

## Avaliação da sensibilidade a antimicrobianos de 87 amostras clínicas de enterococos resistentes à vancomicina

I.H. SARAIVA, \*R.N. JONES, \*M. ERWIN, H.S. SADER

Laboratório Especial de Microbiologia Clínica, Disciplina de Doenças Infecciosas e Parasitárias, Universidade Federal de São Paulo — Escola Paulista de Medicina, São Paulo, SP. \*Anti-Infective Research Center, Departamento de Patologia, Universidade de Iowa, Iowa City, IA, EUA.

**RESUMO — OBJETIVOS.** 1) Avaliar o padrão de sensibilidade *in vitro* de amostras clínicas de enterococos resistentes à vancomicina (ERV), aos antimicrobianos comumente utilizados no seu tratamento, bem como a antimicrobianos alternativos. 2) Avaliar a acurácia do E test, em comparação aos outros testes de sensibilidade a antimicrobianos (microdiluição em caldo e difusão em disco).

**MATERIAL E MÉTODOS.** Foram analisadas 87 amostras clínicas de ERVs selecionadas de 1.936 isolados de enterococos coletados em 97 hospitais norte-americanos, no último trimestre de 1992. A identificação em nível de espécie foi feita pelos sistemas API 20S, Vitek e uma versão modificada do método convencional proposto por Facklam e Collins. A avaliação da sensibilidade *in vitro* aos antimicrobianos foi realizada pela técnica de microdiluição em caldo, E test e métodos de difusão em disco. As amostras foram testadas, tanto para antimicrobianos normalmente utilizados no tratamento de infecções enterocócicas (vancomicina, teicoplanina, ampicilina, penicilina, gentamicina e estreptomicina), como também para drogas alternativas potencialmente úteis (cloranfenicol, doxiciclina, esparfloxacin, ciprofloxacina, clinafloxacin, eritromicina, espectinomi-

cina, trospectomicina, trimetoprim-sulfametoxazol e novobiocina).

**RESULTADOS.** A avaliação dos testes de sensibilidade das 87 amostras de ERV revelou resistência, a ampicilina em torno de 86%, o mesmo sendo observado para penicilina. Em relação aos aminoglicosídeos, obtivemos alto grau de resistência, em torno de 82% e 85%, para gentamicina e estreptomicina, respectivamente. Apesar de pertencer à mesma classe da vancomicina, a teicoplanina foi ativa contra 29% das amostras de ERV. Entre os antimicrobianos alternativos testados, os que apresentaram maiores taxas de sensibilidade foram o cloranfenicol, a doxiciclina e a trospectomicina (82%, 92% e 94% de isolados suscetíveis, respectivamente).

**CONCLUSÃO.** O tratamento de infecções causadas por enterococos multirresistentes ainda é um desafio, e vários esquemas já vêm sendo propostos na literatura. São necessários, no entanto, mais trabalhos analisando a efetividade clínica dessas combinações de antibióticos antes que recomendações definitivas possam ser feitas.

**UNITERMOS:** Enterococos resistentes à vancomicina. Atividade antimicrobiana *in vitro*. Resistência a antimicrobianos. Novos antibióticos. E test.

### INTRODUÇÃO

Embora, normalmente, colonizantes do trato gastrointestinal e genital feminino, os enterococos têm-se destacado, nos últimos anos, como patógenos importantes em infecção hospitalar. Dados norte-americanos já os apontam como segunda causa mais comum de infecção nosocomial nos Estados Unidos, estando particularmente associados a infecções do trato urinário, infecções de ferida cirúrgica e bacteremias<sup>1</sup>. Paralelamente ao aumento da incidência, tem-se observado rápido aumento na frequência de cepas resistentes aos antimicrobianos de uso corrente, mesmo aos glicopeptídeos<sup>2</sup>.

