

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Instituto de Ciências Biomédicas
Programa de Pós Graduação em Imunologia e Parasitologias Aplicadas
SISBI/UFU



1000213780

MON
616.98:615.478
R482j
TES/MEM

**INFECÇÕES HOSPITALARES EM PACIENTES IDOSOS: ASPECTOS
EPIDEMIOLÓGICOS CLÁSSICOS E MOLECULARES ASSOCIADOS**
A Staphylococcus aureus E Enterococcus spp.

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de
Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia
Aplicadas como requisito para a obtenção do
título de Doutor

Rosineide Marques Ribas

UBERLÂNDIA – MG
2003

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Instituto de Ciências Biomédicas
Programa de Pós Graduação em Imunologia e Parasitologias Aplicadas

**INFECÇÕES HOSPITALARES EM PACIENTES IDOSOS: ASPECTOS
EPIDEMIOLÓGICOS CLÁSSICOS E MOLECULARES ASSOCIADOS**
A Staphylococcus aureus E Enterococcus spp.

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de
Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia
Aplicadas como requisito para a obtenção do
título de Doutor

Rosineide Marques Ribas
Orientador: Professor Dr. Paulo P. Gontijo Filho

UBERLÂNDIA – MG
2003

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Instituto de Ciências Biomédicas
Programa de Pós Graduação em Imunologia e Parasitologias Aplicadas

**INFECÇÕES HOSPITALARES EM PACIENTES IDOSOS: ASPECTOS
EPIDEMIOLÓGICOS CLÁSSICOS E MOLECULARES ASSOCIADOS**
A Staphylococcus aureus E Enterococcus spp.

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de
Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia
Aplicadas como requisito para a obtenção do
título de Doutor

Rosineide Marques Ribas
Orientador: Professor Dr. Paulo P. Gontijo Filho
Co-Orientadora: Dra. Ana Lúcia da Costa Darini

UBERLÂNDIA – MG
2003

A Deus,

O Senhor se fez presente em todos os momentos firmes ou trêmulos. E, passo a passo, pude sentir a sua mão na minha, transmitindo-me a segurança necessária para enfrentar meu caminho e seguir.

A Minha Família,

A vocês que compartilharam meus ideais e os alimentaram, incentivando-me a prosseguir na jornada, fossem quais fossem os obstáculos, lutando comigo.

A vocês, que muitas vezes fui motivo de alegrias, outras de tristeza, porém sempre alvo de atenção maior, dedico a minha conquista com a mais profunda admiração e respeito. Sou o que sou hoje à custa de seus sacrifícios. Sejam, pois estas palavras a expressão de minha gratidão e imenso amor.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof^o Dr. Paulo P. Gontijo Filho, pelo apoio, paciência e valiosa orientação sem as quais esse trabalho não poderia ser concluído; assim, a um mestre ensinar é uma arte e, como tal, uma tarefa reservada para poucos, porém privilegiados.

Ao Joaquim Roberto Picciguelli, pela pessoa que é, ajudando-me em todos os momentos.

Aos técnicos do Laboratório de Microbiologia, Claudete e Ricardo, pela colaboração e amizade para que esse trabalho se desenvolvesse da melhor maneira possível. Fazemos parte de uma história, de um cotidiano, mas a convivência nos tornou amigos e cúmplices em todos os momentos.

A professora Dra. Ana Lúcia da Costa Darini, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Ribeirão Preto/USP, SP, pelo apoio e contribuição nas diversas etapas do trabalho e ainda pela oportunidade de incluir profissional tão competente entre nós.

As técnicas do LEBEM, Cris e Joseane, pela colaboração nos testes moleculares e pela amizade durante todo esse tempo. Foi um prazer conhecê-las.

Ao Prof^o Dr. Roberto Martinez, Prof^a Dra. Branca Maria de Oliveira Santos, Dr. Augusto Diogo Filho. e Prof^o Dr. Augusto Cezar Montelli, pela contribuição e participação na defesa de tese.

A área de Imunologia, Microbiologia e Parasitologia, na pessoa de sua chefia, Prof^o Dr. Paulo P. Gontijo Filho, demais docentes e funcionários, pela amizade e presteza, sempre presentes.

Aos colegas e professores do Laboratório de Microbiologia, pelo constante incentivo em aprimorar minha formação científica, em especial à prof^a Daise, prof^a Fúlvia, prof^o Geraldo

Melo, profª Renata, Geraldo Sadoyama, Helisangêla e Denise pelos bons momentos que tenho a recordar desta fase da minha vida.

A um amigo muito especial João Martins Neto, pela paciência e colaboração em todos os momentos, muito obrigada.

Ao Tomaz pela amizade, profissionalismo e apoio sempre presente.

Aos profissionais do laboratório de Microbiologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, obrigada pelas coletas.

Ao coordenador do curso de pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas, pelos esclarecimentos necessários.

Aos pacientes incluídos no meu estudo, extensivo a seus familiares, em respeito a sua dor, sem os quais este trabalho não teria sido efetivado.

Aos profissionais do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia que tornaram possível a realização do meu trabalho.

A todos os demais amigos que fazem parte de todos esses momentos.

*Se não podes ser uma árvore sobre a colina,
sejas um graveto no vale;*

*Mas, sejas o melhor graveto de todas as
léguas em derredor.*

*Se não podes ser uma estrada, sejas uma
vereda.*

Se não podes ser o sol, sejas uma estrela.

O valor não se mede pelas dimensões.

*Sejas o que fores que o sejas
profundamente”.*

Luther King.

RESUMO

Foi analisada uma coorte de 155 pacientes idosos (≥ 65 anos), selecionados através de estudos de prevalência repetidos em Janeiro/1999, Fevereiro/2000 e Outubro/2000. Foram avaliadas as taxas de infecções hospitalares e comunitárias, principais síndromes infecciosas e os fatores de risco intrínsecos e extrínsecos relacionados, em pacientes adultos e idosos. Adicionalmente, foram realizadas coletas de materiais clínicos provenientes da narina, boca e cavidade anal para a pesquisa de *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus* spp. Foi realizada uma vigilância no laboratório de Microbiologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU), de bacteremias hospitalares por esses microrganismos em pacientes adultos, incluindo os idosos; os isolados foram identificados em nível de gênero e espécies por testes tradicionais e a resistência “*in vitro*” aos antimicrobianos foi determinada através dos testes de difusão e diluição em gel. Foi detectada ainda a presença do gene *mecA* e genes *van* em amostras de MRSA (“Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*”) e enterococos, respectivamente, através da técnica multiplex PCR. Os graus de similaridade genética entre amostras de *Enterococcus* selecionadas, considerando-se as clínicas/serviços mais representativas foram analisadas através do PFGE (“Pulsed-field Gel Electrophoresis”). As taxas de infecções hospitalares e comunitárias foram 16,1% e 25,6%, respectivamente, sem diferenças estatísticas entre adultos e idosos. Quando a análise estatística incluiu apenas os idosos, praticamente todos os fatores de risco considerados foram associados com infecção hospitalar, com destaque para: tempo de hospitalização longo, em uso de antibiótico e de mais de dois procedimentos invasivos sobressaindo cateter intravascular e cirurgia. Os pacientes idosos apresentaram uma alta taxa de colonização por *Staphylococcus aureus* (55,6% na narina e 38,9% no intestino), com 39,0% de resistência à oxacilina. A análise univariada dos fatores de risco para bacteremias hospitalares por MRSA indicou significância para os

seguintes: presença de mais de um diagnóstico, paciente cirúrgico, tempo de internação, uso de antibióticos e procedimentos invasivos como sonda vesical e dreno, sem no entanto relação de risco com os pacientes com mais de 60 anos. É descrito o primeiro isolado de *Enterococcus faecalis* (*vanA*) em uma paciente com episódio de infecção cirúrgica, politraumatizada, em uso de vancomicina e cefalosporina de 3ª geração. Esta amostra apresentou um perfil de similaridade de aproximadamente 80,0% com um segundo isolado, sem no entanto, qualquer relação epidemiológica quanto ao tempo e clínica de internação. As demais amostras apresentaram perfis de similaridade clonal variando de 36,0% a 91,0%.

ABSTRACT

Three one-week survey was conducted to determine the prevalence rate of nosocomial infections in elderly patients (65 years of age or older). We examined nosocomial and community infections rates and their relationship with intrinsic and extrinsic risk factors in a Brazilian University Hospital. Additionally, a colonization survey was carried out from their nares, oropharynx and intestine the presence of *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus* spp. Finally, a laboratory surveillance was conducted during the period to detected nosocomial bacteremias by this organisms considering adults patients and elderly patients. Isolates were identified to species level by classical methods and antimicrobial susceptibility by using gel diffusion and dilution methods. *mecA* gene and *van* genes were investigate in MRSA isolates ("Methicillin- resistant *Staphylococcus aureus*") and *Enterococcus* spp., respectively, by polymerase chain reaction. The pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) patterns to eleven *Enterococcus* isolates recovered in different clinics/services was performed. The overall prevalence of elderly patients with nosocomial and community infections were 16,1% and 25,6%, respectively without differences when compared with adults patients. On the other hand, when the elderly group was considered almost all risk factors (use of antibiotics, invasive devices, surgery and time of hospitalization) were found to be significantly associated with hospital infection. The colonization rate for *Staphylococcus aureus* was high (55,6% in nostril and 38,9% in intestine), with 39% of the isolates oxacillin resistant. Risk factors to nosocomial bacteremias by MRSA included: more than one diagnostic, surgery, time of hospitalization, use of antibiotics and devices invasives, but was not related with advanced age (60 years of age or older). We describe the first isolate of vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* (*vanA*) in a surgical patient, poly-traumatic, vancomycin and ^{3th}

cephalosporins treated. The strain was clonally related as shown by PFGE to another isolate who was not the same ward and was treated of different time.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 – Prevalência de infecções hospitalares de acordo com os sítios anatômicos afetados, em pacientes adultos e idosos internados no HC-UFU..... 53
- FIGURA 2 – Presença de infecção hospitalar (IH) e comunitária (IC) em pacientes colonizados ou não com MRSA. 57
- FIGURA 3 – Distribuição dos pacientes com bacteremias primárias hospitalares por MRSA e MSSA por clínicas/serviços detectados pela vigilância laboratorial, no período de Fevereiro/2000 a Agosto/2001. 59
- FIGURA 4 – Distribuição de amostras de *S. aureus* associadas à colonização e infecção, submetidas a análise da presença do gene *mecA* e produção de β -lactamase, de acordo com as CIMs para oxacilina. 63
- FIGURA 5: Modelo representativo de PFGE de 9 isolados de *Enterococcus faecalis* e dois isolados de *Enterococcus faecium*. Linha M representa o concatâmero do DNA lambida. Linhas 01 e 23, *Enterococcus faecium*. 65

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Características fenotípicas utilizadas para a identificação das espécies de <i>Enterococcus</i> e gêneros relacionados ^a	39
TABELA 2: Sequências dos “primers” utilizados na reação de PCR para a detecção dos genes <i>mecA</i> , <i>mupA</i> e 16S rRNA de estafilococos	44
TABELA 3: Ciclo de amplificação para reação de multiplex PCR	44
TABELA 4: Sequências iniciadoras utilizadas na realização do PCR para enterococos.	46
TABELA 5: Ciclo de amplificação para reação de multiplex PCR	47
TABELA 6: Características dos pacientes adultos e idosos internados no HC-UFU, detectados pela vigilância via enfermagem, nos períodos de Janeiro/1999, Fevereiro/2000 e Outubro/2000.	50
TABELA 7: Fatores de risco dos pacientes adultos e idosos com infecção hospitalar internados no HC-UFU	52
TABELA 8: Fatores de risco dos pacientes idosos com e sem infecção hospitalar internados no HC-UFU	52
TABELA 9: Distribuição dos pacientes, adultos e idosos com infecção hospitalar, por clínicas/serviços detectados pelo sistema de vigilância via enfermagem, no período de Janeiro/1999 e Fevereiro/2000	53
TABELA 10: Tratamento de pacientes adultos e idosos com infecção hospitalar com e sem diagnóstico microbiológico	54
TABELA 11: Episódios de infecção hospitalar em pacientes adultos e idosos com e sem diagnóstico microbiológico de acordo com o sítio de isolamento do microrganismo	54
TABELA 12: Colonização por <i>S. aureus</i> resistente ou não à oxacilina em pacientes idosos obtidos através dos inquéritos de prevalência, internados no HC-UFU	55

TABELA 13: Fatores de risco para colonização por <i>Staphylococcus aureus</i> em pacientes idosos internados no HC-UFU	56
TABELA 14: Característica dos pacientes com bacteremias primárias hospitalares por MRSA e MSSA.....	58
TABELA 15: Análise univariada da terapia antimicrobiana dos pacientes com bacteremias primárias hospitalares por MRSA e MSSA.....	60
TABELA 16: Perfil de resistência aos antimicrobianos em pacientes com bacteremias primárias hospitalares por MRSA e MSSA.....	60
TABELA 17: Características dos pacientes com infecção por <i>Enterococcus</i> spp. internados no HC-UFU, obtidos pela vigilância laboratorial	61
TABELA 18: Correlação dos testes de susceptibilidade do CIM, difusão com disco para oxacilina, agar triagem com oxacilina, β -lactamase com a presença do gene <i>mecA</i> para 44 isolados de <i>S. aureus</i>	63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- 1 ARA – Arabinose
- 2 ARG – Arginina
- 3 BHI – “Brain Heart Infusion”
- 4 CDC – “Centers for Diseases Control and Prevention”
- 5 CI – “Confidence Intervals”
- 6 CIM – Concentração Inibitória Mínima
- 7 DNA – Ácido Desoxidoribonucléico
- 8 DNase – Desoxiribonuclease
- 9 EDTA – Ácido Etilenodiaminotetraacético
- 10 EFRO – Efrotomicina
- 11 EUA – Estados Unidos da América
- 12 HC-UFU – Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia
- 13 HLR – “High Level Resistance”
- 14 IC – Infecção Comunitária
- 15 IH – Infecção Hospitalar
- 16 INSPEAR – “International Networks for the Study and Prevention of Emerging Antimicrobial Resistance”
- 17 MAN – Manitol
- 18 MGP – Metil α glicopiranosida
- 19 mL – Mililitro
- 20 MOT – Motilidade
- 21 MRSA – “Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*”
- 22 MRSE – “Methicillin-Resistant *Staphylococcus epidermidis*”

- 23 MSSA – “Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus*”
- 24 NaCl – Cloreto de Sódio
- 25 NCCLS – “National Committee for Clinical for Laboratory Standards”
- 26 NNIS – “National Nosocomial Infections Surveillance System”
- 27 OR – “Odds Ratio”
- 28 PBP – “Penicillin Biding Protein”
- 29 PCR – “Polymerase chain reaction”
- 30 PFGE – “Pulsed-field Gel Electrophoreses”
- 31 PIG – Pigmento
- 32 PIR – Piruvato
- 33 PR – Paraná
- 34 PYR – Pirrolidonyl β -naftilamida
- 35 R – Resistente
- 36 RAF – Rafinose
- 37 RNA – Ácido ribonucléico
- 38 rpm – Rotação por Minuto
- 39 S – Sensível
- 40 SBL – Sorbitol
- 41 SCoN – *Staphylococcus coagulase negativo*
- 42 SOR – Sorbose
- 43 SUC – Sucrose
- 44 TEL – Telurito
- 45 TSA – “Trypticase Soy Agar”
- 46 TSB – “Trypticase Soy Broth”
- 47 TBE – Tris, Ácido Bórico, EDTA

- 48 UFC – Unidades Formadoras de Colônia
- 49 UFRJ – Universidade Federal do Rio de Janeiro
- 50 UTI – Unidade de Terapia Intensiva
- 51 UV - Ultravioleta
- 52 VRE – “Vancomycin-Resistant *Enterococcus*”
- 53 μg – Micrograma
- 54 μL – Microlitro

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT	10
LISTA DE FIGURAS	12
LISTA DE TABELAS	13
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	15
1 INTRODUÇÃO	20
1.1 Infecções hospitalares	20
1.2 <i>Staphylococcus</i> spp.	23
1.2.1 Pesquisa dos genes <i>mecA</i> e <i>mupA</i>	26
1.3 <i>Enterococcus</i> spp.	27
1.4 Tipagem epidemiológica	31
2 JUSTIFICATIVAS	33
3 OBJETIVOS	34
4 CASUÍSTICA E MÉTODOS	35
4.1 Hospital	35
4.2 Desenho do estudo	35
4.3 Definições de vigilância	35
4.3.1 Vigilância através da busca de pacientes	36
4.3.2 Vigilância laboratorial	36
4.4 Cultura	37
4.5 Identificação das amostras bacterianas	37
4.5.1 <i>Staphylococcus</i> spp.	37
4.5.2 <i>Enterococcus</i> spp.	37
4.6 Testes de susceptibilidade aos antimicrobianos	40
4.6.1 Teste de difusão em gel	40
4.6.2 Teste da concentração mínima inibitória	41
4.6.3 Teste de triagem para detecção de resistência à oxacilina e a níveis elevados de antimicrobianos	41
4.7 Pesquisa da enzima β -lactamase	42
4.8 Métodos de tipagem molecular	43
4.8.1 Detecção do gene <i>mecA</i> e <i>mupA</i> e 16S rRNA pela técnica de reação em Cadeia da Polimerase (multiplex PCR)	43
4.8.2 Detecção dos genes <i>van</i> em <i>Enterococcus</i> pelo multiplex PCR	45
4.8.3 Análise do perfil de fragmentação do DNA cromossomial por eletroforese em campo pulsado ("Pulsed-Field Gel Electrophoresis", PFGE)	47
4.9 Termo de consentimento e comissão de ética	48

4.10 Análise estatística.....	49
5 RESULTADOS	50
6 DISCUSSÃO	66
7 CONCLUSÕES.....	79
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81
ANEXO A.....	100
ANEXO B.....	101
APÊNDICE A	102
APÊNDICE B.....	103

1 INTRODUÇÃO

1.1 Infecções hospitalares

As infecções adquiridas nos hospitais representam uma das principais causas de morbidade, mortalidade e custos, principalmente na população idosa com mais de 65 anos de idade (CHAN, 1990; PONCE DE LEON, 1991; HUSSAIN, 1996; GAVAZZI; KRAUSE, 2002).

Atualmente, todos os países enfrentam o problema do envelhecimento global, mas em países em desenvolvimento como o Brasil esse envelhecimento é mais rápido do que o restante do mundo. As infecções nessa população, além de ser mais freqüente e severa, também apresentam características distintas em relação a vários fatores principalmente a sua apresentação clínica, agente etiológico e tratamento (GAVAZZI; KRAUSE, 2002). As razões para essa maior susceptibilidade incluem fatores epidemiológicos, imunosenescência e mal nutrição, bem como alterações anatômicas e fisiológicas associadas a idade. Assim, o paciente idoso é mais susceptível às infecções, principalmente em função do declínio da resposta imune, existência freqüente de doenças crônicas como diabetes *Mellitus*, permanência longa nos hospitais e uso de antimicrobianos (BEAUJEAN et al., 1997; STRAUSBAUGH, 2001).

Durante a internação, o paciente idoso tem maior chance que o jovem de desenvolver infecção hospitalar. Segundo dados do National Nosocomial Infections Surveillance System (NNIS) do Centro de Controle de Doenças do EUA (CDC), de 337 mil internações hospitalares de pacientes com 15 anos ou mais em hospitais americanos relatadas no período de 1976 a 1988, 34% das altas hospitalares, 46% das infecções hospitalares e 54% das mortes por infecção hospitalar ocorrem na população com 65 anos ou mais (SMITH, 1989). Nesse estudo os idosos foram responsáveis por uma taxa desproporcional de infecções hospitalares

(46%) em comparação com o percentual de internações hospitalares (34%) e em relação à população de 14 a 59 anos.

Certas infecções são mais prevalentes em idosos que em adultos jovens. As mais comuns incluem aquelas devido a bactérias piogênicas, em particular, as infecções do trato urinário, pneumonia, diverticulite, endocardite, bacteremia e infecções de pele e tecidos moles, além disso, devido ao uso freqüente de procedimentos invasivos, o paciente permanece mais tempo internado. O tipo de microrganismo encontrado durante uma infecção específica é diferente na população idosa e as mudanças na microbiologia podem ser relacionadas à própria idade ou as co-morbidades associadas. Além disso, há uma grande diversidade de patógenos quando comparado com a população adulta (GAVAZZI; KRAUSE, 2002).

Por mais de duas décadas, a incidência de infecções graves como sepse devido à bactérias Gram-positivas aumentou significativamente em todo o mundo. Um relato recente do NNISS indicou que microrganismos Gram-positivos, incluindo SCoN, *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus*, são considerados as principais causas (63,0%) de infecções sanguíneas nosocomiais associadas a cateteres (RICHARDS et al., 1999). As infecções sanguíneas adquiridas nos hospitais constituem um sério problema de saúde e estão associadas com alta mortalidade e morbidade resultando no aumento dos custos hospitalares (CORREA; PITTET, 2000; KARCHMER, 2000).

A freqüência dessas infecções sanguíneas, sua epidemiologia e os microrganismos têm mudado em paralelo com a evolução da medicina, particularmente com a emergência de uma grande população de pacientes doentes e imunocomprometidos que freqüentemente dependem de suportes médicos e/ou equipamentos invasivos, sendo que mais de 50,0% dessas infecções são adquiridas no hospital. É estimado que somente nos Estados Unidos tenha cerca de 250.000 episódios de bacteremias hospitalares anualmente e quando essas infecções ocorrem em pacientes de unidades de terapia intensiva, elas são associadas como uma taxa de

mortalidade de 35,0% (KARCHMER, 2000). O principal fator de risco para infecções sanguíneas hospitalares é o grupo de cateteres vasculares, sendo que mais de 87,0% dessas infecções ocorrem entre aqueles pacientes com cateter vascular central (VINCENT, 2003).

A resistência a muitos antibióticos usados no tratamento de infecções causadas por bactérias Gram-positivas tornou-se comum para os isolados associados com infecções sanguíneas hospitalares. Em um estudo do SCOPE, 80,0% de 3908 *Staphylococcus* coagulase negativos causando essas infecções foram resistentes a metilina e outros antibióticos β -lactâmicos, assim como o *S. aureus* com uma porcentagem de 29,0% de 1928 isolados. A resistência a vancomicina foi observada em 18,0% de todos os enterococos (EVANS, KORTAS, 1996).

O uso indiscriminado e intensivo de antimicrobianos nas últimas décadas, levou a uma situação em que grande porcentagem dos microrganismos causadores de infecções hospitalares apresentam resistência aos mesmos, diminuindo, de forma rápida e significativa, a possibilidade do seu emprego terapêutico, além disso, novos modelos epidemiológicos foi descrito para microrganismos hospitalares multiresistentes. Os antimicrobianos estão entre as drogas mais utilizadas em todo o mundo, particularmente em países como o Brasil onde 40,0% a 50,0% dos pacientes internados estão em uso destes medicamentos (MARANGONI; VIEIRA, 1987; KUNIN, 1993; NOGUEIRA, GONTIJO FILHO, 1995; McGOWAN, 2000).

Os hospitais brasileiros sofrem da falta crônica de recursos humanos e financeiros, laboratórios, programas de controle de infecção, e como consequência disso, os pacientes estão sujeitos a maior risco de adquirir infecções hospitalares (PONCE DE LÉON, 1991; TRINDADE, BORGES, GONTIJO FILHO, 1997; GASTMEIER et al., 1998), principalmente se a população é mais susceptível como a de idosos (EMORI et al., 1991; GAVAZZI; KRAUSE, 2002).

A vigilância epidemiológica constitui uma das principais medidas de controle de infecção. O impacto de programas de vigilância na incidência de infecções sanguíneas adquiridas no hospital precisam ser implementadas, bem como avaliação do seu custo-benefício tanto para o paciente quanto para a instituição (CORREA; PITTET, 2000).

