



ARTIGO ORIGINAL

Prevalência de *Haemophilus influenzae* resistentes a ampicilina, cefaclor, cefotaxime, cloranfenicol e cotrimoxazol isolados de laboratórios na cidade de São Paulo

Prevalence of Haemophilus influenzae resistant to ampicillin, cefaclor, cefotaxime, chloramphenicol and cotrimoxazol isolated from laboratories in the city of São Paulo, Brazil

Luis C. Rey¹, Calil K. Farhat²

Resumo

Objetivo: Determinar a resistência à ampicilina e outros antimicrobianos de amostras de *H. influenzae* isoladas de diferentes materiais clínicos.

Métodos: As amostras de *H. influenzae* foram identificadas por cultura com fatores V e X e prova do ácido amino-levulínico. A produção de β-lactamase (βLac) foi detectada pela nitrocefina. A sensibilidade aos antimicrobianos foi testada por difusão do disco e diluição em meio sólido. O sorotipo b foi testado por coaglutinação.

Resultados: De 245 *H. influenzae* identificados, 155 foram testados para o sorotipo b e 28% (43/155) mostraram-se positivos. A taxa global de amostras βLac-positivas foi de 9% (22/245). A resistência no sorotipo b (11,6%) não diferiu das amostras não-tipáveis (9,8%) ($p>0,05$). Tampouco houve diferença de produção de βLac quanto à origem do material e à idade dos pacientes. As resistências a outros antimicrobianos foram (por diluição em meio sólido e difusão pelo disco, respectivamente): cloranfenicol 3,3 e 7,1%; cefaclor: 1,6 e 3,9%; cotrimoxazol: 9,1 e 10,5%. Não foi detectada resistência ao cefotaxime; 63% (5/8) das amostras βLac-positivas foram resistentes ao cloranfenicol pelo método das diluições, contra apenas 3% (4/118) entre as βLac-negativas ($p<0,001$).

Conclusões: A resistência de *H. influenzae* à ampicilina mostrou-se inferior à referida em estudos de base hospitalar em São Paulo e comparável com as taxas encontradas em pacientes externos. A associação das resistências à ampicilina e ao cloranfenicol foi significativa e, onde este padrão prevalecer, o tratamento inicial de infecções severas por *H. influenzae* - como meningites - deveria compreender uma cefalosporina de terceira geração.

J. pediatr. (Rio J.). 1997; 73(1):26-31: infecções por Haemophilus influenzae, resistência à ampicilina, cloranfenicol, beta-lactamase.

Abstract

Objective: To determine *Haemophilus influenzae* resistant to ampicillin and other antibiotics isolated from different clinical specimens.

Methods: Isolates of *H. influenzae* were identified by culture with V and X factors and the aminolevulinic test. Nitrocefin was used to detect beta-lactamase (βLac) production isolates were tested for antimicrobial susceptibility by disc diffusion and agar dilution methods. Serotype b was assessed by slide co-agglutination.

Results: From 245 *H. influenzae* identified, 155 were tested for serotype b, 28% (43/155) of which were positive. The global rate of β-lactamase-positive isolates was 9% (22/245). Resistance was similar among serotype b (11.6%) and non-type b *H. influenzae* (9.8%) ($p>0.05$). No difference on βLac production was found according to specimen's origin or the patients' age.

Resistances to other antibiotics (by agar dilution and disc diffusion method, respectively) were: chloramphenicol 3.3 to 7.1%; cefaclor: 1.6 to 3.9% and cotrimoxazol: 9.1 to 10.5%. No resistance to cefotaxime has been detected; 63% (5/8) β-Lac-positive isolates by agar dilution showed also resistance to chloramphenicol, compared to 3% (4/118) in the β-Lac-negative group ($p<0.001$).

