

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Resistência induzível ou constitutiva MLSb em isolados clínicos de
Staphylococcus aureus resistentes à Meticilina

Tamiris Reginaldo Gomes

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

Uberlândia – MG
Julho – 2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Resistência induzível ou constitutiva MLSb em isolados clínicos de
Staphylococcus aureus resistentes à Meticilina

Tamiris Reginaldo Gomes

Orientadora
Profa. Dra. Lizandra Ferreira de Almeida e Borges

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

Uberlândia – MG
Julho – 2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Resistência induzível ou constitutiva MLSb em isolados clínicos de
Staphylococcus aureus resistentes à Meticilina

Tamiris Reginaldo Gomes

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

Prof. Dra. Celine de Melo

Uberlândia - MG
Julho - 2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Resistência induzível ou constitutiva MLSb em isolados clínicos de
Staphylococcus aureus resistentes à Meticilina

Tamiris Reginaldo Gomes

Aprovado pela Banca Examinadora em: 26/07/2017 Nota: 93 pontos

Profa. Dra. Lizandra Ferreira de Almeida e Borges
Presidente da Banca Examinadora

Uberlândia, 26 de julho de 2017

Agradecimentos

Agradeço a Deus por dar forças, sabedoria, coragem e saúde a mim e a todos da minha família, pois sem sua graça, não conseguiria as vitórias que me foram concedidas.

À minha orientadora, Professora Dra. Lizandra Ferreira de Almeida e Borges que com seus conhecimentos e experiência, contribuiu efetivamente para minha formação profissional, com sua paciência e profissionalismo me ensinou tudo sobre como é um trabalho acadêmico científico, relevante nos dias de hoje para nossa formação enquanto acadêmicos.

Aos meus pais Ailton e Helena que, com humildade, me deu suporte para a vida através dos exemplos de responsabilidade, dedicação e amor, me ajudando em toda a minha vida. A minha irmã Camila, que sempre está disposta a ajudar no que for preciso. Ao meu noivo Luiz, pela dedicação e apoio nesta etapa de minha vida.

A Thauanny Tryssia Lima, pelo acompanhamento de pesquisa e que muito colaborou e ajudou na execução da fase de experimentos deste trabalho.

Enfim, sou grata a todos que contribuíram de forma direta ou indireta para concretização deste trabalho.

RESUMO

Staphylococcus aureus é o patógeno humano mais importante do gênero *Staphylococcus*, cujas cepas podem provocar doenças, como infecção de pele até infecções graves e são extremamente importantes como patógenos no ambiente hospitalar, já que sua elevada disseminação contribui para a multirresistência aos antimicrobianos. O presente estudo tem como objetivo avaliar a resistência do tipo MLSb entre isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina do Hospital e Maternidade Municipal de Uberlândia, Minas Gerais isoladas do ano de 2014 a 2015. Foram recuperadas 91 amostras de *S. aureus* resistentes à Meticilina (MRSA), e submetidas ao teste de resistência induzível iMLSb, pela técnica do Teste D, além da análise do antibiograma e dados de infecção. Os principais isolados foram de pacientes do sexo masculino (62,6%), acima de 66 anos (58,2%), no ano de 2014 (96,8%), causando principalmente pneumonias (47,3%) e infecções de corrente sanguínea (41,8%). Das amostras testadas, o perfil iMLSb foi encontrado com frequência total de 3,3%, e todo o restante constitutivo. A elevada resistência aos aminoglicosídeos, β -lactâmicos e quinolonas, caracterizou as amostras como multirresistentes. O acompanhamento do perfil de resistências dos microrganismos permite os profissionais de saúde uma escolha do antimicrobiano mais adequado, preservando o perfil de sensibilidade.

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

Sumário

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVO GERAL	8
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	8
3. METODOLOGIA	9
3.1 Desenho do estudo	9
3.2 Reativação das amostras.....	9
3.3 Teste D	9
3.4 Antibiograma.....	9
3.5 Análise dos dados	10
3.6 Ética do estudo	10
4. RESULTADOS	11
5. DISCUSSÃO.....	15
6.CONCLUSÃO	20
7.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21
8. ANEXO.....	24

1. INTRODUÇÃO

Staphylococcus são cocos Gram e catalase-positivos, com aproximadamente 0,5 a 1,5 μm de diâmetro, imóveis, não esporulados e geralmente encapsulados. Inclui bactérias frequentemente encontradas na pele e nas fossas nasais de pessoas saudáveis. Podendo provocar doenças, que vão desde uma simples infecção de pele até infecções graves como pneumonia, meningite, endocardite, síndrome do choque tóxico, septicemia e outras, além disso, são extremamente importantes como patógenos no ambiente hospitalar (SANTOS et al., 2007).

Staphylococcus aureus é o patógeno humano mais importante do gênero *Staphylococcus*, este composto de 33 espécies, 17 das quais podem ser isoladas de amostras biológicas humanas. São amplamente distribuídos na natureza e fazem parte da microbiota normal da pele e mucosa de uma grande parte de mamíferos (RATTI; SOUZA, 2009). Podem apresentar diversos arranjos: isolados, aos pares, em cadeias curtas, ou agrupados irregularmente (com aspecto semelhante a um cacho de uvas). Várias características morfológicas, fisiológicas e químicas contribuem para a virulência do *S. aureus* (LIMA et al., 2014).

