

ARTIGO ORIGINAL

Prevalência e perfil de sensibilidade dos microrganismos isolados em aspirado traqueal de pacientes com pneumonia associada à ventilação mecânica em unidade de terapia intensiva*Prevalence and sensitivity profile of microorganisms isolated in tracheal aspirate from patients with mechanical ventilation-associated pneumonia in intensive care unit***Daniela Lima Mendonça^{1,*}, Elisa Vilela Ribeiro¹, Janaína Teixeira Nunes Silva¹**¹Centro Universitário Presidente Tancredo Neves (UNIPTAN), São João del-Rei, Minas Gerais, Brasil

INFORMAÇÕES GERAIS

Recebido em: fevereiro de 2019

Aceito em: outubro de 2019

Palavras-chave:

Bactérias

Cuidados críticos

Pneumonia associada à ventilação mecânica

RESUMO

Objetivo: Analisar a prevalência e perfil de sensibilidade de microrganismos isolados de secreção traqueal de pacientes com pneumonia associada à ventilação mecânica (PAV) em unidade de terapia intensiva, de forma a traçar o perfil epidemiológico e orientar a terapia empírica. **Métodos:** Foi realizado um estudo transversal de prevalência, por meio do levantamento de dados de prontuários de pacientes internados na UTI da Santa Casa de Misericórdia de São João del-Rei no ano de 2016. Inicialmente foram selecionados os pacientes com cultura de secreção traqueal positiva e posteriormente identificados aqueles que se enquadravam no diagnóstico de PAV, conforme critérios da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resultados:** *Pseudomonas aeruginosa* foi a bactéria mais comumente isolada, representando 40%, seguido de *S. aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella sp* (13% cada). *Proteus mirabilis*, *Enterobacter sp* e *Burkholderia cepacia* foram responsáveis por 6,7% cada. *P. aeruginosa* apresentou alguma resistência à ceftazidima (33%) e pouca resistência à cefepime, levofloxacino, ciprofloxacino e meropenem (16%). **Conclusão:** Foi possível observar alta prevalência de bactérias gram-negativas nas PAVs de UTI e elevados níveis de resistência antimicrobiana. Estudos posteriores são necessários para acompanhar esse perfil de resistência, visto tratar-se de um padrão que pode apresentar variação com o decorrer do tempo.

ABSTRACT

Objective: To analyze the prevalence and sensitivity profile of microorganisms isolated from tracheal secretion in patients with mechanical ventilation-associated pneumonia (VAP) in an intensive care unit, in order to outline the epidemiological profile and guide empirical therapy. **Methods:** A cross-sectional prevalence study was conducted by collecting data from medical records of patients admitted to the ICU of Santa Casa de Misericórdia de São João del-Rei in 2016. Initially, patients with positive tracheal secretion culture were selected and later identified those that fit the diagnosis of VAP, according to the criteria of the National Health Surveillance Agency. **Results:** *Pseudomonas aeruginosa* was the most commonly isolated bacterium, representing 40%, followed by *S. aureus*, *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella sp* (13% each). *Proteus mirabilis*, *Enterobacter sp* and *Burkholderia cepacia* accounted for 6.7% each. *P. aeruginosa* showed some resistance to ceftazidime (33%) and little resistance to cefepime, levofloxacin, ciprofloxacin and meropenem (16%). **Conclusion:** It was observed a high prevalence of gram-negative bacteria in ICU VAPs and high levels of antimicrobial resistance. Further studies are needed to follow this resistance profile, as it is a pattern that may vary over time.

