



## Avaliação da Tendência da Resistência Antimicrobiana da Bactéria *Staphylococcus* spp..

Juliana Gardelli<sup>1</sup> e Josmar Mazucheli<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup> Programa de Bioestatística / Universidade Estadual de Maringá

### RESUMO

Desde 2011, com o início do projeto “Vigilância Epidemiológica de Bactérias Multirresistentes no Hospital Universitário Regional de Maringá”, instituiu-se a coleta de culturas de vigilância para avaliar a resistência bacteriana a antibióticos por meio de isolados testados pelo Sistema Automatizado *Phoenix BD*. Este sistema determina a Concentração Inibitória Mínima (CIM) de uma gama de antimicrobianos testados para uma determinada bactéria. Esta CIM pode ser usada para dicotomizar os dados em isolados “sensíveis” ou “resistentes”. Neste trabalho são utilizadas metodologias estatísticas para a análise de tendências temporais de resistência da bactéria *Staphylococcus* spp.. Para os dados dicotomizados são realizados testes de tendência de Cochran-Armitage, teste de Cochran-Mantel-Haenszel, e os resultados são comparados com os de um Modelo de Regressão Logística.

**Palavras chave:** Testes de Tendência de Cochran-Armitage, Teste de Cochran-Mantel-Haenszel, Regressão Logística..

## 1 INTRODUÇÃO

O monitoramento da resistência antimicrobiana é um processo de coleta, análise e relato de dados, específico e contínuo, que, entre outros, visa identificar tendências temporais na ocorrência de resistência a antimicrobianos (AERTS; FAES; NYSEN, 2011).

De acordo com estes autores, o objetivo mais geral da análise de tendências da resistência antimicrobiana é discernir se o nível de resistência aumentou ou diminuiu ao longo do tempo. E ainda, se tiver aumentado ou diminuído, com que rapidez ou lentidão isto ocorreu.

Os testes de suscetibilidade *in vitro* são utilizados para determinar as concentrações de um agente antimicrobiano que impede o crescimento das bactérias de interesse (CORTINHAS et al., 2013).

Segundo Rollo (2011) a Concentração Inibitória Mínima (CIM), pode ser utilizada para determinar a proporção de isolados resistentes dentre o número total de isolados testados para cada agente antimicrobiano. Representados desta forma, os dados são caracterizados como “susceptíveis” ou “resistentes” e são analisados como dados qualitativos ou categóricos.

Os dois órgãos internacionais de maior influência na determinação dos limiares de suscetibilidade ou resistência para cada combinação bactéria/antimicrobiano, são *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) < [http : //www.eucastr.org/](http://www.eucastr.org/) > e o *Clinical & Laboratorial Standards Institute* (CLSI, 2016). Neste trabalho são considerados os valores determinados pelo CLSI para o ano de 2017.

Segundo Aerts, Faes e Nysen (2011) a tendência temporal em dados qualitativos pode ser examinada pelo teste de tendência de Cochran-Armitage, que é baseado numa regressão linear ponderada das proporções binomiais nos escores dos níveis da variável explicativa. Este teste é equivalente ao teste Cochran-Mantel-Haenszel para uma correlação não-zero. O Teste de Cochran-Mantel-Haenszel estratifica a variável resposta por alguma covariável, e testa a homogeneidade das *Odds-Ratio*. A tendência também pode ser testada dentro de um modelo de regressão logística.

A bactéria selecionada para aplicação destes métodos supracitados é a *Staphylococcus* spp.. Segundo Gomes (2013) a espécie *aureus* é a espécie típica e principal patógeno dentre as espécies do gênero. Santos et al. (2007) afirma que essa bactéria foi uma das primeiras a serem controladas com a descoberta dos antibióticos, mas, devido a sua enorme capacidade de adaptação e resistência, tornou-se uma das espécies de maior importância no quadro das infecções hospitalares e comunitárias.

## 2 METODOLOGIA

As placas de TSA, avaliadas entre os anos de 2011 e 2016, para *Staphylococcus* spp. continham até 16 antimicrobianos. Destes 16, foram selecionados apenas os que são primeira ou segunda opção de tratamento desta bactéria (definido pelo CLSI). Após esta primeira seleção foram excluídos os antimicrobianos que não apresentaram resistentes ou que a proporção de resistentes foi irrisória. Assim, foram 790 isolados avaliados para Clindamicina, 898 para Eritrimicina, 946 para Oxacilina, 721 para Penicilina G. e 928 para Tetraciclina.