A habilidade de colonização e a patogenicidade deste microrganismo é uma implicação de seus fatores de virulência, os quais apresentam relevância na adesão celular, na captação de nutrientes e na resposta imunológica do hospedeiro, além de facilitar a multiplicação e disseminação nos tecidos, tanto na produção de enzimas, quanto de toxinas. Estes fatores podem ser classificados em relação à aderência as células do hospedeiro, relacionados com sua invasão e penetração nos tecidos e por fim evasão aos mecanismos de defesa (SANTOS et al., 2007).

Todas as cepas de *S. aureus* eram sensíveis à penicilina, quando ela foi inicialmente introduzida no início do ano de 1940, quatro anos depois os primeiros relatos de *S. aureus* resistente à penicilina surgiram, e praticamente todas as cepas são resistentes às penicilinas naturais e aminopenicilinas (RICE, 2006).

Meticilina e outras penicilinas resistentes às penicilinas foram desenvolvidas para o tratamento de infecções causadas por *S. aureus* resistente à penicilina e inicialmente obteve grande sucesso. Contudo, linhagens de *S. aureus* resistentes á metilina (MRSA) começaram a aparecer e se disseminar nos hospitais, e com relatos na comunidade, paralelo ao crescimento da resistência a penicilina (RICE, 2006).

Segundo RATTI e SOUZA (2009), os genes que codificam resistência aos antimicrobianos podem estar localizados tanto no cromossomo quanto em plasmídeos. As bactérias geralmente tornam-se resistentes aos antibióticos β -lactâmicos através da produção de β -lactamases, enzimas capazes de hidrolisar o anel β -lactâmico transformando os antibióticos em produtos inativos. Com uma menor frequência, as bactérias podem tornar-se resistentes aos antibióticos β -lactâmicos, por alteração de permeabilidade e modificações em suas proteínas ligadoras de penicilinas (PBP). As PBPs (*Penicilin- Binding-Protein*) são proteínas responsáveis pelas ligações cruzadas (*cross-link*) entre as moléculas de peptidoglicano para a síntese da parede celular das bactérias e são sítios de ação dos antibióticos β -lactâmicos.

A metilina ou oxacilina são antibióticos derivados da penicilina, resistentes à β -lactamase (AMORIM et al., 2009). Sua introdução na Europa foi em 1959 e nos Estados Unidos em 1961, e neste mesmo ano, com relatos de resistência no Reino Unido, seguido de outros países europeus, Japão e Austrália, estes tipicamente associadas com o alto uso de metilina nas unidades de terapia intensiva (UTIs) (RICE, 2006). A resistência a oxacilina (ORSA) ou metilina (MRSA) é devida à presença do gene *mecA*, que faz parte de um elemento genético móvel encontrado em todos os isolados com este tipo de resistência, denominado cassette estafilocócico cromossômico (*Staphylococcal Cassete Chromosomal*). O gene *mecA* codifica proteínas ligadoras de penicilina (PBP2a) modificadas, que possuem baixa afinidade aos β -

lactâmicos, sem relação com a produção de β -lactamases. O fenótipo MRSA caracteriza-se pela resistência a todos os outros antibióticos β -lactâmicos (AMORIM et al., 2009).

Estirpes de HA-MRSA (*Hospital acquired-MRSA*) são geralmente resistentes a diversas drogas. Já infecções de pele e tecidos moles são as apresentações mais frequentes de CA-MRSA (*Community acquired-MRSA*), que exibe uma maior sensibilidade aos antibióticos que o HA-MRSA (RICE, 2006).

As principais diferenças encontradas entre as cepas CA-MRSA e as associadas ao ambiente hospitalar (HA-MRSA), é que nas CA-MRSA podemos destacar manifestações clínicas, em sua maioria associadas a infecções de pele e partes moles, e nas HA-MRSA infecções respiratórias e da corrente sanguínea. Outra característica extremamente importante é o perfil de resistência a antibióticos, pois, enquanto o HA-MRSA se caracteriza por uma ampla resistência a diversos antibióticos, as cepas CA-MRSA mostram uma sensibilidade (entre 85% e 100%) a drogas, como clindamicina, gentamicina, ciprofloxacina, sulfametaxazol/trimetoprim e vancomicina (SANTOS et al., 2007).

Ainda segundo SANTOS et al. (2007), o perfil de resistência diferenciado entre as cepas HA-MRSA e CA-MRSA parece ser explicado pela distribuição e pelo tamanho dos cassetes cromossomiais que contem o determinante de resistência a meticilina (SCC mec). Atualmente, são conhecidos onze tipo de SCC mec (I a XI) (TURLEJ et al., 2011). Os tipos I, II e III são encontrados em cepas HA-MRSA, enquanto que os tipos IV e V podem ser observados em cepas CA-MRSA, nas quais o tipo IV por ser menor e, provavelmente, facilita a perda dos genes de resistência a diversos antibióticos, conservando os β -lactâmicos. Outra característica importante do CA-MRSA é a presença dos genes *lukF-PV* e *lukS-PV*, que codificam a leucocidina de Panton-Valentine (PVL), uma toxina capaz de induzir a destruição de leucócitos humanos e

causar grande dano tecidual, sendo considerada um fator de virulência associado a infecções de pele severas e pneumonias necrotizantes (SANTOS et al., 2007).