Análise de dados enviados ao *Center for Disease Control* (CDC), no período de janeiro de 1989 a março de 1993, demonstra um aumento de vinte

vezes na prevalência de resistência à vancomicina em enterococos associados com infecções nosocomiais, nos Estados Unidos<sup>3</sup>. Apesar da publicação de vários trabalhos sobre enterococos multirresistentes, pouco ainda se sabe sobre sua forma de disseminação, suas características epidemiológicas e, sobretudo, ainda não se conhece a melhor abordagem terapêutica diante de infecções graves causadas pelos ERVs, os quais, muitas vezes, também se mostram resistentes aos demais antimicrobianos comumente utilizados no seu tratamento<sup>4</sup>.

No presente estudo, foram avaliadas 87 amostras clínicas provenientes de 97 hospitais norte-americanos. Essas amostras tinham como característica em comum o fato de serem resistentes à vancomicina. Esses isolados foram testados para antimicrobianos normalmente utilizados para o

tratamento de infecções enterocócicas e, também, para dez drogas alternativas potencialmente úteis, com o intuito de avaliar o padrão de sensibilidade dos ERV e discutir possíveis opções terapêuticas.

### MATERIAL E MÉTODOS

Os 87 isolados resistentes à vancomicina foram selecionados de 1.936 amostras clínicas coletadas e processadas nos três últimos meses de 1992 em 97 hospitais norte-americanos<sup>3</sup>. Essas amostras foram isoladas em sangue ou outros líquidos corpóreos e secreções, exceto urina. Esses 87 isolados correspondem a 4,5% de todas as amostras avaliadas nesse estudo prévio<sup>3</sup> e estavam distribuídos entre 22 hospitais. A identificação em nível de espécie foi feita pelos sistemas API 20S, Vitek e uma versão modificada<sup>5</sup> do método convencional proposto por Facklam e Collins<sup>6</sup>.

Os ERV foram testados contra vancomicina e teicoplanina por meio de microdiluição em caldo, E test e métodos de difusão em disco, e contra ampicilina, penicilina e gentamicina mediante E test e difusão em disco. Estreptomina, por sua vez, foi avaliada unicamente por E test. Os testes de sensibilidade foram realizados segundo os critérios do *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS)<sup>7,8</sup>.

Todos os 87 isolados foram também testados contra dez drogas alternativas potencialmente úteis no tratamento de infecções enterocócicas. As drogas avaliadas foram: ciprofloxacina, clinafloxacina<sup>9</sup>, esparfloxacina, doxiciclina, eritromicina, espectinomicina, trospectomicina<sup>10</sup>, cloranfenicol, trimetoprim-sulfametoxazol e novobiocina. Essas drogas foram avaliadas pelas técnicas de E test e/ou difusão em disco.

Foi definido como resistente à vancomicina ou à teicoplanina o isolado que apresentasse concentração inibitória mínima (MIC) maior ou igual a 32µg/mL para esses antimicrobianos. Foram considerados sensíveis à vancomicina os isolados que apresentassem MIC ≤ 8µg/mL a esse glicopeptídeo, enquanto que a sensibilidade à teicoplanina é definida como MIC ≤ 4µg/mL<sup>7</sup>. A diferença nos *breakpoints* de sensibilidades destes dois glicopeptídeos se deve a diferenças na farmacologia e farmacocinética. Os isolados que apresentaram MICs entre 8 e 32µg/mL para vancomicina e entre 4 e 32µg/mL para teicoplanina foram classificados como intermediários para os respectivos antimicrobianos. Com relação à ampicilina, o NCCLS considera resistente o isolado que apresenta MIC ≥ 16µg/mL, e sensível aquele que apresenta MIC < 16µg/mL, não existindo, assim, a categoria intermediária para essa combinação espécie/antimicrobiano<sup>7</sup>.