Em seguida as CIMs foram utilizadas para dicotomizar os isolados de acordo com os valores de corte epidemiológicos (*Breakpoints*) estabelecidos pelo CLSI (2016). Este Instituto utiliza a categoria “intermediários”, mas nos casos de abordagens dicotômicas, como este trabalho, essa categoria é utilizada como “resistentes”, pois as CIMs são superiores aos *Breakpoints*.

### 2.0.1 Teste de Cochran-Mantel-Haenszel (CMH)

Segundo Agresti (2002) este teste é usado para análise de dados estratificados. A variável resposta e a preditora são binárias e são divididas em estratos resultando em  $k$  tabelas  $2 \times 2$  do tipo

	Trat	Não Trat	
Caso	$A_i$	$B_i$	$N_{1i}$
Controle	$C_i$	$D_i$	$N_{2i}$
	$M_{1i}$	$M_{2i}$	$T_i$

A *Odds Ratio* comum para  $k$  tabelas de contingências é definida como  $R = \frac{\sum_{i=1}^k \frac{A_i D_i}{T_i}}{\sum_{i=1}^k \frac{B_i C_i}{T_i}}$ . A Hipótese Nula ( $H_0$ ) deste teste é que não há associação entre o tratamento e o desfecho, ( $R = 1$ ). A Estatística de teste é dada por:  $CMH = \frac{[\sum_{i=1}^k (A_i - \frac{N_{1i} M_{1i}}{T_i})]^2}{\sum_{i=1}^k \frac{N_{1i} N_{2i} M_{1i} M_{2i}}{T_i^2 (T_i - 1)}}$ .

Esta estatística segue uma distribuição assintoticamente  $\chi^2$  sob  $H_0$ . E o valor p significativo indica que a associação entre a variável resposta e a covariável permanece forte após estratificação.

### 2.0.2 Teste de tendência Cochran-Armitage (CA)

O teste de Cochran-Armitage para a tendência, O Teste de Tendência de Cochran-Armitage, (COCHRAN, 1954; ARMITAGE, 1955) é usado na análise de dados categóricos quando o objetivo é avaliar a presença de uma associação entre uma variável com duas categorias e uma variável ordinal com  $k$  categorias. É uma modificação do teste chi-quadrado de Pearson para incorporar uma suspeita de ordenação nos efeitos das  $k$  categorias da segunda variável. Considerando uma tabela do tipo:

	$B_1$	$B_2$	$B_3$	
$A_1$	$R_0(p_{10})$	$R_1(p_{11})$	$R_2(p_{12})$	$R(p_{1.})$
$A_2$	$S_0(p_{20})$	$S_1(p_{21})$	$S_2(p_{22})$	$S(p_{2.})$
	$N_0(p_{.0})$	$N_1(p_{.1})$	$N_2(p_{.2})$	$N$

A estatística de teste é calculada por  $T_{CA} = \sqrt{\frac{N}{R(N-R)}} \frac{N(R_1+2R_2)-R(N_1+2N_2)}{\sqrt{N(N_1+4N_2)-(N_1+2N_2)^2}}$ .

A Hipótese Nula ( $H_0$ ) deste teste é que não há tendência. Sob  $H_0$  a estatística de teste tem distribuição normal assintótica. O valor p unilateral para o teste é calculado como  $P(Z_0 > T)$  se  $T > 0$  ou  $P(Z_0 < T)$  se  $T < 0$  onde  $Z$  tem distribuição normal padrão. O valor p unilateral para o teste é calculado como  $p_2 = P(|Z| > |T|)$ . O Proc Freq SAS (2010) fornece o valor p exato para este teste.

### 2.0.3 Regressão Logística

Um modelo de Regressão Logística é representado por

$$y_{ij} \sim B(n_{ij}, \pi_{ij}) \quad (1)$$

em que

$y_{ij}$  o número de isolados resistentes ao antimicrobiano  $i$ , no tempo  $t_j$ ;

$n_{ij}$ , o número de isolados testados para o antimicrobiano  $i$ , no tempo  $t_j$ ;

$\pi_{ij}$  a probabilidade de um isolado ser resistente ao antimicrobiano  $i$ .