Conclusions: *H. influenzae* ampicillin-resistance has shown to be lower than other hospital-based-studies in São Paulo, and comparable to rates found in healthy carriers. The association between ampicillin and chloramphenicol resistance was significant: where this pattern is frequently found, the initial therapy for severe *H. influenzae* infections - like meningitis - should include a third generation cephalosporin.

J. pediatr. (Rio J.). 1997; 73(1):26-31: Haemophilus influenzae infections, ampicillin resistance, chloramphenicol, beta-lactamase.

1. Mestre em Pediatria pela Escola Paulista de Medicina (UNIFESP/ EPM), Pediatra do Hospital Infantil Albert Sabin, Fortaleza (SESA-CE) e do HU Walter Cantídio da UFC.

2. Professor titular do Departamento de Pediatria da EPM- Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP.

* Tese de Mestrado do Departamento de Pediatria da Universidade Federal de São Paulo.

Introdução

As infecções por *Haemophilus influenzae* (*H. Influenzae*) podem ocorrer por disseminação hematogênica ou por contigüidade. O sorotipo capsular b (Hib) é responsável pelas infecções hematogênicas, das quais a meningite

é a mais freqüente e ocorre predominantemente em crianças menores de 5 anos de idade¹. As cepas não-capsuladas causam infecções superficiais que afetam o trato respiratório superior, conjuntivas e o trato gênito-urinário, em qualquer faixa etária².

A resistência do *H. influenzae* à ampicilina foi comprovada inicialmente em 1972³. Ela se deve à produção bacteriana de uma enzima β -lactamase (β Lac), que destrói o núcleo ativo de benzilpenicilinas e cefalosporinas de primeira geração. Esta resistência enzimática estaria codificada nos suportes genéticos extra-cromossômicos, os plasmídios⁴⁻⁶.

A prevalência de *H. influenzae* resistentes à ampicilina foi alvo de extensos levantamentos multicêntricos em diversos países⁷⁻¹⁰; as taxas mostraram variações de 6 a 60% segundo os países e o período de estudo, a exemplo dos EUA, cuja resistência variou de 15,2 em 1984 para 20,0 em 1986.

A Organização Mundial da Saúde pesquisou o padrão de resistência à ampicilina em 426 amostras de *H. influenzae* isoladas de crianças em 11 países em desenvolvimento (duas amostras brasileiras), sendo a resistência média de 6%¹¹.

Em outros estudos realizados no Brasil, as taxas de resistência de *H. influenzae* à ampicilina variaram de 16 a 60%. O número de espécimes analisados foi pequeno e não houve detecção de atividade de β Lac¹²⁻¹⁵.

O objetivo deste estudo foi determinar a taxa de *H. influenzae* resistentes à ampicilina e outros antimicrobianos e correlacioná-la com a idade do paciente, a origem do material e o sorotipo b.

Material e Métodos

Isolamento e identificação

Por conveniência dos autores, foram escolhidos arbitrariamente como fonte dos materiais os seguintes laboratórios de Microbiologia de São Paulo: Instituto Emilio Ribas de Infectologia, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP, Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, Universidade Federal de São Paulo, Lab. Lavoisier e Lab. Integrado de Análises Clínicas. As colônias foram ressemeadas em ágar-chocolate enriquecido com fatores V e X a 1%. A identificação de espécie foi realizada pelo estudo do crescimento em meios seletivos contendo apenas fator V (nicotinamida adenina dinucleotídeo) ou fator X (heme ou hemina) e pela prova do ácido aminolevulínico (ALA)¹⁶. A presença de cápsula foi verificada pelo método de coaglutinação em lâmina (Pharmacia) ou pelo soro anticapsular específico do sorotipo b (Difco)¹⁷.

Detecção de β -lactamase

Para a identificação rápida dos *H. influenzae* resistentes à ampicilina, utilizou-se o teste da nitrocefina (Cefina-

se BBL), uma cefalosporina cromógena que vira vermelho em presença de β Lac¹⁸.

