

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE  
CENTRO DE BIOCÊNCIAS  
CURSO DE BIOMEDICINA**

**MARÍLIA VIRGO SILVA ALMEIDA**

**PERFIL ETIOLÓGICO DE COCOS GRAM POSITIVOS ISOLADOS DE CULTURA  
DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA DE RESISTÊNCIA**

Natal  
Dezembro de 2016

PERFIL ETIOLÓGICO DE COCOS GRAM POSITIVOS ISOLADOS DE CULTURA  
DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA DE RESISTÊNCIA

por

Marília Virgo Silva Almeida

Monografia Apresentada à  
Coordenação do Curso de  
Biomedicina da Universidade  
Federal do Rio Grande do Norte,  
como Requisito Parcial à Obtenção  
do Título de Bacharel em  
Biomedicina.

Orientador: Prof. Dr. Renato Motta Neto

Natal  
Dezembro de 2016

Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN  
Sistema de Bibliotecas - SISBI  
Catalogação de Publicação na Fonte. UFRN - Biblioteca Setorial do Centro de Biociências - CB

Almeida, Marília Virgo Silva.

Perfil etiológico de Cocos Gram Positivos isolados de cultura de vigilância epidemiológica de resistência / Marília Virgo Silva Almeida. - Natal, 2016.

56 f.: il.

Monografia (Graduação) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Biociências. Curso de Biomedicina.

Orientador: Prof. Dr. Renato Motta Neto.

1. Infecção hospitalar - Monografia. 2. ORSA - Monografia. 3. ORSCN - Monografia. 4. Cultura de vigilância - Monografia. 5. Multirresistência - Monografia. I. Motta Neto, Renato. II. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. III. Título.

RN/UF/BSE-CB

CDU 616-022.3:614.21

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE  
CENTRO DE BIOCÊNCIAS  
CURSO DE BIOMEDICINA**

A Monografia Perfil Etiológico de Cocos Gram Positivos Isolados de Culturas de Vigilância Epidemiológica de Resistência

elaborada por Marília Virgo Silva Almeida

e aprovada por todos os membros da Banca examinadora foi aceita pelo Curso de Biomedicina e homologada pelos membros da banca, como requisito parcial à obtenção do título de

**BACHAREL EM BIOMEDICINA**

Natal, 09 de Dezembro de 2016

**BANCA EXAMINADORA**

---

Nome do Orientador (Departamento)

---

Nome do Professor Examinador 1 (Departamento)

---

Nome do Professor Examinador 2 (Departamento)

## **AGRADECIMENTOS**

Obrigada:

Aos meus pais e familiares, pelo apoio e bons conselhos.

Ao meu namorado, pelo carinho e por tornar minha vida mais leve.

Aos meus amigos, por estarem comigo em todos os momentos.

À todos do laboratório LABMIC que me ajudaram e tornaram os dias de trabalho mais divertidos.

## RESUMO

ALMEIDA, M.V.S. Perfil Etiológico de Cocos Gram Positivos Isolados de Culturas de Vigilância Epidemiológica de Resistência. 2016. 56 fls. Monografia (Graduação). Universidade Federal Do Rio Grande do Norte, Natal, 2016.

O estudo foi realizado com o objetivo de identificar a prevalência de colonização pelo *Staphylococcus* spp. e *Enterococcus* spp. em pacientes internados em unidades de terapia intensiva (UTIs) de dois hospitais ligados à Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), bem como avaliar o perfil de resistência dos *Staphylococcus* spp. isoladamente. Para isso, foi realizado um estudo descritivo, no qual foram coletadas amostras biológicas de swabs retal, nasal e axilar. Após a coleta, estas foram repicadas em caldo BHI (Brain Heart Infusion) e encaminhadas para o LABMIC. A identificação dos cocos Gram Positivos foi realizada por meio do semeio em Ágar-sangue, Ágar manitol-salgado e através dos testes de catalase e coagulase, conforme recomendado por Koneman et al., 2008. O perfil de sensibilidade foi determinado pela técnica de Kirby Bauer e para determinação da resistência à oxacilina foi realizado o screening em placa com oxacilina com adição de 4% de NaCl e o teste da disco difusão com discos de cefoxitina e oxacilina como recomenda o CLSI 2016. Dos 114 pacientes avaliados, 100 encontravam colonizados por cocos Gram Positivos, o que demonstrou uma prevalência de 87,7%. Para o *S. aureus*, 71,4% foram ORSA. Todas as cepas ORSA foram isoladas de cultura poli microbiana e todas foram resistentes à penicilina e à ciprofloxacina e sensíveis à clindamicina, eritromicina, teicoplanina, sulfa, cloranfenicol, linezolida e mupirocina. Para a gentamicina, 20% foram resistentes. Para SCN, 91% das cepas foram ORSCN e apenas uma foi negativa no teste do screening de oxacilina. Para a mupirocina, 19,1% foram resistentes. Torna-se necessária a rápida detecção laboratorial desses patógenos e seu perfil de resistência assim como a adoção de medidas rigorosas de prevenção e controle de disseminação.

**Palavras-chave:** ORSA, ORSCN, cultura de vigilância, multirresistência, infecção hospitalar, bactérias.

## ABSTRACT

ALMEIDA, M.V.S. Etiologic Profile of Cocci Gram Positives Isolated of Resistance Epidemiological Survival Cultures. 2016. 56 fls. Monograph (Undergraduate). Federal University of Rio Grande do Norte, Natal, 2016.

The study was carried out with the aim of identifying the colonization prevalence of *Staphylococcus* spp. and *Enterococcus* spp. isolated from patients admitted to intensive care units (ICUs) from two hospitals connected to the Federal University of Rio Grande do Norte (UFRN). Furthermore, this study also intend to evaluate the resistance profile of *Staphylococcus* spp. got from those units. During the research, a descriptive study was made, using biological samples of rectal, nasal and axillary swabs from those patients. After collecting, all the samples were spiked in BHI broth and sent to LABMIC. The identification of gram positive cocci was performed by showing positivity on blood agar, mannitol-salted agar and through the catalase and coagulase tests as recommended by Koneman et al., 2008. The sensitivity profile was determined by the Kirby Bauer technique and the oxacillin resistance determination was performed with oxacillin in addition of 4% NaCl and the disc diffusion test with cefoxitin and oxacillin disks as recommended by the CLSI 2016. From 114 patients evaluated, 100 were colonized by gram positive cocci, which showed a prevalence of 87.7% of the bacteria. On the other hand, for *S. aureus* 71.4% were positive for ORSA. All strains of *S. aureus* were isolated from poly microbial culture all of them were observed to be resistant to penicillin and ciprofloxacin and all were sensitive to clindamycin, erythromycin, teicoplanin, sulfa, chloramphenicol, linezolid and mupirocin whereas 20% were resistant to gentamicin. For SCN, 91% of the strains were ORSCN and just one strain was negative in the oxacillin screening test. For mupirocin, 19.1% were resistant. Therefore, it is extremely necessary the efficacy laboratory detection of these pathogens and their resistance profile as well as the adoption of strict measures of prevention and control against dissemination.

**Key words:** ORSA, ORSCN, surveillance culture, multiresistance, hospital infection, bacteria.

## LISTA DE ABREVIATURAS

UTI: Unidades de Terapia Intensiva

MDRO: “*multidrug-resistant organisms*”

CCIH: comissão de controle da infecção hospitalar

ORSA: *Staphylococcus aureus* resistente à oxacilina

NHSN: *National Healthcare Safety Network*

ECDC: “*European Centre for Disease Prevention and Control*”

SCN: *Staphylococcus Coagulase Negativa*

BHI: Brain Heart Infusion Broth

BORSA: “*bordeline oxacillin-resistant S. aureus*”

MODSA: “*modified penicillin-binding protein S. aureus*”

PBP: “*penicillin binding proteins*”

CLSI: “*Clinical and Laboratory Standards Institute*”

MRSA: *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina

GRSA: *Staphylococcus aureus* resistentes aos glicopeptídeos

NARSA: “*Network on Antimicrobial Resistance in Staphylococcus aureus*”

NIAID: “*National Institute of Allergy and Infectious Diseases*”

VRE: *Enterococcus* spp. resistente à vancomicina

VRSA: *Staphylococcus aureus* resistente à vancomicina

OMS: Organização Mundial da Saúde

RDC: Resolução da Diretoria Colegiada

UFRN: Universidade Federal do Rio Grande do Norte

HUOL: hospital Onofre Lopes

HGT: Hospital Giselda Trigueiro

LABMIC–DMP-CB-UFRN: Laboratório de Microbiologia – Departamento de Microbiologia e Parasitologia – Centro de Biociências – Universidade Federal do Rio Grande do Norte

MIC: concentração inibitória mínima

MH: ágar Muller-Hinton

ORSCN: *Staphylococcus coagulase negativa* resistente à oxacilina

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

EPI: Equipamento de Proteção Individual

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Frequência de Cocos Gram Positivos.....	30
Gráfico 2: Resistência mediante <i>S. aureus</i> à oxacilina .....	31
Gráfico 3: Cultura poli microbiana em cepas ORSA.....	32
Gráfico 4: Perfil de resistência de <i>S. aureus</i> aos antimicrobianos testados .....	33
Gráfico 5: Resistência mediante SCN à oxacilina .....	34
Gráfico 6: Resistência do SCN à mupirocina .....	34

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Antibiograma com discos de gentamicina (gen), sulfa (sut), cloranfenicol (clo), penicilina (pen) e teicoplanina (tec). .....27
- Figura 2: Teste da disco difusão com discos de cefoxitina e oxacilina junto com antibiograma.....28
- Figura 3: Teste do oxa-25: Apenas a cepa 02 é negativa. As cepas 03, 08 e 10 são positivas, sendo a cepa 03 com maior crescimento bacteriano. ....29

## LISTA DE ANEXOS

Anexo 1 .....	54
---------------	----

## ÍNDICE

<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	8
<b>LISTA DE GRÁFICOS</b> .....	9
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	10
<b>LISTA DE ANEXOS</b> .....	11
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	13
1.1. Cultura de vigilância epidemiológica.....	13
1.2. Bactérias Multirresistentes e infecções hospitalares.....	13
1.3. Presença de bactérias resistentes em objetos inanimados e no corpo de profissionais de saúde como fator de risco para colonização e infecção de pacientes .....	15
1.4. Cocos Gram Positivos .....	16
1.4.1. <i>Staphylococcus</i> spp. ....	16
1.4.2. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	17
1.4.3. <i>Staphylococcus coagulase negativa</i> .....	18
1.4.4. Tipos de resistência dos cocos Gram Positivos .....	19
1.4.5. Histórico de resistência dos cocos Gram Positivos .....	21
1.5. Ações de controle de surtos e infecções .....	22
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	24
2.1. Geral .....	24
2.2. Específicos.....	24
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	25
3.1. Coleta e Transporte .....	25
3.2. Identificação de Cocos Gram Positivos .....	25
3.3. Antibiograma.....	26
3.4. Testes de Resistência.....	27
3.4.1. Teste da disco-difusão .....	27
3.4.2. Teste do Oxa-25.....	28
3.5. Estoque e preservação de microrganismos isolados.....	29
<b>4. RESULTADOS</b> .....	30
4.1. Cocos Gram Positivos .....	30
4.1.2. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	31
4.1.3. <i>Staphylococcus coagulase negativa</i> .....	33
<b>5. DISCUSSÃO</b> .....	35
5.1. Prevalência de cocos Gram Positivos isolados.....	35

5.2.	Espécime clínico onde os Cocos Gram Positivos foram isolados .....	35
5.3.	Resistência do <i>Staphylococcus aureus</i> à oxacilina .....	36
5.4.	<i>Staphylococcus aureus</i> x Cultura poli microbiana .....	38
5.6.	Resistência do <i>Staphylococcus coagulase negativa</i> à oxacilina .....	41
5.7.	<i>Staphylococcus coagulase negativa</i> x teste do Oxa-25 .....	42
5.8.	Resistência do <i>Staphylococcus coagulase negativa</i> à mupirocina .....	43
5.9.	Opções terapêuticas .....	44
5.10.	Medidas profiláticas no contexto das infecções hospitalares e resistência bacteriana .....	44
<b>6.</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>46</b>
<b>7.</b>	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>47</b>
<b>8.</b>	<b>ANEXOS</b> .....	<b>54</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Esse estudo foi feito concomitantemente a um trabalho de mestrado realizado pela mestranda Mayara Bastos no LABMIC-DMP-CB-UFRN, que tinha como objetivo determinar o perfil de resistência mediante os Cocos Gram Positivos e Bacilos Gram Negativos isolados de culturas de vigilância epidemiológica de dois hospitais do Estado. Dessa forma, puderam-se obter informações a respeito das bactérias Gram Negativas isoladas, apesar de que o foco do estudo é apenas para as espécies Gram Positivas. No total foram isoladas 341 bactérias, sendo 220 Gram Negativas e 121 Gram Positivas.

### 1.1. Cultura de vigilância epidemiológica

As culturas de vigilância epidemiológica são um conjunto de técnicas de isolamento e identificação de microrganismos resistentes realizadas para diagnosticar pacientes colonizados ou infectados, que são reservatórios para disseminação desses microrganismos, a fim de implantar estratégias imediatas para o controle da infecção e se minimizar a transmissão para outros indivíduos, diminuindo a transmissão cruzada e o risco de desenvolvimento de infecções subsequentes.