**Tabela 1 — Padrão de sensibilidade das 87 amostras de ERV de acordo com o método utilizado**

Antimicrobiano*	Sensível n (%)	Intermediário n (%)	Resistente n (%)
Teicoplanina			
MIC**	25 (29)	—	62 (71)
E test	25 (29)	3 (3)	59 (68)
Disco	25 (29)	5 (6)	57 (65)
Ampicilina			
E test	12 (14)	—	75 (86)
Disco	11 (13)	—	76 (87)
Penicilina			
E test	11 (13)	1 (1)	75 (86)
Disco	8 (9)	—	79 (91)
Gentamicina***			
E test	16 (18)	—	71 (82)
Disco	15 (17)	—	72 (83)
Estreptomina***			
E test	13 (15)	—	74 (85)

\* *Breakpoints* utilizados para sensibilidade e resistência, respectivamente: teicoplanina: ≤ 8µg/mL e ≥ 32µg/mL ou ≥ 14mm e ≤ 10mm; ampicilina: ≤ 8µg/mL e ≥ 16µg/mL ou ≥ 14mm e ≤ 10mm; penicilina: ≤ 8µg/mL e ≥ 16µg/mL ou ≥ 15mm e ≤ 14mm; gentamicina: ≤ 500µg/mL e > 500µg/mL ou ≥ 10mm e ≤ 6mm; estreptomina: ≤ 2.000µg/mL e > 2.000µg/mL ou ≥ 10mm e ≤ 6mm.

\*\* MIC, microdiluição em placas.

\*\*\* Sessenta e uma amostras (70%) mostram alto grau de resistência (*high-level*), tanto para gentamicina quanto para estreptomina.

Como o enterococo apresenta intrinsecamente baixo grau de resistência a aminoglicosídeos e os antimicrobianos dessa classe não são ativos contra amostras desse gênero quando utilizados isoladamente, torna-se importante a avaliação do alto grau de resistência a aminoglicosídeos. Esse mecanismo de resistência é adquirido pela bactéria (não intrínseco) e leva a perda do sinergismo com antimicrobianos que agem na parede bacteriana (β-lactâmicos e glicopeptídeos). Sem esse sinergismo, não ocorrerá ação bactericida, dificultando muito a erradicação de infecções graves. O NCCLS define como alto grau de resistência MICs superiores a 500µg/mL para gentamicina e MICs superiores a 2.000µg/mL para estreptomina. Só é necessária a avaliação destes dois aminoglicosídeos, uma vez que amostras que apresentam alto grau de resistência à gentamicina irão apresentar também alto grau de resistência a todos os aminoglicosídeos, podendo ser exceção apenas a estreptomina<sup>7</sup>.

### RESULTADOS

A tabela 1 mostra os resultados obtidos na avaliação dos antimicrobianos normalmente utilizados no tratamento de infecções enterocócicas. Baseando-se nos resultados do E test, 86% dos isolados foram resistentes à ampicilina e à penicilina no presente estudo. A maior parte das amostras resis-

Tabela 2 — Padrão de sensibilidade\* de 87 amostras de ERV de acordo com a espécie

Antimicrobianos	Número (%)** de isolados sensíveis		
	<i>E. faecalis</i> (n=76)	<i>E. faecium</i> (n=11)	Total (n=87)
Teicoplanina	10*** (91)	14 (18)	25 (29)
Ampicilina	11 (100)	1 (1)	12 (14)
Penicilina	9 (82)	2 (3)	11 (13)
Gentamicina	0 (0)	16 (21)	16 (18)
Estreptomicina	0 (0)	13 (17)	13 (15)
Gentamicina ou estreptomicina	0 (0)	26 (34)	26 (30)
Nenhum****	0 (0)	42 (55)	42 (48)

\* Baseados nos resultados do E-test.  
 \*\* Baseados no número total de amostras de cada espécie.  
 \*\*\* Sete dessas amostras apresentam padrão cromossômico idêntico quando avaliados pela técnica de *pulsed-field gel electrophoresis*.  
 \*\*\*\* Amostras resistentes aos 5 antimicrobianos (vancomicina, teicoplanina, ampicilina, penicilina, gentamicina e estreptomicina).