Testes de sensibilidade

A sensibilidade aos antimicrobianos foi testada pelo método do disco de Kirby e Bauer modificado¹⁹. Os diâmetros limites dos halos (em mm) para a ampicilina foram: Resistente (R) ≤ 19 , Sensível (S) ≥ 20 ; cefaclor: R ≥ 14 , S ≤ 18 ; cefotaxime: R ≤ 14 , S ≥ 18 ; cloranfenicol R ≤ 12 , S ≥ 18 ; Cotrimoxazol: R ≤ 10 , S ≥ 16 .

A resistência a drogas também foi testada pelo método de diluição em meio sólido²⁰ em diversas amostras. As concentrações de antibiótico variaram de 0,08 a 10 μ g/ml. Considerou-se como Concentração Inibitória Mínima (CIM) a concentração de antimicrobiano que inibia 90% ou mais do crescimento bacteriano. As CIM indicadoras de resistência foram: 2,5 μ g/ml para ampicilina e 5 μ g/ml para cloranfenicol, cefaclor, cefotaxime e cotrimoxazol. Para controles de crescimento foram utilizadas as mesmas amostras em meio sem antibiótico.

Para análise estatística foram utilizados o teste de qui-quadrado para tabelas 2 x 2 x N e, quando necessário, o teste exato de Fisher. O limite de significância considerado (erro de tipo I) foi sempre de 5% ($p \leq 0,05$).

Resultados

Procedência das amostras

As amostras provenientes de laboratórios de Microbiologia da cidade de São Paulo foram colhidas no período entre 1989 e 1990. Os dados dos pacientes foram obtidos retrospectivamente do laboratório, assim o uso prévio de antimicrobianos e o estado clínico do paciente são ignorados.

Material de origem e sorotipos

Foram estudadas 245 amostras de *H. influenzae*, sendo 49 provenientes de líquido céfalo-raquidiano (LCR). Os materiais estão discriminados na Tabela 1.

De 225 amostras de pacientes com idade conhecida, 62% do total (139/225) e 100% (57/57) das isoladas a partir de líquido e sangue provieram de crianças com menos de 6 anos. Das amostras isoladas de líquido e sangue, a distribuição por ano de vida foi a seguinte: 49% até 1 ano, 82% até 2 anos e 91% até 3 anos de idade.

O sorotipo b foi testado em 155 amostras de *H. influenzae* e 28% foram positivas (Hib) (43/155), das quais 93% (40/43) provenientes de líquido e sangue, 1 de pulmão, 1 de conjuntiva e 1 de escarro.

Produção de β Lac

Nove por cento (22/245) das amostras foram β Lac-positivas (Tabela 1); para as amostras originárias de LCR, a taxa foi de 14,3% (7/49), mas essa diferença não foi significativa ($p = 0,15$).

Tabela 1 - Frequência de amostras de *H. Influenzae* produtores de beta-lactamase, segundo os materiais

Materiais	Nº de amostras	Produtoras de β -Lac	
		Nº	(%)
Líquor	49	7	(14,3)
Olho	46	3	(6,5)
Vias aéreas superiores*	42	2	(4,8)
Escarro	39	3	(7,7)
Vias aéreas inferiores**	23	2	(8,7)
Empiema pleural	3	2	(66,6)
Trato-gênito urinário***	26	2	(7,7)
Sangue	9	1	(11,1)
Outros****	8	0	(0,0)
Total	245	22	(9,0)

* Nariz, boca, faringe, seio da face e ouvido

** Traquéia, brônquios e pulmão

*** Vagina, uretra, esperma

**** Líquido ascítico (2 amostras) e origem desconhecida (6)

X²=16,13 p=0,04

Líquor vs demais materiais: NS

A resistência nos pacientes menores de 6 anos foi de 11,5% e de 5,8% naqueles com idade acima de 6 anos, diferença não significativa (p = 0,15).

A Tabela 2 mostra a distribuição do sorotipo b entre os diferentes materiais analisados. Observamos que todas as amostras de líquido foram do sorotipo b e houve apenas uma amostra isolada de sangue não-tipável.