O aumento da incidência e a expansão do MRSA na comunidade tem levado a necessidade de novos agentes seguros e eficazes para tratar as infecções estafilocócicas sistêmicas e localizadas. Ao contrário das cepas discutidas anteriormente associados à CA-MRSA muitas vezes susceptível a outras drogas (TORRES, 2010).

As infecções hospitalares causadas por MRSA são consideradas um problema de Saúde Pública, pois uma vez presente em ambiente hospitalar é difícil a sua erradicação. Estas infecções representam um aumento na morbidade e mortalidade de pacientes internados, com significativo aumento no custo de internação hospitalar. Programas de controle devem ser implantados em hospitais, na tentativa de estabilizar ou diminuir as infecções hospitalares (RATTI; SOUZA, 2009).

Macrólídeos (por exemplo, eritromicina, azitromicina e espiramicina), lincosamidas (por exemplo, clindamicina e lincomicina), e estreptogramina do grupo B (por exemplo, quinupristina e dalfopristina) são grupos de antibióticos chamados de MLSb (ADALETI, 2010). Estas são drogas quimicamente distintas, entretanto, apresentam mecanismo de ação similar na inibição da síntese proteica, pela ligação ao receptor 23s do rRNA, que faz parte da subunidade 50s do ribossomo bacteriano. A resistência do *S. aureus* ao grupo MLSb é conhecida desde 1956, logo após a introdução da eritromicina na prática terapêutica (AMORIM et al., 2009).

A resistência a estes antibióticos ocorre devido a três mecanismos: modificações no alvo de ligação no ribossomo; efluxo ativo; ou inativação enzimática da droga. A modificação no alvo de ligação se deve a metilação do resíduo A2058, localizado no domínio conservado V de 23s do rRNA levando a resistência cruzada, resultando na formação do fenótipo de resistência

conhecido como MLSb. Este fenótipo é codificado pelo gene *erm* (*erythromycin methioninemethylase*) que tem sido reportado em uma grande variedade de microrganismos (AMORIM et al.,2009).

A expressão do fenótipo de resistência ao MLSb pode ser constitutiva (cMLSb) ou induzível (iMLSb), sendo a resistência induzível observada quando o mRNA metilado for transcrito na presença de um indutor (eritromicina). Por outro lado, nas amostras com resistência constitutiva o mRNA será transcrito independente da presença de um agente indutor (AMORIM et al.,2009).

A prevalência de resistência induzível por MLSb entre cepas de MRSA, já apresentam estudos em alguns países. Em um estudo realizado no Brasil foi demonstrado que 11,3% dos isolados de *S. aureus* possuíam esse fenótipo, enquanto que na Turquia era de 24,4% (MEGÍA, 2010).

No passado, a clindamicina foi muita utilizada com sucesso para tratar pneumonia e infecções dos tecidos moles por MRSA em adultos e crianças, sendo também uma alternativa para pacientes alérgicos a penicilina. No entanto, há preocupação com a possibilidade de surgimento de resistência induzível à clindamicina durante as terapias por esse agente. Teste fenotípico simples, como o teste D, pode separar as estirpes que têm a genética potencial, isto é, a presença de genes *erm*, a tornarem-se resistentes durante a terapia a partir de estirpes que são completamente sensíveis a clindamicina (TORRES; CERCENADO, 2010).

O teste D é aceitável para todos os *Staphylococcus* spp., incluindo oxacilina sensível ou resistente (PEREZ et al., 2007). O fenótipo iMLSb pode limitar a efetividade da clindamicina pois este tipo de resistência não é detectada nos testes de sensibilidade por disco difusão de rotina, assim a aplicação do D-teste na rotina laboratorial é útil para detectar a possibilidade de indução dessa resistência e, auxiliar no uso efetivo da clindamicina nas infecções

estafilocócicas. Outros estudos sugerem que uma porcentagem verdadeira de resistência a clindamicina pode ser subestimada se o teste de indução não for efetuado (AMORIM et al., 2009).

As informações epidemiológicas reunidas por meio de uma vigilância contínua tendem a auxiliar os clínicos e as comissões de controle em seus esforços de prevenção e tratamento das infecções. E métodos de sensibilidade rotineiros estão sujeitos a deixar passar isolados com resistência induzível a clidamicina, mesmo que exista um teste de difusão em disco que utiliza discos de clindamicina e eritromicina bastante próximos, permitindo a observação desses fenótipos (MEGÍIA, 2010).