Estudos mostram que é útil a realização de culturas de vigilância epidemiológica para conhecer a real dimensão do problema da resistência nas unidades de saúde. No entanto, essa prática apenas é mais enfaticamente recomendada em situação de surto, em endemias sem controle com medidas protocolares ou em populações de risco, pois essas culturas de vigilância consomem recursos materiais e humanos e têm alto custo (MORAES et al., 2013).

Nos laboratórios que trabalham com amostras hospitalares, dentre as culturas de vigilância epidemiológica para a detecção de mecanismos de resistência a antimicrobianos solicitados pela comissão de controle da infecção hospitalar (CCIH) para bactérias Gram Positivas, foi abordado neste trabalho a pesquisa de *Staphylococcus* spp. resistentes à oxacilina.

### 1.2. Bactérias Multirresistentes e infecções hospitalares

Os pacientes tornam-se infectados em um hospital, porque eles são prejudicados por suas doenças, ferimentos, incisões, cateteres inseridos,

traqueostomia e outros corpos estranhos. Os microrganismos que infectam são muitas vezes cepas nosocomiais mais resistentes e virulentas, como por exemplo, *Staphylococcus aureus* resistentes à oxacilina (ORSA), que circulam no ambiente hospitalar. Em relatório do *National Healthcare Safety Network* (NHSN), sistema voluntário de vigilância americano, um percentual substancial das infecções relacionadas à assistência à saúde era causado por microrganismos resistentes (KUPLICH et al., 2011).

As detecções de isolados multirresistentes é um importante fator no monitoramento das tendências de resistência e medidas de precauções e intervenções no programa de controle de infecção (OPLUSTIL, 2010).

Do ponto de vista epidemiológico, segundo o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (ECDC) de Atlanta, nos Estados Unidos, microrganismos multirresistentes são aqueles que apresentam não susceptibilidade adquirida a pelo menos um agente em Três ou mais categorias antimicrobianas (MAGIORAKOS et al., 2012).

As infecções relacionadas à assistência a saúde causadas por MDRO, são cada vez mais prevalentes nos hospitais. De acordo com a estimativa do ECDC, as infecções por MDRO atingem 1 em cada 20 pacientes hospitalizados. O aumento da morbidade e da mortalidade decorrente dessas infecções está diretamente relacionado ao difícil tratamento, em razão da pouca disponibilidade de drogas eficazes (MORAES et al., 2013). A Organização Mundial da Saúde acredita que as infecções hospitalares atinjam 14% dos pacientes internados no Brasil (LIMA et al., 2014).

A emergência de bactérias multirresistentes é consequência natural da pressão seletiva resultante do uso abusivo dos antimicrobianos, sendo um problema cada vez mais preocupante. Essa resistência aos antibióticos se desenvolve como uma natural consequência da habilidade da população bacteriana de se adaptar. Seu uso indiscriminado aumenta a pressão seletiva e, também, a oportunidade da bactéria ser exposta aos mesmos. Essa oportunidade facilita a aquisição de mecanismos de resistência, tornando-se um problema de saúde pública mundial, que afeta todos os países, desenvolvidos ou não.

Esses métodos de vigilância são empregados principalmente em ambientes que abriguem situações de maior risco ou impacto das infecções como em

berçários, Unidades de Terapia Intensiva (UTIs), unidades de cuidados a pacientes imunodeprimidos e unidades de diálise. As UTIs são consideradas epicentros de resistência bacteriana, sendo a principal fonte de surtos de bactérias multirresistentes.

A internação em UTI é um fator preditor para o surgimento de bactérias multirresistentes, sendo locais onde ocorrem muitos procedimentos invasivos e que concentram os pacientes clínicos e cirúrgicos mais graves internados nos hospitais, com taxas de infecção mais elevadas, o que leva a um amplo uso de antimicrobianos, fatores contribuintes para o aumento das infecções nosocomiais e da resistência bacteriana. Dessa maneira, as UTIs constituem o epicentro das infecções por MDRO, podendo haver disseminação para todo o hospital.

1.3. Presença de bactérias resistentes em objetos inanimados e no corpo de profissionais de saúde como fator de risco para colonização e infecção de pacientes

A presença de cepas resistentes não se faz presente apenas na colonização de pacientes, mas também está presente em objetos inanimados e partes do corpo de profissionais de saúde e de parentes de pacientes hospitalizados, o que também deve ser levado em consideração já que determina um fator de risco para a colonização e possível infecção dos pacientes. Esse fato pode ser observado em vários estudos em nosso meio. Em uma pesquisa feita em SP por Ferreira et al., 2011, foi avaliada a presença de *Staphylococcus aureus* resistente à oxacilina (ORSA) em superfícies próximas aos pacientes internados em uma Unidade de Terapia Intensiva Geral (grades direita/esquerda, manivela da cama, mesa, botões da bomba de infusão e aventais de algodão) e foi verificado que das 48 amostras positivas para *Staphylococcus aureus*, 29 (60,4%) foram resistentes à oxacilina. A incidência em grades e manivelas da cama, mesa, botões da bomba de infusão e aventais foi, respectivamente, 55,5%, 57,1%, 57,1%, 60,0% e 75,0%. Em estudo realizado por Moura et al., 2010, em MG, onde foi avaliada a colonização por *Staphylococcus aureus* sensíveis e resistentes à oxacilina na saliva de profissionais de enfermagem, das 158 cepas de *S. aureus*, 24 foram ORSA (15,2%). Custódio et al., 2009, observaram uma elevada frequência de SCN resistentes nas mãos de profissionais de saúde em um hospital particular no estado de Goiás. Os

*Staphylococcus* coagulase negativa (44,5%) foram os microrganismos mais isolados, e 75% foram resistentes à oxacilina.

#### 1.4. Cocos Gram Positivos

O aumento das infecções por patógenos Gram Positivos tem sido destaque em diferentes publicações nos últimos anos. A presença desse subgrupo nas diversas infecções tem chamado grande atenção também por um perfil de sensibilidade reduzido para diferentes antimicrobianos, levando, frequentemente, a dilemas terapêuticos na prática clínica.

Os cocos Gram positivos abordados nesse estudo foram o *S. aureus*, SCN e *Enterococcus* spp., onde focou-se apenas na resistência mediante os *Staphylococcus* spp.

Com exceção das *Enterobacteriaceae*, as bactérias Gram Positivas, particularmente os cocos, são os microrganismos isolados com mais frequência de amostras clínicas. Essas bactérias estão disseminadas na natureza e podem ser isoladas do ambiente ou como habitantes comensais da pele, das mucosas e de outras partes do corpo dos seres humanos e animais (KONEMAN, 2008).

Os cocos Gram Positivos são uma coleção heterogênea de bactérias, mas possuem algumas características em comum como: a forma esférica, a reação frente à coloração de Gram e a ausência de endosporo (MURRAY, 2009).

As bactérias Gram Positivas causam infecção por meio de sua multiplicação tanto local quanto sistêmica e algumas delas podem multiplicar-se numa área localizada e exercer seus efeitos patogênicos pela produção de exotoxinas ou enzimas que atuam em locais distantes (KONEMAN, 2008).

##### 1.4.1. *Staphylococcus* spp.

Os estafilococos são cocos Gram Positivos imóveis, não formadores de esporos e catalase positivos. A maioria mede de 0,5 a 1,5 micrometros de diâmetro, são capazes de crescer em meios contendo alta concentração de sal e a temperaturas que variam de 18 a 40 graus Celsius. Essas bactérias estão presentes na pele e nas membranas mucosas dos seres humanos. Esses microrganismos ocorrem na forma de células isoladas, em pares, tétrades e cadeias curtas, porém aparecem predominantemente em grupos semelhantes a cachos de uva. As espécies são, em sua maioria, anaeróbios facultativos, exceto *S. aureus* subesp.

*anaerobius* e *S. saccharolyticus*. Essas duas espécies crescem em condições anaeróbicas e, ao contrário das espécies facultativas, são frequentemente catalase-negativas (SANTOS et al., 2007; MURRAY, 2009).

O gênero consiste atualmente em 40 espécies e 24 subespécies, muitas das quais são encontradas no homem. Algumas espécies são encontradas em nichos específicos, como por exemplo, o *Staphylococcus aureus* coloniza as narinas anteriores. Dos sítios anatômicos onde os *S. aureus* são encontrados, as narinas possuem o maior índice de colonização, cuja prevalência é de cerca de 40% na população adulta, podendo ser ainda maior dentro de hospitais (SANTOS et al., 2007; ALMEIDA et al., 2014). E com relação aos sítios anatômicos onde os SCN são mais encontrados, algumas espécies (*S. hominis* e *S. haemolyticus*) colonizam locais onde se encontram as glândulas apócrinas (axilas) (MURRAY, 2009).

Os *Staphylococcus* spp. são um importante patógeno para os seres humanos, causam um amplo espectro de doenças sistêmicas que ameaçam a vida, incluindo infecções de pele, tecidos moles, ossos, trato urinário, bem como infecções oportunistas. As espécies mais comumente associadas às doenças humanas são *S. aureus* (o mais virulento e o mais conhecido membro do gênero), *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. lugdunensis* e *S. saprophyticus* (TRABULSI, ALTHERTHUM, 2005).

Tendo em vista o número crescente de espécies de estafilococos que estão sendo reconhecidas como causa de infecções humanas e o achado de isolados tanto comuns quanto incomuns com resistência a múltiplos agentes antimicrobianos, é imperativo que o microbiologista clínico esteja familiarizado com os métodos atuais de caracterização desses microrganismos.

#### 1.4.2. *Staphylococcus aureus*

O *Staphylococcus aureus* é uma bactéria esférica, do grupo dos cocos Gram Positivos, frequentemente encontrada na pele e nas fossas nasais de pessoas saudáveis. Essa bactéria desenvolveu vários mecanismos de virulência e estratégias para escapar do sistema imunológico humano, incluindo uma série de proteínas de superfície, enzimas segregadas e toxinas que danificam a membrana por ação citolítica. Tais mecanismos podem causar desde simples afecções como espinhas, furúnculos e impetigo até infecções mais graves como meningite, pericardite, bacteremia e síndrome do choque tóxico (KONEMAN et al., 2008).

ORSA é notável por produzir infecções graves em pacientes hospitalizados e, mais recentemente, em crianças e adultos não hospitalizados e previamente saudáveis. As colônias de *S. aureus* são douradas como resultado de pigmentos carotenoides formados durante o seu crescimento; daí o nome da espécie (MURRAY, 2009).

A implantação da antimicrobianaoterapia, no início da década de 1930, com o emprego da sulfanilamida (descoberta por Gerard Domagk em 1932), aparentemente ditava o fim das doenças infecciosas. No entanto, no final daquela década surgiram as primeiras cepas de *S. aureus* resistentes aquele quimioterápico. Desde então, o *S. aureus* tem ganhado esta “batalha”, posto que novas cepas resistentes têm surgido a cada novo antibiótico introduzido no tratamento das patologias a ele atribuídas (LIMA et al., 2015).

#### 1.4.3. *Staphylococcus coagulase negativa*

Os estafilococos coagulase-negativa (SCN) eram considerados bactérias não patogênicas até a sua descoberta como agentes causadores de infecções nosocomiais. Constituem um dos microrganismos mais comumente isolados no laboratório de bacteriologia. Fazem parte da flora normal da pele e mucosas e em certas ocasiões podem ser somente contaminantes em uma amostra. Porém, não há dúvida de que eles causam infecções severas, principalmente em pacientes hospitalizados (MAYER, HORNER, 2009). Dessa forma, a emergência da sua multirresistência exige grande atenção para essa cepa, principalmente em ambiente hospitalar.

Dentre os patógenos causadores de infecções, o *S. epidermidis* é o agente mais associado com as infecções, especialmente com as bacteriemias, inclusive no Brasil. Associados ao mecanismo de resistência à oxacilina também podem ser citados a produção de invasinas, toxinas e a formação de biofilme. (SOUSA JUNIOR et al., 2009). Uma das principais formas de infecção por esses microrganismos é através da grande capacidade de formação de biofilme (comunidades de microrganismos que crescem, embebidos principalmente em uma matriz de água e exopolissacarídeos e que possuem habilidade de aderir em superfícies inertes como dispositivos médicos). Tal formação é auxiliada por proteínas de superfície e

adesinas. Esta composição pode facilitar a entrada dessas cepas na corrente sanguínea durante uma cirurgia (TEIXEIRA, 2009).

#### 1.4.4. Tipos de resistência dos cocos Gram Positivos

Com relação aos mecanismos de resistência frente os *Staphylococcus* spp., os parágrafos adiantes irão fazer uma abordagem citando apenas o *S. aureus*, pois é o microrganismo mais estudado, apesar de que as informações mencionadas também valem para o SCN, cepa atualmente em ascendência no que diz respeito à sua importância como cepa capaz de colonizar indivíduos na comunidade e nos centros de saúde, produzir resistência e causar infecção das mais leves às mais graves (TEIXEIRA, 2009).

Três mecanismos conferem a resistência do *S. aureus* para oxacilina: a resistência clássica (ORSA) e dois outros tipos de resistência *bordeline* (*BORSA* e *MODSA*).

