

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**BACTEREMIA POR *ENTEROCOCCUS FAECIUM* RESISTENTE À VANCOMICINA
EM HOSPITAL TERCIÁRIO: EPIDEMIOLOGIA, SUSCEPTIBILIDADE AOS
ANTIMICROBIANOS E MORTALIDADE**

Alexandre Vargas Schwarzbold

**Professor Orientador:
Luciano Zubaran Goldani**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito para obtenção do título de Doutor.

**Porto Alegre
Dezembro de 2013**

CIP - Catalogação na Publicação

Schwarzbold, Alexandre Vargas

Bacteremia por *Enterococcus faecium* resistente à vancomicina em hospital terciário: Epidemiologia, susceptibilidade aos antimicrobianos e mortalidade / Alexandre Vargas Schwarzbold. -- 2013.

73 f.

Orientador: Luciano Zubaran Goldani.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Porto Alegre, BR-RS, 2013.

1. Doenças Infecciosas. 2. Bacteremia. 3. Enterococo resistente à vancomicina. 4. Epidemiologia. 5. Mortalidade. I. Goldani, Luciano Zubaran, orient. II. Título.

Alexandre Vargas Schwarzbald

**BACTEREMIA POR *ENTEROCOCCUS FAECIUM* RESISTENTE À VANCOMICINA
EM HOSPITAL TERCIÁRIO: EPIDEMIOLOGIA, SUSCEPTIBILIDADE AOS
ANTIMICROBIANOS E MORTALIDADE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito para obtenção do título de Doutor.

Porto Alegre, 20 de dezembro de 2013.

Prof. Dr. Luciano Zubaran Goldani

Programa de Pós-Graduação em Medicina, Ciências Médicas, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Sílvia Regina Rios Vieira

Programa de Pós-Graduação em Medicina, Ciências Médicas, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Prof. Dr. Rodrigo Pires dos Santos

Programa de Pós-Graduação da Fundação Universidade de Cardiologia, Rio Grande do Sul.

Prof. Dr. Gustavo Wissmann

Programa de Pós-Graduação em Pneumologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Dedico esse trabalho ao meu pai Albano, incansável no estímulo científico que possibilitou meus sonhos.

À Fabíola e o Henrique, pelo amor e aprendizado diário.

AGRADECIMENTOS

Essa foi uma jornada de grandes desafios a serem vencidos e obstáculos a serem transpostos. Para isso, muitas pessoas contribuíram das mais diversas formas. Aproveito para agradecer a todos por sua colaboração.

Ao professor Luciano Zubaran Goldani, meu orientador, por ter acreditado em mim, por ter me disponibilizado tempo e pelo auxílio para encontrar um caminho para desenvolver um trabalho final coerente com minha trajetória.

Aos colegas da UFSM, Ivana Beatrice Mânica da Cruz, Melissa Premaor, Fabio Comim e Liliane Pacheco pelo estímulo e a convivência que gerarão frutos no futuro.

Aos colegas do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Denise Carvalho, Eduardo Turra e Régis Rosa pelo acolhimento e contribuição ao trabalho.

Às minhas colegas da Unidade de Pesquisa Clínica do HUSM, Sandra Schmidt, Helena Noal e Cláudia Sala pela longa parceria e convivência.

Aos colegas da CCIH do HUSM pela parceria na busca de melhoria das ações e segurança dos pacientes.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul, por minha formação.

À Universidade Federal de Santa Maria, pelos desafios e por possibilitar o desenvolvimento de minha vida acadêmica.

À Lidia Pardini pelo estímulo, por compartilhar cultura e por ter me ajudado na reta final.

Aos meus pais, Albano e Gilsí, que me ensinaram a ter amor, honestidade, respeito por todos e tenacidade.

Às minhas irmãs Ana Paula e Carolina, pela convivência e luta por nossos sonhos. Aos meus filhos, Gabriel e Henrique, pela alegria e estímulo em minha vida.

À Fabíola, pelo companheirismo, confiança e amor.

“Há um tempo em que é preciso abandonar as roupas usadas, que já têm a forma do nosso corpo, e esquecer os nossos caminhos, que nos levam sempre aos mesmos lugares. É tempo da travessia. E, se não ousarmos fazê-la, teremos ficado, para sempre, à margem de nós mesmos...”.

Fernando Teixeira de Andrade

RESUMO

Introdução: *Enterococcus faecium* resistente à vancomicina (EFRV) surgiu como um importante patógeno multirresistente e de etiologia potencialmente letal nas infecções associadas aos cuidados de saúde em todo o mundo. **Objetivo:** O objetivo deste estudo de coorte retrospectivo foi avaliar os fatores associados à mortalidade em pacientes com bacteremia causadas por EFRV em um grande hospital de referência terciária no sul do Brasil. **Métodos:** Foram avaliados todos os casos documentados de bacteremia identificados entre maio de 2010 e julho de 2012. Regressão de Cox foi realizada para determinar se as características relacionadas ao hospedeiro ou o tratamento antimicrobiano estavam associadas com a mortalidade por qualquer causa em 30 dias. No total, 35 pacientes documentados com bacteremia por EFRV foram identificados durante o período de estudo. **Resultados:** A mediana do escore APACHE-II da população do estudo foi 26 (IQR 10). A mortalidade global em 30 dias foi de 65,7%. Todos isolados de EFRV eram sensíveis à linezolida, daptomicina e quinopristina - dalfopristina. A linezolida foi o único agente antimicrobiano com atividade *in vitro* contra EFRV que foi administrada à coorte. Após a análise multivariada, o tratamento com linezolida (HR 0,08, 95% CI, 0,02-0,27) e a presença de insuficiência renal aguda no início da bacteremia (HR 4,01, 95% CI, 1,62-9,94) foram associadas de forma independente com o desfecho principal. **Conclusão:** Apresentação com insuficiência renal aguda e ausência de tratamento com um antibiótico eficaz representa um risco de mortalidade em pacientes com bacteremia por EFRV.

Palavras-chave: Enterococco resistente à vancomicina, *Enterococcus faecium*, bacteremia, epidemiologia, perfil de sensibilidade, fatores de risco, mortalidade.

ABSTRACT

Background: Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* (VREF) has emerged as a relevant multidrug-resistant pathogen and potentially lethal etiology of health care-associated infections worldwide. **Objective:** The objective of this retrospective cohort study was to assess factors associated with mortality in patients with VREF bacteremia in a major tertiary referral hospital in southern Brazil. **Methods:** All documented cases of bacteremia identified between May 2010 and July 2012 were evaluated. Cox regression was performed to determine whether the characteristics related to the host or antimicrobial treatment were associated with the all-cause 30-day mortality. In total, 35 patients with documented VREF bacteremia were identified during the study period. **Results:** The median APACHE-II score of the study population was 26 (IQR 10). The overall 30-day mortality was 65.7%. All VREF isolates were sensitive to linezolid, daptomycin and quinopristin-dalfopristin. Linezolid was the only antimicrobial agent with *in vitro* activity against VREF that was administered to the cohort. After multivariate analysis, linezolid treatment (HR, 0.08; 95%CI, 0.02 – 0.27) and presence of acute kidney injury at the onset of bacteremia (HR, 4.01; 95%CI, 1.62 – 9.94) were independently associated with the main outcome. **Conclusion:** Presentation with acute kidney injury and lack of treatment with an effective antibiotic poses risk for mortality in patients with VREF bacteremia.

Keywords: Vancomycin-resistant Enterococcus, *Enterococcus faecium*, bacteremia, epidemiology, susceptibility, risk factors, mortality.

LISTA DE TABELAS

REVISÃO DE LITERATURA

Tabela 1. A frequência de resistência à vancomicina em enterococos isolados em vários continentes..... 15

Tabela 2. Classes fenotípicas de resistência à glicopeptídeos em enterococos ... 25

ARTIGO

Table 1. Clinical characteristics of 35 patients with bloodstream infection by vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* (Características clínicas dos 35 pacientes com infecção de corrente sanguínea causada por *E. faecium* resistente à vancomicina – EFRV) 68

Table 2. Multivariate Cox regression analysis of factors associated with 30-day mortality in patients with vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* bacteremia (Análise multivariada de regressão de Cox dos fatores associados com mortalidade em 30 dias nos pacientes com EFRV) 70

Table 3. Multivariate Cox regression model was performed replacing the categorical variable acute kidney injury by the continuous variable initial serum creatinine (Modelo multivariado de regressão de Cox realizado substituindo a variável categórica insuficiência renal aguda (IRA) pela variável contínua creatinina sérica inicial) 72

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA

- Figura 1. Diagrama esquemático do mecanismo de resistência à vancomicina ... 26
- Figura 2. Principais mecanismos de resistência antibiótica dos enterococos 28
- Figura 3. Efeito da administração de antibiótico na microbiota gastrointestinal e a emergência de enterococos resistente à vancomicina 30

ARTIGO

- Figura 1. Distribuição dos CIMs de antibióticos específicos para isolados de EFRV 69
- Figura 2. Curvas de sobrevida dos pacientes com bacteremia por EFRV 71

LISTA DE ABREVIATURAS

ADN: Ácido desoxiribonucleico

APACHE II: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation

ARN: Ácido desoxiribonucleico

CIM: Concentração inibitória mínima

CRISPR: *clustered regularly interspaced short palindromic repeats*

EFRV: *Enterococos faecium* resistente à vancomicina

ERV: Enterococo resistente à vancomicina

ESV: Enterococos sensível à vancomicina

EUA: Estados Unidos da América

FDA: Food and Drug Administration

MLST: Multilocus sequence typing

OR: Odds ratio

ORF: *Open readings frames*

PBP5: Penicillin-binding protein 5

PCR: Reação de Cadeia de Polimerase

PFGE: Pulsed field gel electrophoresis

SARM: Staphylococcus aureus resistente à meticilina

TCTH: Transplante de células-tronco hematopoiéticas

TGI: Trato gastrointestinal

TLR: Receptores *Toll-like*

UCI: Unidade de cuidados intensivos

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 EPIDEMIOLOGIA	14
2.2 ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS E MOLECULARES	17
2.2.1 Detecção	18
2.2.2 Epidemiologia molecular	19
2.2.3 Mecanismos de resistência	20
2.2.3.1 Resistência à β -lactâmicos	21
2.2.3.2 Resistência à aminoglicosídeos	22
2.2.3.3 Resistência à glicopeptídeos	23
2.2.3.4 Resistência à quinupristina-dalfopristina	26
2.2.3.5 Resistência à linezolida	27
2.2.3.6 Resistência à daptomicina	27
2.3 COLONIZAÇÃO	29
2.3.1 Colonização do TGI	29
2.3.2 Colonização ambiental e hospitalar	30
2.3.3 Pressão de colonização	31
2.3.4 Pressão antibiótica	32
2.3.5 Fatores de risco para colonização e surtos	33
2.4 DESFECHOS CLÍNICOS E POPULAÇÕES SUSCETÍVEIS	35
2.5 OPÇÕES TERAPÊUTICAS E RESPOSTA CLÍNICA	38
3 OBJETIVOS	41
3.1 OBJETIVO PRINCIPAL	41
3.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS	41
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA REVISÃO	42
5 ARTIGO EM INGLÊS	58
CONSIDERAÇÕES FINAIS	73

1 INTRODUÇÃO

O gênero *Enterococcus* é conhecido há mais de um século por seu papel como uma causa comum de endocardite, doença que é fatal e que nem sempre o tratamento antimicrobiano se mostra eficaz (1). A primeira descrição de uma infecção enterocócica, uma endocardite infecciosa, data de 1899, desde então os enterococos aparecem causando uma série de infecções no cenário comunitário (incluindo infecções pélvicas, neonatais e trato urinário) e hospitalar (2). No entanto, apesar do seu potencial patogênico, os enterococos geralmente exibem baixos níveis de virulência, como sabido pela sua presença como colonizadores naturais do trato gastrointestinal (TGI) na maioria dos seres humanos e animais e ainda pelo fato de terem sido utilizados com segurança durante décadas como probióticos em humanos e animais de criação (1).

Tanto fatores bacterianos quanto ligados ao hospedeiro podem contribuir para a conversão de um patógeno inocente em um problema clínico de grande magnitude. Para os enterococos, tais fatores parecem incluir a sua capacidade inerente de resistir a agentes antimicrobianos (por exemplo, à clindamicina, cefalosporinas e aminoglicosídeos), a sua capacidade de adquirir e disseminar determinantes de resistência a antibióticos (por exemplo, grupos de genes de resistência à vancomicina) e seus genomas maleáveis, o que pode contribuir para a sua adaptação a ambientes rigorosos (incluindo hospitais) e aumentar a capacidade de certas linhagens de colonizar o trato gastrointestinal e/ou produzirem translocação bacteriana. Além disso, o aumento do número de pacientes que estão internados em unidades de cuidados intensivos, imunodeprimidos, invadidos mecanicamente (por cateteres, por exemplo) e que recebem múltiplos antimicrobianos favorece a capacidade desses organismos multirresistentes causarem doença invasiva (1,2).

As duas mais comuns espécies de enterococos isoladas na prática clínica são *Enterococcus faecium* e *Enterococcus faecalis*, sendo que a maioria dos casos surge no trato urinário ou na cavidade intra-abdominal. A endocardite infecciosa surge como uma complicação das bacteremias por enterococos. Além disso, nos pacientes em cuidados intensivos podem aparecer infecções associadas ao uso de cateteres intravenosos (4).

Após o surgimento de enterococos resistentes aos antibióticos betalactâmicos e às altas concentrações de aminoglicosídeos na década de 1980, a vancomicina representava o último antibiótico disponível para as infecções causadas por *E. faecium* (5). Apesar das diferenças na sua patogenicidade, as duas espécies, *Enterococcus faecium* e *Enterococcus faecalis*, são agrupadas juntas como enterococos resistentes à vancomicina (ERV) (6). O primeiro ERV apareceu no final dos anos 1970 (6,7) e o primeiro surto de ERV foi relatado na Europa em 1988 (9). ERV mostrando resistência à glicopeptídeos como a vancomicina e a teicoplanina é hoje encontrado em muitas partes do mundo (1,8) e mostra heterogeneidade, tanto fenotípica quanto genotípica (10). O *Enterococcus faecium* resistente à vancomicina (EFRV) revela-se o principal problema clínico, dado que as opções de tratamento são atualmente limitadas, com uma conseqüente alta morbimortalidade, custos e prolongamento da internação hospitalar, particularmente em pacientes com neoplasias hematológicas (12-16).

Apesar de relatos de surtos hospitalares, da identificação clonal desses surtos e da descrição do perfil de susceptibilidade encontrado em alguns hospitais, não temos, no presente momento, dados epidemiológicos, microbiológicos e desfecho clínico, em especial mortalidade, de casos de bacteremia por *Enterococcus faecium* resistentes à vancomicina no Brasil.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 EPIDEMIOLOGIA

Os enterococos são hoje reconhecidos como importantes patógenos hospitalares no mundo todo e nos relatos americanos aparecem como a segunda causa mais comum de infecções hospitalares após os estafilococos (17). Historicamente, as duas espécies de enterococos mais isoladas das amostras clínicas são o *Enterococcus faecium* e o *Enterococcus faecalis*; entretanto, as proporções dos isolados dessas duas espécies têm drasticamente mudado na última década (18).

Segundo Murray (1990), as infecções enterocócicas associadas a cuidados em saúde nos Estados Unidos surgiram em duas ondas distintas (6). A primeira onda começou no final de 1970 e foi associada com a introdução das cefalosporinas de terceira geração. Durante esta época, os *Enterococcus faecalis* foram responsáveis por 90-95% dos isolados de enterococos de amostras clínicas. Segundo os autores, vivemos agora no meio da segunda onda, causada por *Enterococcus faecium*, que é frequentemente mais resistente à vancomicina e ampicilina do que *E.faecalis*. Esta onda vem aumentando desde o início de 1990 nos hospitais americanos, mas também já está presente em outras partes do mundo e está associada com o aumento do uso de vancomicina e de antibióticos de amplo espectro (17 20,139).

Um recente estudo coletando um grande número de enterococos de vários países do mundo confirmou a heterogeneidade da situação. Dois terços dos *E. faecium* do estudo foram isolados de sangue e 8% a partir da urina. Nos EUA, a prevalência de resistência à vancomicina é tão elevada em *E. faecium* que tende a se tornar parte do patrimônio genético desta espécie, enquanto na Ásia, os números não são tão altos, provavelmente refletindo o recente surgimento de resistência nesse continente. A Tabela 1 mostra que a prevalência de resistência à glicopeptídeos em *E. faecium* é mais elevada do que em *E. faecalis*, com a ocorrência de resistência em ambas as espécies sendo explicada por transferência interespecífica de determinantes de resistência móveis (138).

Espécies	Percentagem de resistência à vancomicina, de acordo com a região (nº de isolados)				
	Asia/ Pacífico	Europa	América Latina	América do Norte	GLOBAL
<i>E. faecium</i>	14,1 (270)	31,5 (489)	48,1 (54)	76 (597)	47,6 (1410)
<i>E. faecalis</i>	0,01 (440)	1,5 (919)	3 (195)	5,6 (945)	3 (2499)
Todas	11,9 (710)	11,9 (1408)	12,9 (249)	32,8 (1524)	19,1 (3909)

Tabela1: A frequência de resistência à vancomicina em enterococos isolados em vários continentes. Fonte: Adaptado de CATTOIR; LECLERCQ (2013).

Esta mudança nas espécies é de grande importância clínica, dado que o *E. faecium*, entre as duas espécies, é a mais difícil de tratar. Por exemplo, nos Estados Unidos, a percentagem de isolados de *E. faecium* que eram resistentes à vancomicina aumentou de 0% antes de meados da década de 1980 para mais de 80% em 2007, e virtualmente todos os outros (>90%) apresentam resistência a ampicilina (17,33). Por outro lado, apenas 5% dos isolados de *E. faecalis* são resistentes à vancomicina, e a resistência à ampicilina continua sendo extremamente rara (17).

Esta mudança na epidemiologia das infecções por enterococos foi atribuída à capacidade de um genogrupo de *E. faecium* designado complexo clonal CC17 de colonizar o trato gastrointestinal de seres humanos, causando doença e apresentando níveis elevados de resistência à maioria dos antibióticos com ação frente aos enterococos (18,19,20,21).