Os principais patógenos relacionados com infecções nosocomiais incluem: *Enterococcus* resistente à vancomicina (VRE – “Vancomycin Resistant Enterococci”), *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA – “Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*”) e *Staphylococcus* coagulase negativos (SCon), entre os cocos Gram positivos; e aqueles pertencentes à família *Enterobacteriaceae* e bactérias não fermentadoras como *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia* e *Burkholderia cepacia*, entre os bacilos Gram Negativos (MOELLERING, 1998).

1.2 *Staphylococcus* spp.

O gênero *Staphylococcus* possui 32 espécies, dentre as quais, quinze fazem parte da microbiota normal do homem, sendo o *Staphylococcus aureus* a espécie coagulase-positiva de maior importância clínica (KLOOS; BANNERMAN, 1995). O *Staphylococcus aureus* no indivíduo sadio, é considerado um microrganismo comensal das narinas anteriores, pele úmida, boca e intestino. Essa espécie apresenta propriedades que lhe permite uma rápida colonização e posterior invasão através de pequenas lesões na pele e mucosas. (KLOOS, BANNERMAN, 1995).

Nas últimas décadas, o MRSA tornou-se rapidamente um problema clínico e epidemiológico nos EUA (BOYCE; CAUSEY, 1982), sendo freqüente em hospitais terciários e naqueles ligados ao ensino universitário (BOYCE, 1989; BOYCE, 1994). Em pacientes hospitalizados, a infecção ou colonização por esse tipo de microrganismo constitui um sério

problema, uma vez que se trata de um microrganismo resistente à maioria dos antimicrobianos usualmente disponíveis para o tratamento de estafilocóccias, tais como: β -lactâmicos, aminoglicosídeos, macrolídeos, linconsamina e quinolonas (GONÇALVES et al., 1987). Esta resistência ocorre graças à presença de uma proteína ligadora de penicilina (PBP – “Protein Binding Penicillin”), de baixa afinidade para os β -lactâmicos, chamada de PBP 2' ou PBP 2_a, presente na membrana plasmática e codificada pelo gene cromossômico *mecA* (CHAMBERS, 1988; HACKBARTH; CHAMBERS, 1989). Além deste mecanismo de resistência, a inativação por β -lactamases e a produção de PBPs modificadas (MOD-SA), podem coexistir e até tornar-se interativos (DeLANCASTRE et al., 1991). Hiramatsu et al. (1998) descreveram o primeiro caso de MRSA com reduzida sensibilidade à vancomicina (Concentração Mínima Inibitória = 8 μ g/mL).

No Brasil, estima-se que a prevalência de amostras de MRSA seja alta, principalmente em hospitais de grande porte e/ou de ensino. Um estudo realizado no Hospital São Paulo da Escola Paulista de Medicina mostra que esta prevalência é superior a 50,0% (WEY et al., 1990).

O surgimento de amostras de *S. aureus* multiresistentes nas últimas décadas foi relacionado com a pressão seletiva exercida por esses antimicrobianos e esta resistência proporciona, às amostras de MRSA, uma vantagem seletiva para colonização e infecção hospitalar (STRUELLENS et al., 1992; SHLAES et al., 1997). Se um aumento na incidência de MRSA é detectado em uma dada instituição, é importante determinar se é devido à transmissão de uma única linhagem ou de diferentes linhagens, epidemiologicamente não relacionadas, para que medidas adequadas de controle sejam tomadas. Assim, os sistemas de tipagem molecular para diferenciação entre amostras epidêmicas ou endêmicas de MRSA são valiosos instrumentos para o epidemiologista e o clínico (MULLIGAN; ARBEIT, 1991).

O risco de infecção por MRSA está associado principalmente aos fatores de riscos extrínsecos com destaque para cirurgias, procedimentos invasivos e uso de antibióticos (NNISS, 1991). A internação em hospitais terciários e universitários constitui outro risco como foi referido anteriormente, assim como a velhice “*per si*” e por estar ligada a internações mais longas (BOYCE, 1992; YOSHIKAWA, 1997; YOSHIKAWA, 2000).

Entretanto, as infecções causadas por SCoN são usualmente devidas à presença de dispositivos invasivos e o seu papel como um patógeno significativo em sepse, infecção de sítio cirúrgico está bem estabelecido. Além disso, uma proporção ainda maior de isolados nosocomiais de SCoN do que de *S. aureus* é resistente a múltiplos antimicrobianos (CHAMBERS, 2001). Dependendo da capacidade de multiplicação da bactéria e de sua adesão às células ou à superfície de procedimentos invasivos presentes no corpo do paciente, bem como de falhas do sistema imunológico do paciente e fatores de virulência dos microrganismos, podem ocorrer patologias graves (KLOOS; BANNERMAN, 1995). Alguns desses fatores justificam o fato de que a maioria das infecções causadas por SCoN esteja associada a hospitalização. Nos últimos anos, algumas espécies de SCoN com destaque para *Staphylococcus epidermidis*, foram incriminadas como patógenos oportunistas importantes causando, inclusive, surtos de infecções hospitalares (KAMATH et al., 1992).

Dados relativamente recentes demonstram que os SCoN estão entre os cinco patógenos mais frequentes de infecções hospitalares (9-10% dos casos) enquanto o *S. aureus* é causa de 10,1% dos casos (KLOOS; BANNERMAN, 1995). No Brasil, os estafilococos, tanto o *S. aureus* como o *S. epidermidis*, mostram-se resistentes à penicilina G, ampicilina e amoxicilina em mais de 70,0% das cepas isoladas, seja em ambiente hospitalar ou na comunidade, não sendo mais indicado o uso destes antimicrobianos em infecções, mesmo que benignas ou de natureza extra-hospitalar (COSTA et al., 1994). Além disso, estes microrganismos apresentam elevado índice de resistência à metilicina/oxacilina e

cefalosporinas no meio hospitalar, repetindo-se o observado em outros países. Relatos de hospitais em diferentes regiões brasileiras demonstram frequências de 30,0% a 100,0% de *S. aureus* resistentes à oxacilina (COSTA et al., 1994; FARIAS et al., 1997; PFALLER et al., 1999).

Além da importância como causa de infecções endêmicas, o MRSA está entre os patógenos mais associados a surtos hospitalares, nos quais o principal modo de transmissão é através das mãos de profissionais de saúde (VAN OGTRON, 1997). Enquanto nos EUA e demais países do hemisfério norte o estudo dos surtos tem propiciado melhor conhecimento da epidemiologia das infecções hospitalares. No Brasil, eles caracterizam-se pelo desconhecimento ou publicidade exagerada, que contribui de forma extremamente negativa para o bom funcionamento das instituições hospitalares.

No estudo de surtos, um dos itens mais importantes é a caracterização da amostra epidêmica, que pode ser feita através da avaliação das características fenotípicas e genotípicas, estas últimas merecendo mais atenção em função de propriedades tais como reprodutibilidade e poder discriminatório (MASLOW; MULLIGAN; ARBEIT, 1993; MASLOW; MULLIGAN, 1996).

1.2.1 Pesquisa dos genes *mecA* e *mupA*

É muito importante detectar genes de resistência para avaliar a multiresistência de amostras de *S. aureus*, visto que a região *mecA*, ou próximo dela, localizam-se genes de resistência para outros antibióticos. Além disso, a identificação de amostras *mecA* negativas em pacientes hospitalizados, podem reduzir os gastos hospitalares com antibióticos e promover o uso mais racional destes medicamentos (PRADE, 1995^a). A reação de polimerase em cadeia (PCR – “Polymerase Chain Reaction”) é um processo que foi descrito por Mullis;

Faloon (1987) e que permite a amplificação de uma seqüência alvo de material genético num número ilimitado de cópias, sendo amplamente empregada nos dias atuais. Os ciclos reacionais geralmente empregados consistem de uma fase inicial de aquecimento (96°C), que promoverá a separação das duas fitas de DNA. Em seguida, a temperatura é reduzida a 52°C para que ocorra a hibridização das seqüências iniciadoras (do inglês “primers”) na fita “molde” e depois elevada novamente a 72°C para que a enzima DNA polimerase possa atuar promovendo a adição das bases nitrogenadas quando da extensão (MULLIS, 1990a; MULLIS, 1990b).

Uma modificação dessa técnica, denominada *multiplex* PCR, consiste na amplificação simultânea de duas ou mais seqüências alvo únicas, numa mesma amostra, permitindo, no caso de *S. aureus*, detectar os genes de resistência à meticilina e mupirocina (PODLORSKI; PERSING, 1995). Na maioria das vezes, esse ensaio apresenta um conjunto de “primers” que funcionam como um controle interno da reação de PCR e outro para a seqüência que está sendo pesquisada. Assim, o controle interno pode ser representado pela amplificação do gene 16S rRNA, região muito conservada em bactéria, exclusiva do gênero *Staphylococcus*, e as seqüências pesquisadas são os genes *mecA* e *mupA*.

1.3 *Enterococcus* spp.

Outro grupo de microrganismos de grande importância hospitalar é o dos enterococos, devido às suas características peculiares frente a outros microrganismos, como sua resistência à maioria dos antimicrobianos e as implicações clínicas no tratamento de infecções graves causadas por amostras que apresentam resistência aos β -lactâmicos, aminoglicosídeos e/ou glicopeptídeos, além do risco potencial de transferência de genes de resistência a patógenos mais virulentos como MRSA (MURRAY, 1990).

Noble et al. (1992) demonstraram que a resistência à vancomicina (fenótipo VanA) pode ser transferida “*in vitro*” de *Enterococcus faecalis* para MRSA. Esta possibilidade tornou o controle de VRE uma alta prioridade, pois a impossibilidade do emprego deste glicopeptídeo no tratamento de infecções por MRSA, microrganismo mais virulento, resultaria em problema muito grave (MONTECLAVO et al., 1995).

Os enterococos fazem parte da microbiota da mucosa do cólon e vagina de humanos, além do trato intestinal de aves e animais (GORDTS et al., 1995; BALDY, 1997). Entretanto, podem causar infecções quando introduzidos no tecido subcutâneo, sendo que *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium* são as duas espécies hospitalares mais importantes, responsáveis por 80,0%-90,0% e 5,0%-15,0% das infecções enterocócicas, respectivamente (MURRAY, 1990; NEU, 1992; KARANFIL et al., 1996; BATES, 1997).

Um esquema simplificado para a identificação de espécies de enterococos foi proposto em 1989, por Facklam e Collins, ao definirem “provas chave” para a divisão em grupos fisiológicos, que incluíram a hidrólise da arginina e a fermentação de alguns carboidratos como manitol, sorbitol e sorbose. Com o passar dos anos, foi proposta a inclusão de testes suplementares para auxiliar na diferenciação entre as espécies de enterococos e de microrganismos relacionados (FACKLAM; SAHM, 1995; DEVRIESE et al., 1996; CARVALHO; TEIXEIRA; FACKLAM, 1998; FACKLAM; SAHM; TEIXEIRA, 1999).

A emergência de VRE mereceu muita atenção, uma vez que esta característica está associada à resistência a outros antimicrobianos e reduz as opções terapêuticas para infecções enterocócicas que já são limitadas (MOELLERING, 1992; WEINSTEIN et al., 1996; CEREDA et al., 1997; LECLEREQ, CURVALIN, 1997). Os portadores de VRE variam com a localidade e natureza dos hospitais. Nos EUA, as taxas oscilam de 8,0% em pacientes de alto risco a 17,0% em Unidades de Terapia Intensiva naqueles assintomáticos (WEBER; RUTALA, 1997). Embora a presença destes microrganismos fosse relatada inicialmente no

Reino Unido e França, a sua incidência permanece baixa (<2,0%) na Europa (JACOBY, 1996). Entretanto, Jordens et al. (1994), relataram uma freqüência de 15,0% de pacientes colonizados, quando de um surto por VRE (BOYCE et al., 1994b).

As infecções adquiridas na comunidade por VRE são extremamente raras (BATES, 1997). Estudos realizados na Alemanha (KLARE et al., 1995) e Reino Unido (Jordens et al., 1994) relatam taxas de 12% e 2%, respectivamente, de pacientes assintomáticos colonizados com VRE no trato intestinal. No entanto, *Enterococcus faecium* resistente à vancomicina foi encontrado nas fezes de vários animais como porcos e aves domésticas, na Europa, onde o uso de avoparcina (glicopeptídeo) como promotor de crescimento adicionado às rações é prática comum em alguns países (BATES, 1997). A utilização desse antibiótico particularmente em granjas e a de vancomicina nos hospitais têm sido responsabilizados pelo aparecimento de amostras resistentes de enterococos (BATES, 1997).

A resistência desses microrganismos aos antimicrobianos pode ser intrínseca, incluindo os dois grupos de drogas utilizadas na terapia de infecções enterocócicas: os β -lactâmicos e os aminoglicosídeos, decorrente da baixa afinidade pelas PBPs, principalmente a PBP5, no caso dos β -lactâmicos (NEUMANN; SHAM; THORNSBERRY, 1991). A ocorrência de enterococos com plasmídeos contendo genes que são responsáveis pela produção de β -lactamases não é comum, mas há expectativa quanto ao seu aumento (BATES, 1997). Entretanto, as amostras que carregam genes que expressam níveis elevados de resistência aos aminoglicosídeos, são usualmente isoladas de infecções nosocomiais (WOODFORD et al., 1993), da microbiota normal de humanos e encontram-se amplamente distribuídos no meio ambiente (BATES, 1997). Segundo Stern e colaboradores (1994), 33,0% das amostras de enterococos isoladas no Brasil apresentam esse tipo de resistência. Posteriormente, Merquior, Netz e Teixeira (1997), em estudo realizado no Rio de Janeiro no período de 1995-1996, relataram uma freqüência de 55,0% de resistência entre as amostras

analisadas. A presença desta resistência a níveis altos de gentamicina enterococos elimina o sinergismo bactericida deste aminoglicosídeo quando associado a ampicilina. Embora os enterococos sejam relativamente resistentes aos aminoglicosídeos, a sua combinação com penicilina, ampicilina ou um glicopeptídeo é sinérgica (GRAY; PEDLER, 1992; LOUIE et al., 1992).

A definição de resistência à vancomicina em enterococos tem tido modificações, à medida que mais se estuda seus mecanismos genéticos e o significado clínico da resistência. Existem seis fenótipos de resistência aos glicopeptídeos em enterococos:

- **Fenótipo VanA:** caracteriza-se pela alta resistência à vancomicina (CIMs ≥ 64 $\mu\text{g/mL}$) moderada a alta resistência à teicoplanina (CIMs ≥ 16 $\mu\text{g/mL}$), sendo esta alta resistência mediada por um transposon, Tn1546 que contém os grupamentos gênicos (*vanR*, *vanS*, *vanH*, *vanA*, *vanX*, *vanY* e *vanZ*) (LU et al., 2001).
- **Fenótipo VanB:** níveis altos de resistência induzida para vancomicina (CIMs 32 a 64 $\mu\text{g/mL}$), permanecendo susceptível a teicoplanina. A resistência é conferida pelo transposon Tn1547 que apresenta uma associação de genes (*vanR_B*, *vanS_B*; *vanW*, *vanH_B*, *vanB* e *vanX_B*) (LEE et al., 2001; LU et al., 2001).
- **Fenótipo VanC:** baixo nível de resistência à vancomicina (CIMs 4 a 32 $\mu\text{g/mL}$) e susceptibilidade a teicoplanina, sendo esta uma propriedade de espécies como *E. gallinarum*, que apresentam genes espécie-específicos como *vanC-1* e *vanC-2*. O gene *vanC-3* foi descrito em *E. flavescens* (WOODFORD, 1998).
- **Fenótipo VanD:** caracterizado por resistência constitutiva para vancomicina (CIMs ≥ 64 $\mu\text{g/mL}$) e susceptibilidade para teicoplanina (CIM=4 $\mu\text{g/mL}$) e é indistinguível do VanB pelos testes de susceptibilidade. Foi relatado em quatro amostras de *E. faecium*, sendo duas isoladas nos Estados Unidos (OSTROWSKY et al., 1999), uma no Canadá (BOYD et al., 2000) e uma no Brasil (DALLA COSTA et al., 2000).

- **Fenótipo VanE:** relatado em uma amostra de *E. faecalis* com CIM de 16 µg/mL para vancomicina e 0,5 µg/mL para teicoplanina, apresenta o gene *vanE*, não é transferível e pode ser induzido pela presença de vancomicina (FINES et al., 1999).
- **Fenótipo VanG:** descrito recentemente em uma amostra de *E. faecalis* com nível moderado de resistência a vancomicina (CIM 16 µg/mL) e sensibilidade a teicoplanina (McKESSAR et al., 2000).

Atualmente, o aumento da prevalência de amostras resistentes à vancomicina foi destacado no relatório do National Nosocomial Infections Surveillance (CDC, Atlanta, GA, EUA, *apud* Archibald et al., 1997) que indicou um percentual de 10,0% na prevalência de amostras de VRE em infecções nosocomiais ocorridas em centros de terapia intensiva.

A frequência de determinados fenótipos de resistência, epidemiologicamente importantes como MRSA e VRE são extremamente variáveis entre os países, regiões, hospitais e unidades hospitalares. Alguns microrganismos como MRSA apresentam-se amplamente difundidas em todo o mundo (TAVARES, 2000).

Dukta-Malen et al. (1995) desenvolveram um teste de PCR que permitia a detecção simultânea do genótipo de resistência à glicopeptídeos (*vanA*, *vanB*, *vanC1* e *vanC2*) e a identificação em nível de espécie clinicamente importantes de enterococos. A técnica mostrou ser uma alternativa rápida e específica na detecção de resistência à glicopeptídeos em enterococos, assim como a técnica de multiplex PCR (PATEL et al., 1997).

1.4 Tipagem epidemiológica

Um pré-requisito para o sucesso de uma investigação epidemiológica é um indicador seguro da relação entre os microrganismos isolados, ou seja, um esquema de tipagem adequado que envolve técnicas clássicas (fenotípicas) e moleculares (TOMPKINS;

FALKOW, 1992). O antibiograma, embora muito simples e de custo baixo, não pode ser usado como o único método de tipagem para esses microrganismos (PODLORSKY; PERSING, 1995). Entretanto, apresenta um pequeno poder discriminatório, particularmente nas condições dos hospitais brasileiros, onde predominam bactérias multiresistentes. No entanto, a determinação da presença e, sobretudo das frequências de fenótipos como MRSA e VRE são extremamente importantes do ponto de vista epidemiológico (MASLOW, MULLIGAN, 1996). As técnicas genotípicas, de uma maneira geral, apresentam alta tipabilidade, reprodutibilidade e poder discriminatório das linhagens bacterianas, mas são impraticáveis na maioria dos laboratórios de microbiologia clínica (TOMPKINS; FALKOW, 1992).

Técnicas clássicas de tipagem epidemiológica de cepas de estafilococos resistentes à oxacilina, como antibiograma e fagotipagem tem sido utilizadas para diferenciar as amostras hospitalares (ARAJ et al., 1999; MARTINEAU et al., 2000). Entretanto, elas apresentam pouco poder discriminatório limitando o seu uso. O grande impacto na tipagem epidemiológica de patógenos hospitalares decorreu da utilização de técnicas baseadas na análise de DNA como "DNA fingerprinting" em resultado de sua reprodutibilidade e poder discriminatório. Entre as mesmas a técnica de eletroforese em campo pulsado (da sigla em inglês: PFGE), é considerada atualmente a mais adequada para esta análise, incluindo para amostras de MRSA e VRE (GOERING, 1993; JORGENSEN; PEGLER; FUNNELL, 1993; BRANCHINI et al., 1993; PFALLER, HOLLIS, SADER, 1994; TENOVER; ARBEIT; GOERING, 1997). Um outro aspecto que deve ser considerado é que a tipagem das amostras pelos métodos moleculares é útil na investigação de surtos causados por uma diversidade de microrganismos, incluindo bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (TENOVER et al., 1994; TENOVER, ARBEIT, GOERING, 1997; WELLER, 2000).

2 JUSTIFICATIVAS

Estudos voltados para a epidemiologia de infecções hospitalares em idosos por microrganismos resistentes epidemiologicamente importantes, como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus spp.* e *Enterococcus* são raros, difíceis de serem realizados e extremamente necessários no mundo e no País. Isto é recomendado pelas agências de fomento e pesquisa que incluem como prioritários os projetos relacionados com a epidemiologia, biologia e controle de doenças infecciosas e parasitárias.

A existência de um Serviço de Controle de Infecção Hospitalar atuante no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, que tem boa interação com o Laboratório de Microbiologia da Área de Imunologia, Microbiologia e Parasitologia facilmente estimula a realização do estudo proposto.

A ausência de dados nacionais e a colaboração com profissionais da saúde do Hospital e de pesquisadores de outras Universidades fazem desta proposta um desafio na realização de uma investigação abrangente e de qualidade.

A escolha da técnica do PFGE para caracterizar os clones de MRSA e de *Enterococcus*, deve-se a características inerentes a esta metodologia, como o alto poder discriminatório, apresentando-se superior a várias outras metodologias.

3 OBJETIVOS

- Avaliar a prevalência e os aspectos relativos às infecções hospitalares (taxa de prevalência de infecção hospitalar, fatores de risco, mortalidade, etc.) em pacientes idosos internados no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU), incluindo sua relação com pacientes adultos;
- Determinar a frequência de microrganismos multiresistentes, epidemiologicamente importantes (*Staphylococcus aureus* e *Enterococcus* spp.), colonizando pacientes idosos internados no HC-UFU;
- Analisar os aspectos epidemiológicos de bacteremias hospitalares por MRSA e MSSA, em pacientes adultos incluindo os idosos;
- Definir a participação de *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium* nas infecções enterocócicas;
- Avaliar as taxas de resistência a níveis altos de ampicilina e aminoglicosídeos (gentamicina e estreptomicina), bem como a expressão da enzima β -lactamase;
- Estabelecer relações clonais (padrão genético predominante) entre as bactérias isoladas de pacientes infectados, especialmente em pacientes idosos, em função de tempo e espaço.

4 CASUÍSTICA E MÉTODOS

4.1 Hospital

O Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia é um hospital de ensino, com cerca de 450 leitos, que oferece nível terciário de atendimento.

4.2 Desenho do estudo

Foram realizados três estudos repetidos de prevalência de infecções hospitalares no período de Janeiro/1999, Fevereiro/2000 e Outubro 2000, entre os pacientes idosos (idade igual ou superior a 65 anos), internados no HC-UFU. Os pacientes internados nos corredores do Pronto Socorro não foram incluídos na casuística. No sistema de vigilância via enfermagem descrito abaixo, os espécimes clínicos obtidos de intestino e boca (para o isolamento de amostras de enterococos) e intestino e narina (para o isolamento de amostras de estafilococos) foram coletados com “swab” e transportados ao Laboratório de Microbiologia da Universidade em tubos com solução fisiológica (NaCl 0,85%) para prevenir a dessecação.

4.3 Definições de vigilância

As definições de infecções hospitalares foram aquelas recomendadas pelo “Centers for Diseases Control” (CDC, 1995). Assim, Infecção Hospitalar é aquela que não está presente ou em incubação no momento da admissão no hospital e que se manifeste durante a internação ou após alta, quando puder ser relacionada com a internação ou procedimentos hospitalares.

