

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE BIOLOGIA

CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Perfil de resistência em isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina em
um hospital municipal

Camila de Paula Siqueira

Monografia apresentada à Coordenação do Curso
de Ciências Biológicas, da Universidade Federal
de Uberlândia, para a obtenção do grau de
Licenciatura em Ciências Biológicas.

Uberlândia-MG

Dezembro 2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE BIOLOGIA

CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Perfil de resistência em isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina em
um hospital municipal

Camila de Paula Siqueira

Orientador(a)

Profa. Dra. Lizandra Ferreira de Almeida e Borges

Instituto de Ciências Biomédicas

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de
Ciências Biológicas, da Universidade Federal de
Uberlândia, para a obtenção do grau de Licenciatura
em Ciências Biológicas.

Uberlândia-MG

Dezembro 2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE BIOLOGIA

CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Perfil de resistência em isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina em
um hospital municipal

Camila de Paula Siqueira

Orientador(a)

Profa. Dra. Lizandra Ferreira de Almeida e Borges

Instituto de Ciências Biomédicas

Homologado pela coordenação do Curso de

Ciências Biológicas em __/__/__

Coordenador(a) do curso

Profa. Dra. Celine de Melo

Uberlândia-MG

Dezembro 2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE BIOLOGIA

CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Perfil de resistência em isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina em
um hospital municipal

Camila de Paula Siqueira

Aprovado pela Banca Examinadora em: 14/12/2017 Nota: 100 pontos

Profa. Dra. Lizandra Ferreira de Almeida e Borges

Presidente da banca examinadora

Uberlândia, 14 de dezembro de 2017

Agradecimentos

Primeiramente agradeço ao meu pai, por tanto amor, dedicação, broncas e respeito para comigo.

Agradeço aos meus amigos, em especial a Hanna, Diego e Juliano, por me aguentarem nos dias de mal humor, dias tristes e felizes, por caminharem comigo nessa jornada tão árdua, deixando a vida mais doce.

Agradeço imensamente aos técnicos do Laboratório de Microbiologia Universidade Federal de Uberlândia, que tanto proporcionaram no meu crescimento profissional, em especial à minha Professora Dra. Lizandra, que dedicou dias em me auxiliar, com todo amor e carinho, ao biomédico que me proporcionou as amostras do Hospital, dentre outros que colaboraram direta e indiretamente nesse trabalho.

Resumo

Staphylococcus aureus é um patógeno encontrado em larga escala nos hospitais, presente nos pacientes. Este microrganismo causa infecções variadas, desde as mais simples até as mais complexas, com uso indiscriminado de antimicrobianos tornou-se multirresistente. Este estudo tem como objetivo avaliar o perfil de resistência dos isolados de *Staphylococcus aureus* resistentes a metilina, do Hospital e Maternidade Municipal de Uberlândia, no estado de Minas Gerais nos anos de 2013 a 2015. Foram recuperadas 158 amostras resistentes à metilina (MRSA), dentro e fora da Unidade de Tratamento Intensiva (UTI), submetidas ao teste de resistência induzível iMLS_B, pela técnica do Teste D, avaliação de penicilinase pelo teste de Nitrocefina, além do perfil de resistência aos antimicrobianos. Os principais isolados foram amostras encontradas em pacientes com idade superior a 66 anos (62%), homens (62,7%), infecções causadas por pneumonia dentro da UTI (60,4%), resistência aos β-lactâmicos (92,4%) e produtores de penicilinas (76,6%). Destas amostras (89,2%) eram constitutivas para MLS_B. Estes dados sugerem como alerta para profissionais da saúde, em maior disciplina com a antissepsia ao trabalhar com pacientes, em especial UTI, aos funcionários dos serviços gerais nas antissepsias do ambiente hospitalar e ainda no uso correto de antimicrobianos.

Palavras chave: *Staphylococcus aureus*, multirresistência, resistência induzível, penicilinase.

Sumário

INTRODUÇÃO	1
OBJETIVOS.....	7
GERAL.....	7
ESPECIFICOS.....	7
MATERIAL E MÉTODOS.....	8
RESULTADOS	10
DISCUSSÃO	14
CONCLUSÃO	18
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	19
ANEXO.....	21

INTRODUÇÃO

Staphylococcus aureus são cocos Gram e catalase positivo, imóveis, não esporulados, podendo apresentar diversas formas, que vão desde células isoladas, aos pares, em cadeias curtas, ou agrupamentos irregulares, com formas semelhantes a cachos de uva, caracterizando seu arranjo mais tradicional. Foram descritos pela primeira vez em 1880, sendo atualmente o mais virulento e conhecido do gênero, podendo ser encontrado naturalmente na microbiota humana da cavidade nasal, provocando desde infecções leves, como as infecções de pele até as graves como pneumonia (MURRAY et al., 2006; SANTOS et al., 2007).

Por ser considerado altamente patogênico e presente na microbiota da maioria dos indivíduos, tem sido encontrado com frequência em pacientes internados em unidades hospitalares, como causador de diversas infecções, tais como endocardites, pneumonias e septicemias. As feridas cirúrgicas, as escaras e os locais de inserção de dispositivos médicos, também podem ser colonizados e resultar em maior tempo de hospitalização e tratamento com antimicrobianos potentes (LIMA et al., 2015).