O mecanismo de resistência das cepas ORSA está relacionado à alteração de proteínas ligadoras de penicilina (PBP) codificada pelo gene *mecA* e sem relação com a produção de beta-lactamases. As PBPS codificadas pelo gene *mecA* são chamadas de PBP2a ou PBP2', e não estão presentes em cepas sensíveis. A presença delas faz com que a penicilina e os compostos penicilina-penicilinase resistente (PPR) tenham baixa afinidade pelo local de ligação na bactéria, a parede celular, e, conseqüentemente, deixem de ser efetivos. O grupo PPR é composto pelas drogas: oxacilina, meticilina, nafcilina, cloxacilina e dicloxacilina, e constitui a classe de drogas de escolha para o tratamento de infecções por *S. aureus* produtores de penicilinases que não apresentam alteração da PBP2a (LIMA et al., 2015).

Oxacilina é a droga representante da classe das PPR, indicada para detectar a resistência do *Staphylococcus* spp. in vitro, por ser a mais resistente à degradação e a mais sensível para detecção de heterorresistência. Quando um isolado apresenta resistência à oxacilina, deve ser considerado resistente a todo grupo PPR, sendo essa uma droga marcadora importante. (ROSSI; ANDREAZZI, 2005). De acordo com o "Clinical and Laboratory Standards Institute" 2016 (CLSI), a cefoxitina deve ser utilizada como marcador para detectar a resistência do *Staphylococcus* spp. à oxacilina, e conseqüentemente, ao grupo PPR, verificando a resistência

mediada pelo gene *mecA*. Dessa forma, cepas resistentes à cefoxitina, devem ser consideradas resistentes a todas as drogas do grupo.

Cepas ORSA clássicas apresentam-se, usualmente, resistentes a outros grupos de drogas indicadas para o tratamento dos *Staphylococcus* spp., como clindamicina, eritromicina, tetraciclina e, menos frequentemente, a gentamicina e sulfametoxazol/trimetoprima. O antibiograma deve ser realizado para determinar a sensibilidade dessas drogas. No entanto, todos os beta-lactâmicos são considerados resistentes, independentemente do resultado do antibiograma (ROSSI; ANDREAZZI, 2005; SANTOS et al., 2007; LIMA et al., 2015).

A expressão da resistência clássica pode ser homogênea, em que todas as colônias expressam resistência à meticilina sem dificuldades de interpretação no teste. E também pode ser heterogênea, onde somente uma fração de colônias expressa resistência à oxacilina, apesar da presença do gene *mecA*, prejudicando a interpretação do teste (MAYER, HORNER, 2009).

Algumas cepas de *S. aureus* apresentam um tipo menos comum de resistência à oxacilina não relacionado à presença do gene *mecA*, a resistência *bordeline*, em que os MICs de oxacilina estão próximos aos pontos de corte. O mecanismo de resistência nesses isolados pode ser devido a: hiperprodução de beta-lactamase tipo A que resulta na hidrólise parcial do anel beta-lactâmico das penicilinas, cepas conhecidas como BORSA (*bordeline oxacillin-resistant S. aureus*); ou modificações nas proteínas de ligação da penicilina (PBPs 1, 2 e 4), cepas conhecidas como MODSA (*modified penicillin-binding protein S. aureus*). Quando submetidas ao teste para pesquisa de PBP2a, verifica-se que essas cepas não produzem essa proteína (gene *mecA* negativas) (A MATHEWS et al., 2010).

Essas cepas apresentam significado clínico não definido e uma frequência relativamente baixa. Normalmente, os isolados com esse tipo de resistência não apresentam resistência cruzada a outros beta-lactâmicos (cefalosporinas e carbapenêmicos), como acontece com a resistência clássica. Na prática, são classificados como ORSA, e esses antimicrobianos não são considerados como opção terapêutica (KALI; STEPHEN; UMADEVI, 2014).

Outro mecanismo de resistência à oxacilina citado pelo CLSI 2016, fora o gene *mecA* inclui um homólogo ao gene *mecA*, o gene *mecC*. Representam uma forma recentemente conhecida e pode colonizar e causar doença em seres

humanos e uma ampla gama de outras espécies hospedeiras. Tal resistência foi descoberta em isolados resistentes à oxacilina e cefoxitina, mas que não possuíam o gene *mecA* nas suas células. Assim como o gene *mecA*, ele codifica as proteínas ligadoras de penicilina. A resistência ao *mecC* não pode ser detectada por testes direcionados ao *mecA* ou PBP2a. Embora cepas ORSA que possuem o gene *mecC* sejam atualmente raras e apenas tenha sido relatadas na Europa até à data, elas apresentam um potencial problema de diagnóstico já que ambas cepas são bem parecidas (PATERSON; HARRISON; HOLMES, 2014).

#### 1.4.5. Histórico de resistência dos cocos Gram Positivos

Com relação ao histórico da resistência frente aos cocos Gram Positivos, sabe-se que desde a introdução dos primeiros antimicrobianos, as bactérias vêm tentando se adaptar e vencer tal situação adquirindo novos mecanismos de resistência. As informações mencionadas a seguir são a respeito do *S. aureus*, porém também dizem respeito ao SCN, não necessariamente na mesma ordem cronológica dos fatos.

No início dos anos 1940, os *S. aureus*, isolados de diferentes processos infecciosos, apresentavam uma boa resposta clínica diante da penicilina. Em 1942, a resistência à penicilina começou a ser descrita em algumas dessas cepas, decorrente da produção de penicilinases. De 1944 a 1945, cepas com produção de beta-lactamases (penicilinases) passaram a ser isoladas em diferentes hospitais e regiões, levando a uma resistência expressiva que limitou o uso da penicilina e seus derivados no decorrer dos anos subsequentes (OLIVEIRA; SILVA, 2008).

Na década de 1950, a produção de penicilinase pelos *S. aureus* passou a predominar nas cepas isoladas de pacientes hospitalizados. A resistência bacteriana era, na época, considerada um problema novo e começou a tomar crescentes proporções à medida que foram descobertas e introduzidas novas classes de antibióticos na prática clínica (TAVARES, 2000).

Em 1960, a meticilina foi lançada no mercado como alternativa terapêutica para cepas produtoras de penicilinase, uma vez que essa droga não sofre ação dessa enzima. Porém, já em 1961, relatos de cepas também resistentes à meticilina passaram a ser descritos e foram denominados *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA). A partir da década de 1980, cepas MRSA passaram a

representar um problema endêmico em diferentes proporções nos hospitais de diversos países, incluindo o Brasil (SANTOS et al., 2007).

Mais recentemente, com uso indiscriminado da vancomicina (glicopeptídeos) como opção terapêutica para as cepas MRSA/ORSA, passaram a surgir bactérias resistentes a essas drogas: *Staphylococcus aureus* resistentes aos glicopeptídeos (GRSA). Após a consolidação dessas cepas no meio hospitalar e comunitário em diversos países do mundo, elas vêm sendo mundialmente estudadas por um programa multidisciplinar: NARSA (Network on Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus*), coordenado pelo NIAID (National Institute of Allergy and Infectious Diseases). Paralelo ao surgimento do GRSA houve o surgimento do *Enterococcus* spp. resistente à vancomicina (VRE), e aí surgiram as cepas VRSA (*Staphylococcus aureus* resistente à vancomicina), o que sugere-se que a resistência pode ter sido adquirida com a troca do material genético entre as cepas de *Staphylococcus* spp. e *Enterococcus* spp. O primeiro caso de VRSA foi reportado no início dos anos 2000, ainda sendo pouco prevalente nos dias de hoje, porém, com grandes chances de maior abrangência. Por isso, o controle da emergência dessa resistência deve ser realizado com critério (ROSSI; ANDREAZZI, 2005).

#### 1.5. Ações de controle de surtos e infecções

No Brasil, a criação e o funcionamento das CCIH representam um progresso na organização da estrutura hospitalar para a diminuição de múltiplos problemas, como a necessidade de se reduzir e controlar taxas de infecções, o que determinou a aplicação de medidas preventivas, educacionais e de controle epidemiológico, que visam, através de um processo de conscientização coletiva, a levar as taxas de infecção para limites aceitáveis (ABEGG; SILVA, 2011).

Dentre as ações preconizadas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para o controle da resistência bacteriana, ressaltam-se: necessidade de aumentar a vigilância da resistência aos antimicrobianos; uso racional de antimicrobianos e sua regulamentação; prevenção e controle das infecções nas instituições de saúde; e ações nacionais inter setoriais e multidisciplinares coordenadas com o envolvimento da sociedade civil. No Brasil, a Resolução 44/2010 da Diretoria Colegiada (RDC) determina a retenção da prescrição médica como medida de controle e redução do

uso indiscriminado destes agentes, constituindo-se em importante passo para o controle da resistência bacteriana (ABEGG; SILVA, 2011).

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Geral**

Quantificação e identificação de cocos Gram Positivos isolados de cultura de vigilância epidemiológica de pacientes internados nas Unidades de Terapia Intensiva (UTI) de dois hospitais do estado.

### **2.2. Específicos**

- I. Avaliação da susceptibilidade bacteriana frente a diferentes antimicrobianos;
- II. Determinar o perfil de resistência dos cocos Gram Positivos isolados;
- III. Fornecer informações a fim de melhorar as condutas de vigilância dos hospitais onde foi feito o estudo;
- IV. Estimular a melhora nas medidas de prevenção da infecção hospitalar;
- V. Fornecer dados relevantes para a construção de um perfil mais fidedigno no que diz respeito à epidemiologia desse mecanismo de resistência.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de um estudo descritivo. O local onde foi realizado o estudo foram as UTIs dos hospitais Onofre Lopes (HUOL) e Giselda Trigueiro (HGT). Como critério de inclusão, trabalhamos apenas com pacientes internos na UTI em um período superior ou igual a uma semana. No total foram isolados 131 cocos Gram Positivos de 114 pacientes internos nos dois hospitais em período de aproximadamente um ano (desde o dia 6 de julho de 2015 ao dia 20 de julho de 2016). Antes da coleta de dados, a pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do hospital HUOL, número: 45184115.5.0000.5537.

#### 3.1. Coleta e Transporte

O espécime clínico utilizado foram secreções retal, axilar e nasal coletados através de um *swab*. O procedimento utilizado para a coleta com o *swab* nasal corresponde á: inserir um *swab* pelo menos 1 cm dentro das narinas e fazer movimentos rotatórios na mucosa nasal por pelo menos 10 a 15 segundos. Assim como no *swab* nasal, para o *swab* retal deve ser utilizado um *swab* de algodão, certificando-se de que a ponta da haste que suporta o algodão está bem revestida. Umedecer o *swab* em salina estéril (não usar gel lubrificante) e inserir no esfíncter retal, fazendo movimentos rotatórios. Ao retirar, certificar-se que existe coloração fecal no algodão. E por fim, para o *swab* axilar, deve-se umedecer o *swab* em soro fisiológico estéril e passar na região axilar, fazendo movimentos rotacionais.

Após a coleta, todos os *swabs* foram identificados e colocados em meio de transporte específico (meio Stuart) e encaminhados ao laboratório LABMIC–DMP-CB-UFRN em até 12 horas à temperatura ambiente onde foram inoculados em caldo BHI e encubados em estufa bacteriológica (35/37°C) por duas horas.

#### 3.2. Identificação de Cocos Gram Positivos

Para o isolamento de bactérias aeróbias estritas e anaeróbias facultativas foram utilizados meios e procedimentos recomendados por Koneman et al., (2008). Após semeadas em caldo BHI, foi feito o repique nos meios de cultura apropriados para o isolamento de cocos Gram Positivos (manitol e ágar sangue) e incubadas novamente de 18 a 24 horas. Após a confirmação das características coloniais e morfotintoriais (coloração de Gram Kopff-Beerman), e afinidade de crescimento em

meios de cultura, foram realizadas provas como: catalase, coagulase em lâmina e tubo e fermentação do manitol com objetivo de identificação dos gêneros e espécies bacterianas.

### 3.3. Antibiograma

As recomendações do CLSI 2016 para detecção da resistência a oxacilina incluem: teste de sensibilidade por disco difusão, teste com ágar screening para oxacilina e determinação do MIC (concentração inibitória mínima) por método de diluição. No presente estudo, foram realizados os dois primeiros.

Para cada cepa bacteriana identificada no estudo foi realizado um antibiograma utilizando a técnica de difusão-difusão em Ágar (Kirby-Bauer), conforme recomendação do CLSI de 2016. O estudo do perfil de sensibilidade a antimicrobianos foi realizado com as cepas isoladas e identificadas. Com uma alça microbiológica foi tocada a superfície de 4 a 5 colônias bacterianas de aspecto similar, que se desenvolveram bem isoladas no respectivo meio. Após isto, o inóculo foi transferido para um tubo contendo 5ml de solução salina ajustando a turvação para 0,5 da escala MacFarland, que corresponde a uma quantidade de  $10^8$  ufc/mL. Foi então submergido a esta suspensão bacteriana um *swab* de algodão estéril e antes de retirá-lo foi eliminado todo o excesso de líquido agitando-o contra a parede interna do tubo. Após este procedimento o *swab* foi inoculado à superfície seca do meio de cultura ágar Muller-Hinton (MH) contido em uma placa mantido à temperatura ambiente. Com o objetivo de distribuir uniformemente o inóculo, o ágar foi estriado com o *swab* em pelo menos três direções, girando a placa em ângulos de aproximadamente 60 graus após cada estria. Os discos de antibióticos foram colocados manualmente sobre a superfície do meio, com o auxílio de pinça estéril. Os antibióticos utilizados foram: mupirocina, teicoplanina, penicilina, sulbactam, cloranfenicol, gentamicina, ciprofloxacina e linezolida. Após esta etapa as placas foram incubadas a 35°C em estufa bacteriológica por aproximadamente 18/24hs. Após este período, foi realizada a medição do diâmetro da zona de inibição do crescimento ao redor de cada disco de antibiótico, com o auxílio de uma régua. Esta medição foi realizada utilizando-se uma fonte de luz refletida observada contra um fundo negro e opaco.

