

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

**AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* e
Enterobacteriaceae, RESISTENTES A DIFERENTES ANTIMICROBIANOS
EM PACIENTES INTERNADOS NO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA.**

DENISE VON DOLINGER DE BRITO
PROF.º DR. PAULO PINTO GONTIJO FILHO

**Monografia apresentada à
Coordenação do Curso de
Ciências Biológicas da
Universidade Federal de
Uberlândia para obtenção
de grau de Bacharel em
Ciências Biológicas**

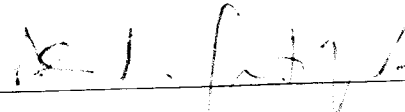
UBERLÂNDIA - MG.
DEZEMBRO-97

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

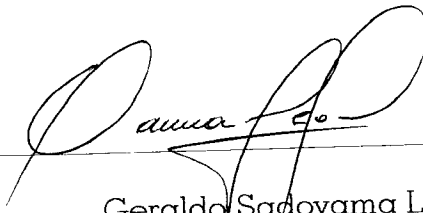
AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* e *Enterobacteriaceae*, RESISTENTES A DIFERENTES ANTIMICROBIANOS EM PACIENTES INTERNADOS NO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA.

DENISE VON DOLINGER DE BRITO

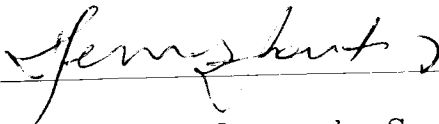
Aprovada pela comissão examinadora em 10/12/97. Média 100



Prof^o Dr. Paulo Pinto Gontijo Filho
Orientador



Geraldo Saadoyama Leal
Mestrando de Imunologia e Parasitologia aplicadas
Co-Orientador



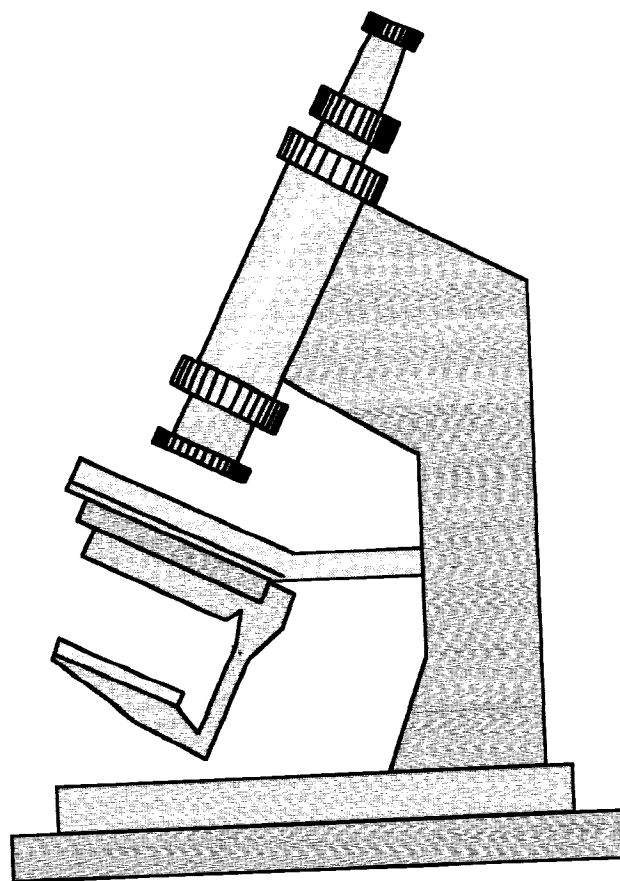
Dr. Thogo Lemos dos Santos
Médico do setor de Moléstia Infecciosa
Co-Orientador

Analise

10/12/97
100

“Cultive a esperança. O sol reaparecerá amanhã no horizonte e a paisagem será diferente.”

(Autor desconhecido)



“É essencialmente a simpatia do homem por todas as criaturas que verdadeiramente faz dele um homem.”

Albert Schweitzer”

**À meus pais, pelo apoio,
amor, paciência e dedica-
ção em minha caminha-
da estudantil.**

AGRADECIMENTOS

À DEUS por ter permitido que eu chegasse até aqui com saúde, paz e força.

Ao Dr. Paulo pelo apoio e valiosa orientação demonstrando seu profissionalismo e dedicação.

À minha madrinha Aparecida, não sei o que seria de mim sem a Senhora. Obrigada pela sua dedicação e carinho.

Ao meu esposo, Leandro Gonçalves de Brito, por ter me apoiado com carinho e amor.

Ao meu irmão Leonardo, obrigada pela força e amizade.

Aos amigos Rosineide Marques Ribas e Geraldo Sadoyama Leal, por terem me auxiliado no decorrer deste trabalho com paciência e amizade. Obrigada por tudo!

Aos técnicos do Laboratório de Microbiologia, Claudete e Ricardo, pela prestimosa colaboração para que meu trabalho fosse bem sucedido.

Aos professores, Vivian e Geraldo pelo apoio e incentivo.

À professora de Microbiologia Ângela Maria Abdalla H. Beicher pela amizade, paciência e ensinamentos prestados.

Ao Dr. Thogo Lemos dos Santos e Geraldo Sadoyama Leal por aceitarem fazer parte da avaliação.

Aos chefes das enfermarias, por permitirem que as coletas fossem feitas, contribuindo de maneira fundamental, na realização deste trabalho.

À todos os pacientes que, mesmo em situações difíceis contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos amigos: Alexandre Rodrigo Coelho, Dircelina Silva Santos e Alessandra Cristina Silveira pelo apoio e amizade no decorrer do curso.

À todos os colegas de curso, em especial: Raquel, Wânia, Marcos Antônio, Juliana Simão, Juliana Fernandes e Rosângela pelo apoio prestado e pelos momentos agradáveis em sala de aula.

À Edna Bruns Navarro e Ana Maria Carvalho pelo apoio e orientação prestados durante o curso.

RESUMO

O trabalho foi realizado no período de fevereiro a setembro de 1997, com a finalidade de avaliar a presença de *Staphylococcus aureus* resistentes à oxacilina, *Enterococcus* resistentes à vancomicina e Enterobacteriaceae multiresistente no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU). O critério de inclusão no estudo foi estar em uso de vancomicina e /ou ceftazidima, levantado através de visitas semanais à farmácia do hospital. Foi preenchida uma ficha individual com dados demográficos e fatores de risco de infecção / colonização. Os pacientes foram acompanhados quanto à evolução clínica semanalmente , com coletas de swabs de boca e reto. Os cultivos primários foram realizados em agar Manitol Salgado, agar Bile Esculina e agar MacConkey, contendo oxacilina, vancomicina e ceftazidima, respectivamente, e identificados como *S. aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* e espécies/gênero da família Enterobacteriaceae e através de testes fisiológicos convencionais. Foram selecionados durante o período de vigilância 28 e 30 pacientes em uso de ceftazidima e vancomicina, respectivamente. No total, as frequências de colonização observadas foram as seguintes: MRSA (64,4%), VRE (13,3%) e Enterobacteriaceae multiresistentes (17,8%).

O único fator de risco comum aos três microrganismos foi o tempo de hospitalização, superior a sete dias. O uso de β -lactâmicos foi significativo para os colonizados por Enterobacteriaceae e os procedimentos invasivos para aqueles colonizados por MRSA. A evolução dos pacientes colonizados por Enterobacteriaceae foi pior do que aquela observada pelos outros dois microrganismos com 25% de óbitos.