A vigilância epidemiológica hospitalar foi realizada por método ativo, utilizando-se os dois sistemas descritos a seguir:

4.3.1 Vigilância através da busca de pacientes

Os pacientes incluídos no estudo foram aqueles com idade igual ou superior a 65 anos internados no HC-UFU. Uma ficha individual (ANEXO A) foi preenchida levando-se em consideração os seguintes fatores: características demográficas, clínicas, fatores de risco intrínsecos e extrínsecos, uso de antimicrobianos, tempo de internação, uso de procedimentos invasivos e presença de infecção hospitalar. Espécimes clínicos de narina e intestino foram coletados dos pacientes incluídos no estudo, para a detecção de *S. aureus* e *Enterococcus spp.*

4.3.2 Vigilância laboratorial

Durante o período de estudo, foram realizadas visitas regulares ao laboratório de Microbiologia do HC-UFU para a obtenção de amostras de *Staphylococcus aureus* provenientes de bacteremias hospitalares e *Enterococcus spp.* de vários sítios de infecção de pacientes adultos, incluindo idosos. As amostras foram subcultivadas para os testes de resistência, moleculares e confirmação da espécie. Uma ficha individual foi preenchida com os dados de cada paciente como no item anterior.

4.4 Cultura

Os espécimes foram previamente subcultivados em Ágar Manitol Salgado contendo 6µg/mL de oxacilina (para MRSA) e Ágar Bile Esculina sem e com vancomicina na concentração de 6µg/mL.

4.5 Identificação das amostras bacterianas

4.5.1 *Staphylococcus* spp.

Para identificação de microrganismos do gênero *Staphylococcus* foram utilizados: fermentação do manitol, morfologia celular através de características observadas na coloração de Gram, produção de catalase, DNase, presença de coagulase e detecção do gene *coa* e 16SrRNA de estafilococos.

4.5.2 *Enterococcus* spp.

A caracterização fisiológica, em nível de gênero e espécie de enterococos, seguiu as recomendações de Facklam e Sahn (1995). Para tal, foram empregados os seguintes testes: observação das características morfotinturiais pelo método de Gram, produção de catalase, tolerância a 6,5% de NaCl, hidrólise da esculina, 2-pirrolidonil β-nafitilamida (PYR – Sigma, EUA), produção de arginina descarboxilase, utilização do piruvato de sódio e produção de ácidos a partir de L-arabinose, lactose, D-sorbitol e D-sorbose.

Como controle foram utilizadas amostras padrões de *Enterococcus faecalis* – ATCC 29212 e *Enterococcus faecium* – ATCC 12805, gentilmente cedidas pela professora Lúcia M.

Teixeira da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). A Tabela 1 mostra as características fenotípicas atualmente utilizadas na identificação das espécies do gênero *Enterococcus*.

TABELA 1. Características fenotípicas utilizadas para a identificação das espécies de *Enterococcus* e gêneros relacionados^a

Espécies	Testes Bioquímicos												
	MAN	SOR	ARG	ARA	SBL	RAF	TEL	MOT	PIG	SUC	PIR	MGP	EFRO
Grupo I													
<i>E. avium</i>	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	R
<i>E. malodoratus</i>	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	S
<i>E. raffinosus</i>	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	R
<i>E. pseudoavium</i>	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	R
<i>E. saccharolyticus</i>	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	R
Grupo II													
<i>E. faecalis</i>	++	-	++	-	+	-	+	-	-	++	+	- ^b	R
<i>Lactococcus</i> ssp	+	-	+	-	-	-	-	-	-	v	-	-	S
<i>E. faecium</i>	++	-	+	+	V	v	-	-	-	++	-	-	S
<i>E. casseliflavus</i>	+	-	++	+	V	+	-*	++	++	+	-	+	R
<i>E. mundtii</i>	+	-	+	+	V	+	-	-	+	+	-	-	S
<i>E. gallinarum</i>	++	-	++	+	-	+	-	++	-	+	-	+	R
Grupo III													
<i>E. durans</i>	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S
<i>E. hirae</i>	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	S
<i>E. dispar</i>	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	R
Grupo IV													
<i>E. sulfureus</i>	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	R
<i>E. cecorum</i>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	R
Grupo V													
<i>E. columbae</i>	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	R
<i>Vagococcus fluvialis</i>	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	R

^a MAN, manitol; SOR, sorbose; ARG, arginina; ARA, arabinose, SBL, sorbitol; RAF, rafinose; TEL, telurito a 0,04%; MOT, motilidade; PIG, pigmento; SUC, sucrose; PIR, piruvato; MGP, metil- α -glicopiranosida; EFRO, disco de efrotomicina (100 μ g); +, >90% positivo; -, <10% positivo; v, variável; *, exceções ocasionais (<3% das cepas apresentam reações discordantes); R, resistente; S, sensível (FACKLAM; SAHM; TEIXEIRA, 1999).

4.6 Testes de susceptibilidade aos antimicrobianos

4.6.1 Teste de difusão em gel

Todas as amostras foram submetidas à avaliação frente a antimicrobianos testados para cada grupo de microrganismos, seguindo-se a metodologia do “National Committee for Clinical Laboratory Standards” (NCCLS, 2000^a). Foram subcultivadas em TSA (“Trypticase Soy Agar”) e incubadas por 24 horas. Cerca de três a cinco colônias foram semeadas em caldo TSB (“Trypticase Soy Broth”) e incubadas a 37°C até atingir turvação correspondente ao tubo 0,5 da escala MacFarland ($1-2 \times 10^8$ Unidades Formadoras de Colônias por mililitro – UFC/mL) e semeadas com “swab” na superfície do agar Mueller-Hinton. Foram utilizados os seguintes discos de antimicrobianos:

Staphylococcus aureus: rifampicina (5µg), ceftriaxona (30µg), clindamicina (2µg), cefalotina (30µg), tetraciclina (30µg), sulfametoxazol-trimetoprima (25µg), ampicilina (10µg), cefoxitina (30µg), ciprofloxacina (5µg), gentamicina (10µg), vancomicina (30µg), cloranfenicol (30µg), imipenem (10µg), eritromicina (15µg), amicacina (30µg) e oxacilina (1µg).

Foi utilizada como controle a amostra padrão de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Enterococcus spp.: ampicilina (10µg), clindamicina (2µg), cloranfenicol (30µg), eritromicina (15µg), norfloxacina (10µg), penicilina (10µg), sulfametoxazol-trimetoprim (25µg), tetraciclina (30µg) e vancomicina (30µg).

Foi utilizada como controle a amostra padrão de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

4.6.2 Teste da concentração mínima inibitória

O teste foi realizado utilizando-se a técnica recomendada pelo NCCLS (NCCLS, 2000b), utilizando-se o ágar Mueller-Hinton e inóculos padronizados ($1-2 \times 10^8$ UFC/mL), frente a diferentes concentrações de antibióticos. Foi inoculado um volume de 5 μ L de uma suspensão bacteriana padronizada segundo a escala 0,5 MacFarland (5×10^6 UFC/mL), com auxílio de um inoculador do tipo “Steers”, na superfície das placas, adicionadas das seguintes concentrações de antimicrobianos:

Staphylococcus aureus: oxacilina (0,125-1024 μ g/mL);

Enterococcus spp.: vancomicina (0,125-128 μ g/mL).

4.6.3 Teste de triagem para detecção de resistência à oxacilina e a níveis elevados de antimicrobianos

Staphylococcus aureus:

As amostras de estafilococos identificadas foram submetidas ao cultivo em Agar Mueller-Hinton com 6 μ g/mL de oxacilina acrescido de 4% de NaCl para detecção de amostras resistentes à oxacilina de acordo com o NCCLS (2000b). Foi inoculado um volume de 5 μ L (5×10^6 UFC/mL) com aplicador de “Steers”.

Enterococcus spp.

Foi utilizada a técnica de triagem em ágar, segundo as recomendações do NCCLS (2000b). Os antibióticos utilizados foram: gentamicina (500 μ g/mL), estreptomina

(1000 μ g/mL) e ampicilina (16 μ g/mL). Os inóculos bacterianos foram preparados em caldo “BHI” (“Brain Heart Infusion”), a partir do crescimento das amostras em BHI, por 18 a 24 horas, a 35°C, de forma a obter uma turvação equivalente a escala de 0,5 de McFarland. As suspensões bacterianas foram, então, distribuídas em um multi-inoculador do tipo “Steers” e aplicadas na superfície dos meios. Meios de cultura sem a adição dos antimicrobianos foram utilizados como controle de crescimento bacteriano.

Foram utilizadas como controles amostras padrão: *Enterococcus faecalis* CL-445 (com HLR para gentamicina), *Enterococcus faecium* CL-240 (com HLR para estreptomicina e ampicilina) e *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (susceptível à ampicilina, gentamicina e estreptomicina).

4.7 Pesquisa da enzima β -lactamase

A pesquisa da enzima β -lactamase foi realizada para as espécies de *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* e *Staphylococcus aureus* utilizando o reagente Nitrocefina (Oxoid-Hampshire, Inglaterra).

Nitrocefina é uma cefalosporina cromogênica e esse composto exibe uma alteração de cor rápida e distinta do amarelo para vermelho quando a ligação amida do anel β -lactâmico é hidrolizada por uma β -lactamase. São sensíveis à hidrólise por β -lactamases produzidas pelas bactérias Gram-positivas.

O conteúdo do frasco de nitrocefina liofilizada foi reconstituído conforme recomendação do fabricante, adicionando-se o conteúdo a um composto de reidratação, tampão fosfato e dimetilsulfóxido. Foi obtida uma solução de 500 μ g/mL. Posteriormente, foi adicionada uma gota da solução de nitrocefina (8 μ L) em uma placa de vidro limpa e seca. As bactérias foram cultivadas em placas de ágar sangue por 18 h a 35°C e com uma alça de

semeadura esterilizada, uma colônia foi dissolvida na gota de nitrocefina. O resultado foi considerado positivo, quando ocorreu mudança da cor de amarelo para vermelho em 30 minutos.

4.8 Métodos de tipagem molecular

4.8.1 Detecção do gene *mecA* e *mupA* e 16S rRNA pela técnica de reação em Cadeia da Polimerase (multiplex PCR).

Esses experimentos foram realizados no Laboratório Especial de Bacteriologia e Epidemiologia Molecular do Departamento de Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromatológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP, sob a supervisão da Prof^a Dra. Ana Lúcia C. Darini. A detecção dos genes foi realizada para 55 amostras de MRSA selecionadas para o estudo molecular.

Para a pesquisa desses genes no DNA das amostras, duas colônias de cada bactéria foram ressuspensas em 100 μ L de água destilada estéril (PCR-water, Sigma W-3500, St. Louis, EUA), agitando-se vigorosamente e centrifugando-se por 30 segundos. Foram utilizados 2 μ L desta suspensão bacteriana para o experimento de amplificação do DNA.

Cada experimento de PCR foi realizado em um volume final de 25 μ L de uma solução reagente, contendo 2,5 μ L do tampão PCR 10x (Life Technologies, Reino Unido), 2 μ L de cloreto de magnésio, 0,05% de tampão W1 (Life Technologies, Reino Unido), os quatro nucleotídeos (dNTP – A, G, T e C) na concentração de 350 μ L cada e 50ng de cada par de “primer” (Tabela 2) e 0,625 U da enzima *Taq* polimerase (Life Technologies, Reino Unido).

TABELA 2: Seqüências dos “primers” utilizados na reação de PCR para a detecção dos genes *mecA*, *mupA* e 16S rRNA de estafilococos

Primer	Seqüência
<i>mecA-1</i>	5'- CTC Agg TAC TgC TAT CCA CC – 3' (20 bases)
<i>mecA-2</i>	5' – CAC TTg gTA TAT CTT CAC C- 3' (19 bases)
<i>mupA-1</i>	5' – TgA CAA TAg AAA Agg ACA gg – 3' (20 bases)
<i>mupA-2</i>	5' – CTC TAA TTC AAC Tgg TAA Gcc – 3' (21 bases)
<i>16S rRNA-1</i>	5' – ggA ATT CAA A (T/g)g AAT TgA Cgg ggg C – 3' (25 bases)
<i>16S rRNA-2</i>	5' – Cgg gAT CCC Agg CCC ggg AAC gTA TTC AC – 3' (29 bases)

Foram preparadas as soluções contendo “primers” diluídos, em uma quantidade suficiente para 100 testes de PCR, misturando-se 5µL de cada um dos dois “primers” e ajustando o volume final para 100µL com água destilada estéril. Esta solução diluída pôde ser estocada a – 20°C para ser utilizada em experimentos posteriores.

Foi utilizado um termociclador Genius (Techne, Reino Unido) e o ciclo de amplificação empregado está especificado na TABELA 3.

TABELA 3: Ciclo de amplificação para reação de multiplex PCR

Fase	Ciclo
Desnaturação inicial	1 ciclo a 94°C – 5 minutos
Amplificação	30 ciclos a 94°C – 60 segundos (“primer annealing”) e 72°C – 30 segundos (extensão dos “primers”)
Extensão final dos “primers”	Ciclo final de 72°C – 6 minutos

Após a amplificação foram adicionados ao produto de PCR obtido 10 µL de solução “stop mix” (50 mM EDTA pH 8,0, 25% Ficoll, 0,25% azul de bromofenol) e aplicadas alíquotas de 10µL de cada amostra em um gel de agarose a 2,0%. O padrão de tamanho dos fragmentos utilizado foi concatâmeros do fago lambda (Life Technologies, Reino Unido), e

quatro amostras controle de Estafilococos que apresentavam ou não os genes pesquisados (*mecA* e *mupA*).

As corridas foram realizadas com tampão 0,5 x TBE, a 100V durante 2 horas (fonte Biorad, modelo 1000/500, Califórnia, EUA). Após esse período os géis foram corados com Brometo de Etídio (1µL/mL) e visualizados e fotografados sob luz UV.

A presença do gene da coagulase (gene *coa*) foi detectado somente para as amostras de MRSA através do PCR pela extração do DNA genômico segundo a metodologia proposta por Pitcher (1989). Os primeiros empregados foram: *coa1*: 5' (1301)GAA CAA AGC GGC CCC ATC ATT A(1322)3' e *coa2*: 5'(2153)TAA GAA ATA TGC TCC GAT TGT GC(2131)3' e o ciclo de amplificação empregado foi: desnaturação de 90°C por 3 minutos, seguida por 30 ciclos: 94°C por 25 segundos, 52°C por 40 segundos e 72°C por 1 minuto. Extensão final dos "primers" a 72°C por 5 minutos.

A presença do gene *mecA* foi confirmada em todas as amostras, utilizando-se a metodologia do PCR somente para esse gene.

4.8.2 Detecção dos genes *van* em *Enterococcus* pelo multiplex PCR

Para comprovar as espécies de cada linhagem, *E. faecium*, *E. faecalis*, *E. gallinarum* e *E. casseliflavus*/*E. falvenscens* e verificar a presença do elemento *vanA* e *vanB* nas bactérias incluídas nesse estudo, foi utilizada o método molecular de PCR. A detecção dos genes foi realizada para 28 amostras de *Enterococcus* spp.

As amostras bacterianas foram preparadas a partir de duas colônias de cada bactéria em 100 µL de água ultra-pura, agitadas vigorosamente e centrifugadas por 15 segundos a 13.000 rpm. Dois microlitros desta suspensão bacteriana foram usados no experimento de amplificação do DNA.

As linhagens foram verificadas quanto às suas espécies utilizando-se os seguintes componentes para 100µL de reação: água duplamente processada “Qualidade PCR” (w-3500 SIGMA), tampão de reação 10x – concentração final de 1x (Tris 20 mM e KCl 50 mM), cloreto de magnésio 2 mM, *Taq* DNA polimerase 0,625 U (InVitrogen – Life Technologies), os 4 nucleotídeos (dNTP) 100 mM (InVitrogen – Life Technologies) utilizadas na concentração de 0,2 mM e seqüências iniciadoras, utilizando-se 21 pmol. O termociclador utilizado para os experimentos foi Mastercycler Gradiente (Eppendorf).

Para a amplificação dos genes *ddl*, espécie-específicos, que codificam as ligases D-alanina, foram utilizados dois pares de “primers” segundo Dutka-Malen et al. (1995) na concentração de 25 pmol cada “primer”.

Cada “primer” (Gibco BRL, Life Technologies) utilizado para a amplificação do gene *vanA* e *vanB* (Tabela 4), com o objetivo de detectar o genótipo das amostras estudadas, estava na concentração de 50ng/µL (WOODFORD et al., 1993).

TABELA 4: Seqüências iniciadoras utilizadas na realização do PCR para enterococos.

Gene amplificado	Nome do par de “primer”	Seqüência de nucleotídeos (5' – 3')	Produto do PCR (pb)
<i>VanA</i> ¹	A ₁	+ ATG GCA AGT CAG GTG AAG ATG G	399
	A ₂	- TCC ACC TCG CCA ACA ACT AAC G	
<i>ddl E. faecium</i> ²	EFE – 1	+ GCA AGG CTT CTT CTT AGA GA	550
	EFE – 2	- CAT CGT CTA AGC TAA CTT C	
<i>ddl E. faecalis</i> ²	EFS – A	+ ATC AAG TAC AGT TAG TCT T	941
	EFS – B	- ACG ATT CAA AGC TAA CTG	
<i>E. gallinarum</i> ²	<i>vanC</i> -1A	+ GGT ATC AAG GAA ACC TC	822
	<i>vanC</i> -1B	- CTT CCG CCA TCA TAG CT	

¹ Woodford et al., 1993; ² Dukta-Malen et al., 1995

As amostras controles utilizadas foram *E. faecium* (NCTC 717), *E. faecalis* (NCTC 775), *E. gallinarum* (NCTC 12359) e *E. casseliflavus* (NCTC 1261).

O protocolo de amplificação utilizado, segundo Dukta-Malen et al. (1995), para a detecção das espécies foi (Tabela 5):

TABELA 5: Ciclo de amplificação para reação de multiplex PCR

Fase	Ciclo
Desnaturação inicial	1 ciclo a 94°C – 2 minutos
Amplificação	30 ciclos a 94 °C – 60 segundos; 54°C – 60 segundos (“primer annealing”) e 72°C – 60 segundos (extensão dos “primers”)
Extensão final dos “primers”	Ciclo final de 72°C – 10 minutos

4.8.3 Análise do perfil de fragmentação do DNA cromossomial por eletroforese em campo pulsado (“Pulsed-Field Gel Electrophoresis”, PFGE).

O PFGE foi realizado somente para onze isolados representativos, incluindo uma amostra de *Enterococcus faecalis* do fenótipo VanA, obtidos de infecções enterocócicas.

Uma colônia de *Enterococcus faecalis* foi inoculada em 5mL de caldo BHI e incubada a 37°C por 24 horas. Uma alíquota de 1,5mL da cultura foi transferida para um “eppendorf” e centrifugada por 2 minutos a 12.000 rpm a 4°C. As células foram lavadas com 500µL de PIV (10mM Tris, 1.0M NaCl), novamente centrifugadas, e o sobrenadante descartado. O “pellet” foi ressuspensão em 200µL de PIV e 150µL foram transferidos para um novo “eppendorf” colocado em banho maria à 48°C por 5 a 10 minutos para equilibrar a temperatura. Em seguida, 150µL de agarose (1,5% Agarose Ultra Pura), foram adicionados rapidamente ao tubo.

Os discos de agarose foram colocados em uma solução de lise EC (6mM Tris, pH 8.0; 1M NaCl; 100mM EDTA, 0,2% Na deoxycolate; 0,5% Na laurylsacrosine; 0,5% Brij 58) acrescentando-se RNase a uma concentração final de 20µg/mL e incubados por 4 a 5 horas a 37°C. Ao final deste período, o tampão EC foi substituído por tampão ES (EDTA pH 9.0; sarcosil 1,0%) acrescido de 1mg/mL de proteinase K, incubando-se a 50°C por 18 a 20 horas.

Os discos de agarose foram lavados 5 vezes com 13mL do tampão TE 1x (10mM Tris, pH 7,5; 1mM EDTA, pH 8.0), sendo de 30 minutos o tempo. Um único disco foi colocado em 100µL de tampão fresco e adicionado 30 unidades de enzima de restrição SmaI seguindo-se incubação em banho maria por 18 a 20 horas a 37°C. Foi preparado 150µL de gel a 1,0% (Agarose Ultra Pura) em TBE 0,5x (0,89M Tris; 0,89 Ácido Bórico; 0,25M EDTA, pH 8.0).

O gel de eletroforese foi corrido em aparelho Gene Navigator, utilizando-se o tampão TBE 0,5x e a temperatura de 14°C por 25 horas. O gel foi corado por 30 minutos em brometo de etídio a 1µg/mL, descorado por 30 minutos e fotografado em "Photoman".

Os padrões de PFGE foram observados visualmente e considerados idênticos se coincidirem em todas as bandas, similares (subtipos) se diferirem em uma ou duas bandas claramente visíveis e diferentes quando houverem diferenças em três ou mais bandas (TENOVER et al., 1995).

4.9 Termo de consentimento e comissão de ética

Antes da coleta, todos os pacientes incluídos no estudo ou seus responsáveis foram esclarecidos sobre os objetivos do trabalho proposto e a coleta só se realizou mediante a concordância e do termo de consentimento Livre e Esclarecido.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HC-UFU (PRECESSO Nº 077/2001) – (ANEXO B).

4.10 Análise estatística

Os dados epidemiológicos foram analisados através do programa Statistica 4.5 for Windows (COPYRIGHT, 1993) e Epi-Info, versão 5.0 (DEAN et al., 1990) e SPSS 7.05 for Windows.

Foram realizadas comparações univariadas pelos testes X^2 , para as diferenças entre proporções, e *t* Student, para diferenças entre médias. Os fatores de risco potenciais para infecção/colonização foram avaliados pela dicotomização, isto é, “presente *versus* ausente” e usando tabela 2x2.

A análise molecular foi realizada visualmente e com auxílio de métodos estatísticos computadorizados (como MVSP, etc).

5 RESULTADOS

Durante o período de Janeiro de 1999 a Outubro de 2000, foram realizados três inquéritos de prevalência no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, envolvendo um total de 495 pacientes adultos (idade acima de 15 anos) e 155 idosos com idade igual ou superior a 65 anos. As características de ambas as populações estão evidenciadas na Tabela 6.

As taxas de infecção hospitalar entre os pacientes idosos e adultos foram 16,1% e 14,5%, respectivamente, e a prevalência de infecção comunitária foi similar entre essas duas populações (25,0% *versus* 25,6%). Em um grupo de pacientes em que cerca de 50,0% estavam em uso de antibióticos, 30,0% apresentando mais de dois procedimentos invasivos e 31,0% com cirurgia, a única variável que se apresentou com diferença significativa entre esses dois grupos foi a idade ($40,5 \pm 14,2$ anos para os adultos *versus* $73,6 \pm 6,8$ anos para os idosos). Quando esses fatores foram analisados independentemente, nenhum deles foi significativo ($p \leq 0,05$).

TABELA 6: Características dos pacientes adultos e idosos internados no HC-UFU, detectados pela vigilância via enfermagem, nos períodos de Janeiro/1999, Fevereiro/2000 e Outubro/2000.

Características	Pacientes		P ¹	OR ² (CI ³)
	Idosos N=155 (%)	Adultos N=495 (%)		
Infecções Hospitalares	25 (16,1)	72 (14,5)	0,72	0,89 (0,53-1,50)
Infecções Comunitárias	35 (25,6)	124 (25,0)	0,57	1,16 (0,74-1,82)
Idade, X ± SD (anos)	73,6 ± 6,8	40,5 ± 14,2	<0,0001	--
Antibióticos:				
Sim	65 (41,9)	242 (48,9)	0,15	1,32 (0,91-1,94)
N ≥ 2	24 (15,5)	113 (22,8)	0,06	1,61 (0,97-2,70)
Procedimentos Invasivos:				
N ≥ 2	53 (34,2)	137 (27,7)	0,14	0,74 (0,49-1,10)
Cirurgia	57 (36,8)	145 (28,5)	0,09	0,71 (0,48-1,06)

¹P ≤ 0,05; ² Odds ratio; ³ Intervalo de Confiança.