Vancomicina e outros antibióticos glicopeptídicos, como teicoplanina, são utilizados habitualmente no tratamento de infecções por MRSA. No entanto, relatos de estafilococos com sensibilidade reduzida à vancomicina começaram a surgir em todo mundo, até mesmo na América latina, e o primeiro relato no Brasil ocorreu em 2001 (MÉGIA, 2010).

Já as fluoroquinolonas também são opções de tratamento ao *Staphylococcus aureus*. Porém, mutações na topoisomerase IV do DNA (GrLA e GrIB) e DNA girase (*gyrA* e *gyrB*), conferem resistência a este grupo de antimicrobianos. Entre as fluoroquinolonas disponíveis estão a norfloxacin menos ativo, ciprofloxacina, seguida pela ofloxacina, levofloxacina, esparfloxacina, moxifloxacina e gatifloxacilina, os dois últimos, com maior atividade contra os estafilococos (TORRES; CERCENADO, 2010).

O desenvolvimento de mecanismos de resistência aos antibióticos demonstrados pelo *S. aureus* estão diretamente relacionados com os procedimentos empregados na sua antibioticoterapia. Por outro lado, o entendimento do funcionamento da patogenicidade desse perigoso agente infeccioso pode orientar os profissionais de clinica na racionalização do uso do

antimicrobiano, minimizando, assim, as chances de seleção de cepas resistentes ou multirresistentes aos antimicrobianos (SANTOS et al., 2007).

Staphylococcus aureus é um coco Gram positivo epidêmico dos hospitais brasileiros, fato este que o faz ser alvo importante de diversos estudos. É cada vez mais frequente o isolamento de amostras que apresenta diferentes mecanismos de resistência, que muitas vezes não podem ser identificados na rotina. Por esse motivo, a compreensão da resistência aos antimicrobianos é de extrema importância, em especial o grupo dos Macrolídeos, Lincosamidas e Streptograminas (MLSb), que podem apresentar inclusive resistência induzida a clindamicina durante o tratamento, o que levará a sua falha.

2. OBJETIVO GERAL

Avaliar a resistência do tipo MLSb entre isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina do Hospital e Maternidade Municipal de Uberlândia, Minas Gerais.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Analisar os antibiogramas das amostras isoladas de *Staphylococcus aureus*;

Realizar o teste D para determinação da resistência induzível ou constitutiva à clindamicina;

Comparar os resultados dos antibiogramas com o perfil iMLSb.

Classificar as amostras em multirresistentes, extensivamente e pan-resistentes.

3. METODOLOGIA

3.1 Desenho do estudo

Estudo longitudinal transversal com amostras de *S. aureus* resistentes a meticilina, isoladas do ano de 2014 a 2015 e procedentes do Hospital e Maternidade Municipal de Uberlândia. Estas foram identificadas no laboratório credenciado pelo hospital e logo em seguida enviado ao laboratório de Microbiologia da Universidade Federal de Uberlândia, onde as mesmas permanecem congeladas em Caldo BHI acrescido de 15% de glicerol, a -20°C.

3.2 Reativação das amostras

Essas amostras foram reativadas no laboratório de Microbiologia em Caldo Tripticase de Soja (TSB), e depois incubadas a 35°C por 24 horas. As amostras foram cultivadas em placa, por esgotamento de estrias em uma área de 10 a 15 mm na placa do Agár Tripticase Soja (TSA) e depois novamente incubadas por mais 24 horas à 35°C, para obtenção de colônias isoladas.

3.3 Teste D

Foi preparada uma suspensão bacteriana na escala de 0,5 de McFarland, esta foi semeada, com auxílio de um swab na superfície de uma placa contendo Agar Muller-Hinton. Para este teste foi utilizado disco de eritromicina (30µg) colocado a uma distância de 20 mm (centro a centro) do disco de clindamicina (2µg), incubada à 35°C por 18 a 24 horas, se houver um achatamento em forma de D no halo ao redor da clindamicina o teste foi considerado positivo.

3.4 Antibiograma

O laboratório credenciado forneceu o resultado dos antibiogramas, pelo método de Kirby-Bauer ou Maldi-Tof[®], que foram utilizados para a análise de resistência.

3.5 Análise dos dados

Uma planilha no programa Excel[®] foi montada com o tipo de amostra, antibiograma e resultado do teste D. Para comparação das proporções foi utilizado o teste de Qui-quadrado, ou Exato de Fischer, quando o número foi menor que cinco, todos considerando estatisticamente significativo quando o $P \leq 0,05$ e intervalo de confiança (IC) de 95%. Para os testes utilizou-se o programa BioEstat 5.3.

3.6 Ética do estudo

Este projeto faz parte de outro projeto de epidemiologia de bactérias multirresistentes no Hospital e Maternidade Municipal de Uberlândia e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Uberlândia sob o nº 463.877/13 (anexo).

4. RESULTADOS

Foram recuperadas 91 amostras de *S. aureus* resistentes à metilina (MRSA), destas 55 (60,4%) eram provenientes de Unidades de Terapia Intensiva do hospital. Houve prevalência maior em isolados de pacientes do sexo masculino (62,6%), aqueles acima de 66 anos (58,2%), no ano de 2014 (86,8%). Das síndromes infecciosas as mais frequentes foram pneumonias (47,3%) e infecções de corrente sanguínea (41,8%), (Tabela 1).

