2016;37(2):191-207.
- 22 Paolucci M, Landini MP, Sambri V. Conventional and molecular techniques for the early diagnosis of bacteraemia. *Int J Antimicrob Agents*. 2010;36 Suppl 2:S6-16.
- 23 Blaschke AJ, Heyrend C, Byington CL, Fisher MA, Barker E, Garrone NF, Thatcher SA, Pavia AT, Barney T, Alger GD, Daly JA, Ririe KM, Ota I, Poritz MA. Rapid identification of pathogens from positive blood cultures by multiplex polymerase chain reaction using the FilmArray system. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2012;74(4):349-55.

- 24 Hensley DM, Tapia R, Encina Y. An evaluation of the advandx Staphylococcus aureus/CNS PNA FISH assay. *Clin Lab Sci*. 2009;22(1):30-3.
- 25 Hall L, Le Febre KM, Deml SM, Wohlfiel SL, Wengenack NL. Evaluation of the Yeast Traffic Light PNA FISH probes for identification of Candida species from positive blood cultures. *J Clin Microbiol*. 2012;50(4):1446-8.
- 26 La Scola B, Raoult D. Direct identification of bacteria in positive blood culture bottles by matrix-assisted laser desorption ionisation time-of-flight mass spectrometry. *PloS one*. 2009;4(11):e8041.
- 27 Seng P, Drancourt M, Gouriet F, La Scola B, Fournier PE, Rolain JM, Raoult D. Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin Infec Dis*. 2009;49(4):543-51.
- 28 Tissari P, Zumla A, Tarkka E, Mero S, Savolainen L, Vaara M, Aittakorpi A, Laakso S, Lindfors M, Piiparinen H, Maki M, Carder C, Huggett J, Gant V. Accurate and rapid identification of bacterial species from positive blood cultures with a DNA-based microarray platform: an observational study. *Lancet*. 2010;375(9710):224-30.
- 29 Aittakorpi A, Kuusela P, Koukila-Kahkola P, Vaara M, Petrou M, Gant V, Maki M. Accurate and rapid identification of Candida spp. frequently associated with fungemia by using PCR and the microarray-based Prove-it Sepsis assay. *J Clin Microbiol*. 2012;50(11):3635-40.

- 30 Beal SG, Ciurca J, Smith G, John J, Lee F, Doern CD, Gander RM. Evaluation of the nanosphere verigene gram-positive blood culture assay with the VersaTREK blood culture system and assessment of possible impact on selected patients. *J Clin Microbiol.* 2013;51(12):3988-92.
- 31 Hill JT, Tran KD, Barton KL, Labreche MJ, Sharp SE. Evaluation of the nanosphere Verigene BC-GN assay for direct identification of gram-negative bacilli and antibiotic resistance markers from positive blood cultures and potential impact for more-rapid antibiotic interventions. *J Clin Microbiol.* 2014;52(10):3805-7.
- 32 Pence MA, McElvania TeKippe E, Burnham CA. Diagnostic assays for identification of microorganisms and antimicrobial resistance determinants directly from positive blood culture broth. *Clin Lab Med.* 2013;33(3):651-84.
- 33 Buchan BW, Allen S, Burnham CA, McElvania TeKippe E, Davis T, Levi M, Mayne D, Pancholi P, Relich RF, Thomson R, Ledebner NA. Comparison of the next-generation Xpert MRSA/SA BC assay and the GeneOhm StaphSR assay to routine culture for identification of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* in positive-blood-culture broths. *J Clin Microbiol.* 2015;53(3):804-9.
- 34 Chang SS, Hsieh WH, Liu TS, Lee SH, Wang CH, Chou HC, Yeo YH, Tseng CP, Lee CC. Multiplex PCR system for rapid detection of pathogens in patients with presumed sepsis - a systemic review and meta-analysis. *PloS one.* 2013;8(5):e62323.

