

Suscetibilidade antimicrobiana entre amostras de *Enterococcus* isoladas no Hospital Universitário de Santa Maria

Primeira submissão em 14/01/05
Última submissão em 08/11/05
Aceito para publicação em 15/12/05
Publicado em 20/12/05

Antimicrobial susceptibility among isolates of *Enterococcus* from Hospital Universitário de Santa Maria

Rosmari Hörner¹; Mari Gleí Hernandez Liscano^{2,3}; Mariane de Mello Maraschin⁴; Adenilde Salla²; Bettina Meneghetti²; Nara L. Frasson Dal Forno²; Roselene Alves Righi²

unitermos	resumo
<i>Enterococcus</i>	O gênero <i>Enterococcus</i> tem emergido como um dos mais importantes patógenos hospitalares no mundo inteiro. No presente estudo, a ocorrência das infecções enterocócicas por espécie e o sítio da infecção foram analisados. O <i>Enterococcus faecalis</i> foi a espécie de enterococo predominante em todos os isolamentos clínicos. Duzentos e trinta e três amostras de enterococos isoladas dos pacientes atendidos no Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM) foram analisadas. A suscetibilidade antimicrobiana de alguns agentes foi também avaliada.
Suscetibilidade	
<i>Enterococcus faecalis</i>	

abstract	key words
<i>Members of the genus Enterococcus have emerged as the most important nosocomial pathogens worldwide. In the present study, the occurrence of enterococcal infections by species and site of infection was analyzed. Enterococcus faecalis was the predominant enterococci species among all clinical isolates. A total of 233 enterococci isolates obtained from patients of Hospital Universitário de Santa Maria were studied. Antimicrobial susceptibility to a variety of agents was also evaluated.</i>	<i>Enterococcus</i> <i>Susceptibility</i> <i>Enterococcus faecalis</i>

Introdução

Durante a década passada, o gênero *Enterococcus* tornou-se um patógeno emergente tanto nas infecções hospitalares como nas adquiridas na comunidade⁽¹⁰⁾. Os enterococos são cocos gram-positivos que geralmente se dispõem aos pares e em curtas cadeias, e são catalase negativos^(8, 13, 17).

Os enterococos são microorganismos comensais que atuam como patógenos oportunistas e que frequente-

mente causam infecções em pacientes hospitalizados por um longo período de tempo e/ou que receberam múltiplos tipos de terapia antimicrobiana^(1, 5, 15, 18). Nos Estados Unidos, os enterococos tornaram-se o segundo microorganismo mais comumente isolado do trato urinário e das feridas e a terceira causa mais comum de bacteremia hospitalar⁽¹³⁾.

O principal reservatório humano dos enterococos é o trato gastrointestinal, porém ele pode ser encontrado,

1. Professora-adjunta da disciplina de Microbiologia Clínica da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

2. Farmacêutica bioquímica do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário de Santa Maria (LAC/HUSM), setor de Bacteriologia.

3. Aluna do curso de especialização em Análises Clínicas do Hospital de Clínicas de Porto Alegre da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (HCPA/UFRGS).

4. Farmacêutica bioquímica; mestranda do curso de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da UFSM.

Trabalho parcialmente apresentado no 38º Congresso Brasileiro de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial como relato da identificação do primeiro *Enterococcus* resistente à vancomicina no HUSM/RS.

Este trabalho será apresentado como requisito para obtenção do título de Especialista em Análises Clínicas no HCPA/UFRGS.

Apoio: Fundo de Incentivo à Pesquisa (FIPE) – UFSM/RS.

embora com menos frequência, em cavidade oral, vesícula biliar, vagina e uretra masculina⁽⁸⁾. Também podem ser encontrados no solo, em alimentos, na água, em animais, pássaros e insetos⁽¹⁷⁾. Tornaram-se, porém, importantes agentes de doenças humanas devido principalmente à sua resistência a agentes antimicrobianos⁽⁸⁾.

A maior parte das infecções por enterococos origina-se da microbiota normal do paciente, embora os microorganismos possam também ser transferidos de paciente para paciente ou adquiridos através do consumo de água ou alimentos contaminados⁽¹³⁾.