Na América do Sul, em países como o Brasil e a Argentina, infecções por ERV têm sido descritas desde 1998 (22,23). Em um estudo de vigilância, prospectivo e multicêntrico, realizado em 2003, a prevalência de ERV entre os enterococos isolados na Colômbia, apresentou taxa mais baixa (9,7%) do que nos Estados Unidos (24) e percentagens semelhantes de ERV foram encontradas recentemente (25).

No Brasil, o primeiro relato de uma infecção por ERV ocorreu em 1996, na cidade de Curitiba (22). Desde 1997 a ocorrência de surtos de ERV tem sido documentada em hospitais de outras cidades brasileiras (26, 27, 28, 29,30).

No último relato do Programa de Vigilância Antimicrobiana SENTRY, rede desenhada para monitorar a resistência antimicrobiana de diferentes tipos de infecção nos hospitais que dela participam, avaliando a susceptibilidade dos cocos Gram-positivos mais isolados no Brasil, no período de 2005-2008, mostrou que apesar da resistência à vancomicina definitivamente aumentar nos hospitais

brasileiros, os resultados demonstraram que esse aumento é específico de alguns centros e relacionado à disseminação clonal de clones resistentes (26,31).

Nesse estudo, um total de 3907 isolados de bactérias Gram-positivas foi coletado entre janeiro de 2005 e setembro de 2008, sendo aproximadamente 60% dos isolados avaliados de infecção de corrente sanguínea. Enterococo foi o 8º patógeno mais comum em corrente sanguínea, tendo sido isolado em 5% dos casos (31). Nessa coorte, 83% dos enterococos eram *E. faecalis* e 7,7% mostraram resistência à vancomicina. Por outro lado, entre as cepas de *E. faecium* 65,7% eram resistentes à vancomicina (31).

Enterococos multirresistentes sempre pareceram um problema menor no resto do mundo se comparado aos Estados Unidos. De fato, o número de infecções por ERV nos hospitais americanos aumentou de 9.820 em 2000 para 21.352 em 2006 (32).

Os relatos iniciais de ERV na Europa, por exemplo, no final de 1980, eram de organismos descritos na sua maioria como colonizadores do trato gastrointestinal de animais e seres humanos na comunidade (1).

Nesse continente, uma forte correlação entre o uso de avoparcina, um antibiótico glicopeptídeo que foi usado na alimentação animal, e o surgimento de ERV, levou à proibição deste composto na criação de animais em 1996 (8).

No entanto, apesar de uma diminuição na prevalência de ERV nos animais ter sido inicialmente observada após a proibição da avoparcina, relatórios de vigilância posteriores revelaram um aumento das infecções hospitalares por enterococos resistentes à ampicilina e/ou resistentes à vancomicina (ERV) ao longo da última década. Por exemplo, na Holanda, o número médio de infecções invasivas por enterococos resistentes à ampicilina aumentou de aproximadamente 10 infecções em 1999 para 50 em 2005 (34). Em 2007 a resistência à vancomicina entre isolados clínicos de enterococos na Europa variou de mais de 30% em países como a Grécia e Irlanda a menos de 1% nos países escandinavos, embora um relatório recente da Suécia documentasse um aumento de aproximadamente quatro vezes em infecções por ERV no período 2007-2009 em comparação com 2000-2006 (35).

Na América Latina, um estudo prospectivo multicêntrico em quatro países constatou que a maioria (78%) das infecções enterocócicas ainda é causada por *E. faecalis* suscetíveis à ampicilina e vancomicina, embora o restante, aproximadamente 22%, são causadas por linhagens genéticas de *E. faecium*

resistentes à múltiplas drogas, semelhantes àsquelas observadas nos Estados Unidos (18).

Na Ásia, o número de infecções de corrente sanguínea por *E. faecium* resistentes à vancomicina (EFRV) ainda é baixo, embora os surtos tenham sido crescentemente documentados (36, 37, 38).

Relatos de bacteremia, em surtos sustentados nos hospitais, principalmente *E. faecium*, também são descritos no Canadá e Austrália, todos associados ao complexo clonal CC17 (39,40).

2.2 ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS E MOLECULARES

Os enterococos são cocos Gram-positivos ovais, facultativamente anaeróbios que formam cadeias de vários comprimentos; são resistentes e versáteis, com uma capacidade especial para sobreviver em condições adversas (incluindo concentrações elevadas de sal) e numa vasta gama de temperaturas (entre 10°C à mais de 45°C) (1).

Enterococos foram originalmente classificados como cocos Gram-positivos entéricos e posteriormente incluídos no gênero *Streptococcus*. Na década de 1930, com o estabelecimento do sistema de tipagem sorológica Lancefield, os enterococos foram classificados nos estreptococos do grupo D e foram diferenciados dos estreptococos do grupo D não-enterococos, como *Streptococcus bovis*, por características bioquímicas distintas.

Na década de 1980 com base nas diferenças genéticas, os enterococos foram removidos do gênero *Streptococcus* e colocado em seu próprio gênero, *Enterococcus*. As designações das espécies utilizadas anteriormente como *faecalis*, *faecium*, *durans* e assim por diante, foram mantidas, mas foram precedidas pelo nome do gênero *Enterococcus* em lugar de *Streptococcus* (1).

2.2.1 Detecção

O sucesso de uma vigilância ativa depende da capacidade de detectar adequadamente o ERV. Métodos de cultura tradicionais usam meios de cultura seletivos contendo vários níveis de vancomicina (6-64 µg/ml) para avaliar a presença de ERV nas fezes ou *swab* perianal (104).

Além de ser demorada, esta abordagem tem algumas limitações. Outros organismos não patogênicos resistentes à vancomicina podem crescer utilizando estes meios, levando a resultados falsos-positivos. Além disso, as culturas podem perder ERV viável, mas não cultivável, levando a resultados falso-negativos (105). Ainda, algumas espécies de *Enterococcus vanB* podem não crescerem a 6 µg/ml de vancomicina (106). Finalmente, a cultura não pode diferenciar ERV por genótipo.

Como resultado, a reação em cadeia da polimerase (PCR) tem tido um papel mais proeminente na detecção de colonização por ERV (105). Entretanto, apesar de produzir resultados mais rápidos, os métodos de PCR iniciais para os genes *van* mostraram apenas resultados ligeiramente melhores do que os métodos de cultura tradicional (107), possivelmente devido ao efeito inibitório das fezes em PCR.

Em um estudo publicado por Sloan et al. (2004) mostrou-se que 25 dos 421 amostras de *swab* perianal consecutivas foram PCR positivos para ERV, em comparação com 11 de 421 usando uma abordagem baseada na cultura tradicional (108).

Este aumento da sensibilidade sempre levanta a questão de saber se PCR pode ser "muito sensível", detectando ERV inviáveis, quantidades de ERV não relevantes para a prática clínica, ou mesmo detectar genes *van* em espécies não-enterocócicas não patogênicas. Por exemplo, Ballard et al. (2005) relataram a presença de bactérias anaeróbicas *vanB* positivo durante a triagem para ERV em amostras fecais humanas (109).

Além disso, como todas as modalidades de diagnóstico, a tecnologia de PCR tem limitações. A sensibilidade e especificidade para *vanB* pode variar dependendo dos *primers* de PCR e o protocolo utilizados (110).

Dependendo do desenho do ensaio, PCR pode ter a vantagem adicional de permitir a detecção de resistência à glicopeptídio em outras espécies além de enterococos. Isso é oportuno com a emergência de SARM (105). Depardieu et al.

(2004) mostraram recentemente que PCR multiplex pode detectar com precisão vanA, vanB, vanC, vanD, vanE, vanG, bem como *nuc*, a qual codifica para uma nuclease termoestável específica para *S. aureus* (111).

2.2.2 Epidemiologia molecular

Os primeiros estudos sobre a epidemiologia molecular de *E. faecalis* (76) e *E. faecium* (77) usando Eletroforese em Gel de Campo Pulsante (PFGE) mostraram a propagação de clones individuais para diferentes estados americanos .

A técnica de Tipagem por Sequenciamento de Multilocus (MLST) que é capaz de avaliar a evolução das linhagens através da detecção de mutações em fragmentos de sete genes *housekeeping*, e é a técnica preferida para análises de relações ancestrais, ajudou a estabelecer que isolados de enterococos recuperados de pacientes hospitalizados frequentemente agrupam-se em grupos específicos (designados complexos clonais) os quais são diferentes daqueles isolados comensais ou recuperado de animais (1).

De fato, a maioria dos isolados derivada de hospitais de *E. faecalis* agrupam-se em dois complexos clonais, CC2 e CC9 (78), e a frequência aumentada de isolamento de *E. faecium* em todo o mundo é devido à presença de uma subpopulação policlonal anticorpo policlonal (particularmente sequência MLST tipo 17 (ST17) , ST18 , ST78 e ST192, as quais foram previamente designadas complexo clonal CC17) (20,21); comparações recentes de sequências de genoma disponíveis dão suporte ao conceito de um subtipo (do inglês, “*clade*”) associado ao hospital que é geneticamente distinto da maioria dos isolados comensais de animais e humanos (20,79).

Numa recente comparação de 100 *core genes* do genoma disponível de *E. faecium*, verificou-se que a maior parte destes genes dividem-se em dois grupos que diferem em 3 à 4%, confirmando que existem na verdade dois subtipos ancestrais de *E. faecium*. O grupo “associado a hospital” contém a maioria dos isolados clínicos de *E. faecium* que tem sido sequenciado, embora também contenha isolados de origem comunitária; o grupo “associado à comunidade” é composto quase inteiramente de isolados da comunidade (tanto seres humanos quanto animais). (79).

Além das diferenças genéticas entre os dois subtipos, a análise molecular estimou que estes grupos divergiram entre si há, pelo menos, 300 mil anos atrás (79).

Um dos principais desafios na análise dos enterococos é a enorme plasticidade de seus genomas. Tanto em *E. faecalis* quanto em *E. faecium*, elementos adquiridos podem ser responsáveis por até 25% do genoma (80,81,82,83). Além disso, em uma série de experimentos, tem sido demonstrado que a conjugação (“acasalamento bacteriano”) entre enterococos podem produzir cepas transconjugante com genomas híbridos.

Essa transferência depende da presença dos plasmídeos responsivos a feromônios que pode inserir-se no cromossomo, presumivelmente por recombinação entre sequências homólogas no plasmídeo e cromossomo (80,84).

A evidência de recombinação na natureza foi obtida por uma análise recente que observou que em algumas das cepas analisadas, todos os *core genes* são de um subtipo, mas na maioria das cepas, entre um e oito genes foram substituídos com o gene correspondente de outro subtipo (79). Em uma cepa, que foi considerada nesta análise para ser uma verdadeira cepa híbrida, 26 dos 92 genes analisados pertencem ao grupo “associado à comunidade”, ao passo que o resto pertence ao grupo “associado a hospital” (79).

Outro componente importante na evolução de cepas multirresistentes dos enterococos associados a hospital pode ser a falta dos chamados elementos CRISPR (do inglês, *clustered regularly interspaced short palindromic repeats*) os quais fornecem às bactérias um sistema de defesa contra o ácido desoxirribonucleico (ADN) de entrada. Com efeito, a presença de determinantes de resistência a antibióticos é inversamente correlacionada com a presença de CRISPRs no *E. faecalis*, e na maioria dos isolados de complexos clonais associados a hospital nota-se a ausência de CRISPRs (85).

2.2.3 Mecanismos de resistência

Os enterococos são intrinsecamente resistentes a vários antibióticos e também facilmente acumulam mutações e genes exógenos que o conferem resistência

adicional. A aquisição de genes de resistência frequentemente ocorre por conjugação, usando plasmídeos responsivos à feromônios (que codificam as proteínas de agregação da superfície celular) e com sua alta-frequência transferem, entre isolados de *E. faecalis*, plasmídeos conjuntivos com uma ampla gama de hospedeiros ou transposons conjugativos com o potencial para transportar múltiplos genes de resistência a antibióticos (1,86). Figura 2.

Os desafios no tratamento das infecções por enterococos vêm sendo percebido desde os primeiros dias de uso da penicilina, na década de 1940, quando a monoterapia com penicilina foi notada ser bem sucedida para endocardite infecciosa causada pelos estreptococos e estafilococos, mas não para os enterococos (87).

Ao contrário do seu efeito contra a maioria dos estreptococos, antibióticos β -lactâmicos tais como penicilinas não são bactericidas contra muitas cepas de enterococos; além disso, a tolerância às penicilinas pode ser rapidamente estimulada em algumas cepas de exposição intermitente aos antibióticos (1).

A combinação de uma penicilina e estreptomina foi empiricamente percebida ser curativa em pacientes com endocardite por enterococos e foi demonstrado produzir um efeito bactericida sinérgico *in vitro* em um estudo pivotal (88); esta combinação antibiótica tornou-se o tratamento padrão para endocardite por enterococos desde a década de 1950. Muitos dos atuais isolados hospitalares de *E. faecium* são resistentes à ampicilina e a vancomicina, e também tem resistência de alto nível à aminoglicosídeos (o que elimina a efetividade de combinações sinérgicas de antibióticos) (1).

2.2.3.1 Resistência à β -lactâmicos

Penicilina (ou ampicilina) sozinha ou com um aminoglicosídeo foi a pedra fundamental para o tratamento de infecções por enterococos por mais de meio século. Resistência à ampicilina, que é raro em *E. faecalis*, ocorre em aproximadamente 90% dos isolados de *E. faecium* associados à hospital nos dias atuais. *S. aureus* comumente usa β -lactamase para superar a penicilina, mas este mecanismo é raramente visto em enterococos, apesar de ter havido cepas de surto

de *E. faecalis* nos anos 90 que produzido uma β -lactamase idêntica à enzima de estafilococos (89).

A presença de β - lactamase não é um desafio terapêutico, uma vez que é inibida por combinações de inibidores de β -lactamase (tais como a ampicilina-sulbactam, por ex.), mas pode representar um desafio diagnóstico quando cepas testam positivas para a resistência apenas em níveis mais altos de inóculos.

O mecanismo responsável pela resistência à ampicilina em *E. faecium* é a produção de PBP5, a qual tem uma baixa afinidade pelas penicilinas. O gene que codifica a PBP5 nas cepas resistentes à ampicilina, *pbp5R*, é encontrado nos isolados de *E. faecium* nos subtipos associados à hospital e difere em aproximadamente 5% de *pbp5S*, o gene das cepas suscetíveis à ampicilina no subtipo associado à comunidade (91).

Em laboratório, o *pbp5R* pode transferir entre células bacterianas, por vezes juntamente com um transposon (Tn5382) que carrega genes de resistência à vancomicina (92); para isolados de *E. faecium* que são mais suscetíveis à ampicilina, provavelmente através de um mecanismo similar àquele utilizado para a transferência de grandes fragmentos cromossômicos entre cepas de *E. faecalis* (93).

Resistência de alto nível à ampicilina surgiu em hospitais nos Estados Unidos na década de 70 para 80, e foi neste contexto de *E. faecium* resistente à ampicilina que a resistência à vancomicina surgiu pela primeira vez nos Estados Unidos (1).

Embora na Europa a resistência à vancomicina fosse inicialmente predominante em cepas suscetíveis à ampicilina que estão agora reconhecidas como pertencente ao subtipo de *E. faecium* associado à comunidade, um padrão similar de emergência de resistência - primeiro à ampicilina e depois à vancomicina - tem posteriormente sido observada em *E. faecium* associado hospitalar de Europa (8).

2.2.3.2 Resistência à aminoglicosídeo

Embora enterococos exibam resistência intrínseca de níveis baixos à moderados à aminoglicosídeo, a absorção destas moléculas altamente polares,

pode ser aumentada pela adição de agentes ativos em parede celular, incluindo as penicilinas e a vancomicina (88).

No entanto, a ocorrência de resistência de alto nível adquirida a todos os aminoglicosídeos disponíveis elimina o potencial para tratamentos sinérgicos. Resistência de alto nível à estreptomicina resulta de mutações ribossomais, na qual geralmente muda a proteína ribossomal S12, ou a aquisição de uma nucleotidiltransferase aminoglicosídeo (94).

Resistência de alto nível à gentamicina é geralmente o resultado de um transposon que codifica a enzima modificadora de aminoglicosídeo bifuncional AAC(6'), a qual confere resistência a todos aminoglicosídeos comercialmente disponíveis, com exceção da estreptomicina. Enzimas modificadoras de aminoglicosídeo catalisam a modificação covalente de grupos amino e hidroxil dentro da molécula de aminoglicosídeo, diminuindo significativamente a afinidade de ligação entre o antibiótico e o ribossomo bacteriano (94).

E. faecium é intrinsecamente resistente aos tratamentos sinérgicos utilizando, por exemplo, a tobramicina, devido a AAC ubíqua (6') (que confere resistência à tobramicina), e uma enzima metiltransferase ARN ribossomal 16S, EfmM, que tem recentemente sido associada a resistência intrínseca à aminoglicosídeo nesta espécie (95).

2.2.3.3 Resistência à glicopeptídeo

No passado, a vancomicina era a alternativa usual à ampicilina para infecções causadas por enterococos resistentes à ampicilina ou em doentes com alergia grave à β -lactâmicos. A emergência de resistência de alto nível aos glicopeptídeos nos enterococos em 1986 (9,96) foi surpreendente, dado que a vancomicina foi utilizada durante décadas sem emergência de resistência.

No entanto, atualmente está claro que a resistência à vancomicina é comum na natureza (97). De fato, a verdadeira origem dos genes responsáveis pelo alto nível de resistência à vancomicina nos enterococos tem sido associada à *Paenibacillus* spp. do solo (1).

ERVs tem sido classificado de acordo com o perfil fenotípico e genotípico. Os primeiros isolados de ERG descritos foram de pacientes internados em hospital na Inglaterra em 1986 (9) e eram altamente resistentes à vancomicina (CIM \geq 256 mg/L) e com resistência cruzada à teicoplanina (CIM \geq 128 mg /L) .

Estes isolados exibiram o que hoje é conhecido como fenótipo de resistência *vanA* que é codificado pelo gene *vanA* e, enquanto a maioria dos enterococos *vanA* continuam a exibir alto nível de resistência à vancomicina, os níveis de resistência exibida à teicoplanina são mais variados, com muitos isolados que mostram níveis mais baixos de resistência (CIM 8-32 mg/L) (112) .