A terapia antimicrobiana para as infecções causadas por este microrganismo, inicialmente era simples, a primeira vez que um antimicrobiano foi utilizado clinicamente contra uma cepa de *S. aureus*, foi após a descoberta da penicilina (1945), pertencente ao grupo dos β -lactâmicos, que funcionou bem até a década de 1960 (REMONATTO et al., 2007).

Os antimicrobianos β -lactâmicos ligam-se a proteínas, que participam da síntese da parede celular, chamadas PBPs (proteínas ligadoras de penicilina), que são enzimas responsáveis pelas ligações entre as moléculas de peptidoglicano, para a síntese da parede das bactérias, a ação desses antimicrobianos impede a formação da parede celular e resulta em lise bacteriana (GALATTI et al., 2009; RATTI et al., 2009).

Com o pouco tempo de uso da penicilina, o *S. aureus* adaptou-se, com o desenvolvimento de uma enzima inativadora (por hidrólise) da penicilina, denominada penicilinase, caracterizada como uma β -lactamase (LOPES et al., 2005)

Em 1959, com isolamento do ácido 6-aminopenicilânico (6-APA) da molécula de Penicilina, tornou-se possível a produção de penicilinas semi-sintéticas. As modificações na cadeia desse precursor resultaram em proteção do anel β -lactâmico contra a ação hidrolítica das β -lactamases. Os primeiros desses agentes antimicrobianos disponíveis para uso clínico foram a oxacilina e a meticilina (MIMICA et al., 2007).

Isolados de *Staphylococcus aureus*, que apresentam resistência à meticilina são denominados MRSA (Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*). Vários fatores estão relacionados com a manifestação deste microrganismo: internação em unidade de tratamento intensivo, prolongada hospitalização, doença de base grave, procedimentos invasivos e exposição prolongada ou repetida aos antimicrobianos. A resistência à meticilina é determinada pelo *Staphylococcal cassette chromosome mec* (SCCmec), que carrega o gene *mecA*, apresentando baixa afinidade por todos os antimicrobianos β -lactâmicos (GELATTI et al., 2009).

As PBPs (Penicilin Binding Protein) são enzimas responsáveis pelas ligações cruzadas (cross-link) entre as moléculas de peptidoglicano e são sítios de ação dos antimicrobianos β -lactâmicos (RATTI et al., 2009) O MRSA codifica geneticamente uma proteína de ligação à penicilina modificada, PBP2a, (penicillin-binding protein 2^a), que possuem baixa afinidade aos β -lactâmicos. Tornando a resistência praticamente completa a todos antibióticos β -lactâmicos incluindo penicilinas semi-sintéticas, tais como meticilina, oxacilina ou cloxacilina (MIMICA & BEZERIN, 2006; APPELBAUM, 2007).

Há duas décadas, um número crescente de relatos mostrou a emergência de um tipo novo de MRSA, antes considerado um patógeno hospitalar exclusivo, observado em indivíduos da

comunidade sem os fatores de risco comuns para a aquisição do patógeno. Estas cepas, que foram denominadas CA-MRSA (community associated methicillin resistant *S. aureus*), e não tem relação com os denominados HA-MRSA (hospitalares) (REMONOTTO et al., 2007). Estes estão em aumento tanto nas áreas urbanas quanto nas zonas rurais, podendo ser transmitidos durante o contato direto entre pessoas que compartilham intimamente o mesmo espaço, como por exemplo, acampamentos, internatos, creches, hotéis de bebê, presídios, dentre outros (COLLI et al., 2009).

Comumente, o HA-MRSA têm como fatores de risco, pessoas com idade superior a 60 anos, uso de corticosteróides, uso prévio de antibióticos e presença de cateter vascular central, enquanto o CA-MRSA é identificado por ocorrer em pacientes que não foram hospitalizados no ano anterior ou que não se submeteram a procedimentos médicos, tais como diálise, cirurgia ou uso de cateter (LOPES, 2005).

Os macrolídeos (eritromicina, claritromicina e azitromicina), lincosamidas (clindamicina) e estreptograminas (dalfopristina e quinupristina) do grupo B, chamados de grupo MLS_B, são drogas quimicamente distintas, entretanto apresentam mecanismos de ação similar na inibição da síntese proteica, pela ligação no receptor 23s, do rRNA. A resistência do *S. aureus* ao grupo MLS_B é conhecida desde 1956, logo após a introdução da eritromicina, na prática terapêutica, a resistência a estes antibióticos ocorre a partir de três mecanismos de ação: modificação no alvo de ligações do ribossomo; efluxo ativo ou inativação enzimática da droga (AMORIM et al., 2009).

O mecanismo de modificação do sítio alvo resulta na resistência a Eritromicina, Clindamicina e Estreptograminas do grupo B, que pode ter sua expressão constitutiva, quando a metilação do ribossomo é sempre produzida, ou pode ser induzível quando a metilase é produzida somente na presença de um agente indutor, sendo a Eritomicina um efetivo agente indutor e a clindamicina um fraco indutor (STEWART et al., 2005). Este

fenótipo é codificado pelo gene *erm*, e quando induzível, as amostras são resistentes ao indutor e permanece com falsa susceptibilidade aos macrolídeos não indutores e lincosamidas (AMORIM et al., 2009).