A sobrevivência do gênero *Enterococcus* no ambiente hospitalar deve à sua resistência intrínseca a vários antibióticos utilizados comumente, e, talvez, mais importante ainda seja sua habilidade de adquirir resistência aos antibióticos empregados atualmente, seja por mutação ou recebendo material genético estranho através de plasmídeos e transposons. Os enterococos apresentam resistência intrínseca e moderadas concentrações de aminoglicosídeos, o que ocorre em todas as espécies e decorre de uma baixa penetração do antimicrobiano pela parede bacteriana. A resistência adquirida a altas concentrações dos antibióticos aminoglicosídeos é devida ou a mutações resultando na diminuição da ligação do agente ao ribossomo, como a que ocorre com a estreptomina (chamada resistência ribossômica), ou, mais comumente, à aquisição de novos genes que codificam enzimas que modificam os aminoglicosídeos, a chamada resistência adquirida⁽¹⁸⁾. Também muitos isolados de *E. faecium* possuem alta resistência às penicilinas porque suas proteínas de ligação às penicilinas (PBP) têm baixa afinidade pelas penicilinas⁽¹⁾.

A terapia antimicrobiana para as infecções causadas por enterococos é complicada porque a maioria dos antibióticos não tem efeito bactericida em concentrações clinicamente relevantes. Dessa forma, as infecções enterocócicas sistêmicas, como endocardites, são comumente tratadas com um agente que atue na parede celular (um betalactâmico, como a ampicilina, ou um glicopeptídeo, como a vancomicina) e um aminoglicosídeo (usualmente gentamicina ou estreptomina). Esses agentes atuam sinergicamente para promover a ação bactericida. Entretanto a resistência aos aminoglicosídeos, à ampicilina, à penicilina e à vancomicina tem se tornado um importante problema, contribuindo para a redução das opções de tratamento.

Assim, devido às mudanças das características de sensibilidade aos antimicrobianos dos enterococos nos últimos anos, é de máxima importância traçar o perfil de sensibilidade deste gênero nos hospitais brasileiros.

O objetivo desse estudo foi determinar o perfil de sensibilidade do gênero *Enterococcus* no Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM), da Universidade Federal de Santa Maria, no período entre junho de 2003 a agosto de 2004.

Material e métodos

Foram analisadas 233 amostras de *Enterococcus* spp., empregando-se o sistema MicroScan (Dade Behring), isoladas no laboratório Central de Análises Clínicas do HUSM/UFSC. As amostras foram obtidas de materiais clínicos diversos e o critério de inclusão no estudo foi adotado por terem sido isoladas de pacientes encaminhados ao hospital.

Os materiais foram semeados segundo procedimentos convencionais. Após isolamento primário, as amostras foram submetidas a identificação e determinação da suscetibilidade frente ao painel Gram-positivo (automação MicroScan). As recomendações do fabricante do produto para inoculação e incubação dos painéis foram rigorosamente seguidas. Após 18-24 horas de incubação a 35°C ± 1°C, os painéis foram lidos no sistema MicroScan.

Cinquenta e seis amostras escolhidas aleatoriamente foram concomitantemente identificadas pelo sistema MicroScan e através das seguintes provas convencionais: catalase, bile-esculina, cloreto de sódio (NaCl) a 6,5% , pirrolidoniil arilamidase (PYR), motilidade e produção de pigmento. Com essas amostras também foi efetuado o teste de suscetibilidade, empregando-se a metodologia da difusão do disco em ágar frente à: ampicilina (10µg), vancomicina (30µg), gentamicina (120µg), estreptomina (300µg), teicoplanina (30µg) e ciprofloxacina (5µg) (essa última para enterococos isolados de uroculturas). Utilizaram-se amostras de *E. faecalis* ATCC 29212 (susceptível à vancomicina) e *E. faecalis* ATCC 51299 (resistente à vancomicina) como controle dos resultados obtidos, seguindo os critérios estabelecidos pelo National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)⁽¹⁴⁾.

Resultados

Dos 233 enterococos totais isolados, 32 (14%) pertenciam a pacientes ambulatoriais e 201 (86%) a pacientes internados, como mostra a **Tabela 1**.