CC BY-NC-SA 4.0 2019 RCSHCI

Keywords:

Bacteria

Critical care

Ventilator-associated pneumonia

*** Correspondência:**

Av. Leite de Castro, 1101, Fábricas. São

João del-Rei, Minas Gerais, Brasil

CEP 36301-182

e-mail: lmendoncadani@gmail.com

doi: 10.21876/rcshci.v9i4.845

Introdução

As infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) são definidas como eventos adversos presentes em serviços de saúde. Elevam consideravelmente os custos financeiros principalmente por aumentar o tempo de internação dos pacientes e elevar taxas de morbidade e da mortalidade¹. As pneumonias são responsáveis por cerca de 15% das IRAS e aproximadamente 25% de todas as infecções adquiridas em unidade de terapia intensiva (UTI). A

maioria dessas pneumonias ocorre em pacientes submetidos à ventilação mecânica, sendo denominadas pneumonia associada à ventilação mecânica (PAV)¹.

Estudo conduzido em 99 hospitais brasileiros constatou que a pneumonia foi responsável por 28,9% de todas as infecções relacionadas à assistência e destas, 50% ocorreram em pacientes ventilados mecanicamente². Guimarães e Rocco, ao estudarem 278 pacientes submetidos a ventilação mecânica na UTI de um hospital Universitário do Rio de Janeiro, verificaram que 38,1% deles desenvolveram PAV³.

A mortalidade atribuída à PAV varia entre 24 e 50%, podendo atingir 76% em alguns locais específicos ou quando a infecção é causada por microrganismos de alta virulência e multirresistência⁴. Devido à alta mortalidade da PAV, o diagnóstico e tratamento precoces são essenciais, visando a reduzir a gravidade da doença e melhoria no seu prognóstico⁵. Carvalho et al demonstraram que o tratamento com antibiótico inapropriado constitui fator independente para aumentar a taxa de mortalidade de pacientes com PAV⁶. Portanto, a identificação rápida e precisa do agente etiológico pode interferir no prognóstico dos pacientes.

A coleta da secreção traqueal de pacientes com suspeita de PAV é uma ferramenta fundamental e muito usada para o diagnóstico microbiológico do agente causador dessa infecção. Por se tratar de uma estratégia diagnóstica simples, através de métodos laboratoriais exequíveis, custo-efetiva e relativamente rápida, é uma realidade nas UTIs de boa parte dos hospitais brasileiros⁶. A realização de antibiograma orienta a escolha dos antibióticos que apresentam maior eficácia no controle do microrganismo isolado na secreção traqueal, possibilitando realizar a terapêutica adequada. Portanto, este estudo teve como objetivo determinar a prevalência e perfil de sensibilidade de microrganismos isolados em aspirado traqueal de pacientes com PAV, bem como determinar o perfil epidemiológico dos pacientes internados em UTI durante um ano.

Métodos

O projeto deste estudo foi aprovado em Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São João del-Rei, sob protocolo com número 2.751.604 de 03/07/2018.

O trabalho consistiu num estudo transversal, correspondente ao período de janeiro a dezembro de 2016, de pacientes da UTI adulto da Santa Casa da Misericórdia de São João del-Rei, Minas Gerais, que é um hospital com 158 leitos de internação e 10 leitos de UTI.

Foram analisados os prontuários de pacientes submetidos à ventilação mecânica que apresentaram resultados positivos de cultura bacteriana de secreção traqueal. Posteriormente, foram selecionados os prontuários dos pacientes que se enquadravam no diagnóstico de pneumonia relacionada à assistência à saúde, de acordo com os critérios preconizados pela ANVISA¹, conforme o Quadro 1.

Todos esses critérios foram identificados em um

período de até 7 dias de internação. Foram excluídos da pesquisa os pacientes menores de 18 anos e com tempo de ventilação mecânica inferior a 48 h no momento do diagnóstico.

Quadro 1- Critérios clínicos preconizados pela ANVISA para o diagnóstico de pneumonia relacionada à assistência à saúde, associada ou não à ventilação mecânica¹.