A expressão do fenótipo MLS_B pode ser induzível ($iMLS_B$) observada quando o mRNA inativo é transcrito, na presença de um indutor, sendo ativo na produção de metilases. Podendo ser também MLS_B constitutivo ($cMLS_B$), o mRNA relativo à metilase é ativo, sem a presença de um agente indutor. A Eritromicina em baixos níveis é indutora do fenótipo $iMLS_B$, e funciona como a base do D-teste (AMORIM et al., 2009). A avaliação de laboratório pode ser realizada pelo teste de duplo disco utilizando discos de Eritromicina e Clindamicina (Teste D), com uma distância de 15 a 20mm, de modo que se observe o achatamento do halo de inibição da clindamicina provocado pela indução da eritromicina (TORRES & CERCENADO, 2010).

A relação dos antimicrobianos utilizados com potencial atividade contra o MRSA são clindamicina, doxiciclina, sulfametoxazol/trimetoprim, quinolonas e rifampicina. Para formas clínicas graves, utiliza-se a vancomicina, linezolida e daptomicina, esta última não disponível no Brasil (LOPES, 2005). Outros antimicrobianos como tetraciclina, fluoroquinolonas também estão sendo utilizados no tratamento para MRSA, incluindo associação de quinupristina–dalfopristina (REMONATTO et al., 2007).

Outros antimicrobianos, como a clindamicina, são utilizados para o tratamento de infecções causadas por MRSA ou outras espécies estafilocócicas, além de ser uma alternativa para pacientes alérgicos a penicilina, em tratamento de infecções de pele e de tecidos moles (AMORIM et al., 2009).

A vancomicina ainda permanece como a droga de escolha para o tratamento de infecções causadas por MRSA. É um antimicrobiano da classe dos glicopeptídeos, que age ligando-se à

porção terminal D-ala-D-ala dos precursores do peptidoglicano (constituente da parede celular bacteriana), inibindo assim a síntese da parede celular (MIMICA et al., 2006).

Porém existem outras drogas que podem ser utilizadas como a linezolida, que é uma alternativa de primeira linha para o tratamento de infecções de pele ou partes mole, além da pneumonia, com boa utilização em pacientes diabéticos (LOPES, 2014).

Já a tigeciclina é considerada a terceira potencial indicação para o tratamento das infecções por MRSA, quando os antibióticos disponíveis normalmente não possam ser utilizados (LOPES, 2014).

Comumente, infecções por MRSA são tratadas com glicopeptídeos, como vancomicina e teicoplanina, mas nos últimos anos surgiram isolados de MRSA com sensibilidade reduzida ou com resistência à vancomicina. Esses isolados foram denominados *S. aureus* intermediário para vancomicina (VISA) e *S. aureus* resistente à vancomicina (VRSA), dependendo de seu nível de resistência (ZURITA et al., 2010).

A daptomicina é uma alternativa a vancomicina, indicadas para pacientes com infecções nos tecidos moles, com bacteremia e endocardite, porém é contra-indicada para pacientes com pneumonia, por ser inativada por surfactantes pulmonares. Alguns antibióticos em fase de investigação também estão inclusos no tratamento de MRSA, como as cefalosporinas (LOPES, 2014).

Teixobactin é um novo antibiótico, produzido por uma nova espécie de β -proteobactérias, provisoriamente chamado *Eleftheria terrae*, pertencente a um novo gênero relacionado das Aquabactérias. A teixobactin foi ativa em ensaios laboratoriais à cepas representativas de bactérias que causam infecções de feridas e invasivas, como *S. aureus*, incluindo MRSA e nenhuma cepa mostrou-se ser resistente a este novo antimicrobiano (PIDDOCK, 2015).

Staphylococcus aureus caracteriza-se como uma bactéria causadora de infecções, desde as mais simples até as mais graves, cujo tratamento utilizado normalmente inclui a metilina/oxacilina, embora algumas apresentem resistência a estes. E a alternativa terapêutica frente ao MRSA, atualmente é feita com outros antimicrobianos, os mais usuais são a Clindamicina e a Eritromicina.

OBJETIVOS

GERAL

Avaliar o perfil de resistência dos isolados de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina, do Hospital e Maternidade Municipal de Uberlândia, no estado de Minas Gerais.

ESPECIFICOS

Avaliar o perfil de resistência dos isolados de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina.

Avaliar a produção de penicilinase pelo teste cromogênico.

Avaliar o perfil de resistência constitutiva e induzível aos macrolídeos, lincosamidas e estreptograminas B (MLS_B), por meio do teste D.

MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi realizado com amostras de culturas de *Staphylococcus aureus* Resistente a Meticilina (MRSA) dos anos de 2013 a 2015, provenientes de pacientes internados no Hospital e Maternidade Municipal Dr. Odelmo Leão Carneiro, localizado na cidade de Uberlândia, Minas Gerais, cujo atendimento é exclusivamente pelo SUS, possui 256 leitos, destes 45 são de Unidades de Terapia Intensiva.

Foi recuperado, juntamente com as amostras já identificadas, o relatório do antibiograma realizado pelo Laboratório credenciado pelo hospital, que utilizou os métodos de Kirby-Bauer e as mais recentes por Maldi-Tof®, para detecção do perfil de resistência.