A maioria dos enterococos *vanA* são isolados de *Enterococcus faecium*, mas este fenótipo ocorre também em *E. faecalis* e ocasionalmente em *E. avium*, *E. casselzjlavus* , *E. durans* , *E. gallinarum* e *E. raffinosus* (112).

Esta forma de resistência é transferível, em associação com plasmídeos e transposons, de modo que o seu reconhecimento em outras espécies para além dos referidos não seria surpreendente. De fato, a transferência de resistência *vanA* à bactérias não-enterocócicas, incluindo *S. aureus* , tem sido demonstrada in vitro (113), e resistência *vanA* também tem sido documentada em ocasional isolados clínicos ocasionais de outros géneros (112).

Uma segunda classe de resistência foi relatada em 1987 e novamente em 1989 (114). Ela foi associada com níveis moderados de resistência à vancomicina (CIMs de 16-64 mg /L), mas sensibilidade a teicoplanina (CIM $<$ 4 mg/L). Este fenótipo *vanB* é encontrado predominantemente em *E. faecalis* e *E. faecium* , mas também tem sido observada em raros isolados de outra espécies de enterococos (112).

Reconhece-se que as CIMs de vancomicina para enterococos expressando resistência *vanB* varia entre os isolados (faixa usual 8-1024 mg/L), mas a sensibilidade à teicoplanina permanece típica para quase todos os enterococos com este fenótipo (115). Tal como acontece com a resistência de *vanA* , o fenótipo *vanB* é um traço transferível (tabela 2).

Enquanto as resistências *vanA* e *vanB* são ambas traços adquiridos, o terceiro fenótipo de resistência à glicopeptídeos, *vanC* , é uma propriedade intrínseca de *E. gallinarum* e *E. casselzjlavus*. Os isolados destas duas espécies geralmente exibem resistência de baixo nível para vancomicina (CIM de 8-32 mg/L), mas são sensíveis à teicoplanina in vitro (CIM \leq 4 mg/L) (112).

Mais tarde, um quarto fenótipo, *vanD*, foi descrito em uma única cepa de *E. faecium* (116). Ele é distinguível do fenótipo *vanB* mais rapidamente por determinação do genótipo, embora estudos das características de crescimento do isolado na presença e ausência de glicopeptídeos para determinar a forma de expressão da resistência pode também ser apropriado (112).

	Resistência adquirida								Resistência intrínseca
	alto nível		variável	moderada	baixo nível				baixo nível
	VanA	VanM	VanB	VanD	VanE	VanG	VanL	VanN	VanC1/C2/C3
Suscetibilidade									
Vancomicina	R	R	r-R	R	r	r	r	r	r
Teicoplanina	R	R	S	r-R	S	S	S	S	S
Transferabilidade	+	+	+	-	-	+	-	+	-
Principais espécies de enterococos	A/B ^α	A	A/B	A/B	B	B	B	A	G/D
Expressão	I	?	I	C	I/C	I	I	C	C/I
Localização genética	Plasmidial (Chr)	Plasmidial (Chr)	Chr (plasmidial)	Chr (plasmidial)	Chr	Chr	?	Chr	Chr
Terminações precursoras	D-Ala-D-Lac	D-Ala-D-Lac	D-Ala-D-Lac	D-Ala-D-Lac	D-Ala-D-Ser	D-Ala-D-Ser	D-Ala-D-Ser	D-Ala-D-Ser	D-Ala-D-Ser

R, alto nível de resistência (MIC>16mg/L); r, baixo nível de resistência (MIC=8-16 mg/L); S, suscetível; A, *E.faecium*; B, *E.faecalis*; G, *E.gallinarum*; D, *E.casseliflavus*; I, induzível; C, constitutível; Chr, cromossômica.
^α Outras espécies.

Tabela 2: classes fenotípicas de resistência à glicopeptídeos em enterococos.
 Fonte: Adaptado de CATTOIR; LECLERCQ (2013).

O fenótipo *vanA* e *vanB* são considerados os fenótipos mais relevantes clinicamente. Outros tipos adicionais de resistência aos glicopeptídeos, codificados pelos genes *vanD*, *vanE* e *vanG* ocorrem com menor frequência e conferem, de moderada a baixa, resistência à vancomicina (117).

O fenótipo *vanA* pode ser caracterizado pela presença do transposon Tn1546 intacto ou elementos *vanA*, denominação recebida quando ocorrem alterações no Tn1546 (99). Este transposon possui 9 sequências abertas de leitura (ORFs, do inglês, *open readings frames*), genes para transposase e resolvase e 7 ORFs relacionadas com a resistência (*vanR*, *vanS*, *vanH*, *vanA*, *vanX*, *vanY* e *vanZ*) (99). Mais recentemente, foram descobertos mais dois tipos de resistência aos glicopeptídeos, codificados pelos genes *vanL* e *vanM*.

O mecanismo de resistência à vancomicina tem sido extensivamente revisado (98). Ele envolve dois caminhos: a substituição do terminal D-Ala de precursores de peptidoglicano com D-lactato (D-Lac), o qual produz resistência de alto nível, ou com D-Ser, o qual produz a resistência de baixo nível; e a destruição de precursores que terminam em D-Ala- D-Ala por D específico, D-dipeptidases e carboxipeptidases.

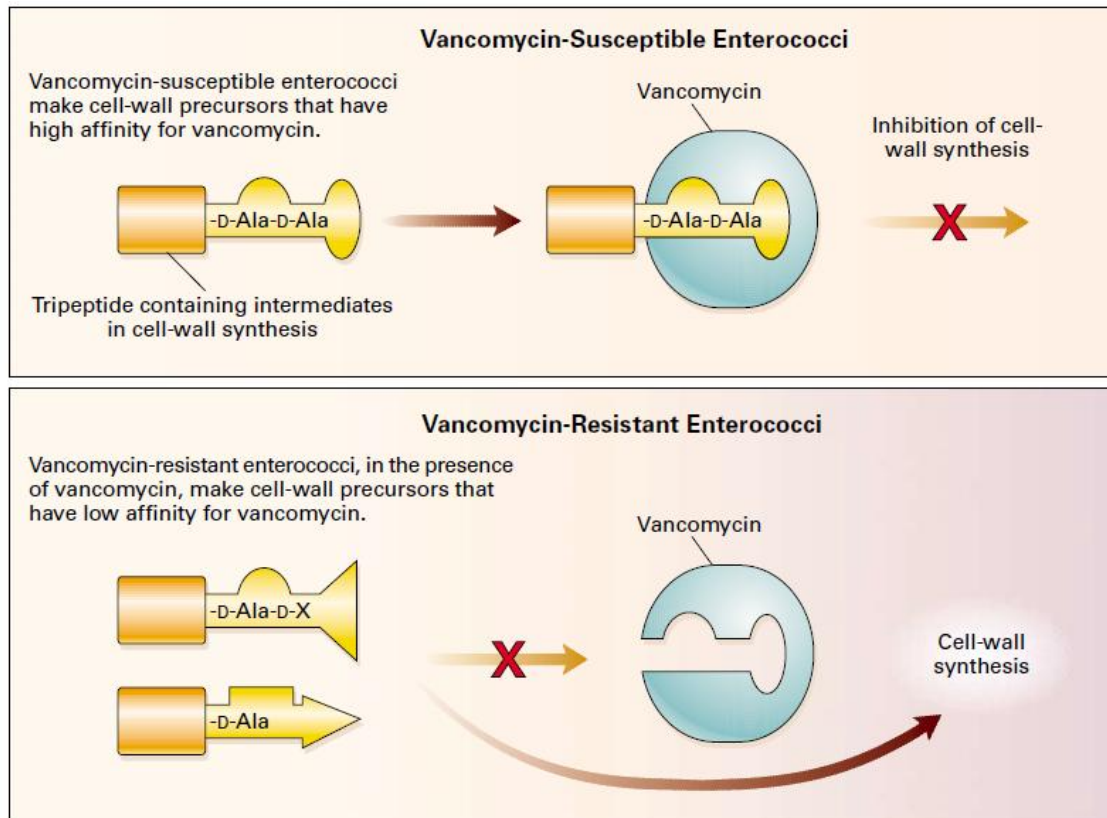


Figura 1: Diagrama esquemático do mecanismo de resistência à vancomicina.
Fonte: MURRAY, (2000).

A substituição D-Lac elimina uma das cinco ligações de hidrogênio que seriam estabelecidas entre a vancomicina e as terminações D-Ala – D-Ala, resultando numa diminuição de quase mil (1000) vezes na afinidade (99).

2.2.3.4 Resistência à quinupristina – dalfopristina

Quinupristina - dalfopristina foi a primeira droga aprovada pelo *Food and Drug Administration* (FDA), órgão responsável pelo controle de medicamentos nos EUA, para o tratamento de infecções por ERV. Este antibiótico é uma mistura de duas estreptograminas semissintéticas. Como os macrolídeos e lincosamidas, quinupristina-dalfopristina inibe a síntese de proteínas por interação com a subunidade ribossomal 50S e produz um efeito sinérgico através da interação direta dos dois compostos com um único nucleotídeo (A2062) no centro da

peptidiltransferase, levando a uma significativa mudança conformacional que resulta em atividade bactericida (100).

Vários mecanismos de resistência reduzem a atividade da quinupristina - dalfopristina contra *E. faecium*, incluindo a modificação de droga, inativação e efluxo através da virginiamicina acetiltransferase (Vat) (virginiamicina é outra mistura de estreptogramina que é semelhante a quinupristina - dalfopristina), virginiamicina B lyase (Vgb) e a proteína de resistência à estreptogramina-macrolídeo (MsrC- uma proteína-cassete ligada à ATP), respectivamente (1).

2.2.3.5 Resistência à linezolida

Linezolida é o segundo dos dois compostos que são aprovados pelo FDA para o tratamento de ERV e é usado em todo o mundo. Esta oxazolidinona é bacteriostática e inibe a síntese proteica por interferir com o posicionamento do aminoacil ARNt no sítio do ribossomo bacteriano (101).

Resistência à linezolida é ainda rara, mas tem sido documentada em surtos de enterococos e mesmo esporadicamente em pacientes que nunca receberam o antibiótico.

O mecanismo mais comum de resistência encontrada em enterococos envolve mutações na posição G2576T em genes que codificam os domínios V do 23S rRNA (a posição 2576 refere-se à posição de nucleotídeo originalmente designado para genes de rRNA em *Escherichia coli*). Essa mutação interfere com o posicionamento de nucleotídeos cruciais no sítio de ligação da linezolida. Como *E. faecium* tem seis cópias dos genes de rRNA, os níveis de resistência correlacionam-se com o número de alelos mutados (1).

2.2.3.6 Resistência à daptomicina

A daptomicina é um antibiótico lipopeptídeo com potente atividade bactericida *in vitro* contra enterococos (incluindo cepas de *E. faecium* resistente à ampicilina e à

vancomicina) e é normalmente utilizado nos Estados Unidos e em outros países para o tratamento de infecções por ERV.

Recentemente, o sequenciamento de todo o genoma de um isolado clínico de *E. faecalis* resistente à daptomicina e um sensível à daptomicina recuperado de um paciente antes e após a terapia com daptomicina, revelou que mutações simultâneas em dois genes são suficientes para causar resistência (102).

Um gene, mutação que parece ser essencial para a resistência ocorrer, codifica uma proteína de membrana, LiaF, que é prevista para ser um membro de um sistema de regulação de três componentes (LiaFSR) envolvido na resposta aos antibióticos com sensor de estresse de parede celular. O segundo gene codifica uma proteína da família da fosfodiesterase glicerofosforil diéster e provavelmente tem um papel no metabolismo da membrana de fosfolipídios (102).

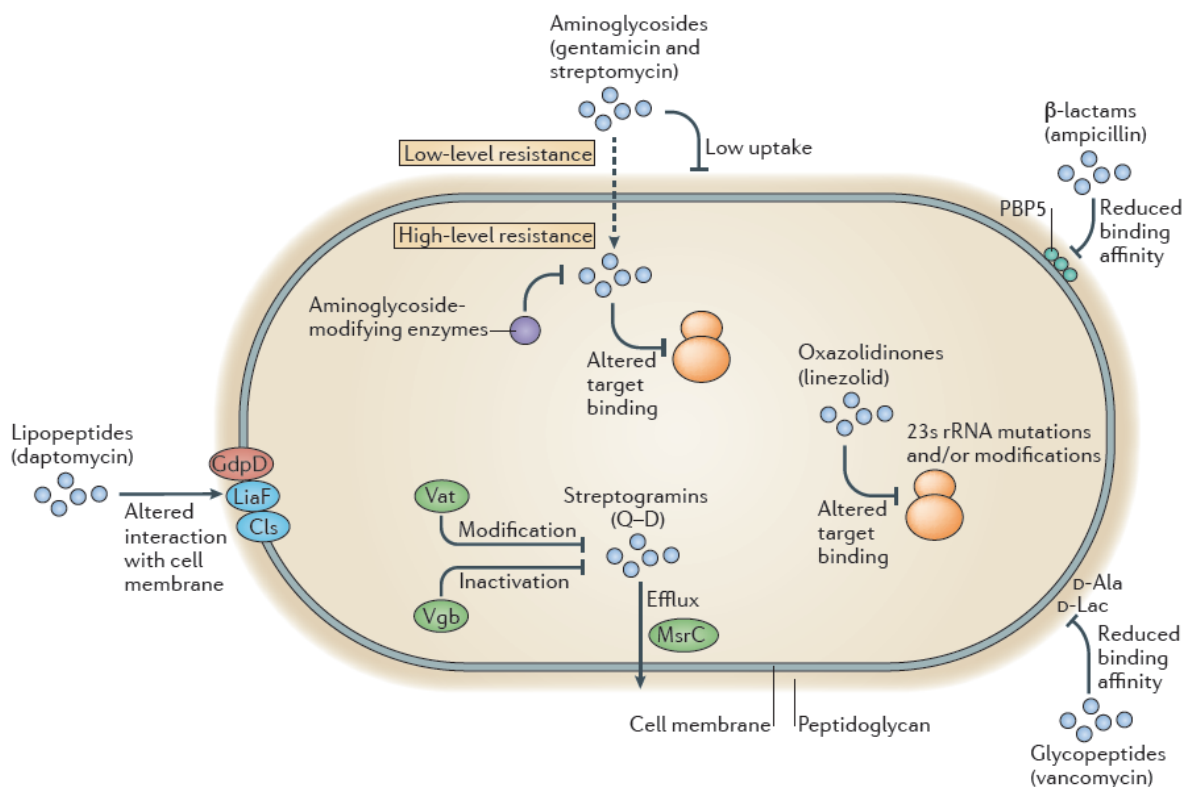


Figura 2 : Principais mecanismos de resistência antibiótica dos enterococos.
Fonte: ARIAS, MURRAY (2012).

Análise comparativa de isolados sensíveis e resistentes revelou que o mutante resistente tem alterações na ultraestrutura da membrana e da parede celular, e que a daptomicina é menos capaz de despolarizar a membrana celular dos isolados resistentes do que aquelas de isolados sensíveis (102, 103).

2.3 COLONIZAÇÃO

2.3.1 Colonização do trato gastrointestinal

Os *Enterococos* são habitantes comuns do trato gastrointestinal de seres humanos e outros animais, bem como que de insetos e nematóides. Apesar de essas espécies constituírem, normalmente, uma pequena proporção da microbiota intestinal (41), um primeiro passo importante no sentido de uma infecção enterocócica hospitalar parece ser a densidade aumentada de colonização do trato gastrointestinal.

A exposição de pacientes hospitalizados aos antibióticos (por exemplo, cefalosporinas e algumas penicilinas- piperacilina-tazobactam- com atividade contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, exceto o *E. faecium*) resulta em mudanças substanciais na microbiota intestinal, que facilitam a colonização do trato gastrointestinal por ERV (42,43).

Um trabalho pioneiro, utilizando modelos murinos de colonização intestinal, forneceu consideráveis conhecimentos sobre os mecanismos pelos quais o ERV evolui no intestino após a exposição aos antibióticos (44).

Estes estudos revelaram que lipopolissacarídeo e flagelina de bactérias Gram-negativas, incluindo anaeróbios, estimulam (via interações com receptores Toll-like) a produção de REGIII γ por células Paneth; REGIII γ é uma lectina tipo C, com atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas, incluindo o ERV (44,45). A depleção da microbiota Gram-negativa pelos antibióticos diminui a produção de REGIII γ e, assim, facilita o supercrescimento de ERV no TGI (44).

Esse mecanismo enfatiza o papel da microbiota intestinal em modular a colonização por organismos multirresistentes (Fig.3).

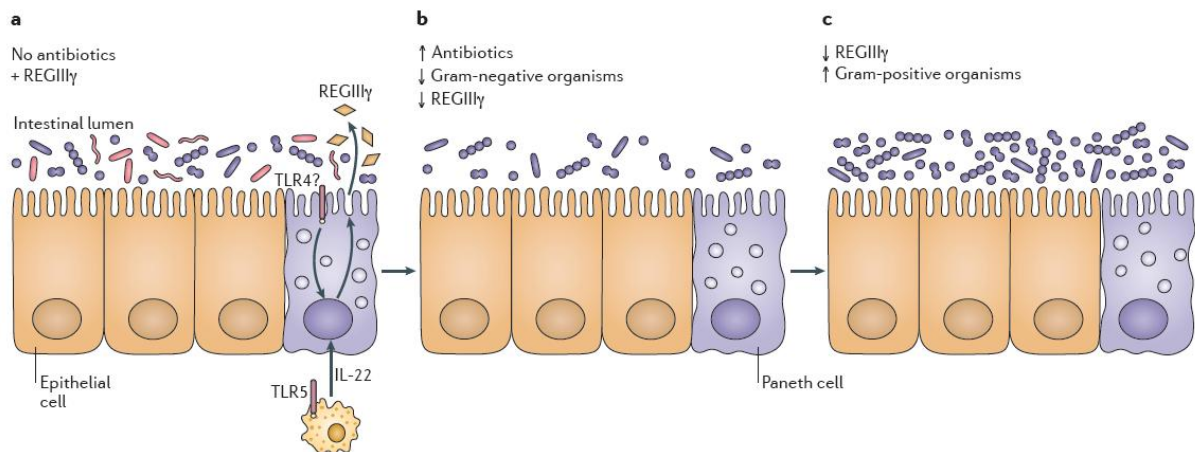


Figura 3: Os efeitos da administração de antibióticos na microbiota gastrointestinal e a emergência de enterococos resistente à vancomicina. a) na ausência de antibióticos, as células produzem a lectina tipo-C REGIII γ , que tem atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas; b) administração de antibióticos leva a redução nas bactérias Gram-negativas, as quais diminuem a produção da lectina REGIII γ ; e, c) os enterococos obtêm vantagem dessa redução na secreção de REGIII γ , tornando-se o organismo dominante da microbiota intestinal.