Paciente com doença cardíaca ou pulmonar de base com 2 ou mais radiografias de tórax seriadas, evidenciando infiltrado, opacificação ou cavitação OU pacientes sem doença de base com 1 radiografia com essas alterações
E pelo menos 1 dos sinais e sintomas: <ul style="list-style-type: none"> • Febre > 38 °C • Leucopenia (< 4.000/mm³) ou leucocitose (12.000/mm³); • Alteração do nível de consciência em pacientes ≥70 anos
E pelo menos 2 dos sinais e sintomas <ul style="list-style-type: none"> • Surgimento de secreção purulenta ou mudança das características (cor, odor, consistência e quantidade) ou aumento da secreção; • Piora da troca gasosa (aumento dos parâmetros ventilatórios ou aumento da oferta de oxigênio); • Ausculta com roncosp e/ou estertores; • Início ou piora da tosse ou dispnéia ou taquipnéia.

Para a coleta de dados foi utilizado um instrumento estruturado por meio de planilha eletrônica. A base de dados continha variáveis relacionadas ao sexo, idade, diagnóstico no momento da internação, comorbidades, tempo de uso de ventilação mecânica, tempo de internação, evolução do paciente para óbito ou alta, resultados da cultura e do antibiograma, além dos dados critérios para o diagnóstico de PAV.

A coleta da secreção traqueal foi realizada em pacientes entubados através de sonda de aspiração. Após a coleta, o material foi acondicionado em frasco estéril devidamente identificado e encaminhado para a análise microbiológica do Laboratório de Análises Clínicas Orestes Braga, que presta serviço terceirizado à Santa Casa de Misericórdia de São João del-Rei. O material foi replicado em 4 meios de cultura: tioglicolato (meio seletivo), ágar-sangue (meio não seletivo), MacConkey (seletivo para bactérias gram-negativas) e manitol (seletivo para bactérias gram-positivas). A seguir, as placas e o tioglicolato foram incubados a 33 ± 1 °C por 24 h. Nos casos onde não ocorreu crescimento, houve retorno para a estufa por mais 24 horas. A identificação dos microrganismos na placa de cultura foi realizada através de provas bioquímicas, tamanho e coloração da colônia, hemólise na placa de ágar sangue, forma da colônia, consistência, densidade e odor.

Havendo crescimento, foi feito o antibiograma se a contagem das colônias fosse significativa. Este foi feito utilizando placa de ágar Mueller Hinton, sendo feito um caldo da colônia e realizado seu esgotamento na placa. Após, foram introduzidos os discos de antibiótico a serem testados e, em seguida, a placa foi incubada por 24 h para, só depois desse prazo, ser realizada a leitura dos halos pelo bioquímico responsável.

Resultados

Foram detectados 75 pacientes que apresentavam resultados de culturas positivas. Destes, 13 pacientes (17,3%) preencheram os critérios diagnósticos de PAV. O tempo médio de internação dos pacientes com PAV na UTI foi de 24 dias, sendo o tempo médio de uso de ventilação mecânica de 17 dias. Dos 13 pacientes, oito (61,5%) evoluíram a óbito e cinco obtiveram alta (38,5%). Com relação ao perfil epidemiológico dos pacientes, oito (61,5%) eram do sexo feminino e cinco (38,5%) do sexo masculino. A idade dos pacientes variou de 25 anos a 91 anos, sendo a média de 69 anos. As comorbidades mais frequentemente encontradas foram a hipertensão arterial sistêmica (69%) e diabetes mellitus (23%).

No exame das culturas bacterianas de secreção traqueal dos 13 pacientes com diagnóstico de PAV, foram identificadas 15 bactérias, sendo 13 (86,7%) gram-negativas e duas (13,3%) gram-positivas. Foi observado que 11 pacientes (73,3%) apresentavam infecção por uma bactéria e 2 (26,7%) apresentavam flora mista (duas bactérias isoladas). A prevalência de cada bactéria isolada está descrita na Tabela 1.

Quanto aos antibiogramas, os dois isolados de *S. aureus* apresentavam resistência à oxacilina, sendo então considerados *S. aureus* metilicilino-resistente (MRSA). Considerando o principal agente causador de PAV neste estudo, a *P. aeruginosa* apresentou 33% de resistência à ceftazidima e 16% à levofloxacino, ciprofloxacino, cefepime e meropenem.

