

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE *ENTEROCOCCUS* RESISTENTE AOS
GLICOPEPTÍDEOS (VANCOMICINA E TEICOPLANINA) NO HOSPITAL
DE CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA.**

ALEXANDRE RODRIGO COELHO

**UBERLÂNDIA-MG
DEZEMBRO/97**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE *ENTEROCOCCUS* RESISTENTE AOS GLICOPEPTÍDEOS (VANCOMICINA E TEICOPLANINA) NO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA.

ALEXANDRE RODRIGO COELHO
PROF.^o DR. PAULO GONTIJO FILHO

MONOGRAFIA APRESENTADA À COORDENAÇÃO DO CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA, PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE BACHAREL EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS.

UBERLÂNDIA-MG
DEZEMBRO/97

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE *ENTEROCOCCUS* RESISTENTES AOS GLICOPEPTÍDEOS: VANCOMICINA E TEICOPLANINA, NO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA.

ALEXANDRE RODRIGO COELHO

Aprovado pela comissão examinadora em ___/___/___ Média ___

Prof.^oDr. Paulo Gontijo Filho
Orientador

Prof.^a Vivian Reis e Silva Fonseca
Professora da Disciplina de Microbiologia-UFU
Có-orientadora

Dr. Marco Túlio Alvarenga Silvestre
Médico do Setor de Moléstias Infecciosas do HC-UFU
Có-orientador

Uberlândia, ___ de ___ de 1997.

Há uma lenda de um pássaro
que canta uma só vez em sua
vida. O canto mais doce de
qualquer criatura sobre a
Terra. Ao sair do ninho ele
procura uma árvore
espinhosa... e não descansa
até encontrar uma.

E cantando entre os galhos
selvagens... ele se empala no
espinho mais longo e afiado.
Morrendo, ele transcende a sua
própria agonia... com o canto
mais belo que a dos rouxinóis.
E o mundo pára para ouvir...
e Deus no céu sorri.

Pois a vitória só é
alcançada... através
da dor.

Assim diz a lenda.

(Tempos Perdidos)

A Deus, pela força, coragem e
saúde para a realização desse
trabalho;

Aos meus pais, João Coelho e
Elisabeth, e irmãos João Roberto
e Welington, pelo incentivo,
amor e compreensão nos
momentos mais difíceis,
eternamente grato.

Aos meus tios e avó Orcelina,
pelo carinho e apoio durante
essa caminhada.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Dr. Paulo Pinto Gontijo Filho, pelo apoio, direcionamento, paciência e valiosa orientação, para a realização desse trabalho;

À Luizabel, pela paciência, apoio durante os momentos mais difíceis;

Aos técnicos do Laboratório de Microbiologia, Claudete e Ricardo, pela paciência e colaboração para que esse trabalho pudesse ser realizado;

Aos professores, Ângela e Geraldo Melo, pelo incentivo, apoio e contribuição;

À professora Vivian Reis, pelo ensinamento e participação na banca (muito obrigado!);

Ao Dr. Marco Túlio, por aceitar fazer parte da banca

Aos mestrandos, Rosineide Marques Ribas e Geraldo Sadoyama, pela grande paciência, colaboração, ensinamento e amizade, muito contribuíram;

À todas as pessoas do Laboratório de Microbiologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, pela colaboração durante a realização desse trabalho;

Aos responsáveis pelas Enfermarias de Clínicas Médica, Cirúrgica e outras, do Hospital, por permitirem que as coletas fossem feitas;

Aos pacientes que, mesmo em situações difíceis, puderam contribuir para a realização desse trabalho;

Aos colegas Denise, Dircelina, Marcus e Marcos, que se fizeram presentes durante essa caminhada;

Aos amigos João Luis, Jorge, Flávio, Sinésio e Ezimar, pelo apoio durante esses anos.

RESUMO

Foi realizado um estudo de incidência, no período de Fevereiro - Julho de 1997, em pacientes infectados e/ou colonizados por VRE (Vancomycin- Resistant Enterococci), utilizando-se dois sistemas de vigilância: (A) Pacientes em uso de vancomicina internados na enfermaria de Clínica Médica e, (B) Laboratorial, considerando-se os isolados de *Enterococcus* spp obtidos pela rotina do Laboratório de Microbiologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia. A susceptibilidade “*in vitro*” dos enterococos para ampicilina, penicilina, gentamicina, vancomicina e teicoplanina foi determinada pela técnica de difusão em Gel. Níveis altos de resistência para ampicilina, gentamicina e estreptomina foram determinados pela técnica de diluição em Gel. Dos 44 isolados de *Enterococcus faecalis*, um, quatro e oito comportaram-se como resistentes à altas concentrações de ampicilina, estreptomina e gentamicina, respectivamente. Dos 80 pacientes investigados nesse estudo, foram obtidos isolados de VRE de quatro, sendo um, dois e um, caracterizados como fenótipos Van A, Van B e Van C, respectivamente, pela técnica de diluição em Gel (CMI). Quanto à investigação epidemiológica, os dados revelaram diferentes fatores de risco para a colonização por VRE, incluindo o tempo de hospitalização, restrição ao leito e utilização prévia de antimicrobianos, particularmente vancomicina e cefalosporinas. Os resultados obtidos evidenciam a presença de VRE no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, fazendo-se necessária a implantação de políticas de controle no uso de vancomicina e de cuidados com os pacientes para a prevenção da disseminação do microrganismo no ambiente hospitalar.