As amostras foram armazenadas no Laboratório de Pesquisa em Bacteriologia, da Universidade Federal de Uberlândia (LABAC-UFU), em Caldo Trypticase Soja com 20% de glicerol, mantidos em congelamento à -20° C, até que os testes adicionais, a seguir fossem realizados.

O inóculo bacteriano foi realizado a partir de cultura nova em Agar Trypticase Soja, incubado por 24 horas, à 35°C. Em seguida a suspensão de algumas colônias em solução salina 0,85%, até atingir a Escala de 0,5 de McFarland foi utilizada para todos os ensaios.

Foi realizado Screening das amostras em Agar Muller-Hinton, acrescido de 4% de NaCl e 6µg/mL de oxacilina, incubados à 35°C, por 24 horas, para confirmação do fenótipo MRSA.

O teste de Nitrocefina para a pesquisa de penicilinase foi realizado com auxílio de uma alça de platina e coletada 4 a 5 colônias da cultura em Agar Trypticase Soja friccionadas em movimentos circulares, em uma fita impregnada com o substrato (PROBAC) e molhada em Lugol de Gram. Aguardando o aparecimento de cor branca (resultado positivo), que contrasta com o marrom restante da fita.

O teste D foi realizado, colocando um disco de Clindamicina (2 μ g) à uma distância de 15 a 20 mm de centro a centro de um disco de Eritromicina (15 μ g), em Agar Muller-Hinton, inoculado com a suspensão bacteriana, utilizando um Swab, seguida de incubação a 35°C, por 18 a 24 horas. Assim, em caso de achatamento no halo de Clindamicina (formação de D), considerado teste positivo para resistência induzível, não havendo achatamento no disco, com halo de sensibilidade a Clindamicina e Eritromicina ou resistência a ambos (Constitutiva).

Os dados obtidos por meio do relatório do antibiograma e todos os resultados obtidos com os ensaios foram tabulados em uma planilha do Excell (Microsoft) e a análise estatística das frequências foi realizada por meio do teste de Qui-quadrado por tabela de contingência (2x2) ou Exato de Fischer, considerando o Intervalo de Confiança de 95% e $P \leq 0,05$ (BioEstat 5.0).

Este estudo possui aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Uberlândia, sob o número 463.877 (Anexo).

RESULTADOS

Foram recuperadas 158 amostras de *Staphylococcus aureus* Resistente a Meticilina (MRSA), sendo 60,8% provenientes da UTI, com a mesma proporção quanto ao sexo e idade até 65 anos. Aqueles com idade igual ou superior ou igual a 66 anos ocorreram mais na UTI (Tabela 1). Mas quando comparado a ocorrência da infecção quanto ao sexo, os homens apresentaram maior prevalência (63%, $P < 0,0001$).

TABELA 1- Variáveis sexo e idade das amostras de MRSA dentro e fora da UTI no Hospital e Maternidade Dr. Odelmo Leão Carneiro.

Variável	UTI N= 96 (%)	FORA DA UTI N= 62 (%)	TOTAL N= 158 (%)	P (IC 95%)
Sexo				
Feminino	36 (37,5)	23 (37,1)	59 (37,3)	0,95
Masculino	60 (62,5)	39 (62,9)	99 (62,7)	0,95
Idade				
0-25 anos	01 (1,0)	03 (4,8)	04 (2,5)	0,13
26-45 anos	09 (9,4)	08 (12,9)	17 (10,8)	0,48
46-65 anos	20 (20,8)	20 (32,3)	40 (25,3)	0,10
≥66 anos	67 (69,8)	31 (50,0)	98 (62,0)	0,01*

UTI: Unidade de Terapia Intensiva; *:Estatisticamente significante ($P \leq 0,05$); IC: intervalo de confiança.

A maioria das amostras (48,1%) é de 2014, e a mesma proporção nos anos de 2013 e 2015, dentro e fora da UTI. Quanto às síndromes infecciosas, as pneumonias ocorreram em maior número (43%), sendo esta com maior prevalência na UTI. Infecções do sítio cirúrgico e outras (nasal, ocular, peritoneal) ocorreram fora desta unidade, como apresentado na tabela 2.

TABELA 2- Variáveis ano de distribuição e síndrome infecciosa das amostras de MRSA dentro e fora da UTI no Hospital e Maternidade Dr. Odelmo Leão Carneiro.

Variável	UTI	FORA DA UTI	TOTAL	P
	N= 96 (%)	N= 62 (%)	N= 158 (%)	(IC 95%)
2013	42 (43,8)	28 (45,2)	70 (44,3)	0,86
2014	49 (51,0)	27 (43,5)	76 (48,1)	0,35
2015	05 (5,2)	07 (11,3)	12 (7,6)	0,15
Infecção				
Corrente sanguínea	36 (37,5)	28 (45,2)	64 (40,5)	0,33
Pneumonia	58 (60,4)	10 (16,1)	68 (43,0)	< 0,0001*
Sítio cirúrgico	00 (0,0)	10 (16,1)	10 (6,3)	< 0,0001*
Urinária	01 (1,0)	02 (3,2)	03 (1,9)	0,33
Outros	00 (0,0)	11 (17,7)	11 (7,0)	< 0,0001*

UTI: Unidade de Terapia Intensiva; Outros: nasal, ocular e peritoneal; *:Estatisticamente significativa ($P \leq 0,05$); IC: intervalo de confiança.