Embora houvesse um predomínio de amostras multiresistentes de MRSA (100 %), *Enterococcus* spp (100%) e Enterobacteriaceae (76,9%) aproximadamente um quinto foi susceptível à oxacilina, vancomicina e ceftazidima, respectivamente, antimicrobianos presentes nos meios de cultivo primário. Entre os oito pacientes colonizados por Enterobacteriaceae dois (25,0%) apresentaram amostras produtoras de β -lactamases de espectro ampliado.

O estudo evidenciou a presença de microrganismos multiresistentes epidemiologicamente importantes em pacientes com fatores de risco, que merecem atenção aos interessados na prevenção e controle de infecções hospitalares.

ÍNDICE:

1 - INTRODUÇÃO	1
2 - OBJETIVO	10
3 - CASUÍSTICA E MÉTODOS	11
3.1 - HOSPITAL:	11
3.2 - VIGILÂNCIA:	11
3.3 - PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS:	12
3.3.1 - COLETA DE ESPÉCIMES:	12
3.3.2 - CULTURA:	12
3.3.3 - IDENTIFICAÇÃO	12
3.3.4 - ESTOCAGEM DAS AMOSTRAS:	13
3.3.5 -TESTE DE SUSCEPTIBILIDADE AOS ANTIBIÓTICOS	13
3.3.6 -TESTE DE SINERGISMO COM DUPLO DISCO	15
3.4 -ANÁLISE ESTATÍSTICA	15
4- RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
5 - CONCLUSÕES	29
6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
7 - ANEXO	36

1-INTRODUÇÃO

O uso intensivo e indiscriminado de antimicrobianos terapêutica e profilaticamente, nos últimos decênios, levou a uma situação em que boa parte dos microrganismos causadores de infecções hospitalares apresenta resistência à maioria dos antimicrobianos utilizados na prática médica, diminuindo de forma significativa a possibilidade de seu emprego terapêutico. O uso inadequado e abusivo destes medicamentos pode conduzir a dois tipos de efeitos indesejáveis: eliminação da microbiota normal do organismo de forma a favorecer a colonização por microrganismos resistentes e a emergência de resistência aos antimicrobianos no decorrer do tratamento. Os antimicrobianos estão entre as drogas mais utilizadas nos hospitais em todo o mundo, particularmente nos países subdesenvolvidos como o Brasil, onde podem atingir de 40 a 50% dos pacientes internados²¹.

A ampla disseminação da resistência bacteriana observada atualmente é resultante, sobretudo, da transferência horizontal de plasmídeos por meio de conjugação, esse processo é mais freqüente entre bactérias Gram- negativas, onde ocorre de forma promíscua, entre representantes de gêneros e famílias diferentes, mas também foi descrito entre amostras do gênero *Staphylococcus* bem como de *Enterococcus faecium* e *Enterococcus faecalis*⁵.

O aumento da prevalência de resistência a antimicrobianos representa motivo de preocupação quando da seleção deste, particularmente para pacientes de Unidade de Terapia Intensiva. O desenvolvimento de resistência a antimicrobianos tem sido um processo que vem evoluindo desde a sua introdução a meio século atrás. As infecções provocadas por microrganismos resistentes causam prolongamento no tempo de hospitalização, aumento do risco de óbito e uma necessidade de tratamento com antimicrobianos mais tóxicos e caros. Terapia inapropriada, incluindo aquela na qual o patógeno é resistente, tem sido identificada como um fator de risco independente por aumentar a mortalidade em pacientes com bacteremia por gram-negativos ou pneumonia hospitalar⁵.

Podemos observar uma mudança no padrão dos microrganismos resistentes aos antimicrobianos ao longo do tempo, pois, logo após a introdução da penicilina, foram isoladas as primeiras amostras de *S. aureus* resistentes a mesma. Em seguida apareceram bactérias gram-negativas multiresistentes, que continuam juntamente com *S. aureus*, Estafilococos coagulase negativo resistentes a meticilina e Enterococos multiresistentes a ser os principais patógenos hospitalares nos dias atuais^{2,13,17}.

A resistência antimicrobiana torna-se um problema quando ela exige dos clínicos uma alteração substancial na terapêutica instituída seja pela substituição por agentes mais tóxicos ou caros ou pela utilização de regimes multidrogas mais complexos para tratar patógenos resistentes²².

As bactérias são extremamente adaptativas frente a terapêutica antimicrobiana, desenvolvendo uma variedade de mecanismos de resistência, incluindo: enzimas que inativam antimicrobianos, diminuição da sua permeabilidade aos mesmos e alteração do seu sítio ativo. Genes de resistência podem ser transferidos entre os microrganismos através de DNA cromossômico (via transposons) ou extracromossômico (via plasmídeo)¹².

Alguns laboratórios de microbiologia, num esforço para redução de custos, não repetem testes de susceptibilidade quando a mesma espécie é isolada repetitivamente de uma mesma fonte. Como a resistência pode emergir rapidamente (resistência a cefalosporina de terceira geração pode surgir dias após o início do tratamento), a não repetição dos testes em isolados subsequentes podem resultar num reconhecimento tardio da resistência e conseqüentemente falha clínica. Adicionalmente, testes de susceptibilidade não são executados de rotina para alguns microrganismos, a menos que sejam recuperados de sítios normalmente estéreis, permitindo assim que a emergência de resistência possa passar despercebida (Exemplo: Enterococos resistentes à vancomicina)¹⁰.

As bactérias do gênero *Enterococcus* são cocos gram-positivos, catalase negativas, anaeróbias facultativas e que fazem parte da microbiota das mucosas bucal, intestinal e vaginal de humanos. Entretanto podem causar infecções quando presentes em outros sítios anatômicos¹³.

As duas espécies mais importantes desse gênero são: *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium*, responsáveis por cerca de 85% e 10% das infecções enterocócicas, respectivamente¹². Embora antigamente poucos testes (tolerância ao 6,5% de NaCl, hidrólise de esculina) fossem suficientes para identificação de *Enterococcus*, atualmente, sabe-se que outras bactérias apresentam estas características, como acontece com microrganismos dos gêneros *Lactococcus*, *Aerococcus*, *Pediococcus* e *Leuconostoc*¹⁴.

Atualmente, o Enterococo é um patógeno hospitalar em ascensão representando o segundo microrganismo mais isolado em infecções urinárias e ferida cirúrgica; e o terceiro mais comum em bacteremias nos Estados Unidos. A principal razão desta situação é a sua resistência intrínseca aos antimicrobianos mais utilizados, bem como a sua capacidade de adquirir resistência a estes medicamentos atualmente disponíveis (particularmente β -lactâmicos, aminoglicosídeos e glicopeptídeos), seja através de mutação ou por transferência

de material genético (plasmídios e transposons)^{10,35}.

Devido a maioria dos Enterococos serem tolerantes à atividade bactericida dos β -lactâmicos e glicopeptídeos, o sinergismo obtido da ação de um desses antimicrobianos e um aminoglicosídeo faz-se necessário para o tratamento de infecções graves por estes microrganismos, tais como endocardites e meningites. A resistência a altas concentrações de aminoglicosídeos, usualmente devido a enzimas, está disseminada entre os Enterococos, ocorrendo em mais de 50% das amostras em alguns hospitais. Além disso, muitos isolados de *Enterococcus faecium*, são altamente resistentes às penicilinas em virtude da presença de proteínas ligadoras de penicilinas - PLPs - na membrana citoplasmática com baixa afinidade a estes antimicrobianos¹⁴.