A associação de infecção hospitalar com fatores de risco intrínsecos e extrínsecos também foi similar como demonstrado na tabela 7. Entre as causas que predispõe infecção hospitalar mais freqüentes destacam-se em ambos os grupos, idosos e adultos, o uso de ≥ 2 procedimentos invasivos (56,0% *versus* 76,4%) e cirurgia (60,0% *versus* 72,2%). As relações de pacientes com infecção hospitalar quanto ao sexo masculino:feminino foram similares com 47:25 em adultos e 17:8 em idosos. A média de idade para os adultos foi de $40,5 \pm 14,6$ anos (variação 15–64 anos) e para idosos de $73,0 \pm 7,2$ anos (variação 65–94 anos). Não houve diferença significativa no tempo de hospitalização entre esses grupos (24.5 ± 19.4 *versus* 18.5 ± 17.6), entretanto, o último grupo permaneceu hospitalizado variando de um a 92 dias. Todos os pacientes com infecção hospitalar estavam usando antibióticos e a maioria deles (84,2%) foi tratada com dois ou mais antibióticos. Quando a análise multivariada foi feita nenhum desses fatores apresentou-se significativo.

Quando a análise incluiu apenas os idosos, praticamente todos os fatores de risco (análise univariada) considerados foram associados com infecção hospitalar, com um tempo de hospitalização longo, 100% dos pacientes em uso de antibiótico e uma grande porcentagem dos pacientes em uso de mais de dois procedimentos invasivos com destaque para cateteres intravasculares e cirurgia (Tabela 8). Nesse grupo de pacientes os fatores independentes associados com infecção hospitalar incluíram apenas o tempo de internação e presença de cirurgia.

TABELA 7: Fatores de risco dos pacientes adultos e idosos com infecção hospitalar internados no HC-UFU

Fatores de Risco	Infecção Hospitalar		P ¹	OR ²	CI ³
	Idosos N=25 (%)	Adultos N=72 (%)			
Idade (Anos)	73,0±7,2	40,4±14,6	<0,0001	-	-
Tempo de hospitalização	18,5±17,6	24,5±19,4	0,18	-	-
Sexo:					
Feminino	8 (32,0)	25 (34,7)	0,99	0,88	0,30-2,57
Masculino	17 (68,0)	47 (65,3)			
Antibióticos:					
Sim	25 (100,0)	72 (100,0)	-	-	-
N ≥ 2	14 (56,0)	49 (68,1)	0,39	0,60	0,21-1,68
Procedimentos Invasivos:					
N ≥ 2	14 (56,0)	55 (76,4)	0,09	0,39	0,39-1,14
Respirador	6 (24,0)	17 (23,6)	0,81	1,02	0,31-3,30
Cateter Urinário	15 (60,0)	20 (27,8)	0,008	3,90	1,37-11,31
Cateter Vascular Periférico	16 (64,0)	51 (70,8)	0,69	0,73	0,25-2,13
Cateter Vascular Central	9 (36,0)	19 (26,4)	0,51	1,57	0,53-4,59
Cirurgia	15 (60,0)	52 (72,2)	0,37	0,58	0,20-1,66

¹P≤0,05; ² Odds ratio; ³ Intervalo de confiança

TABELA 8: Fatores de risco dos pacientes idosos com e sem infecção hospitalar internados no HC-UFU

Fatores de Risco	Infecção Hospitalar		P ¹	OR ²	CI ³
	Sim N=25 (%)	Não N=95 ⁴ (%)			
Idade (Anos)	73,96±7,21	73,56±6,81	0,69	-	-
Tempo de hospitalização (dias)	18,58±9,17	9,74±3,69	0,0007	-	-
Sexo:					
Feminino	8 (32,0)	44 (46,3)	0,28	0,55	0,19-1,51
Masculino	17 (68,0)	51 (53,7)			
Antibióticos:					
Sim	25 (100,0)	12 (12,6)	<0,0001	ND	ND
N ≥ 2	14 (56,0)	--	<0,0001	ND	ND
Procedimentos Invasivos:					
N ≥ 2	14 (56,0)	28 (29,5)	0,02	3,05	1,13-8,30
Ventilação mecânica	6 (24,0)	1 (1,0)	0,0002	29,68	3,20-693,56
Cateter urinário	15 (60,0)	20 (21,0)	0,003	5,3	2,0-16,08
Cateter Vascular Periférico	16 (64,0)	48 (50,5)	0,32	1,74	0,64-4,78
Cateter Vascular Central	9 (36,0)	8 (8,4)	0,001	6,12	1,82-20,96
Cirurgia	15 (60,0)	34 (35,8)	0,04	2,69	1,00-7,32

¹P≤0,05; ² Odds ratio; ³ Intervalo de confiança, ⁴ Foram excluídas as Infecções Comunitárias

A maioria dos pacientes com infecção hospitalar em ambos os grupos estava internada na enfermaria de Clínica Cirúrgica (56,0% idosos *versus* 66,7% adultos) e somente 8,0% dos idosos eram de Unidade de Terapia Intensiva. Os sítios anatômicos mais freqüentes de infecção hospitalar em ambos os grupos foram: cirurgia (56,0% *versus* 47,2%) e pulmão (24,0% *versus* 27,8%) (Figura 1).

TABELA 9: Distribuição dos pacientes, adultos e idosos com infecção hospitalar, por clínicas/serviços detectados pelo sistema de vigilância via enfermaria, no período de Janeiro/1999 e Fevereiro/2000

Clínicas/Serviços	Idosos N=25 (%)	Adultos N=72 (%)	P ¹
Clínica Cirúrgica	14 (56,0)	48 (66,7)	0,47
Unidade de Terapia Intensiva	2 (8,0)	14 (19,4)	0,22
Clínica Médica	4 (16,0)	5 (6,9)	0,22
Unidade de Emergência	3 (12,0)	4 (5,5)	0,36
Outros ²	2 (8,0)	1 (1,4)	0,16

¹P<0,05, ²Moléstias infecciosas.

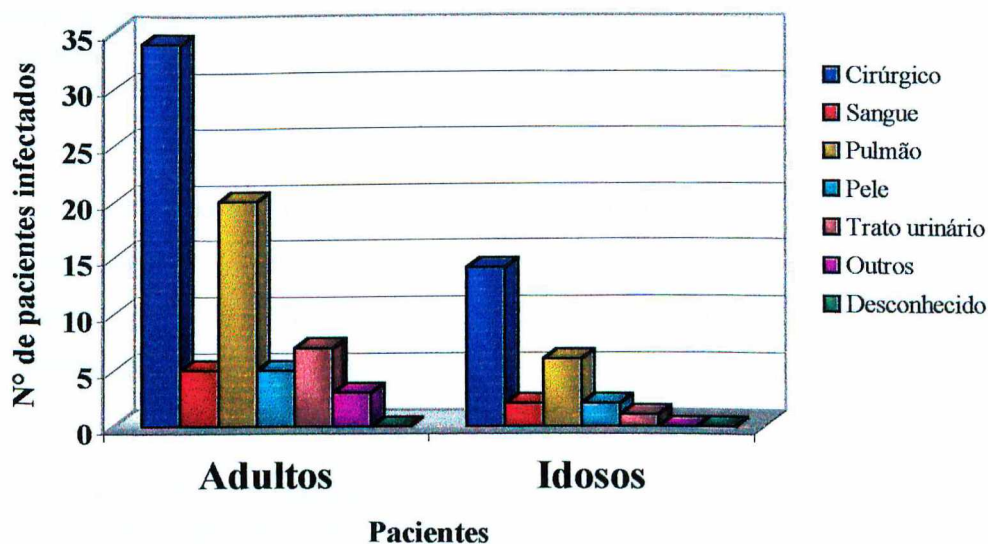


FIGURA 1 – Prevalência de infecções hospitalares de acordo com os sítios anatômicos afetados, em pacientes adultos e idosos internados no HC-UFU

A Tabela 10 demonstra que na população de adultos e idosos com infecção hospitalar mais da metade dos pacientes estava em uso de mais de dois antibióticos com predomínio de cefalosporinas de amplo espectro e vancomicina, com uma maior frequência deste último em pacientes adultos (54,2% versus 24,0% em idosos). Os dados evidenciaram que o diagnóstico microbiológico somente foi realizado em uma pequena proporção dos casos (23,7%) nos quais também predominava uma cobertura ampla (65,2% dos pacientes em uso de mais de dois antibióticos).

TABELA 10: Tratamento de pacientes adultos e idosos com infecção hospitalar com e sem diagnóstico microbiológico

Tratamento	Paciente com infecção hospitalar		Pacientes com diagnóstico microbiológico N=23 (%)
	Adultos N=72 (%)	Idosos N=25 (%)	
Uso de antibiótico	72 (100,0)	25 (100,0)	23 (100,0)
N ≥ 2	49 (68,1)	14 (56,0)	15 (65,2)
Amicacina	17 (23,6)	1 (4,0)	3 (13,0)
Cef. 3 ^a /4 ^a geração	33 (45,8)	14 (56,0)	12 (52,2)
Vancomicina	39 (54,2)	6 (24,0)	13 (56,5)
Quinolona	7 (9,7)	2 (8,0)	5 (21,7)
Inibidorβ-lactamase ¹	3 (4,2)	1 (4,0)	1 (4,3)
Carbapenema	2 (2,8)	--	--

¹ Ampicilina/Subactam

A síndrome infecciosa hospitalar em que houve maior detecção de patógenos foi a de infecção de corrente sanguínea (26,1%), enquanto entre as não diagnosticadas laboratorialmente o predomínio foi de sítio cirúrgico (55,4%), ambas com diferença estatisticamente significativa (Tabela 11).

TABELA 11: Episódios de infecção hospitalar em pacientes adultos e idosos com e sem diagnóstico microbiológico de acordo com o sítio de isolamento do microrganismo

Sítio de isolamento	Diagnóstico microbiológico		P ¹
	Sim (N=23) ²	Não (N=74)	
Infecção de sítio cirúrgico	05 (19,2)	41 (55,4)	0,009
Pulmão	03 (11,5)	19 (25,7)	0,32
Urina	06 (23,1)	05 (5,4)	0,01
Sangue/Ponta de cateter	09 (34,6)	02 (2,7)	< 0,0001
Outros ³	03 (11,5)	07 (9,5)	0,69

¹P≤0,05, ² houve três episódios de infecção simultânea; ³ Líquor; Sistema nervoso central; Cutânea.

As coletas para a pesquisa de colonização foram realizadas somente para os pacientes idosos. Do total de pacientes idosos incluídos no estudo (n=155), a pesquisa de colonização na narina e intestino foi feita em 90 pacientes (58,1%). Destes, 41 (45,6%) estavam colonizados com cocos Gram-positivos sendo 46,3% por *Staphylococcus aureus* (55,6% na narina e 38,9% no intestino). A resistência à oxacilina entre essas amostras foi de 39,0%, com uma maior prevalência deste fenótipo na narina (Tabela 12).

TABELA 12: Colonização por *S. aureus* resistente ou não à oxacilina em pacientes idosos obtidos através dos inquéritos de prevalência, internados no HC-UFU

Fenótipo	Pacientes colonizados Com <i>S. aureus</i> n = 18 ¹ (%)	Sítio de colonização		
		Narina	Intestino	Ambos
MRSA ²	16 (39,0)	11 (68,8)	05 (31,3)	-
MSSA ³	3 (7,3)	-	03 (100,0)	-

¹ Um paciente foi colonizado simultaneamente por MRSA e MSSA; ² "Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*"; ³ "Methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*"

A comparação entre os pacientes colonizados com MRSA e os não colonizados em relação aos fatores de risco está na Tabela 13. Os dados evidenciaram que 56,2% dos pacientes com MRSA estavam em uso de antibiótico, incluindo cefalosporinas de 3^a e 4^a geração (37,5%), única variável estatisticamente significativa, apesar de uma parcela importante dos pacientes apresentar mais de dois procedimentos invasivos (com destaque para cateteres intravasculares, 83,3%) e cirurgia (aproximadamente 40,0%). Entre os pacientes colonizados com MRSA e MSSA, 31,3% e 16,2%, apresentaram episódios de infecção hospitalar e 18,8% e 24,3% de infecção comunitária, respectivamente (Figura 2). No total as infecções de sítio cirúrgico (64,7%) e cutâneas (38,1%) foram as mais frequentes entre as hospitalares e comunitárias, respectivamente. Apesar dos pacientes permanecerem internados por longos períodos não houve diferenças significantes entre os dois grupos pela análise

univariada. A análise multivariada confirmou o uso de cefalosporinas de 3^a/4^a geração como fator de risco significativo para pacientes colonizados com MRSA.

TABELA 13: Fatores de risco para colonização por *Staphylococcus aureus* em pacientes idosos internados no HC-UFU

Fatores de risco	Pacientes colonizado/MRSA		P ¹	OR ² (IC) ³
	Sim N=16 (%)	Não N=74 (%)		
Idade (anos)	76,2 ± 11,3	73,7 ± 6,8	0,22	-
Tempo de internação, X±SD (dias)	19,2 ± 30,1	11,5 ± 13,4	0,10	-
Sexo:				
Masculino	09 (56,2)	42 (56,8)	0,80	0,98 (0,29-3,32)
Feminino	07 (46,8)	32 (43,2)		
Uso de antibióticos:				
Sim	09 (56,2)	31 (41,9)	0,44	1,78 (0,53-6,06)
N ≥ 2	04 (25,0)	13 (17,6)	0,08	3,75 (0,72-19,51)
Uso de vancomicina	01 (6,3)	04 (5,4)	0,44	2,19 (0,0-26,51)
Cef. 3 ^a /4 ^a	06 (37,5)	12 (16,2)	0,002	10,3 (1,9-62,28)
Oxacilina	-	--	--	--
Procedimentos invasivos:				
≥ 2 dispositivos	06 (37,5)	28 (37,8)	0,15	3,29 (0,65-18,28)
Sonda vesical	06 (37,5)	22 (29,7)	0,05	4,73 (0,93-26,66)
Ventilação mecânica	01 (6,3)	02 (2,7)	0,29	4,50 (0-77,08)
Cateter vascular periférico	07 (46,8)	54 (73,0)	1,0	1,30 (0,22-9,91)
Cateter vascular central	02 (12,5)	12 (16,2)	0,64	1,48 (0,19-9,43)
Cirurgia	06 (37,5)	34 (45,9)	0,30	2,35 (0,47-13,01)

¹P ≤ 0,05; ² Odds ratio; ³ Intervalo de Confiança.

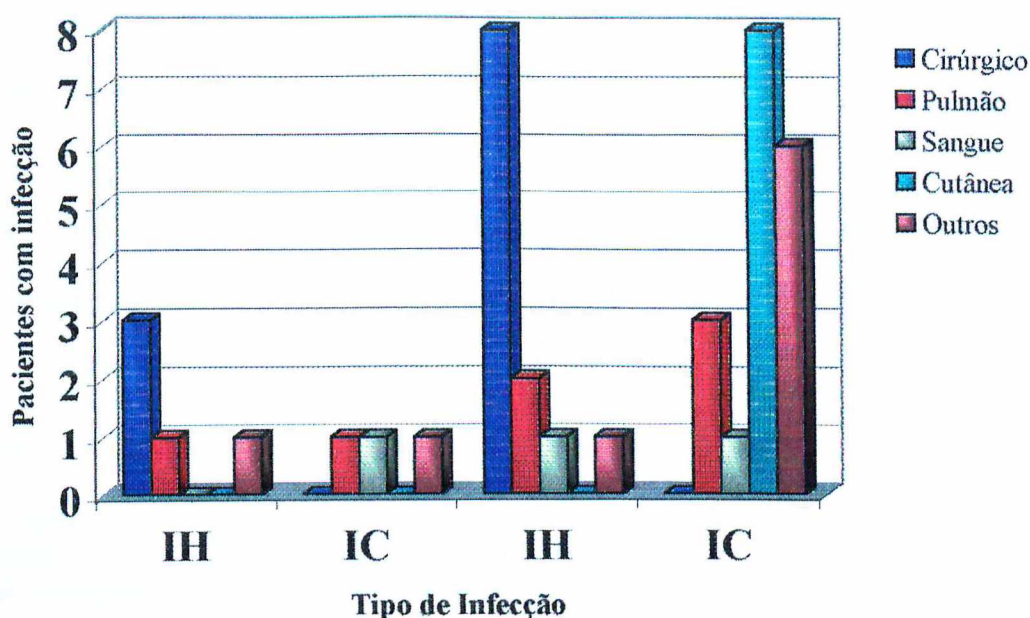


FIGURA 2 – Presença de infecção hospitalar (IH) e comunitária (IC) em pacientes colonizados ou não com MRSA.

Paralelamente à realização dos inquéritos de prevalência de colonização, foi realizada vigilância epidemiológica através de visitas periódicas ao laboratório de Microbiologia do Hospital para detecção de bacteremias por *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus spp.*, correspondendo a um total de 41 pacientes com MSSA, 41 amostras de MRSA e 28 de *Enterococcus spp.*, no período de estudo.

As características e os fatores de risco dos pacientes com bacteremias classificadas como primárias e de natureza hospitalar por MRSA e MSSA, estão na Tabela 14. A análise univariada dos fatores de risco nestas bacteremias indicou significância para os seguintes em relação às atribuídas a MRSA: tempo de internação, uso de mais de dois antibióticos, procedimentos invasivos com destaque para presença de dreno e cirurgia, sem no entanto nenhuma relação de risco com os pacientes com mais de 60 anos. A mortalidade total foi maior no grupo de pacientes com MRSA, com 34,1% dos pacientes evoluindo para o óbito. O

único fator de risco considerado independente para bacteremia hospitalar por MRSA foi o uso de cefalosporinas de 3^a/4^a geração.

TABELA 14: Característica dos pacientes com bacteremias primárias hospitalares por MRSA e MSSA

Características	Bacteremia Nosocomial		P ¹	OR ² (IC) ³
	MRSA N=41 (%)	MSSA N=41 (%)		
Idade ≥ 60 anos	19 (46,3)	15 (36,6)	0,50	1,50 (0,56-3,99)
Tempo de Internação (dias)	38,1 ± 34,4	19,9 ± 13,1	0,002	-
Sexo:				
Masculino	26 (63,4)	28 (68,3)	0,81	0,80 (0,29-2,21)
Feminino	15 (36,6)	13 (31,7)		
Admitido emergência	07 (17,1)	07 (17,1)	0,76	1,0 (0,28-3,63)
Admitido na UTI	10 (24,4)	05 (12,2)	0,25	2,32 (0,63-8,87)
Nº de diagnóstico > 1	15 (36,6)	12 (29,3)	0,63	1,39 (0,0-3,90)
Diabético	04 (9,8)	11 (26,2)	0,08	0,29 (0,07-1,15)
Antibióticos:				
Sim	39 (95,1)	35 (85,4)	0,26	3,34 (0,55-25,8)
N ≥ 2	37 (90,2)	26 (63,4)	0,008	5,34 (1,42-21,7)
Uso de Vancomicina	31 (75,6)	21 (68,9)	0,03	2,95 (1,05-8,45)
Uso de Oxacilina	--	08 (19,5)	0,005	0 (00-0,59)
Uso de Cef. 3 ^a /4 ^a	32 (78,0)	19 (46,3)	0,006	4,12 (1,43-12,13)
Procedimentos Invasivos:				
N ≥ 2	40 (97,6)	37 (90,2)	0,35	4,32 (0,42-106,45)
Cateter Vascular Central	31 (75,6)	24 (58,5)	0,15	2,20 (0,77-6,31)
Ventilação Mecânica	15 (36,6)	10 (24,4)	0,33	1,79 (0,62-5,19)
Sonda Vesical	34 (82,9)	27 (65,8)	0,12	2,52 (0,8-8,11)
Dreno	17 (41,5)	05 (12,2)	0,006	5,10 (1,49-18,43)
Cirurgia	22 (53,7)	10 (24,4)	0,001	3,59 (1,27-10,31)
Óbito	14 (34,1)	10 (24,4)	0,46	1,61 (0,56-4,70)

¹P ≤ 0,05; ² Odds ratio; ³ Intervalo de Confiança.

A maioria dos pacientes com bacteremia por MRSA estava internada em unidade de terapia intensiva (24,4%) e enfermaria de clínica médica (24,4%), esta última também reunindo a maior frequência (39,2%) dos pacientes com bacteremia por MSSA. Não foi observado diferença estatística entre os diferentes serviços/clínicas e estafilocóccias por MRSA e MSSA (Figura 3).

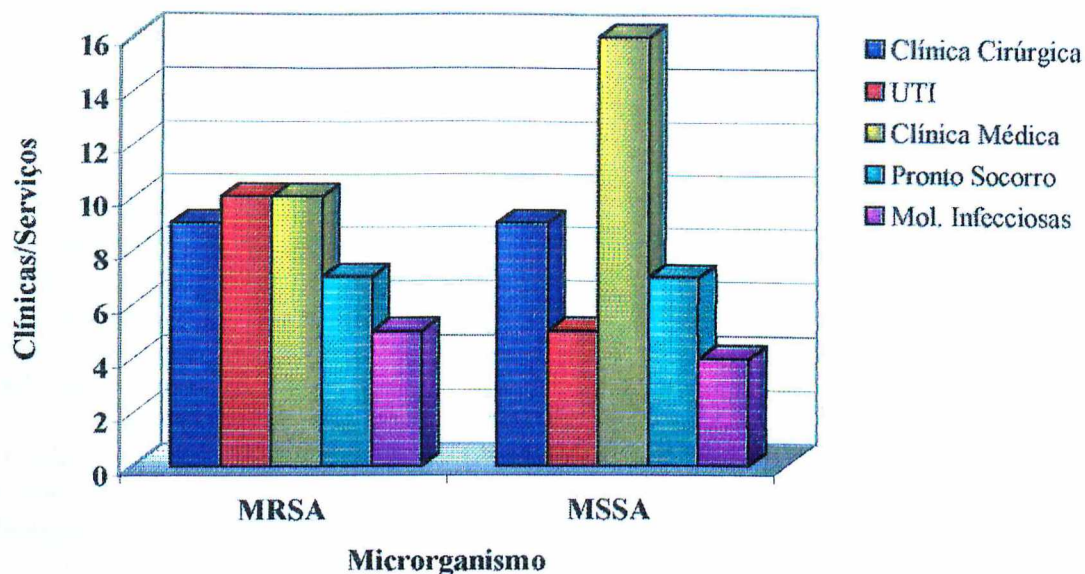


FIGURA 3 – Distribuição dos pacientes com bacteremias primárias hospitalares por MRSA e MSSA por clínicas/serviços detectados pela vigilância laboratorial, no período de Fevereiro/2000 a Agosto/2001.

Um achado importante, foi o uso inadequado de antibióticos nos dois grupos, com aproximadamente dois terços dos pacientes não utilizando ou fazendo uso incorreto de antimicrobianos em infecção grave como sepse, considerando que havia disponibilidade de informação quanto ao agente etiológico e seu espectro de susceptibilidade aos antibióticos. A análise univariada indicou que o uso de beta-lactâmicos nos pacientes com bacteremia por MRSA foi significativo ($p < 0,05$), incluindo o uso de cefalosporinas de 3^a/4^a geração (78,0%), assim como de vancomicina (75,6%). Entre os aspectos mais relevantes em relação a prescrição de classes específicas de antimicrobianos nos episódios de sepse destacam-se: em relação aos associados à MSSA, uso de aproximadamente 50,0% de beta-lactâmicos de amplo espectro (cefalosporinas de 3^a/4^a geração e carbapenema) e de vancomicina em cerca de 20,0% dos pacientes; e, em relação ao MRSA, utilização de beta-lactâmicos na maioria (82,9%), apesar da vancomicina ter sido utilizada em aproximadamente 75,0% dos pacientes como mencionado anteriormente. Esses dados estão na Tabela 15.