Avaliando o perfil de resistência, as amostras (MRSA), mostraram resistência em mais de 90% à Clindamicina, Levofloxacina, e Eritromicina, tanto na UTI quanto fora desta. A resistência a penicilina foi mais observada nesta unidade (95,8%) como apresentado na tabela 3, inclusive quando considerado todos os β -lactâmicos.

TABELA 3- Perfil de resistência das amostras de *S. aureus* frente aos antimicrobianos, dentro e fora da UTI no Hospital e Maternidade Dr. Odeldo Leão Carneiro.

Antimicrobiano	UTI N= 96 (%)	FORA DA UTI N= 62 (%)	TOTAL N= 158 (%)	P (IC 95 %)
Aminoglicosídeos	14 (14,6)	04 (6,5)	18 (11,4)	0,11
Clindamicina	94 (97,9)	60 (96,8)	154 (97,5)	0,65
Gentamicina	14 (14,6)	04 (6,5)	18 (11,4)	0,11
Antifolatos (Sulfametoxazol/Trimetoprim)	07 (7,3)	03 (4,8)	10 (6,3)	0,53
β-lactâmicos	92 (95,8)	54 (87,0)	146 (92,4)	0,04*
Penicilina	92 (95,8)	54 (87,0)	146 (92,4)	0,04*
Oxacilina	96 (100)	62 (100)	158 (100)	-
Eritromicina	95 (98,9)	61 (98,4)	156 (98,7)	0,75
Glicopeptídeos	00 (0,0)	01 (1,6)	01 (0,6)	0,21
Vancomicina	00 (0,0)	00 (0,0)	00 (0,0)	-
Teicoplanina	00 (0,0)	01 (1,6)	01 (0,6)	0,21
Quinolonas (Levofloxacina)	90 (93,8)	57 (91,9)	147 (93,0)	0,66
Tetraciclina	05 (5,2)	02 (3,2)	07 (4,4)	0,55
Outros	06 (6,3)	04 (6,5)	10 (6,3)	0,95
Clorafenicol	25 (26,0)	21 (33,9)	46 (29,1)	0,29
Linezolida	00 (0,0)	00 (0,0)	00 (0,0)	-
Rifampicina	16 (16,7)	12 (19,4)	28 (17,7)	0,66

UTI: Unidade de Terapia Intensiva; *:Estatisticamente significativa ($P \leq 0,05$); IC: intervalo de confiança.

Nos anos de 2013 e 2014, apenas 37 amostras (23,4%) mostraram resistência a penicilina no antibiograma, porém no teste de penicilinase, com fita de Nitrocefin apresentaram resultado negativo.

O mecanismo de resistência mais observado foi a resistência constitutiva MLSb (89,2%), e o segundo mais prevalente foi a produção de Penicilinase (76,6%). Todos com a mesma distribuição dentro e fora da UTI como apresentado na tabela 4.

A resistência induzível estava presente em 11% das amostras, em sua maioria de Infecções de corrente sanguínea (47%), no ano de 2013 (82,4%) e em pacientes internados fora da UTI. A presença dos três mecanismos de resistência, incluindo a induzível foi de 7,6% das amostras com as mesmas características.

TABELA4- Mecanismos de Resistência (constitutiva e induzível à clindamicina e β -lactamases) em amostras de MRSA dentro e fora da UTI no Hospital e Maternidade Dr. Odelmo Leão Carneiro.

Característica	UTI N= 96 (%)	FORA DA UTI N= 62 (%)	TOTAL N= 158 (%)	P (IC 95 %)
μ MLSb	07 (7,3)	10 (16,1)	17 (10,8)	0,08
c MLSb	89 (92,7)	52 (83,9)	141 (89,2)	0,08
Penicilinase	73 (76,0)	48 (77,4)	121 (76,6)	0,84
μ MLSb+ Penicilinase	5 (5,2)	7 (11,3)	12 (7,6)	0,15
c MLSb + Penicilinase	68 (70,8)	40 (64,5)	108 (68,4)	0,40

UTI: Unidade de Terapia Intensiva; μ MLSb: Resistência induzível a Macrolídeos, Licosamidas e Estreptograminas; c MLSb: Resistência constitutiva a Macrolídeos, Licosamidas e Estreptograminas; IC: intervalo de confiança.

Foi confirmado o perfil de resistência MRSA, em todas as amostras, inclusive sua classificação em multirresistência, todas sensíveis a vancomicina, e uma amostra do ano de 2013, de ponta de cateter, na enfermaria mostrou no antibiograma resistência intermediária a teicoplanina, que neste estudo foi considerado resistente.

DISCUSSÃO

As infecções hospitalares são todas aquelas adquiridas durante a internação hospitalar ou então relacionadas a algum procedimento realizado no hospital (por exemplo, cirurgias), podendo manifestar-se inclusive após a alta do paciente. E estes quando internados em unidades de saúde, estão expostos a uma grande variedade de microrganismos, com risco de contaminação por outros agentes infecciosos, além daquele patógeno que possa tê-lo levado ao hospital, em caso de infecção prévia. Este risco é crescente, em especial quando se tratado de Unidade de Tratamento Intensiva (UTI), onde o uso de antimicrobianos potentes e de largo espectro é quase sempre a regra e os procedimentos invasivos rotineiros (GARCIA et al., 2013).