ÍNDICE

I. INTRODUÇÃO	1
II. OBJETIVO	4
III. CASUÍSTICA E MÉTODOS	5
3.1 - HOSPITAL	5
3.2 - VIGILÂNCIA	5
3.2.1 - Enfermaria	6
3.2.2 - Laboratório	6
3.3 - COLETA DE ESPÉCIMES	6
3.4 - CULTIVO PRIMÁRIO	6
3.5 - IDENTIFICAÇÃO	6
3.6 - ESTOCAGEM DAS AMOSTRAS	7
3.7 - TESTE DE SUSCETIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS	7
3.7.1 - Teste de Difusão em Gel	7
3.7.2 - Teste de Diluição em Gel	7
3.7.3 - Teste de Concentração Inibitória Mínima	8
3.7.4 - Definição dos Fenótipos de Resistência	8
3.8. - ANÁLISE ESTATÍSTICA	9
V. RESULTADOS E DISCUSSÃO	10
VI. CONCLUSÃO	19
VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20
VIII. ANEXOS	23

I - INTRODUÇÃO

As bactérias do gênero *Enterococcus* são cocos Gram positivos, catalase negativas, anaeróbias facultativas e que fazem parte da microbiota das mucosas do cólon e vagina de humanos. As duas espécies predominantes são *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium*, responsáveis por 80 - 90% e 5 - 10% das infecções enterocócicas, respectivamente.^{8,10,12,24}

Atualmente, o *Enterococcus* é um patógeno hospitalar em ascensão, representando o segundo microrganismo mais isolado de infecções urinárias e de feridas cirúrgicas, e o terceiro mais comum em bacteremias nos Estados Unidos.^{2,8,22} A principal justificativa para este aumento é a sua resistência intrínseca (baixos níveis de resistência para clindamicina, penicilina e cefalosporinas), bem como adquirida (eritromicina, cloranfenicol, tetraciclina, glicopeptídeos e altas concentrações de aminoglicosídeos), seja resultante de mutação ou pela transferência de material genético (plasmídeos e transposons).^{8,9,10} Os genes responsáveis pela resistência intrínseca encontram-se no cromossomo e são característicos das espécies.¹⁹ A resistência adquirida pelos enterococos aos glicopeptídeos é mediada por operons complexos que codificam uma via biossintética alternativa, que resulta na produção de um precursor do peptidoglicano, o qual possui menor afinidade pela vancomicina, comparada ao normal. Isto permite que a reação de polimerização para a formação da molécula peptidoglicana da parede celular ocorra sem bloqueio.^{8,21}

No laboratório, a transferência de genes de resistência aos glicopeptídeos já foi observada tanto entre espécies de enterococos¹⁷, quanto para outros microrganismos da microbiota intestinal, tais como: *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), *Staphylococcus coagulase negativo* (CNS), *Corynebacterium jekium*, *Streptococcus spp* e *Listeria monocytogenes*.^{8,16,18,24}

Os enterococos resistentes aos glicopeptídeos são divididos em três classes, Van A, Van B e Van C, baseados no nível de resistência à vancomicina e teicoplanina, e se a resistência é induzida ou constitutiva.^{8,10} As amostras que apresentam o fenótipo Van A possuem um alto nível de resistência, induzida, à vancomicina (MIC=64 a 1000 µg/mL) e teicoplanina (MIC=16 a 512 µg/mL), mediada por plamídeo e transferível para outras bactérias Gram-positivas. O gene responsável pelo alto nível de resistência, codifica uma proteína da membrana citoplasmática com um peso molecular de aproximadamente 39 kDa. Este alto nível de resistência é encontrado principalmente em *Enterococcus faecium*, mas também pode ocorrer em *Enterococcus faecalis*. As amostras da classe Van B mostram resistência moderada (MIC = 4 a 1024 µg/mL), induzida, à vancomicina, mas permanecem susceptíveis (MIC = 0.5 µg/mL), à teicoplanina, devido ao fato de apenas a vancomicina agir como um indutor nesta classe. Esse fenótipo também é transferível, e o gene é provavelmente cromossomial. Tal resistência foi relatada em *E. faecalis* e *E. faecium*.^{8,10,24} As amostras da classe Van C apresentam baixos níveis de resistência à vancomicina (MIC=2 a 32µg/mL), mas são susceptíveis à teicoplanina (MIC=0,5 µg/mL), propriedade esta que é intrínseca na maioria dos isolados de *E. gallinarum*, *E. casseliflavus* e *E. flavescens*.^{3,8,10,15,21,24}