Tabela 1 – Bactérias isoladas em cultura de secreção traqueal em pacientes com pneumonia associada a ventilação mecânica na UTI da Santa Casa da Misericórdia, de São João del-Rei, ano de 2016.

Bactérias isoladas	Número de isolados	%
Gram-negativas		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6	40
<i>Acinetobacter baumannii</i>	2	13,3
<i>Klebsiella sp</i>	2	13,3
<i>Burkholderia cepacia</i>	1	6,7
<i>Enterobacter sp</i>	1	6,7
<i>Proteus mirabilis</i>	1	6,7
Subtotal	13	86,7
Gram-positivo		
<i>Staphylococcus MRSA</i>	2	13,3
Total	15	100

Entretanto, todos os isolados foram sensíveis a amicacina e gentamicina. A Figura 1 mostra o perfil de sensibilidade da *P. aeruginosa* para cada antibiótico testado. Em relação às bactérias gram-negativas, 84% apresentaram resistência ao ceftriaxone, 53% à ceftazidima, 38% à levofloxacino, 23% ao cefepime e 15% de resistência ao meropenem. A Tabela 2 evidencia a fração de resistência e a porcentagem de resistência aos antimicrobianos para cada bactéria gram-negativa.

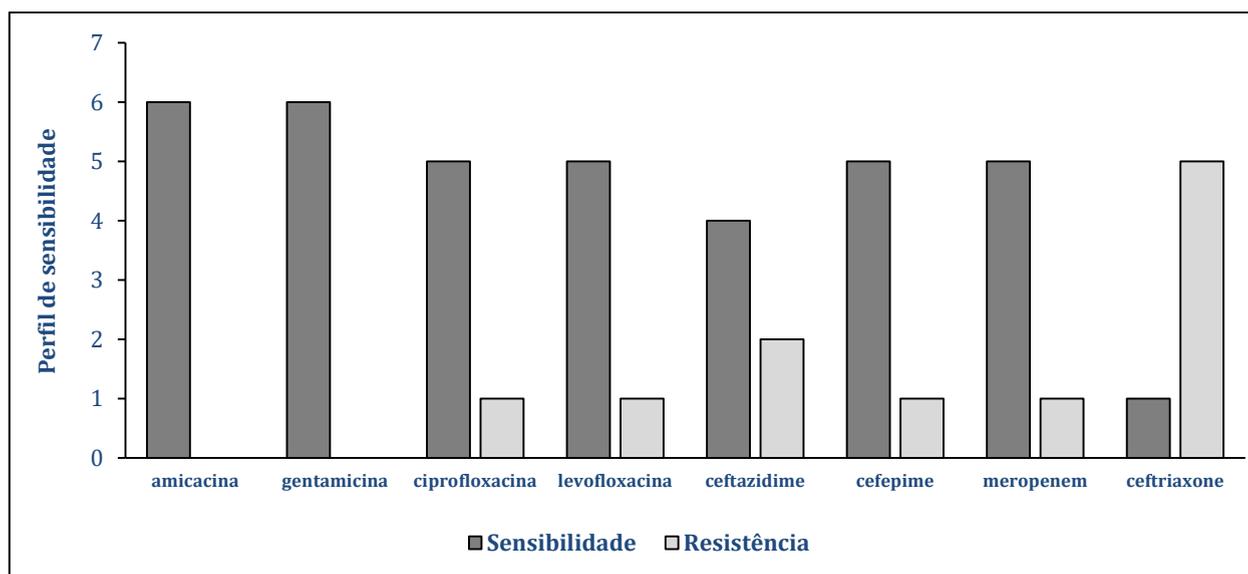


Figura 1 – Perfil de resistência e sensibilidade de *P. aeruginosa* isoladas da cultura da secreção traqueal em pacientes com pneumonia associada a ventilação mecânica na UTI da Santa Casa da Misericórdia, de São João del-Rei, ano de 2016.