Tabela 2 - Frequência de *H. influenzae* do sorotipo b segundo os materiais

Materiais	<i>H. influenzae</i>		
	Nº de amostras	sorotipo b	(%)
Líquor	35	35	(100)
Sangue	6	5	(83)
Pulmão/empiema pleural	3	1	(33)
Secr. ocular	14	1	(7)
Escarro	37	1	(3)
Outros	60	0	(0)
Total	155	43	(28)

X²= 1,93 p= NS

Líquor vs demais materiais: p<0,001

Dos 157 pacientes com idade conhecida, o sorotipo b foi isolado exclusivamente de 57 crianças menores de 6 anos de idade, segundo a distribuição da Tabela 3.

De 155 amostras sorotipadas, houve resistência em 11,6% (5/43) no sorotipo b e em 9,8% (11/112) no grupo não-tipável, não havendo diferença significativa entre os dois grupos (p = 0,47).

Resistência do H. influenzae aos antimicrobianos in vitro

A Tabela 4 mostra a distribuição de amostras segundo a resistência a cada antimicrobiano (pelos métodos de diluição em ágar e difusão do disco). Observamos que não houve resistência ao cefotaxime entre as amostras. Os dois métodos foram equivalentes para avaliar a resistência aos antimicrobianos. Os valores da resistência pelo método de diluição em ágar foram geralmente menores em relação ao método de difusão pelo disco.

A Tabela 5 mostra a distribuição das amostras bacterianas (produtoras ou não de β Lac) segundo as CIM dos antibióticos.

Tabela 3 - Distribuição das amostras de *H. influenzae* isoladas de líquido e sangue em crianças, segundo a idade

Idade em meses	<i>H. influenzae</i>	
	Nº de Amostras	(%)
0 a 11	28	(49,1)
12 a 23	19	(33,3)
24 a 35	5	(8,8)
36 a 47	3	(5,3)
48 a 59	1	(1,7)
60 a 72	1	(1,7)
Total	57	(100,0)

Cepas multirresistentes

Uma associação significativa das resistências à ampicilina e ao cloranfenicol foi observada. Das 8 amostras β Lac-positivas testadas, 63% (5/8) foram resistentes ao cloranfenicol pelo método de diluição, contra apenas 3% (4/118) entre as amostras negativas (p<0,001). Pelo método do disco, de 16 β Lac-positivas, 31% foram resistentes ao cloranfenicol (p<0,01).

Não houve correlação significativa entre produção de β Lac e resistência ao cotrimoxazol em 42 amostras testadas pelo método de diluições (p=0,75).

Discussão

Os materiais aqui estudados foram originários de laboratórios da cidade de São Paulo, constituindo uma seleção amostral indicativa, do ponto de vista epidemiológico, da prevalência de *H. influenzae* resistentes na cidade de São Paulo. Estudos colaborativos mais abrangentes são necessários para maior representatividade da amostra.

A importância deste estudo se deve ao fato de ser o Hib um importante patógeno da infância, agente de infecções severas como meningite e pneumonia. Neste estudo, a

Tabela 4 - Resistência de *H. influenzae* a diversos antimicrobianos segundo os métodos de diluição em meio sólido e de difusão pelo disco

Anti-Microbianos	Métodos				P
	Diluição		Disco		
	N	Resistentes (%)	N	Resistentes (%)	
Ampicilina	126	9 (7,1)	184	17 (9,2)	NS
Cefaclor	123	2 (1,6)	181	7 (3,9)	NS
Cefotaxime	123	0 (0,0)	182	0 (0,0)	-
Cloranfenicol	126	9 (7,1)	182	6 (3,3)	NS
Cotrimoxazol	42	4 (9,5)	118	12 (10,1)	NS

origem das amostras reflete a variedade de locais do organismo onde pode ocorrer colonização ou infecção por *H. influenzae*.