Os mecanismos pelos quais as proteínas da membrana determinam a resistência aos glicopeptídeos não estão definidos. Porém, existem dois mecanismos possíveis existentes: as proteínas da membrana compartilham com os glicopeptídeos na afinidade pela D-alanil-D-alanina, competindo pelo sítio de ligação; ou então, as proteínas modificam a D-alanil-D-alanina em N-acyl-dipeptide, impedindo a ligação com os glicopeptídeos.¹⁰

A vancomicina é um antimicrobiano glicopeptídico constituído de uma cadeia de cinco peptídeos e dois açúcares, vancosamina e glucose, que atua durante a

segunda fase da síntese da parede celular. Esta exige um crescimento ativo da bactéria para manifestar seu efeito.^{14,20}

Um segundo antimicrobiano glicopeptídico, a teicoplanina, vem sendo recentemente fabricado no Brasil e vários outros países. Tal antimicrobiano é estruturalmente similar à vancomicina, mas difere no seu grau e espectro de atuação antibactericida, além de possuir farmacocinética mais favorável e efeitos colaterais diferentes.^{2,18,20}

Como a maioria dos enterococos é tolerante a atividade bactericida dos β lactâmicos e glicopeptídeos, o sinergismo entre um desses antimicrobianos e um aminoglicosídeo se faz necessário para o tratamento de infecções enterocócicas graves, tais como endocardites, meningites, bacteremias e osteomelites.^{6,8,10,16,24}

Os enterococos são isolados de animais domésticos, aves para consumo humano e a partir de esgotos.^{3,8} Contudo, em humanos, o principal sítio para o isolamento desse germe é o trato intestinal.^{10,18}

A transmissão de Vancomycin-Resistant Enterococci (VRE) pode ocorrer por via direta, pessoa a pessoa ou indiretamente, por equipamentos contaminados.^{1,10}

Entre os fatores de risco para a aquisição de VRE, incluem: tratamento com vancomicina, emprego de antimicrobianos múltiplos ou de cefalosporinas,^{8,12,13,18,24} tempo de hospitalização,^{8,18} admissão nas Unidades de Terapia Intensiva (UTI) e oncologia.^{1,18} Para prevenir a disseminação desse microrganismo, o isolamento dos pacientes infectados ou colonizados parece ser o procedimento mais recomendado.^{1,9}

A avaliação da susceptibilidade à altas concentrações de aminoglicosídeos é feita utilizando - se concentrações adequadas desses antimicrobianos pela técnica de diluição em gel, onde os isolados são testados frente a 2000 $\mu\text{g/ml}$ de estreptomicina e 500 $\mu\text{g/mL}$ de gentamicina,^{10,16} utilizando-se um inóculo de 10^6 Unidades Formadoras de Colônias por mililitro (UFC/mL).^{16,24}

II - OBJETIVOS

Avaliar a presença de enterococos resistentes aos antimicrobianos glicopeptídicos (vancomicina e teicoplanina) infectando e/ou colonizando pacientes internados no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia e sua associação com fatores de risco, através de dois sistemas de vigilância;

Caracterizar os fenótipos de resistência para VRE.

III - CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1 - HOSPITAL

O Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia é um hospital terciário, de ensino, que possui cerca de 360 leitos.

3.2 - VIGILÂNCIA

Foi feito um estudo prospectivo dos pacientes selecionados com base nos seguintes sistemas de vigilância, durante o período de Fevereiro a Setembro de 1997:

3.2.1 - Enfermaria

Os pacientes em uso de vancomicina detectados pelo serviço de Farmácia, internados nas diversas enfermarias e unidades foram acompanhados semanalmente. Uma ficha individual (Anexo I) foi preenchida com os dados do paciente.

3.2.2. Laboratório

Os isolados de *Enterococcus* obtidos no laboratório de Microbiologia do Hospital de Clínicas foram subcultivados em ágar estoque em tubos contendo TSB (Trypticase Soy Broth), incubados a 37°C, por 24 horas. Uma ficha individual (Anexo II) foi preenchida com os dados do paciente.

3.3 - COLETA DE ESPÉCIMES

Foram coletadas, semanalmente, fezes dos pacientes incluídos na investigação, através de swab anal.²³

3.4 - CULTIVO PRIMÁRIO

Os espécimes foram inoculados em placas de ágar bile esculina contendo vancomicina, na concentração de 10 µg/mL, seguindo - se incubação à 37°C, por 24 - 48 horas.^{9,23,24}

3.5 - IDENTIFICAÇÃO

As colônias suspeitas foram inicialmente caracterizadas como cocos Gram positivos, através da coloração de Gram, e posteriormente submetidas aos seguintes testes: catalase, tolerância a 6,5% de NaCl em meio TSB e PYR para determinação do gênero; e redução do telurito de potássio em meio TSA (Trypticase Soy Agar) ,

fermentações da arabinose e sorbitol e utilização do piruvato para a identificação a nível de espécie.^{7,9}

Os isolados obtidos através do Laboratório foram reidentificados a nível de espécie.