Fonte: ARIAS, MURRAY (2012).

De fato, o uso dos antibióticos metronidazol, neomicina e vancomicina, em ratos, permite o ERV tornar-se a espécie intestinal predominante e permanecer dominante por até dois meses após o regime de antibióticos ser suspenso (43). Estendendo este trabalho para humanos, demonstrou-se que a invasão da corrente sanguínea de pacientes hospitalizados por ERV é precedida pelo ERV tornando-se a espécie predominante no trato gastrointestinal destes pacientes (43).

Além das alterações intestinais, a resistência à vancomicina e as elevadas concentrações inibitórias mínimas (CIM) das piperacilinas e das cefalosporinas, exibidas pelo *E. faecium* resistente à ampicilina, permitem que estes organismos sobrevivam no intestino de pacientes que estão sendo tratados com estes antibióticos (1).

2.3.2 Colonização ambiental e hospitalar

Embora os *Enterococos* sejam habitantes normais do intestino humano, a colonização por ERV em pacientes hospitalizados não se restringe ao intestino. Nestes pacientes, ERV foram recuperados da região da virilha, da pele íntegra do braço, da orofaringe e de aspirados gástricos e endotraqueais (46). A colonização

nesses sítios é persistente e a contaminação do ambiente direto (como grades de cama, lençóis, etc.) ocorre com frequência.

Portanto, o ERV parece combinar características de outros patógenos hospitalares, como a colonização intestinal persistente (como as bactérias Gram-negativas entéricas), a colonização da pele (como o *Staphylococcus aureus*) e a contaminação do ambiente (como o *Clostridium difficile*). Nesse contexto, os extensos reservatórios de ERV, especialmente nas superfícies ambientais e nos diferentes locais da pele dos pacientes, podem ter contribuído para a rápida disseminação de ERV em hospitais (4).

ERV são transmitidos através do contato direto. As mãos dos trabalhadores de saúde e os equipamentos contaminados são os mais prováveis vetores para a transmissão (47). Estudos tem mostrado a colonização adquirida pelos pacientes após a contaminação de tais dispositivos (46). No entanto, nesses estudos a contaminação do meio ambiente sempre foi de baixo nível, transitória e positivamente associado com o número de sítios em que um paciente foi colonizado. Estes resultados sugeriram que as bactérias eram disseminadas dos pacientes e removidas por processos de limpeza convencionais. O ambiente, por conseguinte, foi considerado mais um destinatário do que uma fonte de colonização (46).

No entanto, em alguns cenários, a contaminação ambiental poderia ser mais importante. Num estudo, a alta densidade de colonização intestinal com ERV foi fortemente associada com a probabilidade de que o ERV pudesse ser recuperado das amostras ambientais (47).

Considerando a frequência de contatos ambientais e a taxa provavelmente menor de desinfecção das mãos após esses contatos, em comparação com os contatos diretos do paciente, a contaminação ambiental pode ter um papel importante na manutenção do ERV (4).

2.3.3 Pressão de Colonização

Como os pacientes contatantes são os reservatórios mais importantes de ERV e fontes de contaminação ambiental, o número de pacientes colonizados presentes a cada dia, denominada *pressão de colonização*, vai influenciar a

probabilidade de aquisição de ERV (48). Ao se analisar o tempo até a colonização de um paciente com ERV em uma unidade de cuidados intensivos onde a colonização era endêmica, a *pressão de colonização* foi a variável mais importante para a aquisição (48).

Outras variáveis relevantes, tais como a alimentação enteral e o uso de cefalosporinas de terceira geração, somente foram importantes enquanto a *pressão de colonização* fosse inferior a 50%. Quando a *pressão de colonização* aumentou acima dessa taxa, as outras variáveis mal influenciaram a disseminação do ERV (48).

O fenômeno da *pressão de colonização* também tem sido um achado importante para outros microorganismos multirresistentes que se disseminam via contato direto, tais como o *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina, (SARM) e algumas espécies de *Enterobacter* (49).

2.3.4 Pressão antibiótica

Pressão antibiótica seletiva é outra variável importante na epidemiologia dos patógenos resistentes aos antibióticos. A emergência de ERV nos hospitais dos Estados Unidos tem sido ligada ao uso mais alto de vancomicina nos hospitais norte-americanos em comparação com os hospitais europeus.

Uma comparação entre os EUA e cinco países europeus, com um número similar de habitantes, mostrou que a utilização anual de vancomicina foi cinco a dez vezes superiores nos EUA (50).

Embora estudos epidemiológicos iniciais identificassem o uso da vancomicina como um fator de risco para a infecção ou colonização por ERV (7,50), muitos dados sugerem que outros antibióticos também podem ter efeitos seletivos importantes.

Em uma meta-análise, Carmeli et al. (1999) descobriram que a associação relatada entre uso de vancomicina e colonização foi confundida por outras variáveis, como tempo de permanência e viés de publicação. Controlando a variável tempo de permanência, descobriram que o uso de vancomicina deixou de ser significativamente associado com o risco de ERV (51).

Por outro lado, Fridkin et al. (2001) relataram que taxas mais altas de uso de vancomicina e cefalosporinas de terceira-geração foram independentemente associadas com o aumento da prevalência de ERV em 126 unidades de cuidados intensivos dos EUA (52).

A rápida disseminação de ERV em hospitais americanos poderia ser influenciada, pelo menos em parte, por um acúmulo de resistência aos antibióticos. Durante os anos 1980, cepas *E faecium* expressando altas taxas de resistência à ampicilina (CIM>128 µg/mL) emergiram nos EUA (5). Essas cepas com alto-nível de resistência à ampicilina expressavam graus ainda maiores de resistência às cefalosporinas de espectro estendido (CIM>10.000 µg/mL).

Rice e at. (2001) formularam a hipótese de que estas cefalosporinas tinham um efeito seletivo extremo em ERV. Por exemplo, as concentrações de cefalosporinas atingidas na bile (5000 µg/mL) eliminariam a flora completa, exceto ERV. Ao contrário, as concentrações atingidas de piperacilina (1000 µg/mL) excederiam a CIM para a maioria dos ERV (256-1024 µg/mL). Portanto, a administração de piperacilina poderia ser protetora para a colonização por ERV, enquanto as cefalosporinas selecionariam para ERV (53).

Posteriormente, estes investigadores mostraram, em um modelo animal, que os antibióticos antianaeróbicos também promovem a persistência da colonização por ERV, uma vez que eles erradicam espécies que competem com os enterococos na colonização do TGI (54).

2.3.5 Fatores de risco para colonização e surtos

Análise de fatores de risco para aquisição de ERV é importante na prevenção e controle da carga de ERV em diferentes cenários clínicos e vem sendo discutido em muitos estudos (28 52,62).

Nos estudos epidemiológicos, especialmente em estudos de coorte e caso-controle, alguns fatores de risco para colonização por ERV foram identificados. O primeiro e mais importante é a administração de antibióticos, com um risco aumentado, odds ratio (OR) de 1,25 a 32 vezes (55 56,60).

Outros fatores incluem:

- hospitalização prévia (OR=3,7 a 39,8) (55-58,59);
- administração de imunossupressores (OR=2,9) (60);
- ventilação mecânica/procedimentos invasivos (OR=5,2 a 16,8) (56-60); e,
- necessidade de hemodiálise crônica (OR=3,9 a 5,8) (58-59).

Importante estudo caso-controle, desenvolvido na Austrália de uma amostra de 10 anos, com 440 episódios de bacteremia por enterococos, dos quais 80 causadas por ERV examinou os fatores de risco para o desenvolvimento de bacteremia enterocócica (69).

Bacteremia por ERV foi associada ao uso de cateter venoso central (OR 11,6), neutropenia (OR 16,9) e transplante de medula óssea alogênico (OR 18,0). Em contraste, os fatores de risco para bacteremia por ESV incluíram: idade (OR 1,0), exposição ao metronidazol (OR 8,7) e doença gastrointestinal (OR 6,4).

O uso de meropenem diminuiu o risco de bacteremia por ESV (OR 0,3) e hipoalbuminemia foi o único fator identificado em ambos os modelos (VRE: OR 6,0, VSE: OR 3,3). O autor sugere que a ausência de sobreposição de fatores de risco para ERV e ESV argumenta em favor das diferenças na patogênese (69). Os dados desse estudo sugerem que as fontes ambientais são mais importantes na bacteremia por ERV e as fontes endógenas, particularmente o TGI, desempenham um papel crucial na bacteremia por ESV (69).

Entretanto, a maioria desses estudos focalizou-se na prevalência de ERV ao invés da incidência de ERV recentemente adquirido na admissão em unidade de cuidados intensivos (UCI) (61).

Recente estudo que avaliou a incidência e os fatores de risco para infecção ou colonização por ERV em pacientes numa UCI adulto, apontou uma incidência de casos de ERV recentemente adquiridos de 21,9 por 1000 pacientes/dia. Análise de regressão logística achou o tempo de permanência na UCI como fator de risco independente para nova aquisição de ERV. Em contraste, curiosamente, os pacientes com exposição prévia à cefalosporinas de primeira geração, tinham menor probabilidade de adquirir ERV (61).

Ainda, no cenário de unidade de cuidados intensivos neonatal, estudo recente desenvolvido na Grécia por Iosifidis et al. (2013) descreveram um surto de ERV bifásico e procurando identificar fatores de risco para aquisição de ERV identificaram o uso de terapia antimicrobiana para sepse neonatal tardia e hospitalização durante

o primeiro mês do surto como fatores de risco significantes para colonização por ERV (67).

2.4 DESFECHOS CLÍNICOS E POPULAÇÕES SUSCETÍVEIS

A presença de ERV no exame microbiológico de amostra clínica indica frequentemente colonização. Raramente indica a presença de uma infecção, tal como, por exemplo, quando é detectada em hemoculturas (62).

No entanto, há determinados grupos de pacientes para os quais o risco de infecção por ERV é clinicamente relevante. Além disso, problemas clínicos com ERV nas chamadas áreas de risco dos hospitais, ou seja, aquelas que abrigam pacientes com um risco aumentado de infecção são crescentes nos hospitais atuais (63).

Infecções com ERV também podem resultar em internações mais longas e custos mais elevados em comparação com aqueles com enterococos não resistentes (14).

Pacientes de risco incluem pacientes neutropênicos (OR= 12,46, p = 0,018), em particular, os doentes das unidades de hematologia e oncologia (OR: 7,96 p= 0,011). Nestes pacientes, o risco de se tornarem infectados com ERV tem aumentado significativamente (57 64,69).

Estudo recente procurando avaliar os fatores de risco para bacteremia por ERV entre pacientes previamente colonizados submetidos a transplante de células-tronco hematopoiéticas (TCTH) identificou quatro fatores: exposição empírica inicial à vancomicina subsequente à cultura de vigilância positiva para ERV (OR=7,9), duração prolongada de neutropenia (OR=1,05), terapia imunossupressora e tempo da primeira cultura de vigilância positiva na primeira semana da admissão. Nesse estudo, os pacientes com bacteremia por ERV tiveram uma taxa de mortalidade por todas as causas em 30 dias de 29% (69).

Outro grupo de pacientes, os submetidos a transplante hepático com colonização por ERV também têm risco aumentado, tanto de infecção (OR ajustado = 3,61) quanto morte (OR ajustado: 2,12) (56 65).

Outra área de risco são as unidades de terapia intensiva neonatal. No entanto, os dados disponíveis para esse cenário são insuficientes e estudos individuais não tem

mostrado significativamente um risco aumentado de infecção (66,67), ainda que estudos demonstrem que os surtos de infecção por ERV nesse cenário estão geralmente associados com altas taxas de colonização (68).

Para os pacientes submetidos à hemodiálise crônica, é questionável se a detecção de ERV é clinicamente relevante. Apesar de esses pacientes apresentarem altas taxas de colonização e das evidências que algumas cepas sejam endêmicas nesse cenário, eles não parecem ter nem taxas de infecção nem mortalidade aumentada (58,59).

O quadro é mais heterogêneo quando a mortalidade é comparada entre bacteremia causadas por ESV e ERV. Embora alguns estudos demonstrem inequivocamente que a mortalidade por bacteremia causada por ERV está associada com um risco significativamente mais elevado de morte do que a bacteremia causada por ESV (OR ajustado=2,12) (12,72). Embora seja evidência, por exemplo, para a população neutropênica (OR: 2,52) (64), essas observações nem sempre são reproduzidas de forma consistente (63).

Dado interessante, nos pacientes submetidos à TCTH, a presença de bacteremia por ERV foi associada com sobrevida global inferior no primeiro ano pós-transplante (70), não havendo diferença de mortalidade entre ERV e ESV em curto prazo, demonstrando que as infecções por ERV podem servir como marcadoras de severidade da condição médica subjacente (70).

Os pacientes transplantados de medula óssea, são uma população em que os estudos dos últimos 15 anos, desde a emergência do ERV, tem taxas descritas de bacteremia precoce por ERV que variam de 3,6% à 22%, com mortalidade alcançando de 0,04% à 85% (71).

Em outro grande estudo de coorte retrospectiva de seis anos, com população pediátrica, Haas et al. (2010) não encontraram aumento significativo da mortalidade (OR ajustado =1,94, p = 0,17) (60).

Em recente estudo australiano (2013), internação em UCI (OR=8,57), alta taxa de co-morbidades (OR=4,55) e tempo mais longo para uso apropriado de antibióticos (OR=1,02) foram fatores significativamente associados com mortalidade por bacteremia enterocócica, mas não bacteremia por VRE (14).

Em outro recente estudo desenvolvido em Taiwan (2012) identificando os desfechos clínicos em pacientes adultos que apresentavam bacteremia por ERV demonstrou que a taxa de mortalidade em 30 dias foi de 52% (73). Nesse estudo, os

fatores associados com mortalidade foram choque (OR=24.4), insuficiência renal (OR=90.9) e cirrose hepática subjacente (OR=12.4) (73).

Em outro importante estudo, observacional, avaliando preditores de mortalidade em bacteremia por ERV, McKinnell et al. (2011) demonstraram que a hemodiálise, a ventilação mecânica e a desnutrição foram os fatores preditores encontrados (13).

Corroborando com os estudos anteriores, McBride, et al. (2010) demonstraram fatores associados à mortalidade muito semelhantes, sendo a cirrose e malignidade (doenças pré-existent) os principais fatores e enfatizando que bacteremia por *Enterococcus faecium* foi associada com mortalidade em 30 dias mais alta do que *E. faecalis*, especialmente no cenário de pacientes neutropênicos (74).

Por fim, estudo realizado na Coreia por Han, et al.(2009) avaliando o efeito do tratamento contra ERV e o atraso da terapia antimicrobiana na mortalidade, mostrou que a mortalidade nos dias 7 e 28 foram menores nos pacientes recebendo terapia antimicrobiana anti-ERV, mas a mortalidade em 60 dias foi inalterada (75). O período de 72h para iniciar o tratamento antibiótico não foi preditor de mortalidade nesse estudo, sendo o escore APACHE II (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation) elevado e a presença de choque séptico os únicos fatores de risco independentes de morte nos dias 28 e 60 (75).

Mutters, et al. (2013) sustentam que esta heterogeneidade dos estudos pode ser devido ao fato da infecção por ERV muitas vezes ter uma etiologia polimicrobiana, e que nem todos os casos de bacteremia por ERV é clinicamente manifestada. É possível que muitos casos de bacteremia por ERV sejam apenas bacteremias transitórias, clinicamente irrelevante em pacientes com múltiplas co-morbidades e que foram submetidos a muitos procedimentos invasivos, dado que os enterococos raramente causam infecção sistêmica grave em pessoas que não estão gravemente imunodeprimidas (63).

Em certos casos, no entanto, existe um risco aumentado de infecção, tais como para pacientes com válvulas cardíacas previamente danificadas (OR: 1,3 p = 0,02), transplante de fígado (OR: 7,2 p=0,01), ou ainda para os pacientes submetidos à hemodiálise (OR: 11,7 p = 0,02) (63).

2.5 OPÇÕES TERAPÊUTICAS E RESPOSTA CLÍNICA

Bacteremia causadas por ERV afetam primariamente as populações de pacientes mais vulneráveis, incluindo pacientes de trauma e pós-cirúrgico, pacientes graves de medicina interna e transplantados de órgãos, especialmente transplante de fígado (119,120). São associadas também com mortalidade significativa em coortes de receptores de TCTH, transplantados de fígado, pacientes oncológicos e outros pacientes internados (64,72).

De modo geral e relevante na literatura, terapia antibiótica efetiva e menor duração das bacteremia são associadas com menor mortalidade nos pacientes (16, 64, 121,122).

Agentes antimicrobianos mais novos com atividade contra ERV (daptomicina, linezolida, quinupristin-dalfopristin e tigeciclina) fornecem opções terapêuticas para o melhor controle das bacteremia por ERV, mas não há dados suficientes para informar os clínicos sobre qual entre estes medicamentos são mais eficazes para o tratamento (120).

Dois ensaios clínicos de fase III para bacteremia por ERV foram iniciados, mas foram posteriormente interrompidos devido a dificuldades de recrutamento (123 124).

A tigeciclina não atinge concentrações séricas altas e não é aprovada para tratamento de bacteremia. O uso de quinupristina-dalfopristina- efetivo somente contra *E. faecium*- é limitado pela necessidade de acesso venoso central para administração e frequentes eventos adversos e interação de drogas (136).