Para vincular a resistência a uma tendência temporal considera-se frequentemente uma função de ligação  $g(\cdot)$ . Muitas funções de ligação podem ser usadas, mas para este tipo de dados as mais usadas são a *logit* e a *probit*. A ligação *logit*, usada neste trabalho, é dada por o logaritmo das chances de probabilidade.

$$g(\pi_{ij}) = \text{logit}(\pi_{ij}) = \ln\left(\frac{\pi_{ij}}{1 - \pi_{ij}}\right) = \beta_0 + \beta_1 t \quad (2)$$

A razão  $\frac{\pi_{ij}}{1 - \pi_{ij}}$  na transformação logit é chamada de *Odds* (Chance), que é definida pela probabilidade de sucesso/probabilidade do fracasso. A função resposta transformada é denominada como função resposta logit, e  $\pi$  é denominada de resposta média logit.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A proporção de isolados resistentes e suscetíveis nos anos avaliados está bem representada pela Figura 1. Os *Breakpoints* estão representados pelas linhas vermelhas. Pontos mais largos correspondem a maiores proporções de isolados com esta CIM.

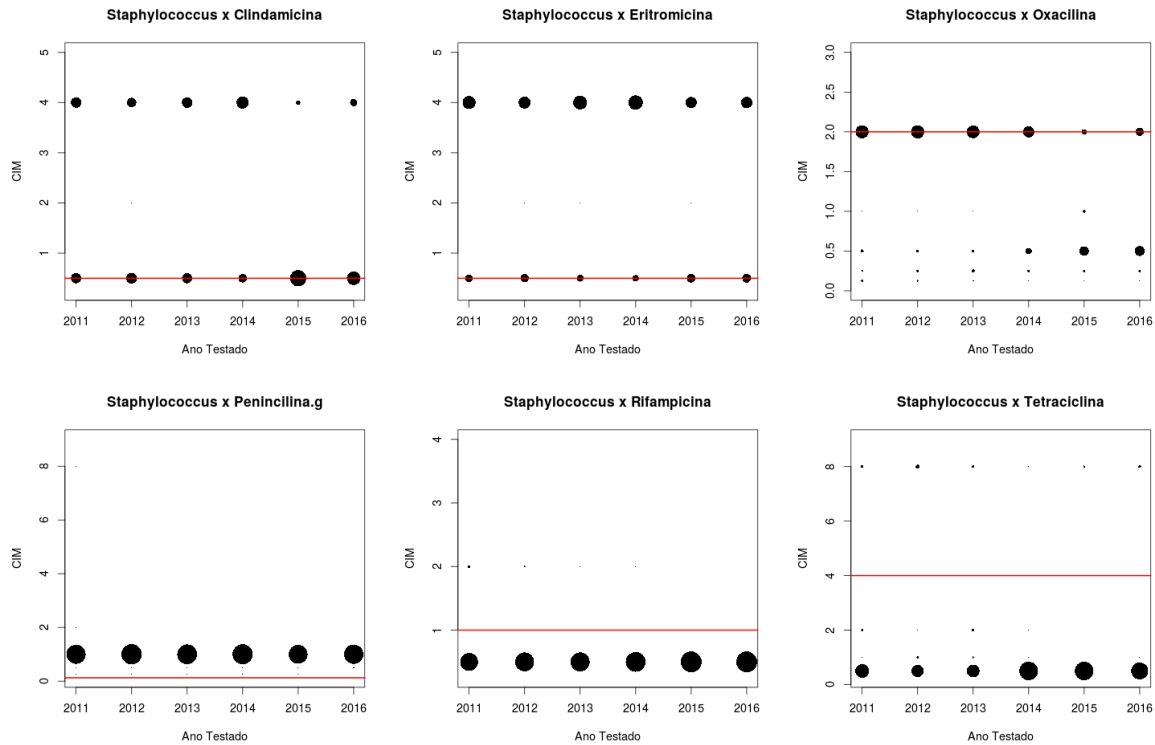


Figura 1: Proporção de Suscetíveis e Resistentes ao longo dos anos em que foram testadas.

Foram aplicados nos 6 antimicrobianos selecionados, os testes de tendência de Cochran-Armitage e de Cochran-Mantel-Haenszel, para os quais foram obtidos os seguintes resultados:

Tabela 1: Testes de Tendência CA e CMH.