Tabela 2 – Resistência antimicrobiana dos patógenos gram-negativos isolados em cultura de secreção traqueal em pacientes com pneumonia associada a ventilação mecânica na UTI da Santa Casa da Misericórdia, de São João del-Rei, ano de 2016.

ESPÉCIES	AMI		GEN		CFX		CTZ		CEP		CIP		LEV		MER	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
<i>Pseudomonas aeruginosas</i>	20/6	00.0	10/6	10.0	15/6	883.3	12/6	333.3	11/6	116.6	11/6	116.6	11/6	116.6	11/6	116.6
<i>Acinetobacter baumannii</i>	20/2	10.0	21/2	150.0	12/2	5100.0	12/2	1100.0	22/2	5100.0	11/2	550.0	11/2	550.0	11/2	550.0
<i>Klebsiella sp</i>	10/2	50.0	00/2	00.0	11/2	550.0	11/2	550.0	00/2	50.0	01/2	050.0	11/2	550.0	00/2	00.0
<i>Burkholderia cepacia</i>	00/1	00.0	00/1	00.0	01/1	1100.0	10/1	00.0	00/1	10.0	00/1	00.0	11/1	1100.0	10/1	00.0
<i>Enterobacter sp</i>	10/1	10.0	11/1	1100.0	01/1	0100.0	01/1	1100.0	11/1	0100.0	00/1	00.0	00/1	00.0	00/1	00.0
<i>Proteus mirabilis</i>	10/1	10.0	00/1	00.0	11/1	1100.0	11/1	1100.0	00/1	10.0	01/1	0100.0	11/1	1100.0	00/1	00.0

AMI, amicacina; GEN, gentamicina; CFX, ceftriaxona; CTZ, ceftazidima; CEP, cefepime; CIP, ciprofloxacina; LEV, levofloxacina; MER, meropenem; N, fração de resistência (numerador é o número de isolados resistentes e denominador é o número total de isolados); %, porcentagem de isolados resistentes.

Discussão

O estudo foi realizado em hospital com UTI que possui somente 10 leitos e levantou dados do período de um ano apenas, o que explica o pequeno número de prontuários analisados. Entretanto, os dados obtidos são importantes por evidenciar o perfil de bactérias causadoras de pneumonia associada a ventilação mecânica na instituição.

O ponto de partida do estudo se deu por meio de 75 culturas positivas de secreção traqueal, o que mostra que relativamente poucos microrganismos foram isolados no período estudado. Este pequeno número pode sinalizar a necessidade de reforçar junto aos médicos assistentes a necessidade de solicitar amostra de secreção traqueal sempre que houver suspeita clínica de PAV. Analisando os prontuários desses pacientes com culturas positivas, somente 13 fecharam os critérios de PAV estabelecidos, o que mostra que grande parte dessas culturas positivas poderiam tratar-se na verdade de colonização, e não infecção. A maior prevalência de pacientes do sexo feminino, o tempo médio de internação elevado (24 dias), além do tempo de uso de ventilação mecânica (17 dias) foram muito parecidos com os do estudo de Lee et al, onde foi descrito prevalência do sexo feminino de 55,1%, tempo médio de internação de 26 dias e tempo médio de ventilação mecânica de 12 dias⁷.

As bactérias gram-negativas foram notadamente mais presentes nos isolados em relação às gram-positivas, achado muito semelhante ao estudo de Teixeira et al que evidenciou 69,2% de gram-negativos e 30,8% de gram-positivos⁸. A principal bactéria isolada nos pacientes com PAV no presente estudo foi a *Pseudomonas aeruginosa*, o que está de acordo mais dois trabalhos já publicados^{3,9}. Outrossim,