Até recentemente a única droga utilizada no tratamento de infecções causadas por *Enterococcus* multiresistentes era a Vancomicina, que também vem sendo utilizada no tratamento de infecções hospitalares causadas por *S. aureus* resistentes à meticilina. Entretanto, segundo dados relatados pelo "National Nosocomial Infection Survey of the Centers for Disease Control and Prevention" a resistência à vancomicina aumentou mais de vinte vezes entre os isolados de Enterococos passando de 0,5% em 1989 para 10% em 1995¹⁴. Tais resultados são alarmantes, pois esses microrganismos, inicialmente concentrados em pacientes de UTI, tem-se disseminado para outras áreas dos hospitais. Em pacientes com bacteremia causada pelo VRE (Vancomycin Resistant Enterococci), muitos dos quais tem doenças de base graves, a mortalidade pode atingir 50% dos casos^{10,12}.

A freqüência de VRE é maior em hospitais universitários e naqueles com mais de 500 leitos. Os fenótipos de resistência Van A, Van B, Van C são baseados no nível de resistência a vancomicina e teicoplanina^{12,24}. As cepas Van A apresentam altos níveis de resistência a vancomicina (MIC > 64 $\mu\text{g} / \text{mL}$) e teicoplanina (MIC \geq 16 $\mu\text{g} / \text{mL}$), Van B possuem resistência intermediária a

Vancomicina (MIC > 4 µg / mL), mas são susceptíveis à Teicoplanina e VanC possuem baixo nível de resistência (MIC > 2 µg / mL) e susceptível à Teicoplanina²⁴.

Os fatores de risco mais importantes para a aquisição de VRE são os seguintes: uso prévio de vancomicina, administração de antibiótico de largo espectro, principalmente cefalosporinas, permanência prolongada no hospital¹².

A transmissão de VRE pode ocorrer por via direta, pessoa a pessoa ou indireta, por equipamentos contaminados. O trato gastrointestinal é o principal sítio de colonização do VRE. Para prevenir a disseminação deste microrganismo, o isolamento dos pacientes infectados ou colonizados parece ser a medida mais recomendada. Os espécimes clínicos mais utilizados para detecção do VRE são as fezes, mas a sensibilidade de detecção parece ser maior quando se faz a pesquisa simultânea com materiais obtidos de outros sítios (períneo e boca)^{13,18}.

O tratamento de infecções enterocócicas pode ser complicado pela resistência à concentrações mais altas de penicilinas (MIC > 100 µg/mL), decorrente da produção de β-lactamases que podem ser detectadas pelo teste rápido com nitrocefim. Todas as estirpes produtoras de β-lactamases podem também demonstrar resistência a altos níveis de gentamicina. Os isolados de pacientes que não respondem ao tratamento devem ser pesquisados quanto à produção de β-lactamases²⁹. No laboratório, a resistência aos antibióticos glicopeptídicos tem sido transferida entre espécies enterocócicas e de enterococos para outros microrganismos Gram-positivos, incluindo *Streptococcus*, *Listeria monocytogenes* e o mais preocupante, para *S. aureus*¹².

Staphylococcus aureus é um dos três agentes mais frequentes em infecções hospitalares. Nas décadas de quarenta a cinquenta, após a penicilina ter sido introduzida na terapêutica médica, essas infecções passaram a ser facilmente tratadas. Porém, esses microrganismos logo tornaram-se resistentes à penicilina, devido à produção de β-lactamases¹¹.

A emergência de *S. aureus* com resistência à metilina (MRSA) a partir dos anos 80, particularmente em hospitais de grande porte, vem representando um problema no tratamento das estafilococcias hospitalares. O termo MRSA é normalmente usado para designar amostras que possuem resistência, não só à metilina e oxacilina, mas também aos demais β -lactâmicos^{11,21}. A metilina revolucionou o tratamento de *Staphylococcus aureus* resistente à penicilina quando foi introduzida na prática clínica em 1959. Contudo, em um curto espaço de tempo começaram a aparecer cepas resistentes à metilina e, durante as três décadas que se seguiram o MRSA, tornou-se um problema universal nos hospitais. Nas últimas décadas, endemias e epidemias causadas por estes microrganismos multiresistentes aumentaram de forma considerável em hospitais dos Estados Unidos².

A resistência intrínseca do MRSA à Metilina deve-se à presença do gene cromossomal (*mecA*), o qual codifica uma proteína ligadora de penicilina com baixa afinidade aos β -lactâmicos denominada PLP2' ou PLP2a¹⁸. As PLPs são proteínas situadas na face externa da membrana citoplasmática e apresentam atividade enzimática de transglicosidases, peptidases, carboxipeptidases e endopeptidases, participando de maneira fundamental na biossíntese das novas moléculas de peptideoglicano e na sua incorporação ao peptideoglicano pré-existente da bactéria em multiplicação².

As PLPs variam em quantidade de acordo com a espécie bacteriana. Sua afinidade individual aos β -lactâmicos e a importância fisiológica de cada PLP, na biossíntese do peptideoglicano, não é também uniforme. Os *S. aureus* normalmente contêm quatro PLPs, das quais PLPs 1,2 e3 são essenciais. A PLP 2a é, provavelmente, uma transpeptidase com baixa afinidade aos antibióticos β -lactâmicos, encontrada somente em estafilococos resistentes à metilina e, desta forma, capaz de substituir as PLPs essenciais quando essas são inativadas pelas penicilinas resistentes às B-lactamases. A quantidade de PLP 2a presente nas

células não parece estar relacionada com o nível de resistência^{2,3,18}.

Os fatores de risco associados com uma maior probabilidade de aquisição de MRSA incluem : hospitalização prolongada, pacientes restritos aos leitos, uso de antimicrobianos de largo espectro, permanência em Unidades de Terapia Intensiva, proximidade com pacientes infectados ou colonizados pelo MRSA e utilização de procedimentos invasivos (cateteres intravasculares, sonda vascular e tubos endotraqueais)^{3,21}.

Os pacientes colonizados e/ou infectados funcionam como principais reservatórios hospitalares do MRSA. Os principais sítios colonizados são: narina, boca, lesões cutâneas (ferida cirúrgica e úlcera de decúbito), períneo, intestino e sítios de incisão de traqueostomia e ileostomia . O portador nasal é um importante reservatório de MRSA e estes indivíduos podem iniciar o ciclo de transmissão deste microrganismo através da colonização de suas próprias mãos e/ou mãos de profissionais de saúde².

A transmissão de MRSA ocorre, principalmente, pelas mãos dos profissionais de saúde contaminadas no exercício de suas tarefas, ao contrário das estafilococcias hospitalares descritas nas décadas de 50 a 70 onde ela ocorria usualmente por via aérea. Entre as medidas recomendadas para o controle de infecções por MRSA incluem: inquéritos de prevalência, monitoramento microbiológico de pacientes quando da admissão, lavagem de mãos, isolamento de coorte, tratamento dos profissionais de saúde e pacientes colonizados ou infectados pelo MRSA. Esta última medida visa reduzir o reservatório do microrganismo na instituição e tem sido adotada em muitos hospitais^{2,3,21}.