Os 201 enterococos isolados dos pacientes internados foram provenientes das seguintes unidades: 12 (6%) do bloco cirúrgico, 14 (7%) da unidade de terapia intensiva (UTI) pediátrica, sete (3%) da pediatria, 22 (11%) da UTI de

adultos, 137 (69 %) da clínica médica e nove (4%) da clínica obstétrica, conforme está representado na **Tabela 2**.

Cento e noventa e oito (85%) dos enterococos totais isolados foram identificados como *E. faecalis* e 14 (6%) como *E. faecium*, totalizando 212 (99%). As demais espécies foram identificadas como *E. avium*, *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*, *E. hirae*, e *Enterococcus* spp.

A **Tabela 3** relaciona os diferentes materiais clínicos de onde foram isolados os enterococos.

Das 77 uroculturas, 39 (aproximadamente a metade, 50,6%), apresentaram contagem superior a 100 mil UFC/mL, e as restantes 38 (49,4%), contagens inferiores a

90 mil UFC/mL. Em cinco (6,5%) do total dessas amostras de urina foi isolado outro microorganismo concomitantemente ao enterococo.

As **Tabelas 4 e 5** apresentam os resultados obtidos na avaliação dos antimicrobianos das duas espécies prevalentes através da leitura dos painéis utilizados na automação (MicroScan). Uma única amostra de *Enterococcus faecalis* isolada de uma secreção de escara mostrou-se resistente à vancomicina, representando a primeira amostra de enterococo resistente à vancomicina (ERV) (comumente relatado como *vancomycin resistant Enterococcus* [VRE]) identificada no setor de bacteriologia do HUSM/UFSM.

Tabela 1 Distribuição dos enterococos isolados no HUSM de acordo com a origem dos pacientes

Origem dos enterococos	número de amostras	percentual
Pacientes internados	201	14
Pacientes ambulatoriais	32	86
Total	233	100

Tabela 2 Distribuição dos enterococos por origem dos pacientes internados

Unidade	Número de amostras	Percentual
Clínica médica	137	69
UTI de adultos	22	11
UTI pediátrica	14	7
Bloco cirúrgico	12	6
Clínica obstétrica	9	4
Pediatria	7	3
Total	201	100

Tabela 3 Distribuição das amostras de acordo com o tipo de material clínico

Material biológico	Nº de amostras	Percentual
Secreções em geral	102	44
Urina	77	33
Hemocultura	18	8
Líquidos	15	6,5
Escarro	8	3,5
Ponta de cateter	8	3,5
Biópsia	2	1
Abscesso	1	0,5
LBA	1	0,5
LCR	1	0,5
Total	233	100

Fazem parte de secreções em geral as secreções de feridas operatórias, traqueais, oculares, abdominais, de escaras e de vesícula abdominal.

LBA: lavado broncoalveolar; LCR: líquido cefalorraquidiano.

Tabela 4 Padrão de suscetibilidade dos *E. faecalis* isolados no HUSM/UFSM empregando-se automação (MicroScan)

Antimicrobianos	Sensíveis n (%)	Intermediários n (%)	Resistentes n (%)
Ampicilina	182 (92)	0 (0)	16 (8)
Ciprofloxacina	113(57)	15(7)	70(36)
Eritromicina	25(13)	63 (32)	109 (55)
Levofloxacina	124 (63)	3 (2)	71 (35)
Penicilina	180 (91)	0 (0)	18 (9)
Rifampicina	87(44)	41 (21)	70 (35)
Sinercid	4(2)	14 (7)	180 (91)
Tetraciclina	86 (43)	7 (3)	105 (54)
Vancomicina	197(99,5)	0 (0)	1 (0,5)
Linezolida	176 (89)	13 (6)	9 (5)
Nitrofurantoína	69 (96)	2 (3)	1 (1)
Norfloxacina	38 (53)	8 (11)	26 (36)

Tabela 5 Padrão de suscetibilidade dos *E. faecium* isolados do HUSM/UFSM empregando-se automação (MicroScan)