-
- 35 Dark P, Blackwood B, Gates S, McAuley D, Perkins GD, McMullan R, Wilson C, Graham D, Timms K, Warhurst G. Accuracy of LightCycler((R)) SeptiFast for the detection and identification of pathogens in the blood of patients with suspected sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Int Care Med.* 2015;41(1):21-33.
- 36 Bloos F, Sachse S, Kortgen A, Pletz MW, Lehmann M, Straube E, Riedemann NC, Reinhart K, Bauer M. Evaluation of a polymerase chain reaction assay for pathogen detection in septic patients under routine condition: an observational study. *PloS one.* 2012;7(9):e46003.
- 37 Wellinghausen N, Kochem AJ, Disque C, Muhl H, Gebert S, Winter J, Matten J, Sakka SG. Diagnosis of bacteremia in whole-blood samples by use of a commercial universal 16S rRNA gene-based PCR and sequence analysis. *J Clin Microbiol.* 2009;47(9):2759-65.
- 38 Carrara L, Navarro F, Turbau M, Seres M, Moran I, Quintana I, Martino R, Gonzalez Y, Brell A, Cordon O, Diestra K, Mata C, Mirelis B, Coll P. Molecular diagnosis of bloodstream infections with a new dual-priming oligonucleotide-based multiplex PCR assay. *J Med Microbiol.* 2013;62(Pt 11):1673-9.
- 39 Ljungstrom L, Enroth H, Claesson BE, Ovemyr I, Karlsson J, Froberg B, Brodin AK, Pernestig AK, Jacobsson G, Andersson R, Karlsson D. Clinical evaluation of commercial nucleic acid amplification tests in patients with suspected sepsis. *BMC Infect Dis.* 2015;15:199.

-
- 40 Kaleta EJ, Clark AE, Johnson DR, Gamage DC, Wysocki VH, Cherkaoui A, Schrenzel J, Wolk DM. Use of PCR coupled with electrospray ionization mass spectrometry for rapid identification of bacterial and yeast bloodstream pathogens from blood culture bottles. *J Clin Microbiol.* 2011;49(1):345-53.
- 41 MacVane SH, Nolte FS. Benefits of Adding a Rapid PCR-Based Blood Culture Identification Panel to an Established Antimicrobial Stewardship Program. *J Clin Microbiol.* 2016;54(10):2455-63.
- 42 Stevenson M, Pandor A, Martyn-St James M, Rafia R, Uttley L, Stevens J, Sanderson J, Wong R, Perkins GD, McMullan R, Dark P. Sepsis: the LightCycler SeptiFast Test MGRADE(R), SepsiTtest and IRIDICA BAC BSI assay for rapidly identifying bloodstream bacteria and fungi - a systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess.* 2016;20(46):1-246.
- 43 Dellit TH, Owens RC, McGowan JE, Jr., Gerding DN, Weinstein RA, Burke JP, Huskins WC, Paterson DL, Fishman NO, Carpenter CF, Brennan PJ, Billeter M, Hooton TM. Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America guidelines for developing an institutional program to enhance antimicrobial stewardship. *Clin Infect Dis.* 2007;44(2):159-77.
- 44 US Department of Health and Human Services C. Antibiotic resistance Threats in the United States. Atlanta US2013; Available from: <http://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013>.

-
- 45 The 10 x '20 Initiative: pursuing a global commitment to develop 10 new antibacterial drugs by 2020. *Clin Infect Dis*. 2010;50(8):1081-3.
- 46 Barlam TF, Cosgrove SE, Abbo LM, MacDougall C, Schuetz AN, Septimus EJ, Srinivasan A, Dellit TH, Falck-Ytter YT, Fishman NO, Hamilton CW, Jenkins TC, Lipsett PA, Malani PN, May LS, Moran GJ, Neuhauser MM, Newland JG, Ohl CA, Samore MH, Seo SK, Trivedi KK. 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(10):e51-77.
- 47 Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (InCor-HC-FMUSP): Quem somos / Estrutura/ Infraestrutura. [database on the Internet] 2013. Available from: <http://www.incor.usp.br/sites/incor2013/index.php/conheca-estrutura/infra-estrutura>.
- 48 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.
- 49 Kollef MH, Morrow LE, Niederman MS, Leeper KV, Anzueto A, Benz-Scott L, Rodino FJ. Clinical characteristics and treatment patterns among patients with ventilator-associated pneumonia. *Chest*. 2006;129(5):1210-8.
- 50 American Thoracic Society; Infectious Diseases Society of America. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;171(4):388-416.