Chong et al. (2010) compararam o uso da linezolida com quinupristin-dalfopristina numa coorte coreana de 113 pacientes, não havendo diferença de mortalidade em 30 dias e na cura microbiológica. No entanto, bacteremia prolongada e o desenvolvimento de resistência foram mais comuns no grupo que recebeu quinupristina-dalfopristina (136).

Dos agentes disponíveis, a daptomicina e a linezolida foram os mais usados para o tratamento das bacteremia por ERV (16, 13, 27, 125, 126,127).

Recente revisão da literatura publicada mostra que de oito estudos avaliados, com vistas a determinar terapia antimicrobiana ótima 57% dos pacientes trataram com linezolida e 43% com daptomicina (137).

A daptomicina é um lipopeptídeo cíclico com um amplo espectro de atividade contra organismos Gram-positivos, incluindo ERV (130). Atualmente, doses maiores de daptomicina (≥ 8 mg/kg) são pensadas para melhorar os resultados clínicos das bacteremia por ERV (128,129), mas a maioria dos estudos clínicos não aplicava essa dose atual.

A linezolida é uma oxazolidinona, que inibe a síntese de proteína bacteriana inibindo a formação do complexo ribossomal, seu espectro de atividade contra organismos Gram-positivos inclui a maioria dos isolados de ERV (131).

No entanto, além de bacteriostática, a toxicidade medular e a neuropatia periférica com o uso prolongado da linezolida são consideradas importantes limitações, particularmente em pacientes submetidos a transplante de medula óssea com bacteremia por ERV (13,134).

Twilla et al. (2012) analisaram retrospectivamente pacientes adultos com bacteremia por ERV, visando avaliar a resposta clínica ao tratamento com daptomicina e linezolida. Dos 201 pacientes incluídos no estudo, a maioria dos pacientes do grupo daptomicina tinha doença hematológica ou receberam transplante hepático. Não houve diferença na cura clínica ou microbiológica entre os grupos comparados. Recorrência foi de 3% no grupo linezolida e 12% no grupo daptomicina ($p=0.032$). Não houve diferença de reinfecção e tempo de permanência. A mortalidade global foi de 20%, sem diferença entre os grupos (127).

Em outro estudo retrospectivo com 98 pacientes com bacteremia por ERV os autores compararam a eficácia de daptomicina com linezolida (134). A daptomicina mostrou uma tendência de taxa de mortalidade e de recaída maior, mas sem significância estatística, com taxas de cura microbiológica semelhantes em torno de 90%. Nesse estudo também não houve diferenças nos eventos adversos sendo que o grupo que recebeu daptomicina teve uma tendência de apresentar mais bacteremias simultâneas causadas por outros germes, principalmente estafilococos (134).

Apenas uma investigação observacional sugeriu que a linezolida foi associada com uma vantagem de sobrevivência nas bacteremia por ERV (133), uma tendência semelhante, mas não significativa também demonstrada em outro estudo (13).

No entanto, até recentemente não havia uma revisão sistemática da literatura sobre os resultados de bacteremia por ERV focalizando no tratamento antimicrobiano. Recente metanálise realizada por Balli et al. (2013), avaliando 10

estudos retrospectivos, incluindo 967 pacientes, sugere uma taxa de mortalidade em 30 dias (OR 1,61) e mortalidade relacionada à infecção (OR 3,61) mais altas com daptomicina quando comparada a linezolida. Taxa de recaída dos pacientes foi também mais alta em pacientes tratados com daptomicina (OR 2,51) apesar da não significância estatística. Os eventos adversos também não se mostrou estatisticamente diferente entre os dois grupos (135).

Em contraste, também muito recentemente, Whang e cols. (2013) conduziram uma meta-análise e revisão sistemática visando quantificar diferenças nos resultados clínicos de bacteremias por ERV tratados com daptomicina ou linezolida (120). Entre os 30 estudos selecionados, apenas nove (9) apresentavam dados comparativos entre as drogas, mas nenhum randomizado. Não houve diferenças de cura clínica e microbiológica entre os dois antibióticos.

Os resultados sugerem que embora possa haver uma tendência de diferença na mortalidade com o uso da daptomicina, a literatura em bacteremias por ERV é muito limitada, dado que não há ensaios clínicos comparativos e sim, pequenos coortes com análise retrospectiva (120). Nos estudos analisados houve diferenças de desenho de estudo e subdosagem no uso da daptomicina (128).

Além disso, algumas das diferenças de mortalidade observada entre os tratamentos podem ter sido fruto de um viés de seleção, no qual para os pacientes mais doentes foi dado daptomicina (120).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo principal

Avaliar o padrão de susceptibilidade antimicrobiana, as características clínicas e o prognóstico das bacteremias causadas por *Enterococcus faecium* resistentes à vancomicina no Hospital de Clínicas de Porto Alegre

3.2 Objetivos secundários

3.2.1 Determinar a prevalência de *Enterococcus faecium* resistentes à vancomicina (EFRV) em corrente sanguínea dos pacientes do Hospital de Clínicas de Porto Alegre;

3.2.2 Determinar a taxa de letalidade associada à bacteremia causada por EFRV;

3.2.3 Avaliar os fatores de risco e o perfil epidemiológico dos casos de bacteremia causada por EFRV;

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA REVISÃO

1. ARIAS, C.A.; MURRAY, B.E. **The rise of the *Enterococcus*: beyond vancomycin resistance.** Nature Review Microbiology, 2012; 10(4):266–78.
2. MacCALLUM W.G.; HASTINGS T.W. **A case of acute endocarditis caused by *Micrococcus zymogenes* (nov. spec.), with a description of the microorganism.** Journal of Experimental Medicine, 1899; 4:521–534.
3. MOELLERING, R.C. **Emergence of *Enterococcus* as a significant pathogen.** Clinical Infectious Disease, 1992; 14:1173–178.
4. BONTEN, M.J.M.; WILLEMS, R.; WEINSTEIN, R.A. **Vancomycin-resistant enterococci: why are they here, and where do they come from?** The Lancet Infectious Disease, 2001; 1:314-25.
5. GRAYSON, M.L., ELIOPOULOS, G.M.; WENNERSTEN, C.B. et al. **Increasing resistance to beta-lactam antibiotics among clinical isolates of *Enterococcus faecium*: a 22-year review at one institution.** Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1991; 35:2180-84.
6. MURRAY, B.E. **The life and times of the *Enterococcus*.** Clinical Microbiology Review, 1990; 3:46–65.
7. FRIEDEN, T.R.; MUNSIFF, S.S., LOW D.E.; WILLEY B.M.; WILLIAMS G., FAUR, Y.; et al. **Emergence of vancomycin-resistant enterococci in New York City.** The Lancet Infectious Disease, 1993; 342:76–9.
8. WERNER, G.; COQUE, T.M.; HAMMERUM, A.M.; HOPE, R.; HRYNIEWICZ, W.; JOHNSON, A.; et al. **Emergence and spread of vancomycin resistance among enterococci in Europe.** Euro Surveillance, 2008; 13:1–11.
9. UTTLEY, A.H.C.; COLLINS, C.H.; NAIDOO, J.; GEORGE, R.C. **Vancomycin resistant enterococci.** The Lancet Infectious Disease, 1988; 1:57-8.
10. ARTHUR, M.; COURVALIN, P. **Genetics and mechanisms of glycopeptide resistance in enterococci.** Agents and Chemotherapy, 1993; 37(8):1563-71.

11. SHAY, D.K.; MALONEY, S.A.; MONTECALVO, M.; BANERJEE, S.; WORMSER, G.P.; ARDUINO, M.J.; et al. **Epidemiology and mortality risk of vancomycin resistant enterococcal bloodstream infections.** The Journal of Infectious Disease, 1995; 172:993-1000.
12. DiazGRANADOS, C.A.; ZIMMER, S.M.; KLEIN, M.; JERNIGAN, J.A. **Comparison of mortality associated with vancomycin-resistant and vancomycin-susceptible enterococcal bloodstream infections: a meta-analysis.** Clinical Infectious Diseases, 2005; 41:327-33.
13. McKINNELL, J.A.; PATEL, M.; SHIRLEY, R.M.; KUNZ, D.F.; MOSER, S.A.; BADDLEY, J.W. **Observational study of the epidemiology and outcomes of vancomycin-resistant *Enterococcus* bacteraemia treated with newer antimicrobial agents.** Epidemiology & Infection, 2011; 139:1342-50.
14. CHEAH, A.L.Y.; SPELMAN, T.; LIEW, D.; PEEL, T.; HOWDEN, B.P.; SPELMAN, D. et al. **Enterococcal bacteraemia: factors influencing mortality, length of stay and costs of hospitalization.** Clinical and Microbiology and Infection, 2013; 19: E181-189.
15. GHANEM, G.; HACHEM, R.; JIANG, Y.; CHEMALY, R.F.; RAAD, I. **Outcomes for and risk factors associated with vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* and vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* bacteremia in cancer patients.** Infection Control and Hospital Epidemiology, 2007; 28:1054-59.
16. KRAFT, S.; MACKLER, E.; SCHLICKMAN, P.; WELCH, K.; DePESTEL, D. **Outcomes of therapy: vancomycin-resistant enterococcal bacteremia in hematology and bone marrow transplant patients.** Support Care Cancer, 2011; 19:1969-74.
17. HIDRON, A.I.; EDWARDS, J.R.; PATEL, J.; HORAN, T.C.; SIEVERT, D.M.; POLLOCK, D.A.; FRIDKIN, S.K. **NHSN annual update: antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006–2007.** Infection Control and Hospital Epidemiology, 2008; 29:996-1011.
18. PANESSO, D.; REYES, J.; RINCÓN, S.; DIAZ, L.; GALLOWAY-PEÑA, J.; ZURITA, J.; et al. **Molecular epidemiology of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*: a prospective, multicenter study in South American hospitals.** Journal of Clinical Microbiology, 2010; 48:1562-69.

19. TREITMAN, A.N.; YARNOLD, P.R.; WARREN, J.; NOSKIN, G.A. **Emerging incidence of *Enterococcus faecium* among hospital isolates (1993 to 2002)**. *Journal of Clinical Microbiology*, 2005; 43:462-63.
20. WILLEMS, R.J.; van SCHAIK, W. **Transition of *Enterococcus faecium* from commensal organism to nosocomial pathogen**. *Future Microbiology*, 2009; 4:1125–35.
21. Willems, R.J.; et al. **Global spread of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* from distinct nosocomial genetic complex**. *Emerging Infectious Disease Journal*, 2005; 11:821-28.
22. DALLA COSTA, L.M.; SOUZA, D.C.; MARTINS, L.T.; ZANELLA, R.C.; BRANDILONE, M.C.; BOKERMANN, S.; SADER, H.S.; SOUZA, H.A. **Vancomycin resistant *Enterococcus faecium*: first case in Brazil**. *The Brazilian Journal of Infectious Disease*, 1998; 2:160-3.
23. MARÍN, M.E.; MERA, J.R.; ARDUINO, R.C.; CORREA, A.P.; COQUE, T.M.; STAMBOULIAN, D.; et al. **First report of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolated in Argentina**. *Clinical Infectious Diseases*, 1998; 26:235-36.
24. ARIAS, C.A.; REYES, J.; ZÚÑIGA, M.; CORTES, L.; CRUZ, C.; RICO, L.; et al. **Multicentre surveillance of antimicrobial resistance in enterococci and staphylococci from Colombian hospitals, 2001–2002**. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2003; 51:59–68.
25. MOET, G.J.; JONES, R.N.; BIEDENBACH, D.J.; STILWELL, M.G.; FRITSCHÉ, T.R. **Contemporary causes of skin and soft tissue infections in North America, Latin America, and Europe: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1998–2004)**. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 2007; 57:7-13.
26. CORDEIRO, J.C.R.; SILBERT, S.; REIS, A.O.; SADER, H.S. **Inter-hospital dissemination of glycopeptide-resistant *Enterococcus faecalis* in Brazil**. *Clinical Infectious Diseases*, 2004; 10:260-262.
27. D'AZEVEDO, P.A.; KACMAN, S.B.; SCHMALFUSS, T.; SILVA, A.; RODRIGUES, L.F. **Primeiro caso de *Enterococcus* resistente à vancomicina isolado em Porto Alegre, RS**. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 2000; 36:258.

28. FURTADO, G.H.; MARTINS, S.T.; COUTINHO, A.P.; WEY, S.B.; MEDEIROS, E.A. **Prevalence and factors associated with rectal vancomycin-resistant enterococcus colonization in two intensive care units in São Paulo, Brazil.** Brazilian Journal of Infectious Diseases, 2005; 9: 64-69.
29. ZANELLA, R.C.; VALDERATO, F.; LOVGREN, M.; et al. **First confirmed case of a vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* with VanA phenotype from Brazil: isolation from a meningitides case in São Paulo.** Microbial Drug Resistance, 1999; 5: 159-162.
30. ZANELLA, R.C.; BRANDILEONE, M.C.; BOKERMANN, S.; et al. **Phenotypic and genotypic characterization of VanA *Enterococcus* isolated during the first nosocomial outbreak in Brazil.** Microbial Drug Resistance, 2003; 9: 283-291.
31. GALES, A.C.; SADER, H.S.; RIBEIRO, J.; ZOCCOLI, C.; BARTH, A.; PIGNATARI, A.C. **Antimicrobial Susceptibility of Gram-Positive Bacteria Isolated in Brazilian Hospital Participating in the SENTRY Program (2005-2008).** Brazilian Journal of Infectious Diseases, 2009; 13(2):90-8.
32. Ramsey, A.M.; Zilberberg, M.D. **Secular trends of hospitalization with vancomycin resistant *Enterococcus* infection in the United States, 2000–2006.** Infection Control and Hospital Epidemiology, 2009; 30:184-186.
33. ARIAS, C.A.; MURRAY, B.E. **Emergence and management of drug-resistant enterococcal infections.** Expert Review of Anti-infective Therapy, 2008; 6:637-655.
34. TOP, J.; WILLEMS, R.; van der VELDEN, S.; ASBROEK, M.; BONTEN, M. **Emergence of clonal complex 17 *Enterococcus faecium* in The Netherlands.** Journal of Clinical Microbiology, 2008; 46:214–219.
35. SODERBLOM, T.; et al. **Alarming spread of vancomycin resistant enterococci in Sweden since 2007.** Euro Surveillance, 2010; 15:19629.
36. LIU, Y.; CAO, B.; GU, L.; WANG, H. **Molecular characterization of vancomycin-resistant enterococci in a Chinese hospital between 2003 and 2009.** Microbial Drug Resistance, 2011; 17:449-55.
37. PARK, S.H.; PARK, C.; CHOI, S.M.; LEE, D.G.; KIM, S.H.; KWON, J.C. **Molecular epidemiology of vancomycin-resistant *Enterococcus***

- faecium* bloodstream infections among patients with neutropenia over a 6-year period in South Korea.** Microbial Drug Resistance 2011; Volume 17 (1): 59-65.
38. LU, C.L.; CHUANG, Y.C.; CHANG, H.C.; CHEN, Y.C.; WANG, J.T.; CHANG, S.C. **Microbiological and clinical characteristics of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* bacteraemia in Taiwan: implication of sequence type for prognosis.** Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2012; 67: 2243-49.
 39. McCracken, M.; Wong, A.; Mitchell, R.; Gravel, D.; Conly, J.; Embil, J.; et al. **Molecular epidemiology of vancomycin-resistant enterococcal bacteraemia: results from the Canadian Nosocomial Infection Surveillance Program, 1999-2009.** Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2013; 68:1505-09.
 40. Johnson, P.D.R.; Ballard, S.A.; Grabsch, E.A.; Stinear, T.P.; Seemann, T.; Young, H.L.; et al. **Sustained Hospital Outbreak of Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium* Bacteremia due to Emergence of vanB *E. faecium* Sequence Type 203.** The Journal of Infectious Disease, 2010; 202(8):1278–86.
 41. Eckburg, P.B.; et al. **Diversity of the human intestinal microbial flora.** Science, 2005; 308:1635-38.
 42. Donskey, C.J.; et al. **Effect of antibiotic therapy on the density of vancomycin-resistant enterococci in the stool of colonized patients.** The New England Journal of Medicine, 2000; 343:1925–1932.
 43. Ubeda, C.; et al. **Vancomycin-resistant *Enterococcus* domination of intestinal microbiota is enabled by antibiotic treatment in mice and precedes bloodstream invasion in humans.** The Journal of Clinical Investigation, 2010;120:4332-41.
 44. Brandl, K.; et al. **Vancomycin-resistant enterococci exploit antibiotic-induced innate immune deficits.** Nature, 2008; 455:804–807.
 45. Kinnebrew, M.A.; et al. **Bacterial flagellin stimulates Toll-like receptor 5-dependent defense against vancomycin-resistant *Enterococcus* infection.** The Journal of Infectious Disease, 2010; 201:534–543.

46. BONTEN, M.; HAYDEN, M.K.; NATHAN, C.; et al. **Epidemiology of colonisation of patients and environment with vancomycin-resistant enterococci.** *The Lancet* 1996; 348:1615–619.
47. DONSKEY, C.J.; CHOWDRY, T.K.; HECKER, M.T.; et al. **Effect of antibiotic therapy on the density of vancomycin-resistant enterococci in the stool of colonized patients.** *The New England Journal of Medicine*, 2000; 343: 1925–932.
48. Bonten, M.J.M.; Slaughter, S.; Ambergen, A.W.; et al. **The role of “colonization pressure” in the spread of vancomycin-resistant enterococci. An important infection control variable.** *Archives of Internal Medicine*, 1998; 158:1127–132.
49. MERRER, J.; SANTOLI, F.; APPÉRE-DE VECCHI, C.; TRAN, B.; de JONGHE, B.; OUTIN, H. **“Colonization pressure” and risk of acquisition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a medical intensive care unit.** *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 2000; 21:718–23.
50. KIRST, H.A.; THOMPSON, D.G.; NICAS, T.I. **Historical yearly usage of vancomycin.** *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1998; 42:1303-04.
51. CARMELI, Y.; SAMORE, M.H.; HUSKINS, C. **The association between antecedent vancomycin treatment and hospital-acquired vancomycin-resistant enterococci. A meta-analysis.** *Archives of Internal Medicine*, 1999; 159:2461–468.
52. FRIDKIN, S.K.; EDWARDS, J.R.; COURVAL, J.M.; et al. **The effect of vancomycin and third-generation cephalosporins on prevalence of vancomycin resistant enterococci in 126 U.S. adult intensive care units.** *Annals of Internal Medicine*, 2001; 135:175–83.
53. RICE. L.B. **Emergence of vancomycin-resistant enterococci.** *Emerging Infectious Diseases Journal*, 2001; 7: 183–87.
54. Donskey, C.J.; Hanrahan, J.A.; Hutton, R.A.; Rice, L.B. **Effect of parenteral antibiotic administration on persistence of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in the mouse gastrointestinal tract.** *The Journal of Infectious Disease*, 1999; 180: 384–90.