Comparando as amostras da UTI e não UTI, encontrou-se que havia maior prevalência na UTI de idade maior ou igual a 66 anos (70,9%) e a principal manifestação clínica era pneumonias (60%), na não UTI a idade entre 0 e 25 anos (11,1%), infecções de sítio cirúrgico (11,1%) e tecido ósseo (11,1%), todas com diferença estatística ($P \leq 0,05$), como mostra a Tabela 1.

TABELA 1- Variáveis avaliadas das amostras de *S. aureus* dentro e fora da UTI em um hospital municipal mineiro.

Variável	UTI N=55 (%)	Não UTI N=36 (%)	TOTAL N=91 (%)	P (IC 95%)
Sexo				
Feminino	21 (38,2)	13 (36,1)	34 (37,4)	0,84
Masculino	34 (61,8)	23 (63,8)	57 (62,6)	0,84
Idade				
0-25 anos	0 (0,0)	4 (11,1)	4 (4,4)	0,011*
26-45 anos	6 (10,9)	4 (11,1)	12 (13,2)	0,95
46-65 anos	10 (18,1)	15 (41,6)	25 (27,5)	0,014
≥66 anos	39 (70,9)	13 (36,1)	53 (58,2)	0,0010*
2014	50 (90,9)	29 (80,5)	79 (86,8)	0,15
2015	5 (9,0)	7 (19,4)	12 (13,2)	0,15
Infecção				
Corrente sanguínea	22 (40,0)	16 (44,4)	38 (41,8)	0,67
Pneumonia	33 (60,0)	10 (27,8)	43 (47,3)	0,0026*
Sítio cirúrgico	0 (0)	4 (11,1)	4 (4,4)	0,0115*
Urinária	0 (0)	2 (5,6)	2 (2,2)	0,0771
Óssea	0 (0)	4 (11,1)	4 (4,4)	0,0115*

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

As amostras estudadas mostraram-se mais resistentes à Eritromicina (98,9%), Clindamicina (97,8%), Levofloxacina (87,9%) e Penicilina (86,8%), esta com maior ocorrência na UTI (92,7%), com $P \leq 0,05$ (Tabela 2).

Todas sensíveis aos glicopeptídeos, nitrofurantoína, linezolida, daptomicina, doxiciclina e minociclina, o que caracteriza as amostras como MDR (multidroga resistente), não apresentando nenhuma com perfil XDR (extensivamente resistente) ou mesmo PDR (panresistente).

TABELA 2-Perfil de resistência das amostras de *S. aureus* frente aos antimicrobianos, dentro e fora da UTI.

Antimicrobiano	UTI N=55 %	Não UTI N=36 %	Total N=91 %	P (IC 95 %)
Aminoglicosídeos	54 (98,2)	35 (97,2)	89 (97,8)	0,76
Clindamicina	54 (98,2)	34 (94,4)	89 (97,8)	0,32
Gentamicina	5 (9,1)	0 (0,0)	5 (5,5)	0,06
Antifolatos				
Sulfametoxazol/Trimetoprim	3 (5,4)	0 (0,0)	3 (3,2)	0,154
β-lactâmicos	55 (100,0)	36 (100,0)	91 (100,0)	-
Penicilina	51 (92,7)	28 (77,7)	79 (86,8)	0,03*
Oxacilina	55 (100)	36 (100,0)	91 (100,0)	0,21
Cefalosporinas				
Cefoxitina	0 (0)	1 (2,7)	1 (1,0)	0,21
Eritromicina	55 (100)	35 (97,2)	90/90(100,0)	0,21
Glicopeptídeos				
Vancomicina	0 (0)	0 (0)	0 (0)	-
Teicoplanina	0 (0)	0 (0)	0 (0)	-
Quinolonas	50 (90,9)	31 (86,1)	84 (92,3)	0,47
Norfloxacina	0 (0)	1 (2,7)	1 (1,0)	0,21
Levofloxacina	49 (89,0)	31 (86,1)	80 (87,9)	0,84
Ciprofloxacina	2 (3,6)	3 (8,3)	5 (5,5)	0,33
Tetraciclina				
Tetraciclina	1 (1,8)	3 (8,3)	4 (4,3)	0,13
Outros				
Clorofenicol	18 (32,7)	15 (41,6)	33 (36,26)	0,38
Nitrofurantoína	0 (0)	0 (0)	0 (0)	-
Linezolida	0 (0)	0 (0)	0 (0)	-
Rifampicina	10 (18,1)	7 (19,4)	17 (18,6)	0,87
Daptomicina	0 (0)	0 (0)	0 (0)	-
Doxiciclina	0 (0)	0 (0)	0 (0)	-
Minociclina	0 (0)	0 (0)	0 (0)	-

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

Das 91 amostras testadas 95,6% apresentaram resistência constitutiva à Eritromicina e demais macrolídeos, clindamicina e estreptograminas. Sendo a mesma proporção de resistência constitutiva e induzível na UTI e não UTI ($P > 0,05$), como mostra a tabela 3.