Figura 1: Antibiograma com discos de gentamicina (gen), sulfa (sut), cloranfenicol (clo), penicilina (pen) e teicoplanina (tec).



Fonte: elaborada pela autora.

### 3.4. Testes de Resistência

Foram feitos testes fenotípicos específicos para a identificação de ORSA e de *Staphylococcus Coagulase negativa* resistente à oxacilina (ORSCN). Os testes fenotípicos para a identificação do perfil de resistência de *Staphylococcus* spp. foram feitos seguindo as recomendações do CLSI 2016. São eles: a prova de disco difusão utilizando discos de cefoxitina e oxacilina e o teste do Oxa-25 que só deverá ser realizado se o teste da disco-difusão for positivo.

#### 3.4.1. Teste da disco-difusão

O teste da disco-difusão é utilizado para identificar a resistência dos *Staphylococcus* spp. à oxacilina (penicilina semissintética). É feito de modo semelhante ao antibiograma já mencionado. Deve-se utilizar um disco de cefoxitina de 30µg e a placa deve ser incubada em estufa bacteriológica à temperatura de 33 a 35° Celsius (temperaturas acima de 35 podem não detectar ORSA) em um período de 16/18 horas. Para SCN o teste pode ser lido após 18 horas caso a cepa seja resistente. Os resultados do disco de cefoxitina devem ser usados para prever a presença da resistência a oxacilina mediada pelo gene *mecA* em *S. aureus* e SCN.

Dessa forma, a oxacilina deve ser reportada como sensível ou resistente baseados nos resultados da cefoxitina.

#### 3.4.2. Teste do Oxa-25

O teste do Oxa-25 ou *screening* para oxacilina (como mencionado em alguns estudos) é outro método usado para a detecção de resistência à oxacilina em *S. aureus* e SNC. Consiste em semear a bactéria que se deseja verificar a resistência em meio MH suplementado com 4% de NaCl e 25 µg/ml de oxacilina. A cepa de *S. aureus* ATCC 25923 foi utilizada como controle sensível (negativo). Se houver crescimento no meio de cultura, o teste é positivo e significa que a bactéria correspondente é resistente à oxacilina e provavelmente contém o gene de resistência *mecA*. De acordo com o CLSI 2016, esse método possui uma boa correlação com a presença do gene *mecA* que codifica essa resistência.

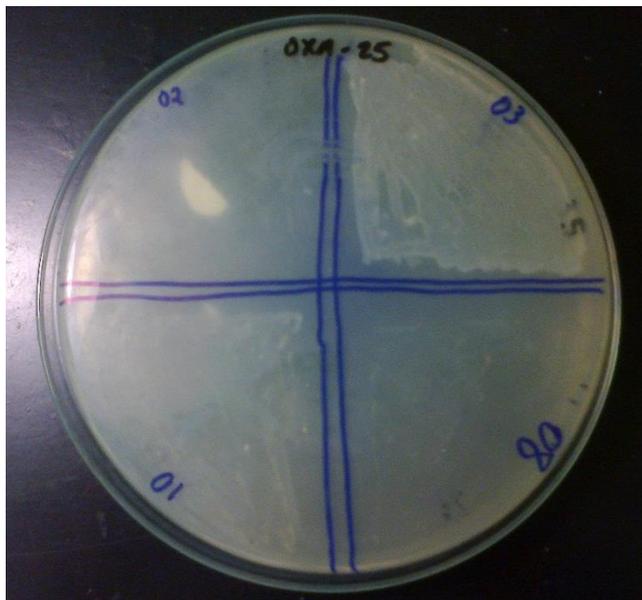
A detecção laboratorial da resistência a oxacilina pode ser prejudicada se as condições do teste não estiverem padronizadas. Os pontos críticos são: tempo mínimo de incubação, temperatura de incubação e adequação do meio de cultura. Outro aspecto importante é o fato de a subpopulação resistente apresentar crescimento mais lento do que a subpopulação sensível, levando a falsos resultados de sensibilidade diante da oxacilina.

Figura 2: Teste da disco difusão com discos de cefoxitina e oxacilina junto com antibiograma.



Fonte: elaborada pela autora.

Figura 3: Teste do oxa-25: Apenas a cepa 02 é negativa. As cepas 03, 08 e 10 são positivas, sendo a cepa 03 com maior crescimento bacteriano.



Fonte: elaborada pela autora.

### 3.5. Estoque e preservação de microrganismos isolados

Após serem isoladas, as colônias resistentes foram estocadas em eppendorfs contendo BHI acrescido com glicerol e amoxicilina e as sensíveis em BHI com glicerol, ambas em duplicata. As amostras foram guardadas em geladeira à temperatura de aproximadamente  $-2^{\circ}$  Celsius.

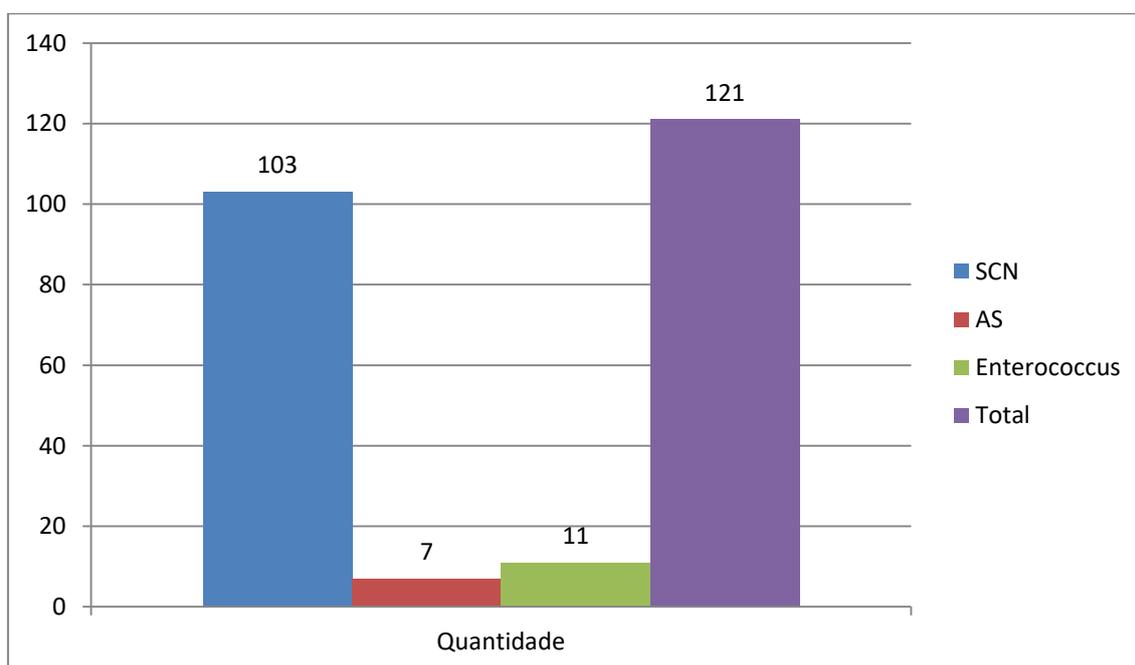
## 4. RESULTADOS

### 4.1. Cocos Gram Positivos

No período de 6 de julho de 2015 à 20 de julho de 2016 foram isolados 121 cocos Gram Positivos de 114 pacientes internados em UTIs de dois hospitais do estado (HUOL e HGT). Dentre eles, 11 foram *Enterococcus* spp., 7 foram *S. aureus* e 103 foram *Staphylococcus coagulase negativa* (SCN), sendo o grupo mais encontrado.

De 4 pacientes não foram isolados cocos pois não houve crescimento nos meios de cultura utilizados (ágar sangue e manitol), deduzindo que não houve colonização por cocos Gram Positivos nestes pacientes. Dos 114 pacientes avaliados, 100 se encontravam colonizados por cocos Gram Positivos, o que demonstrou uma prevalência de 87,7%.

Gráfico 1: Frequência de Cocos Gram Positivos

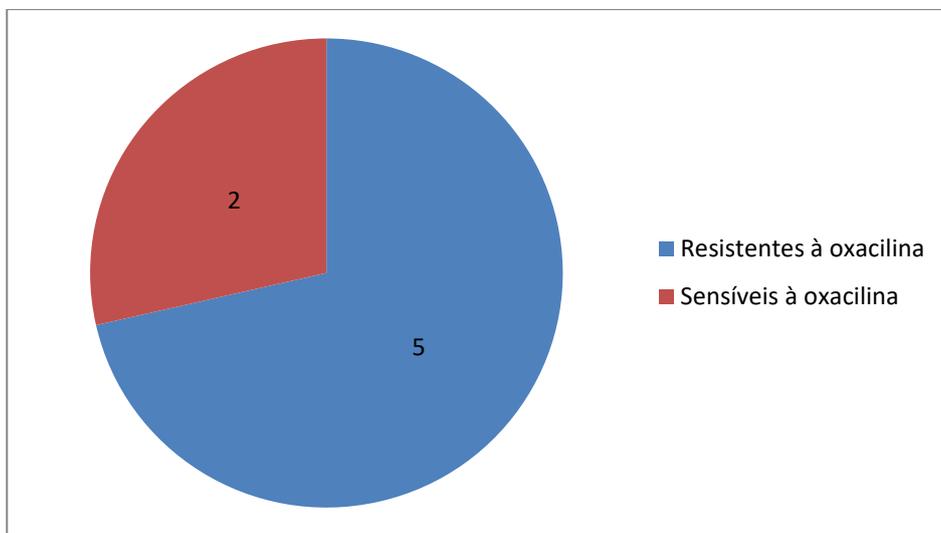


Fonte: elaborada pela autora.

#### 4.1.2. *Staphylococcus aureus*

Através do perfil de sensibilidade aos antimicrobianos utilizados no teste da disco difusão com discos de cefoxitina e oxacilina e através do teste do Oxa-25, das 7 cepas de *S. aureus* isoladas, 2 foram consideradas sensíveis à oxacilina e 5 resistentes à oxacilina, obtendo uma resistência de 71,4%.

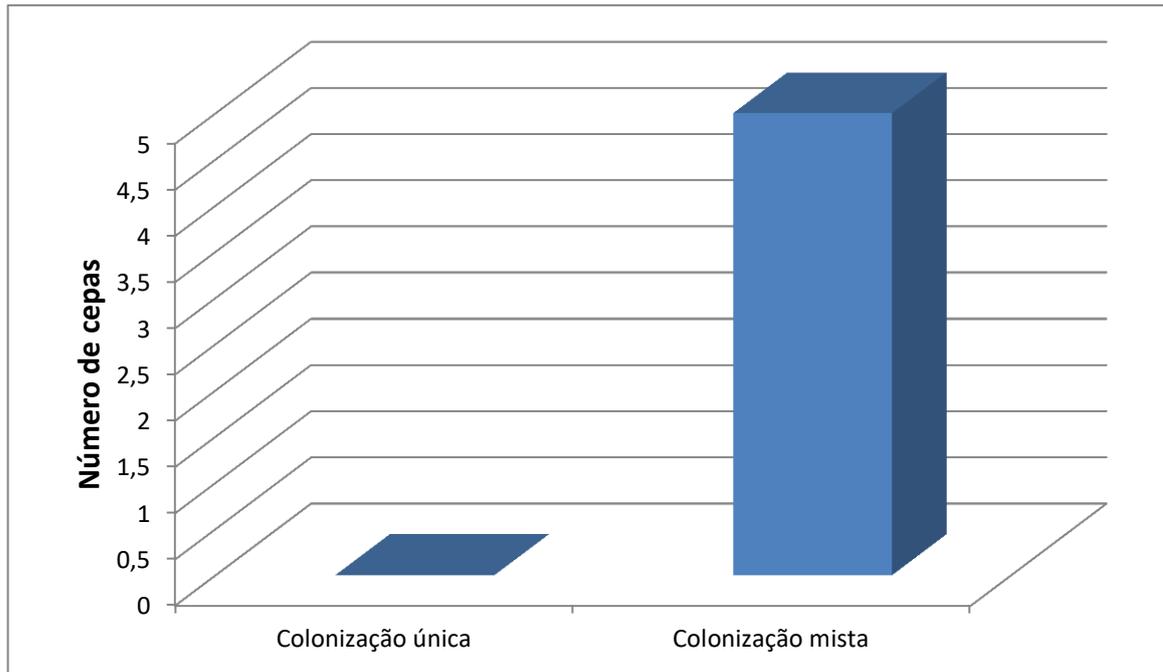
Gráfico 2: Resistência mediante *S. aureus* à oxacilina



Fonte: elaborada pela autora.

Das 5 cepas de *S. aureus* resistentes à oxacilina, todas foram cultura poli microbiana. Na amostra 9, além do *S. aureus*, tinha uma cepa de *Acinetobacter* spp. Na amostra 52, foram isolados *Enterococcus* spp., *E. coli* e *K. pneumoniae*. A amostra 66 continha *P. aeruginosa*, *Enterobacter sakazakii* e *E. coli*. Já na amostra 70, tinham uma cepa de *Enterobacter gergiviae*. E, por fim, na amostra 102, *Acinetobacter* spp., *K. pneumoniae* e *Citrobacter freundii* foram as bactérias encontradas.