Como já citado anteriormente, a resistência aos antimicrobianos é um problema universal, mediado por uma variedade de mecanismos. Do ponto de vista clínico e epidemiológico, o mecanismo mais importante de inativação dos antimicrobianos β -lactâmicos é por meio de enzimas, que hidrolizam a ligação do amida do anel β -lactâmico, inativando-os, denominadas β -lactamases, incluindo

as penicilinas e cefalosporinas. As cefalosporinas de primeira geração - cefalotina, cefazolina - e segunda geração - cefoxitina, cefamandol - apresentam menor estabilidade à ação destas enzimas, sendo as de terceira geração - cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima - e quarta geração - cefepiroma e cefepima - são mais estáveis à ação destas cefalosporinas¹⁷. Existe uma forte correlação entre o uso aumentado de cefalosporinas de terceira geração e um subsequente isolamento de microrganismos Gram negativos resistentes a estes antimicrobianos, capazes de produzir β -lactamases do Grupo I¹⁶, que são enzimas constitutivas codificadas por genes cromossomiais, e β -lactamases de amplo espectro (ESBL), que são enzimas codificadas por genes plasmidiais¹⁷. Amostras produtoras de ESBL são frequentemente encontradas em hospitais e a resistência é mais acentuada em UTIs, departamentos de hematologia e setor de queimados. Entre os microrganismos que apresentam plasmídios codificando estas enzimas induzíveis, destacam-se: *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens* e *Pseudomonas aeruginosa*, que são usualmente resistentes a todas as cefalosporinas de amplo espectro^{9,16,17}.

As β -lactamases podem ser classificadas por sua afinidade a diferentes substratos (penicilina, oxacilina, cefalosporinas de amplo espectro e imipenem) e susceptibilidade ao ácido clavulânico²⁵. As ESBL tem como característica marcante sua atuação contra cefalosporinas de amplo espectro e monobactamas, assim como cefalosporinas de pequeno espectro e penicilinas ativas contra bactérias Gram negativas. Podem ser produzidas por bactérias Gram positivas como os estafilococos e enterococos ou Gram negativas como as enterobactérias²⁶.

As cefalosporinas de quarta geração possuem a capacidade de rápida permeabilidade ou penetração e são mais estáveis a ação das β -lactamases quando comparadas a outras cefalosporinas de amplo espectro, além de

possuírem razoável atividade contra enterobactérias resistentes, com MICs de 1 a 4 µg/mL, comparada com cefotaxima e ceftazidima que detem MICs acima de 64 µg/mL²⁵.

As carbapenens são antimicrobianos que retêm atividade contra enzimas ESBL produzidas por Enterobacteriaceae. Estas enzimas foram relatadas primeiramente na Europa entre amostras de *Klebsiella pneumoniae*, espalhando-se posteriormente para outros membros da família Enterobacteriaceae³¹.

Os microrganismos resistentes às cefalosporinas de amplo espectro (ESCs) podem ser encontrados em vários sítios do corpo humano como nos tratos gastrointestinais, urinários, respiratórios, entre outros²⁵.

Dentre os fatores de risco que estão associados à presença destes microrganismos incluem: idade, número de hospitalizações prévias, quimioterapia antimicrobiana prévia, tempo de hospitalização, cirurgias gastrointestinais durante a permanência hospitalar³¹.

2 - OBJETIVO

Avaliar a presença de *Enterococcus*, *Staphylococcus aureus* e *Enterobacteriaceae* multiresistentes, colonizando pacientes em uso de Vancomicina e/ou Ceftazidima internados no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia e suas associações com fatores de risco.

3 - CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1 - HOSPITAL:

O Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia é um hospital terciário, de ensino, apresentando cerca de 460 leitos.

3.2- VIGILÂNCIA:

Os pacientes em uso de Ceftazidima e/ou Vancomicina, foram selecionados através de visitas semanais à Farmácia do Hospital para sua identificação pelas prescrições, por tratar-se de antimicrobianos de uso controlado, e localização dos mesmos nas diversas Unidades do Hospital. Uma ficha individual (Anexo 1) foi preenchida com os dados do paciente.

3.3- PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS:

3.3.1- COLETA DE ESPÉCIMES:

Fezes e saliva dos pacientes, foram coletadas semanalmente, através de swabs anal e oral.

3.3.2 - CULTURA:

Os espécimes clínicos foram semeados em placas de:

Ágar Bile esculina contendo vancomicina (10 µg/mL) . Ágar Manitol Salgado contendo Oxacilina (6 µg / mL). Ágar MacConkey contendo Cefotaxima (2 µg / mL). As culturas foram incubadas à 37°C, por um período de 24 a 48 horas⁶.

3.3.3 - IDENTIFICAÇÃO:

As colônias suspeitas de serem *Enterococcus* (Ágar Bile Esculina) foram inicialmente caracterizadas como cocos Gram-positivos através da técnica de coloração de Gram e posteriormente submetidas aos seguintes testes: catalase, tolerância à 6,5% de NaCl em meio de TSB (“Tryptic Soy Broth”) e PYR (L-Pyroglutamic Acid β- Naphthylamide) A identificação das espécies (*E. faecalis*

e *E. faecium*) foi feita através da: redução de telurito de potássio (0,03%) em meio TSA, teste da fermentação da arabinose (1%), sorbitol e utilização do piruvato^{6,13}.

As amostras foram caracterizadas como do gênero *Staphylococcus* (Ágar Manitol Salgado) através da coloração de Gram e teste da catalase, e identificadas como *Staphylococcus aureus* através da fermentação do manitol no meio utilizado no cultivo primário e presença de coagulase⁶.

As amostras foram caracterizadas como da família Enterobacteriaceae (Ágar MacConkey), através dos seguintes testes: coloração de Gram, oxidase e metabolismo Oxidativo/Fermentativo (OF)⁷. A identificação dos gêneros/espécies foram feitos através das seguintes características bioquímicas: produção de Indol, produção de H₂S, utilização de Citrato, prova de Voges- Proskauer, atividades Ureásica, Fenilalanina e Lisina Descarboxilásica^{1,2}.

3.3.4- ESTOCAGEM DAS AMOSTRAS:

As amostras foram estocadas, até a realização dos testes de susceptibilidade aos antimicrobianos, em tubos de ágar estoque e mantidos no freezer à -20°C

3.3.5 -TESTE DE SUSCEPTIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS PELA TÉCNICA DE DIFUSÃO EM GEL:

As amostras de *Enterococcus*, *Staphylococcus aureus* e Enterobacteriaceae foram submetidas à avaliação pela técnica de difusão em gel seguindo-se a metodologia do “National Committee for Clinical Laboratory

Standards” (NCCLS)²⁸. Os microrganismos foram cultivados em 5mL de TSB e as suspensões resultantes foram diluídas em salina estéril, até atingir a turvação equivalente a escala 0,5 de Mc Farland, que corresponde a uma concentração de aproximadamente $1-2 \cdot 10^8$ unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/mL). Após os inóculos terem sido padronizados, eles foram semeados em placas de Mueller -Hinton com o auxílio de swab. As leituras foram realizadas após a incubação a 37°C , por 24 a 48 horas⁶.

Enterococcus

Foram utilizados os seguintes antimicrobianos: ampicilina, gentamicina, penicilina e vancomicina.

Foram utilizadas como controle amostras de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) e *Enterococcus faecium* (ATCC 12805)⁶.