3.6 - ESTOCAGEM DAS AMOSTRAS

As amostras foram estocadas em ágar estoque sendo mantidas no congelador à -20°C.

3.7 - TESTE DE SUSCETIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS

3.7.1- Teste de Difusão em Gel

Os isolados foram submetidos à técnica de difusão em gel frente aos seguintes antimicrobianos: ampicilina, gentamicina, penicilina, vancomicina e teicoplanina.⁹

As leituras foram realizadas após a incubação à 37°C, por 24 a 48 horas.

A padronização do inóculo foi feita a partir da escala de 0,5 de Mc Farland, que corresponde a uma concentração de 10⁶UFC/mL.¹⁶

Foram utilizadas como controle amostras de *Enterococcus faecalis* (ATCC - 29212) e *Enterococcus faecium* (ATCC - 12805).^{10,16}

3.7.2- Teste de Diluição em Gel

Os testes foram realizados em ágar Muller Hinton, onde o inóculo foi feito a partir de uma suspensão como discutido no ítem anterior, com auxílio de um replicador do tipo Steers, na superfície da placa, contendo gentamicina, estreptomicina e

ampicilina, nas concentrações de 500 µg/mL, 2000 µg/mL e 16 µg/mL, respectivamente.^{9,10}

Foram utilizadas como controle amostras de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Enterococcus faecalis* (CL 445), *Enterococcus faecium* (CL 240) e placas sem antimicrobianos.

3.7.3- Teste de Concentração Mínima Inibitória (CMI)

Os testes foram realizados em meio Muller Hinton, contendo as seguintes concentrações de vancomicina: 1 µg/mL, 2 µg/mL, 4 µg/mL, 8µg/mL, 16 µg/mL, 32 µg/mL, 64 µg/mL, 128 µg/mL; e teicoplanina: 0,25 µg/mL, 0,5 µg/mL, 1 µg/mL, 2 µg/mL, 4 µg/mL, 8 µg/mL, 16 µg/mL, 32 µg/mL, 64 µg/mL.

Foram utilizadas como controle amostras de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Enterococcus faecium* (SS 1274) e placas sem antimicrobianos.

3.7.4 - Definição dos Fenótipos de Resistência

Os isolados obtidos através dos dois sistemas de vigilância foram classificados em Van A, Van B e Van C, quanto ao nível de resistência a vancomicina e teicoplanina, segundo a tabela 1.

Tabela 1 Características dos fenótipos de resistência aos glicopeptídeos em Enterococos.

CARACTERÍSTICA	FENÓTIPOS		
	Van A	Van B	Van C
Vancomicina MIC (µg /mL)	64 a 1000	4 a 1024	2 a 32
Teicoplanina MIC (µg /mL)	16 a 512	≤0.5	≤0.5
Espécies mais freqüentes	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. gallinarum</i>
Determinante gênico	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. casseliflavus</i>
Transferência	Adquirido	Adquirido	Intrínseco
	Sim	Sim	Não

GOLD, Howard S. & MOELLERING Jr., Robert C. Antimicrobial - drug resistance. *The New England Journal of Medicine*, v. 335, n.19. p. 1445 - 1453. 1996.

3.8. - ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada utilizando-se o teste T de Student para analisar médias e o χ^2 e o teste exato de Fisher para analisar as proporções, sendo considerado significativo para um $p \leq 0,05$.

IV - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Há dez anos observou-se um aumento na frequência de mortalidade por infecções associadas com enterococos. Em 1980 esse microrganismo emergiu como um significativo patógeno nosocomial, respondendo por cerca de 10% das infecções^{5,7}, e foi associado às taxas de mortalidade em torno de 19.6 a 71.4% em casos de bacteremia.¹⁶ A ascensão de infecções enterocócicas está relacionada com o aumento no uso de agentes antimicrobianos de amplo espectro, particularmente as cefalosporinas.⁷

A emergência de VRE resultou principalmente do uso exagerado de glicopeptídeos na prática médica, e o aumento resultante na incidência de infecções causadas por essa bactéria vem preocupando em função das poucas opções terapêuticas para infecções enterocócicas e particularmente pelo risco de aparecimento de amostras de MRSA resistentes a esse antimicrobiano.¹⁵

Entre os fatores de risco identificados com a aquisição desse microrganismo, estão: terapia prévia com antimicrobianos, particularmente vancomicina e cefalosporinas de terceira geração, internação prolongada, instrumentação e gravidade da doença de base.^{10,11,13,18}

As características demográficas e os fatores de risco dos pacientes incluídos nessa investigação estão descritas na tabela 2.

Tabela 2. Características dos pacientes incluídos no estudo, no período de Fevereiro/97-Julho/97.