Staphylococcus aureus são bactérias encontradas naturalmente na microbiota humana, das mucosas, podendo causar graves infecções. Por ser considerado altamente patogênico, *S. aureus* tem sido encontrado com frequência em pacientes internados em unidades hospitalares, causando diversos tipos de infecções e com o uso inadequado de antimicrobianos, estes desenvolveram mecanismos de resistência aos mais usuais, como a penicilina e a meticilina (MRSA) (LIMA et al., 2015). No hospital estudado o MRSA, caracteriza-se como o terceiro microrganismo mais isolado dos pacientes internados (dados não mostrados).

A prevalência do MRSA em Unidade de Terapia Intensiva (UTI) destaca-se devido a vulnerabilidade dos pacientes ali internados. No trabalho de Klein & Goulart (2008), a preocupação para a infecção do MRSA em UTI, é devido ao fato dos pacientes estarem, geralmente, submetidos a uma vasta antibioticoterapia, o que facilitaria a infecção pelo MRSA.

Neste trabalho a maioria das infecções causadas por MRSA ocorreu na UTI e nos pacientes do sexo masculino, mostrando uma alta prevalência do microrganismo em homens.

São conhecidos como fatores de risco para infecção por MRSA o sexo masculino, crianças, militares, atletas, adultos em unidades de emergência, dentre outros, porém com a característica do MRSA comunitário (CA-MRSA) (NORIEGA; SEAS, 2010). Esta afirmação não pode ser feita a partir dos resultados obtidos neste estudo, pois a característica do CA-MRSA é basicamente molecular.

Segundo Tavares (2000) a taxa de MRSA pode ter uma grande variância dentro de um país, ou até mesmo dentro de uma única cidade. A título de exemplo, na mesma época (1988), na cidade do Rio de Janeiro, a resistência à oxacilina foi de 27% entre as amostras de *S. aureus* isoladas no Hospital Gaffrée e Guinle (sem Serviço de Emergência), enquanto no Hospital Souza Aguiar (um dos maiores Serviços de Emergência da cidade) atingiu 58%. No presente estudos todos os isolados de *S. aureus* já foram recuperados como resistentes a meticilina/oxacilina, ou seja, com um perfil multirresistente, pois o objetivo deste estudo foi relacionar os diferentes mecanismos de resistência neste microrganismo no hospital avaliado.

Como descrito em Lopes (2005), outro fator de risco está relacionado a estas infecções, que é a idade (superior a 60 anos), tanto dentro da comunidade hospitalar quanto fora desta, devido ao perfil imunológico deprimido, o que torna os idosos uma população mais susceptível a adquirir infecções por MRSA. No presente trabalho, estes resultados foram confirmados, com visto de que 69,8% dos pacientes com idade superior a 60 anos se encontravam na UTI.

A resistência à penicilina é devido à presença de uma enzima inativadora, denominada penicilinase (MIMICA, 2012). Segundo Mimica (2007) a taxa de resistência à penicilina pelo *S. aureus* nos hospitais, chega a 90%, com confirmação da produção de penicilinase em estudo com dados europeus, legitimando o resultado encontrado neste trabalho.

Segundo Silva et al. (2013) o mecanismo de resistência do MRSA já está relacionado à modificação das proteínas ligadoras de penicilina (PBPs) codificada pelo gene *mecA*, que confere resistência a oxacilina; meticilina; nafcilina; cloxacilina; e dicloxacilina.

A penicilina já não é uma droga de escolha para tratamento de *S. aureus*, já a algum tempo (LEON et al., 2015). O tratamento do MRSA é muito restrito aos aminoglicosídeos, por isso é importante à discussão junto a Comissão de Controle de Infecção Hospitalar do perfil do microrganismo circulando no ambiente hospitalar, para que medidas de controle e prevenção sejam melhor aplicadas.

Algumas opções mais usuais de tratamento para MRSA são a Clindamicina, Eritromicina e Quinolonas, que são utilizadas, com frequência, no tratamento de infecções de tecidos moles, porém também apresentaram um índice de resistência, maior que 90%, dado este também apresentado no trabalho de Silva et al. (2013).

Amorim et al. (2009) descreve que a expressão da resistência ao grupo MLSb pode ser constitutiva (cMLSb) ou induzível (iMLSb). A resistência induzível é observada quando o gene *erm* inativo é transcrito na presença de um indutor, tornando-se ativo para a produção de metilases. Já, nas amostras com resistência constitutiva é desnecessária a presença de um agente indutor.

Este perfil ainda é pouco pesquisado, mas que pode ser implementado na rotina laboratorial, teste D, apenas com posicionamento da Eritromicina e Clindamicina no teste mais realizado para o antibiograma, que é o de disco difusão. Este estudo revela um achado baixo de resistência iMLSb apresentados neste trabalho (10,8%), com proporção igual, tanto para os cMLSb quanto para os iMLSb, dentro e fora da UTI, porém a presença dos três mecanismos de resistência revela uma maior preocupação, quanto ao uso de antimicrobianos tanto nos hospitais quanto a disseminação do microrganismo no ambiente hospital.