Staphylococcus aureus:

Foram utilizados os seguintes discos: amicacina, ampicilina, cefalotina, cefoxitina, ceftriaxona, ciprofloxacina, clindamicina, cloranfenicol, eritromicina, imipenem, gentamicina, oxacilina, penicilina, rifampicina, sulfametoxazol - trimetoprima, tetraciclina e vancomicina.

Enterobacteriaceae:

Foram usados os seguintes discos de antimicrobianos: ampicilina, cefalotina, cefoxitina, cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima, aztreonam, imipenem, gentamicina, cefepima e cefepiroma.

3.3.6 -TESTE DE SINERGISMO COM DUPLO DISCO

Placas de Mueller - Hinton foram inoculadas com as amostras de Enterobacteriaceae caracterizadas previamente como resistentes à ceftazidima, cefotaxima e/ou aztreonam, seguindo-se a deposição de discos contendo amoxicilina mais ácido clavulânico, ceftazidima, cefotaxima e aztreonam, distante uns dos outros de 20 mm. Nos casos positivos será observado uma intensificação na inibição do crescimento microbiano na zona de coalescência dos halos de inibição observados pela combinação amoxicilina mais ácido clavulânico e a cefalosporina de terceira geração ou aztreonam⁶.

3.4 -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 proporções, sendo considerado significantes para um $p \leq 0,05$ ⁶.

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram selecionados, durante o período de vigilância, 28 e 30 pacientes em uso de ceftazidima e vancomicina, respectivamente. No total, as frequências de colonização observadas foram as seguintes: MRSA (64,4%), *Enterococcus* (13,3%) e Enterobacteriaceae (17,8%).

Entre os principais responsáveis pela etiologia das infecções hospitalares, incluem-se o *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* e Enterobacteriaceae multiresistentes¹².

Os pacientes de maior risco, para essas infecções, são aqueles atendidos em hospitais terciários de grande porte, particularmente idosos e imunocomprometidos que estão em UTIs¹⁵. Entre os fatores de risco de infecção e/ou colonização por MRSA estão: a duração da hospitalização, a restrição ao leito, o tratamento prévio com antibióticos de amplo espectro e a proximidade com pacientes colonizados e/ou infectados por este microrganismo⁸.

A presença de *Enterococcus* resistentes à vancomicina é favorecida pelo tratamento prévio com este glicopeptídeo, com múltiplos antibióticos, particularmente as cefalosporinas, permanência prolongada no hospital e

admissão em unidades de oncologia e a presença de procedimentos invasivos¹⁵.

A colonização e/ou infecção por Enterobacteriaceae multiresistente estão associadas aos seguintes fatores de risco: terapêutica prévia com cefalosporinas de terceira geração, número de antimicrobianos utilizados, internação hospitalar prolongada, cirurgia gastrointestinal e de procedimentos invasivos utilizados¹⁷.

Na tabela 1 estão descritas as características dos pacientes incluídos neste estudo, internados no Hospital de Clínicas da UFU, colonizados ou não por estes microrganismos.

Os dados obtidos demonstram que os tempos de hospitalização foram estatisticamente significantes ($p < 0,01$) quando comparamos os grupos de pacientes colonizados e não colonizados pelos diferentes microrganismos (MRSA, Enterococcus e Enterobacteriaceae). O uso de antimicrobianos β -lactâmicos, incluindo as cefalosporinas, foi de 100% para pacientes colonizados e 54% para não colonizados por Enterobacteriaceae, sendo esta diferença estatisticamente significativa ($p=0,014$). Em relação aos procedimentos invasivos, (com uso ou não de ≥ 3 procedimentos) houve diferença significativa apenas para o grupo de pacientes colonizados e não colonizados por MRSA.

Tabela 1 : Características dos pacientes colonizados ou não por amostras de MRSA, VRE e Enterobacteriaceae internados no Hospital de clínicas da Universidade federal de Uberlândia, no período de fevereiro a junho de 1997.

CARACTERÍSTICAS	MRSA		Enterococcus		Enterobacteriaceae		Valor p
	SIM n=29	NÃO n=16	SIM n=6	NÃO n=39	SIM n=8	NÃO n=37	
Sexo (M/F)	20/9	10/6	4/2	22/17	5/3	24/13	ns
Idade	31,79±20,65	27,75±23,40	33,33±27,62	29,54±22,00	33,12±27,31	29,14±21,12	ns
Tempo de hosp.	33,57±13,06	18,12±8,55	44,83±13,33	24,05±14,62	35,12±15,19	24,65±11,47	0,032
Restrição ao leito	9	6	3	5	4	6	ns
Uso de antimicrobianos	29	16	6	39	8	37	ns
β-lactâmicos	23	10	5	29	8	20	0,014
Cefalosporinas	19	8	5	25	8	14	0,015
Glicopeptídeos	16	5	6	24	4	13	ns
Aminoglicosídeos	9	3	1	04	2	13	ns
Quinolonas	3	1	1	-	1	8	ns
Procedimentos invasivos	28	6	6	31	6	31	ns
≥ 3	11	1	2	5	3	9	ns

* P ≤ 0,05

Nos EUA, os *Enterococcus* resistentes à vancomicina são identificados mais frequentemente em UTIs e unidade de transplante de Oncohematologia¹⁴. Já o *S. aureus* apresenta um percentual significativo de pacientes colonizados internados em unidades cirúrgicas, médicas e UTIs¹¹. Os pacientes colonizados por Enterobacteriaceae podem ser encontrados de 20 a 40% em UTIs e entre as diversas clínicas (cirúrgicas, médicas, setor de queimados) totalizando 60% dos pacientes colonizados por este microrganismo¹⁹.

TABELA 2 : Distribuição dos pacientes por clínicas no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, no período de Fevereiro a Junho de 1997.

CLÍNICA	PACIENTES	
	n	%
Médica	11	24,4
Pediátrica	14	31,1
Cirúrgicas (I,II,III)	13	29,0
UTI	6	13,3
Moléstia infecciosa	1	2,2
TOTAL	45	100,0 %

Deve-se ressaltar que os pacientes envolvidos no estudo estavam expostos a fatores de risco intrínsecos (doenças graves) e extrínsecos (procedimentos invasivos) citados na tabela 1 , sendo considerados imunocomprometidos e dois terços destes estavam internados nas enfermarias cirúrgicas e pediátrica correspondendo a 29,0% e 31,1%, respectivamente (Tabela 2).

De acordo com o sistema NNIS (National Nosocomial Infectious Surveillance Study), a resistência de *Enterococcus* à vancomicina aumentou de 0,4% em 1989 para 13,6% em 1993, entre pacientes hospitalizados em UTIs, e de 0,3% para 3,1% entre pacientes internados em enfermarias de clínicas médica e cirúrgica²². O principal sítio de colonização por este microrganismo é o trato

intestinal de pacientes hospitalizados com os fatores de risco previamente citados¹⁹.

Pacientes colonizados e infectados são os principais reservatórios de MRSA dentro de uma instituição hospitalar. A incidência de MRSA tem aumentado em todos os países, sendo que nos hospitais com mais de 500 leitos nos EUA ele representa cerca de 38% do total de *Staphylococcus* isolados. Há evidências que, no Brasil, essa proporção é ainda maior. No Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, a frequência deste microrganismo em relação ao susceptível é de 56% segundo dados de Leal e Gontijo Filho (1997)²³. Os sítios anatômicos frequentemente colonizados esses microrganismos incluem: narina anterior, boca, ferida cirúrgica, queimadura, úlcera de decúbito, reto, períneo e sítio de traqueostomia e ileostomia³.