tentes aos β-lactâmicos era de *E. faecium* (sensibilidade de 1% a ampicilina — tabela 2). Para *E. faecalis* obtivemos 100% de sensibilidade a ampicilina e 82% a penicilina (tabela 2). Essa observação corrobora os dados da literatura, que mostram a preponderância de cepas de *E. faecium* resistentes aos β-lactâmicos quando comparados aos isolados de *E. faecalis*<sup>4</sup>. Na verdade, o encontro de amostras de *E. faecalis* resistentes à ampicilina é bastante raro.

Em relação aos aminoglicosídeos, a percentagem de alto grau de resistência foi de 82% e 85% para gentamicina e estreptomicina, respectivamente, com 69% dos isolados (61 amostras) apresentando alto grau de resistência aos dois aminoglicosídeos testados e, conseqüentemente, a todos os aminoglicosídeos. Finalmente, para teicoplanina, observamos taxa de sensibilidade de 25%, valor semelhante ao encontrado por Willey *et al.* (70% de resistência a teicoplanina entre seus isolados de ERV) ao avaliar 155 amostras de enterococos enviados de vários centros<sup>2</sup>.

Quanto aos antimicrobianos alternativos analisados, os que apresentaram maiores taxas de resistência foram eritromicina, trimetoprim-sulfametoxazol e ciprofloxacina (98%, 83% e 69%, respectivamente). Por outro lado, observamos maior sensibilidade a cloranfenicol, doxiciclina e trospectomicina (82%, 92% e 94% de isolados sensíveis, respectivamente) [tabela 3].

Houve excelente concordância entre os testes de sensibilidade analisados. As amostras foram testadas pelas três metodologias (microdiluição em placa, E test e disco difusão) somente para teicoplanina e houve apenas três resultados discordantes entre microdiluição em placa e E test (96,6% de concordância).

Tabela 3 — Padrão de sensibilidade\* de 87 amostras de ERV a drogas alternativas

Antimicrobianos	Sensíveis n (%)	Intermediárias n (%)	Resistentes n (%)
E test			
Cloranfenicol	71 (82)	13 (15)	3 (3)
Doxiciclina	80 (92)	3 (3)	4 (5)
Esparfloxacina**	48 (55)	- -	39 (45)
Disco-difusão			
Ciprofloxacina	3 (3)	24 (28)	60 (69)
Clinafloxacina**	30 (34)	19 (22)	38 (44)
Eritromicina	- -	2 (2)	85 (98)
Espectinomicina**	12 (14)	56 (64)	19 (22)
Trospectomicina***	82 (94)	- -	5 (6)
Sulfametoxazol-trimetoprim	5 (6)	10 (11)	72 (83)

\* Os halos de inibição para novobiocina foram de 16 a 31mm (média de 27).  
 \*\* Breakpoints de sensibilidade e resistência (respectivamente): esparfloxacina, ≤2μg/mL e ≥8μg/mL; clinafloxacina, ≥23mm e ≤19mm; espectinomicina, ≥18mm e ≤14mm.  
 \*\*\* Foi considerado ≥17mm como *breakpoint* de sensibilidade.

cia). Três amostras foram classificadas como intermediária pelo E test e sensível pela técnica de microdiluição. As amostras foram testadas pelas técnicas de E test e disco difusão contra ampicilina, teicoplanina, vancomicina e gentamicina, e a taxa de concordância foi de 98% (tabela 1).