Características	Pacientes com infecção enterocócica	Pacientes sem infecção enterocócica em uso de vancomicina	Valor p ^e
Número	50	30	
Idade, \bar{X} (variação)	45,6 (0,1-81)	31,4 (0,9-70)	0.05
Antibióticos (%)	32 (64,0)	30 (100,0)	ns ^f
Vancomicina	5 (10,0)	30 (100,0)	<0,01
Cefalosporinas	11 (22,0)	18 (60,0)	<0,01
3 ^a geração			
n \geq 2	25 (50,0)	22 (73,3)	ns
Enfermaria (%)			
CCs*	18 (36,0)	11 (36,7)	ns
CTIs**	8 (16,0)	5 (16,6)	ns
CM***	3 (6,0)	6 (20,0)	ns
PS****	6 (12,0)	-	ns
Pediatria	3 (6,0)	8 (26,7)	0,02
Outros	8 (16,0)	-	0,02
Procedimentos invasivos (%)			
n \geq 2	21 (42,0)	19 (63,3)	ns
Risco para VRE:			
0 ^a	6 (12,0)	1 (3,3)	ns
1 ^b	13 (26,0)	2 (6,7)	ns
2 ^c	27 (54,0)	9 (30,0)	ns
3 ^d	4 (8,0)	18 (60,0)	<0,01

*CCs, Clínicas Cirúrgicas; **CTIs, Centro de Terapia Intensiva; ***CM, Clínica Médica; ****PS, Pronto Socorro; ^aSem fatores de risco; ^bPresença de um fator de risco; ^cPresença de dois fatores de risco; ^dPresença de três fatores de risco; P \leq 0,05; ns, não significante.

Na comparação entre os dois grupos (infectados e em uso de vancomicina) verificou-se diferenças estatísticas ($p < 0,05$) em relação à idade (45,6 X 31,4 anos), uso de cefalosporinas de terceira geração e existência de três fatores de risco para a presença de VRE no grupo ou uso de vancomicina.

A utilização de procedimentos invasivos ($n \geq 2$) foi detectado em aproximadamente 42,0% ($p > 0,05$) dos pacientes infectados por enterococos e 63,3% daqueles em uso de vancomicina.

A mortalidade associada com infecções sanguíneas por enterococos é geralmente alta, em torno de 34-46%.¹³ Nessa investigação, cinco (10%) dos pacientes infectados e nove (30%) daqueles em uso de vancomicina foram à óbito, dados evidenciados na tabela 3. Entre os pacientes do grupo em uso de vancomicina, três (10,0%) estavam colonizados por VRE, e apresentavam os três fatores relacionados como de risco para infecção/colonização por esse microrganismo, dados esses evidenciados na tabela 4 .

Na tabela 5 verifica-se que apenas 10% do grupo de infectados tinha o sangue como espécime clínico do qual foram obtidos enterococos.

Tabela 3. Evolução dos pacientes infectados por enterococos resistentes e em uso de vancomicina na Universidade Federal de Uberlândia, no período de Fevereiro/97-Julho/97.

Evolução	Pacientes com infecção enterocócica N=50	Pacientes sem infecção em uso de vancomicina N=30
Óbito	5 (10,0)	9 (30,0)
Alta	45 (90,0)	21 (70,0)

Tabela 4. Relação entre fatores de risco em pacientes colonizados ou não por VRE.

Fatores de risco ^a	Colonização (N=30)			
	NÃO		SIM	
	N	%	N	%
0	1	3,3	—	—
1	2	6,7	—	—
2	9	30,0	—	—
3	15	50,0	3	10,0

* VRE, Vancomycin-resistant-enterococci: ^a0, sem fatores de risco; 1, apenas um fator de risco; 2, presença de dois fatores de risco; 3, presença de três fatores de risco.

As infecções enterocócicas de natureza hospitalar mais frequentes ocorrem nos seguintes sítios: trato urinário, ferida cirúrgica e corrente sanguínea⁹, e estão associadas com o uso de "devices" com destaque para próteses articulares, catéteres intravasculares e aqueles utilizados em diálise peritoneal ambulatorial contínua (CAPD).⁵

Os resultados obtidos nesse estudo (T 5) evidenciam a partir dos espécimes clínicos, dos quais esse microrganismo foi obtido, sua predominância em infecções cirúrgicas (64,0%), seguido da associação em infecções urinárias (26,0%). Em relação aos fatores de risco referidos, 42% dos pacientes apresentavam dois ou mais procedimentos invasivos que não incluíam o catéter peritoneal e nem história de cirurgia ortopédica (T 2). As síndromes infecciosas mais associadas aos enterococos incluíram as pós-cirúrgicas, urinárias e bacterêmicas.

Tabela 5. Origem (espécimes clínicos) de enterococos isolados de pacientes com infecções enterocócicas no HC-UFU, no período de Fevereiro/97-julho/97.