Segundo Peña e colaboradores (1997), os pacientes colonizados por Enterobacteriaceae são considerados os principais reservatórios nosocomiais destes, sendo o intestino o principal sítio anatômico³¹.

TABELA 3 : Colonização por microrganismos multiresistentes dos pacientes internados no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, no período de fevereiro a junho de 1997.

Microrganismos multiresistentes	Nº de pacientes N: 45 ^a	Colonização					
		boca		intestino		Ambos	
		n	%	n	%	n	%
MRSA	29 (64,4) ^b	24	82,8	18	62,0	13	44,8
<i>Enterococcus</i>	6 (13,3)	3	50,0	4	66,6	1	16,6
Enterobacteriaceae	8 (17,8)	3	37,5	7	87,5	2	25,0

^a: 2 pacientes não foram colonizados por esses microrganismos

^b: Percentual (%)

As frequências de colonização dos três microrganismos investigados nesta série estão na tabela 3, observando-se pela ordem decrescente: MRSA (64,4%), Enterobacteriaceae (17,8%) e *Enterococcus* (13,3%); a presença de MRSA foi expressiva tanto na boca quanto no intestino, sendo que cerca de 45% dos pacientes tinham estes dois sítios anatômicos colonizados.

Segundo Jarvis (1996), a emergência de colonização por *Enterococcus* resistente à vancomicina (VRE) está relacionada com um aumento no consumo e duração do tratamento com este antimicrobiano¹⁹.

A incidência de infecções por MRSA vem aumentando consideravelmente nos Estados Unidos e em outros países desde 1975. A taxa de colonização por MRSA pode atingir de 0,4% a 1,0% de todos os pacientes internados e cerca de 30% a 60% destes pacientes colonizados podem desenvolver uma infecção por este microrganismo^{3,30}.

Em estudos realizados com amostras de Enterobacteriaceae obtidos de pacientes colonizados relatou-se que, durante a terapia, pôde-se observar a emergência de resistência principalmente aos β -lactâmicos, variando de 20% a 70%, índices variando de acordo com o sítio de colonização, droga usada na terapia e as condições do próprio paciente¹⁶.

Tabela 4 : Emergência de colonização por microrganismos multiresistentes em pacientes internados no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia.

Microrganismo	n de pacientes n = 45 (%)	colonização			
		boca		intestino	
		1 ^a c	≥2 ^a c	1 ^a c	≥2 ^a c
		n %	n %	n %	n %
MRSA	29 * (64,4)	10 34,5	14 48,3	6 20,7	12 41,4
<i>Enterococcus</i>	6 ** (13,3)	0 -	3 50,0	1 16,6	3 50,0
Enterobacteriaceae	8 *** (17,7)	2 25,0	1 12,5	4 50,0	3 37,5

* 13 pacientes estavam colonizados simultaneamente na boca e intestino.

** 1 paciente estava colonizado simultaneamente na boca e intestino

*** 2 pacientes estavam colonizados simultaneamente na boca e intestino

A emergência de amostras resistentes no decorrer do tratamento por vancomicina e/ou ceftazidima é apresentada na tabela 4.

A análise dos dados relativos aos 6 pacientes colonizados com *Enterococcus* evidencia que a maior parte das amostras (66,6%) foram provenientes do intestino, e dentre estas, três amostras (75%) foram isoladas a partir da segunda semana de uso de vancomicina.

O número de pacientes colonizados por MRSA a partir da segunda semana foi semelhante (45%) nos dois sítios considerados.

A metade dos pacientes com Enterobacteriaceae já se encontravam colonizados no intestino quando da primeira coleta e três (37,5%), a partir da segunda semana de antibioticoterapia. Esses dados estão de acordo com Sanders e Sanders (1997), onde relataram que a emergência de resistência às

cefalosporinas de amplo espectro (terceira geração) pode ser detectada após 24 horas do início da terapia ou pode requerer de 2 a 3 semanas.

Segundo Gold (1986), a maioria dos isolados clínicos enterocócicos são *E. faecalis* (80 -90%) e *E. faecium* (5 -10%)¹². Nesta série um terço dos isolados correspondentes a este gênero foram identificados como *Enterococcus faecium* (Tabela 5), refletindo a utilização de vancomicina no meio de cultura em que foi feito o cultivo primário^{12,15,24}.

Os bacilos Gram negativos multiresistentes, principalmente *Enterobacter* spp, têm contribuído de forma significativa nas estatísticas de infecção hospitalar, principalmente onde a utilização de cefalosporinas é alta, sendo que as espécies mais freqüentes são *Enterobacter aerogenes* e *Enterobacter cloacae*. Nos EUA, *Enterobacter* spp é o terceiro patógeno mais comumente encontrado nas pneumonias (11,1% de todos os isolados), o quarto microrganismo isolado de ferida cirúrgica (10,3%), o quinto isolado de infecção dos tratos urinário e circulatório^{16,17}. No entanto, na família Enterobacteriaceae, *E.coli* continua a ser o patógeno hospitalar mais encontrado⁹.

Tabela 5: Espécies de estafilococos, enterococos e Enterobacteriaceae coletadas de boca e intestino de pacientes colonizados no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, no período de fevereiro a junho de 1997.

ESPÉCIE	boca		intestino		TOTAL
	n	%	n	%	
Gram positivas(n=56)					
<i>Staphylococcus aureus</i>	21	51,2	20	48,8	41
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	10	66,6	10
<i>Enterococcus faecium</i>	3	20,0	2	13,3	5
Gram negativas (N=13)					
<i>Salmonella</i>	-	-	1	7,7	1
<i>Citrobacter freundii</i>	-	-	2	15,4	2
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	7,7	3	23,1	4
<i>E. coli</i>	-	-	3	23,1	3
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-	1	7,7	1
<i>Providencia stuartii</i>	1	7,7	1	7,7	2

Das 41 amostras de *S. aureus*, 51,2% foram isoladas da boca e 48,8% do intestino, enquanto a maioria daquelas de *Enterococcus faecalis* (66,6%) foram de origem intestinal. Três, das cinco amostras identificadas como *E. faecium*, foram provenientes da boca. Entre os representantes da família Enterobacteriaceae, o gênero *Enterobacter* foi o mais freqüente, com as seguintes

espécies: *Enterobacter aerogenes* (23,1%) e *Enterobacter cloacae* (7,7%). Entretanto, no total, *E. coli* foi o Gram negativo mais encontrado (23,1%).

A prevalência de resistência das amostras de *Enterococcus* a níveis altos de aminoglicosídeos apresenta considerável variação geográfica^{4,12}. Esse tipo de resistência é devida a plasmídeos que mediam a produção de enzimas que inativam o antibiótico. Níveis altos de resistência à gentamicina estão associados com a produção de enzimas acetilase e fosfotransferase, que conferem resistência a todos os aminoglicosídeos, exceto à estreptomicina. Já os antimicrobianos do grupo dos glicopeptídeos (vancomicina e teicoplanina) inibem a síntese da parede celular pela interação com o grupo terminal D-alanil -D-alanina presente nos precursores da molécula de peptideoglicano. O mecanismo que determina a resistência aos glicopeptídeos envolve a modificação na composição desse dipeptídeo terminal^{8,12}.