55. SONG, J.Y.; CHEONG, H.J.; JO, Y.M.; CHOI, W.S.; NOH, J.Y.; HEO, J.Y.; et al. **Vancomycin-resistant *Enterococcus* colonization before admission to the intensive care unit: a clinico-epidemiologic analysis.** American Journal of Infection Control, 2009; 37:734–40.
56. McNEIL, S.A.; MALANI, P.N.; CHENOWETH, C.E.; FONTANA, R.J.; MAGEE, J.C.; PUNCH, J.D.; et al. **Vancomycin-resistant enterococcal colonization and infection in liver transplant candidates and recipients: a prospective surveillance study.** Clinical Infectious Diseases, 2006; 42:195–203.
57. WORTH, L.J.; THURSKY, K.A.; SEYMOUR, J.F.; SLAVIN, M.A. **Vancomycin resistant *Enterococcus faecium* infection in patients with hematologic malignancy: patients with acute myeloid leukemia are at high-risk.** European Journal of Haematology, 2007; 79:226–33.
58. TACCONELLI, E.; KARCHMER, A.W.; YOKOE, D.; D'AGATA, E.M. **Preventing the influx of vancomycin-resistant enterococci into health care institutions, by use of a simple validated prediction rule.** Clinical Infectious Diseases, 2004; 39:964–70.
59. KEE, S.Y.; PARK, C.W.; LEE, J.E.; KWON, Y.J.; PYO, H.J.; KIM, W.J.; et al. **Healthcare-associated risk factors of vancomycin-resistant enterococci colonization among outpatients undergoing hemodialysis.** Japanese Journal of Infection Diseases, 2012; 65:57–60.
60. HAAS, E.J.; ZAOUTIS, T.E.; PRASAD, P.; LI, M.; COFFIN, S.E. **Risk factors and outcomes for vancomycin-resistant enterococcus bloodstream infection in children.** Infection Control and Hospital Epidemiology, 2010; 31:1038–42.
61. PAN, S.C.; WANG, J.T.; CHEN, Y.C.; CHANG, Y.Y.; CHEN, M.L.; CHANG, S.C. **Incidence of and risk factors for infection or colonization of vancomycin resistant enterococci in patients in the intensive care unit.** Plos One, 2012; 7(10):1-8.
62. MUTTERS, N.T.; BROOKE, R.J.; FRANK, U.; HEEG, K. **Low risk of apparent transmission of vancomycin-resistant *Enterococci* from bacteraemic patients to hospitalized contacts.** American Journal of Infection Control, 2013; S0196–6553.
63. Mutters, N.T.; Mersch-Sundermann, V.; Mutters, R.; Brandt, C.; Schneider-Brachert, W.; Frank, U. **Control of the spread of vancomycin-resistant**

enterococci in hospitals- epidemiology and clinical relevance. Deutsches Ärzteblatt International, 2013; 110(43):725–31.

64. DIAZGRANADOS, C.A.; JERNIGAN, J.A. **Impact of vancomycin resistance on mortality among patients with neutropenia and enterococcal bloodstream infection.** The Journal of Infectious Disease, 2005; 191:588–95.
65. RUSSELL, D.L.; FLOOD, A.; ZARODA, T.E.; ACOSTA, C.; RILEY, M.M.; BUSUTTIL, R.W.; et al. **Outcomes of colonization with MRSA and VRE among liver transplant candidates and recipients.** American Journal of Transplantation, 2008; 8:1737-43.
66. LEE, W.G.; AHN, S.H.; JUNG, M.K.; JIN, H.Y.; PARK, I.J. **Characterization of a vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* outbreak caused by 2 genetically different clones at a neonatal intensive care unit.** Annals of Laboratory Medicine, 2012; 32:82–6.
67. IOSIFIDIS, E.; EVDORIDOU, I.; AGAKIDOU, E.; CHOCHLIOUROU, E.; PROTONOTARIOU, E.; KARAKOULA, K.; et al. **Vancomycin-resistant *Enterococcus* outbreak in a neonatal intensive care unit: Epidemiology, molecular analysis and risk factors.** American Journal of Infection Control, 2013; 41:857-61.
68. DUCHON, J.; GRAHAM, P. III; DELLA-LATTA, P.; WHITTIER, S.; CARP, D.; BATEMAN, D.; et al. **Epidemiology of enterococci in a neonatal intensive care unit.** Infection Control and Hospital Epidemiology, 2008; 29:374-6.
69. KANG, Y.; VICENTE, M.; BRIELMEIER, S.P.B.; PISANO, J.; LANDON, E.; PETTIT, N.N. **Evaluation of risk factors for vancomycin-resistant *Enterococcus* bacteremia among previously colonized hematopoietic stem cell transplant patients.** Transplant Infectious Disease, 2013; 15:466–473.
70. VYDRA, J.; SHANLEY, R.M.; GEORGE, I.; USTUN, C.; SMITH, A.R.; WEISDORF, D.J.; et al. **Enterococcal bacteremia is associated with increased risk of mortality in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.** Clinical Infectious Diseases, 2012; 55(6):764–70.
71. KAMBOJ, M.; CHUNG, D.; SEO, S.K.; et al. **The changing epidemiology of vancomycin-resistant *Enterococcus* (VRE) bacteremia in allogeneic hematopoietic stem cell transplant (HSCT) recipients.** Biology of Blood and Marrow Transplantation, 2010; 16:1576–81.

72. VERGIS, E.N.; HAYDEN, M.K.; CHOW, J.W.; SNYDMAN, D.R.; ZERVOS, M.J.; LINDEN, P.K.; WAGENER, M.M.; SCHMITT, B.; MUDER, R.R. **Determinants of vancomycin resistance and mortality rates in enterococcal bacteremia: a prospective multicenter study.** *Annals of Internal Medicine*, 2001; 135:484–492.
73. CHOU, C.H.; LEE, N.Y.; LEE, H.C.; CHANG, C.M.; LEE, C.C.; KO, W.C. **Emergence of vancomycin-resistant enterococcus bloodstream infections in southern Taiwan.** *Journal of Microbiology, Immunology and Infection* 2012; 45, 221-27.
74. McBRIDE, S.J.; UPTON, A.; ROBERTS, S.A. **Clinical characteristics and outcomes of patients with vancomycin-susceptible *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* bacteremia- a five-year retrospective review.** *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 2010; 29(1):107-14.
75. HAN, S.H.; CHIN, B.S.; LEE, H.S.; JEONG, S.J.; CHOI, H.K.; KIM, C.O.; et al. **Vancomycin-resistant enterococci bacteremia: Risk factors for mortality and influence of antimicrobial therapy on clinical outcome.** *Journal of Infection*, 2009; 58:182-90.
76. MURRAY, B.E.; et al. **Evidence for clonal spread of a single strain of β -lactamase producing *Enterococcus (Streptococcus) faecalis* to six hospitals in five states.** *The Journal of Infectious Disease*, 1991; 163:780–785.
77. MIRANDA, A.G.; SINGH, K.V.; MURRAY, B.E. **DNA fingerprinting of *Enterococcus faecium* by pulsed-field gel electrophoresis may be a useful epidemiologic tool.** *Journal of Clinical Microbiology*, 1991; 29:2752-57.
78. SCHAIK, W.; WILLEMS, R.J. **Genome-based insights into the evolution of enterococci.** *Clinical Microbiology and Infection*, 2010; 16:527–532.
79. GALLOWAY-PENA, J.R.; ROH, J.H.; LATORRE, M.; QIN, X.; MURRAY, B.E. **Genomic, SNP, and 16S rRNA analyses demonstrate a distant separation of the hospital and community-associated clades of *Enterococcus faecium*.** *PLoS ONE* 2012; 7:30187.

80. HEGSTAD, K.; MIKALSEN, T.; COQUE, T.M.; WERNER, G.; SUNDSFJORD, A. **Mobile genetic elements and their contribution to the emergence of antimicrobial resistant *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*.** *Clinical Microbiology and Infection*, 2010;16:541-54.
81. WILLEMS, R.J.; HANAGE, W.P.; BESSEN, D.E.; FEIL, E.J. **Population biology of Gram-positive pathogens: high-risk clones for dissemination of antibiotic resistance.** *FEMS Microbiology Reviews*, 2011; 35:872-900.
82. LEAVIS, H.L.; et al. **Insertion sequence-driven diversification creates a globally dispersed emerging multiresistant subspecies of *E. faecium*.** *PLoS Pathogens*, 2007; 3:7.
83. NELSON, K.E.; et al. **A catalog of reference genomes from the human microbiome.** *Science*, 2010; 328:994-99.
84. PALMER, K.L.; KOS, V.N.; GILMORE, M.S. **Horizontal gene transfer and the genomics of enterococcal antibiotic resistance.** *Current Opinion in Microbiology*, 2010; 13:632–639.
85. PALMER, K.L.; GILMORE, M.S. **Multidrug-resistant enterococci lack CRISPR-cas.** *Bio*, 2010; 1:227-10.
86. DUNNY, G.M.; LEONARD, B.A.; HEDBERG, P.J. **Pheromone-inducible conjugation in *Enterococcus faecalis*: interbacterial and host-parasite chemical communication.** *Journal of Bacteriology*, 1995; 177:871-76.
87. ELIOPOULOS, G.M. **Aminoglycoside resistant enterococcal endocarditis.** *Infectious Diseases Clinical of North America*, 1993; 7:117–133.
88. MOELLERING, R.C.Jr.; WEINBERG, A.N. **Studies on antibiotic synergism against enterococci. II. Effect of various antibiotics on the uptake of ¹⁴C-labeled streptomycin by enterococci.** *The Journal of Clinical Investigation*, 1971; 50:2580-84.
89. MURRAY, B.E. **B-lactamase-producing enterococci.** *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1992; 36:2355-59.
90. FONTANA, R.; LIGOZZI, M.; PITTALUGA, F.; SATTA, G. **Intrinsic penicillin resistance in enterococci.** *Microbial Drug Resistance*, 1996; 2:209–213.

91. GALLOWAY-PENA, J.R.; RICE, L.B.; MURRAY, B.E. **Analysis of PBP5 of early U.S. isolates of *Enterococcus faecium*: sequence variation alone does not explain increasing ampicillin resistance over time.** Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2011; 55:3272-77.
92. RICE, L.B.; CARIAS, L.L.; MARSHALL, S.; RUDIN, S.D.; HUTTON-THOMAS, R. **Tn5386, a novel Tn916-like mobile element in *Enterococcus faecium* D344R that interacts with Tn916 to yield a large genomic deletion.** J Bacteriol 2005; 187:6668-77.
93. MANSON, J.M.; HANCOCK, L.E.; GILMORE, M.S. **Mechanism of chromosomal transfer of *Enterococcus faecalis* pathogenicity island, capsule, antimicrobial resistance, and other traits.** Proc Natl Acad Sci USA 2010; 107:12269-274.
94. MINGEOT-LECLERCQ, M.P.; GLUPCZYNSKI, Y.; TULKENS, P.M. **Aminoglycosides: activity and resistance.** Antimicrob Agents and Chemotherapy, 1999; 43:727-37.
95. GALIMAND, M.; et al. **Intrinsic resistance to aminoglycosides in *Enterococcus faecium* is conferred by the 16S rRNA m5C1404-specific methyltransferase EfmM.** RNA 2011; 17:251–262.
96. Leclercq, R.; Derlot, E.; Duval, J.; Courvalin, P.; **Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*.** The New England Journal of Medicine, 1988; 319:157–161.
97. D’COSTA, V.M.; et al. **Antibiotic resistance is ancient.** Nature 2011; 477:457-61.
98. WERNER, G.; STROMMENGER, B.; WITTE, W. **Acquired vancomycin resistance in clinically relevant pathogens.** Future Microbiology, 2008; 3:547–562.
99. ARTHUR, M.; COURVALIN, P. **Genetics and mechanisms of glycopeptide resistance in enterococci.** Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1993; 37:1563-71.

100. Harms, J.M.; Schlunzen, F.; Fucini, P.; Bartels, H.; Yonath, A. **Alterations at the peptidyl transferase centre of the ribosome induced by the synergistic action of the streptogramins dalfopristin and quinupristin.** BMC Biol, 2004; 2:4.
101. WILSON, D.N.; et al. **The oxazolidinone antibiotics perturb the ribosomal peptidyl-transferase center and effect tRNA positioning.** Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, 2008; 105:13339–3344.
102. ARIAS, C.A.; et al. **Genetic basis for in vivo daptomycin resistance in enterococci.** The New England Journal of Medicine, 2011; 365:892–900.
103. PALMER, K.L.; DANIEL, A.; HARDY, C.; SILVERMAN, J.; GILMORE, M.S. **Genetic basis for daptomycin resistance in enterococci.** Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2011; 55:3345-56.
104. LANDMAN, D.; QUALE, J.M.; OYDNA, E.; et al. **Comparison of five selective media for identifying fecal carriage of vancomycin-resistant enterococci.** Journal of Clinical Microbiology, 1996; 34:751–752.
105. ZIRAKZADEHA, A.; PATEL, R. **Epidemiology and mechanisms of glycopeptide resistance in enterococci.** Current Opinion in Infectious Diseases, 2005; 18:507-512.
106. D'AGATA, E.M.; GAUTAM, S.; GREEN, W.K.; TANG, Y.W. **High rate of false- negative results of the rectal swab culture method in detection of gastrointestinal colonization with vancomycin-resistant enterococci.** Clinical Infectious Diseases, 2002; 34:167–172.
107. PALLADINO, S.; KAY, I.D.; FLEXMAN, J.P.; et al. **Rapid detection of vanA and vanB genes directly from clinical specimens and enrichment broths by real-time multiplex PCR assay.** Journal of Clinical Microbiology, 2003; 41:2483–2486.
108. SLOAN, L.M.; UHL, J.R.; VETTER, E.A.; et al. **Comparison of the Roche LightCycler vanA/vanB detection assay and culture for detection of vancomycin-resistant enterococci from perianal swabs.** Journal of Clinical Microbiology, 2004; 42:2636–2643.

109. BALLARD, S.A.; PERTILE, K.K.; LIM, M.; et al. **Molecular characterization of vanB elements in naturally occurring gut anaerobes.** Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2005; 49:1688–1694.
110. BALLARD, S.A.; GRABSCH, E.A.; JOHNSON, P.D.; GRAYSON, M.L. **Comparison of three PCR primer sets for identification of vanB gene carriage in feces and correlation with carriage of vancomycin-resistant enterococci: interference by vanB containing anaerobic bacilli.** Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2005; 49:77-81.
111. DEPARDIEU, F.; PERICHON, B.; COURVALIN, P. **Detection of the van alphabet and identification of enterococci and staphylococci at the species level by multiplex PCR.** Journal of Clinical Microbiology, 2004; 42:5857–5860.
112. WOODFORD, N. **Glycopeptide-resistant enterococci: a decade of experience.** Journal of Medical Microbiology, 1998; 47: 849-862.
113. NOBLE, W.C.; VIRANI, Z.; CREE, R.G.A. **Co-transfer of vancomycin and other resistance genes from Enterococcus faecalis NCTC 12201 to Staphylococcus aureus.** FEMS Microbiology Letters, 1992; 93: 195-198.
114. WILLIAMSON, R.; AL-OBEID, S.; SHLAES, J.H.; GOLDSTEIN, F.W.; SHLAES, D.M. **Inducible resistance to vancomycin in Enterococcus faecium D366.** The Journal of Infectious Diseases, 1989; 159: 1095-1104.
115. QUINTILIANI, R.; EVERS, S.; COURVALIN, P. **The vanB gene confers various levels of self-transferable resistance to vancomycin in enterococci.** The Journal of Infectious Diseases, 1993; 167: 1220-23.
116. PERICHON, B.; REYNOLDS, P.; COURVALIN, P. **VanD-type glycopeptide resistant Enterococcus faecium BM4339.** Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1997; 41: 2016-18.
117. COURVALIN, P. **Genetics of glycopeptide resistance in gram-positive pathogens.** Internacional Journal of Medical Microbiology, 2005; 294(8):479-86.
118. MURRAY, B. **Vancomycin resistant enterococcal infections.** The New England Journal of Medicine, 2000; 342 (10):710-21.

119. GEARHART, M.; MARTIN, J.; RUDICH, S.; THOMAS, M.; WETZEL, D.; SOLOMKIN, J.; HANAWAY, M.J.; ARANDA-MICHEL, J.; WEBER, F.; TRUMBALL, L.; BASS, M.; ZAVALA, E.; STEVE WOODLE, E.; BUELL, J.F. **Consequences of vancomycin resistant *Enterococcus* in liver transplant recipients: a matched control study.** *Clinical Transplantation*, 2005; 19:711-16.

120. WHANG, D.W.; MILLER, L.G.; PARTAIN, N.M.; McKINNELLA, J.A. **Systematic Review and Meta-Analysis of Linezolid and Daptomycin for Treatment of Vancomycin-Resistant Enterococcal Bloodstream Infections.** *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2013; 57(10):5013.

121. CAMINS, B.C.; FARLEY, M.M.; JERNIGAN, J.J.; RAY, S.M.; STEINBERG, J.P.; BLUMBERG, H.M. **A population-based investigation of invasive vancomycin resistant *Enterococcus* infection in metropolitan Atlanta, Georgia, and predictors of mortality.** *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 2007; 28:983-91.

122. BHAVNANI, S.M.; DRAKE, J.A.; FORREST, A.; DEINHART, J.A.; JONES, R.N.; BIEDENBACH, D.J.; BALLOW, C.H. **A nationwide, multicenter, case-control study comparing risk factors, treatment, and outcome for vancomycin-resistant and-susceptible enterococcal bacteremia.** *Diagn Microbiol Infect Dis* 2000; 36:145–158.