Antimicrobianos	Sensíveis n (%)	Intermediários n(%)	Resistentes n (%)
Ampicilina	11(79)	0 (0)	3(21)
Ciprofloxacina	6(43)	6(43)	2(14)
Eritromicina	2(14)	4 (28)	8(58)
Levofloxacina	11 (79)	2 (14)	1 (7)
Penicilina	10 (72)	0 (0)	4 (28)
Rifampicina	8(57)	1 (7)	5 (36)
Sinercid	5(36)	5 (36)	4 (28)
Tetraciclina	8(57)	1(7)	5 (36)
Vancomicina	14(100)	0 (0)	0(0)
Linezolida	14(100)	0 (0)	0 (0)
Nitrofurantoína	1 (50)	0 (0)	1 (50)
Norfloxacina	1(50)	0 (0)	1 (50)

Discussão

O gênero *Enterococcus* tem emergido como um dos mais importantes patógenos hospitalares no mundo inteiro^(3, 4, 6, 9). A frequência de seu isolamento vem aumentando desde a última década⁽⁴⁾ e, paralelamente ao aumento da incidência, tem-se observado rápida elevação na frequência de cepas resistentes aos antimicrobianos de uso corrente⁽¹⁶⁾.

A distribuição entre as espécies observadas em nosso estudo é semelhante à de outros autores^(1, 2, 4, 6, 16) com *E. faecalis*, sendo a espécie predominante dos enterococos e ocorrendo em 80 a 90% de todos os isolamentos clínicos, e *E. faecium*, 5% a 15%.

A resistência dos enterococos aos glicopeptídeos, mais conhecida como ERV, tem emergido como importante patógeno responsável por sérias infecções sistêmicas, especialmente em pacientes debilitados e com baixo mecanismo de defesa. O isolamento de uma amostra de ERV entre as estudadas serviu de alerta para nosso laboratório, tendo sido considerada uma cepa colonizadora. Porém, está bem estabelecido que a aquisição de infecções por esse microorganismo é normalmente precedida pela colonização do trato intestinal, durante períodos curtos (inferiores a um mês) até mais prolongados (quase um ano). Esses pacientes constituem um reservatório para a transmissão nosocomial, além de apresentarem risco elevado para o desenvolvimento de infecção por ERV, pois esse tipo de

cepa, uma vez estabelecida numa unidade clínica ou num centro médico, pode ser a causa de infecções associadas a alta mortalidade^(2, 11). Assim sendo, é essencial limitar a disseminação desses microorganismos.

Entretanto, uns poucos casos de infecções devidas a ERV têm sido recentemente descritos no Brasil⁽¹⁶⁾. A confirmação do VRE foi efetuada utilizando-se o método do Etest®.

A resistência dos enterococos à ampicilina encontrada em nosso estudo foi de 10%, semelhante à encontrada por outros autores^(7, 12). Porém, outros estudos referem o achado de amostras de *E. faecalis* resistentes à ampicilina como bastante raro⁽¹⁶⁾.

Em relação aos aminoglicosídeos, 3% das amostras analisadas mostraram alto grau de resistência, tanto à gentamicina (120µg) como à estreptomina (300µg), o que pode ser considerado baixa prevalência, diferentemente da alta prevalência relatada em outro hospital brasileiro⁽⁴⁾.

A análise comparativa dos testes de sensibilidade utilizando a automação (MicroScan)/método de discodifusão, considerando-se três antimicrobianos (ampicilina, vancomicina e ciprofloxacina), teve boa correlação, diferindo, no máximo, em dois pontos percentuais.

Nossos resultados não evidenciaram níveis comprometedores de resistência quanto a antimicrobianos beta-lactâmicos (ampicilina, penicilina), aos aminoglicosídeos (gentamicina, estreptomina) e fluoroquinolonas (ciprofloxacina, norfloxacina). Isso é um dado importante no que se refere ao efeito sinérgico desses antimicrobianos para o tratamento das infecções enterocócicas sérias. Porém, o isolamento do primeiro ERV serviu de alerta e agilizou a implementação de medidas de controle para reduzir a possibilidade de transmissão paciente/paciente e a ampla disseminação dos ERV na comunidade.