TABELA 15: Análise univariada da terapia antimicrobiana dos pacientes com bacteremias primárias hospitalares por MRSA e MSSA

Classe antimicrobiana	Bacteremia hospitalar		P ¹	OR ² (IC) ²
	MRSA	MSSA		
	N=41 (%)	N=41 (%)		
Todos antibióticos beta-lactâmicos	34 (82,9)	25 (61,0)	0,04	3,11 (1,0-9,90)
Beta-lactâmico/inibidor beta-lactamases	04 (9,8)	01 (2,4)	0,35	4,32 (0,42-106,45)
Cefalosporinas de 1 ^a geração	07 (17,1)	12 (29,3)	0,29	0,50 (0,15-1,60)
Cefalosporinas de 3 ^a e 4 ^a geração	32 (78,0)	19 (46,3)	0,006	4,12 (1,43-12,13)
Carbapenemas	06 (14,6)	01 (2,4)	0,10	6,86 (0,75-158,6)
Quinolonas	13 (31,7)	11 (26,8)	0,80	1,27 (0,44-3,66)
Aminoglicosídeos	06 (14,6)	05 (12,2)	1,0	1,23 (0,30-5,23)
Macrolídeos	06 (14,6)	--	0,02	ND ³
Vancomicina	31 (75,6)	07 (17,1)	< 0,0001	15,06 (4,56-52,42)
Trimetoprim/sulfametoxazol	03 (7,3)	--	0,24	ND

¹P≤0,05; ²Odds ratio; Intervalo de confiança; ³Não determinado

Entre os isolados de MRSA a multiresistência foi o padrão comumente observado, visto que cerca de 90,0% das amostras foram resistentes a oito dos treze antibióticos testados. Entre as amostras de MSSA a resistência a eritromicina (14,6%), tetraciclina (12,2%) e rifampicina (9,8%) foram mais observadas (Tabela 16).

TABELA 16: Perfil de resistência aos antimicrobianos em pacientes com bacteremias primárias hospitalares por MRSA e MSSA

Antimicrobiano	Bacteremia hospitalar		P ¹
	MRSA	MSSA	
	N=41 (%)	N=41 (%)	
Ampicilina	92,7	4,9	< 0,0001
Cefalotina	92,7	4,9	< 0,0001
Rifampicina	63,4	9,8	< 0,0001
Imipenem	90,2	4,9	< 0,0001
Ciprofloxacina	92,7	4,9	< 0,0001
Clindamicina	90,2	4,9	< 0,0001
Eritromicina	92,7	14,6	< 0,0001
Tetraciclina	90,2	12,2	< 0,0001
Levofloxacina	63,4	4,9	< 0,0001
Amicacina	90,2	4,9	< 0,0001
Gentamicina	90,2	7,3	< 0,0001
Sulfa/Trimetoprim	90,2	7,3	< 0,0001
Vancomicina	0	0	--

¹P≤0,05.

Na tabela 17 estão as características dos 28 pacientes com infecção enterocócica incluídos no estudo. A maioria (92,8%) foi caracterizada como *Enterococcus faecalis*. Em uma população que em metade apresentou idade igual ou superior a 60 anos, cerca de 90,0% estava em uso de mais de dois antibióticos, sendo uma parcela importante em uso de vancomicina (46,2%) e cefalosporinas de 3^a/4^a geração (60,7%), mais de dois procedimentos invasivos (82,1%), com destaque para sonda vesical (57,1%), a maioria dos pacientes (46,4%) estava internada na enfermaria de clínica cirúrgica, seguida da clínica médica (33,3%). A maioria dos isolados foram obtidos de episódios de sepse (51,9%). Apesar de uma pequena proporção dos pacientes apresentar infecção urinária (11,1%), aproximadamente 56,0% estavam sondados. Como mencionado, o uso de antibiótico foi freqüente nessa população (89,3%) e a mortalidade total foi alta (25,9%).

TABELA 17: Características dos pacientes com infecção por *Enterococcus* spp. internados no HC-UFU, obtidos pela vigilância laboratorial

Variável	Infecção por <i>Enterococcus</i> spp. N= 28 (%)
Idade ≥ 60 anos	14 (50,0)
Tempo de Internação (dias)	22,0
Sexo:	
Masculino	13 (48,1)
Feminino	15 (53,6)
Admitido emergência	4 (14,8)
Admitido na UTI	2 (7,4)
Antibióticos:	
N ≥ 2	25 (89,3)
Uso de Vancomicina	13 (46,2)
Uso de Cef. 3 ^a /4 ^a	17 (60,7)
Procedimentos Invasivos:	
N ≥ 2	23 (82,1)
Cateter Vascular Central	8 (29,6)
Ventilação Mecânica	6 (22,2)
Sonda Vesical	16 (57,1)
Dreno	10 (35,7)
Cirurgia	19 (71,4)
Óbito	8 (28,6)

Um achado surpreendente foi a baixa recuperação de enterococos de pacientes idosos, considerando que as culturas foram realizadas a partir da boca e intestino. No cultivo primário houve crescimento em apenas 10,0% dos pacientes, sendo que em somente três (3,3%), dois a partir de fezes e um de "swab" da boca, foram caracterizados a presença de *Enterococcus faecalis*, susceptível à vancomicina.

Do total de amostras (28 isolados provenientes de episódios de infecção e três de colonização), 25,8% e 32,3%, respectivamente, foram resistentes a níveis elevados de gentamicina e estreptomicina. Não foi detectado nenhum isolado de enterococos com resistência a ampicilina (16 µg/mL) e nem produtores de β-lactamases. A CIM₉₀ para vancomicina entre essas amostras foi 1,0 µg/mL.

Cinqüenta e cinco amostras de *Staphylococcus aureus* resistentes à oxacilina pelo teste de difusão com disco (1 µg/mL) isolados de pacientes infectados (n=39) e colonizados (n=16) também foram avaliadas "in vitro" pela técnica de diluição em gel, quanto a presença do gene *mecA* e produção de β-lactamase. Onze isolados foram excluídos por apresentarem gene para coagulase negativos (gene *coa*). Três amostras (5,5%) comportaram-se como susceptíveis à oxacilina, sendo que duas foram gene *mecA* positivas. A maioria (77,2%) dos isolados apresentou CIMs superiores à 256 µg/mL e a maioria foi gene *mecA* (72,7%) e β-lactamase (70,5%) positivas. Esses dados estão na Figura 3. Foram detectados dois isolados com CIMs elevados (> 256 µg/mL), gene *mecA* negativo (Figura 4).

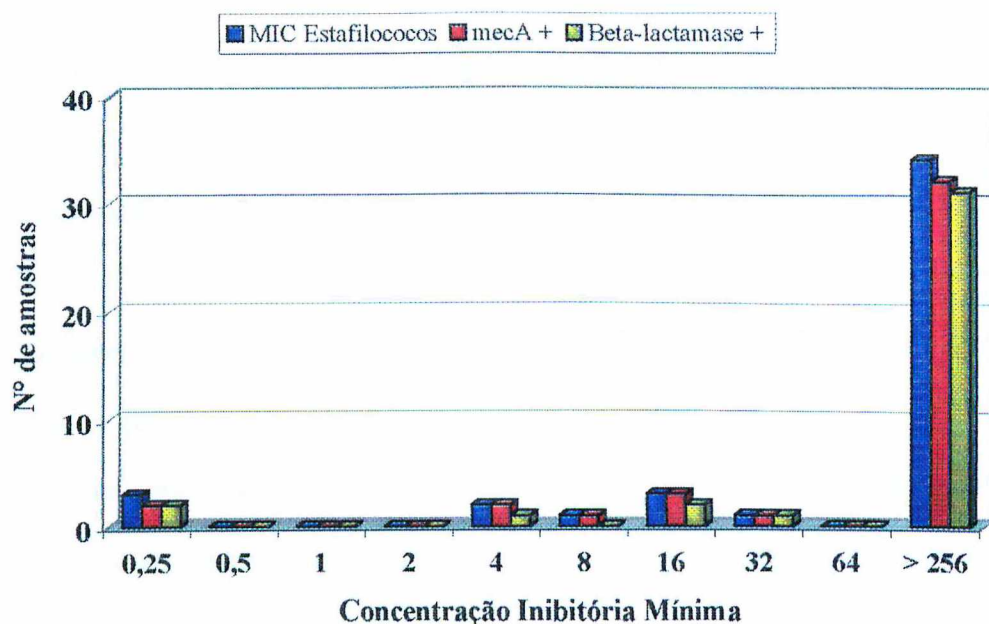


FIGURA 4 – Distribuição de amostras de *S. aureus* associadas à colonização e infecção, submetidas a análise da presença do gene *mecA* e produção de β -lactamase, de acordo com as CIMs para oxacilina.

TABELA 18: Correlação dos testes de susceptibilidade do CIM, difusão com disco para oxacilina, agar triagem com oxacilina, β -lactamase com a presença do gene *mecA* para 44 isolados de *S. aureus*

CIM ¹ (µg/mL)	Nº isolados N=44	Difusão com disco	Agar Screening	β - lactamase	<i>mecA</i> positivo	<i>mecA</i> negativo
> 256	34	34	31	31	32	02
8-32	05	05	03	03	05	0
≤ 4	05	05	01	03	04	01

¹Concentração Inibitória Mínima.

A análise da diversidade genética de onze amostras, sendo nove de *Enterococcus faecalis* e duas de *Enterococcus faecium* obtidas de infecções enterocócicas, foi avaliada através da análise de perfis de fragmentação do DNA cromossômico, obtidos após digestão com *SmaI* e separação pela técnica de eletroforese em gel de agarose em campo pulsado (“PFGE”) (Figura 5). Elas foram resistentes a ampicilina (difusão em gel), mas, isoladas de

unidades e momentos distintos, sendo proveniente de paciente idoso correspondendo a uma infecção de sítio cirúrgico internado na clínica cirúrgica II.

Entre as nove amostras de *Enterococcus faecalis*, cinco foram provenientes de pacientes idosos. No total, seis apresentaram um grau de similaridade aproximadamente de 80,0%, 82,0% e 89,0% duas a duas (11 e 41; 07 e 15; 13 e 21), respectivamente, sem, no entanto, apresentarem concordância em aspectos epidemiológicos clássicos, ou seja, relações temporais e quanto as clínicas/serviços.

A amostra n° 41 foi a única caracterizada como resistente aos glicopeptídeos (> 256 µg/mL de vancomicina) comportando-se como do genótipo *vanA*, sendo isolada de um episódio de infecção cirúrgica, na fase final da investigação. A paciente apresentava as seguintes características demográficas e clínicas: sexo feminino, 30 anos, politraumatizada, submetidas à diversas cirurgias, em uso de vancomicina e cefalosporinas de 3ª e 4ª geração, com sonda vesical e cateter vascular periférico, internada na enfermaria de clínica cirúrgica.

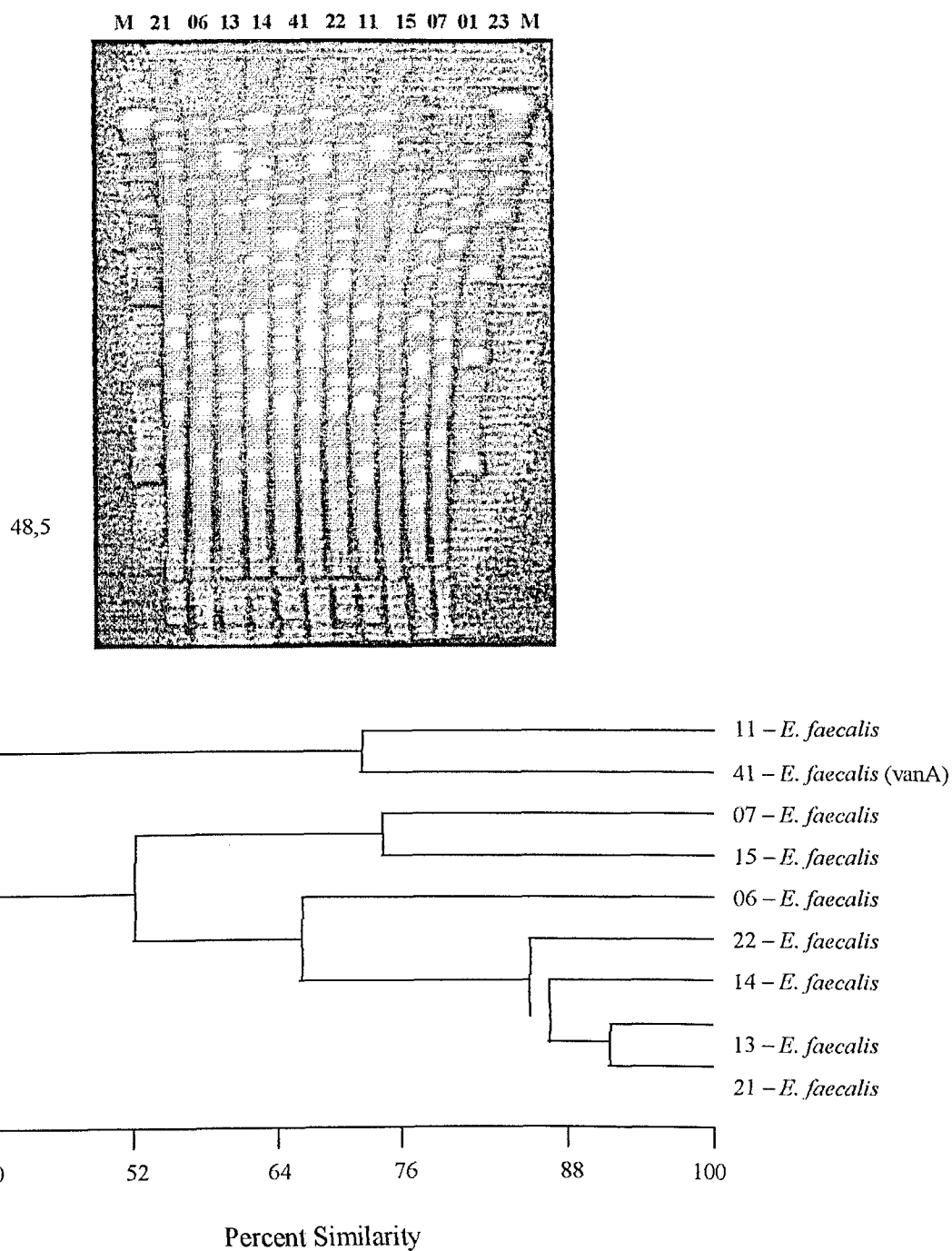


FIGURA 5: Modelo representativo de PFGE de 9 isolados de *Enterococcus faecalis* e dois isolados de *Enterococcus faecium*. Linha M representa o concatêmero do DNA lambida. Linhas 01 e 23, *Enterococcus faecium*.

6 DISCUSSÃO

A partir da década de oitenta, a incidência de infecções hospitalares graves, destacando-se as bacteremias primárias associadas a procedimentos e cateteres intravasculares (ARRUDA, 1997; CRUMP, 2000) devido principalmente à bactérias Gram-positivas aumentou significativamente em todo o mundo (WENZEL, EDMOND, 2001; WEY, 2001). Dados do “National Nosocomial Infections Surveillance System” indicam que SCoN (*Staphylococcus epidermidis*), *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus* spp. são responsáveis pela maioria destas infecções (REMINGTON, 2000). O tratamento de infecções hospitalares, particularmente de bacteremias e pneumonias, síndromes infecciosas com taxas mais altas de mortalidade atribuída é complicado pela participação de fenótipos de resistência destes microrganismos, destacando-se MRSA, MRSE (“Methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis*”), HLR e VRE, cada vez mais expressiva, resultando em freqüências de morbidade e mortalidade crescentes e custos mais elevados (SINJEE, GIL, 1997; CHAMBERS, H. F., 2001; RICE, 2001; ROSSI, 2001).

A participação da população de idosos, com idade igual ou superior a 65 anos, na população geral vem também aumentando de forma expressiva refletindo naquela hospitalizada em todos os países (YOSHIKAWA, 1997; THOMSON, 1999; YOSHIKAWA, 2000; JARVIS, 2001; GAVAZZI; KRAUSE, 2002). A estimativa é que até o ano 2025 o percentual da população brasileira com mais de 60 anos dobrará, passando de 7,5% para 15,0%. Em números absolutos, isto significa que o número de 11 milhões existentes atualmente passará para 32 milhões de idosos (POPULAÇÃO DE IDOSOS, 1997).

Em comparação com a população mais jovem, as infecções na população idosa além de mais freqüentes são mais graves, com características distintas em relação a apresentação

clínica, resultados laboratoriais, agentes etiológicos e tratamento (TAYLOR, 1998; GAVAZZI; KRAUSE, 2002). No período de 1976 a 1988, segundo dados do projeto SFNIC, 34,0% das altas hospitalares, 46,0% das infecções hospitalares e 54,0% das mortes por infecção hospitalar foram na população com mais de 65 anos (SMITH, 1989).

A situação no Brasil caracteriza-se pela inexistência de dados. VILLAS BOAS e colaboradores (2002), em estudo realizado em Botucatu, SP, com a finalidade de verificar a associação entre os procedimentos de risco e infecção hospitalar na população com mais de 60 anos internada em um Hospital Universitário, relataram uma taxa de infecção hospitalar de 23,6%, e de pacientes com infecção hospitalar de 18,6%, sendo as síndromes mais freqüentes: sepse (27,6%), infecção do trato urinário (26,4%) e infecção de sítio cirúrgico (23,6%). Neste estudo, entre as variáveis associadas com infecção hospitalar relacionaram-se: tempo de internação ($p < 0,05$), diabetes mellitus (OR=9,9), doença pulmonar obstrutiva crônica (OR=8,3), sonda vesical (OR=5,71) e ventilação mecânica (OR=3,8).

Os resultados da nossa investigação evidenciaram a importância das infecções hospitalares na população idosa com uma taxa elevada (16,1%) nos pacientes dessa faixa etária, internada no HC-UFU, mas compatíveis com dados de países do Hemisfério Norte, que apontam uma incidência de infecções adquiridas no hospital oscilando de 10,0% a 20,0% (AUGER et al., 1997). No entanto, há publicações com freqüências mais altas como 22,7% e 33,3%, respectivamente na Turquia (ELLIDOKUZ et al., 2003) e Holanda (BEAUJEAN et al., 1997).

Os fatores de risco intrínsecos em idosos são extremamente importantes na predisposição às infecções hospitalares, destacando-se: a deficiência dos mecanismos de defesa, resultantes da arterosclerose; comprometimento do sistema imunológico; doenças crônicas como cardiopatias, pneumopatias, nefropatias e encefalopatias entre outras; contribuindo para um tempo de hospitalização prolongado (ROTHSCHILD et al., 2000).

Adicionalmente, cirurgias, procedimentos invasivos e o uso de medicamentos (citotóxicos, corticóides e antimicrobianos) são fatores de risco comuns nesses pacientes (CHAN, CHEE, 1990; BEAUJEAN et al., 1997; ROTHSCHILD et al., 2000; GAVAZZI; KRAUSE, 2002).

Em países em desenvolvimento como o Brasil e o México outros aspectos importantes a serem considerados em relação às infecções hospitalares incluem: presença significativa de infecções comunitárias, que contribui para que os antibióticos estejam entre os medicamentos mais prescritos em hospitais, com uma proporção superior a 40,0% nos pacientes infectados (PRADE et al., 1995a), além do uso de forma menos criteriosa, decorrente em parte da inexistência de laboratórios de microbiologia, proporção inadequada de leitos para pacientes críticos e especialmente falta de tradição nas práticas de prevenção e controle de infecções hospitalares (GONTIJO FILHO, 2002; PRADE et al., 1995a; PRADE et al., 1995b).

Nesse estudo, muitos desses fatores de risco e aspectos foram evidenciados, destacando-se a relação de 1:1,6 episódios de infecções hospitalar:comunitária; 42,0% dos pacientes em uso de antimicrobianos, sendo 40,1% em uso de dois ou mais desses fármacos; apenas 16,0% daqueles com infecção hospitalar com definições utilizando critérios microbiológicos. Merece ainda registro, a pequena porcentagem (3,2%) de pacientes idosos cuidados em UTIs, sendo a maioria internada em enfermarias cirúrgicas (47,7%) e clínica médica (26,0%).

Embora os fatores de risco como tempo de hospitalização ($p=0,007$), uso de antimicrobianos e dos diversos procedimentos invasivos ($p\leq 0,05$) fossem associados com os casos de infecção hospitalar em idosos, diferenças não foram encontradas quando da comparação com os pacientes adultos. Na nossa investigação as taxas gerais de prevalência de pacientes com infecções de natureza hospitalar foram de 16,1% *versus* 14,5%, e comunitária, 25,6% *versus* 25,0%, respectivamente, em idosos e adultos.

Os sítios mais freqüentes de infecções hospitalares são pela ordem: trato urinário, pulmão, sítio cirúrgico e corrente sanguínea (REEB et al., 1995; AUGER et al., 1997; BEAUJEAN et al., 1997; ROTHSCHILD et al., 2000), sendo como foi referido anteriormente as pneumonias e bacteremias aquelas de apresentação mais grave (EMORI, GAYNES, 1993). No Brasil, em função da pouca utilização de critérios microbiológicos, as infecções urinárias são subestimadas e as de trato respiratório inferior superestimadas (GONTIJO FILHO, 2002). Estas infecções são consideradas ainda mais prevalentes (YOSHIKAWA, 2000) sendo que as urinárias são até vinte vezes mais freqüente (GAVAZZI; KRAUSE, 2002).

Nessa série, a participação das infecções de sítio cirúrgico foi a mais expressiva (56,0%), a exemplo do descrito por Ellidokuz et al. (2003), na Turquia, seguindo-se as infecções do trato respiratório inferior (24,0%). As infecções urinárias são as mais freqüentes entre as hospitalares (NNIS), situação que se salienta ainda mais nos idosos hospitalizados (GAVAZZI; KRAUSE, 2002). Entretanto neste estudo elas representaram apenas 4,0%. Os principais fatores de risco de infecções urinárias e bacteremias primárias são sonda vesical e cateter vascular central, respectivamente (GAVAZZI; KRAUSE, 2002). Embora na nossa investigação 27,1% dos pacientes idosos estivessem sondados e 13,5% com cateter vascular central, considera-se que esta proporção em hospitais gerais é de 15,0–20,0% (ARRUDA et al., 1997) como foi referido, isso é o resultado da não utilização de dados microbiológicos (WEINSTEIN, 2001).

Quando da comparação com a população adulta internada no HC-UFU, as taxas de infecção hospitalar e comunitárias nos idosos foram altas, mas não apresentaram diferenças estatísticas, o mesmo ocorrendo em relação aos fatores de risco intrínsecos e extrínsecos para o desenvolvimento de infecção. Entretanto, no total, as freqüências dos seguintes fatores de risco associados com infecção hospitalar foram mais altas: uso de dois ou mais antibióticos (66.0%), uso de procedimentos invasivos (71.1%) e cirurgia (68.0%). Por outro lado, a

comparação de idosos com e sem infecção hospitalar evidenciou que a maioria dos procedimentos invasivos, cirurgia e uso de 2 ou mais antibióticos foram diferentes ($p \leq 0,05$). O tempo de hospitalização (GROSS; LEVINE, 1993) é relacionada à gravidade do estado do paciente e conseqüentemente reflete sobre os custos hospitalares, como foi referido anteriormente. No nosso estudo, o tempo de hospitalização de pacientes idosos com infecção hospitalar foi duas vezes mais longo ($p=0.007$).

Entre os principais agentes de infecções hospitalares que sofreram modificações quanto a susceptibilidade aos antimicrobianos destacam-se os estafilococos, enterobactérias, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* e, mais recentemente, os enterococos. As infecções por bactérias Gram-positivas representam cerca de um terço do total, sendo os principais responsáveis por infecções de corrente sanguínea e sítio cirúrgico (KARCHMER, 2000; MCGOWAN, 2000). Essa situação de bactérias resistentes e multiresistentes acontece globalmente, porém cada hospital e cada UTI possuem uma realidade microbiológica diferenciada e que deve ser documentada laboratorialmente (KRITCHEVSKY et al., 2001).