123. FLORESCU, I.; BEURAN, M.; DIMOV, R.; RAZBADAUSKAS, A.; BOCHAN, M.; FICHEV, G.; et al. **Efficacy and safety of tigecycline compared with vancomycin or linezolid for treatment of serious infections with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* or vancomycin-resistant enterococci: a phase 3, multicentre, double-blind, randomized study.** *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2008; 62(Suppl. 1):i17–i28.

124. CARPENTER, C.F.; CHAMBERS, H.F. **Daptomycin: another novel agent for treating infections due to drug-resistant gram-positive pathogens.** *Clinical Infectious Diseases*, 2004; 38:994–1000.

125. ARIAS, C.A.; CONTRERAS, G.A.; MURRAY, B.E. **Management of multidrug resistant enterococcal infections.** *Clinical Microbiology and Infection*, 2010; 16:555–562.

126. CRANK, C.W.; SCHEETZ, M.H.; BRIELMAIER, B.; ROSE, W.E.; PATEL, G.P.; RITCHIE, D.J.; SEGRETI, J. **Comparison of outcomes from daptomycin or linezolid treatment for vancomycin-resistant enterococcal**

- bloodstream infection: A retrospective, multicenter, cohort study.** *Clinical Therapeutics*, 2010; 32:1713-19.
127. TWILLA, J.D.; FINCH, C.K.; USERY, J.B.; GELFAND, M.S.; HUDSON, J.Q.; BROYLES, J.E. **Vancomycin-resistant Enterococcus bacteremia: an evaluation of treatment with linezolid or daptomycin.** *Journal of Hospital Medicine*, 2012; 7:243–248.
 128. MOISE, P.A.; HERSHBERGER, E.; AMODIO-GROTON, M.I.; LAMP, K.C. **Safety and clinical outcomes when utilizing high-dose (8 mg/kg) daptomycin therapy.** *Annals of Pharmacotherapy*, 2009; 43:1211-19.
 129. KULLAR, R.; DAVIS, S.L.; LEVINE, D.P.; ZHAO, J.J.; CRANK, C.W.; SEGRETI, J.; SAKOULAS, G.; COSGROVE, S.E.; RYBAK, M.J. **High-dose daptomycin for treatment of complicated gram-positive infections: a large, multicenter, retrospective study.** *Pharmacotherapy*, 2011; 31:527–536.
 130. SADER, H.S.; STREIT, J.M.; FRITSCH, T.R.; JONES, R.N. **Antimicrobial activity of daptomycin against multidrug-resistant Gram-positive strains collected worldwide.** *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 2004; 50:201–204.
 131. MOELLERING, R.C. **Linezolid: the first oxazolidinone antimicrobial.** *Annals of Internal Medicine*, 2003; 138:135–142.
 132. BIRMINGHAM, M.C.; RAYNER, C.R.; MEAGHER, A.K.; FLAVIN, S.M.; BATTS, D.H.; SCHENTAG, J.J. **Linezolid for the treatment of multidrug-resistant, gram-positive infections: experience from a compassionate-use program.** *Clinical Infectious Diseases*, 2003; 36:159–168.
 133. DUBROVSKAYA, Y.; KUBIN, C.; FURUYA, E. **Daptomycin compared to linezolid for primary treatment of vancomycin-resistant enterococcal bacteremia (VREB),** abstr K-3443, p539. Abstr. 48th Intersci Conf Antimicrob Agents Chemother 2008. Washington, DC.
 134. MAVE, V.; GARCIA-DIAZ, J.; ISLAM, T.; HASBUN, R. **Vancomycin-resistant enterococcal bacteraemia: is daptomycin as effective as linezolid?** *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2009; 64: 175–180.

135. BALLI, E.P.; VENETIS, C.A.; MIYAKIS, S. **Is linezolid superior to daptomycin for the treatment of vancomycin-resistant *Enterococcus* bacteraemia? A systematic review and meta-analysis.** *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2013; 18 nov: 1-26.
136. CHONG, Y.P.; LEE, S.O.; SONG, E.H.; LEE, E.J.; JANG, E.Y.; KIM, S.H.; et al. **Quinupristin-dalfopristin versus linezolid for the treatment of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* bacteraemia: Efficacy and development of resistance.** *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 2010; 42: 491-9.
137. SHUKLA, B.S.; GAUTHIER, T.P.; CORREA, R.; SMITH, L.; ABBO, L. **Treatment considerations in vancomycin-resistant enterococcal bacteremia: daptomycin or linezolid? A review.** *International Journal of Clinical Pharmatherapy*, 2013; 35:697–703.
138. PUTNAM, S.D.; SADER, H.S.; MOET, G.J.; et al. **Worldwide summary of telavancin spectrum and potency against Gram-positive pathogens: 2007 to 2008 surveillance results.** *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 2010; 67:359–68.
139. CATTOIR, V.; LECLERCQ, R. **Twenty-five years of shared life with vancomycin-resistant enterococci: is it time to divorce?** *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2013; 68: 731–742.

5 ARTIGO EM INGLÊS¹

Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* bacteremia in a tertiary care hospital: Epidemiology, antimicrobial susceptibility and outcome

Alexandre V. Schwarzbold, Regis Rosa, Eduardo Turra, Denise P. Carvalho, Luciano Z. Goldani,

Infectious Diseases Unit, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

ABSTRACT

Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* (VREF) has emerged as a relevant multidrug-resistant pathogen and potentially lethal etiology of health care-associated infections worldwide. The objective of this retrospective cohort study was to assess factors associated with mortality in patients with VREF bacteremia in a major tertiary referral hospital in southern Brazil. All documented cases of bacteremia identified between May 2010 and July 2012 were evaluated. Cox regression was performed to determine whether the characteristics related to the host or antimicrobial treatment were associated with the all-cause 30-day mortality. In total, 35 patients with documented VREF bacteremia were identified during the study period. The median apache-II score of the study population was 26 (IQR 10). The overall 30-day mortality was 65.7%. All VREF isolates were sensitive to linezolid, daptomycin and quinopristin-dalfopristin. Linezolid was the only antimicrobial agent with *in vitro* activity against VREF that was administered to the cohort. After multivariate analysis, linezolid treatment (HR, 0.08; 95%CI, 0.02 – 0.27) and presence of acute kidney injury at the onset of bacteremia (HR, 4.01; 95%CI, 1.62 –

¹ Submitted to BioMed Research Internacional, Article ID 958469, accepted 25 January 2014.

9.94) were independently associated with the main outcome. Presentation with acute kidney injury and lack of treatment with an effective antibiotic poses risk for mortality in patients with VREF bacteremia.

INTRODUCTION

Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* (VREF) is currently one of the most important etiologies of nosocomial infections worldwide, mainly due to its typical profile of multidrug-resistance and tendency to cause severe infections in critically ill patients.[1,2] Risk factors for developing a nosocomial VREF infection include prolonged hospitalization; hospitalization in long-term facilities, surgical units or intensive-care units; multiple courses of antibiotics; solid organ and hematopoietic stem cell transplantation; and presence of co-morbidities such as diabetes, renal failure or hemodialysis [3-6]. In the continuum of VREF infections, bacteremia is of special interest, given that overall mortality rates may reach values higher than 60% with an attributable mortality around 40%.[7-12] Unfortunately, few data are available concerning factors associated with mortality in the context of VREF bacteremia in different institutions. Therefore, we conducted a study with the aim to assess factors associated with mortality in patients with VREF bacteremia in the current practice of a tertiary referral hospital.

METHODS

Study Design, patients and settings

A retrospective cohort study was performed with all cases of documented VREF bacteremia identified between May 2010 and July 2012. The present study was conducted at Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), a major tertiary referral hospital in southern Brazil. The patients were identified by retrieval from the

computerized database established by the Infection Control Center of HCPA. VREF bacteremia was defined as the growth of VRE in more than one blood culture from a patient with fever (body temperature $\geq 38^{\circ}\text{C}$). The blood isolates were preserved for subsequent microbiological characterization. VREF was defined as an *Enterococcus* isolate with an MIC of vancomycin ≥ 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ by the Etest® (bioMérieux) according to the standards of the NCCLS. The analyses of clinical features, antibiotic susceptibility tests, and outcomes were focused on those patients with VREF bacteremia. Medical records of the patients who had VREF bacteremia between May 2010 and July 2012 were reviewed. Patients who had ever developed VREF bacteraemia before the study period were excluded. If patients developed several episodes of VREF bacteremia during the study period, only the first episode was investigated.

Variables

Variables retrieved from a standardized case report form included demographics, underlying comorbidities, APACHE-II score (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation) at the first 24hs following clinical signs of bacteremia, initial plasma C-reactive protein, initial serum albumin, presence of acute kidney injury (defined as an increase in serum creatinine to ≥ 1.5 times baseline) and whether the infection was acquired in ICU or clinical ward. Data regarding antimicrobial therapy administered (e.g. type of antibiotic, dose, time-to-antibiotic, and duration of treatment) were also analyzed. The main outcome of this study was all-cause mortalities within 30 days from VREF bacteremia.

Antibiotic susceptibility test

Blood isolates were identified according to standard techniques and Vitek®2 (bioMérieux).[13] MICs for daptomycin, linezolid and quinupristin/dalfopristin were determined by the Etest® (bioMérieux), according to the manufacturer's guidelines

(AB Biodisk). *Daptomycin, linezolid and quinupristin/dalfopristin resistance* was defined as an isolate with an MIC of greater than 4 µg/mL, 8 µg/mL and 32 µg/mL respectively, per CLSI guidelines.[14,15] A suspension of each isolate in Mueller-Hinton broth, adjusted to the density of a 0.5 McFarland standard, was swabbed in three directions to ensure uniform growth onto Mueller-Hinton agar plates. The MIC was read where inhibition of growth intersected the E-test strip. When small colonies grew within the zone of inhibition or a haze of growth occurred around MIC end points, the highest MIC intersect was recorded.

Statistical Analysis

A Cox proportional hazards regression was performed to determine risk factors for 30-day mortality in patients with VREF BSI. All variables that had a *P* value < 0.10 in a univariate analysis were included. In the multivariate model, independent variables were eliminated from the highest to the lowest *P* value but remained in the model if the *P* value was less than 0.05. Hazard ratios were estimated along with 95% confidence intervals. The software used for the statistical analysis was STATA version 12 (Stata Corp LP, USA).

Ethics

The study was approved by the institutional review board of Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

RESULTS

In total, 35 patients with VREF bacteremia were evaluated during the study period. As shown in Table 1, the overall median age of the study cohort was 46 years

and 21 (60%) were male. The characteristics of the study population are shown in table 1. Subjects with malignant neoplasm comprised 45.7 % of the study population; hematologic malignancies accounted for most cases of cancer. Other important underlying comorbidities found were cirrhosis (11.4%) and diabetes mellitus (8.5%). All cases of VREF bacteremia were acquired after 48 hs of hospitalization (62.8% acquired in the intensive care unit and 37.2% acquired in the clinical ward).

APACHE II values of ICU patients with VREF bacteremia was 26.0. All VREF isolates had a vancomycin MIC \geq 256 μ g/mL. The most common antibiotics initially administered to patients were vancomycin (48.5%), meropenem (42.8%) and piperacillin-tazobactam (14.2%). Linezolid was the only antimicrobial agent with *in vitro* activity against VREF that was administered to the cohort. - 26 subjects (74.2% of the study population) were treated with linezolid (88.4% were treated via intravenous route, the remainder were treated via enteral route). The median time to *in vitro* effective antibiotic for linezolid was 3 days (IQR 2 days). The median duration of *in vitro* effective antibiotic therapy for linezolid was 9.5 days (IQR 7 days). The overall 30-day cohort mortality was 65.7% (23 patients).

The distribution of specific antibiotic MICs for VREF (figure 1) shows a favourable *in vitro* susceptibility of all VREF blood isolates to linezolid, daptomycin and quinopristin-dalfopristin: no case of resistance to these antibiotics was identified. In the univariate analysis of the factors associated with 30-day mortality (table 2), treatment with linezolid ($P < 0.001$) was associated with higher survival rates. Presentation with acute kidney injury at the onset of VREF bacteremia was more frequent in non-survivors ($P = 0.002$). There was a tendency of association between presence of cirrhosis and the mortality risk ($P = 0.07$). Other variables related to linezolid treatment (e.g. time to antibiotic and duration of treatment) were not associated with the main outcome.

After the multivariate cox proportional hazards model was performed (table 3, model I), treatment with linezolid was independently associated with a higher survival rate (HR, 0.08; 95%CI, 0.02 – 0.27), while presence of acute kidney injury at the onset of bacteremia constituted an independent risk factor for 30-day mortality (HR, 4.01; 95%CI, 1.62 – 9.94). A second multivariate Cox regression model was performed replacing the categorical variable acute kidney injury by the continuous variable initial serum creatinine, while keeping unchanged other variables that reached criteria for entrance in the multivariate analysis (table 4). This procedure was

conducted in order to verify a quantitative relationship between serum creatinine levels and the mortality risk. Each increase of 1.0 mg/dl in the initial serum creatinine level raised the risk of 30-day mortality by 58% ($P=0.01$).

The survival curves of the entire cohort and according linezolid treatment as well as the presence of acute kidney injury at the onset of bacteremia are shown in Figure 2.

DISCUSSION

Enterococcus is the third most common cause of nosocomial bloodstream infection. VRE is an important problem in the Europe, USA and Latin America and have been isolated in many other countries. Infections due to VRE have been shown to be associated with significant in hospital mortality and morbidity. Although the first isolated VRE in 1986, the percentage of nosocomial enterococci with vancomycin resistance increased 20-fold in the last 20 years especially among patients in intensive care units; with reported rates of vancomycin resistance varying internationally from 0% to 35%. [16,17] Although 85–90% of clinical isolates of enterococci are *E. faecalis*, most VRE are *E. faecium*. [2] In our institution, the vast majority of VRE bacteremias are caused by *E. faecium* (data not shown). Our study showed there was a significant incidence of VREF bacteremia among patients with solid and hematologic malignancies as previously described in other studies [9,10,18,19] Moreover, VREF bacteremia compromised mostly ICU patients with high APACHE scores. Although resistance to linezolid, daptomycin and quinopristin-dalfopristin has been reported in VREF isolates, our VREF isolates remained highly susceptible to these antibiotics. [20,21] Patients with acute kidney injury at the onset of VREF bacteremia was more frequent in non-survivors. This association previously has been suggested only in studies that have been limited by small numbers of patients and a failure to perform multivariate analysis. [19,22] In our study, a second multivariate Cox regression model was performed replacing the categorical variable acute kidney injury by the continuous variable initial serum creatinine. This procedure was conducted in order to verify a quantitative relationship between serum creatinine levels and the mortality risk. Each increase of 1.0 mg/dl in the initial serum creatinine

level raised the risk of 30-day mortality of study population with VRE bacteremia. Additionally, previous reports estimated renal function solely from blood urea nitrogen and creatinine levels, whereas we used the creatinine clearance, a more physiological estimate of renal function.

Our overall 30-day cohort mortality of 66% was high similar with published data which varies from 17% to 100%.[23] Although attributable mortality could not be assessed considering that our study did not perform a case control matched analysis with patients without VREF bacteremia. The outcome was result of specific therapy against *E. faecium*. After the multivariate cox proportional hazards model was performed, treatment with linezolid was independently associated with a higher survival rate. Linezolid was the only antimicrobial agent with *in vitro* activity against our isolates of VREF and it was administered to the majority of our study population. The median time to *in vitro* effective antibiotic for linezolid was 3 days. Interestingly, time to antibiotic use and duration of antibiotic therapy did not play an important role in the main outcome of our patients.

The retrospective analysis of a relative small cohort of patients is the major limitation of our study considering we cannot be certain that we have identified all potential confounding factors.

In summary, our data provide further evidence that VREF is an important cause of mortality in critically ill patients especially with solid and hematological malignancies and renal failure in the ICU setting of a tertiary care institution in Latin America. Despite broad susceptibility to the alternative antimicrobial agents including linezolid and daptomycin against VREF, therapy with ineffective agents for VREF blood stream infections contributed to the poor outcome of the patients.

References

1. UTTLEY, A.h.; COLLINS, C.H.; NAIDOO, J.; GEORGE, R.C. **Vancomycin resistant enterococci**. *The Lancet*, 1988; 1:57-58.
2. MURRAY, B.E. **Vancomycin-resistant enterococcal infections**. *The New England Journal of Medicine*, 2000; 342:710-721.
3. EDMOND, M.B.; OBER, J.F.; WEINBAUM, J.L.; et al. **Glycopeptide-resistant *Enterococcus faecium* bacteremia: Risk factors for infection**. *Clinical Infectious Diseases*, 1995; 20:1126-33.
4. PEEL, T.; CHENG, A.C.; SPELMAN, T.; HUYSMANS, M.; SPELMAN, D. **Differing risk factors for vancomycin-resistant and vancomycin-sensitive enterococcal bacteraemia**. *Clinical Microbiology and Infection*, 2012; 18:388-94.
5. IOSIFIDIS, E.; EVDORIDOU, I.; AGAKIDOU, E.; CHOCHLIOUROU, E.; PROTONOTARIOU, E.; KARAKOULA, K.; STATHIS, I.; SOFIANOU, D.; DROSSOU-AGAKIDOU, V.; POURNARAS, S.; ROILIDES, E. **Vancomycin-resistant *Enterococcus* outbreak in a neonatal intensive care unit: Epidemiology, molecular analysis and risk factors**. *American Journal of Infection Control*, 2013 May 11. pii: S0196-6553(13)00231-9. doi: 10.1016/j.ajic.2013.02.005.
6. KANG, Y.; VICENTE, M.; PARSAD, S.; BRIELMEIER, B.; PISANO, J.; LANDON, E.; PETTIT, N.N. **Evaluation of risk factors for vancomycin-resistant *Enterococcus* bacteremia among previously colonized hematopoietic stem cell transplant patients**. *Transplant Infectious Disease*, 2013 Aug 4. doi: 10.1111/tid.12120.
7. HAYAKAWA, K.; MARCHAIM, D.; MARTIN, E.T.; TIWARI, N.; YOUSUF, A.; SUNKARA, B.; PULLURU, H.; KOTRA, H.; HASAN, A.; BHEEMREDDY, S.; SHETH, P.; LEE, D.W.; KAMATAM, S.; BATHINA, P.; NANJIREDDY, P.; CHALANA, I.K.; PATEL, S.; KUMAR, S.; VAHIA, A.; KU, K.; YEE, V.; SWAN, J.; POGUE, J.M.; LEPHART, P.R.; RYBAK, M.J.; KAYE, K.S. **Comparison of the clinical characteristics and outcomes associated with vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* and vancomycin-resistant *E. faecium* bacteremia**. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2012 May; 56:2452-2458.