TABELA3- Resistência constitutiva e induzível à clindamicina em amostras de *S. aureus* fora e dentro da UTI em um hospital municipal mineiro.

Característica	UTI N=55 (%)	Não UTI N=36 (%)	Total N=91 (%)	<i>P</i> (IC 95%)
iMLSb	1 (1,8)	2 (5,6)	3 (3,3)	0,32
cMLSb	54 (98,2)	33 (91,7)	87 (95,6)	0,13

UTI: Unidade de Terapia Intensiva; iMLSb: Resistência induzível a Macrolídeos, Lincosamidas e Estreptograminas; IC: intervalo de confiança.

Das 3 amostras iMLSb, 2 são provenientes de infecções de correntes sanguíneas isoladas em 2015 uma delas na UTI, resistentes á apenas clindamicina, eritromicina, levofloxacina e oxacilina e a outra tendo o mesmo perfil, porém foi isolada fora da UTI, com diferença de dias de isolamento. A terceira iMLSb, foi isolada em 2014 de infecção urinária, fora da UTI, resistente à levofloxacina, oxacilina, tetraciclina, penicilina e rifampicina.

5. DISCUSSÃO

Estudos mostram que o *Staphylococcus aureus* é um microrganismo que está frequentemente encontrado na pele, como microbiota transitória, e colonizando narinas de indivíduos saudáveis. Mesmo que existam estirpes sensíveis a vários antibióticos, as infecções causadas por este microrganismo ainda são tratadas com eficácia. Porém existem estirpes que são multirresistentes a um amplo conjunto de outros antibióticos, o que torna o tratamento de infecções por *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) difícil e dispendioso (PERES, 2014).

Segundo RATTI e SOUZA (2009), um número crescente de cepas de MRSA apresenta resistência a múltiplos agentes antimicrobianos e são implicadas como causas de infecções hospitalares, sendo frequentemente isolados no ambiente hospitalar e com o risco de transmissão desses microrganismos pelo contato direto ou indireto com pacientes hospitalizados.

S. aureus frequentemente está envolvido em infecções humanas, comunitárias e hospitalares, podendo desenvolver infecções sistêmicas (RATTI; SOUZA, 2009). O risco de colonização/infecção por MRSA aumenta com o tempo de internação, comorbidades, cirurgias, manipulações e uso prévio de antibióticos (PERES et al., 2014).

Este microrganismo é uma causa comum de bacteremia, relacionado ao uso de cateteres, inclusive podendo evoluir para endocardite, já as pneumonias são pouco frequentes, porém mais graves (CERVANTES-GARCIA et al., 2014). Neste estudo, tais infecções foram as mais frequentes, com destaque para as pneumonias nas unidades de terapia intensiva (47%).

Em seu trabalho, Abbeg e Silva (2011), apontam que pacientes internados em Unidades de Terapia Intensiva, estão expostos a uma ampla variedade de microrganismos com alto grau de patogenia, sendo necessário o uso de antibióticos de amplo espectro e procedimentos invasivos. Segundo eles, os pacientes são mais vulneráveis a infecção hospitalar em comparação com outras

unidades, por causa da alta complexidade no atendimento, o que faz com que as bactérias resistentes causem as infecções.

Na década de 1940, a grande maioria das *S. aureus* era sensível à penicilina, em 1998 a resistência a oxacilina era de 27% e a resistência aos glicopeptídeos foram recentemente encontrado no Brasil (SOUZA et al., 2005). Este estudo encontrou elevada resistência aos aminoglicosídeos e quinolonas, além dos β -lactâmicos, porém as amostras selecionadas já eram previamente caracterizadas como MRSA.

A avaliação da resistência dos aminoglicosídeos se faz importante, uma vez que essa classe de antibióticos pode ser associada aos betalactâmicos e glicopeptídeos para tratamento de infecções graves. Em 2007, a resistência do *S. aureus* a gentamicina era cerca de 67%, assim como as quinolonas (ALMEIDA et al., 2007). Foi descrito neste estudo resistência elevada (>90%) a estes grupos (aminoglicosídeos e quinolonas), o que dificulta, em muito, a escolha de um tratamento efetivo e com baixo efeito colateral ao paciente.

A prevalência de resistência induzível por MLSb entre cepas de MRSA não foi ainda amplamente descrita, taxas de 24% na Turquia, 11% no Brasil e 33% na cidade de Uberlândia, mostra os poucos dados nesta área ou mesmo a emergência do assunto (MEGIA et al., 2010; TRINDADE et al., 2009).

A Clindamicina é muito utilizada no tratamento de infecções por *S. aureus*, além de ser uma alternativa para pacientes alérgicos a penicilina (AMORIM et al., 2009). Eritromicina (macrolídeo) e Clindamicina (Lincosamida) representam dois agentes antimicrobianos que inibe a síntese proteica bacteriana e são muito utilizados no tratamento de estafilococcias (STEWART et al., 2005).