foram isolados *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella* e *Staphylococcus aureus*, cada bactéria respondendo por 13,3% dos casos. Artigo publicado por Larrondo em 2010 discorreu sobre a problemática dos gram-negativos não fermentadores como *Pseudomonas* e *Acinetobacter* como causadores de infecções em UTIs de Cuba, sinalizando uma preocupação a nível global com essas bactérias¹⁰. *Acinetobacter* tem sido a bactéria mais comumente isolada em estudos do Rio de Janeiro em 2009 e de Cuba em 2013^{11,12}. Nos Estados Unidos da América (EUA) e Cuba, em 2013, foram encontradas prevalências semelhantes no isolamento de *Klebsiella sp* em PAV, respectivamente de 13 e 15%^{7,12}. Já em relação ao *S. aureus*, mais especificamente aos MRSA, este foi o microrganismo gram-positivo mais comumente isolado nos EUA e em Porto Alegre^{7,8}. O MRSA também tem sido um dos três gram-positivos isolados mais frequentes em outros estudos ocorridos no Rio de Janeiro e em Cuba^{11,12}.

Organismos multirresistente são aqueles resistentes a várias classes de antimicrobianos. Observam-se no presente estudo que boa parte dos isolados gram-negativos apresentavam resistência a diferentes classes de antimicrobianos. Isso também ocorreu no estudo de Teixeira et al, em que 82% dos isolados foram considerados multirresistentes⁸. Porém, a espécie *P. aeruginosa*, mais frequentemente isolada no presente estudo, apresentou um padrão de sensibilidade relativamente confortável, com pouca resistência aos antibióticos comumente usados no tratamento da infecção por esta bactéria.

Interessante explicitar que o protocolo institucional do hospital onde ocorreu o estudo, elaborado pelo Serviço de Controle de Infecção Hospitalar, preconiza como tratamento inicial empírico para PAV os antibióticos cefepime e vancomicina. As bactérias mais frequentemente isoladas apresentaram um bom perfil de

sensibilidade a estas drogas. Portanto, o estudo mostra que a antibioticoterapia empírica proposta pela instituição está adequada à microbiota mais comumente isolada na secreção traqueal de pacientes com PAV.

A letalidade observada nos pacientes do estudo foi muito alta (61,5%), contudo não se sabe se esteve diretamente relacionada à PAV ou à gravidade da doença de base. Rodrigues et al mostraram, no entanto, que a PAV foi um fator de risco independente para mortalidade em UTI¹¹.

Trata-se de um estudo de prevalência que é muito importante no conhecimento da flora local e para guiar a antibioticoterapia empírica até que se tenha acesso aos resultados definitivos da cultura e antibiograma. Porém, este estudo apresenta algumas limitações, como o fato de tratar-se de um estudo retrospectivo, utilizando como fonte de dados a revisão de prontuários de pacientes internados na UTI durante um único ano. Soma-se a isso o fato de tratar-se de estudo unicêntrico, que reflete apenas uma realidade

institucional e o fato de utilizar como antibióticos testados no antibiograma apenas os que são padronizados e utilizados no cotidiano dessa unidade hospitalar.

Estudos posteriores serão necessários para acompanhar os casos de PAV, principalmente quanto aos isolados bacterianos, com os respectivos perfis de resistência, visto tratar-se de um padrão que pode apresentar variação com o decorrer do tempo.

Conclusão

Foi possível observar uma alta prevalência de bactérias gram-negativas em pneumonias associadas a ventilação mecânica, com perfil elevado de resistência aos antimicrobianos testados, tempo prolongado de internação em UTI e alta mortalidade. Entretanto, os resultados apontam para uma compatibilidade entre o perfil de sensibilidade e o protocolo institucional para tratamento das PAVs.