8. MCKINNEL, J.A.; PATEL, M.; SHIRLEY, R.M.; KUNZ, D.F.; MOSER, S.A.; BADDLEY, J.W. **Observational study of the epidemiology and outcomes of vancomycin-resistant *Enterococcus* bacteraemia treated with newer antimicrobial agents.** *Epidemiology & Infection*, 2011;139:1342-50.
9. KRAFT, S.; MACKLER, E.; SCHLICKMAN, P.; WELCH, K.; DePESTEL, D.D. **Outcomes of therapy: vancomycin-resistant enterococcal bacteremia in hematology and bone marrow transplant patients.** *Support Care Cancer*. 2012; 20:1935-6.
10. VYDRA, J.; SHANLEY, R.M.; GEORGE, I.; USTUN, C.; SMITH, A.R.; WEISDORF, D.J.; YOUNG, J.A. **Enterococcal bacteremia is associated with increased risk of mortality in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.** *Clinical Infectious Diseases*, 2012; 55:764-70.
11. KRAFT, S.; MACKLER, E.; SCHLICKMAN, P.; WELCH, K.; DePESTEL, D.D. **Outcomes of therapy: vancomycin-resistant enterococcal bacteremia in hematology and bone marrow transplant patients.** *Support Care Cancer*, 2012; 20:1935-6.
12. TWILLA, J.D.; FINCH, C.K.; USERY, J.B.; GELFAND, M.S.; HUDSON, J.Q.; BROYLES, J.E. **Vancomycin-resistant *Enterococcus* bacteremia: an evaluation of treatment with linezolid or daptomycin.** *Journal of Hospital Medicine*, 2012; 7:243-8.
13. FACKLAM, R.R., COLLINS, M.D. **Identification of *Enterococcus* species isolated from human infections by a conventional test scheme.** *Journal of Clinical Microbiology*, 1989; 27:731-4.
14. WILLEY, B.M.; KREISWIRTH, B.N.; SIMOR, A.E.; WILLAAMS, G.; SCRIVER, S.R.; PHILLIPS, A.; LOW, D.E. **Detection of vancomycin resistance in *Enterococcus* species.** *Journal of Clinical Microbiology*, 1992; 30: 1621–4.
15. ENDTZ, H.P.; Van Den BRAAK, N.; BELKUM, A.; et al. **Comparison of eight methods to detect vancomycin resistance in enterococci.** *Journal of Clinical Microbiology*, 1998,36:592-4.
16. LECLERCQ, R.; DERLOT, E.; DEVUAL, J.; COURVALIN, P. **Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*.** *The New England Journal of Medicine*, 1988; 319:157-61.

17. IWEN, P.C.; KELLY, D.M.; LINDER, J.; HINRICHS, S.H.; DOMINGUEZ, E.A.; RUPP, M.E.; PATIL, K.D. **Change in prevalence and antibiotic resistance of *Enterococcus* species isolated from blood cultures over an 8-year period.** Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1997; 41:494-5.
18. PAPANICOLAOU, G.A.; MEYERS, B.R.; MEYERS, J.; MENDELSON, M.H.; LOU, W.; EMRE, S.; SHEINER, P.; MILLER, C. **Nosocomial infections with vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in liver transplant recipients: risk factors for acquisition and mortality.** Clinical Infectious Diseases, 1996; 23:760-6.
19. ZAAS, A.K.; SONG, X.; TUCKER, P.; PERL, T.M. **Risk factors for development of vancomycin-resistant enterococcal bloodstream infection in patients with cancer who are colonized with vancomycin-resistant enterococci.** Clinical Infectious Diseases, 2002; 35:1139-46.
20. BONORA, M.G.; SOLBIATI, M.; STEPAN, E.; ZORZI, A.; LUZZANI, A.; CATANIA, M.R.; FONTANA, R.J. **Emergence of linezolid resistance in the vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* multilocus sequence typing C1 epidemic lineage.** Journal of Clinical Microbiology, 2006; 44:1153-5.
21. LEWIS, J.S. 2nd.; OWENS, A.; CADENA, J.; SABOL, K.; PATTERSON, J.E.; JORGENSEN, J.H. **Emergence of daptomycin resistance in *Enterococcus faecium* during daptomycin therapy.** Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2005; 49:1664-5.
22. CHOU, C.H.; LEE, N.Y.; LEE, H.C.; CHANG, C.M.; LEE, C.C.; KO, W.C. **Emergence of vancomycin-resistant *Enterococcus* bloodstream infections in southern Taiwan.** Journal of Microbiology, Immunology and Infection, 2012; 45:221-7.
23. EDMOND, M.B.; OBER, J.F.; DAWSON, J.D.; WEINBAUM, D.L.; WENZEL, R.P. **Vancomycin-resistant enterococcal bacteremia: natural history and attributable mortality.** Clinical Infectious Diseases, 1996; 23:1234-9.

Table 1. Clinical characteristics of 35 patients with bloodstream infection by vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*.

Age, years, median (IQR)	N (%) 46.0 (32.0)
Male	21 (40.0)
Type of underlying disease	
Hematologic malignancy	9 (25.7)
Solid malignancy	7 (20.0)
Cirrhosis	4 (11.4)
Diabetes mellitus	3 (8.5)
Conective tissue disease	2 (5.7)
Chronic obstructive pulmonary disease	1 (2.8)
Apache-II score, median (IQR)	26 (10)
Initial plasma CPR, mg/L, median (IQR)	128.5 (177.0)
Initial serum albumin, g/L, median (IQR)	2.4 (1.0)
Acute kidney injury at the onset of bacteremia	9 (25.7)
ICU-acquired bloodstream infection	22 (62.8)

Data presented as n (%) unless otherwise indicated. IQR = interquartile range (P75 – P25); CPR = c - reactive protein; ICU = intensive care unit.

Figure 1. Distribution of specific antibiotic MICs for vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolates.

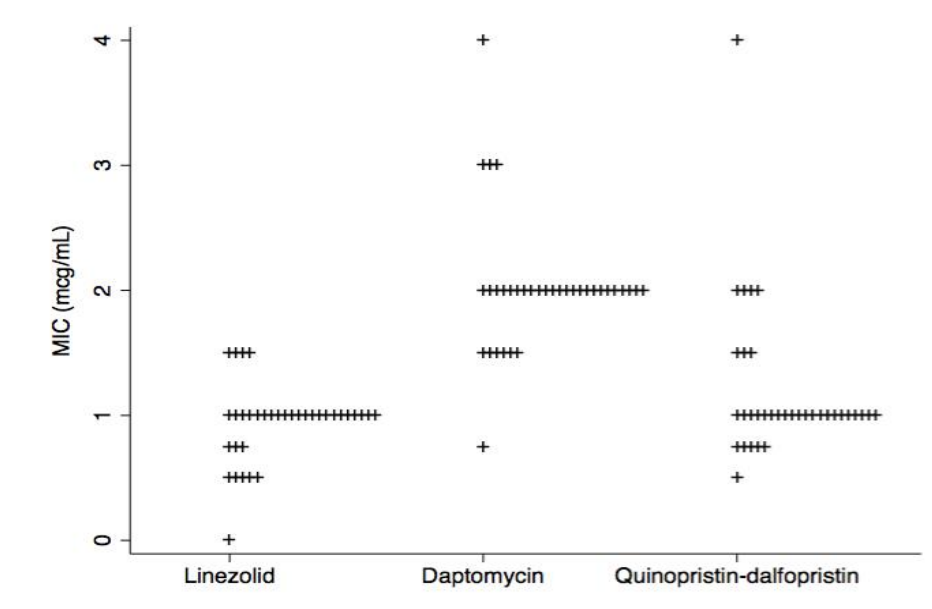


Table 2. Multivariate Cox regression analysis of factors associated with 30-day mortality in patients with vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* bacteremia.

Variable	Mortality group (n = 23)	Survival group (n=12)	HR (95% CI)	P value
Age, years, median (IQR)	49 (35.0)	44 (31.5)	1.01 (0.99 – 1.03)	0.23
Hematologic malignancy	7 (30.4)	2 (16.6)	1.33 (0.54 – 3.29)	0.52
Solid malignancy	4 (17.4)	3 (25.0)	0.64 (0.21 – 1.92)	0.43
Cirrhosis	4 (17.4)	0 (0)	2.72 (0.91 – 8.15)	0.07
Diabetes mellitus	2 (8.7)	1 (8.3)	1.10 (0.25 – 4.72)	0.89
Chronic obstructive pulmonary disease	1 (4.3)	0 (0)	3.28 (0.41 – 25.9)	0.25
Apache-II score, median (IQR)	26 (10)	28 (4)	0.97 (0.91 – 1.04)	0.52
Initial plasma CRP, mg/L, median (IQR)	121.3 (92.2)	222.2 (321.9)	0.99 (0.99 – 1.00)	0.21
Initial serum albumin, g/L, median (IQR)	2.3 (1.1)	2.8 (0.8)	0.74 (0.29 – 1.91)	0.54
Acute kidney injury	12 (52.1)	1 (8.3)	3.65 (1.58 – 8.41)	0.002
ICU-acquired bacteremia	17 (73.9)	5 (41.6)	1.84 (0.72 – 4.69)	0.19
Linezolid treatment	15 (65.2)	11 (91.6)	0.09 (0.33 – 0.29)	< 0.001
Linezolid MIC, microgram/ml, mean \pm SD	0.95 \pm 0.28	0.97 \pm 0.22	0.78 (0.20 – 2.96)	0.72
Time to linezolid treatment, days, median (IQR)	2.5 (1.0)	4.0 (5.0)	0.77 (0.57 – 1.05)	0.11
Duration of Linezolid treatment, days, median (IQR)	9.5 (6)	10.5 (10)	0.90 (0.80 – 1.02)	0.11

Data presented as n (%) unless otherwise indicated. HR = hazard ratio; 95%CI = 95% confidence interval; IQR = interquartile range (P75 – P25); CPR = c-reactive protein; ICU = intensive care unit; MIC = minimum inhibitory concentration; SD = Standard deviation. HR = hazard ratio; 95%CI = 95% confidence interval.

Figure 2. Survival curves of patients with vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* (VREF) bacteremia.

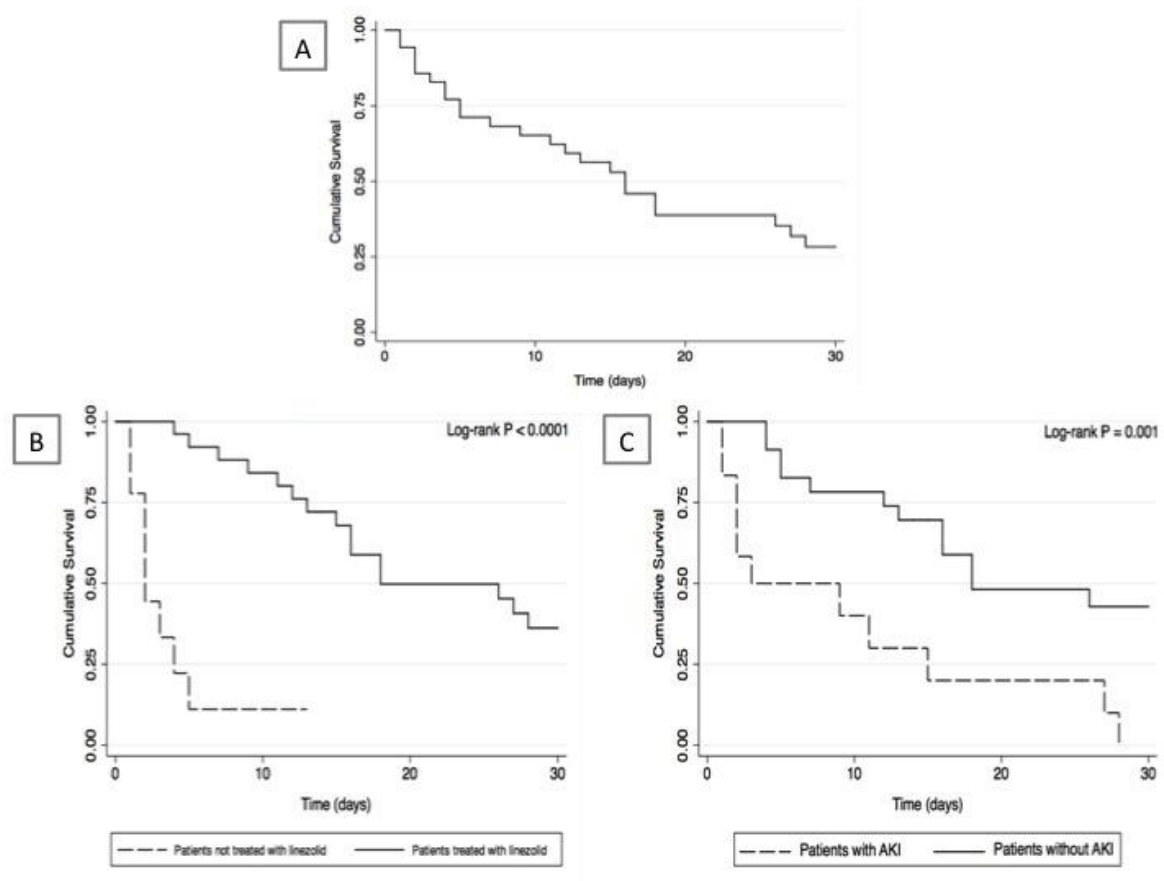


Figure legend: A= Survival curve of the entire cohort of patients with VREF bacteremia. B = Comparison of survival curves of patients treated with linezolid and those treated with other antibiotics without *in vitro* activity against VREF. C = Comparison of survival curves of patients who presented with acute kidney injury (AKI) at the onset of VREF bacteremia with those who did not present with AKI.

Table 3. Multivariate Cox regression model was performed replacing the categorical variable acute kidney injury by the continuous variable initial serum creatinine.

Variable	Adjusted HR	95% CI	P value
Linezolid treatment	0.08	0.02 – 0.27	< 0.001
Acute kidney injury	4.01	1.62 – 9.94	0.003
Model II			
Variable	Adjusted HR	95% CI	P value
Linezolid treatment	0.13	0.03 – 0.47	0.002
Initial serum creatinine, g/dL	1.58	1.09 – 2.29	0.01

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Enterococos é a terceira causa mais comum de infecção de corrente sanguínea hospitalar e é problema nesse cenário na Europa, EUA e América Latina, tendo sido isolado em muitos outros países. Infecções causadas pelo ERV estão associadas com significativa taxa de morbi-mortalidade.

Desde o primeiro ERV isolado em 1986, a percentagem de enterococos hospitalar com resistência à vancomicina aumentou 20 vezes nos últimos 20 anos, especialmente em pacientes em unidades de cuidados intensivos, com taxas relatadas de resistência à vancomicina variando internacionalmente de 0% a 35 %.

Essa mudança de status é, em parte, devido ao aumento do uso de antibióticos em hospitais de todo o mundo; os antibióticos podem causar alterações na microbiota intestinal de pacientes, e essas mudanças causam alterações posteriores no sistema imunitário local. Os enterococos tiram proveito desse fenômeno e "conquistam" um nicho no TGI, e esse nicho é a fonte primária de organismos que causam as infecções enterocócicas.

Dentro do gênero *Enterococcus*, o *E. faecium* emergiu como o organismo terapeuticamente mais desafiador. Nesta espécie, muitas das diferenças entre os clones hospitalar e comunitário surgiram muito antes do hospital moderno. Apesar de 85-90 % de isolados clínicos serem de *E. faecalis*, a maioria dos ERV é *E. faecium*. No Hospital de Clínicas de Porto Alegre, a grande maioria das bacteremias por ERV são causadas por *E. faecium*.

Esse estudo mostrou que havia uma incidência significativa de bacteremia por EFRV em pacientes com tumores sólidos e hematológicos como anteriormente descritos em outros estudos. Além disso, bacteremia por EFRV comprometeu principalmente pacientes de UTI com alta pontuação de escore APACHE-II. Embora a resistência à linezolida, daptomicina e quinopristina- dalfopristina tem sido relatada em isolados de EFRV, os dados de isolados desse estudo mostram que permaneceram altamente susceptíveis a estes antibióticos.

Em resumo, nossos dados fornecem evidências adicionais de que EFRV é uma importante causa de mortalidade em pacientes criticamente doentes, especialmente com tumores sólidos e hematológicos e com insuficiência renal no ambiente de UCI.

Apesar da ampla susceptibilidade às alternativas antimicrobianas contra EFRV, incluindo linezolid e daptomicina, terapia com agentes ineficazes para infecções de corrente sanguínea por EFRV contribuiu para o mau resultado dos pacientes.

Estudos futuros devem dissecar o mecanismo pelo qual os enterococos podem colonizar o trato gastrointestinal e deve, então, concentrar-se sobre as formas de reduzir ou evitar esta colonização. Estratégias que incluam abordagens imunológicas para prevenir a infecção em face da colonização devem ser exploradas.

Além disso, a elucidação dos mecanismos de resistência aos antibióticos mais recentes deve render um racional importante para o desenvolvimento de futuras opções terapêuticas. Estratégias adicionais como combinação terapêutica e abordagem imunológica também podem ser consideradas.

Para o futuro próximo, no entanto, os enterococos continuarão a ser um importante problema hospitalar. Assim, o estudo continuado da biologia e da genética dos enterococos se justifica e será, sem dúvida, contributivo para a nossa compreensão da evolução bacteriana, bem como das complexas interações entre o hospedeiro e a flora bacteriana residente que é uma fonte comum de infecções nosocomiais.