Referências

- CENTINKAYA, Y.; FALK, P.; MAYHALL, G. Vancomycin-resistant enterococci. *Clin Microbiol Rev*, v. 13, s. 4, p. 686-707, 2000.
- CEREDA, R.F. et al. *Enterococcus faecalis* resistant to vancomycin and teicoplanin (VanA phenotype) isolated from a bone marrow transplanted patient in Brazil. *Braz J Infect Dis*, v. 5, n. 1, p. 40-6, 2001.
- d'AZEVEDO, P.A. et al. Avaliação de um sistema automatizado na identificação de espécies de *Enterococcus*. *J Bras Patol Med Lab*, v. 40, n. 4, p. 237-9, 2004.
- d'AZEVEDO, P.A. et al. Resistência aos níveis elevados de aminoglicosídeos entre amostras de *Enterococcus* isoladas na Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre (ISCOMPA). *J Bras Patol*, v. 34, n. 3, p. 148-53, 1998.
- DAHLÉN, G. et al. Identification and antimicrobial susceptibility of enterococci isolated from the root canal. *Oral Microbiol Immunol*, v. 15, p. 309-12, 2000.
- GRAY, J.W.; PEDLER, S.J. Antibiotic-resistant enterococci. *J Hosp Infect*, v. 21, p. 1-14, 1992.
- JONES, R.N. et al. Emerging multiply resistant enterococci among clinical isolates. I. Prevalence data from 97 medical center surveillance study in the United States. Enterococcus Study Group. *Diagn Microbiol Infect Dis*, v. 21, n. 2, p. 85-93, 1995.
- KONEMAN, E.W. et al. *Diagnóstico microbiológico*. Texto e Atlas Colorido. 5. ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 2001. p. 589-659.
- LECLERCQ, R. et al. Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. *N Eng J Med*, v. 319, p. 157-61, 1988.
- LOW, D.E. et al. Clinical prevalence, antimicrobial susceptibility, and geographic resistance patterns of enterococci: results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999. *Clin Infect Diseases*, v. 32, s. 2, p. 133-45, 2001.
- McDONALD, L.C. et al. Vancomycin-resistant *Enterococci* outside the health-care setting: prevalence, sources, and public health implications. *Emerg Infect Dis*, 3(3): 311-7, 1997.
- McNAMARA, E.B.; KING, E.M.; SMYTH, E.G. A survey of antimicrobial susceptibility of clinical isolates of *Enterococcus* spp. from Irish hospitals. *J Antimicrob Chemother*, v. 35, n. 1, p. 185-9, 1995.
- MURRAY, P. et al. *Microbiologia médica*. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p. 220-3.
- NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Fourteenth Informational Supplement – M100-S14. NCCLS, v. 24, n. 1, 2004.
- REIS, A. et al. *In vitro* antimicrobial activity of linezolid tested against vancomycin-resistant enterococci isolated in Brazilian hospitals. *Braz J Infect Dis*, v. 5, s. 5, p. 243-51, 2001.
- SARAIVA, I.H. et al. Avaliação da sensibilidade a antimicrobianos de 87 amostras clínicas de enterococos resistentes à vancomicina. *Rev Ass Med Brasil*, v. 43, n. 3, p. 217-22, 1997.
- TEIXEIRA, L.M.; FACKLAM, R.R. Enterococcus. In: MURRAY, P.R. et al. (eds.). *Manual of Clinical Microbiology*. 8. ed. Washington, D.C.: American Society for Microbiology, 2003. p. 422-33.
- TEIXEIRA, L.M.; FACKLAM, R.R. Special phenotypic methods for detecting antibacterial Resistance. In: MURRAY, P.R. et al. (eds.) *Manual of Clinical Microbiology*. 8. ed. Washington, D.C.: American Society for Microbiology, 2003. p. 1178-81.

Endereço para correspondência

Rosmari Hörner
Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas
Centro de Ciências da Saúde – Universidade
Federal de Santa Maria
CEP: 97110-970 – Santa Maria-RS
Tel.: (55) 220-8464
e-mail: rosmari@mail.ufsm.br