A resistência à metilina e aos demais β -lactâmicos em amostras de MRSA está associada à produção de uma PLP, denominada PLP2a ou PLP2', com reduzida afinidade pelos β -lactâmicos. O gene responsável por essa PLP, o mec A, corresponde a um segmento de DNA de 40 a 60 Kb presente no cromossomo bacteriano².

A partir da década passada, surgiram amostras de Enterobacteriaceae resistentes a cefalosporinas de terceira geração através da produção de β -lactamases denominadas ESBLs. A produção de ESBL é devida à presença de plasmídeos que possuem outros genes de resistência a antimicrobianos, limitando as opções terapêuticas.

Tabela 6. Resistência aos antimicrobianos de amostras de *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* e Enterobacteriaceae, do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, no período de fevereiro-junho/97.

MICROORGANISMO	AMOSTRAS (%)	RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA
<i>Staphylococcus aureus</i> (n=41)	20 (48,8) 11 (26,8) 10 (24,4)	OX SFT CL PN CRO CFO RF EI AM GN CF CO CIP AP TT IPM OX SFT CL PN CRO CFO EI AM GN CF CO CIP AP TT IPM AMP CL CO EI GN SFT
<i>Enterococcus</i> (n=15)	4 (26,7) 3 (20,0) 5 (33,3) 3 (20,0)	VC AMP PN GN AMP PN GN GN PN VC VC PN
Enterobacteriaceae (n=13)	9 (69,2) 1 (7,7) 3 (23,1)	CTX GN AMP CAZ CF CRO CPO CFO AMP CAZ CRO AMP

PN-penicilina; AMP-ampicilina; EI-eritromicina; CO-cloranfenicol; OX-oxacilina; IPM-imipenem; CF-cefalotina; CFO-cefoxitina; CRO-ceftriaxona; CL-clindamicina; SFT-sulfametoxazol-trimetoprima; GN-gentamicina; AM-ampicilina; CIP-ciprofloxacina; TT-itetraciclina; RF-rifampicina; VC-vancomicina; CTX-ceftaxima; CAZ-caftazidima; ATM-aztreonam; CPM-cepima; CFR-cefpiroma.

Nesse estudo, como evidenciado na Tabela 6, foi testada a atividade de 17 antimicrobianos para as amostras de *S. aureus*, sendo que 48,8% foram resistentes a 16 dos mesmos, mas todos (41) foram multiresistentes, ou seja, resistentes a pelo menos dois antimicrobianos de composição química diferente. A vancomicina foi o único antimicrobiano para os quais todas as amostras de *S. aureus* foram susceptíveis. Dentre as amostras de *Enterococcus*, cerca de 80,0% das amostras foram resistentes à três ou mais antimicrobianos. Para as amostras de Enterobacteriaceae, foi testada a atividade de 11 antimicrobianos, sendo nove (69,2%) amostras resistentes a oito antimicrobianos e susceptíveis somente os imipenem, aztreonam e cefepima. Embora no cultivo primário tenha sido empregado meios seletivos contendo oxacilina, vancomicina e ceftazidima para o isolamento de MRSA, *Enterococcus* e Enterobacteriaceae, foram encontradas 24,4%, 20,0% e 23,1% de amostras destes microrganismos respectivamente, com susceptibilidade à esses antimicrobianos.

Durante o período de vigilância adotado nesta investigação, observou-se que a maioria dos pacientes colonizados por *Enterococcus* (83,3%), Enterobacteriaceae (75,0%) e MRSA (82,8%) evoluíram bem, obtendo alta hospitalar. Entretanto, um quarto dos pacientes com Enterobacteriaceae e aproximadamente 17% dos pacientes com *Enterococcus* ou MRSA foram a óbito. Estes dados estão na tabela 7.

Tabela 7 : Evolução clínica dos pacientes colonizados por microrganismos resistentes, de pacientes internados no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, no período de fevereiro a julho de 1997.

EVOLUÇÃO	ENTEROBACTERIACEAE n=8	ENTEROCOCCUS n=6	MRSA n=29
ÓBITO	2 (25,0)	1 (16,7)	5 (17,2)
ALTA	6 (75,0)	5 (83,3)	24 (82,8)

n: Número de pacientes

A disseminação de plasmídeos responsáveis pelas β -lactamases de espectro ampliado entre bactérias Gram-negativas vem ocorrendo de forma rápida no ambiente hospitalar. A técnica mais rápida de detectá-los é a de sinergismo referida como de duplo disco^{1,25}. Neste teste, discos de β -lactâmicos, usualmente ceftazidima, cefotaxima e aztreonam, são aplicados numa placa de ágar Muller-Hinton após a semeadura da amostra juntamente com um disco contendo ácido-clavulônico (inibidor de β -lactamase) mais amoxicilina. Nos casos positivos ocorre uma intensificação no halo de inibição correspondente às cefalosporinas e/ou aztreonam nas proximidades daquele com o inibidor (ácido clavulônico)²⁵.

Tabela 8.. Detecção de β -lactamases de espectro ampliado em amostras de colonização de Enterobacteriaceae provenientes de intestino e boca, resistentes a ceftazidina e cefotaxima.

ESPÉCIE	SINERGISMO	
	Positivo	Negativo
<i>Enterobacter aerogenes</i> (n=4)	-	4
<i>Enterobacter cloacae</i> (n=1)	-	1
<i>Escherichia coli</i> (n=3)	2	1
<i>Salmonella sp.</i> (N=1)	-	1
Total	2	7

De acordo com os dados da tabela 8, entre as nove amostras que foram resistentes à ceftazidima e cefotaxima, duas (22,2%) foram positivas, correspondentes à espécie *E. coli*. Isto foi evidenciado pela potencialização dos halos de inibição ao redor dos discos de aztreonam e das cefalosporinas de terceira geração (ceftazidima e cefotaxima) pelo ácido clavulônico.

5 -CONCLUSÕES

A presença de microrganismos (MRSA, VRE e Enterobacteriaceae multiresistentes) epidemiologicamente importantes foi documentada no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia fazendo parte da microbiota de pacientes em uso de vancomicina e/ou ceftazidima. A maior incidência foi de *Staphylococcus aureus* seguido de Enterobacteriaceae e *Enterococcus* numa escala decrescente.

O único fator de risco significativo para os três microrganismos foi o tempo de hospitalização. O uso de antimicrobianos β -lactâmicos foi significativo para as Enterobacteriaceae, enquanto os procedimentos invasivos só foram associados com a presença de MRSA.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1-BARON,E.J.; PETERSON,L..R & FINEGOLD,S.M. (eds.). Bailey & Scott's. *Diagnostic microbiology*. 8th.ed. Mosby co. St. Louis 1994.
- 2-BOYCE,J.M. - Increasing prevalence of Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in the United States. *Infection Control and Hospital Epidemiology* v.11,p.639-642 , 1990
- 3-BOYCE, J.M. - Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in hospitals and long term care facilities; microbiology, epidemiology and preventive measures. *Infection Control and Hospital Epidemiology*. v.13,p. 725-737, 1992.
- 4-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. 2,p.83-90, 1997.
- 5-COHEN,M.L. Epidemiology of Drug Resistance : Implication for a Post Antimicrobial Era. *Science*. v. 257,p. 1050-1055, 1992.
- 6- COLLINS, C.H.; LYNE, P.M. & GRANCE, J.M. (eds.). *Microbial Methods* 7 th. ed. Butterwerth - Heinemann. Oxford, 1995.