Em *Staphylococcus* spp. pode se observar os seguintes fenótipos de resistência: fenótipo cMLSb resistência constitutiva a Eritromicina e demais macrolídeos, Clindamicina e

estreptogramina B; iMLSb resistência induzível a Eritromicina e sensibilidade a Clindamicina e estreptograminas, na ausência de um indutor; MLSb resistência a Eritromicina, estreptograminas e sensibilidade a Clindamicina, mediada por uma bomba de efluxo. Existe ainda um quarto fenótipo de resistência a Clindamicina e sensibilidade a Eritromicina e estreptograminas, este pouco frequente porém mediada por enzimas (MOROSINI et al., 2012).

Este estudo encontrou uma taxa baixa de resistência induzível (3,3%), quando comparado a outros estudos, embora verificando os testes de sensibilidade aos antimicrobianos, percebe-se que 2 destas amostras mostraram-se resistentes e 1 com falsa sensibilidade a clindamicina. Segundo STEWARD et al. (2005) relatam que o fenótipo de resistência iMLSb implica no resultado de sensibilidade a Clindamicina, na ausência de um indutor.

As diferentes expressões fenotípicas desta resistência são possíveis de serem identificadas pelo método chamado teste D, utilizando disco de Eritromicina e Clindamicina no método de difusão ou por diluição em caldo utilizando a combinação de ambos antimicrobianos (MOROSINI et al., 2012). Outros estudos sugerem que uma porcentagem verdadeira de resistência a Clindamicina pode ser subestimada se o teste de indução de resistência não for efetuado (AMORIM et al., 2009).

Os resultados encontrados, que confrontam o antibiograma e o teste D, não estão de acordo. Embora o teste D seja também fenotípico, este é mais específico, portanto, seu resultado com mais credibilidade.

Resistência induzível para macrólídeos, lincosamida e streptograminas é detectada utilizando o teste padrão de susceptibilidade antimicrobiana. A incapacidade de identificação pode levar a resistência induzível e o fracasso do tratamento com clindamicina. Fato este, que levou os médicos a rejeitar seu uso. Além disso, se considerar como clindamicina resistentes

todos os *Staphylococcus aureus* resistente a eritromicina, a possibilidade de tratar com clindamicina será rejeitada (MONTTOYA et al., 2009).

Foi observado que dois isolados no ano de 2015, com fenótipo iMLSb, ambos isolados de hemoculturas, com diferenças de 2 (dois) dias, a primeira de uma unidade de terapia intensiva e a segunda fora desta, com o mesmo perfil de resistência pelo antibiograma. Embora, não haja comprovação genética de ser o mesmo clone, mostra a transmissão cruzada de microrganismos multirresistentes no ambiente hospitalar e a necessidade de se intensificar as medidas de prevenção e controle das infecções.

A prevenção e controle da disseminação de microrganismos multirresistentes e epidemiologicamente importantes, como o CA-MRSA abrangem as recomendações gerais para o controle de infecções, como a vigilância a microrganismos multirresistentes, padronização de protocolos e racionalização no uso de antibióticos. Além de ações educativas junto a profissionais de saúde, aplicações de precauções de contato e higiene de mãos e descolonização quando há indicação, investimento em métodos de análise mais sensíveis, rápidos e de fácil utilização para detecção de pacientes infectados ou colonizados (EVANGELISTA; OLIVEIRA, 2015).

Primo et al. (2010), descreve em seu trabalho a importância da prática de higienização das mãos, pela capacidade que estas tem de abrigar microrganismos e de transferir tanto por contato direto, como pele com pele ou até mesmo indiretamente por meio de objetos inanimados. Ainda segundo estes autores, o controle das infecções por meio da higienização das mãos atende as recomendações dos serviços de saúde e também propicia a segurança e qualidade ao paciente.

A prática de higienização das mãos é essencial e obrigatória ao profissional de saúde, quer seja antes ou após o procedimento. Este processo é indispensável para que se evite a propagação de microrganismos patogênicos no ambiente. Isto porque a mão se torna um veículo

de patógenos quando não se faz a prática de higienização das mãos corretamente (CORDEIRO; LIMA, 2016).

Por fim o entendimento e o controle das infecções é responsabilidade tanto coletiva quanto individual, e que a implementação de cuidados aos pacientes tem que ser de qualidade, com políticas de prevenção, como as técnicas corretas de lavagem das mãos, discussão continuada e capacitação do profissional (COELHO et al., 2011).

6. CONCLUSÃO

Das amostras testadas de *S. aureus*, o perfil iMLSb foi encontrado com frequência total de 3,3%, e todo o restante cMLSb. Ainda, elevada resistência aos aminoglicosídeos, β -lactâmicos e quinolonas, o que caracterizou as amostras como multirresistentes.

O teste D, confirmou o perfil de resistência à Eritromicina, embora se destaque sua importância na pesquisa do perfil de resistência induzível.