O uso de cateteres, por exemplo, pode facilitar a infecção de *S. aureus* ao sangue (LEON et al., 2015). Das 64 infecções sanguíneas, 15 (24%) eram provenientes de ponta de cateter e 8/64 eram com perfil iMLSb.

O maior problema quanto à resistência à meticilina em *S. aureus* tem sido o aumento nos seus índices ao longo dos últimos anos (BAPTISTA, 2013). Porém a frequência em ambiente hospitalar é o mais preocupante, principalmente pelas infecções representarem grande risco de sepse e prejuízo a vida do paciente (LEON et al., 2015).

CONCLUSÃO

O perfil de resistência dos isolados de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina, do Hospital e Maternidade Municipal de Uberlândia do estado de Minas Gerais, apresentou mais isolados da Unidade de Terapia Intensiva (UTI), com significância importante em pacientes de idade avançada e nos homens.

A distribuição do MRSA no hospital avaliado é muito constante quando se compara os anos subsequentes de isolamento, caracterizando um microrganismo endêmico e muito frequente nas UTIs.

Além do perfil MRSA foi possível observar outras resistências importantes como à Clindamicina, Levofloxacina e Eritromicina, além da resistência à penicilina e β -lactâmicos dentro da UTI.

Observou-se que a resistência constitutiva à Clindamicina é superior a 89%, além da produção de Penicilinase (76,6%).

Este trabalho tem como característica, apresentar a importância da epidemiologia de microrganismos multirresistentes e a necessidade de medidas de controle efetivas como uma boa desinfecção do hospital, a antisepsia das mãos dos profissionais de saúde e uso consciente de antimicrobianos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMORIM, M.L. et al. Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) nasal colonization among patients and healthcare workers in a Portuguese hospital: a pre-intervention study toward the control of MRSA. **Microbial Drug Resistance**, v.15, n.1, p.19-26, mar. 2009.
- COLLI, V. C.; PIZZOLITTO, A.C.; RADDI, M.S.G. Determinação da resistência de *Staphylococcus aureus*: um desafio. **Revista Ciências Farmacêutica Básica**. Araraquara, v.30, n.1, p.115-118, abr. 2009.
- GALATTI, L. C.; SUKIENNIK, T.; BECKER, A. P.; INOUE, F. M.; CARMO, M. S.; CASTRUCCI, F. M. S.; PIGNATARI, A. C. C.; RIBEIRO, L. C.; BONAMIGO, R. R.; D'AZEVEDO, P. A. Sepsis por *Staphylococcus aureus* resistente à metilina adquirida na comunidade no sul do Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. São Paulo, v.42, n.4, p.458-460, jul-ago. 2009.
- IOWA STATE UNIVERSITY. Institute for International Cooperation in Animal Biologics. Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. Maio-2016, 27p.
- KLEIN, G.; GOULAT, L. S. Prevalência de *Staphylococcus aureus* multirresistentes em amostras biológicas do laboratório Osvaldo Cruz, Uruguaiana-RS. **Revista brasileira de farmácia**. Rio de Janeiro, v. 89, n.2, p.121-124, 2008.
- MIMICA, M.J; BEREZIN, E.N. *Staphylococcus aureus* resistente à vancomicina: um problema emergente. **Arquivo Medicina Hospitalar da Faculdade de Ciências Médicas da Santa casa**. São Paulo, v.51, n.2, p.52-56, dez. 2006.
- LEON, L. L.; SMANIOTTO, A.; DEL PORTO, L. R.; MOURA, C. Identificação de amostras de *Staphylococcus aureus* oriundos de pacientes com sinais de infecções em Jundiá (SP) e investigação da susceptibilidade aos antimicrobianos. **Revista NewsLab**. v. 131, p. 44-52, Ago-Set. 2015.
- LIMA, M. F. P.; BORGES, M. K.; PARENTE, R. S.; JÚNIOR, C. V.; OLIVEIRA, M. E.; *Staphylococcus aureus* E AS INFECÇÕES HOSPITALARES – REVISÃO DE LITERATURA. **Revista Uningá**. Maringá, v.21, n.1, p.32-39, Jan-Mar. 2015.
- LOPES, H.V. CA-MRSA: um problema para o infectologista. **Revista Panamericana de Infectologia**. São Paulo, v.7, n.3, p.34-36, set. 2005.
- LOPES, H.V. Novos Tratamentos Para *Staphylococcus aureus* Metilino-resistente (MRSA). **Revista Panamericana de Infectologia**. São Paulo, v.16, n.2, p.77-78, jul. 2014.
- MIMICA, M. J.; MENDES, C. M. F. Diagnóstico laboratorial da resistência à oxacilina em *Staphylococcus aureus*. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. Rio de Janeiro, v.43, n.6, p.399-406, dez. 2007.
- MIMICA, M.J. Atualização sobre detecção laboratorial de resistência a antimicrobianos em *Staphylococcus aureus*. **Arquivo Medico Do Hospital e Faculdade de Ciências Médicas Santa Casa**. São Paulo, v. 57, p. 129-134, set-dez, 2012.

MURRAY, P.R; ROSENTHAL, K.S; PFALLER, M.A, **Microbiologia Médica**. 7ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006, 943f.