Espécime Clínico	N*	%
Secreção	32	64.0
Sangue	5	10.0
Urina	13	26.0
Total	50	100.0

*N, numero de pacientes

Atualmente os enterococos estão incluídos entre os patógenos hospitalares mais importantes. As duas espécies predominantes são *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium*, responsáveis por 80-90% e 5-10% de infecções enterocócicas, respectivamente.^{7,18,19}

Na tabela 6 estão descritas as frequências dessas duas espécies, sendo que entre os oito isolados de *Enterococcus faecium*, cinco (62,5%) estavam associados à infecções; no total, observou-se um predomínio de *Enterococcus faecalis* (83,0%).

Tabela 6. Espécies de enterococos isolados de pacientes infectados/colonizados no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, no período de Fevereiro/97-Julho/97.

Espécie	Infecção		Colonização		Total	
	N	%	N	%	N	%
<i>E. faecalis</i>	44	83.0	-	-	44	83.0
<i>E. faecium</i>	5	9.4	3	5.7	8	15.1
Outras	1	1.9	-	-	1	1.9
Total	50	94.3	3	5.7	53	100.0

Embora os enterococos apresentem resistência intrínseca à doses baixas de penicilina e aminoglicosídeos quando administrados individualmente, a combinação desses dois antimicrobianos mostra um efeito sinérgico na terapêutica antimicrobiana de infecções enterocócicas graves.^{6,10,16} No entanto, a resistência de nível alto aos aminoglicosídeos e penicilina vem aumentando entre os isolados clínicos.⁷

O nível alto de resistência à gentamicina em *Enterococcus faecalis* é mais comum, embora também possa ocorrer em *Enterococcus faecium*.¹⁰ O reconhecimento desse tipo de resistência aos aminoglicosídeos indica que seu emprego está comprometido.¹⁶ Outro fator que tem complicado o tratamento dessas infecções é o desenvolvimento de resistência à penicilina e ampicilina, através da produção de β -lactamases, mesmo quando da combinação de um β -lactâmico e um aminoglicosídeo.^{7,16}

Na tabela 7 estão descritos os dados dos espectros de resistência dos isolados do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) aos β -lactâmicos (ampicilina, penicilina), aminoglicosídeo (gentamicina) e glicopeptídeos (vancomicina, teicoplanina). Verificou-se maior frequência de *Enterococcus faecalis* resistentes à gentamicina 10 (18,9%) e vancomicina 9 (17,0%), seguindo-se de penicilina e ampicilina, ambos com 6 isolados resistentes (11,3%). Quanto a resistência à teicoplanina, só foi detectada em um isolado (*Enterococcus faecium*), porém susceptível aos outros antimicrobianos.

As frequências de resistência correspondentes à níveis altos para ampicilina, estreptomícina e gentamicina foram de 1,9%, 7,6% e 15,1% respectivamente, sempre associadas à isolados de *Enterococcus faecalis* (Tabela 8).

Tabela 7. Espectro de resistência dos isolados de enterococos, pela técnica de difusão em Gel, no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, no período de Fevereiro/97-Julho/97.

Espécie	Antimicrobianos									
	AMP		PN		GEN		VAN		TEC	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
<i>E. faecalis</i> N=44	6	11,3	6	11,3	10	18,9	9	17,0	-	-
<i>E. faecium</i> N=8	-	-	-	-	-	-	1	1,9	1	1,9
<i>Enterococcus</i> sp N=1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total N=53	6	11,3	6	11,3	10	18,9	10	18,9	1	1,9

^aAMP, ampicilina; PN, penicilina; GEN, gentamicina; VAN, vancomicina; TEC, teicoplanina.

Tabela 8. Resistência de nível alto à ampicilina e aminoglicosídeos (estreptomicina e gentamicina), pela técnica de diluição em Gel, de isolados de enterococos no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, no período de Fevereiro/97-Julho/97

Espécie	Antimicrobianos ^a					
	AMP		SM		GEN	
	N	%	N	%	N	%
<i>E. faecalis</i> N=44	1	1,9	4	7,6	8	15,1
<i>E. faecium</i> N=8	-	-	-	-	-	-
<i>Enterococcus</i> sp N=1	-	-	-	-	-	-
Total N=53	1	1,9	4	7,6	8	15,1

^aAMP, ampicilina; SM, estreptomicina; GEN, gentamicina.

A resistência dos enterococos aos glicopeptídeos foi descrita pela primeira vez em 1988, expandindo-se então globalmente.^{15,16} Os enterococos resistentes à vancomicina (VRE) são freqüentemente multiresistentes a muitos antimicrobianos, além da vancomicina, tais como ampicilina e gentamicina.¹⁸ Muitos centros relataram a presença desses microrganismos associados a casos ou "clusters" de infecções e colonizações.²⁴ Nos EUA, eles são encontrados mais freqüentemente em pacientes

internados em UTIs, unidades de transplante e de oncohematologia.^{13,14} Segundo o NNISS (National Nosocomial Infectious Surveillance Study), a frequência de VRE aumentou de 0,3% em 1989 para 7,9% em 1993.^{2,4,8,10,12,14}