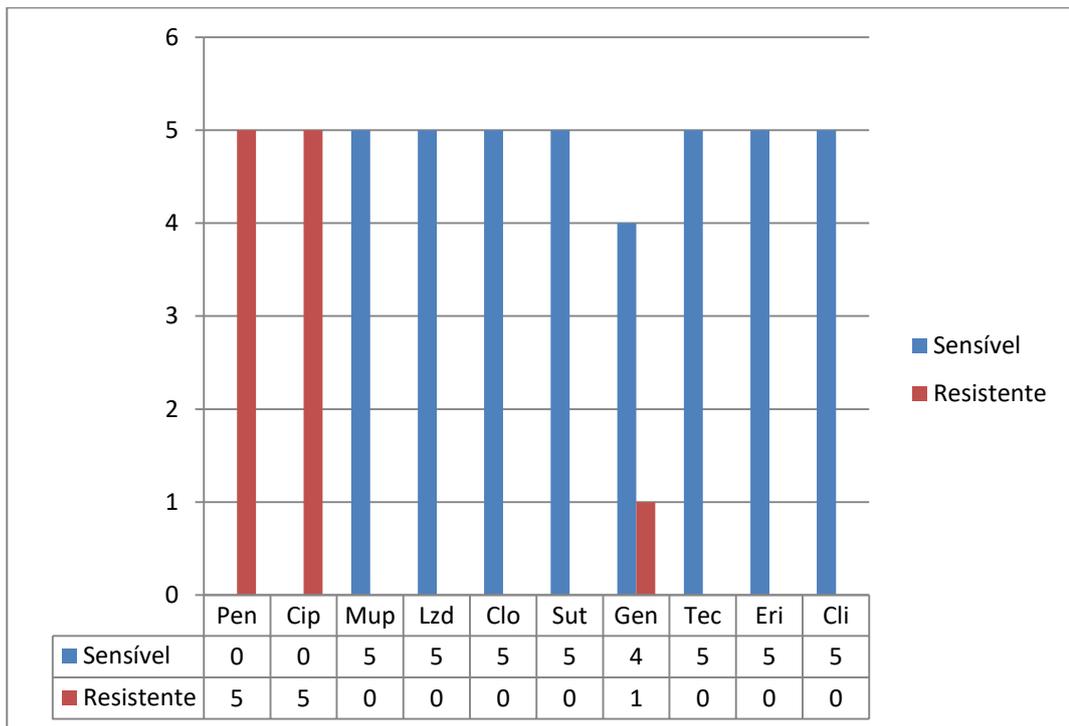
Gráfico 3: Cultura poli microbiana em cepas ORSA



Fonte: elaborada pela autora.

Para as 5 cepas de *S. aureus* resistentes à oxacilina, foi feito um antibiograma com os seguintes antibióticos: penicilina (pen), ciprofloxacina (cip), mupirocina (mup), linezolida (lnz), cloranfenicol (clo), sulfa (sut), gentamicina (gen), teicoplanina (tec), eritromicina (eri) e clindamicina (cli). Todas as cepas foram resistentes à penicilina e à ciprofloxacina. Para a gentamicina, 1 cepa foi resistente (20%) e as demais foram sensíveis. Já para os demais antibióticos testados, todas as cepas foram sensíveis. Os resultados estão representados no gráfico abaixo:

Gráfico 4: Perfil de resistência de *S. aureus* aos antimicrobianos testados

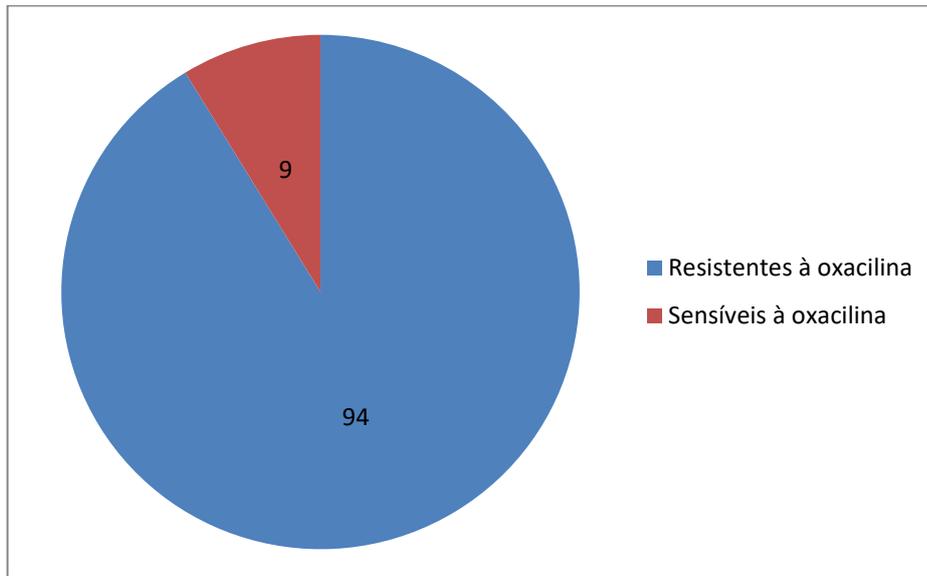


Fonte: elaborada pela autora.

#### 4.1.3. *Staphylococcus coagulase negativa*

Com relação aos *Staphylococcus coagulase negativa* (SCN), dos 114 pacientes, foram isolados um total de 103 cepas das quais 94 foram resistentes à oxacilina e 9 sensíveis no teste da disco difusão. Destas 94 resistentes à oxacilina, apenas 1 foi negativa no teste do Oxa-25. Dessa forma, 91% (94) das cepas são ORSCN.

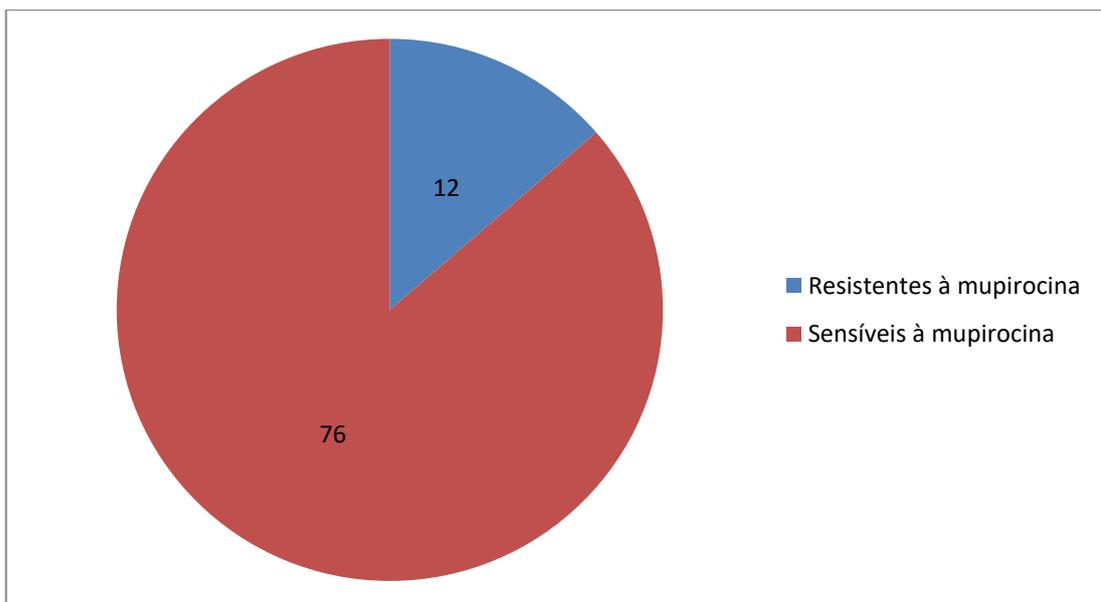
Gráfico 5: Resistência mediante SCN à oxacilina



Fonte: elaborada pela autora.

Das 94 cepas de SCN resistentes à oxacilina no teste da disco difusão para oxacilina, foi feito o teste da disco difusão para mupirocina, onde 12 foram resistentes e 76 sensíveis, obtendo-se uma resistência à mupirocina de 12,8%.

Gráfico 6: Resistência do SCN à mupirocina



Fonte: elaborada pela autora.

## 5. DISCUSSÃO

### 5.1. Prevalência de cocos Gram Positivos isolados

O estudo fundamentou-se na pesquisa da frequência de cocos Gram Positivos isolados de culturas de vigilância em Unidades de Terapia Intensiva (UTI) de dois hospitais ligados à UFRN (HUOL e HGT). Nesse estudo, como aponta o gráfico 1, foram isolados 121 cocos Gram Positivos de 114 pacientes. Dentre eles, 11 foram *Enterococcus* spp., 7 foram *S. aureus* e 103 foram *Staphylococcus coagulase negativa* (SCN).

Tais números observados demonstram uma baixa taxa de colonização por *S. aureus* (6,4%) e uma prevalência de SCN (93,6%) dentre os isolados de *Staphylococcus* spp. Tal fato está de acordo com outros estudos com metodologia semelhante. Em estudo feito por Almeida et al. (2014), em Caicó, RN, onde a população de estudo eram pacientes internados em UTI e outras unidades de saúde, foi observada uma taxa de colonização por *S. aureus* de 28,8% e por SCN de 60,6%. Em estudo feito por Trouillet-assant et al. (2015), na França, das 635 cepas de *Staphylococcus* spp., 85 (13,4%) foram *S. aureus* e 550 (86,6%) SCN. Dos 317 isolados provenientes de UTI, houve uma prevalência de 15,4% para *S. aureus* e 84,5% para SCN. Em estudo feito por SCRIBEL et al. (2011), em pacientes atendidos em uma unidade básica de saúde, dos 200 pacientes analisados, apenas 11,5% foram colonizados por *S. aureus*. Catão et al. (2012) em seu estudo analisando a colonização nasal de *S. aureus* em profissionais de saúde, evidenciou que de todos os indivíduos analisados, apenas 20% eram portadores de *S. aureus*.

Apesar da baixa taxa de colonização observada frente ao *S. aureus*, os resultados apontam para uma elevada taxa de colonização por cocos gram positivos no geral, principalmente por cepas multirresistentes. Tais microrganismos, encontrados nas culturas de vigilância epidemiológica são um fator predisponente para causar infecções hospitalares, fato este constatado em diversas publicações em nosso meio.

### 5.2. Espécime clínico onde os Cocos Gram Positivos foram isolados

No presente estudo, não foi possível saber o espécime clínico específico onde cada bactéria foi encontrada, pois todos os 3 swabs (nasal, retal e axilar) utilizados

em cada paciente foram inoculados juntos no mesmo tubo com caldo BHI e a partir daí feito o semeio nos meios de cultura. Seria inviável inocular cada *swab* em um BHI diferente, pois por semana, pegávamos cerca de 4 amostras (total de 12 *swabs*). Se cada *swab* fosse semeado em um BHI diferente, teríamos gastado 12 BHIs por semana em vez de 4 e teríamos que fazer o semeio em 36 meios de cultura em vez de 12.

### 5.3. Resistência do *Staphylococcus aureus* à oxacilina

Apesar da baixa prevalência de *S. aureus* com relação ao total dos pacientes analisados, houve uma elevada taxa de resistência frente a essas cepas, como pode ser observado no gráfico 2. Das 7 cepas de *S. aureus* isoladas, 2 foram consideradas sensíveis e 5 resistentes à oxacilina, obtendo uma resistência de 71,4%. Tais valores que demonstram uma alta resistência do *S. aureus* em ambiente hospitalar, são também confirmados em diversos outros estudos no Brasil e no mundo. Esta elevada taxa de resistência está diretamente associada à infecções hospitalares.

No Brasil, *Staphylococcus aureus* é o microrganismo mais frequentemente isolado em infecções hospitalares (SOUSA JUNIOR et al., 2009). Portadores nasais e pacientes colonizados por *S. aureus* têm sido descritos como fator de risco para o desenvolvimento de infecções, e 11% a 43% dos pacientes colonizados adquirem infecção (ROSSI; ANDREAZZI, 2005). A maioria das doenças produzidas por essa bactéria são causadas por cepas ORSA (CABRER et al., 2010). Dessa forma, a baixa taxa de *S. aureus* encontrada, não minimiza sua importância e capacidade de se espalhar na comunidade, podendo infectar indivíduos saudáveis ou não.

De acordo com estudos, o índice de infecções é maior quando o paciente é colonizado por bactérias resistentes, bem como os índices de mortalidade. A colonização com *Staphylococcus aureus* resistente à oxacilina (ORSA) é um fator de risco para infecção invasiva por ORSA subsequente, particularmente em pacientes admitidos para cuidados intensivos (QIANG, 2014). Esta bactéria pode se encontrar presente em diversos sítios anatômicos tanto dos pacientes como de visitantes ou profissionais de saúde, como por exemplo, em fossas nasais, mucosas, pele, garganta, etc. de forma assintomática. Tais indivíduos colonizados são ditos como hospedeiros assintomáticos, passando a ser um veículo de transmissão da bactéria

no mecanismo de infecções por contato, onde, por exemplo, uma vez com as narinas colonizadas, o indivíduo contamina as próprias mãos. Além de transmissão por contato, a bactéria também pode ser transmitida por disseminação aérea através do carregamento nasal. Dessa forma, *S. aureus* presente no ambiente hospitalar, encontrado em cultura de vigilância de resistência, é um fator de risco para o desenvolvimento de infecções hospitalares em pacientes, principalmente que fazem diálise, queimados, diabéticos e HIV-positivos, visto que pode causar diversos processos infecciosos, que variam desde infecções cutâneas crônicas (relativamente benignas) até infecções sistêmicas (potencialmente fatais).