-
- 51 Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, Bellomo R, Bernard GR, Chiche JD, Coopersmith CM, Hotchkiss RS, Levy MM, Marshall JC, Martin GS, Opal SM, Rubenfeld GD, van der Poll T, Vincent JL, Angus DC. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *Jama*. 2016;315(8):801-10.
- 52 Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest*. 1992;101(6):1644-55.
- 53 Christner M, Rohde H, Wolters M, Sobottka I, Wegscheider K, Aepfelbacher M. Rapid identification of bacteria from positive blood culture bottles by use of matrix-assisted laser desorption-ionization time of flight mass spectrometry fingerprinting. *J Clin Microbiol*. 2010;48(5):1584-91.
- 54 Lehmann LE, Hunfeld KP, Emrich T, Haberhausen G, Wissing H, Hoeft A, Stuber F. A multiplex real-time PCR assay for rapid detection and differentiation of 25 bacterial and fungal pathogens from whole blood samples. *Med Microbiol Immunol*. 2008;197(3):313-24.
- 55 Mussap M, Molinari MP, Senno E, Gritti P, Soro B, Mannelli S, Fabris C. New diagnostic tools for neonatal sepsis: the role of a real-time polymerase chain reaction for the early detection and identification of bacterial and fungal species in blood samples. *J Chemother*. 2007;19 Suppl 2:31-4.

-
- 56 Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med*. 1985;13(10):818-29.
- 57 Vincent JL, Moreno R, Takala J, Willatts S, De Mendonca A, Bruining H, Reinhart CK, Suter PM, Thijs LG. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Int Care Med*. 1996;22(7):707-10.
- 58 Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent JL, Ramsay G. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Int Care Med*. 2003;29(4):530-8.
- 59 Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, Horan TC, Hughes JM. CDC definitions for nosocomial infections, 1988. *Am J Infect Control*. 1988;16(3):128-40.
- 60 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;44(5):664-70.
- 61 Guia Farmacêutico Brasíndice. 20 de agosto de 2016.
- 62 Zasowski EJ, Claeys KC, Lagnf AM, Davis SL, Rybak MJ. Time Is of the Essence: The Impact of Delayed Antibiotic Therapy on Patient Outcomes in Hospital-Onset Enterococcal Bloodstream Infections. *Clin InfectDis*. 2016;62(10):1242-50.

-
- 63 Louie RF, Tang Z, Albertson TE, Cohen S, Tran NK, Kost GJ. Multiplex polymerase chain reaction detection enhancement of bacteremia and fungemia. *Crit Care Med.* 2008;36(5):1487-92.
- 64 Dierkes C, Ehrenstein B, Siebig S, Linde HJ, Reischl U, Salzberger B. Clinical impact of a commercially available multiplex PCR system for rapid detection of pathogens in patients with presumed sepsis. *BMC Infect Dis.* 2009;9:126.
- 65 Westh H, Lisby G, Breyse F, Boddinghaus B, Chomarat M, Gant V, Goglio A, Raglio A, Schuster H, Stuber F, Wissing H, Hoeft A. Multiplex real-time PCR and blood culture for identification of bloodstream pathogens in patients with suspected sepsis. *Clin Microbiol Infect.* 2009;15(6):544-51.
- 66 Tsalik EL, Jones D, Nicholson B, Waring L, Liesenfeld O, Park LP, Glickman SW, Caram LB, Langley RJ, van Velkinburgh JC, Cairns CB, Rivers EP, Otero RM, Kingsmore SF, Lalani T, Fowler VG, Woods CW. Multiplex PCR to diagnose bloodstream infections in patients admitted from the emergency department with sepsis. *J Clin Microbiol.* 2010;48(1):26-33.
- 67 Herne V, Nelovkov A, Kutt M, Ivanova M. Diagnostic performance and therapeutic impact of LightCycler SeptiFast assay in patients with suspected sepsis. *Eur J Microbiol Immunol (Bp).* 2013;3(1):68-76.
- 68 Ortiz Ibarra J, Trevino Valdez P, Valenzuela Mendez E, Limon Rojas A, Lara Flores G, Ceballos Bocanegra A, Morales Mendez I, Fernandez Carrocera L, Covian Molina E, Reyna Figueroa J. Evaluation of the Light-Cycler(R) SeptiFast Test in newborns with suspicion of nosocomial sepsis. *Iran J Pediat.* 2015;25(1):e253.