## DISCUSSÃO

Enterococos resistentes a vancomicina foram originalmente descritos na Europa Ocidental, em 1988. A partir dessa época, começaram a surgir relatos de seu aparecimento em vários países do mundo, incluindo Estados Unidos<sup>11,12</sup>. A resistência à vancomicina tem sido observada principalmente entre quatro espécies de enterococos: *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. avium* e *E. gallinarum*<sup>13</sup>. A base genética para essa resistência já está bem estudada e envolve vários determinantes gênicos encontrados em transposomos, dois componentes do sistema regulatório (*vanR* e *vanS*), uma desidrogenase (*vanH*) e uma ligase que condensa D-alanina com o produto do *vanH* para produzir precursores peptidoglicanos (*vanA*). Fenotipicamente, esses enterococos caracterizam-se por alto nível de resistência à vancomicina (MIC ≥ 120μg/mL) e teicoplanina (MIC ≥ 16μg/mL). Esse fenótipo é chamado VanA. Outro fenótipo de resistência a glicopeptídeos caracteriza-se por resistência à vancomicina, mas sensibilidade à teicoplanina e pela presença do gene *vanB* (*E. faecium* e *E. faecalis*) ou do gene *vanC* (*E. gallinarum*)<sup>4</sup>. No presente estudo, 29% das amostras resistentes à vancomicina foram sensíveis à teicoplanina (fenó-

tipo VanB), mostrando que esse antimicrobiano pode ser muito útil em locais onde há altas taxas de resistência à vancomicina.

Quanto aos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, o mecanismo de resistência dos enterococos se deve a alterações nas proteínas ligadoras de penicilina (PBPs). As PBPs dos enterococos resistentes apresentam afinidade diminuída à penicilina, que chega a ser 10 a 100 vezes menor que àquela apresentada pelas PBPs dos estreptococos. Isso se torna mais evidente para as penicilinas semi-sintéticas resistentes à penicilinase, tais como nafcilina (MIC = 8-50 $\mu$ g/mL) e metecilina (MIC  $\geq$  50 $\mu$ g/mL)<sup>14</sup>. Como pudemos ver neste estudo, a grande maioria das amostras *E. faecium* resistentes à vancomicina tende a ser resistente também aos  $\beta$ -lactâmicos (tabela 2). Por outro lado, amostras de *E. faecalis* tendem a ser sensíveis aos  $\beta$ -lactâmicos, independentemente do padrão de sensibilidade a glicopeptídeos.

Ultimamente, têm sido descritos enterococos produtores de  $\beta$ -lactamases<sup>15</sup>. No entanto, essa resistência pode não ser detectada por testes de sensibilidade de rotina devido ao efeito de inóculo, isto é, pequenas variações de inóculo podem levar a grandes variações da MIC. Felizmente, esse mecanismo de resistência é raro, sendo encontrado em apenas 1% a 2% das cepas resistentes à ampicilina<sup>3</sup>. A produção de  $\beta$ -lactamase não foi detectada em nenhuma das amostras avaliadas neste estudo.

Os enterococos apresentam baixo grau de resistência aos aminoglicosídeos. Essa é uma característica intrínseca do gênero, porém esses antimicrobianos apresentam efeito sinérgico quando associados a  $\beta$ -lactâmicos ou glicopeptídeos. Têm surgido, no entanto, enterococos que expressam alto grau de resistência aos aminoglicosídeos. O alto grau de resistência (*high level*) a aminoglicosídeos é decorrente da produção de enzimas modificadoras de aminoglicosídeos, tais como 6'-acetiltransferase (AAC-6') e 2"-fosfotransferase (APH-2"). Com exceção da AAC-6' do *E. faecium* que é cromossomicamente codificada, os genes correspondentes às demais enzimas são localizados em plasmídeos<sup>15</sup>. A presença de alto grau de resistência a aminoglicosídeos leva a perda de sinergismo com  $\beta$ -lactâmicos e glicopeptídeos, não se conseguindo, dessa maneira, efeito bactericida<sup>14</sup>. Este estudo mostrou que as taxas de alto grau de resistência a aminoglicosídeos parecem ser bastante altas (tabela 1), o que dificulta muito o tratamento de infecções graves causadas por essas cepas resistentes, uma vez que a presença de alto grau de resistência a aminoglicosídeos significa que não será conseguido efeito bactericida.