Atualmente, as infecções por MRSA são freqüentes e associadas a uma maior morbidade e mortalidade em pacientes hospitalizados (EMORI; GAYNES, 1993; WEY, 2001). Em algumas áreas geográficas e países a sua prevalência permanece baixa, enquanto em outras varia de 10% a 50% (BOYCE et al., 1994; NAVES et al., 1996). A incidência de MRSA aumentou 260,0% nos hospitais que participam do INSPEAR, ("International Networks for the Study and Prevention of Emerging Antimicrobial Resistance"), no período de 1990-1997 (BOYCE et al., 1994).

No Brasil, a resistência de *S. aureus* à meticilina, portanto, à oxacilina e cefalosporinas em hospitais gerais/universitários oscila entre 30,0%-100,0% (SADER 1998; SOUZA et al., 1998; SILVA-NETO et al., 1999). No HC-UFU, mais da metade (54,0%) dos isolados de *S. aureus* são de MRSA e associados com fatores de risco inerentes do paciente, como idade e

hospitalização prévia (SADOYAMA; GONTIJO FILHO, 2000). Em nosso estudo a proporção de estafilococcias hospitalares por MRSA nas amostras provenientes de sangue, foi de 50,0%, ratificando os dados de avaliações anteriores (SADOYAMA, GONTIJO FILHO, 2000).

A distribuição das estafilococcias hospitalares por sítios anatômicos na casuística “NNISS” (1986-1990) foi: bacteremia primária (22,0%), infecção cirúrgica (18,0%), pneumonia (16,0%) e outras (46,0%) (WENZEL, 1991). No total, considerando pacientes adultos e idosos, os resultados de sepse por MRSA foram semelhantes, com o predomínio de bacteremias primárias (35,9%). No que refere à distribuição dos pacientes por clínicas, a prevalência de MRSA predomina em Unidades Críticas (HANBERGER et al., 2001). Nesta casuística, o MRSA foi detectado em episódios de infecção hospitalar na maioria das unidades incluindo a Unidade de Terapia Intensiva (24,4%), enfermarias de clínica médica (24,4%) e de clínica cirúrgica (21,9%), enquanto o MSSA foi mais encontrado nas clínicas médica (39,2%) e cirúrgica (21,9%).

As razões para a endemicidade do MRSA na maioria dos hospitais de grande porte, são multifatoriais e atribuídas a características do hospedeiro, com destaque para a idade, número de diagnósticos, gravidade da doença de base e tempo de internação (HERSHOW; KHAYR; SMITH, 1992; CHAMBERS, 2001); e, fatores de risco extrínsecos sobressaindo os procedimentos invasivos particularmente cateter vascular central e o uso de antibióticos além da dificuldade na implementação de práticas de prevenção e controle de infecções hospitalares (RUSSEL, HUGO, AYLIFFE, 1997; GONTIJO FILHO, 2002). Numa revisão recente de Monnet; Fremodt-Moller (2001) relatam a associação entre MRSA e o uso de antibióticos, particularmente fluorquinolonas e cefalosporinas, resultando na colonização e disseminação de MRSA no ambiente hospitalar (HILL; HERFORD; PARRATT, 1998; FU-YU; MUDD OLORA; ALCID, 2000).

Nesta investigação, a pesquisa de colonização por *S. aureus* foi realizada apenas nos pacientes idosos, sendo constatada uma freqüência alta (39,0%) de MRSA, superior a 5,3 vezes a verificada em relação ao MSSA. A presença de MRSA foi mais observada na narina (68,8%) e a de MSSA (100,0%) no intestino.

Pacientes colonizados com *S. aureus* apresentam um maior risco de adoecimento por esse microrganismo (ASENSIO et al., 1996; KORN et al., 2001). Em nosso estudo, quando da comparação desses pacientes com os não colonizados, não foram encontradas associações significantes entre os fatores de risco considerados, exceto com o uso de cefalosporinas de 3^a/4^a geração. Os fatores predisponentes para colonização são os mesmos observados para infecção por esse microrganismo, ou seja, hospitalização prolongada, terapia antimicrobiana de largo espectro, permanência em UTI e unidades de queimados (KORN et al., 2001). Dos pacientes hospitalizados que estão colonizados por MRSA, cerca de 30% a 60%, eventualmente, desenvolverão infecção por este microrganismo (BOYCE et al., 1994). Entretanto, Korn et al. (2001) descreveram uma freqüência ainda mais elevada de pacientes colonizados (n=74) com MRSA mas sem correlação com fatores de risco.

No entanto, quando da comparação entre bacteremias primárias hospitalares por MRSA e MSSA observamos um maior número de fatores predisponentes associados à essas infecções além do uso de antimicrobianos como vancomicina, oxacilina e cefalosporinas de 3^a/4^a geração. Verificou-se que o uso inadequado desses medicamentos foi freqüente, destacando-se as prescrições de β -lactâmicos em pacientes com infecção por MRSA (78,0%) e vancomicina (51,2%) naqueles com estafilococcia por MSSA. É importante lembrar que na investigação de infecções hospitalares em pacientes adultos e idosos predominou (76,3%) a inexistência de diagnóstico microbiológico. Entretanto, o tempo de internação hospitalar foi a única variável intrínseca associada a essa síndrome infecciosa por MRSA, após realização de análise univariada. A idade e diagnóstico como diabete, provavelmente devido ao número

limitado de pacientes incluídos na investigação não diferiram nos dois grupos. Por outro lado, o uso de mais de dois antimicrobianos (OR = 21,76) e cirurgia (OR = 6,91) foram fatores de risco independentes para infecção sanguínea por MRSA. Entre os procedimentos invasivos a presença de dreno ($p = 0,006$) foi o único associado a sepse por MRSA, embora houvesse cateter vascular central em 75,6%, dos pacientes com MRSA.

Outro microrganismo Gram-positivo que se destaca como patógeno hospitalar é o enterococo, agente freqüente de infecções do trato urinário, corrente sanguínea e de sítio cirúrgico nos hospitais americanos (LLOYD et al., 1998). Embora seja considerado um microrganismo de baixa virulência a sua importância como agente de infecções decorre do aumento de idosos e imunocomprometidos hospitalizados, uso de procedimentos invasivos em unidades críticas e, sobretudo a utilização de antibióticos sem atividade para enterococos, mas que exercem pressão seletiva favorecendo sua presença (MURRAY, 1990; MURRAY, 1991). Nesta investigação, a vigilância de infecções enterocócicas de natureza hospitalar, foi realizada através de visitas regulares ao laboratório de microbiologia do hospital, durante o período de dois anos. As síndromes infecciosas mais freqüentes foram bacteremias (51,9%), cirúrgicas (29,6%) e urinárias (11,1%), diagnosticadas em aproximadamente 50,0% dos pacientes com mais de 50 anos.

Estima-se que apenas cerca de 2,0% a 14,0% das bacteremias por esta bactéria estão relacionadas ao uso de cateteres vasculares (NNISS, 1991; GRANINGER; RAGETTE, 1992), ao contrário daquelas de etiologia estafilocócica (WEINSTEIN, 1996). Essa associação com cateteres intravasculares foi verificada em nosso estudo (42,8%), verificando-se menos da metade dos pacientes com sepse em uso de cateter vascular central.

Embora as infecções urinárias em idosos sejam relacionadas ao uso de sonda vesical e tenham uma maior participação de *Enterococcus* (WEINSTEIN, 1996; LAUTENBACH; BILKER; BRENNAN, 1999) os nossos resultados refletem uma casuística pequena.

Entretanto, a população sondada nesta investigação foi ainda maior (55,6%) do que a relatada na comparação entre infecções hospitalares em idosos e adultos (27,1%), justificando o que foi mencionado, de que as infecções urinárias são subestimadas pela inexistência de urinoculturas.

Um dos problemas na definição de infecções de natureza hospitalar é a falta de dados microbiológicos com reflexo na sensibilidade (falso negativos) e especificidade (falso positivos), uma vez que representam a fonte fundamental na detecção de síndromes urinárias e bacterêmicas (GASTIMIER et al., 1998). Embora dados microbiológicos tenham sido empregados na definição das diferentes infecções hospitalares enterocócicas, somados aos clínicos segundo o CDC (COUTO et al., 1998) as culturas identificadas quando do isolamento no HC-UFU, apresentaram uma proporção expressiva (18,0%) que não se comportou como do gênero quando reavaliados no nosso laboratório, que justifica-se pela não utilização no período de estudo de testes como PYR na caracterização em nível de gênero do *Enterococcus*.

No Brasil, onde problemas usuais nos hospitais como controle deficiente no uso de antimicrobianos, falta de laboratórios de microbiologia e predomínio de terapêutica empírica dos pacientes, o problema de resistência e multiresistência entre patógenos hospitalares é mais significativo (PANNUTTI; GRINBAUM, 1995; WEY, 1995). Como mencionado previamente, a exemplo do que vem sendo observado internacionalmente (MAYHALL, 1996), cerca da metade das infecções por *S. aureus* em hospitais gerais brasileiros está associada ao MRSA (PANNUTTI; GRINBAUM, 1995; SADER et al., 1999), resultando no aumento do uso de vancomicina. Como comentado anteriormente, a frequência do fenótipo MRSA nas estafilocóccias hospitalares é de 45,0% (SADOYAMA; GONTIJO FILHO, 2000) e, conseqüentemente, a prescrição de vancomicina é freqüente e pouco judiciosa quando analisada pelos critérios do CDC (COUTO et al., 1998).

A maior prescrição desse antibiótico nos hospitais americanos resultou na emergência do fenótipo VRE, que vem crescendo de importância não somente nas unidades críticas (CDC, 1994; WOODFORD et al., 1995; EVANS, KORTAS, 1996; MELHUS, TJERNBERG, 1996; CDC, 1997) mas nos hospitais em geral, dificultando a escolha do antibiótico utilizado no tratamento de infecções enterocócicas graves, tradicionalmente reduzido à combinação de penicilinas, aminoglicosídeos e glicopeptídeos (GRAY; PEDLER, 1992)

Enterococcus spp. é uma bactéria naturalmente resistente à baixos níveis de penicilinas e de aminoglicosídeos (JONES et al., 1995; RICE, 2001), e, os mecanismos de resistência de enterococos às penicilinas, aminoglicosídeos e glicopeptídeos estão relacionados à produção de β -lactamases/alteração de sítio ativo, inativação por enzimas e alteração de sítio ativo na parede celular, respectivamente (SHAW et al., 1993; HUYCKE; SAHM; GILMORE, 1998). Em relação aos dois primeiros grupos de antibióticos a resistência é considerada adquirida quando observada à altas concentrações dos mesmos e implica na necessidade de substituição do antimicrobiano em questão por vancomicina (SWARTZ, 1994; WEINSTEIN et al., 1996; MARCUS; PELED; YAGUPSKY, 1997)

A frequência de amostra com resistência aos β -lactâmicos continua baixa, inferior a 10% nos hospitais dos EUA e UK (GRAY; PEDLER, 1992). Essa característica não é detectada rotineiramente pelos testes de susceptibilidade como difusão com disco e diluição em ágar, mas pode ser detectado através de ensaio com cefalosporina cromogênica (BATES, 1997). Nesta investigação, a susceptibilidade às penicilinas não foi verificada quando investigada pelos testes de diluição em gel e pesquisa de β -lactamases. A resistência aos aminoglicosídeos é detectada mais frequentemente (PATTERSON, ZERVOS, 1990), sendo evidenciada inicialmente na França (HORODNICEANU et al., 1979), e, a seguir, em vários países do hemisfério norte em frequências variando de 4,5% a 15,0% (BATES, 1997;

MENDONÇA et al., 1997; SIMJEE; GILL, 1997; SINJEE et al., 2000). No Brasil, dados de pacientes internados no Hospital São Paulo da Universidade Federal de São Paulo, evidenciaram 26,4% e 24,8% das amostras como resistentes à gentamicina e estreptomicina, respectivamente, enquanto em hospitais no Rio de Janeiro essa porcentagem já foi cerca de 50,0% (CEREDA et al., 1997; NETZ, 1998). Em um estudo anterior realizado no HC-UFU (RIBAS; GONTIJO FILHO, 2001) as frequências de resistência foram de 20,0% para gentamicina e 15,5% para estreptomicina, enquanto nessa investigação, a resistência à níveis altos de gentamicina e estreptomicina foi de 20,5% e 28,2%, respectivamente.

O primeiro VRE relatado no Brasil foi associado a um caso fatal de sepse por *E. faecium* resistente à vancomicina, teicoplanina, ampicilina, gentamicina e estreptomicina, em uma criança de 9 anos com anemia aplásica, em Curitiba, PR. O paciente apresentava vários fatores de risco como: hospitalização prolongada, imunossupressão e antibioticoterapia múltipla, incluindo cefalosporinas de 3ª geração, imipenem e vancomicina durante longos períodos (COSTA et al, 1998). A seguir, outro caso foi descrito em São Paulo, relativo a uma mulher de 63 anos, com meningite por *E. faecium* do fenótipo VanA, (ZANELLA et al., 1999a). Posteriormente, um surto por VRE foi documentado no mesmo hospital, afetando grande número de pacientes. As amostras isoladas foram identificadas como *E. faecalis* e *E. faecium*, todas pertencentes ao fenótipo VanA (ZANELLA et al., 1999).

No nosso estudo é relatado o primeiro caso de VRE no HC-UFU, correspondendo a uma amostra de *E. faecalis* do fenótipo VanA, isolada de uma infecção cirúrgica numa paciente com os seguintes fatores de risco: internação prolongada, transferência hospitalar, politraumatizada, sonda vesical, cirurgia potencialmente contaminada e uso de cefalosporinas de 3ª geração e vancomicina. A paciente foi tratada com linezolida, evoluindo bem com alta hospitalar. Anteriormente, na mesma clínica cirúrgica (Clínica Cirúrgica I), Melo, Carvalho, Gontijo Filho (2001) detectaram uma paciente cirúrgica politraumatizada, em uso de

vancomicina colonizada no intestino por uma amostra de *E. faecalis* com resistência intermediária a este glicopeptídeo.

As infecções enterocócicas hospitalares são na sua maioria endógenas, mas existem evidências da aquisição exógena através da disseminação de paciente para paciente de amostras de VRE (CHIRURGI et al., 1992; DEMBRY, 1996), inclusive no surto descrito em São Paulo (GALES, 2001; MEDEIROS et al., 2002)

Como referido, a importância do fenótipo VRE em unidades críticas em hospitais nos EUA assumiu uma dimensão preocupante (CDC, 1997), extensivo à etiologia de infecções de corrente sanguínea, onde sua participação é de 3,8% (EGGIMANN; PITTET, 2002).

As dificuldades resultantes da inexistência de laboratórios e de baixa qualidade dos existentes têm um impacto expressivo no tocante às infecções hospitalares (GONTIJO FILHO, 2002), considerando a diversidade de agentes etiológicos nas diferentes síndromes infecciosas, bem como, as proporções significativas de amostras resistentes/multiresistentes em relação a todos eles (GOLDMANN; HUSKINS, 1997; WEBER, RUTALA, 1999).

No tocante a investigação de surtos, a discriminação das amostras epidêmicas, embora passível de ser realizada por técnicas fenotípicas, como o espectro de resistência aos antibióticos, é feita atualmente através de métodos moleculares, particularmente por técnicas de “DNA fingerprinting” onde se destaca a eletroforese em campo pulsátil (PFGE) (MASLOW; MULLIGAN; ARBEIT, 1993; PFALLER; HOLLIS; SADER, 1994; TEIXEIRA et al., 1995; PLESSIS et al., 1995; BARBIER et al., 1996; DESCHEEMAEKER et al., 1997). Considerando a estabilidade, reprodutibilidade e poder discriminatório, a técnica de PFGE está sendo considerada como a metodologia mais adequada para análise epidemiológica das infecções hospitalares (BARG, 1993).

Nesta investigação, embora houvesse inicialmente apenas um isolado do VRE, um total de 30 amostras foram analisadas quanto a presença de genes *vanA*, *vanB* e *vanC* pelo

multiplex PCR, confirmando-se a existência do genótipo *vanA* naquela resistente a altas concentrações de vancomicina e teicoplanina (fenótipo VanA). Embora, uma segunda amostra isolada de um caso de sepse apresentasse um grau de similaridade em torno de 80,0%, ela era susceptível à vancomicina e o paciente não apresentava nenhuma relação espacial, já que se encontrava internado na enfermaria de Clínica Médica). Entretanto, pelos dois casos de VRE mencionados é importante enfatizar a necessidade um programa de vigilância epidemiológica para monitorar a situação referente a este microrganismo na enfermaria cirúrgica referida.

Além dessas duas amostras, foram também tipadas mais nove, incluindo duas de *E. faecium*, verificando-se similaridades genéticas de até 91,0% entre alguns isolados de *E. faecalis*, sem no entanto, qualquer relação entre os pacientes quanto as enfermarias e o período de internação. Entre as nove amostras de *E. faecalis*, a maioria foi proveniente de pacientes idosos.

Na maioria dos surtos/"clusters" de infecções hospitalares por enterococos investigadas nos EUA e Europa (WOODFORD; STIGTER, 1998) a amostra epidêmica é usualmente característica tratando-se de um único clone, refletindo uma transmissão cruzada, provavelmente pela mão de profissionais de saúde, existem aquelas em que há vários clones do mesmo microrganismo, associados a problemas na política de uso de antibióticos (GOLDMAN; HUSKINS, 1997; CEREDA et al., 2002; HANBERGER et al., 2001). As duas situações estão presentes nos hospitais brasileiros, tornado-se possível a ocorrência de "clusters" associados a microrganismos resistentes ou não. (PANNUTTI; GRIMBAUM, 1995).

Embora o foco principal das doenças infecciosas nas últimas décadas fossem em adultos e crianças, atualmente, a preocupação com a população idosa é mandatória. A inter-relação entre idade e doença infecciosa é uma pequena parte do problema global do envelhecimento da população (YOSHIKAWA, 2000).

7 CONCLUSÕES

A frequência de pacientes idosos com infecções hospitalares (16,1%) foi alta e subestimada, particularmente considerando-se que menos de 20% dos pacientes foram utilizados critérios microbiológicos, que são imprescindíveis na definição de infecções urinárias, consideradas as mais frequentes nessa faixa etária;

Não houve diferenças entre os fatores de risco para infecção hospitalar entre pacientes idosos e adultos, refletindo sobretudo o pequeno número de pacientes incluídos na investigação;

A frequência de colonização por *Staphylococcus aureus* em idosos, principal fator de risco para infecção por esse microrganismo, foi de 45%, sendo cerca de 40% resistente à oxacilina. A variável mais significativa nesse grupo foi o uso de cefalosporinas de amplo espectro, no grupo colonizado;

As bacteremias primárias hospitalares por MRSA corresponderam à metade, sendo associadas aos seguintes fatores de risco: presença de mais de um diagnóstico, cirurgia, tempo de internação, uso de antibióticos e de procedimentos invasivos como sonda vesical e drenos, sem relação com pacientes com idade superior a 60 anos;

A presença do gene *mecA* foi detectada nas amostras de MRSA, excetuando-se duas com nível alto de resistência à oxacilina ($> 256\mu\text{g/mL}$), evidenciando a possibilidade da existência de outros genótipos;

Os métodos tradicionais usados na identificação das espécies de enterococos diferiram em apenas dois isolados quando comparados a técnica do “multiplex PCR”;

Ao contrário de isolados de HLR (60,7%), não foi encontrada resistência à concentrações elevadas de ampicilina, assim como isolados produtores de β -lactamases;

É descrito o primeiro caso de infecção por *E. faecalis* (*vanA*) com nível alto de resistências à vancomicina e teicoplanina;

A análise do DNA bacteriano por PFGE de isolados clínicos de enterococos evidenciou perfis de similaridades variando de 36,0% a 91,0%, predominando um padrão policlonal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹

ARAJ, G. F.; TALHOUK, R. S.; SIMAAN, C. J.; MAASAD, M. J. Discrepancies between *mecA* and conventional tests used for detection of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, v. 11, p. 47-52, 1999.

ARCHIBALD, L.; PHILLIPS, L.; MONNET, D.; MCGOWAN, J. E.; TENOVER, F.; GAYNES, R. Antimicrobial resistance in isolates from inpatients and outpatients in the United States: Increasing importance of the intensive care unit. *Clinical of Infectious Diseases*, v. 24, p. 211-215, 1997.

ARRUDA, E.; MARINHO, I. S.; RODRIGUES, E.; BANO, M.; VILELA, I. S.; GABARA, S.; OPLUSTIL, C.P.; MENDES, C. M.; BOULOS, M.; LEVIN, A. S. Central venous catheter-related infections in intensive care units. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v. 1, p. 182-185, 1997.

ASENSIO, A.; GUERRERO, A.; QUEREDA, C. Colonization and infection with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: associated factors and eradication. *Infections Control and Hospital Epidemiology*, v. 17, p. 20-28, 1996.

AUGER, S.; FICHTER, C.; POLO, A.; BIAJOUX, I.; LAURENCIN, C.; FERRY, M. Nosocomial symptomatic urinary tract infections survey in a elderly care unit in 1997. Available from <http://www.pgpromotion.fr/presse/va/hygiene10.htm>.

BALDY, J. L. S. Estreptococcias. In: Veronesi, R., Focaccia, R. Tratado de Infectologia, Ed Ateneu, São Paulo, p. 669-688, 1997.

BARBIER, N.; DEPARDIEU, F.; COURVALIN, P.; ARTHUR, M. Random amplified polymorphic DNA typing versus pulsed-field gel electrophoresis for epidemiological typing of vancomycin-resistant enterococci. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 34, p. 1096-1099, 1996).

BARG, N. L. An introduction to molecular hospital epidemiology. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, v. 14, p. 395-396, 1993.

BATES, J. Epidemiology of Vancomycin-Resistant Enterococci in the Community and the Relevance of Farm Animals to Human Infection. *Journal of Hospital Infection*, n. 37, p. 89-101, 1997.

¹Normas segundo ABNT 2002.

BEAUJEAN, D. J. M. A.; BLOCK, H. E. M.; VANDERBROUCKE-GRAULS, C. M. J. E.; WEERSINK, A. J. L.; RAYMAKERS, J. A.; VERHOEF, J. Surveillance of nosocomial infection in geriatric patients. *Journal of Hospital Infection*, v. 36, p. 275-284, 1997.

BOYCE, J. M.; CAUSEY, W. A. Increasing occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the United States. *Infection Control*, v. 3, p. 377-382, 1982.

BOYCE, J. M. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* detection, epidemiology and control measures. *Infection Diseases Clinical of North American*, v. 3, p. 901-913, 1989.

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, n.12, p. 725-729, 1992.

BOYCE, J. M.; JACKSON, M. M.; PUGLIESE, G.; BATT, M. D.; FLEMING, D.; GAINES, J. S.; HARTSTEIN, A. I.; KAUFFAN, C. A.; SIMMONS, M.; WEINSTEIN, R. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): a briefing for acute care hospitals and nursing facilities. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, v. 15, n. 2, p. 105-115, 1994.

BOYCE, J. M.; OPAL, S. M.; CHOW, J.W.; ZERVOS, J. M.; SHERMAN, C. B.; FORTINA, S. Outbreak of multi-drug resistant *Enterococcus faecium* with transferable VanB class vancomycin resistance. *Journal Clinical Microbiology*, v. 32, n.5, p. 1148-1153, 1994.

BOYD, D.; CONLY, J.; DEDIER, H.; PETER, G.; ROBERTON, L.; SLATER, E. R.; MAULVEY, M. R. Molecular characterization of the *vanD* gene cluster and a novel insertion element in a vancomycin-resistant *Enterococcus* isolated in Canada. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 38, n. 6, p. 2392-2394, 2000.