Os patógenos nosocomiais reportados com as mais altas taxas de resistência correspondem aos organismos Gram Positivos como os *S. aureus* resistentes à oxacilina (ORSA). (CABRER et al., 2010). Um estudo nacional de prevalência de ORSA da Associação para Profissionais em Controle de Infecção Epidemiologia, realizado em 2010, determinou que em cada 1.000 pacientes nos Estados Unidos, 66,4 pacientes eram ORSA colonizados ou infectados (JARVIS; JARVIS; CHINN, 2012).

Com relação às cepas de ORSA isoladas de UTI, local de onde foram retiradas as amostras do presente estudo, dados do National Nosocomial Infections Surveillance, do Center for Disease Control and Prevention (CDC), mostram que, desde 1999, a proporção de *S. aureus* resistente à oxacilina (ORSA) ultrapassa 50% entre os pacientes internados em UTI. No Brasil, os índices de cepas ORSA são também, em média, bastante elevados (40% a 80%), principalmente nas cepas isoladas em UTI (ROSSI; ANDREAZZI, 2005). Em estudos com metodologia semelhante realizados em UTI, também se observam altas taxas de resistência. No estudo realizado por Silva, Werneck e Henriques (2012), em UTIs pediátricas do RJ, de todas as bactérias Gram Positivas isoladas em casos de pacientes infectados por bactérias multirresistentes (MDRO), 83,3% eram ORSA. E nos casos de pacientes colonizados, 40% eram ORSA. No estudo realizado por Durmaz et al. (2015), de todos os *S. aureus* isolados, 50% eram ORSA.

No estudo realizado por Aschbacher et al., (2016) também foram encontrados resultados significativos. Foi analisada a colonização de pacientes internados em locais de cuidado à saúde em longo prazo como casas de idosos e de doenças

crônicas por bactérias multirresistentes, na França, através de *swab* nasal e encontrou-se uma taxa de ORSA de 37,6%.

#### 5.4. *Staphylococcus aureus* x Cultura poli microbiana

Todos os pacientes colonizados com cepas de *S. aureus* também foram colonizados por outras espécies bacterianas, representando dessa forma, culturas poli microbianas. Isso ocorre na grande maioria dos pacientes internados em hospitais e principalmente em UTIs e pode ser ocasionado levando em conta a grande gama de espécies bacterianas presentes em uma unidade de saúde, tanto nos pacientes quanto nos profissionais, nas pessoas que circulam no ambiente (parentes, amigos) e nos objetos inanimados presentes. Além disso, deve-se considerar também a transmissão cruzada entre os pacientes, principalmente em UTIs com leitos próximos, a rica flora bacteriana dos indivíduos e, também, o fato de que as amostras coletadas são de colonização e foram provenientes de sítios diferentes (retal, nasal e axilar).

Na tese de Doutorado defendida por Damaceno (2014), onde se estudou os aspectos epidemiológicos e microbiológicos relacionados à colonização de pacientes por microrganismos multirresistentes em UTI, foram obtidas amostras de mucosa nasal, virilha e períneo, onde em 74,0% (39/53) dos pacientes verificou-se colonização por mais de uma espécie bacteriana de relevância epidemiológica simultaneamente. Nestes casos, foram registradas as seguintes características: a) apresentação de mais de uma bactéria Gram Negativa em sítios anatômicos = 24 casos; b) colonização por Gram Negativo e VRE = 11 casos; c) presença de VRE e ORSA = 2 casos; e d) colonização por bactéria Gram Negativa e ORSA = 2 casos.

De acordo com o trabalho de conclusão de curso defendido por Sarmento (2015), em seu estudo sobre a importância da identificação de bactérias multirresistentes pelas culturas de vigilância no controle das infecções hospitalares, foram coletadas amostras por *swab* retal e nasal em pacientes de UTI de hospitais do município de JP. Dos 11 exames positivos de *swab* nasal, um revelou colonização por microbiota mista (duas espécies bacterianas distintas) e dez por microbiota única, totalizando o isolamento de 11 micro-organismos. Quanto aos exames de *swab* retal, das 30 culturas positivas (em que houve crescimento

bacteriano), foi encontrada colonização por microbiota mista em quatro e por microbiota única em 26, totalizando o isolamento de 31 bactérias.

#### 5.5. *Staphylococcus aureus* x perfil de resistência aos antibióticos testados

Como se pode observar no gráfico 3, todas as cepas foram sensíveis à linezolida, teicoplanina, mupirocina, eritromicina, clindamicina, cloranfenicol e sulfa. Todas foram resistentes à ciprofloxacina e penicilina e 20% à gentamicina. Em comparação com outros estudos, uma gama de resultados foi encontrada. No estudo de Sousa et al., (2011), foram selecionadas 73 cepas de *S. aureus* que apresentaram resistência à oxacilina provenientes de diferentes isolados clínicos de pacientes atendidos ou internados no Hospital Universitário de Santa Maria. Dessas cepas, foi feito o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos, e foram encontrados os seguintes resultados: Todas resistentes à penicilina, 79,45% resistentes à clindamicina e eritromicina, 76,71% à gentamicina, 3,03% à teicoplanina, 26,03% à sulfa e todas foram sensíveis à linezolida. Diekema et al., (2001) fez um estudo para analisar a frequência da ocorrência e susceptibilidade aos antimicrobianos para *S. aureus* e SCN isolados de hemoculturas em hospitais nos EUA, Canadá, América Latina, Europa e Região do Pacífico Ocidental. Dentre as cepas ORSA, foi encontrada uma resistência à gentamicina de 35,5%, 25,9%, 91,2%, 71,7% e 74% nos EUA, Canadá, América Latina, Europa e Pacífico Ocidental respectivamente. Ao cloranfenicol de 4,7%, 4,9%, 57,9%, 9,4% e 9,6% nos respectivos países. À ciprofloxacina, de 88,6%, 60,5%, 89,6%, 89,5% e 88,1%. À clindamicina, de 79,2%, 63%, 88%, 73,5% e 79,3%. E por fim, à eritromicina, de 92,7%, 75,3%, 93%, 82,6% e 94,7%.

Alguns estudos testaram todas as cepas de *S. aureus* aos antimicrobianos, independente da resistência à oxacilina: no estudo feito por Zanini (2014), foi demonstrado o perfil etiológico e de sensibilidade dos microrganismos isolados dos pacientes atendidos nas Unidades de Terapia Intensiva Neonatal e Pediátrica do Hospital Universitário de Santa Maria em diferentes espécimes clínicos. Não foi diferenciado *S. aureus* de SCN, portanto para os *Staphylococcus* spp., foi encontrado: 69,6% de resistência à eritromicina, 47,8% à clindamicina, 97,1% à penicilina e 44,9% à sulfa. Segundo Rağbetli et al. (2016), em seu estudo sobre a Avaliação da resistência antimicrobiana em *Staphylococcus aureus* isolados em

vários espécimes clínicos de um hospital, todas as cepas foram identificadas como sensíveis a linezolida. As taxas de resistência à penicilina, eritromicina, gentamicina, clindamicina e sulfa foram determinadas como 100%, 18%, 14% e 11%,6% respectivamente.

Todas as cepas foram resistentes à penicilina no presente estudo. Contrastando com anos atrás, na década de 40, em que quase todos os *Staphylococcus* spp. respondiam bem a essa droga, demonstrando a evolução da resistência bacteriana, onde a tendência é ficar cada vez mais preocupante, principalmente, se não houver os cuidados mínimos para que a resistência não se alastre. Tal resultado também condiz com os demais estudos recentes feitos sobre o assunto, onde a resistência a essa droga quase sempre ultrapassa os 80% (MOURA, 2011); (SOUSA et al., 2011); (CATÃO et al., 2012); (M, 2013); (RAĞBETLI et al., 2016); (PERUGINI et al., 2014).

No presente estudo, todas as bactérias testadas e isoladas foram sensíveis à linezolida, o que condiz com a maioria dos artigos pesquisados onde a resistência é pouca ou nenhuma. Há alguns anos atrás, a resistência à linezolida ainda não tinha sido observada no Brasil, apenas casos pontuais na literatura haviam sido observados (ROSSI; ANDREAZZI, 2005). Nos dias de hoje, já encontramos casos de bactérias ORSA resistentes à linezolida, fato esse observado no estudo feito por MOURA et al., (2011).

Os glicopeptídeos (vancomicina e teicoplanina) são as drogas clássicas de escolha para o tratamento de infecções causadas por ORSA, já que são sempre resistentes a antibióticos beta-lactâmicos (a todas as cefalosporinas, inclusive as de quarta geração, assim como aos carbapenêmicos, independente do resultado do antibiograma). (ROSSI; ANDREAZZI, 2005). No presente estudo, todas as bactérias testadas foram sensíveis à teicoplanina. Porém, em vários estudos a resistência aos glicopeptídeos já é um fato notório e de extrema importância, visto que as opções terapêuticas estão ficando escassas.

A mupirocina é o antimicrobiano tópico recomendado para a descolonização da mucosa nasal e de lesões cutâneas de pacientes, ou profissionais da saúde portadores de ORSA. Essa medida visa limitar a disseminação desse agente nos serviços de saúde, e, assim, reduzir o grande impacto clínico produzido por ele nas infecções hospitalares, principalmente relacionadas a procedimentos cirúrgicos e

cateteres vasculares. Porém, a resistência à mupirocina vem sendo encontrada em alguns estudos tanto em cepas sensíveis como resistentes.

No estudo feito por MOURA et al., (2011), foi encontrada resistência à mupirocina de 73,1% entre as cepas ORSA e de 9,8% entre as cepas de OSSA. As taxas de resistência que vêm sendo observadas nesses estudos vêm gerando preocupação. Para que a estratégia de descolonização dos portadores seja efetiva, o seu uso deve ser devidamente avaliado, considerando-se a necessidade de reflexão sobre o uso rotineiro da mupirocina e a probabilidade de desenvolvimento de resistência, relacionada à política de uso. Em outro estudo semelhante, realizado por MOURA et al., (2010), também utilizando saliva de profissionais de saúde, foi verificado que de 158 cepas de *S. aureus* analisadas, 30 eram resistentes à mupirocina e dessas, 17 eram também resistentes à oxacilina.

O uso da mupirocina para erradicação peri-operatória nasal reduz a incidência de infecções pós-operatórias de *S. aureus* em 58% (BODE et al., 2010). No entanto, a rápida identificação de portadores de *S. aureus* e a aplicação imediata do tratamento é logicamente desafiadora e cara. Portanto, a descolonização peri-operatória universal, independentemente de o paciente possuir *S. aureus*, seria mais rentável. Porém, o uso extensivo de mupirocina, como na descolonização universal, pode facilitar a emergência da resistência à esse antibiótico em *S. aureus* e SCN (HETEM et al., 2014).

Isto tudo reforça a ideia de que se faz necessário cuidado redobrado com esses pacientes, não abrindo mão do uso de luvas e máscaras durante o manuseio dos mesmos. A falta de adesão às medidas de precauções padrão faz com que os profissionais de saúde fiquem sujeitos à colonização por microrganismos tipicamente hospitalares e, frequentemente, multirresistentes, colocando-os na condição de portadores e disseminadores, colaborando para a ocorrência de surtos de infecção.

#### 5.6. Resistência do *Staphylococcus coagulase negativa* à oxacilina

Com relação aos *Staphylococcus coagulase negativa* (SCN), de acordo com o gráfico 4, dos 114 pacientes, foram isolados um total de 103 cepas das quais 94 foram resistentes à oxacilina e 9 sensíveis no teste da disco difusão. Destas 94 resistentes à oxacilina, apenas 1 foi negativa no teste do Oxa-25. Dessa forma, 91% (94) das cepas são ORSCN.

Os dados exibidos no estudo mostram que o SCN foi o patógeno Gram Positivo mais encontrado. Esse dado vai de acordo com diversos estudos onde o *S. aureus* não é o mais prevalente. Embora o ORSA ser o mais estudado, os SCN também podem apresentar o gene de resistência *mecA* ou outros tipos de resistência à oxacilina. Com o crescimento da caracterização de infecção por SCN, o interesse em estudar sua susceptibilidade aos antimicrobianos também tem aumentado (CUNHA, LOPES, 2002); (SOUSA JUNIOR et al., 2009).

Os SCNs vêm apresentando taxas elevadas de resistência à oxacilina, que variam de 66% a 93%, principalmente em hospitais terciários ou de ensino. Por esse motivo, atualmente são conhecidos como microrganismos essencialmente oportunistas, que se aproveitam de inúmeras situações orgânicas para produzir infecções graves (MAYER; HORNER, 2009).

Em estudos com metodologia semelhante, feitos por Trouillet-assant et al. (2015), na França e Almeida et al. (2014), em Caicó, RN, foram encontrados resultados compatíveis. No primeiro, das 635 cepas de *Staphylococcus* spp., 550 foram SCN (87%). Destas, 261 (47.5%) foram ORSCN. No segundo, 75% das cepas de *Staphylococcus* spp. resistentes eram SCN.