A pesquisa e acompanhamento do perfil de resistências dos microrganismos mais encontrados causando infecção de origem hospitalar são importantes para auxiliar os profissionais de saúde na escolha e administração do antimicrobiano mais adequado, assim preservando e não selecionando as bactérias multirresistentes.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBEG, P. T. G. M.; SILVA, L. L. Controle de infecção hospitalar em unidade de terapia intensiva: estudo retrospectivo. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v.32, n.1, p.47-58, jun.2011.

ADALETI, R.; NAKIPOGLU, Y.; CERAN, N.; TASDEMIR, C.; KAYA, F.; TASDEMIR, S. Prevalence of phenotypic resistance of *Staphylococcus aureus* isolates to macrolide, lincosamide, streptogramin B, ketolid and linezolid antibiotics in Turkey. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Salvador, v.14, n.1, p. 11-13, abr. 2009.

ALMEIDA, M.I.; BEDENDO, J. ; CAVASIN, E. D. ; TOGNIM, M. C. B. Prevalência e perfil de sensibilidade de amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de casos clínicos de infecções hospitalares. **Revista Eletrônica de enfermagem**, Paraná, v.09, n.02, p.489-495, maio-ago. 2007.

AMORIM, D. M. R.; PERSON, O. C.; AMARAL, P. J. ; TANAKA, I. I. Resistência induzível à clindamicina entre isolados clínicos de *Staphylococcus aureus*. **O Mundo da Saúde**, São Paulo, v.33, n.4, p. 401-405, ago. 2009.

COELHO, M. S. SILVA ARRUDA, C. FARIA SIMÕES, S. M. Higienização das mãos como estratégia fundamental no controle de infecção hospitalar: um estudo quantitativo. **Revista eletrônica trimestral de Enfermeria**.Murcia, n. 21.p. 1-12, jan.2011.

CORDEIRO, V. B.; LIMA, C. B. Higienização das mãos como ferramenta de prevenção e controle de infecção hospitalar. **Temas em Saúde**, João Pessoa, v.16, n.2, p.425-444, 2016.

EVANGELISTA, S. S.; OLIVEIRA, A. C. *Staphylococcus aureus* meticilino resistente adquirido na comunidade: um problema mundial. **Revista Brasileira de enfermagem**, Minas Gerais, v.1, n.68, p.136-143, jan-fev.2015.

MEGIA, C.; ZURITA, J.; GUZMÁN-BLACO, M. Epidemiologia e vigilância de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina na América Latina. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Salvador, Vol 14 (Supl 2):p.S79-S86, dez, 2010.

LIMA, M. F. P.; BORGES, M. A. PARENTE, R. S. JÚNIOR, R. C. V.; OLIVEIRA, M.E. *Staphylococcus aureus* e as infecções hospitalares-Revisão de Literatura. **Revista Uningá Review**. Minas Gerais, v.21, n.1, p.32-39, jan-mar. 2015.

MONTOYA C, I.; MIRA O,M.; ALVAREZ A, I.; COFRE G, J.; COHEN V,J.; DONOSO W, G.; TORRES T, J. P. Resistencia inducible a clindamicina em *Staphylococcus aureus* meticilino resistente. **Revista Chilena de pediatria**, Chile, v.80, n.1, p.48-53, fev. 2009.

MOROSINI, M. I.; CERCENADO, E.; ARDANUY,C.; TORRES, C. Detección fenotípica de mecanismos de resistência em micoorganismos grampositivos. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**.Espanha, v.30, n.6, p.325-332, nov.2012.

PEREZ, L.R.R.; CAIERÃO, J.; ANTUNES A.L.S.; AZEVEDO, P.A. Use of the D Test Method to Detect Inducible Clindamycin Resistance in Coagulase Negative Staphylococci (CoNS) **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Salvador, v.11, n. 2,p. 186 a 188, abr.2007.

PRIMO, M. G. B.; RIBEIRO, L. C. M.; FIGUEIREDO, L. F. S.; SIRICO, S. C. A.; SOUZA, M. A. Adesão à prática de higienização das mãos por profissionais de saúde de um hospital universitário. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, Goiânia, v.12, n. 2, p.266-271, abr-jun, 2010.

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

RICE, L. B. Antimicrobial resistance in Gram-positive bacteria. **The American Journal of Medicine**, *Cleveland*, v. 119, n. 6, p. S11-S19, jun. 2006.

SANTOS, A. L.; SANTOS, D. O.; FREITAS, C. C.; 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.413-423, dez. 2007.

SOUZA, M.V.; REIS, C. PIMENTA, F. C. Revisão sobre a aquisição gradual de resistência de *Staphylococcus aureus* aos antimicrobianos.**Revista de Patologia Tropical**, Goiania,v.34, n.1, p.27-36,jan-abr.2005.

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.

TRINDADE, N. V.; CARVALHO, K. S.; GONTIJO FILHO, P. P. Resistência constitutiva e induzida à clindamicina em isolados de *Staphylococcus aureus* associados a infecções de pele, tecidos moles e corrente sanguínea. In: **IX Encontro Interno & XIII Seminário de Iniciação Científica**. Uberlândia, 2009. p. 1-9.

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.

8. ANEXO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: EPIDEMIOLOGIA DE MICRORGANISMOS 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