BRANCHINI, M. L.; MORTHLAND, V. H.; TRESOLDI, A. T.; Von NOWAKONSKY, A.; DIAS, M. B.; PFALLER, M. A. Application of genomic DNA subtyping by pulsed field gel electrophoresis and restriction enzyme analysis of plasmid DNA to characterize methicillin-resistant *S. aureus* from two nosocomial outbreaks. *Diagnostic Microbiology Infecton Diseases*, v. 17, p. 275-281, 1993.

CARVALHO, M. G. S.; TEIXEIRA, L. M.; FACKLAM, R. R. Use of tests for acidification of methyl- α -D-glucopyranoside and susceptibility to efrotomycin for differentiation of strains of *Enterococcus* and some related genera. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 36, p. 1584-1587, 1998.

CDC. Recommendations for preventing the spread of vancomycin resistance: recommendations of the Hospital Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). *MMWR*, v. 44, p. 1-13, 1994.

CDC Recommendations and Reports. Recommendations for preventing the spread of vancomycin resistance. *MMWR*, v. 44, p. 1-13, 1995.

CDC. Nosocomial enterococci resistant to vancomycin-United States. *Journal of the American Medical Association*, Chicago, v. 270, n. 15, 1976, 1997.

CEREDA, R.; PIGNATARI, A. C.; HASHIMOTO, A.; SADER, H. 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.

CEREDA, R. F.; GALES, A. C.; SILBERT, S.; JONES, R. N.; SADER, H. S. Molecular typing and antimicrobial susceptibility of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in Brazil. *The Infection Control and Hospital Epidemiology*, v. 23, n. 1, p. 19-22, 2002.

CHAMBERS, H. F. Methicillin resistance in Staphylococci: Molecular and Biochemical basis and clinical implications. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 01, p. 173-186, 1988.

CHAMBERS, H. F. The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*. *Emerging Infectious Diseases*, v. 7, n. 2, p. 178-182, 2001.

CHAN, K. M.; CHEE, Y. C. Infection in elderly. *Ann. Acad. Med.*, v. 19, 0. 364-369, 1990.

CHIRURGI, V. A.; OSTER, S. E.; GOLDBERG, A. A.; MCCABE, R.E. Nosocomial acquisition of beta-lactamase--negative, ampicillin-resistant *Enterococcus*. *Archives Internal of Medicine*, v. 152, n. 7, p. 1457-1461, 1992.

COPYRIGHT Statsoft, Inc. 1993. *Statistica for Windows 4.5*.

CORREA, L.; PITTET, D. Problems and solutions in hospital acquired bacteraemia. *Journal of Hospital Infectious Diseases*, v. 46, n. 2, p. 89-95, 2000.

COSTA, L. M.; RAMOS, I. B.; CARVALHO, D. G.; JÚNIOR, R. D. Análise da sensibilidade do *Staphylococcus aureus* hospitalar aos antimicrobianos no período 1988-1993. In: Programa Oficial e Resumos de Trabalhos do VIII Congresso Brasileiro e Infectologia, Porto Alegre. Resumo n° 111, p. 87, 1994.

COSTA, L. M. D.; SOUZA, D. C.; MARTINS, L. T. F.; ZANELLA, R. C.; BRANDILEONE, M. C.; BOKERMANN, S.; SADER, H. S.; SOUZA, H. A. P. H. M. Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*: first case in Brazil. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v.2, n.3, p. 160-163, 1998.

COUTO, H. G.; LELES, C. C. V.; LIMA, H. V.; ASSUNÇÃO, V. F.; RIBAS, R. M.; DIOGO FILHO, A.; GONTIJO FILHO, P. P. Vancomycin use in a Brazilian University Hospital: Comparison with Hospital Infection Control Practices Advisory Committee Guidelines. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v. 3, n. 4, p. 139-143, 1999.

CRUMP, J. A.; COLLIGNOM, P. J. Intravascular Catheter-associated infections. *European Journal Clinical of Infectious Diseases*, v. 19, p. 1-8, 2000.

DALLA COSTA, L. M.; REYNOLDS, P. E.; SOUZA, H. A. P. H. M.; SOUZA, D. C.; PALEPOU, M. F. I.; WOODFORD, N. Characterization of a divergente vanD-type resistance element from the first glycopeptide-resistant strain of *Enterococcus faecium* isolated in Brazil. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 44, p. 3444-3496, 2000.

DEAN, A. G.; DEAN, J. A.; BURTON, A. H.; DICKER, R. C. Epi-Info, versão 5.0: *A word processing, database, and statistics program for epidemiology on microcomputers*. Stone Mountain, GA: USD, Ins; 1990.

DeLANCASTRE, H.; FIGUEIREDO, A. M. S.; URBAN, C.; RAHAL, J.; TOMASZ, A. Multiple mechanisms of methicillin resistance and improved methods for detection in clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 35, p. 632-639, 1991.

DEMBRY, L. M.; HIERHOLZER, W. J. Control of endemic glycopeptide-resistant Enterococci. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, v. 17, n. 3, p. 286-292, 1996.

DESCHEEMAEKER, P.; LAMMENS, C.; POT, B.; VANDAMME, P.; GOOSSENS, H. Evaluation of arbitrarily primed PCR analysis and pulsed-field gel electrophoresis of large genomic DNA fragments for identification of enterococci important in human medicine. *Int J Syst Bacteriol*, v. 47, p. 555-561, 1997.

DEVRIESE, L. A.; POT, B.; KERSTER, K; LAUWERS, S.; HAESEBROUCK, F. Acidification of methyl- α -D-Glucopyranoside: a useful teste 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.

DUTKA-MALEN, S.; EVERS, S.; COURVALIN, P. Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant Enterococci by PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 33, n.1, p. 24-27, 1995.

EDMOND, M. B.; WALLACE, S. E.; McCLISH, D. K.; PFALLER, M. A.; JONES, R. N.; WENZEL, R. P. Nosocomial bloodstream infections in United States hospitals: a 3-year analysis. *Clinical Infectious Diseases*, v. 29, p. 239-244, 1999.

EGGIMANN, P.; PITTET, D. Overview of catheter-related infections with special emphasis on prevention based on educational programs. *Clinical Microbiology*, v. 8, n° 5, p. 295-307, 2002.

ELLIDOKUZ, H.; UÇKU, R.; UYSAL, U.; ABACIOGLU, H. Hospital-acquired infections in elderly patients: results of a West Anatolian University Hospital Surveillance. *Archives of Gerontology Geriatrics*, v. 37, p. 259-263, 2003.

EMORI, T. G.; BANERJEE, S. N.; CULVER, D. H. *et al.* Nosocomial infections in the elderly patients in the United States, 1986-1990. *American Journal of Medicine*, v. 91 (3B), p. 289S-293S, 1991.

EMORI, T. G.; GAYNES, R. P. An overview of nosocomial infections, including the role of the microbiology laboratory. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 06, p. 428-442, 1993.

EVANS, M. E.; KORTAS, K. J. Vancomycin use in a university medical center: comparison with hospital infection control practices advisory committee guidelines. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, v. 17, n. 6, p. 356-359, 1996.

FACKLAM, R. R.; COLLINS, M. D. Identification of *Enterococcus* species isolated from human infections by a conventional test scheme. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 27, p. 731-734, 1989.

FACKLAM, R. R.; SAHM, D. F. 1995. *Enterococcus*. In: Manual of Clinical microbiology. BALLOWS, A. *et al.* (eds). American Society for Microbiology, Washington DC 308-314.

FACKLAM, R. R.; SAHM, D. F.; TEIXEIRA, L. M. *Enterococcus*. In: MURRAY, P. R.; BARON, E. J.; PFALLER, M. A.; TENOVER, F. C.; YOLKEN, R. H. *Manual of Clinical Microbiology*. 7th. Ed. Washington D. C.; ASM PRESS, 1999, p. 297, 305.

FARIAS, W. W.; SADER, H. S.; LEME, I. L.; PIGNATARI, A. C. Sensitive pattern of 117 clinical isolates of *Staphylococcus aureus* from 12 hospitals. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v. 43, n. 3, p. 199-204, 1997.

FINES, M.; PERICHON, B.; REYNOLDS, P.; SAHAM, D. F.; COURVALIN, P. VanE, a new type of acquired glycopeptide resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 43, p. 2161-2164, 1999.

FU-YU, C.; CUDDOLORO, M.; ALCID, D. Levofloxacin associated increase in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. In: *Program and Abstracts of the Thirty-eighth Annual Meeting of the Infectious Diseases Society of America*, New Orleans, LA, 2000. Abstract 163, p. 241. *Infectious Diseases Society of America*, New Orleans, LA.

GALES, A. C. Resistência aos glicopeptídeos entre bactérias Gram-positivas: o panorama brasileiro. *Boletim da Sociedade Brasileira de Infectologia*, São Paulo, p. 5-11, nov., 2001.

GASTMEIER, P.; KAMPF, G.; WISCHNEWSKI, N.; HAUER, T.; SCHULGEN, G.; SCHUMACHER, G.; DASCHNER, F.; RUDEN, H. Prevalence of nosocomial infections in representative German hospitals. *Journal of Hospital Infection*, v. 38, p. 37-49, 1998.

GAVAZZI, G.; KRAUSE, K. H. Ageing and Infection. *The Lancet*, v. 2, p. 659-665, 2002.

GOERING, R. V. Molecular epidemiology of nosocomial infection: analysis of chromosomal restriction fragment patterns by pulsed field gel electrophoresis. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, v. 14, p. 595-600, 1993.

GOLDMANN, D. A.; HUSKINS, W. C. Control of nosocomial antimicrobial-resistant bacteria: A strategic priority for Hospitals Worldwide. *Clinical Infectious Diseases*, v. 24 (Suppl 1), p. 39-45, 1997.

GONÇALVES, A. J. R.; ROSENBAUM, R.; CARDOSO, R. L. L. Doenças estafilocócicas. *Arquivos Brasileiros de Medicina*, v. 61, p. 13-24, 1987.

GONTIJO FILHO, P. P. Definições de infecções hospitalares sem a utilização de critérios microbiológicos e sua consequência na vigilância epidemiológica no Brasil. *NewsLab*, n. 53, p. 120-124, 2002.

GORDTS, B.; LANDUYT, H. V.; IEVEN, M.; VANDAMME, P.; GOOSSENS, H. Vancomycin-Resistant Enterococci Colonizing the Intestinal Tracts of Hospitalized Patients. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 33, n. 11, p. 2842-2846, 1995.

GRANINGER, W.; RAGELLE, R. Nosocomial bacteremia due *Enterococcus faecalis* without endocarditis. *Clinical Infections Diseases*, v. 15, p. 49-57, 1992.

GRAY, J. W.; PEDLER, S. J. Antibiotic-Resistant Enterococci. *Journal of Hospital Infection*, v. 21, p. 1-14, 1992.

GROSS, P. A.; LEVINE, J. F. Infections in the elderly. In: WENZEL, R. P., editor. Prevention and control of nosocomial infection. 2 rd ed. Baltimore: Williams; Wilkins; 1993, p. 897 - 23.

HACKBARTH, C. J.; CHAMBERS, H. F. Methicillin-resistant staphylococci: detection methods and treatment of infections. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, v. 33, p. 995-999, 1989.

HANBERGER, H.; DIEKEMA, D.; FLUIT, A.; JONES, R.; STUELENS, M.; SPENCER, R.; WOLFF, M. Surveillance of antibiotic resistance in European ICUs. *Journal of Hospital Infection*, v. 48, p. 161-176, 2001.

HERSHOW, R. C.; KHAYR, W. F.; SMITH, N. L. A comparison of clinical virulence of nosocomially acquired methicillin-resistant and methicillin sensitive *Staphylococcus aureus* in a University Hospital. *Infection Control of Hospital Epidemiology*, v. 13, p. 587-593, 1992.

HILL, D. A.; HERFORD, T.; PARRATT, D. Antibiotic usage and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and analysis of causality. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 42, p. 676-677, 1998.

HIRAMATSU, K. Vancomycin resistance in Staphylococci. *Drug Resistance Updates*, v. 1, p. 135-150, 1998.

HORODNECEANU, T.; RAUCHER, B.; ALTARAC, D.; MONKE, J.; MARCHIOSE, S.; SINGH, K. V. High-level, plasmide-born resistance to gentamicin in *Streptococcus faecalis* (subsp. *Zymogenes*). *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, v. 16, p. 686-689, 1979.

HUSSAIN, M.; OPPENHEIM, B. A.; O'NEILL, P.; TREMBATH, C.; MORRIS, J.; HORAN, M. A. Prospective survey of the incidence risk factors and outcome of hospital-acquired infections in the elderly. *Journal Hospital Infection*, v. 32, p. 117-126, 1996.

HUYCKE, M. M.; SAHM, D. F.; GILMORE, M. S. Multiple-drug resistant enterococci: the nature of the problem and an agenda for the future. *Emerging Infectious Diseases*, v. 4, n. 2, p. 239-249, 1998.

JACOBY, G. A. Antimicrobial-resistant pathogens in the 1990s. *Annu. Rev. Med.* v. 47, p. 169-179, 1996.

JARVIS, W. Infection Control and Changing Health-Care Delivery Systems. *Emerging Infectious Diseases*, v. 7, n. 2, p. 170-173, 2001.

JONES, R. N., ERWIN, M. E.; ANDERSON, S. C. Emerging multiply resistant enterococci among clinical isolates. *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases*, v. 21, p. 85-93, 1995.

JORDENS, J. Z.; BATES, J.; GRIFFITHS, D. T. Faecal carriage nosocomial spread of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *J. Antimicrob. Chemother.* v. 34, p. 515-528, 1994.

JORGENSEN, M. G. R.; PEGLER, M. V. A.; FUNNEL, G. Typing multidrug-resistant *Staphylococcus aureus*: conflicting epidemiological data produced by genotypic and phenotypic methods clarified by phylogenetic analysis. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 34, p. 398-403, 1993.

KAMATH, U.; SINGER, C.; ISENBERG, H. D. Clinical significance of *Staphylococcus warneri* bacteremia. *Infection Clinical of Microbiology*, v. 30, n. 2, p. 261-264, 1992.

KARANFIL, L. V.; MURPHY, M.; JOSEPHSON, A.; GAYNES, R.; MADEL, L.; HILL, B, C.; SWENSON, J. M. A Cluster of Vancomycin - Resistant *Enterococcus faecium* in an Intensive Care Unit. *Infection Control and Hospital Epidemiology*. v. 13, n. 4, p. 195-200. 1996.

KARCHMER, A. W. Nosocomial Bloodstream Infections: Organisms, Risk Factors and Implications. *Clinical Infectious Diseases*, v. 31 (suppl. 4), p. S139-143, 2000.

KLARE, I. et al. VanA - mediated high-level glycopeptide resistance in *Enterococcus faecium* from animal husbandry. *FEMS Microbiology Letters*, v. 125, p. 165-172, 1995.

KLOOS, W. E.; BANNERMAN, T. L. *Staphylococcus and Micrococcus*. Manual of Clinical Microbiology. In: MURRAY, P. R.; BARON, E. J.; PFALLER, M. A.; TENOVER, F. C.; YOLKEN, R. H. Washington, D.C. ASM Press, p. 282-298, 1995.

KORN, G. P.; MARTINO, M. D. V.; MIMICA, I. M.; MIMICA, L. J.; CHIAVONE, P. A.; MUSOLINO, L. R. S. High frequency of colonization and absence of identifiable risk factors for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Intensive Care Units in Brazil. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v. 5, n.1, p. 1-7, 2001.

KRITCHEVSKY, S. B.; BRAUN, B. I.; WONG, E. S.; SOLOMON, S. L.; STEELE, L.; RICHARDS, C.; SIMMONS, B. P.; EPIC STUDY GROUP. Impact of Hospital Care on incidence of bloodstream infections: the evaluation of processes and indicators in Infection Control Study. *Emerging Infectious Diseases*, v. 7, n. 2, p. 193-196, 2001.

KUNIN, C. M. Resistance to antimicrobial drugs – a worldwide calamity. *Annals of Internal Medicine*, v. 18, p. 557-561, 1993.

LAUTENBACH, E. W.; BILKER, W. B.; BRENNAN, P. J. Enterococcal bacteremia: risk factors for vancomycin resistance and predictors of mortality. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, v. 20, n. 5, p. 318-323, 1999.

LECLEREQ, R.; COURVALIN, P. Resistance to glycopeptides in Enterococci. *Clinical Infection Diseases*, n. 24, p. 545-556, 1997.

LEE, W. G.; JERNIGAN, J. A.; RASHEED, J. K.; ANDERSON, G. J.; TENOVER, P. C. Possible horizontal transfer of the vanB₂ gene among genetically diverse strains of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in a Korean Hospital. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 39, p. 1165-1168, 2001.

LLOYD, S.; ZERVOS, M.; MAHAYNI, R.; LUNDSTROM, T. Risk factors for enterococcal urinary tract infection and colonization in a rehabilitation facility. *American Journal of Infections Control*, v. 26, p. 35-39, 1998.

LOUIE, M.; SIMOR, A. E.; SZETO, S.; PATEL, M.; KREISWIRTH, B.; LOW, D. E. Susceptibility testing of clinical isolates of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 30, p. 41-45, 1992.

LU, J. J.; PIRNG, C. L.; HO, M. F.; CHIUCH, T. S.; LEE, W. H. High prevalence of Van B₂ vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in Taiwan. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 39, p. 2140-2145, 2001.

- MAYHALL, C. G. Prevention and Control of Vancomycin Resistance in Gram-Positive Coccal Microorganisms: Fire Prevention and Fire Fighting. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, v. 17, n. 6, 1996.
- MARANGONI, D. V.; VIEIRA, W. Auditoria em antibióticos. In: ZANON, U., NEVES, J. (Eds). Infecções hospitalares: prevenção, diagnóstico e tratamento. Rio de Janeiro: Médica e Científica, 1987. p. 939-952.
- MARCUS, N.; PELED, N.; YAGUSPSKY, P. Rapid increase in the prevalence of antimicrobial drug resistance among Enterococcal blood isolates in Southern Israel. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, v. 16, p. 913-915, 1997.
- MARTINEAU, F.; PICARD, F. J.; LANSAC, N.; MENARD, C.; ROY, P. H.; OUELLETTE, N.; BERJERON, N. G. Correlation between the resistance genotype determined by multiplex PCR assays and the antibiotic susceptibility patterns of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 44, n. 2, p. 231-238, 2000.
- MASLOW, J.; MULLIGAN, M. E.; ARBEIT, R. D. Molecular epidemiology: the application of contemporary techniques to typing bacteria. *Clinical of Infectious Diseases*, v. 17, p. 153-162, 1993.
- MASLOW, J.; MULLIGAN, M. E. Epidemiologic typing systems. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, v. 17, n. 9, p. 595-755, 1996.
- McGOWAN, J. E. The impact of changing pathogens of serious infections in hospitalized patients. *Clinical Infectious Diseases*, v. 31 (suppl 4), p, S124-130, 2000.
- McKESSAR, S. J.; BERRY, A. M.; BELL, J. M.; TURNIDGE, J. D.; PATTON, J. C. Genetic characterization of vanG, a novel vancomycin resistance locus of *Enterococcus faecalis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 44, p. 3224-3228, 2000.
- MEDEIROS, E. A. S.; DUBOC, G.; ARAYA, M. E. S.; SAKABE, S.; COSTA, S. F. Prevalência de colonização por enterococo resistente a vancomicina em Unidades de Terapia Intensiva e de Transplantados. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE INFECÇÃO E EPIDEMIOLOGIA HOSPITALAR, v. 8, 2002, Curitiba. *Anais...* Curitiba: ABIH, P. 704, 2002.
- MELHUS, A.; JERNBERG, I. First documented isolation of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in Sweden. *Scandinavian Journal Infection Diseases*, v. 28, p. 191-193, 1996.

MELO, G. B.; CARVALHO, K. S.; GONTIJO FILHO, P. P. Uso terapêutico de glicopeptídeos e outros fatores de risco em crianças e pacientes cirúrgicos e a presença de *Enterococcus* resistentes à vancomicina, *S. aureus* (MRSA) e *Staphylococcus coagulase* negativos (MRSCN). In: XXI Congresso Brasileiro de Microbiologia, 2001, Foz do Iguaçu. Resumos...Foz do Iguaçu, 2001, p. 142.

MENDONÇA, C. R. V.; d'AZEVEDO, P. A.; MONDINO, S. S. B.; SAMPAIO, J. L. M.; SILVA, M. R.; DIAS, C. A. Susceptibilidade a antimicrobianos entre amostras de *Enterococcus faecalis* isoladas em três cidades do Brasil. In: XIX Congresso Brasileiro de Microbiologia, resumo MH-113, 1997.

MERQUIOR, V. L.; NETZ, D. J.; CAMELLO, T. C.; TEIXEIRA, L. M. Characterization of enterococci isolated from nosocomial and community infections in Brazil. In: Enterococci and the Host. Proceedings of the XIIIth Lancefield International Symposium on Streptococci and Streptococcal Diseases, p. 67. 1997.

MOELLERING, R. C. Jr. Emergence of *Enterococcus* as a significant pathogen. *Clinical Infection Diseases*, v. 14, p. 1173-1178, 1992.

MOELLERING, R. C. Jr. Antibiotic resistance; Lessons for the future. *Clinical Infections Diseases*, v 27 (suppl. 1). p. 135-140, 1998.

MONNET, D.; FRIMODT-MOLLER, N. Antimicrobial-drug use and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerging Infectious Diseases*, v. 7, p. 1-3, 2001.

MONTECLAVO, M. A. et al. Natural history of colonization with vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, v. 16, n. 12, p. 680-685, 1995.

MULLIGAN, M. E.; ARBEIT, R. D. Epidemiologic and clinical utility of typing systems for differentiating among strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Infectious Control and Hospital Epidemiology*, v. 12, n. 1, p. 20-28, 1991.

MULLIS, K. B.; FALOONA, F. A. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymology*, v. 155, p. 335-350, 1987.

MULLIS, K. B. The unusual origin of the polymerase chain reaction. *Science of America*, v. 262, n.4, p. 56-61, 1990a.

MULLIS, K. B. Target amplification for DNA analysis the polymerase chain reaction. *Annual Biology of Clinical*, v. 48, n. 8, p. 579-582, 1990b.

MURRAY, B. E. The Life and Times of the *Enterococcus*. *Clinical Microbiology. Review*, v. 3, n. 11, p. 46-65. 1990.

MURRAY, B. E. New aspects of antimicrobial resistance and the resulting therapeutic dilemmas. *Journal of Infections Diseases*, v. 163, p. 1185-1194, 1991.

National Nosocomial Infections Surveillance System NNIS. Nosocomial infection rates for interhospital comparisons: limitations and possible solutions. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, v. 12, p. 609-621, 1991.

National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved Standard M2-A5 NCCLS, Villanova, PA, 2000a.

National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for Dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved Standard M7-A4 NCCLS, Villanova, PA, 2000b.

NAVES, P. L. F.; PIMENTA, F. C.; REIS, C.; SOUZA, A. C. S. Padrão de resistência de cepas de *Staphylococcus* sp. Isoladas em ambiente hospitalar. In: Congresso Brasileiro de Microbiologia, 19., Rio de Janeiro, 1997. Resumos. Rio de Janeiro, Sociedade Brasileira de Microbiologia, p. 85, 1997.

NETS, D. J. A. Estudo de marcadores de virulência e de resistência aos antimicrobianos em amostras de *Enterococcus* obtidas de infecções hospitalares e comunitárias [dissertação], Rio de Janeiro, Brasil: Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1998.

NEU, H. C. The Crisis in Antibiotic Resistance. *Science*. v. 257, p. 1064-1073. 1992.

NEUMANN, M. A.; SAHM, D. F.; THORNSBERRY, C. New Developments in Antimicrobial Agent Susceptibility Testing: A Practical Guide. Cumitech 6 A. A. Soc. Microbiol. Washington, D. C. 1991.

NOBLE, W. C.; VERANI, Z.; CREE, R. G. Co-transfer of vancomycin and other resistance genes from *Enterococcus faecalis* NCTC 12201 to *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiology Letters*, v. 72, p. 195-198, 1992.