Em estudo feito por Andrade, Leopoldo e Haas, (2006), onde se analisou a ocorrência de bactérias multirresistentes em amostras de pacientes (urina, sangue, liquor, etc.) em um Centro de Terapia Intensiva de Hospital Brasileiro de Emergências, constatou-se que o ORSCN foi a bactéria mais freqüente (36,4%) encontrada. Em outro estudo semelhante, realizado por Lima, Andrade e Haas (2007), o ORSCN foi a segunda bactéria mais encontrada (17%). Em estudo feito da maternidade escola Januário Cicco, RN, por Sousa Junior et al., (2009), onde observou-se a prevalência de *Staphylococcus* spp. resistentes à oxacilina em materiais clínicos de pacientes hospitalizados, obteve-se uma taxa de 71,1% de resistência para os SCN isolados.

Esses dados mostram que assim como o *S. aureus*, os SCN são importantes e devem ser tratados como patógeno hospitalar, sujeito a causar infecções graves nos pacientes.

#### 5.7. *Staphylococcus coagulase negativa* x teste do Oxa-25

Como já foi dito, das 94 cepas de SCN resistentes à oxacilina, apenas uma foi negativa no teste do Oxa-25. Considerando que o teste do Oxa-25 possui uma boa correlação com a presença do gene *mecA*, a cepa negativa no teste provavelmente não possui o gene, possuindo dessa forma, um outro tipo de resistência, como por exemplo, a resistência *bordeline*. Também sabe-se que a resistência fenotípica à oxacilina é extremamente variável dependendo da expressão do gene. Assim, as cepas que possuem esse mecanismo possuem uma heterogeneidade dentro da colônia. Isso significa que uma porcentagem muito baixa dos clones dentro da colônia são resistentes enquanto que o resto da população é sensível. Isso ocorre porque todas as células carregam o gene *mecA*, marcador genotípico, porém, nem todas expressam fenotipicamente sua resistência da mesma forma. Com isso, sabe-se que a única forma verdadeira de se verificar a presença ou ausência de tal gene, é através de métodos moleculares, como por exemplo, o PCR. Deste modo, só se pode afirmar se a bactéria possui o gene, através de tais métodos.

#### 5.8. Resistência do *Staphylococcus coagulase negativa* à mupirocina

Como mostra o gráfico 5, das 94 cepas de SCN resistentes à oxacilina no teste da disco difusão para oxacilina, foi feito o teste da disco difusão para mupirocina, onde 12 foram resistentes e 76 sensíveis, obtendo-se uma resistência à mupirocina de 12,8%.

Segundo pesquisa feita em Utrecht, Países Baixos, o uso da mupirocina aumentou de 3,6 kg em 2006 para 13,3 kg em 2010 e a resistência aumentou em 22% de 2006 a 2011 para os SCN (Bathoorn et al., 2012).

Um estudo feito por Trouillet-assant et al. (2015) determinou a resistência à mupirocina em SCN e *S. aureus* em pacientes de UTI em um hospital na França, através da coleta por *swab* nasal. Nenhuma cepa de *S. aureus* apresentou resistência à mupirocina. Os autores afirmaram que a mupirocina não é utilizada rotineiramente para descolonizar pacientes pré-operatórios ou pacientes hospitalizados na UTI desse hospital, o que pode explicar as baixas taxas de resistência observada no estudo. A descolonização nasal utilizando Mupirocina apontada em tal estudo, é proposta apenas em doentes com recorrente infecção por *S. aureus*. Já para os SCN, houve 6,8% de resistência à mupirocina. O estudo aponta para o risco da aquisição de *S. aureus* resistentes à mupirocina em casos de

colonização com SCN resistentes à mupirocina. O risco foi confirmado em um estudo onde mostrou a aquisição de genes de resistência à mupirocina em SCN após descolonização, onde antes do tratamento a percentagem de resistência era de 21% e após o tratamento subiu para 43% (HETEM et al., 2014).

Dessa forma, é importante ser feito o perfil de susceptibilidade do SCN à essa droga pela prevenção de infecções por esse microrganismo através do uso da descolonização e a notificação dessa resistência é importante, pois, levando em conta o alto perfil de colonização e resistência observado entre os SCN, ao serem colonizados por SCN resistentes à mupirocina, os indivíduos que também são colonizados por *S. aureus*, podem passar a ter *S. aureus* resistentes à mupirocina através da aquisição do gene de resistência do SCN e se tornarem também resistentes à tal antibiótico.

#### 5.9. Opções terapêuticas

A incidência de microrganismos multirresistentes aliado ao surgimento de novos mecanismos de resistência bacteriana dificultam o tratamento de infecções. *Staphylococcus* spp. apresentam limitações terapêuticas decorrente de isolados resistentes à oxacilina. Tal fato exige a introdução de novas drogas na prática clínica para o controle de infecções.

A elevada prevalência de resistência à oxacilina associada com falhas no uso da vancomicina devido a resistência observada mediante esse antimicrobiano, evidenciou a necessidade de se desenvolver drogas alternativas.

A dificuldade também está relacionada ao fato de que a indústria tem investido principalmente na identificação de novos representantes de classes já existentes. Desde o ano 2000, apenas três novas classes de antimicrobianos foram introduzidas no mercado para uso em humanos: oxazolidinonas, lipopeptídeos e gliciliclinas. Destacam-se as cefalosporinas de 5ª geração recentemente lançadas, que estão se mostrando efetivas contra isolados de ORSA, porém, são representantes de uma mesma classe bastante antiga e desse modo, não apresentam mecanismo de ação inovador (BATISTA et al., 2015).

#### 5.10. Medidas profiláticas no contexto das infecções hospitalares e resistência bacteriana

Desde o surgimento das primeiras cepas de *Staphylococcus* spp. resistentes à oxacilina, o aumento nas taxas de resistência têm sido um fenômeno global. Dessa forma, os *Staphylococcus* spp. resistentes à oxacilina se tornaram um grande problema clínico e também epidemiológico nas últimas décadas (MIMICA et al., 2011).

Deste modo, a resistência bacteriana emerge como um problema mundial de saúde pública atraindo a atenção de órgãos governamentais nacionais e internacionais como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Organização Mundial de Saúde (OMS), o CDC e associações de controladores de infecções hospitalares, além da indústria farmacêutica internacional (OLIVEIRA; SILVA, 2008).

Frente a esse contexto, a frequência e a evolução das infecções por *Staphylococcus* spp. resistentes em indivíduos hospitalizados, especialmente em UTIs, demonstra a necessidade de medidas profiláticas imediatas com o objetivo de impedir a disseminação desse fenômeno, tais como: a educação dos profissionais de saúde, a detecção de pacientes sob risco (por meio da cultura de vigilância), implementação de isolamento por contato para pacientes colonizados/infectados, uso de Equipamento de Proteção Individual (EPI), a higienização das mãos, desinfecção de superfícies, restrição/controle do uso de antimicrobianos, manutenção de um banco de dados com a identificação de todos os pacientes colonizados/infectados, além da educação do paciente e da reformulação das políticas públicas.

## 6. CONCLUSÃO

O estudo possibilitou através da quantificação e identificação dos cocos Gram Positivos isolados de culturas de vigilância, e da avaliação da susceptibilidade bacteriana aos antimicrobianos e determinação do perfil de resistência dos mesmos, o fornecimento de informações a fim de melhorar as condutas de vigilância dos hospitais onde foi feito o estudo. Através disso, também foi possível fornecer dados relevantes para a construção de um perfil mais fidedigno no que diz respeito à epidemiologia desse mecanismo de resistência e estimular a melhora nas medidas de prevenção da infecção hospitalar.

Com o desenvolvimento do presente estudo pôde-se evidenciar a importância do *Staphylococcus coagulase negativa* como patógeno hospitalar e que também pode estar presente na comunidade.

Também se pôde demonstrar que os estafilococos constituem um grupo de importância epidemiológica no que diz respeito à sua capacidade de aquisição de resistência, colonização e infecção de indivíduos saudáveis ou não.

Com relação à resistência à mupirocina, verificou-se a importância para o *Staphylococcus coagulase negativa* como cepa capaz de armazenar e transmitir genes de resistência para outras cepas.

Observou-se também, com relação aos antimicrobianos testados, a evolução da resistência bacteriana que se faz presente desde a introdução dos primeiros antibióticos até os dias atuais.

Considerando os aspectos abordados nesse estudo, faz-se necessária uma mobilidade conjunta de profissionais e de entidades governamentais ligadas à saúde, em prol de aprimorar as políticas de controle relacionadas à resistência antimicrobiana e a microrganismos resistentes.

A preocupação em identificar a colonização por microrganismos multirresistentes é tema de inúmeros estudos na área da saúde nas últimas décadas. Isso porque se sabe da importância dessas bactérias como cepas capazes de colonizar indivíduos na comunidade e nos centros de saúde, produzir resistência e causar infecção das mais leves às mais graves.

## 7. REFERÊNCIAS

ABEGG, Patricia Terron Ghezzi M.; SILVA, Ligiane de Lourdes da. Controle de infecção hospitalar em unidade de terapia intensiva: estudo retrospectivo. **Semina**, Londrina, v. 32, n. 1, p.47-58, jun. 2011.

ALMEIDA, Gilmara Celli Maia de et al. Colonização nasal por *Staphylococcus sp.* em pacientes internados. **Acta Paul Enferm**, Caicó, v. 27, n. 3, p.273-279, maio 2014.

A MATHEWS, Anila et al. Evaluation and comparison of tests to detect methicillin resistant *S. aureus*. **Indian Journal Of Pathology And Microbiology**. Coimbatore, p. 79-82. jan. 2010.

Andrade D, Leopoldo VC, Haas VJ - Ocorrência de bactérias multirresistentes em um Centro de Terapia Intensiva de Hospital Brasileiro de Emergências. **RBTI**, 2006; 18:31-37.

ASCHBACHER, Richard et al. Review on colonization of residents and staff in Italian long-term care facilities by multidrug-resistant bacteria compared with other European countries. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 5, n. 1, p.1-9, 11 out. 2016. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1186/s13756-016-0136-1>.

BATHOORN, Erik et al. Emergence of High-Level Mupirocin Resistance in *Coagulase-Negative Staphylococci* Associated with Increased Short-Term Mupirocin Use. **Journal Of Clinical Microbiology**. Utrecht, The Netherlands, p. 2947-2950. set. 2012.

BODE, Lonneke G. m. et al. Preventing Surgical-Site Infections in Nasal Carriers of *Staphylococcus aureus*. **New England Journal Of Medicine**, v. 362, n. 1, p.9-17, 7 jan. 2010. New England Journal of Medicine (NEJM/MMS). <http://dx.doi.org/10.1056/nejmoa0808939>.

CABRER, Cristina E. et al. Epidemiology of nosocomial bacteria resistant to antimicrobials. **Colombia Médica**. Colombia, p. 117-125. ago. 2010.

CATÃO, Raïssa Mayer Ramalho et al. AVALIAÇÃO DA COLONIZAÇÃO NASAL POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* EM FUNCIONÁRIOS DE UM SERVIÇO DE SAÚDE EM C. **Revista de Biologia e Farmácia**, Campina Grande, v. 7, n. 1, p.10-17, 2012.

Cunha MLRS, Lopes CAM. Estudo da produção de b-lactamase e sensibilidade às drogas em linhagens de estafilococos coagulase-negativos isolados de recém-nascidos. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. 38:281-290, 2002.

CUSTÓDIO, Janaína et al. Avaliação microbiológica das mãos de profissionais da saúde de um hospital particular de Itumbiara, Goiás. **Rev. Ciênc. Méd**, Campinas, v. 18, n. 1, p.7-11, fev. 2009.

DAMACENO, Quésia Souza. **ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E MICROBIOLÓGICOS RELACIONADOS À COLONIZAÇÃO DE PACIENTES POR MICRO-ORGANISMOS MULTIRRESISTENTES EM UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA**. 2014. 115 f. Tese (Doutorado) - Curso de Enfermagem, Escola de Enfermagem, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.

DIEKEMA, D. J. et al. Survey of Infections Due to *Staphylococcus* Species: Frequency of Occurrence and Antimicrobial Suscep. **Clinical Infectious Diseases**. Iowa, p. 114-132. 2001.

DURMAZ, Gul et al. Methicillin-resistant *S. aureus* colonization in intensive care unit patients: Early identification a. **The Journal Of Infection In Developing Countries**. Turkey, p. 465-471. 23 jul. 2015.

FERREIRA, Adriano Menis et al. *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina em superfícies de uma Unidade de Terapia Intensiva. **Acta Paulista de Enfermagem**. São Paulo, p. 453-458. abr. 2011.

HETEM, D. J. et al. Acquisition of high-level mupirocin resistance in CoNS following nasal decolonization with mupirocin. **Journal Of Antimicrobial Chemotherapy**, [s.l.], v. 70, p.1182-1184, 23 dez. 2014. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dku522>.

JARVIS, William R.; JARVIS, Ashley A.; CHINN, Raymond Y.. National prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in inpatients at United States he. **Am J Infect Control**. South Carolina, p. 194-200. abr. 2012.

KALI, Arunava Kaliarunava; STEPHEN, Selvaraj; UMADEVI, Sivaraman. Laboratory Evaluation of Phenotypic Detection Methods of Methicillin Resistant *Staphylococcus Aureus*. **Brief Communication**. Pondicherry, p. 411-414. dez. 2014.

KUPLICH, Nádia Mora et al. POLÍTICA DE PREVENÇÃO DA DISSEMINAÇÃO DE GERMES MULTIRRESISTENTES NO HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE. **Hcpa**, Porto Alegre, v. 31, n. 1, p.80-89, fev. 2011.