-
- 69 Dinc F, Akalin H, Ozakin C, Sinirtas M, Kebabci N, Iscimen R, Kelebek Girgin N, Kahveci F. Comparison of blood culture and multiplex real-time PCR for the diagnosis of nosocomial sepsis. *Minerva Anesthesiol.* 2016;82(3):301-9.
- 70 Yanagihara K, Kitagawa Y, Tomonaga M, Tsukasaki K, Kohno S, Seki M, Sugimoto H, Shimazu T, Tasaki O, Matsushima A, Ikeda Y, Okamoto S, Aikawa N, Hori S, Obara H, Ishizaka A, Hasegawa N, Takeda J, Kamihira S, Sugahara K, Asari S, Murata M, Kobayashi Y, Ginba H, Sumiyama Y, Kitajima M. Evaluation of pathogen detection from clinical samples by real-time polymerase chain reaction using a sepsis pathogen DNA detection kit. *Crit Care.* 2010;14(4):R159.
- 71 Pasqualini L, Mencacci A, Leli C, Montagna P, Cardaccia A, Cenci E, Montecarlo I, Pirro M, di Filippo F, Cistaro E, Schillaci G, Bistoni F, Mannarino E. Diagnostic performance of a multiple real-time PCR assay in patients with suspected sepsis hospitalized in an internal medicine ward. *J Clinical Microbiol.* 2012;50(4):1285-8.
- 72 Fernandez-Romero N, Quiles I, Jimenez C, Oliva MO, Rivas B, Mingorance J, Romero-Gomez MP. Use of multiplex PCR in diagnosis of bloodstream infections in kidney patients. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2014;80(2):93-6.
- 73 Tabah A, Cotta MO, Garnacho-Montero J, Schouten J, Roberts JA, Lipman J, Tacey M, Timsit JF, Leone M, Zahar JR, De Waele JJ. A Systematic Review of the Definitions, Determinants, and Clinical Outcomes of Antimicrobial De-escalation in the Intensive Care Unit. *Clin Infect Dis.* 2016;62(8):1009-17.

- 74 Tafelski S, Nachtigall I, Adam T, Bereswill S, Faust J, Tamarkin A, Trefzer T, Deja M, Idelevich EA, Wernecke KD, Becker K, Spies C. Randomized controlled clinical trial evaluating multiplex polymerase chain reaction for pathogen identification and therapy adaptation in critical care patients with pulmonary or abdominal sepsis. *J Int Med Res.* 2015;43(3):364-77.
- 75 Altun O, Almuhayawi M, Ullberg M, Ozenci V. Clinical evaluation of the FilmArray blood culture identification panel in identification of bacteria and yeasts from positive blood culture bottles. *J Clin Microbiol.* 2013;51(12):4130-6.
- 76 World Health Organization. Global action plan on antimicrobial resistance. Geneva: WHO; 2015.

APÊNDICES

Apêndice A - Critérios diagnósticos da Sepse conforme a *Society of Critical Care Medicine (SCCM)* e a *European Society of Critical Care Medicine (ESICM)* - 2016⁵¹

Sepse: Suspeita de infecção associada ao aumento de 2 ou mais pontos no escore SOFA
Choque séptico: Sepse associada à presença de hipotensão com necessidade de drogas vasopressoras para a manutenção da pressão arterial média ≥ 65 mm Hg + lactato ≥ 2 mmol/L mesmo após reposição volêmica adequada

Pontuação SOFA

	0	1	2	3	4
Respiratório: PaO ₂ /FiO ₂ (mmHg)	>400	≤ 400	≤ 300	≤ 200	≤ 100
Renal: Creatinina (mg/dl) Diurese	< 1,2	1,2 - 1,9	2,0 - 3,4	3,5 - 4,9 < 500 ml/dia	≥ 5 < 200 ml/dia
Hepático: Bilirrubina mg/dl)	< 1,2	1,2 - 1,9	2,0 - 5,9	6 - 11,9	≥ 12
Cardiovascular: PAM e drogas	Sem hipotensão	PAM <70	Dopamina ≤ 5 Dobutamina	Dopamina > 5 NA < 0,1	Dopamina > 15 NA > 0,1
Hematológico: Plaquetas	> 150.000	≤ 150.000	≤ 100.000	≤ 50.000	≤ 20.000
Neurológico: Escala de Glasgow	15	13 - 14	10 - 12	6 - 9	< 6

PAM: pressão arterial média; Dopamina, NA= noradrenalina/adrenalina (dose: mcg/Kg/min)
SOFA: Sepsis-related Organ Failure Assessment

Apêndice B - LightCycler® SeptiFast

Método: detecção de DNA bacteriano e fúngico por PCR em tempo real.