Utilizamos para sorotipagem unicamente o antissoro tipo b. Reações negativas podem ser por germes não-capsulados ou de sorotipos raros. É descrito que mais de 95% dos *H. influenzae* não-b não possuem cápsula⁸.

A distribuição dos germes capsulados por idade em nosso estudo confirma a prevalência da infecção em crianças menores de 6 anos²¹.

Não obtivemos, neste estudo, correlação significativa entre a resistência à ampicilina e a idade do paciente. Berardi-Grassias e cols.²², estudando 148 amostras de hospitais gerais, encontraram 20% de resistência à ampicilina em crianças e 8,2% em adultos ($p < 0,001$). Segundo Doern e cols.⁸, quase 30% de toda a resistência enzimática ocorreu em pacientes entre 2 meses e 2 anos de idade.

Sobressai neste trabalho, como em outros da literatura, a boa correlação entre resistência à ampicilina e a prova de β Lac pelo teste da nitrocefina²³, tornando mais rápida a decisão sobre o uso ou não da ampicilina.

Em função da pluralidade de laboratórios fornecedores de amostras, a variação da resistência no período de coleta não foi avaliada. Mason e cols.²⁴, pesquisando mensalmente por 3 anos *Haemophilus* resistentes no Texas, encontraram variação de 0 a 63%, com média de 21,4%. As taxas de resistência são afetadas pelo uso de antimicrobianos, internamento hospitalar, institucionalização, etc.

A resistência dos Hib (11,6%) foi comparável à dos *H. influenzae* não-tipáveis (9,8%). Mason não encontrou diferença estatística entre germes capsulados (21,8%) e não-capsulados (13%)(24). Nos estudos dos EUA, foi comprovada a maior resistência à ampicilina de amostras sorotipo b em relação às não-tipáveis^{8,9}.

Tabela 5 - Frequências de *H. influenzae* produtores e não produtores de beta-lactamase, segundo as Concentrações Inibitórias Mínimas

Anti-Microbianos	Produção de β Lac	Concentrações Inibitórias Mínimas (g/ml)									P
		<0,08	0,08	0,16	0,3	0,6	1,25	2,5	5,0	$\geq 10,0$	
Ampicilina	sim	0	0	0	0	0	1	2	3	2	<0,001
	não	6	14	39	32	20	6	1	0	1	
Cefaclor	sim	0	0	0	1	4	2	0	0	0	NS
	não	3	2	2	23	52	27	5	2	0	
Cefotaxime	sim	4	3	0	0	0	0	0	0	0	NS
	não	71	38	5	2	0	0	0	0	0	
Cloranfenicol	sim	0	1	2	1	0	0	0	3	2	<0,001
	não	10	5	34	35	25	5	0	3	1	
Cotrimoxazol	sim	0	1	0	0	0	1	0	0	0	NS
	não	7	8	5	3	7	4	2	4	0	

As amostras β Lac-positivas foram sensíveis ao cefaclor e ao cefotaxime pelo método de diluições em placas, demonstrando a eficácia desta cefalosporina em cepas produtoras de β Lac.^{7,8,25}. Pelo método do disco, 19% (3/16) das amostras β Lac-positivas foram moderadamente resistentes ao cefaclor ($p=0,01$).

Destacamos neste estudo que 63% dos *H. influenzae* produtores de β -Lac foram igualmente resistentes ao cloranfenicol. Diversos trabalhos relatam a presença de *H. influenzae* multirresistentes. A maior casuística é de Campos e cols., na Espanha, que isolaram 77 amostras resistentes à ampicilina, cloranfenicol, cotrimoxazol e outras drogas, de pacientes infectados e contatos. Todas foram sensíveis às cefalosporinas de terceira geração^{26,27}.