NOGUEIRA, C. R.; GONTIJO FILHO, P. P. Prevalência e modelos de uso de antibiótico no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia. JORNADA CIENTÍFICA DA MEDICINA. 1995, Uberlândia. Resumo, p. 12, 1995.

OSTROWSKY, B. E.; CLARK, N. C.; THAUVIN-ELIOPOULOS, C.; VEKATARAMAN, L.; SAMORE, M. H.; TENOVER, R. C.; ELIOPOULOS, G. M.; MOELLERING, J. R.; GOLD, H. S. A cluster of VanD vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*: molecular characterization and clinical epidemiology. *Journal of Infectious Diseases*, v. 180, n. 4, p. 1177-1185, 1999.

PANNUTI, C. S.; GRINBAUM, R. S. An overview of nosocomial infection in Brazil. *Infections Control of Hospital Epidemiology*, v. 16, p. 170-174, 1995.

PATEL, R.; UHI, J. R.; KOHNER, P.; HOPKINS, M. K.; COCKERILL III, F. R. Multiplex PCR detection of *vanA*, *vanB* e *vanC1* e *vanC2/3* genes in enterococci, *Journal of Clinical Microbiology*, v. 35, p. 703-707, 1997.

PATTERSON, J. E.; ZERVOS, M. J. High-level gentamicina-resistance in *Enterococcus*: microbiology, genetic basis and epidemiology. *Reviews of Infectious Diseases*, v. 23, p. 644-652, 1990.

PFALLER, M. A.; HOLLIS, R. J.; SADER, H. S. Chromosomal restriction fragments analysis by pulsed-field gel electrophoresis. In: *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Eds. ISENBERG, H. D. American Society for Clinical Microbiology. Washington, D. C. Suppl 01, p. 10.5.C1-10.5.C12, 1994.

PFALLER, M. A.; JONES, R. N.; DOERN, G. V.; SADER, H. L.; KUGLER, K. C.; BEACH, M. L. Survey of blood stream infections attributable to Gram-positive cocci: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in 1997 in the United States, Canada and Latin America from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Diagnostic Microbiology of Infectious Diseases*, v. 33, n. 4, p. 283-297, 1999.

PITCHER. Rapid extraction of bacterial genomic with guanidium thiocyanate. *Letters Applied Microbiology*, v. 8, p. 151, 1989.

PLESSIS, P.; LAMY, T.; DONNIO, P. Y.; AUTULY, F.; GRULOIS, I.; LEPRISÉ, P. Y.; AVRIL, J. L. Epidemiologic analysis of glycopeptide-resistant *Enterococcus* strains in neutropenic patients receiving prolonged vancomycin administration. *European Journal of Clinical Microbiology Infectious Diseases*, v. 14, p. 959-963, 1995.

PODLORSKI, R.; PERSING, D. H. Molecular detection and identification of microorganisms. In: MURRAY, P. R.; BARON, E. J.; PFALLER, M. A.; TENOVER, F. C.; YOLKEN, R. H. (Eds). *Manual of Clinical Microbiology*. 6ªed., Washington, D.C.: ASM Press, 1995, p. 130-157.

PONCE DE LEON, S. The needs of developing countries and the resources required. *Journal of Hospital Infection*, v. 18, p. 376-381, 1991.

PONCE-DE-LEON, S.; RANGEL-FRAUSTO, M. S. Infection control in developing countries. In: BENNETT, J. V.; BRACHMAN, P. S., editors. *Hospital Infections*. 4 rd ed. Lippincott – Raven; 1998, p. 291–96.

POPULAÇÃO DE IDOSOS sobe de 7,5% para 15,0%. *Gazeta do Povo*. Curitiba, 6 out. 1997. *Caderno 1*, p. 3.

PRADE, S. S. Estudo brasileiro de magnitude da infecções hospitalares em hospitais terciários. *Revista do Controle de Infecção Hospitalar*, v. 2, p. 11-25, 1995a.

PRADE, S. S. Avaliação da qualidade das ações de controle de infecção hospitalar em hospitais terciários. *Revista do Controle de Infecção Hospitalar*, v. 2, p. 26-39, 1995b.

REEB, T.; WEBER, J.; ZULTAK, B.; HEITZ, D.; MARTIN-HUNYADI, C.; KIESSMANN, M.; KUNTZMANN, F. Nosocomial infection in geriatric patients: incidence, characteristics, risk factors and cost. Available from <http://www.nig.nl/congress/3rdeuropeancongress1995/abstract/088-0087.html>.

REMYINGTON, J. S. *Clinical Infectious Diseases*, v. 31 (Suppl 4), p. S123, 2000.

RIBAS, R. M.; GONTIJO FILHO, P. P. Enterococos resistentes: um estudo prospectivo de incidência e os fatores de risco associados em um hospital universitário brasileiro. *A Folha Médica*, v. 120, n. 1, p. 29-34, 2001.

RICE, L. B. Emergence of vancomycin-resistant Enterococci. *Emerging Infectious Diseases*, v. 7, n. 2, p. 183-187, 2001.

RICHARDS, M. N.; EDWARDS, J. R.; CULVER, D. H.; GAYNES, R. P. The National Nosocomial Infections Surveillance System. Nosocomial infections in medical intensive care units in the United States. *Critical Care Medicine*, v. 27, p. 887-892, 1999.

ROSSI, F. Visão geral da resistência das bactérias Gram-positivas. *1st International Symposium on Intensive Care and Emergency Medicine for Latin America*, São Paulo, Brasil, 2001.

ROTHSCHILD, J. M.; BATES, D. W.; LEAPE, L. L. Preventable medical injuries in older patients. *Archives Internal of Medicine*, v. 160, p. 2717-2728, 2000.

RUSSEL, A. D.; HUGO, M. B.; AYLIFFE, G. A. J. F. Methicillin-resistant staphylococci. In: *Principle and practice of disinfecting and sterilization*. London, Blackwell Scientific, 1992, p. 264-273.

SADER, H. Resistência bacteriana. Fascículo 1. Laboratórios Pfizer, São Paulo, 1998.

SADER, H.; SAMPAIO, J. L. M.; ZOCCOLI, C.; JONES, R. N. Results of the 1997 SENTRY antimicrobial surveillance program in three brazilian medical centers. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v. 3, p. 63-79, 1999.

SADOYAMA, G.; GONTIJO FILHO, P. P. Risk factors for methicillin-resistant and sensitive *Staphylococcus aureus* infection in a Brazilian University Hospital. *Brazilian Journal of Infections Diseases*, v. 4, n.2, p. 135-143, 2000.

SHLAES, D. M.; GERDING, D. N.; JOHN JR, J. F.; CRAIG, W. A.; BORNSTEINS, D. L.; DUNCAN, R. A.; ECKMAN, M. R.; FARRER, W. E.; GREENE, W. H.; LORIAN, V.; LEVY, S.; MCGOWAN JR., J. E.; PAUL, S. M.; RUSKIN, J.; TENOVER, F. C.; WATANAKUNAKORN, C. Society of Healthcare Epidemiology of America and Infectious Diseases Society of America Joint Committee on the Prevention of Antimicrobial Resistance. Guidelines for the prevention of antimicrobial resistance in hospitals. *Clinical Infectious Diseases*, v. 25, p. 584-599, 1997.

SHAW, K. J.; RATHER, P. N.; HARE, R. S.; MELLER, J. H. Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familiar relationships of the amonoglycoside-modifyng enzymes. *The Microbiology Rewiew*, v. 57, p. 138-163, 1993.

SILVA-NETO, R. S.; FIGUEIREDO, S. M.; NUNES, M. R. C.M.; VERAS, K. N. Estudo de microrganismos multiresistentes, segundo antibióticos-índice, no Hospital Getúlio Vargas, de agosto de 1996 a abril de 1998 – Teresina, PI. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v. 3 (Suppl 2), p. S80, 1999.

SIMJEE, S.; GILL, M. J. Gene transfer, gentamicina resistance and enterococci. *Journal of Hospital Infection*, v. 36, p. 249-259, 1997.

SIMJEE, S.; MANZOOR, S. E.; FRAISE, A. P.; GILL, M. J. Nature of transposon-mediated high-level gentamicin resistance in *Enterococcus faecalis* isolated in the United Kingdom. *The British Society for Antimicrobial Chemotherapy*, v. 45, p. 565-575, 2000.

SMITH, P. W. Infecções nosocomiais em idosos. *Clínica de Doenças Infecciosas. Am. Norte*, v. 4, p. 797-811, 1989.

SOUZA, K. M. C.; OLIVEIRA, L. A.; RIBEIRO, E. L. Susceptibilidade antimicrobiana em um Hospital Universitário. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 31 (Suppl 1), p. 205, 1998.

STERN, C. S.; CARVALHO, M. G. S.; TEIXEIRA, L. M. Characterization of enterococci isolated from human and nonhuman sources in Brazil. *Diag. Microbiol. Infect. Dis.*, v. 20, p. 61-67, 1994.

STRAUSBAUGH, L. J. Emerging health Care-Associated infections in the geriatric population. *Emerging Infectious Diseases*, v. 7, n. 2, p. 268-71, 2001.

STRUELLENS, M. J. Epidemiologic typing and delineation of genetic relatedness of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by macrorestriction analysis of genomic DNA by using pulsed-field gel electrophoresis. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 30, p. 2599-2602, 1992.

SWARTZ, M. N. Hospital-acquired infections: diseases with increasingly limited therapies. *Proceeding of the National Academy of Sciences*, v. 91, p.2420-2427, 1994.

TAVARES, W. Bactérias Gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 33, n. 3, p. 281-301, 2000.

TAYLOR, M. E.; OPPENHEIM, B. A. Hospital-acquired infections in elderly patients. *Journal of Hospital Infections*, v. 38, p. 245-260, 1998.

TEIXEIRA, L. M.; FACKLAM, R. R.; STEIGERWALT, A. G.; PIGOTT, N. E.; MERQUIOR, V. L. C.; BRENNER, D. J. Correlation between phenotypic characteristics and DNA relatedness within *Enterococcus faecium* strains. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 33, p. 1520-1523, 1995.

TENOVER, F. C.; ARBEIT, R.; ARCHER, G.; BIDDLE, J.; BYRNE, S.; GOERING, R.; HANCOCK, G.; HERBERT, G. A.; HILL, B.; HOLLIS, R.; JARVIS, W. R.;

KREISWIRTH, B.; EISNER, W.; MASLOW, J. Comparison of traditional and molecular methods of typing isolates of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 32, n. 2, p. 407-415, 1994.

TENOVER, F. C.; ARBEIT, R. D.; GOERING, R. V.; MICKELSEN, P. A.; MURRAY, B. E.; PERSING, D. H.; SWAMINATAN, B. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 33, p. 2233-2239, 1995.

TENOVER, F. C.; ARBEIT, R. D.; GOERING, R. V. How to select and interpret molecular strain typing methods for epidemiological studies of bacterial infections: a review for healthcare epidemiologists. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, v. 18, p. 426-439, 1997.

THOMSONS, R. B. Infections in the elderly: Issues for the clinical microbiology laboratory. *Clinical Microbiology Newsletter*, v. 21, p. 41-44, 1999.

TOMPKINS, L. S.; FALKOW, S. Molecular biology of virulence and epidemiology. In: GORBACH, S. L.; BARTLETT, J. G.; BLACKLOW, N. R. (Eds). *Infectious Diseases*. Philadelphia: W.B. Saunders company, 1992, p. 30-37.

TRINDADE, E. R.; BORGES, L. W.; GONTIJO FILHO, P. P. Nosocomial infections in emergency units of Brazilian hospital. *The Journal of Hospital Infection*, v. 36, p. 85-168, 1997.

VAN OGTROP, M. L.; VAN ZOEREN GROBBEN, D.; VERBAKEL – SOLOMONS, E. M.; VAN BOREN, C. P. *Serratia marcescens* infections in neonatal departments: description of in outbreak and review of the literature. *Journal of Hospital Infection*, v. 36, p. 95-103, 1997.

VILLAS BOAS, P. J. F.; MONTELLI, A. C.; SERAFIM, N. M. B; RUIZ, T. Pneumonia hospitalar e seus indicadores em pacientes com idade de 60 anos ou mais internados no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP. VIII Congresso Brasileiro de Controle de Infecção e Epidemiologia Hospitalar. Resumos, Curitiba, 2002, p. 482

VINCENT, J. L. Nosocomial infections in adults intensive care units. *The Lancet*, v. 361, n. 14, p. 2068-2077, 2003.

YOSHIKAWA, T. T. Perspective: aging and infectious diseases: past, present and future. *Journal of Infectious Diseases*, v. 176: 10153-1057, 1997.

YOSHIKAWA, T. T. Epidemiology and unique aspects of aging and infectious diseases. *Clinical Infectious Diseases*, v. 30, p. 931-33, 2000.

WEBER, D. J.; RUTALA, W.A. Role of environmental contamination in the transmission of vancomycin-resistant Enterococci. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, v. 18, p. 306-309, 1997.

WEBER, D. J.; RUTALA, W. A. Nosocomial Infections in the ICU: The growing importance of antibiotic-resistant pathogens. *Emerging Resistance and Therapeutic Options*, v. 115, n. 3, p. 34S-41S, 1999.

WEINSTEIN, J. W.; TALLAPRAGADA, S.; FARREL, P.; DEMBRY, L. M. Comparison of Retal e Perirectal Swabs for Detection of Colonization with Vancomycin - Resistant Enterococci. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 34, n. 1, p. 210-212, 1996.

WEINSTEIN, R. A. Controlling antimicrobial resistance in Hospitals: Infection Control and use of antibiotics. *Emerging Infectious Diseases*, v. 7, n. 2, p. 188-192, 2001.

WELLER, T. M. A. Methicilin-resistant *Staphylococcus aureus* typing methods: which should be the international standard? *Journal of Hospital Infection*, v. 44, p. 160-172, 2000.

WENZEL, R. P.; EDMOND, M. B. The impact of Hospital-acquired bloodstream infections. *Emerging Infectious Diseases*, v. 7, n.2, p.174-177, 2001.

WENZEL, R. P. Epidemiology of hospital acquired infection. In: Manual of Clinical Microbiology. Eds. BALLOWS, A.; HAUSLER, W. J.; HERMAN, K.; ISENBERG, H. D.; SHADOMY, H. J. American Society for Microbiology. Washington, D. C. p. 147-150; 1991.

WEY, S. B. Distribution and analysis of 8268 nosocomial infections at the Hospital São Paulo: 1985 to 1989. *Revista do Hospital de São Paulo*, v. 01, p. 169-174, 1990.

WEY, S. B. Infection control in a country with annual inflation of 3.600s. *Infectious Control of Hospital Epidemiology*, v. 16, p. 170-174, 1995.

WEY, S. B. O papel das infecções por *Staphylococcus aureus* em pacientes graves. *1st International Symposium on Intensive Care and Emergency Medicine for Latin America*, São Paulo, Brasil, 2001.

- WOODFORD, N.; MORRISON, D.; COOKSON, B.; GEORGE, R. C. Comparison of high-level gentamicin-resistant *Enterococcus faecium* isolates from different continents. *Antim. Agents Chemother.* v. 37, p. 681-684, 1993.
- WOODFORD, N.; JOHNSON, A. P.; MORRISON, D.; SPELLER, D. C. Current Perspective on Glycopeptide Resistance. *Clinical Microbiology Review*, v. 8, n. 4, p. 585-606. 1995.
- WOODFORD, N. Glycopeptide-resistant enterococci: a decade of experience. *Journal of Medical Microbiology*, v. 47, p. 849-862. 1998.
- WOODFORD, N.; STIGTER, J. M. Molecular investigation of glycopeptide resistance in Gram-positive bacteria. In: WOODFORD, N.; JOHNSON, A. P. *Protocols and Clinical Applications*. Humana Press Inc. Totowa, New Jersey, USA, 1998, p. 579-615.
- ZANELLA, R. C.; DARINI, A. L. C.; BRANDILEONE, M. C.; BOKERMANN, S.; ALMEIDA, S. G.; VALDETARO, R.; SALOMÃO, R.; VILING, M.; WOODFORD, N.; PIGNATARI, A. C. Análise molecular de *Enterococcus* e seus elementos VanA que mediam resistência a vancomicina, isolados na Casa de Saúde Santa Marcelina-SP, em 1998. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v. 3, n. 2, p. S7-TL11, 1999.
- ZANELLA, R. C.; VALDETARO, R.; LOVGREN, M.; TYRREL, G. L.; BOKERMANN, S.; ALMEIDA, S. C. G.; VIEIRA, V. S. D.; BRANDILEONE, M. C. C. First confirmed case of a vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* with VanA phenotype from Brazil: isolation from a meningitis case in São Paulo. *Microbial Drug Resistance*, v. 5, n.2, p. 159-162, 1999a.

ANEXO A

PREVALÊNCIA DE INFECÇÕES HOSPITALARES: HC-UFU

Nº: _____

Nome: _____ Data: _____

Prontuário: _____ Idade _____ Sexo: _____ Data adm _____

Clínica _____ Leito _____ Data infecção _____ Transferência hospitalar: S/N

Infecção: S/N H: _____ C: _____ D: _____

Diagnóstico (Doença de base) _____

Diagnóstico clínico _____

Febre: S/N Antibióticos: S/N Quais? _____

Fatores de risco:

* Cirurgia: S/N Qual? _____

Efetiva: _____ Emergência: _____ Classificação: L/PC/C/S

* Trauma: S/N

* Sonda servical: S/N

* Respirador: S/N

* Cateter vascular: S/N Periférico () Central ()

* Dreno: S/N

Outros: _____

Imunocomprometido: S/N Qual? _____

Subnutrição: S/N

Gravidade da doença: A) _____ B) _____ C) _____ D) _____ (E/D) (E/ND) (UTI)

Diagnóstico Laboratorial: S/N Agente (s): _____

Sítio de isolamento: _____ Espectro de resistência: _____

Observações:

ANEXO B

Universidade Federal de Uberlândia

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Av. João Naves de Ávila, n.º 2160 - Bloco J - Campus Santa Mônica - Uberlândia-MG -
CEP -38400-089 ☎(034) 239 4131 - 235-2078

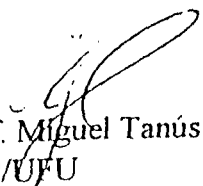
Uberlândia, 30 de novembro de 2001.

Processo nº 077/2001

PROJETO DE PESQUISA: "Infecções Hospitalares em Pacientes Idosos: Aspectos Epidemiológicos Clássicos e Moleculares Associados à *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus*".

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Dr. Paulo Pinto Gontijo Filho

O projeto acima identificado, foi aprovado para ser realizado conforme os autores se comprometem.


Prof. Miguel Tanús Jorge
CEP/UFU

APÊNDICE A

Trabalhos publicados e/ou enviados para publicação

RIBAS, R. M.; GONTIJO FILHO, P. P. Comparing Hospital Infections in the Elderly versus Younger Adults: An Experience in a Brazilian University Hospital. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v. 7, n. 3, June, p. 210-215, 2003.

RIBAS, R. M.; GONTIJO FILHO, P. P. *Enterococcus* resistentes: um estudo prospectivo de incidência e os fatores de risco associados em um Hospital Universitário Brasileiro. *A Folha Médica*, São Paulo, v. 120, p. 29-34, 2001.

RIBAS, R. M.; GONTIJO FILHO, P. P.; DARINI, A. L. C. Conventional tests versus molecular tests ((multiplex PCR and PCR *mecA* gene) for detection of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*). Em fase final de redação.

RIBAS, R. M.; FREITAS, C.; GONTIJO FILHO, P. P. Nosocomial Bloodstream Infections: Organisms, Risk Factors and Resistant Phenotypes in the Brazilian University Hospital. Enviado para publicação no *Brazilian Journal of Microbiology*.

APÊNDICE B

Trabalhos apresentados em Congressos

RIBAS, R. M.; FREITAS, C.; DARINI, A. L. C.; PALAZZO, I. C. V.; GONTIJO FILHO, P. P. 2003. Testes convencionais *versus* moleculares (multiplex PCR e PCR gene *mecA*) na detecção de resistência à meticilina. Abstracts do XXII Congresso Brasileiro de Microbiologia, Florianópolis, PR, IH 035, p. 57.

RIBAS, R. M.; URZÊDO, J. E.; FREITAS, C.; GONTIJO FILHO, P. P. 2003. Etiologia e fenótipos de resistência de bactérias Gram-negativas associados à sepse no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia. Abstracts do XXII Congresso Brasileiro de Microbiologia, Florianópolis, PR, IH 036, p. 57.

SILVA, F.; CORRÊA, K. C.; RIBAS, R. M.; GONTIJO FILHO, P. P. 2003. Presença de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) em superfícies próximas à pacientes infectados. Abstracts do XXII Congresso Brasileiro de Microbiologia, Florianópolis, PR, IH 034, p. 57.

RIBAS, R. M.; FREITAS, C.; GONTIJO FILHO, P. P. 2003. Classificação, epidemiologia e etiologia de bacteremias por bactérias Gram-negativas no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia. Abstract do XIII Congresso Brasileiro de Infectologia, Goiânia, GO, P280, p. 280.

CORRÊA, K. C.; SILVA, F.; RIBAS, R. M.; GONTIJO FILHO, P. P. 2002. Contaminação de superfícies por MRSA em pacientes em uso terapêutico de vancomicina ou oxacilina. Abstract do III Workshop de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas, Uberlândia, MG, v. 18, p. 45.

PEREIRA, N. A.; RIBAS, R. M.; GONTIJO FILHO, P. P. 2002. Contaminação e limpeza de pisos e enfermarias representativas do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia. Abstract do VII Congresso de Controle de Infecção e Epidemiologia Hospitalar, Curitiba, PR, p. 154-155.

COSTA, L. S.; RIBAS, R. M.; BEICHER, A. M. A. H.; GONTIJO FILHO, P. P. 2002. Presença de *Staphylococcus aureus* e bactérias Gram-negativas nas mãos de profissionais de enfermagem, estudantes de medicina/médicos e visitantes em diferentes unidades do HC-UFU. Abstract do VII Congresso de Controle de Infecção e Epidemiologia Hospitalar, Curitiba, PR, p. 238-239.

RIBAS, R. M.; GONTIJO FILHO, P. P. 2002. Prevalência de bacteremias hospitalares por *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus coagulase negativos* e sua relação com fatores de risco intrínsecos e extrínsecos. Abstract do III Fórum Mineiro de Enfermagem, Uberlândia, MG, p. 10.

RIBAS, R. M.; BRITO, D. V. D.; FREITAS, C.; URZÊDO, J. E.; GONTIJO FILHO, P. P. 2001. Fatores de risco e fenótipos de resistência de bactérias Gram-negativas associadas à bacteremias hospitalares e comunitárias no HC-UFU. Abstract do XXI Congresso Brasileiro de Microbiologia, Foz do Iguaçu, PR, p. 142.

RIBAS, R. M.; GONTIJO FILHO, P. P. 2001. Infecções hospitalares em pacientes idosos: experiência de um hospital universitário Brasileiro. Abstract do XII Congresso Brasileiro de Infectologia, Rio de Janeiro, RJ, p. S135.

RIBAS, R. M.; FREITAS, C.; GONTIJO FILHO, P. P. 2001. Prevalência de bactérias multiresistentes e infecções hospitalares em idosos hospitalizados e sua relação com fatores de risco. Abstract do 1º Simpósio de Resistência Bacteriana aos Antimicrobianos, Rio de Janeiro, RJ, p. 45.

RIBAS, R. M.; LELIS, C. C. V.; FREITAS, C.; GONTIJO FILHO, P. P. 2001. Hospitals infections and multiresistant microorganisms in hospitalized elders and relationship with risk. Factors. Abstract do 3th Congress of Pharmaceutical Sciences, Águas de Lindóia, SP, p. S86-S87.