Antibióticos	Cochran-Armitage			Cochran-Mantel-Haenszel	
	Estatística Z	p-valor unilateral	p-valor bilateral	Estatística CMH	p-valor
clindamicina	-1,9502	0,0256	0,0511	3,7981	0,0513
eritromicina	-0,2332	0,4078	0,8156	0,0543	0,8157
oxacilina	-5,8444	<.0001	<.0001	34,1161	<.0001
penicilina.g	-0,4168	0,3384	0,6768	0,1734	0,6771
rifampicina	4,8688	<.0001	<.0001	23,6775	<.0001
tetracycline	3,0080	0,0013	0,0026	9,0370	0,0026

Tabela 2: Estimativas dos parâmetros por Regressão Logística.

Antibióticos	Parâmetros	EP	$\chi^2$ Wald	p-valor	OR	IC Wald(95%)
clindamicina	$\beta_0$ : 210,6	244,2	0,7443	0,3883		
	$\beta_1$ : -0,1047	0,1213	0,7451	0,3880	0,901	[0,710 ; 1,142]
eritromicina	$\beta_0$ : 23,2732	146,5	0,0252	0,8738		
	$\beta_1$ : -0,0113	0,0728	0,0243	0,8762	0,989	[0,857 ; 1,140]
oxacilina	$\beta_0$ : 560,1	239,2	5,4826	0,0192		
	$\beta_1$ : -0,2782	0,1188	5,4786	0,0193	0,757	[0,600 ; 0,956]
penicilina.g	$\beta_0$ : 170,3	607,2	0,0786	0,7791		
	$\beta_1$ : -0,0825	0,3016	0,0749	0,7843	0,921	[0,510 ; 1,663]
rifampicina	$\beta_0$ : 1219,5	262,6	21,5651	<0,0001		
	$\beta_1$ : -0,6073	0,1305	21,6503	<0,0001	0,545	[0,422 ; 0,704]
tetracycline	$\beta_0$ : 543,4	343,4	2,5037	0,1136		
	$\beta_1$ : -0,2711	0,1707	2,5243	0,1121	0,763	[0,546 ; 1,065]

## 4 CONCLUSÃO

Pode-se observar nas tabelas acima que para os antibióticos Clindamicina e Tetraciclina os testes (CA) e (CMH) foram significativos, indicando uma tendência de diminuição da resistência CIM com o passar dos anos para o Clindamicina e uma tendência de aumento para o Tetraciclina. Já Eritromicina e Penicilina g. não apresentaram tendências em nenhum dos 3 testes, nem de aumento nem de diminuição da resistência da CIM. Por fim, pode-se observar que para Oxacilina e Rifampicina houve significância nos 3 testes, para o Oxacilina houve uma tendência a diminuição da resistência, enquanto que para o Rifampicina houve um aumento.

## Referências

- AERTS, M.; FAES, C.; NYSEN, R. Development of statistical methods for the evaluation of data on antimicrobial resistance in bacterial isolates from animals and food. *EFSA Supporting Publications*, Wiley Online Library, v. 8, n. 12, 2011.
- AGRESTI, A. *Categorical data analysis*. [S.l.]: Wiley-Interscience,, 2002.
- ARMITAGE, P. Tests for linear trends in proportions and frequencies. *Biometrics*, JSTOR, v. 11, n. 3, p. 375–386, 1955.
- CLSI. Clsi document m100-s26. *Clinical and Laboratory Standards Institute*, 2016.
- COCHRAN, W. G. Some methods for strengthening the common  $\chi^2$  tests. *Biometrics*, JSTOR, v. 10, n. 4, p. 417–451, 1954.
- CORTINHAS, C. S. et al. Minimum inhibitory concentrations of cephalosporin compounds and their active metabolites for selected mastitis pathogens. *American journal of veterinary research*, Am Vet Med Assoc, v. 74, n. 5, p. 683–690, 2013.
- GOMES, M. J. Gênero staphylococcus spp. *LABACVET-URGS-Porto Alegre*, 2013.
- ROLLO, S. N. *Herd-level risk factors associated with antimicrobial susceptibility patterns and distributions in fecal bacteria of porcine origin*. Tese (Doutorado) — Texas A&M University, 2011.
- SANTOS, A. L. dos et al. Staphylococcus aureus: visitando uma cepa de importância hospitalar. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial, v. 43, n. 6, p. 413–423, 2007.
- SAS, I. *SAS/STAT® 9.22 User's Guide*. [S.l.]: Cary, nC: SaS insitute inc, 2010.