Como pode ser avaliado no presente estudo, infecções graves causadas por enterococos resistentes à vancomicina serão normalmente de controle muito difícil, principalmente quando se tratar de *E. faecium*, uma vez que amostras dessa espécie apresentaram altas taxas de resistência a  $\beta$ -lactâmicos e aminoglicosídeos. Na maioria das vezes, a única opção terapêutica com eficácia comprovada em estudos clínicos parece ser a teicoplanina<sup>16</sup>. Além disso, estudos realizados com amostras clínicas isoladas em hospitais brasileiros mostram excelente atividade *in vitro* desse antimicrobiano<sup>17</sup>.

Alguns dos antibióticos alternativos analisados apresentaram boa atividade *in vitro* contra enterococos, porém não sabemos o verdadeiro impacto desses resultados na prática médica. Um exemplo é o que foi observado em relação ao novo aminoclitol testado, a trospectomicina. Essa droga, o mais potente derivado da espectinomicina, é inativada pelas mesmas enzimas que destroem a estreptomina e a gentamicina e, portanto, o resultado obtido *in vitro* (94% de sensibilidade) deve representar falsa sensibilidade<sup>10</sup>.

Cloranfenicol e tetraciclina são antimicrobianos para os quais é comum observar-se sensibilidade dos enterococos, mesmo para cepas resistentes a todos os outros antimicrobianos. No entanto, no passado já se tentou utilizar o cloranfenicol no tratamento desses patógenos, sem êxito<sup>4</sup>. As tetraciclinas também não parecem apresentar resultados clínicos muito bons, especialmente em infecções potencialmente graves<sup>4</sup>.

Agentes de várias classes, incluindo fluoroquinolonas, estreptograminas e novobiocina, em baixas concentrações, têm sido testados contra enterococos e têm demonstrado inibir o crescimento *in vitro* desse microrganismo<sup>4</sup>. A novobiocina, um derivado cumarínico dihidroxiglicosilado, já foi utilizada previamente para o tratamento de infecções por microrganismos gram-positivos<sup>18</sup>. Devido à sua relativa toxicidade e à alta taxa de surgimento de resistência, ela foi gradativamente abandonada. Contudo, quando começaram a surgir estafilococos resistentes à metecilina, a utilização desse antibiótico voltou a ser avaliada. Para enterococos, no entanto, dados disponíveis até o momento não são suficientes para analisar sua eficácia e há trabalhos demonstrando apenas atividade modesta contra esses patógenos. Além disso, a ligação protéica dessa droga é muito alta, o que pode interferir na sua eficácia *in vivo*<sup>18,19</sup>.

Uma outra classe de agentes antimicrobianos que demonstra atividade *in vitro* contra enterococos é o grupo das fluoroquinolonas. No entanto, tem-se observado emergência de resistência, tanto

*in vivo* quanto *in vitro*<sup>20</sup>. À semelhança da novobiocina, esses compostos bloqueiam a ação da DNA-girase, e a associação dessas duas drogas pode vir a representar uma boa opção no tratamento de infecções por enterococos<sup>20,21</sup>. As novas quinolonas têm demonstrado boa atividade contra enterococos, em especial a clinafloxacina, cujo radical pirrolidinil na posição 7 garante maior atuação contra bactérias gram-positivas<sup>9</sup>, e a esparfloxacina, um membro difluorinatado do ácido quinolona-carboxílico. Em trabalho publicado por Jones *et al.*, a concentração de antimicrobiano necessária para inibir 50% das amostras de enterococos estudadas (MIC 50) foi de 0,5µg/mL e a concentração necessária para inibir 90% das amostras (MIC 90) foi 2µg/mL. As MICs variaram de 0,12 a 2µg/mL<sup>22</sup>.