São reconhecidos três fenótipos de resistência, Van A, Van B e Van C aos glicopeptídeos (vancomicina e teicoplanina) entre os enterococos, que diferem também se a mesma é induzida ou constitutiva e se é associada ou não a plasmídeos. Os fenótipos Van A e Van B estão relacionados com isolados de *Enterococcus faecium* e *Enterococcus faecalis*, enquanto que o Van C corresponde os de *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus casseliflavus* e *Enterococcus flavescens*.^{7,8}

A diversidade e a especificidade de espécies de enterococos resistentes aos antimicrobianos têm apresentado a necessidade de avaliar a identificação a nível de espécie e das características de resistência desse microrganismo.⁷

A partir dos 80 pacientes investigados nesse estudo, foram obtidos isolados resistentes aos glicopeptídeos de quatro (5%), três colonizados e um infectado, sendo um caracterizado como fenótipo Van A, 2 como Van B e 1 do Van C. (T 9)

Tabela 9. Fenótipos de resistência dos isolados de pacientes colonizados ou infectados por enterococos resistentes à vancomicina e teicoplanina, no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, no período de Fevereiro/97-Julho/97.

Pacientes	Isolados(N)	Espécie	CMI($\mu\text{g/mL}$)		Fenótipo
			Van	Tec	
Colonizados N=3	1	<i>E. faecium</i>	128	64	Van A
	2	<i>E. faecium</i>	4	0,5	Van B
Infectados N=1	1	<i>Enterococcus</i> sp*	2	0,5	Van C

* Isolado não identificado a nível de espécie

Os dados demográficos e os fatores de risco dos três pacientes colonizados e um infectado por VRE estão na tabela 10, e mostram o tempo total de hospitalização, extremamente prolongado (>19 dias), e o uso de vancomicina em três dos mesmos.

Tabela 10. Características dos pacientes colonizados e/ou infectados com VRE (CMI).

Paciente	Sexo ^a	Idade (anos)	Clínica ^b	Diagnóstico ^c	Evolução ^d	T. total de internação (dias)	Uso prévio vanco c/
Coloni							
zação							
1	M	66	C.C.	-	S	49	Sim
2	F	2	Pd	Om	S	109	Sim
3	F	3	Pd	Pn	S	42	Sim
Infecção							
4	F	36	C.C.	Cl	S	19	Não

^aM, masculino; F, feminino; ^bC.C., clínica cirúrgica, Pd, pediatria; ^cOm, osteomielite, Pn, pneumonia, Cl, colicistite; ^dS, sobrevivência.

Nenhum dos pacientes evoluiu para o óbito, sendo que o único infectado tratava-se de um caso cirúrgico de colicistite e nenhum apresentava bacteremia, síndrome de maior gravidade.

Além de infecções endógenas (autoinfecções) por esse microrganismo, pode ocorrer a transmissão de paciente para paciente através de contato direto (mãos de profissionais de saúde) e indireto (contaminação de equipamentos e superfícies do ambiente).^{11,15}

A origem do mecanismo de resistência associada ao VRE vem merecendo atenção, e a participação de animais alimentados com rações contendo glicopeptídeo (avoparcina) parece estar associada ao seu aparecimento.¹³

V - CONCLUSÃO

Os dados obtidos nessa investigação evidenciam que VRE está presente no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, infectando ou fazendo parte da microbiota de pacientes graves. Medidas de prevenção e controle para esses pacientes e restrição ao uso de glicopeptídeos devem merecer atenção da Comissão de Controle de Infecção do Hospital.

V - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

1. BODNAR, U. R. et al. Use of in-House studies of molecular epidemiology and full species identification for controlling spread of vancomycin - resistant *enterococcus faecalis* isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 34, n. 9, p. 2129 - 2132. 1996.
2. CEREDA, R. et al. *In vitro* antimicrobial activity against Enterococci isolated in a University Hospital in São Paulo, Brazil. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. V. 1, n.2, p. 83-90. 1997.
3. DEVRIESE, L. A. et al. Acidification of methyl- α -D-glucopyranoside: a useful test to differentiate *Enterococcus casseliflavus* and *Enterococcus gallinarum* from *Enterococcus faecium* species group and from *Enterococcus faecalis*. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 34, n.10, p. 2607 -2608. 1996.
4. EDMOND, M. B. et al. Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* bacteremia: risk factors for infection. *Clinical Infectious Diseases*, v. 20, p. 1126-1133. 1995.

*Normas segundo ABNT NBR 6023 1989.