Dados sobre cepas multirresistentes têm importância para se decidir qual a terapêutica inicial nas meningites por Hib, sobretudo onde a associação de ampicilina e cloranfenicol ainda é amplamente utilizada. Em locais onde ocorra a associação de resistências, o tratamento inicial deve incluir uma cefalosporina de terceira geração.

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a terapêutica padronizada das pneumonias com cotrimoxazol, amoxicilina ou cloranfenicol só deve ser modificada caso a resistência bacteriana a essas drogas em dada região seja próxima de 25%. Por esta razão, a pesquisa sistemática dos padrões de resistência de *H. influenzae* e *S. pneumoniae* constituem parte integral do programa de infecções respiratórias agudas (IRA) em nível mundial²⁸.

Agradecimentos

Aos Profs. Luís R. Trabulsi, Igor M. Mimica e Regina C. M. Succi (orientação metodológica e revisão); aos laboratórios de Bacteriologia do HC da FMUSP, da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de Misericórdia-SP e do Instituto de Infectologia Emílio Ribas, Laboratórios Probac, Liac e Lavoisier (cessão de espécimes, material e instalações). Estudo parcialmente financiado pelo laboratório Eli Lilly do Brasil.

Referências bibliográficas

1. Turk CD. The pathogenicity of *Haemophilus influenzae*. J Med Microbiol 1984; 18:1-16.
2. Gilsdorf JR. *Haemophilus Influenzae* non-type B infections in Children. Am J Dis Child 1987;141:1063-5.
3. Shackelford PG, Bobinski JE, Feigin RD, Cherry JD. Therapy of *Haemophilus influenzae* reconsidered. N Engl J Med 1972; 28:634-8.
4. Thomas WJ, McReynolds JM, Mock CR, Bailey DW. Ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* meningitis. Lancet 1974; i:313.
5. Saunders JR, Elwell LP, Falkow S, Sykes RB, Richmond MH. Beta-lactamases and R-plasmids in *Haemophilus influenzae*. Scand J Infect Dis 1978;13:16-22.
6. Powell, M. Antimicrobial resistance in *Haemophilus influenzae*. J Med Microbiol 1988;27:81-7.
7. Doern GV, Jorgensen JH, Thornsberry C, Preston DA. Prevalence of antimicrobial resistance among clinical isolates of *Haemophilus influenzae*: a collaborative study. Diagn Microbiol Infect Dis 1986;4:95-107.
8. Doern GV, Jorgensen JH, Thornsberry C, Preston DA. National collaborative study of the prevalence of antimicrobial resistance among clinical isolates of *Haemophilus influenzae*. Antimicrob Agents Chemother 1988;32:180-5.
9. Powell M, Williams JD. In-vitro activity of cefaclor, cephalexin and ampicillin against 2458 clinical isolates of *Haemophilus influenzae* in United Kingdom laboratories. J Antimicrob Chemother 1988;21:27-31.
10. Nissinen A, Herva E, Katila ML, Kontiainen S, Liimatainen O, Oinonen S, Takala AK, Huovinen P. Antimicrobial resistance in *Haemophilus influenzae* isolates from blood, cerebrospinal fluid, middle ear fluid and throats samples from children. A nationwide study in Finland in 1988-1990. Scand J Infect Dis 1995;27:57-61.
11. Weinberg GA, Spitzer ED, Murray PR, Ghafoor A, Montgomery J, Tupasi TE, Granoff DM, and the BOSTID Group of *Haemophilus* sensibility study. Antimicrobial susceptibility patterns of *Haemophilus* isolates from children in eleven developing nations. Bol Of Sanit Panam 1990;109:145-51.
12. Carvalho ES, Costa CS, Niskier H, Focaccia R, Esper MRR, Lee IL, Raskin M, Farhat CK. *Haemophilus* resistentes à ampicilina. In: Congresso Brasileiro de Pediatria, 20, R. de Janeiro: SBP, 1977:85-6.
13. Lopes Filho O, Mimica I, Castro Jr NP, Mimica LJ, Macedo HH de, Silva LG da, Godinho JC. Etiologia e antibioticoterapia na otite média aguda bacteriana supurativa na criança. Clin Pediatr (R. de Janeiro) 1982; 6:60-6.
14. Santos VP dos. Estudo da prevalência de portadores sadios de *Haemophilus influenzae* tipo B e sua importância epidemiológica. São Paulo: Escola Paulista de Medicina, 1987:107.
15. Sokolowski W, Branchini OG, Campeas AE et al. Concentração inibitória mínima de ampicilina em meningites por *Haemophilus influenzae*. In: Congresso Brasileiro de Infecologia Pediátrica, 3, B. Horizonte, 1982:148.
16. Kilian M. A rapid method for the differentiation of *Haemophilus* strains. The Porphyrin Test. Acta Pathol Microbiol Scand 1974; 82:835-42.
17. Shively RG, Shigei JT, Peterson EM, Maza LM De La. Typing of *Haemophilus influenzae* by coagglutination and conventional slide agglutination. J Clin Microbiol 1981; 14:706-8.
18. O'Callaghan CH, Morris A, Kirby SM, Shingler AH. Novel method for detection of β -lactamases by using a chromogenic cephalosporin substrate. Antimicrob Agents Chemother 1972; 1:283-8.
19. Acar JF & Goldstein, FW. Disk susceptibility test. In: Lorian V. Antibiotics in Laboratory Medicine. 2ª ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1986:27-63.
20. Barry AL. Procedures for testing antimicrobial agents in agar media: theoretical considerations. In: Lorian V (ed.) Antibiotics in laboratory Medicine. 2ª ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1986:1-26.