A análise comparativa dos testes de sensibilidade demonstrou que o teste de disco difusão pode apresentar bons resultados quando utilizado adequadamente. Porém, esse teste deve ser realizado com muita cautela e controle rígido de qualidade; do contrário, poderá falhar na detecção de amostras de enterococos resistentes<sup>23</sup>. Os resultados do presente estudo também mostraram, em concordância com outros trabalhos já publicados, que o E test é uma excelente metodologia para a avaliação da sensibilidade de enterococos a antimicrobianos. Além de apresentar alta acurácia, é um teste de fácil realização e que fornece, com precisão, o MIC<sup>3,24</sup>. Além disso, as fitas para os cinco antimicrobianos que necessitam ser testados para enterococos podem ser colocadas em uma única placa grande de Muller-Hinton.

O tratamento dos enterococos multirresistentes ainda é um desafio e vários esquemas já vêm sendo propostos na literatura, a maioria dos quais utilizando fluoroquinolonas mas com resultados bastante contraditórios<sup>21</sup>. São necessários, então, mais trabalhos analisando a efetividade dessas combinações de antibióticos antes que recomendações definitivas possam ser feitas.

## SUMMARY

### Antimicrobial susceptibility testing of 87 clinical isolates of vancomycin-resistant enterococci

**OBJECTIVES.** 1) To evaluate the antimicrobial susceptibility pattern of vancomycin-resistant enterococci to the antimicrobial agents that are commonly used to treat enterococci infections and to some alternative drugs. 2) To evaluate the accuracy of E test for susceptibility testing enterococci.

**MATERIAL AND METHOD.** We evaluated 87 clinical

*VRE isolates that were selected from a previous study which analyzed 1936 clinical isolates collected and processed in 97 US medical centers in the last quarter of 1992. The isolates were identified to the species level by using the API 20S System, the Vitek gram-positive identification cards and a modified version of the conventional method proposed by Facklam and Collins. The in vitro susceptibility testing was performed by broth microdilution, E test and disk diffusion methods, following the criteria described by the National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). The VRE isolates were tested against antimicrobial agents commonly used to treat enterococci infections (vancomycin, teicoplanin, ampicillin, penicillin, gentamicin and streptomycin) and against ten potential alternative drugs (chloramphenicol, doxycycline, sparfloxacin, ciprofloxacin, clinafloxacin, erythromycin, spectinomycin, trospectomycin, trimetoprim-sulfametoxazol and novobiocin).*

**RESULTS.** Our results showed a high rate of resistance to ampicillin and penicillin (86%). High level resistance to gentamicin and streptomycin was demonstrated by 82% and 85% respectively. Although teicoplanin and vancomycin belong to the same antibiotic group (glycopeptide), 29% of VRE were susceptible to teicoplanin.

Among the alternative drugs, trospectomycin, doxycyclin and chloramphenicol showed the highest in vitro activity, with 94%, 92% and 82% susceptibility respectively. In addition, erythromycin, trimetoprim-sulfametoxazol and ciprofloxacin showed the highest rates of resistance (98%, 83% and 69%, respectively).

**CONCLUSION.** The treatment options for infections caused by vancomycin-resistant enterococci seem to be very narrow since a small percentage of those isolates were susceptible to the other antimicrobial agents commonly used to treat these infections and only a few of the alternative drugs tested showed good in vitro activity. Many regimens using various antibiotic combinations have been tested against VRE, most of them with fluoroquinolones. However further studies are necessary to evaluate the clinical role of these antibiotic combinations. [Rev Ass Med Brasil 1997; 43(3); 217-22.]