- 7 - COOKSON, B. et al.. Staff carriage of epidemic Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiol.* v.27,p.1471- 1476, 1989.
- 8- DAHLBERG P. S., SIELAFF T. D. and DUNN D. L. Emergencing Resistance in Staphylococci and Enterococci *Infectious in Clinical Practice*, v.5, p.549 - 556, 1996.
- 9 - DE CHAMPS,C., SAUVANT,M.P. & CHANAL, C.. Prospective Survey of colonization and infection caused by expanded- spectrum β -lactamase producing members of the family Enterobacteriaceae in an Intensive Care Unit. *Journal Clinical Microbiology.* v.27,p. 2887-2890, 1989.
- 10 DEMBY,L. M., UZOKWE, K. & ZERVOS, M.J. Control of Endemic Glicopeptide - Resistant Enterococci. *Infection Control and Hospital Epidemiology* .v.17, n.5, p. 286-292, 1986.
- 11- FILHO, L.S.; FREITAS, F.I.S. & JÚNIOR, J.P.S. - Evolution of Drug - resistance in *Staphylococcus aureus* from a brazilian university hospital. *F. Med. (Br)*. 108 (4): 101- 103, 1994.
- 12- GOLD, H.S.MOELLING, R.C.Jr. Antimicrobial drug resistance N-Gng. *Journal of Medicine.* 335 (19): 1445-1452, 1986.
- 13- GORDTS, D., et al. Vancomicin- Resistant Enterococci Colonizing the Intestinal Tracts of Hospitalized Patients. *Journal of Clinical Microbiology.* v..33, n.11, p2842-2846. 1995.

- 14- GRAY, J.W. & PEDDLER, S. J. Antibiotic-resistant enterococci. *Journal of Hospital Infection* v.21, p.1-14, 1992.
- 15- HORN, K. G. Van et al Evaluation of commercial Vancomycin Agar screen plates for detection of Vancomycin resistant Enterococci. *Journal of clinical microbiology*, p. 2042-2044, 1996.
- 16- JACOBSON et al. The relationship between antecedent antibiotic use and resistance to extended-spectrum cephalosporins in group I β -lactamase producing organisms. *Clinical Infections Diseases*. v. 21. p.1107 - 1113, 1995.
- 17- JACOBY, G.A and MEDEIROS, ANTONIA A. More Extended-spectrum β -lactamases. *Minireview*. v. 35. n 9, p 1697 - 1704, 1991.
- 18- JACOBY, G.A. Antimicrobial-Resistant Patogens in the 1990s. *Annual Reviews medicine* v.47, p.169-179, 1996.
- 19- JARVIS, W.R. Preventing the emergence of multidrug-resistant microorganisms through antimicrobial use-controls: the complexity of the problem. *Infection Control and Hospital Epidemiology*. v.17, n.8, p.490-495, 1996.
- 20- JETT, B. D., MARK M. H. and MICHAEL S. G. virulence of Enterococci. *Clinical Microbiology Reviews*. v.7, p.462-478, 1994.

- 21- JONH A. JERNIGAN MD, MS et al. Control of Methicillin -Resistant *Staphylococcus aureus* at a University Hospital: One Decade Later. *Infect Control and Hospital Epidemiology*.
- 22- JONH P., FLAHERTY, MD. & ROBERT A. WEINSTEIN, MD, FACP. Nosocomial Infection Caused by Antibiotic- Resistant Organisms in the Intensive Care Unit. *Infection Control and Hospital Epidemiology*. v. 17. n.4, p.236-243, 1996.
- 23- LEAL, G. S. M.N.M. Fonseca & P.P.Gontijo Filho. Fatores de risco para infecções hospitalares por *S. aureus* resistentes ou susceptíveis à oxacilina no Hospital de Clínicas (HC) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU). *Anais do XIX Congresso Brasileiro de Microbiologia*. p.51,1997
- 24- LECLEREQ, R. and COURVALIN,P. Resistance to glycopeptides in Enterococci. *Clinical Infectious Diseases* v. 24, p. 545-556, 1997.
- 25- LIVERMORE, D. M. β - lactamases in Laboratory and Clinical Resistance. *Clinical Microbiology Reviews*. v. 8. n.4 , p 557- 584, 1995.
- 26- LIU et al. Detection of Borderline Oxacillin- Resistant *Staphylococcus aureus* and Differentiation from Methicillin - Resistant Strains. *E. Journal. of Clinical. Microbiology. Infection. Diseases*. v. 9, p.717-724..
- 27- MOUTHON and MAINARDI - Vancomycin resistant enterococci and Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: the gram-positive challenges. *Nosocomial Infectious Diseases*, p.256-260, 1996.

- 28- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. Approved Standard₂ - A₅ NCCLS, Villanova, P.A., 1993.
- 29- NEUMANN, M.A., SAHIM, D.F. & THORNSBERRY, C., New Developments in Antimicrobial Agent Susceptibility Testing: A practical Guide. Cumitech 6^A. American Society for Microbiology. Washington, D.C, 1991.
- 30- PANLILIO, A.L. et al -Methicillin- resistant *Staphylococcus aureus* in U. S. Hospital, 1975- 1991. *Infection Control Hospital Epidemiology* v.13,p.582 - 586, 1992.
- 31- PEÑA, et al. Risk factors for faecal carriage of *Klebsiella pneumoniae* producing extended spectrum β - lactamase (ESBL - KP) in the intensive care unit. *Journal of Hospital Infection.*, p 9-16. 1997
- 32- TAVARES, W. Fosfomicina, Polimicina e grupo da Vancomicina. *Manual de antibióticos quimioterápicos antiinfeciosos*. Ed. Atheneu, p. 450-465. 1990.
- 33- THOMPSON, R.L.; CABEZUDO, I. & WENZEL, R.P. -Epidemiology of Nosocomial infections caused by Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *American International Medicine* v. 97, p.309-317, 1982.
- 34- SANDERS C.C. & SANDERS Jr. W. E. Resistance in Gram-negative Bacteria: Global Trends and Clinical Impact. *Sanders and Sanders*. v.15, p. 824-833, 1992.

- 35- SIMJEE S. and GILL M.J. Gene transfer, gentamicina resistance and enterococci. *Journal of Hospital Infection*. v.36, p.249-259. 1997.
- 36- WOODFORD, N. et. al. Current Perspective on Glycopeptide Resistance. *Clinical Microbiology Reviews* v.8, n.4, p.585-606, 1995.

ANEXO

Anexo-1

VIGILÂNCIA DO USO DE DETERMINADOS ANTIMICROBIANOS VIA FARMÁCIA HOSPITALAR.

Data:

N da ficha:

Nome do paciente: _____

Prontuário:

Idade:

Enfermaria:

Data de internação:

Data de coleta:

Transferido:

Sexo:

Leito:

Sim Não

Doença de base: _____

Diagnóstico clínico: _____

Diagnóstico laboratorial: Sim Não

Evolução : Alta Óbito

Cirurgia: Sim Não
Qual?

Antimicrobianos: Sim Não
Quais?

Terapêutica: Empírica G. Isolados

Procedimentos Invasivos: Sim Não
Quais?

Coleta de Espécimes:

1º

2º

3º

4º