Princípio: lise mecânica, purificação e amplificação do DNA alvo em três reações paralelas (bactérias Gram positivos, Gram negativos e Fungos) para detecção e identificação de micro-organismos por sondas de hibridização específicas. Produção de resultados através da análise de picos de dissociação.

Após extração do DNA, a região ITS é amplificada por PCR Real-time utilizando Taq “hot start” e detectada por sonda HybProbe marcadas com fluorescência. A diferenciação das espécies bacterianas e fúngicas são determinadas pela temperatura de Melting efetuando uma análise da curva de dissociação.

Descrição da Técnica

Preparo das amostras e controles, extração, validação da corrida e interpretação dos resultados foram realizados conforme orientação do fabricante.

Fabricante

Roche Molecular Diagnostics

Kits

1. Septifast Lys Kit Mgrade - Cat nº 04404432001

Conservação: Temperatura ambiente na Sala Septifast

2. Septifast Prep Kit Mgrade - Cat nº 04404459001

Conservação: Temperatura ambiente na Sala Septifast

3. LightCycler Septifast Kit - Cat nº 04469046001

Conservação: Refrigerador 001/30 e 0011/002 temperatura -15° a -25°C

4. Controle de extração (Sangue de carneiro contaminado com *S.aureus*)

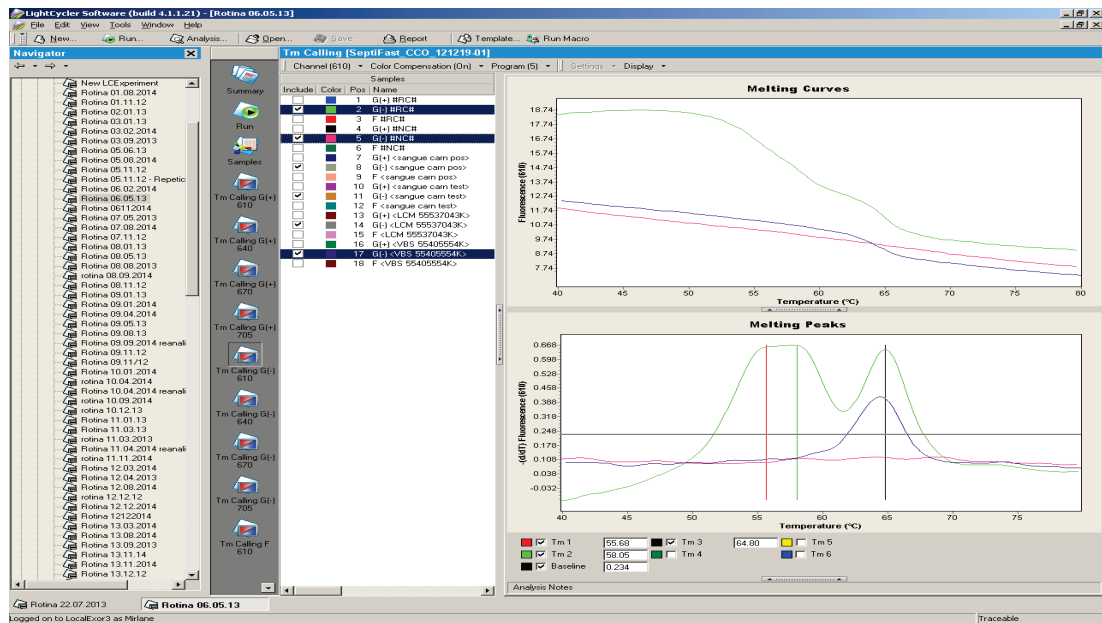
Preparo manual

Conservação: Freezer 002/001 -70° a -90°

Exemplos de amostras positivas pela técnica da PCR

Curva de Dissociação

Acinetobacter baumannii



Staphylococcus coagulase negativa