**KEY WORDS:** Vancomycin-resistant enterococci. *In vitro* antimicrobial activity. Antimicrobial resistance. New antimicrobial agents. E test.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Noskin GA, Peterson LR, Warren JR. *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* bacteremia: acquisition and outcome. *Clin Infect Dis* 1995; 20: 296-301.
2. Willey BM, McGeer AJ, Ostrowski MA, Kreiswirth BN, Low

- DE. The use of molecular typing techniques in the epidemiologic investigation of resistant enterococci. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1994; 15: 549-55.
3. Jones RN, Sader HS, Erwin M, Anderson SC and the Enterococcus Study Group. Emerging multiply resistant enterococci among clinical isolates: prevalence data from 97 medical center. Surveillance study in the United States. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1995; 21: 85-93.
  4. Eliopoulos GM. Increasing problems in the therapy of enterococcal infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1993; 12: 409-12.
  5. Buschelman BJ, Bale MJ, Jones RN. Species identification and determination of high-level resistance among enterococci. Comparison study of sterile body fluid isolates, 1985-1991. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 1993; 16: 119-22.
  6. Facklam RR, Collins MD. Identification of enterococcus species isolates from human infections by a conventional test scheme. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 731-4.
  7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically*. Approved standard, M7-A3. 1993. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, PA.
  8. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests*. Approved standard, M2-A5. 1993. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, PA.
  9. Burney S, Landman D, Quale JM. Activity of clinafloxacin against multidrug-resistant *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38: 1.668-70.
  10. Barry AL, Jones RN, Thornsberry C. Antibacterial activity of trospectomycin (U- 63366F) and initial evaluations of disk diffusion susceptibility tests. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; 33: 569-72.
  11. Gutmann L, Billot-Klein D, Al-Obeid S et al. Inducible carboxypeptidase activity in vancomycin-resistant enterococci. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36: 77-80.
  12. Sader HS, Pfaller MA, Tenover FC, Hollis RJ, Jones RN. Evaluation and characterization of multiresistant *Enterococcus faecium* from twelve U.S. medical centers. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 2.840-2.
  13. Johnson AP, Uttley AHC, Woodford N, George RC. Resistance to vancomycin and teicoplanin: a emerging clinical problem. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; 34: 280-91.
  14. Patterson JE, Wanger A, Zscheck KK, Zervos MJ, Murray BE. Molecular epidemiology of  $\beta$ -lactamase producing enterococci. *Antimicrob. Agents Chemother* 1990; 34: 302-5.
  15. Leclercq R, Dutka-Malen S, Brisson-Noel A et al. Resistance of enterococci to aminoglycosides and glycopeptides. *Clin Infect Dis* 1992; 15: 495-501.
  16. Phillip G. Vancomycin and teicoplanin: something old, something new. *Med J Aust* 1992; 156: 53-7.
  17. Mimica I, Mendes CM, Mimica L et al. Estudo da sensibilidade de *Staphylococcus* sp. e *Enterococcus* sp. à teicoplanina e à vancomicina. *Rev Ass Med Brasil* 1996; 42: 147-50.
  18. French P, Venuti E, Fraimow HS. *In vitro* activity of novobiocin against multiresistant strains of *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Chemother* 1993 37: 2.736-9.
  19. Jones RN. Should novobiocin be clinically re-evaluated? *Diagn Microbiol Infect Dis* 1989; 12: 363-5.
  20. Nakanishi N, Yoshida S, Wakebe H, Inoue M, Mitsuhashi S. Mechanisms of clinical resistance to fluoroquinolones in *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35: 1.053-9.
  21. Landman D, Mobarakai NK, Quale JM. Novel antibiotic regimens against *Enterococcus faecium* resistant to ampicillin, vancomycin and gentamicin. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37: 1.904-8.
  22. Jones RN, Barrett MS, Erwin ME, Briggs BM, Johnson DM. *In vitro* antimicrobial activity of sparfloxacin (AT-4140, CI-978, PD 131501) compared with numerous other quinolone compounds. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1991; 14: 319-30.
  23. Tenover FC, Tokars J, Swenson J et al. Ability of clinical laboratories to detect antimicrobial agent-resistant enterococci. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 1.695-9.
  24. Sader HS, Pignatari AC. E test: a novel technique for antimicrobial susceptibility testing. *Sao Paulo Med J* 1994; 12: 635-8.