Referências

1. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Medidas de Prevenção de Infecção Relacionadas à Assistência à Saúde. [Internet]. 2017. [cited 2019 Nov 27].
2. Prade SS, Felix J, Mendes A, Gadelha MZ, Pereira M. Estudo brasileiro da magnitude das infecções hospitalares em hospitais terciários. *Rev Controle de Infecção Hospitalar*. 1995;2:11-24.
3. Guimarães M, Rocco J. Prevalência e prognóstico dos pacientes com pneumonia associada a ventilação mecânica em um Hospital Universitário. *J Bras Pneumol*. 2006;32(4):339-46. doi: [10.1590/S1806-37132006000400013](https://doi.org/10.1590/S1806-37132006000400013)
4. Rello J, Ausina V, Ricart M, Castella J, Pratis G. Impact of previous antimicrobial therapy on the etiology and outcome of ventilator-associated pneumonia. *Chest*. 1993;104(4):1230-5. doi: [10.1378/chest.104.4.1230](https://doi.org/10.1378/chest.104.4.1230)
5. Frota ML, Campanharo CRV, Lopes MCBT, Piacuzzi LHV, Okuno MFP, Batista REA, et al. Boas práticas para prevenção de pneumonia associada à ventilação mecânica no serviço de emergência. *Rev Esc Enferm USP*. 2019;53:e0460. doi: [10.1590/s1980-220x2018010803460](https://doi.org/10.1590/s1980-220x2018010803460)
6. Carvalho MVCF, Winkler GFP, Costa FAM, Bandeira TJG, Pereira EDB, Holanda MA. Concordância entre o aspirado traqueal e o lavado broncoalveolar no diagnóstico das pneumonias associadas à ventilação mecânica. *J Bras Pneumol*. 2004;30(1):26-38. doi: [10.1590/S1806-37132004000100007](https://doi.org/10.1590/S1806-37132004000100007)
7. Lee MS, Walker V, Chen LF, Sexton DJ, Anderson DJ. The epidemiology of ventilator-associated pneumonia in a network of community hospitals: a prospective multicenter study. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2013;34(7):657-62. doi: [10.1086/670991](https://doi.org/10.1086/670991)
8. Teixeira PJZ, Hertz FT, Cruz DB, Caraver F, Hallal RC, Moreira JS. Pneumonia associada à ventilação mecânica: impacto da multirresistência bacteriana na morbidade e mortalidade. *J Bras Pneumol*. 2004;30(6): 540-48. doi: [10.1590/S1806-37132004000600009](https://doi.org/10.1590/S1806-37132004000600009)
9. Neto EC, Souza PC, Azevedo F, Lugarinho MF. Pneumonia associada à ventilação mecânica: análise de fatores epidemiológicos na confecção de estratégias de profilaxia e terapêutica. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2006;18(4):344-50. doi: [10.1590/S0103-507X2006000400005](https://doi.org/10.1590/S0103-507X2006000400005)
10. Larrondo Muguercia HM. Infección por bacilos gram- negativos no fermentadores. Problemática en las unidades de cuidados intensivos. *Rev Haban Cienc Med* [Internet]. 2010 [cited 2019 Nov 28]; 9(Supl5):680-7. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2010000500011&lng=es&tng=es
11. Rodrigues PMA, Neto EC, Sanos LRC, Knibel MF. Pneumonia associada à ventilação mecânica: epidemiologia e impacto na evolução clínica de pacientes em uma unidade de terapia intensiva. *J Bras Pneumol*. 2009;35(11):1084-91. doi: [10.1590/S1806-37132009001100005](https://doi.org/10.1590/S1806-37132009001100005)
12. Medell M, Hart M, Duquesne A, Espinosa F, Valdés F. Nosocomial ventilator-associated pneumonia in Cuban intensive care units: bacterial species and antibiotic resistance. *MEDICC Review* [Internet]. 2013 [cited 2019 Nov 28];15(2):26-9. Available from: http://medicreview.org/wp-content/uploads/2018/04/mr_301.pdf

Contribuições dos autores:

Concepção e desenho do estudo: DLM, EVL, JTNS
 Análise e interpretação dos dados: DLM, EVL, JTNS
 Coleta de dados: DLM, EVL
 Redação do manuscrito: DLM, EVL,
 Revisão crítica do texto: JTNS
 Aprovação final do manuscrito: DLM, EVL, JTNS
 Análise estatística: DLM, EVL, JTNS
 Responsabilidade geral pelo estudo: JTNS

Informação de financiamento: não se aplica