LIMA, Maíra Ferreira Pinto et al. *Staphylococcus aureus* E AS INFECÇÕES HOSPITALARES – REVISÃO DE LITERATURA. **Revista Uningá Review**, Minas Gerais, v. 21, n. 1, p.32-39, mar. 2015.

LIMA, Mery Ellen; ANDRADE, Denise de; HAAS, Vanderlei José. Avaliação Prospectiva da Ocorrência de Infecção em Pacientes Críticos de Unidade de Terapia Intensiva. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, São Paulo, v. 19, n. 3, p.342-347, set. 2007.

M, Radhakrishna et al. Prevalence of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Carriage amongst Health Care Workers of Critical Care Units in Kasturba Medical

College Hospital, Mangalore, India. **Journal Of Clinical And Diagnostic Research**. Mangalore, p. 2697-2700. 15 dez. 2013.

MAYER, Leticia Eichstaedt; HORNER, Rosmari. Avaliação da prevalência e do perfil de sensibilidade de *Staphylococcus coagulase negativa* resistentes à meticilina/oxacilina no hospital universitário de Santa Maria (HUSM) e comparação de testes para detecção de resistência. **Saúde**, Santa Maria, v. 35, n. 2, p.62-69, 2009.

MIMICA, Marcelo Jenné et al. Avaliação da acurácia da placa de screening com oxacilina para detecção de resistência em cepas de *S. aureus*. **Arquivos Médicos**, São Paulo, v. 51, n. 3, p.76-80, out. 2006.

MOURA, Josely Pinto de et al. A colonização dos profissionais de enfermagem por *Staphylococcus aureus*. **Rev. Latino-am. Enfermagem**, São Paulo, v. 19, n. 2, p.1-7, mar. 2011.

MAGIORAKOS, A.-p. et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **Clinical Microbiology And Infection**. Stockholm, p. 268-281. mar. 2012.

MOURA, Josely Pinto de et al. Resistência à mupirocina entre isolados de *Staphylococcus aureus* de profissionais de enfermagem. **Acta Paul Enferm. Mg**, p. 399-403. 2010.

**MURRAY, PATRICK R.; ROSENTHAL, KEN S.; PFALLER, MICHAEL A.** Microbiologia Médica. 6 ed. Ed. Elsevier, 2009.

OLIVEIRA, Adriana Cristina de; SILVA, Rafael Souza da. Desafios do cuidar em saúde frente à resistência bacteriana: uma revisão. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, v. 10, n. 1, p.189-197, mar. 2008.

OPLUSTIL, C. P et al. **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica**. 3. ed. Editora Sarvier, 2010.

PATERSON, Gavin K.; HARRISON, Ewan M.; HOLMES, Mark A.. The emergence of mecC methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* **Trends In Microbiology**. Cambridge, p. 42-47. jan. 2014.

PERUGINI, Márcia Regina Eches et al. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 35, n. 2, p.275-282, ago. 2014.

QIANG, Li et al. Risk factors affecting nasal colonization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* when admitt. **Chinese Medical Journal**. Beijing, p. 1804-1807. 13 jan. 2014.

RAĞBETLI, Cennet et al. Evaluation of Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus* Isolates by Years. **Interdisciplinary Perspectives On Infectious Diseases**, [s.l.], v. 2016, p.1-4, abr. 2016. Hindawi Publishing Corporation. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/9171395>.

Ribas RM, Gontijo Filho PP, Cezário RC, Silva PF, Langoni DR, Duque AS. Fatores de risco para colonização por bactérias hospitalares multirresistentes em pacientes críticos, cirúrgicos e clínicos em um hospital universitário brasileiro. **Rev Méd Minas Gerais**. 2009; 19(3):193-7.

ROSSI, Flávia; ANDREAZZI, Denise B.. Cocos Gram-Positivos: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* spp. e *Streptococcus pneumoniae* e os principais mecanismos de resistência. In: ROSSI, Flávia; ANDREAZZI, Denise B.. **Resistência Bacteriana: Interpretando o Antibiograma**. São Paulo: Atheneu, 2005. p. 27-43.

SANTOS, André Luis dos et al. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. Rio de Janeiro, p. 413-423. dez. 2007.

SARMENTO, Thiago Ferreira. **IMPORTÂNCIA DA IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES PELAS CULTURAS DE VIGILÂNCIA NO CONTROLE DAS INFECÇÕES HOSPITALARES.** 2015. 34 f. TCC (Graduação) - Curso de Farmácia, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2015.

SCRIBEL, Letícia Vale et al. Lack of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal carriage among patients at a primary-healthcare unit in Porto Alegre, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop.**, São Paulo, v. 53, n. 4, p.197-199, ago. 2011

SELBACH, Luciano. **Influência da pressão de colonização sobre as taxas de bacteremias nosocomiais por staphylococcus aureus metilina-resistente (mrsa) no Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Análise da série histórica (2000-2011).** 2013. 35 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

SILVA, André Ricardo Araujo da; WERNECK, Lúcia; HENRIQUES, Cristiane Teixeira. Dinâmica da circulação de bactérias multirresistentes em unidades de terapia intensiva pediátrica do Rio de Janeiro. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, Rio de Janeiro, v. 2, n. 2, p.41-45, maio 2012.

SOUSA JUNIOR, Francisco Canindé de et al. Prevalência de *Staphylococcus* spp. resistentes à metilina isolados em uma maternidade escola da Cidade de Natal, Estado do Rio Grande do Norte. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Natal, v. 2, n. 42, p.179-182, fev. 2009.

SOUSA, Liliana Urdangarin de et al. Avaliação de metodologias para a detecção de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina (MRSA) e análise do perfil de sensibilidade frente aos antimicrobianos em um hospital terciário. **Saúde**, Santa Maria, v. 37, n. 1, p.23-30, set. 2011.

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

TEIXEIRA, Cristina Ferreira e. **ESTAFILOCOCOS COAGULASE-NEGATIVA – UM RISCO REAL PARA A SAÚDE PÚBLICA**. 2009. 94 f. Tese (Doutorado) - Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2009.

**TRABULSI, L. R.; ALTHERTHUM, F.** *Microbiologia. Staphylococcus aureus*. São Paulo: Atheneu, 2005. cap. 20, p. 175-82.

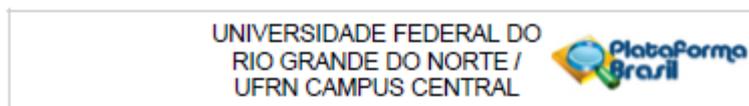
TROUILLET-ASSANT, Sophie et al. Mupirocin Resistance in Isolates of *Staphylococcus* spp. from Nasal Swabs in a Tertiary Hospital in France. **Journal Of Clinical Microbiology**. France, p. 2713-2715. ago. 2015.

Winn, W.C.; Allen, S.D.; Janda, W.M.; Koneman, E.W.; Procop. G.W.; Schreckenberger, P.C.; Woods, G.L. **Koneman, diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido**. 6ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

ZANINI, Daniela. Prevalência dos microrganismos isolados em unidades de terapia intensiva de um hospital universitário. **Saúde**, Santa Maria, v. 40, n. 2, p.115-122, dez. 2014.

## 8. ANEXOS

### Anexo 1



#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

##### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Culturas de Vigilância de Resistência de Pacientes Internos em Unidades de Terapia Intensiva dos Hospitais ligadas a UFRN

**Pesquisador:** RENATO MOTTA NETO

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 45184115.5.0000.5537

**Instituição Proponente:** Departamento de Microbiologia e Parasitologia

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

##### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 1.136.107

**Data da Relatoria:** 26/06/2015

##### Apresentação do Projeto:

O projeto de pesquisa ora apresentado corresponde a trabalho objetivando elaboração de dissertação de mestrado no qual pretende-se avaliar a frequência de bactérias multiresistentes em UTIs de hospitais ligados a UFRN.

O estudo é do tipo observacional descrito, sendo selecionados 100 indivíduos nos hospitais Giseida Trigueiro e Hospital Universitário Onofre Lopes, ambos em Natal/RN. Para o estudo serão coletadas informações nos prontuários destes indivíduos bem como serão coletados, com o uso de swab, material proveniente da pele e de mucosas (nasal e retal). Nos prontuários serão coletadas informações sobre a história da doença atual e se os pacientes estão em uso de antimicrobianos. O material coletado da pele e mucosa será transportado para análise laboratorial para identificação dos microorganismos presentes nestes pacientes.

##### Objetivo da Pesquisa:

**Objetivo Primário:**

1) Traçar a frequência de bactérias com padrão multiresistente isoladas de pacientes internos em Unidades de Terapia Intensiva dos Hospitais ligados a UFRN.

<b>Endereço:</b> Av. Senador Salgado Filho, 3000	
<b>Bairro:</b> Lagoa Nova	<b>CEP:</b> 59.078-070
<b>UF:</b> RN	<b>Município:</b> NATAL
<b>Telefone:</b> (84)3215-3135	<b>E-mail:</b> cepufm@reitoria.ufrn.br

Continuação do Parecer: 1.136.107

**Objetivos Secundários:**

- 1) Determinar a frequência fenotípica e genotípica de Cocos Gram positivos (ORSAS);
- 2) Determinar a frequência fenotípica e genotípica de Bacilos Gram negativos (ESBL, KPC).

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Foram comentados que os riscos são relacionados com constrangimento e possibilidade de identificação dos participantes, mas também foi informado do sigilo que deve ser estabelecido para os participantes.

Quanto aos benefícios, citam que a pesquisa promoverá uma melhora nas condutas de vigilância a fim de impedir a transmissão destes tipos de bactérias, estabelecendo assim possíveis ações de controle de surtos e infecções através da determinação de sua frequência. Também relata o "retorno dos resultados para o hospital, a fim de que eles possam adotar as medidas de isolamento necessárias para evitar a propagação dos microorganismos multiresistentes."

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

A pesquisa tem grande significado para um melhor conhecimento da presença de microorganismos multiresistentes em pacientes internados em UTIs por um tempo superior a uma semana. Seus resultados poderão contribuir para tomadas de decisões a respeito de condutas sobre o tema para pacientes nas mesmas condições pesquisadas.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Os termos de apresentação obrigatória estão contidos no processo. No processo encontram-se os Termos de Anuência das 2 Instituições hospitalares envolvidas na pesquisa, Termos de Concessão das mesmas Instituições, Declaração de não início da pesquisa, etc.

**Recomendações:**

Na avaliação inicial do projeto havíamos evidenciado uma linguagem muito técnica no TCLE e colocamos em pendência, recomendando alterações no texto.

Na resposta às pendências, os termos mais técnicos contidos no TCLE foram substituídos por outros de melhor compreensão.

Endereço: Av. Senador Salgado Filho, 5000  
Bairro: Lagoa Nova CEP: 59.078-070  
UF: RN Município: NATAL  
Telefone: (84)3215-3135 E-mail: cepufn@reitoria.ufrn.br

Continuação do Parecer: 1.136.107

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Após a análise ética e científica da carta resposta às pendências observadas no Parecer Consubstanciado n.º 1.097.658, datado de 29/05/2015, o CEP Central/UFRN verificou que as Inadequações éticas mencionadas no parecer supra citado foram sanadas na atual versão do protocolo de pesquisa, satisfazendo as diretrizes regulatórias das pesquisas envolvendo seres humanos e, por esse motivo, o referido protocolo está enquadrado como APROVADO.

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Em conformidade com a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde - CNS e Manual Operacional para Comitês de Ética - CONEP é da responsabilidade do pesquisador responsável:

1. elaborar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE em duas vias, rubricadas em todas as suas páginas e assinadas, ao seu término, pelo convidado a participar da pesquisa, ou por seu representante legal, assim como pelo pesquisador responsável, ou pela (s) pessoa (s) por ele delegada(s), devendo as páginas de assinatura estar na mesma folha (Res. 466/12 - CNS, Item IV.5d);
2. desenvolver o projeto conforme o delineado (Res. 466/12 - CNS, Item XI.2c);
3. apresentar ao CEP eventuais emendas ou extensões com justificativa (Manual Operacional para Comitês de Ética - CONEP, Brasília - 2007, p. 41);
4. descontinuar o estudo somente após análise e manifestação, por parte do Sistema CEP/CONEP/CNS/MS que o aprovou, das razões dessa descontinuidade, a não ser em casos de justificada urgência em benefício de seus participantes (Res. 446/12 - CNS, Item III.2u);
5. elaborar e apresentar os relatórios parciais e finais (Res. 446/12 - CNS, Item XI.2d);
6. manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período de 5 anos após o término da pesquisa (Res. 446/12 - CNS, Item XI.2f);
7. encaminhar os resultados da pesquisa para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico integrante do projeto (Res. 446/12 - CNS, Item XI.2g) e,
8. justificar fundamentadamente, perante o CEP ou a CONEP, interrupção do projeto ou não

Endereço: Av. Senador Salgado Filho, 3000  
Bairro: Lagoa Nova CEP: 59.078-070  
UF: RN Município: NATAL E-mail: cepufn@reitoria.ufrn.br  
Telefone: (84)3215-3135

Página 02 de 04

Continuação do Parecer: 1.136.107

publicação dos resultados (Res. 446/12 - CNS, Item XI.2h).

NATAL, 02 de Julho de 2015

---

Assinado por:  
LÉLIA MARIA GUEDES QUEIROZ  
(Coordenador)