PIDDOCK, L.J.V.; Teixobactin, the first of a new class of antibiotics discovered by iChip technology?. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. Reino Unido v. 70, n. 10, p. 2679-2680, jun. 2015.

REMONATTO, G.; CARDOSO, C. M.; MARQUES, C. G.; SILVA, A. E. B.; GELATTI, L. C.; LEITE, C. F. M. CA-MRSA: um patógeno emergente. **NewsLab**. v. 80, p.92-96, 2007.

RATTI, R. P.; SOUSA, C. P. *Staphylococcus aureus* metilina resistente (MRSA) e infecções nosocomiais. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. Araraquara, v.30, n.2, p.137-143, Abr. 2009.

SANTOS, A. L.; SANTOS, D. L.; FREITAS, C. C.; FERREIRA, B. L. A.; AFONSO, I. F.; RODRIGUES, C. R.; CASTRO, H. C. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. Rio de Janeiro, v.43, n.6, p.413-415, dez. 2007.

SILVA, P. M. F.; FEITOSA, R. J. P.; PIMENTEL, M. C.; PEREIRA, H. S.; CATÃO, R. M. R. Prevalência de infecções hospitalares por *Staphylococcus aureus* e perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos. **Revista de enfermagem UFPE**. Recife, v.7, n.8, p. 5257-5264, ago. 2013.

STEWART, C. D.; RANEY, P. M.; MORRELL, A. K.; WILLIAMS, P. P.; McDOUGAL, L. K.; JEVITT, L.; Jr. McGOWAN, J. E.; TENOVER, F. C. Testing for induction of clindamycin resistance in erythromycin-resistant of *Staphylococcus aureus*. **Journal of Clinical Microbiology**, Atlanta, v.43, n.4, p. 1716-1721, abr. 2005.

TAVARES, W. Problem gram-positive bacteria: resistance in *staphylococci*, *enterococci*, and *pneumococci* to antimicrobial drugs. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. Volta Redonda, v.33, n.3, p.281-301, Mai-Jun. 2000.

TORRES, C.; CERCENADO, E. Lectura interpretada del antibiograma de cocos gram positivos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. España, v.28, n.8, p.541- 553, abr.2010.

VALDEZ, T. A.; GARBO, G.; ROEHM, C. **Infecções Bacterianas Multirresistentes em Otorrinopediatria**. XI Manual de Otorrinolaringologia Pediátrica. São Paulo, p-74-80, 2013. Disponível em:

http://www.iapo.org.br/manuals/XI%20Manual%20IAPO%20GN1_v3%207.pdf. Acessado em 01 de out. 2017.

ZURITA, J.; MEJIA C.; GUZMÁN-BLANCO, M. Diagnóstico e teste de sensibilidade para *Staphylococcus aureus* resistente à metilina na América Latina. **The Brazilian Journal Infectious Diseases**. Salvador, v.14, n.2, p.97-107, dez. 2010.

ANEXO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: EPIDEMIOLOGIA DE MICROORGANISMOS MULTIRRESISTENTES NO HOSPITAL E MATERNIDADE MUNICIPAL DR. ODELMO LEÃO CARNEIRO, NA CIDADE DE UBERLÂNDIA, MG

Pesquisador: Lizandra Ferreira de Almeida e Borges

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 16186213.8.0000.5152

Instituição Proponente: Instituto de Ciências Biomédicas

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 463.877

Data da Relatoria: 22/11/2013

Apresentação do Projeto:

Segundo apresenta o protocolo: "A emergência e a disseminação de microrganismos multirresistentes aos antimicrobianos tem se tornado um problema comum de saúde pública em instituições de saúde. Além disso, o surgimento alarmante de bactérias multirresistentes pode conduzir a casos clínicos não tratáveis e ao aumento os custos, devido a necessidade de hospitalização prolongada e de uso de drogas mais caras. A epidemiologia auxilia a vigilância destes microrganismos no ambiente hospitalar, contribuindo para a determinação das fontes de contaminação, rastreamento das amostras pertencentes ao mesmo perfil fenotípico, genotípico e evolução das síndromes infecciosas, viabilizando assim a determinação de microrganismos multirresistentes aos antimicrobianos epidêmicos ou endêmicos nos hospitais. Portanto, este trabalho tem como objetivo avaliar a incidência de microrganismos multirresistentes, bem como o perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos, na etiopatogenia das infecções nas diferentes unidades de um hospital municipal na cidade de Uberlândia, MG.

Este estudo será realizado a partir das culturas bacterianas positivas e perfil de suscetibilidade e resistência aos antimicrobianos, além de pesquisa dos mecanismos de resistência das amostras de *Staphylococcus aureus*; *Enterococcus spp.*; *Klebsiella pneumoniae* e outras Enterobactérias; *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*. Com este estudo espera-se propor

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Data para entrega de Relatórios Parciais ao CEP/UFU: dezembro de 2014; dezembro de 2015; dezembro de 2016; dezembro de 2017.

Data para entrega de Relatório Final ao CEP/UFU: dezembro de 2018.

OBS.: O CEP/UFU LEMBRA QUE QUALQUER MUDANÇA NO PROTOCOLO DEVE SER INFORMADA IMEDIATAMENTE AO CEP PARA FINS DE ANÁLISE E APROVAÇÃO DA MESMA.