21. Farhat CK, Stoco JM, Lopes OJLR et al. Meningites na infância. Estudo de 2072 casos.II. Distribuição segundo a faixa etária. In: Congresso Brasileiro de Infectologia Pediátrica, 7. Rio de Janeiro: Anais, 1990:29.
22. Berardi-Grassias LD, Boisivon A, Bigel ML. Étude de la sensibilité à l'ampicilline des 148 souches d'*Haemophilus influenzae* isolées dans deux hôpitaux généraux. Path Biol 1987; 5:523-5.
23. Qadri SMH, Perryman F, Flournoy DJ, Silva MI de. Detection of beta-lactamase producing bacteria by Cefinase: comparison with three other methods. Zbl Bakt Hyg I Abt Orig A 1983; 255:489-93.
24. Mason EO, Kaplan SL, Lamberth LB et al. Serotype of ampicillin susceptibility of *Haemophilus influenzae* causing systemic infections in children: 3 years of experience. J Clin Microbiol 1982; 15:543-6.
25. Powell m, Seeltusingh P, Williams JD. In-vitro susceptibility of *Haemophilus influenzae* to meropenem compared with imipenem, five other beta-lactams, chloramphenicol and ciprofloxacin. J Antimicrob Chemother 1989; 24:175-81.
26. Campos J, Garcia-Tornel S, Sanfeliu I. Susceptibility studies of multiply resistant *Haemophilus influenzae* isolated from pediatric patients and contacts. Antimicrob Agents Chemoter 1984; 25:706-9.
27. Campos J, Chanyangam M, Degroot R, Smith AL, Tenover FC, Reig R. Genetic relatedness of antibiotic resistance determinants in multiply resistant *Haemophilus influenzae*. J Infect Dis 1989; 160:810-7.
28. Schwartz B & Facklam RR. Manual for the National Surveillance of Antimicrobial Resistance of *S. pneumoniae* and *H. influenzae*: Epidemiological and Microbiological methods. Geneva, Atlanta: World Health Organization, Centers for Disease Control 1994:24-25.

Endereço para correspondência:

Rua Dr. José Lourenço, 2706, apto.801

CEP 60.115-282 - Fortaleza, Ceará

Fax: (085) 227.85.10

E-mail: reyfonte@fortalnet.com.br