5. EDMOND, M. B. et al. Vancomycin-resistant Enterococcal Bacteremia: natural history and attributable mortality. *Clinical Infectious Diseases*. v. 23, p. 1234-1239. 1996.
6. Epidemiologic and Infection Control Microbiology. Prospective, focused surveillance for high-level aminoglycoside resistance and β -lactamase production of enterococci. p. 11.16.1-11.16.3
7. FACKLAM, R. R. & TEIXEIRA, L. M. *Enterococcus*, chapter 72 in: Topley & Wilson's Microbiology & Microbial Infections. p. 1-14.
8. GOLD, H. S. & MOELLERING Jr., R. C. Antimicrobial - drug resistance. *The New England Journal of Medicine*. v. 335, n.19, p. 1445 - 1453. 1996.
9. GORDTS, D. et al. Vancomycin - resistant enterococci colonizing the intestinal tracts of hospitalized patients. *Journal of Clinical Microbiology*. v. 33, n.11, p. 2842 - 2846. 1995.
10. GRAY, J. W. & PEDLER, S. J. Antibiotic - resistant enterococci. *Journal of Hospital Infection*. v. 21, p.1 - 14. 1992.
11. JACOBY, G. A. Antimicrobial-resistant pathogens in the 1990s. *Annual Review of Medicine*. v 47, p. 169-179. 1996.
12. KARANFIL, L. V. et al. A cluster of vancomycin - resistant *Enterococcus faecium* in a Intensive Care Unit. *Infection Control and Hospital Epidemiology*. v. 13, n. 4, p. 195 - 200. 1995.
13. LECLEREQ, R. et. al. Resistance to glycopeptides in Enterococci. *Clinical Infectious diseases*. v. 24, p. 545-556. 1997.
14. LUNDSTROM, T. S. et. Al. Vancomycin, trimethoprim-sulfamethoxazole, and rifampin. *Infectious Disease Clinics of North America*. v. 9, n. 3, p. 747-767. 1995.
15. MOUTHON. et. al. Vancomycin-resistant Enterococci and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: the gram-positive challenges. *Clinical Infectious Diseases*. v. 9, p. 256-260. 1996.
16. NEUMANN, M. A. et al. New developments in antimicrobial agent susceptibility testing: a practical guide. Cumitec 6A. *American Society for*

16. NEUMANN, M. A. et al. New developments in antimicrobial agent susceptibility testing: a practical guide. Cumitec 6A. *American Society for Microbiology*. Washington, D. C. 1991.
17. NICAS, T. I. Et. Al. Characterization of vancomycin resistance in *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. v. 33, n. 7, p.1121-1124. 1989.
18. RAO, G. G., OIO, F. & KOLOKITHAS, D. Vancomycin - resistant gram - positive cocci: risk factors for faecal carriage. *Journal of Hospital Infection*. v. 35, p. 63 - 69. 1995.
19. SIMJEE, S. Et. Al. Gene transfer, gentamicin resistance and enterococci. *Journal of Hospital Infection*. v. 36, p 249-259. 1997.
20. TAVARES, Walter. Fosfomicina, polimixinas e grupo da vancomicina. *Manual de antibióticos quimioterápicos antiinfeciosos*. ed. Atheneu. p. 450-465. 1990.
21. VAN HORN, K. G. et al. Evaluation of commercial vancomycin agar screen plates for detection of vancomycin - resistant enterococci. *Journal of Clinical Microbiology*. v. 34, n.8, p. 2042 - 2044. 1996.
22. WADE, J. J. *Enterococcus faecium* in hospitals. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* v. 16, p. 115-119. 1997
23. WEINSTEIN, J. W. et al. Comparison of rectal and perirectal swabs for detection of colonization with vancomycin - resistant enterococci. *Journal of Clinical Microbiology*. v. 34, n.1, p. 210 - 212. 1996.
24. WOODFORD, N. et al. Current perspectives on glycopeptide resistance. *Clinical Microbiology Reviews*. v. 8, n. 4, p. 585 - 615. october. 1995.

VII - ANEXOS

ESTUDO VRE - HOSPITAL DE CLÍNICAS - UFU

A - Vigilância a partir da Enfermaria -Uso de Vancomicina.

Nome do paciente:

Idade:

Sexo:

Prontuário:

Leito:

Enfermaria:

Data da internação:

Transferido:

() Sim () Não

Doença de base:

Diagnóstico Clínico:

Antimicrobianos

() Sim () Não

Quais:

Procedimentos Invasivos:

() Sim () Não

Quais:

Risco para VRE

() Restrição ao leito

() Tempo de Hospitalização

() Utilização de Vancomicina

Coleta na Enfermaria:

() _____ () _____ () _____

() _____ () _____ () _____

() _____ () _____ () _____

ANEXO 2

ESTUDO VRE - HOSPITAL DE CLÍNICAS - UFU

B- Vigilância a partir do Laboratório.

Nome do paciente:

Idade:

Sexo:

Prontuário:

Leito:

Enfermaria:

Data da internação:

Transferido:

Sim

Não

Doença de base:

Diagnóstico clínico:

Antimicrobianos:

Sim

Não

Quais:

Procedimentos invasivos:

Sim

Não

Quais:

Risco para VRE:

Restrição ao leito

Tempo de hospitalização

Utilização de Vancomicina

Material clínico - isolamento:

Coleta na Enfermaria:

_____ _____ _____
 _____ _____ _____

OBSERVAÇÃO: