

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

SAMANTHA NEVES DE OLIVEIRA

Prevalência de *Staphylococcus aureus* em jalecos de graduandos
e profissionais da saúde na Universidade Federal de Uberlândia

Uberlândia - MG
2019

SAMANTHA NEVES DE OLIVEIRA

Prevalência de *Staphylococcus aureus* em jalecos de graduandos e profissionais da saúde na Universidade Federal de Uberlândia

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Ciências
Biológicas da Universidade Federal de
Uberlândia como requisito parcial para
obtenção do título de bacharel em
Ciências Biológicas

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Helisângela de
Almeida Silva

Uberlândia - MG

2019

SAMANTHA NEVES DE OLIVEIRA

Prevalência de *Staphylococcus aureus* em jalecos de graduandos e profissionais da saúde na Universidade Federal de Uberlândia

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Ciências
Biológicas da Universidade Federal de
Uberlândia como requisito parcial para
obtenção do título de bacharel em
Ciências Biológicas

Uberlândia, aprovação em 06 de dezembro 2019

Banca examinadora:

Prof^ª. Dr^ª. Helisângela de Almeida Silva

Prof^ª. Dr^ª. Lizandra Ferreira de Almeida e Borges

Dr^ª. Cristiane Silveira de Brito

Uberlândia - MG

2019

AGRADECIMENTOS

Sou imensamente grata primeiramente a **Profª. Drª. Helisângela de Almeida Silva** que me acolheu no laboratório e pela valiosa orientação, apoio, dedicação e carinho com que me auxiliou durante esta etapa da minha formação.

Agradeço à equipe do Laboratório de ensino de microbiologia (LEMI-UFU) em especial a técnica **Claudete Freitas**, obrigada pelo acolhimento, solicitude e carinho. Gostaria de agradecer também a **Profª. Drª. Lizandra Ferreira de Almeida e Borges** por me apresentar a minha orientadora e pelo imenso apoio e motivação. Além do conhecimento compartilhado.

À **Drª. Cristiane Silveira de Brito** agradeço a colaboração para a execução da última parte do trabalho e pelo tratamento atencioso.

Gratidão pela minha **família** que sempre esteve do meu lado em todos os momentos destes quatro anos, e vivenciaram todo o trajeto até aqui. Me motivaram e sempre foram meu alicerce e força para lutar pelas minhas conquistas e sonhos. Agradeço principalmente meus pais, **Alex e Cassiana**, pela confiança, dedicação, esforço e carinho!

A minha família da UFU, **Bárbara Calegari, Jhennyfer Silva, Willy Naresse e Gabriel Martin** agradeço pela amizade e por compartilharmos momentos de alegria e dificuldade. Aos outros membros desta família, **Patrícia Cristina, Camila Chamone e Iasmim Pereira** gostaria de fazer um agradecimento especial. Obrigada por me auxiliarem nas etapas deste projeto e sempre oferecer um apoio incondicional, tanto pessoal quanto acadêmico, sem vocês os dias seriam menos coloridos.

Também agradeço a todos os meus amigos que participaram direta ou indiretamente desta fase da minha vida. Em especial, **Mateus Prates** que mesmo longe sempre esteve presente me incentivando. E a **Vania Cristina e Hugo Martins**, que foram indispensáveis para me fortalecer e motivar a seguir em frente e alcançar meus sonhos.

RESUMO

Os jalecos são um dos primeiros sítios de contaminação em termos de indumentária na área da saúde que entram em contato com a pele, líquidos e secreções dos pacientes. Desta maneira carregam, de um lugar para outro, microrganismos patogênicos com facilidade. Este estudo teve como objetivo avaliar a contaminação de *Staphylococcus aureus* em jalecos de profissionais e estudantes de graduação da área da saúde avaliando a resistência das cepas recuperadas. Foram coletadas amostras de 175 jalecos, as quais foram cultivadas em meio específico e passaram por testes de identificação para o microrganismo alvo. Além de testes de sensibilidade aos antimicrobianos e PCR (reação em cadeia da polimerase) para o gene *mecA*. Aproximadamente 25% dos jalecos de estudantes estavam contaminados por *S. aureus* e 19% dos profissionais. Foram identificados três fenótipos de resistência relevantes, sendo elas MSRA, BORSA e MLSB, no qual algumas cepas apresentaram até dois fenótipos simultaneamente, ilustrando suas características multirresistentes. Assim, concluímos que os jalecos tanto de profissionais quanto de graduandos são uma importante fonte de transmissão de patógenos e seu uso deve ser restrito às áreas de atendimento e ambientes laboratoriais.

Palavras-chave:: Jaleco. MRSA. BORSA. MLSB. Resistência bacteriana.

ABSTRACT

Lab coats are one of the first sites of contamination in terms of health clothing that come into contact with patients' skin, fluids and secretions. In this way they carry from one place to another easily pathogenic microorganisms. This study aimed to evaluate the contamination of *Staphylococcus aureus* in coats of health professionals and undergraduate students evaluating the resistance of recovered strains. Samples of 175 coats were collected, which were cultivated in specific medium and passed identification tests for the target microorganism. In addition to antimicrobial susceptibility testing and PCR (polymerase chain reaction) for the *mecA* gene. Approximately 25% of student coats were contaminated with *S. aureus* and 19% of professionals. Three relevant resistance phenotypes were identified, namely MSRA, BORSA and MLSB, in which some strains presented up to two phenotypes simultaneously, illustrating their multiresistant characteristics. Thus, we conclude that both professional and undergraduate lab coats are an important source of pathogen transmission and their use should be restricted to care areas and laboratory environments.

Keywords: Lab coats. MRSA. BORSA. MLSB. Bacterial resistance.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	7
2. OBJETIVOS	10
2.1 Objetivo Geral	10
2.2 Objetivos Específicos	10
3. MATERIAIS E MÉTODOS	11
3.1 TÉCNICAS MICROBIOLÓGICAS	11
3.1.1 Coleta das amostras e espécimes clínicos	11
3.1.2 Identificação dos microrganismos	11
3.1.3 Reativação dos microrganismos	12
3.1.4 Perfil de resistência	12
3.1.4.1 Ágar triagem com oxacilina	12
3.1.4.2 Método de disco difusão	12
3.1.4.3 Teste D	13
3.1.5 Técnica molecular para detecção do gene <i>mecA</i>	13
3.1.5.1 Extração do DNA bacteriano por lise térmica	13
3.1.5.2 Detecção do gene <i>mecA</i> por PCR	13
3.2 ANÁLISE ESTATÍSTICA	14
4. RESULTADOS	15
5. DISCUSSÃO	20
6. CONCLUSÃO	23
REFERÊNCIAS	24
APÊNDICE A - FICHA DE COLETA	28

1. INTRODUÇÃO

Na prevenção da contaminação e na tentativa de diminuir o risco da transmissão de agentes infecciosos, o CDC (Center for Disease Control and Prevention) publicou as chamadas Precauções Universais, que são medidas de prevenção que indicam o uso de barreiras para a proteção do profissional da saúde (SOUZA et al., 2008), uma delas é a utilização do jaleco (CARVALHO et al., 2009).

A contaminação da pele e vestimentas por respingos e por toque é praticamente inevitável em hospitais e ambulatorios. As áreas de maior contaminação dos jalecos relatadas em diversos estudos têm sido os bolsos, região da cintura ou abdominal e para os modelos de manga longa inclui-se também os punhos (SNYDER et al., 2008; GASPARD et al., 2009).

O uso restrito do jaleco, somente em áreas de assistência ao paciente, contribui para uma menor contaminação destes, conforme foi observado em um estudo na Nigéria sobre contaminação de jalecos de médicos. Estes quando utilizados em locais extra hospitalares como livrarias e lanchonetes apresentaram maior nível de contaminação em relação aos médicos que disseram utilizá-lo somente em locais de atendimento (UNEKE & IJEOMA, 2010).

A presença de microrganismos, como os *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA), *Enterococcus* resistentes à vancomicina (VRE), *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Stenotrophomonas maltophilia* e *Serratia rubidaea* em jalecos já foi relatada e sugere risco de disseminação nos ambientes hospitalares e extra-hospitalares (SNYDER et. al, 2008; UNEKE & IJEOMA, 2010).

Desta forma, bactérias multirresistentes, que podem provocar diversas doenças são carreadas para lugares públicos e retornam das ruas para o ambiente hospitalar nos jalecos dos profissionais de saúde (LOVEDAY et al., 2007). Assim, está claro que o jaleco deve ser utilizado somente no local de trabalho (BALANINI & MARCUZ, 2014).

O *Staphylococcus aureus* é considerado um dos principais patógenos do gênero *Staphylococcus* e frequentemente está associado a infecções adquiridas na comunidade e no ambiente hospitalar (ENGELKIRK & DUBEN-ENGELKIRK, 2015). A meticilina ou oxacilina é um antibiótico semi sintético derivado da penicilina. Ela foi introduzida na

Europa em 1959 e um ano depois detectou-se a primeira cepa de *S. aureus* resistente a meticilina (VELÁZQUEZ-MEZA, 2015).

As cepas de MRSA comumente possuem um mecanismo de resistência relacionado a proteína 2a de ligação à penicilina (PBP2a) presentes na membrana bacteriana, esta provoca uma baixa afinidade da meticilina e dos compostos penicilinase-resistentes, a parede celular, e por consequência deixam de ser efetivos (CHAMBERS, 1997; ANVISA, 2007). Este mecanismo está diretamente ligado, principalmente, a presença do gene *mecA*, um gene adquirido, que vem acompanhado de dois genes que controlam a sua expressão, sendo eles o *mecR1* (codificando a proteína transdutora de sinal MecR1) e *mecI* (codificando a proteína repressora MecI) (IWG-SCC, 2012).

Nas últimas décadas o MRSA tem representado um grave problema de saúde pública global, devido a multirresistência aos antimicrobianos e, inclusive, à resistência aos antissépticos e desinfetantes (TONG et al., 2015; NASCIMENTO, 2019). A expansão de MRSA adquiridos na comunidade (CA-MRSA) é favorecido pela contaminação por contato interpessoal e por objetos contaminados em universidades, hospitais e demais lugares públicos (MORAES et al., 2018).

Devido a resistência crescente aos β -lactâmicos outros antibióticos passaram a serem atribuídos no tratamento de *S. aureus*. Tais como a cefalotina, cefalosporina de primeira geração, esta atua inibindo a síntese da parede celular da bactéria, mecanismo de ação semelhante a amoxicilina e ampicilina (LEMIRE et al., 2013). A Clindamicina (grupo das lincosamidas) e Eritromicina (grupo dos macrolídeos) que agem inibindo a síntese de proteína nos ribossomos, promovendo modificações na superfície da bactéria, o que facilita a fagocitose e destruição dos microrganismos (VERMELHO et al., 2008).

A resistência do *S. aureus* aos macrolídeos, lincosamidas e estreptogramina B (grupo MLSB) é conhecida desde 1956 (ROSSI & ANDREAZZI, 2005). Ela pode ser constitutiva (MLSBc) ou induzível (MLSBi). O fenótipo MLSBc apresenta resistência tanto à eritromicina quanto à clindamicina (SHETTY & AFROZ, 2017). O fenótipo MLSBi é detectado pelo método de disco aproximação, teste D (PRASANTH et al., 2018). Este fenótipo mostra resistência à eritromicina e uma falsa sensibilidade à clindamicina (SHETTY & AFROZ, 2017).

O surgimento destes fenótipos ocorre devido a três mecanismos: modificações no alvo de ligação no ribossomo (codificado pelo gene *ermA* ou *ermC*) conferindo resistência cruzada aos macrolídeos, lincosamidas e estreptogramina B; efluxo ativo (codificado pelo gene *mrsA*) que confere resistência aos macrolídeos e estreptogramina B; ou inativação enzimática da droga (ANVISA, 2007; AMORIM et al., 2009).

Outros dois antibióticos utilizados são a tetraciclina e gentamicina. A tetraciclina é um bacteriostático, age por inibição da síntese de proteínas dos microrganismos sensíveis, ligando-se aos ribossomos. A Gentamicina faz parte do grupo dos aminoglicosídeos, ela apresenta a mesma ação que a tetraciclina, e também possui muita eficácia para tratar infecções provocadas por bactérias Gram negativas (LEMIRE et al., 2013).

Muitos profissionais da saúde alegam não haver estudos científicos conclusivos que avaliem o impacto dos jalecos nas taxas de infecção hospitalar e por isso passam a frequentar os mais diversos ambientes usando seus uniformes. Frequentemente, a seriedade da questão é negligenciada, muitas vezes pelo desconhecimento de alguns conceitos básicos de microbiologia (CARVALHO et al., 2009).

Diante disto, é necessário relatar a importância da não utilização do jaleco fora do ambiente de trabalho. Este projeto expõe de forma clara a presença de microrganismos patogênicos presentes nos jalecos fundamentando assim, por meio de um estudo científico, o potencial contaminante desta peça de vestuário. Buscando, desta forma, promover uma conscientização no sentido de orientar os profissionais de saúde sobre o uso adequado do jaleco.

2. OBJETIVOS

2.1 GERAL

Analisar a contaminação dos jalecos de profissionais e estudantes universitários da área de saúde e biológicas, por bactérias Gram positivas, da Universidade Federal de Uberlândia.

2.2 ESPECÍFICOS

- a- Avaliar as taxas de contaminação de jalecos de profissionais e estudantes de graduação da área da saúde e biológicas, por *Staphylococcus aureus*;
- b- Verificar taxas de prevalência de contaminação por *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA) e outros perfis de multirresistência;
- c- Detectar a presença do gene *mecA* através da técnica de PCR em amostras de *S. aureus* resistente à oxacilina isolados de estudantes e profissionais.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho consistiu em uma busca ativa de casos de contaminação por *Staphylococcus aureus* em jalecos utilizados durante a rotina de profissionais da área da saúde e estudantes da graduação. Foram coletadas 175 amostras, sendo 62 de profissionais de 15 setores diferentes e 113 de graduandos compostos por 4 diferentes cursos.

3.1 TÉCNICAS MICROBIOLÓGICAS

3.1.1 Coleta das amostras e espécimes clínicos

As amostras foram coletadas de alunos e dos profissionais no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU) e no Campus Umuarama de março à julho de 2019. As áreas determinadas para coleta foram regiões próximas aos pulsos nos jalecos com mangas e na área dos bolsos dos jalecos sem manga. No momento da coleta realizamos um questionário com informações básicas dos voluntários (Apêndice A). Os espécimes clínicos foram coletados com auxílio de swab estéril pré umedecidos em salina e transportados ao Laboratório de Bacteriologia Clínica (LABAC), do Departamento de Microbiologia da UFU, em tubos contendo 2 mL de caldo TSB (Soja Trypticaseína). As amostras ficaram em overnight a 37°C e posteriormente foram cultivadas em placas com ágar Manitol Salgado, sendo novamente incubadas a 37°C por 24 à 48 horas.

3.1.2 Identificação dos microrganismos

A identificação dos microrganismos foi feita pelas características morfo-tintoriais (coloração de gram) e por técnicas microbiológicas clássicas. Os cocos gram positivos passaram pelo teste de fermentação do manitol, catalase e coagulase. Os microrganismos identificados foram estocadas em BHI (Brain Heart Infusion) com 10% de glicerol e armazenadas em congelador comum à - 20°C, para posteriormente serem submetidos aos testes de sensibilidade aos antimicrobianos.

3.1.3 Reativação dos microrganismos

As amostras foram descongeladas e retiradas diretamente do estoque. Posteriormente foram cultivadas em placas contendo TSA (Trypticase Soy Agar), por esgotamento em estrias e incubadas à 37°C por 24 horas, para obtenção de colônias isoladas.

3.1.4 Perfil de resistência

Os testes de resistência foram realizados utilizando as recomendações do CLSI (2018). Tanto para a triagem com oxacilina quanto para os testes de disco difusão foi preparado um inóculo bacteriano em salina estéril, de cada amostra, para obtenção da turbidez equivalente a escala 0,5 de McFarland.

3.1.4.1 Ágar triagem com oxacilina

Para a triagem foi utilizado o ágar Mueller Hinton suplementado com 6µg de oxacilina e 4% de NaCl para detecção de amostras de *S. aureus* resistentes à meticilina (MRSA), posteriormente foram incubadas à 35°C por 24h.

3.1.4.2 Método de disco difusão

As amostras resistentes a oxacilina foram semeadas em placa de Ágar Müeller-Hinton e em seguida, foi adicionado o multidisco (estrela), contendo 14 antimicrobianos: Rifampicina (5 µg), cefoxitina (30 µg), clindamicina (2 µg), cefalotina (30 µg), tetraciclina (30 µg), sulfazotrim/sulfametoxazol-trimetoprim (25 µg), ampicilina (10 µg), ciprofloxacina (5 µg), gentamicina (10 µg), cloranfenicol (30 µg), eritromicina (15 µg), amoxicilina/ácido clavulânico (30 µg), penicilina G (10 µg), oxacilina (1 µg) e vancomicina (30 µg). As leituras foram realizadas após a incubação a 37°C por 18/ 24 horas.

Observamos a resistência à cefoxitina em comparação à oxacilina para detectar o perfil MRSA e susceptibilidade de cefoxitina em comparação com a resistência à amoxicilina com ácido clavulânico para detectar o perfil BORSA.

3.1.4.3 Teste D

A clindamicina e eritromicina estavam próximas no multidisco (aproximadamente 20mm de centro a centro), proporcionando a avaliação de resistência induzível e constitutiva ao grupo MLSB.

Como critério de separação de fenótipos consideramos as seguintes características descritas no trabalho de SHETTY & AFROZ (2017): MLSB_c apresenta resistência tanto à eritromicina quanto à clindamicina, havendo um halo de inibição (tamanho da zona < 21 mm) circular ou ausente em torno da clindamicina. O fenótipo MLSB_i mostra resistência à eritromicina e uma falsa sensibilidade à clindamicina, a zona de inibição em torno da clindamicina adquire a forma de um D. E o fenótipo moderado sensível (MS) é caracterizado pela resistência apenas à eritromicina.

3.1.5 Técnica molecular para detecção do gene *mecA*

A detecção do gene *mecA* foi realizado em parceria com o Laboratório de microbiologia molecular da Universidade Federal de Uberlândia.

3.1.5.1 Extração do DNA bacteriano por lise térmica

A extração do DNA bacteriano foi realizado de acordo com Nunes e colaboradores (1999) com modificações. As amostras de *S. aureus* foram cultivadas em ágar TSA (35°C por 24h) e posteriormente 5 colônias foram transferidas para 150 µl de tampão TE (Tris 10mM, Edta 1mM, pH 8,0). Esta suspensão foi mantida a temperatura de ebulição, em torno de 100°C, por 10 min, em seguida, submetida a um banho de gelo por 10 min e centrifugada por 1 min (20.000g a 4°C). O sobrenadante foi coletado e armazenado em um freezer comum a -20°C, para posteriormente ser utilizado na reação em cadeia de polimerase (PCR).

3.1.5.2 Detecção do gene *mecA* por PCR

Para avaliar a presença do gene *mecA* foi realizada a técnica de PCR convencional com primers para o gene alvo (Tabela 1). A amplificação foi realizada em um termociclador Eppendorf mastercycler® utilizando-se um volume total de 25 µl, composta por: 10 µl de água ultrapura autoclavada, 0,75 µl de cada oligonucleotídeo, 12,5 µl de GOTAq GREEN master mix 2X (Promega, Madison, EUA) e 1 µl de DNA obtido através da lise térmica.

Tabela 1: Primers específicos para detecção do gene *mecA* nas amostras resistentes a oxacilina.

Gene	Sequência (5' - 3')	Produto amplificado (pb)	Referência
<i>mecA</i>	F:TCCAGATTACAACCTTCACCAGG	162	OLIVEIRA & LENCASTRE, 2002
	R: CCACTTCATATCTTGTAACG		

As condições da reação de amplificação foram: 2 minutos em 95°C para desnaturação inicial, seguidos de 30 ciclos de 30 segundos à 95°C para a desnaturação, 1 minuto à 53°C para o anelamento, 2 minutos à 72°C para a extensão e 5 minutos à 72°C para a extensão final.

Os fragmentos amplificados foram analisados através de eletroforese em gel de agarose a 1,5% em TBE (Tris, ácido bórico e EDTA; concentração 0,5) à 90V por 40 min. O gel foi corado com 2 µl de SYBR™ Safe (Applied BioSystems®) para cada 100 mL de tampão. Foi utilizado uma cepa *S. aureus* SCC*mec* IV como controle secundário para a reação de PCR.

3.2. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística dos dados foram realizados utilizando o programa estatístico BioEstat 5.0, onde realizou o teste de qui-quadrado para comparação entre as variáveis qualitativas, o teste exato de Fisher para analisar as variáveis qualitativas com o n menor ou igual a 5, foi considerado o valor de p maior ou igual à 0,05 com o intervalo de confiança de 95% (AYRES et al., 2007).

4. RESULTADOS

A análise do perfil dos usuários dos jalecos estudados mostrou que na graduação a maioria dos voluntários, 62 (54.9%), tinha idade entre 19 e 21 anos (Gráfico 1). Enquanto nos profissionais da saúde a maioria dos participantes se concentram na faixa etária de 41 anos ou mais, 25 (40,3%) (Gráfico 2). Em ambos os grupos, o sexo feminino foi o predominante entre os voluntários, sendo 65 (57,5%) dos graduandos e 42 (67,7%) dos profissionais (Gráfico 3).

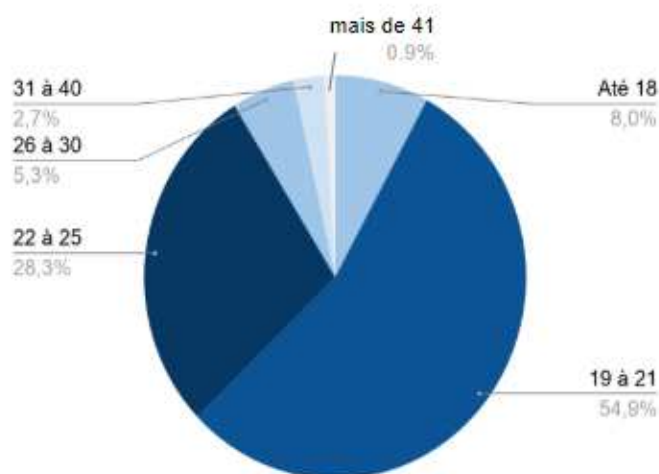


Gráfico 1: Distribuição etária dos voluntários graduandos que participaram da pesquisa.

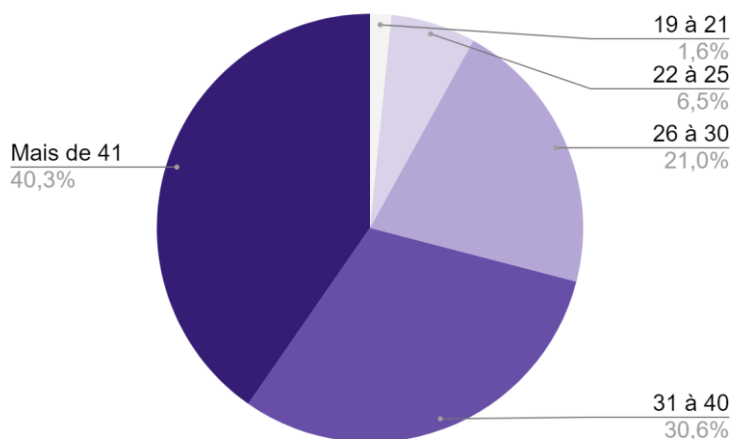


Gráfico 2: Distribuição etária dos voluntários profissionais que participaram da pesquisa.

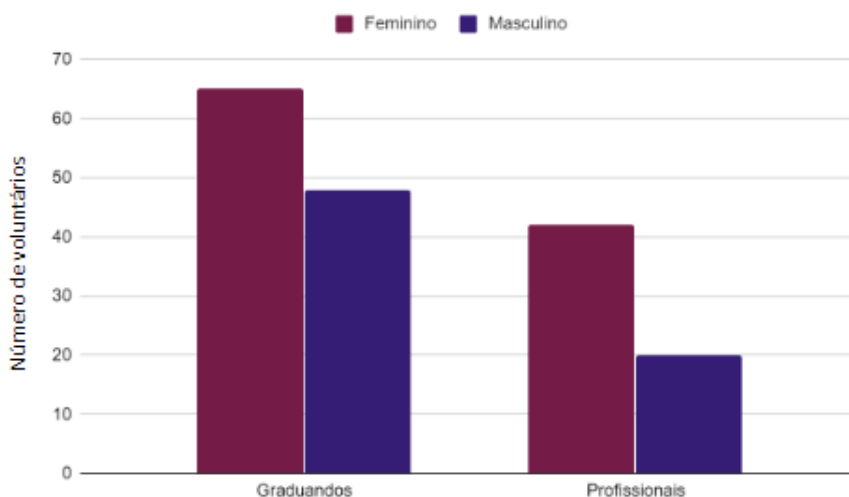


Gráfico 3: Distribuição das amostras obtidas de graduandos e profissionais de acordo com o sexo.

Dos 175 jalecos avaliados, apenas 18% (31/175) das amostras não apresentaram crescimento de bactérias gram positivas e cerca de 51% (89/175) das amostras estavam contaminadas por bactérias do gênero *Staphylococcus* (Tabela 2). Os percentuais de contaminação entre os dois grupos estudados foram semelhantes, desta forma não observou diferenças estatísticas.

Tabela 2: Distribuição das amostras obtidas de jalecos de graduandos e profissionais da área da saúde, em um campus da Universidade Federal de Uberlândia e Hospital de Clínicas da UFU, contaminados por *Staphylococcus* spp.

Grupo	Pesquisados		Com contaminação de Gram positivos		Com contaminação de <i>Staphylococcus</i> spp	
	N	%	N	%	N	%
Graduação	113	65	93	82	58	51
Profissionais	62	35	51	82	31	50
Total	175	100	144	82	89	51

Em relação a contaminação dos jalecos de estudantes da graduação por *S. aureus* cerca de 25,6% (29/113) das amostras apresentava contaminação por este microrganismo, sendo a medicina o curso com a maior taxa, 33,3% (10/30). Já nas amostras pertencentes aos profissionais 19,3% (12/62) estavam contaminados, utilizando como base a

porcentagem presente em cada setor os fisioterapeutas, 50% (2/4), apresentaram a maior taxa de contaminação pelo microrganismo esperado (Tabela 3).

Tabela 3: Distribuição das amostras obtidas de jalecos de graduandos e profissionais da área da saúde, em um campus da Universidade Federal de Uberlândia e Hospital de Clínicas da UFU, contaminados por *S. aureus*, separadas por cursos e setores.

Grupos	Pesquisados		Com contaminação de <i>Staphylococcus spp</i>		Com contaminação de <i>S. aureus</i>	
			N	%	N	%
Graduação	N	%	N	%	N	%
Biologia	30	26,6	12	40,0	5	16,6
Enfermagem	26	23,0	15	57,8	6	23,1
Fisioterapia	27	23,8	15	55,5	8	29,6
Medicina	30	26,6	16	53,3	10	33,3
Total	113	100,0	58	51,3	29	25,6
Profissionais						
Médicos	30	48,4	15	50,0	6	20,0
Enfermeiros	10	16,1	2	20,0	1	10,0
Técnicos em laboratório	6	9,7	4	66,6	0	0
Fisioterapeutas	4	6,5	3	75,0	2	50,0
Outros*	12	19,3	7	58,3	3	25,0
Total	62	100,0	31	50,0	12	19,3

*Outros: Assistente social, farmácia, nutricionista, professor e psicólogo.

Dentre as 41 amostras isoladas de *S. aureus* 8 (19%) amostras apresentaram resultado positivo no teste de triagem de oxacilina, sendo 4 (50%) pertencentes a graduandos e 4 (50%) de profissionais da área da saúde.

Destas 8 amostras todas confirmaram a resistência a oxacilina pelo método de disco difusão, mas apenas 5 mostraram resistência à cefoxitina. Em relação ao perfil de resistência dos demais antibióticos testados obtivemos os seguintes resultados: amoxicilina/ácido clavulânico 5 (62,5), eritromicina 6 (75%), ampicilina e penicilina G 7 (87,5%), cefalotina, cloranfenicol e rifampicina 1 (12,5%), ciprofloxacina 2 (25%), clindamicina 4 (50%), gentamicina 2 (25%), 7 (87,5%). Nenhuma amostra apresentou resistência a sulfazotrim e tetraciclina (Tabela 4).

Tabela 4: Perfil de resistência das cepas positivas no ágar triagem de oxacilina, obtidas de jalecos de graduandos e profissionais a saúde de um campus da Universidade Federal de Uberlândia e Hospital de clínicas.

Resistência aos antibióticos						
Antibióticos	Graduação		Profissionais		Total de amostras resistentes	
	N=4	%	N=4	%	N=8	%
Amoxicilina (30 µg)	2	50,0	3	75,0	5	62,5
Ampicilina (10 µg)	4	100,0	3	75,0	7	87,5
Cefalotina (30 µg)	1	25,0	0	0	1	12,5
Cefoxitina (30 µg)	2	50,0	3	75,0	5	62,5
Ciprofloxacina (5 µg)	1	25,0	1	25,0	2	25,0
Clindamicina (2 µg)	3	75,0	1	25,0	4	50,0
Cloranfenicol (30 µg)	0	0	1	25,0	1	12,5
Eritromicina (15 µg)	3	75,0	3	75,0	6	75,0
Gentamicina (10 µg)	0	0	2	50,0	2	25,0
Oxacilina (1 µg)	4	100,0	4	100,0	8	100,0
Penicilina G (10 µg)	4	100,0	3	75,0	7	87,5
Rifampicina (5 µg)	0	0	1	0	1	12,5
Sulfazotrim (25 µg)	0	0	0	0	0	0
Tetraciclina (30 µg)	0	0	0	0	0	0

Foram detectados 5 amostras com fenótipo MRSA sendo duas de graduandos (ambas no curso de enfermagem) e 3 de profissionais (1 fisioterapeuta, 1 enfermeira e 1 médico). Também identificamos 3 amostras com fenótipo BORSA, 2 na graduação (1 fisioterapia e 1 biologia) e 1 nos profissionais (setor de gerência de risco).

Referente a resistência à eritromicina e à clindamicina das amostras resistentes a oxacilina quatro tipos de fenótipos foram observados. Fenótipo induzível de MLSB com 3 amostras (detectada pelo teste D). Fenótipo constitutivo de MLSB com 1 amostras. Fenótipo moderado sensível (MS) 2 amostras e fenótipo sensível com 2 amostras (Quadro 1).

Quadro 1: Descrição dos resultados para o teste D das amostras obtidas de jalecos de estudantes de graduação e profissionais da saúde de um campus da Universidade Federal de Uberlândia e Hospital de Clínicas.

	N	%
MLSB induzível	3	37,5
MLSB constitutivo	1	12,5
MS	2	25,0
Sensível	2	25,0
Total	8	100,0

Das cepas isoladas 6 mostraram um perfil de multirresistência apresentando até dois fenótipos simultaneamente (2 MRSA e MLSB, 1 MRSA e MS, 2 BORSA e MLSB, 1 BORSA e MS). As 8 amostras resistentes a oxacilina foram submetidas ao método de PCR para a detecção do gene *mecA* e em apenas 12,5% (1/8) foi identificada a presença deste gene alvo.

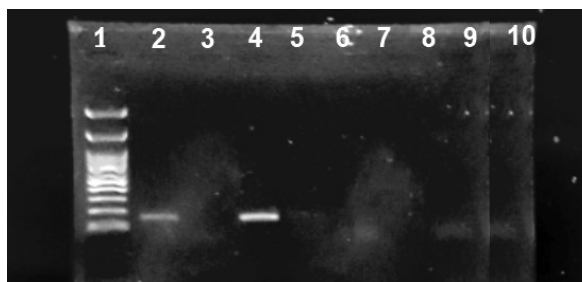


Figura 1: Eletroforese em gel de agarose para determinação do gene *mecA* (162 bp) em amostras de *S. aureus* pela técnica de PCR. **1:** marcador de peso molecular; **2:** *S. aureus* SCC*mec* tipo IV (controle secundário positivo); **4:** Amostra positiva; **3, 5, 6, 7, 8, 9, 10:** Amostras negativas.

5. DISCUSSÃO

Estudos mostraram que os principais microrganismos responsáveis por contaminar jalecos, tanto de profissionais da saúde quando estudantes, são os cocos Gram positivos, em especial do gênero *Staphylococcus* (KAISER et al., 2016). Sendo o *Staphylococcus aureus* o principal microrganismo identificado (COUTO & MOREIRA, 2016). Os resultados encontrados neste trabalho confirmam estudos anteriores com mais da metade dos jalecos avaliados (51%) apresentando crescimento de bactérias do gênero *Staphylococcus* e 46% destes foram classificados como *S. aureus*.

O *S.aureus* é um microrganismo com alto potencial patogênico, possui uma grande variedade de fatores de virulência que possibilitam tanto a contaminação quanto o estabelecimento da infecção em um hospedeiro suscetível (POLISENA et al., 2011; FRACAROLLI et al., 2017). Esta bactéria também apresenta uma alta capacidade de adaptação e resistência aos antibióticos, o que dificulta a escolha de fármacos adequados para o tratamento das infecções (POLISENA et al., 2011).

A presença de duas amostras de MRSA nos jalecos pesquisados de graduandos sugere que as cepas são de origem comunitária (CA-MRSA), visto que ainda não frequentavam ambientes hospitalares, como observado também no estudo de MORAES e colaboradores (2018). As cepas isoladas mostraram um perfil de multirresistência aos antibióticos utilizados e não mostraram a presença do gene *mecA*. A crescente resistência antimicrobiana destes CA-MRSA e a entrada nos ambientes de saúde acabam substituindo as cepas tradicionais de MRSA associados à hospitais (HA-MRSA) (COSTA et al., 2013). Na última década alguns estudos já mostraram o aumento na incidência de infecções causadas por CA-MRSA em locais como escolas, centros de saúde e casas de repouso (OTTER & FRENCH, 2010).

Nos jalecos dos profissionais da saúde foram isoladas 3 cepas de MRSA e em apenas uma foi verificada a presença do gene *mecA*. A resistência a metilina codificada pelo gene *mecA* não possui relação com a produção de beta- lactamases (CHAMBERS, 1997; ANVISA, 2007). Este gene é carregado por um elemento genético móvel denominado cassete cromossômico estafilocócico, *SCCmec* (CHAMBERS, 1997; ANVISA, 2007).

Até o momento cerca de 13 tipos de SCC*mec* foram identificados (PRIYA et al., 2017; URUSHIBARA et al., 2019). A classificação destes é realizada a partir das sequências de regiões internas do cassete. Os diferentes tipos de SCC*mec* dificultam as distinções entre MRSA associado ao hospital e a comunidade, mesmo utilizando ferramentas moleculares, como PCR e métodos de sequenciamento (MORAES et al., 2018). O surgimento de novas variantes *mec* significa que os alvos para a detecção de meticilina resistentes precisam de reavaliação contínua (BAKTHAVATCHALAM et al., 2017).

A ausência do gene *mecA* nas cepas de *S. aureus* resistentes a meticilina sugere que alguns desses isolados carregam o gene *mecC*. Este gene é um homólogo do *mecA* identificado no elemento genético móvel do SCC*mec* XI (BALLHAUSEN et al., 2014). Ele não é detectável em diagnósticos de rotina, como o teste de aglutinação do látex para PBP2a e PCR específico para *mecA* devido a variação na estrutura da proteína PBP2a e variação nucleotídica na região do primer (PETERSEN et al., 2013). Assim como para as amostras de MRSA, *mecA* positivas, a cefoxitina também é mais confiável que a oxacilina para a detecção fenotípica de isolados *mecC* (SKOV et al., 2014).

Esta variação de MRSA apresenta um potencial patogênico para a humanidade sendo capaz de gerar infecções piogênicas da pele, dos tecidos moles e articulares, como descrito no trabalho de GARCÍA-GARROTE e colaboradores (2014). Quatro amostras de MRSA, sendo duas de graduandos e duas de profissionais, devido a ausência do gene *mecA* no PCR sugere a presença deste homólogo. Contudo, para melhor confirmação é necessário realizar um PCR com primer específico para identificação da sequência nucleotídica do SCC*mec* tipo XI.

Das 8 amostras resistentes a oxacilina 3 não mostraram resistência à cefoxitina, desta forma não apresentam o fenótipo MRSA, segundo o CLSI (2018). Algumas cepas de *S. aureus* apresentam resistência à oxacilina não relacionada a presença de genes *mec*. O estudo de ARGUDÍN e colaboradores (2018) também relataram cepas com estas características. O mecanismo de resistência nesses isolados pode ser devido a hiperprodução de β -lactamase, que são enzimas que quebram os anéis β -lactâmicos (COLLI et al., 2009). São conhecidas como BORSA (borderline oxacillin-resistant *S. aureus*), resistência *borderline*, em que as MICs (concentração inibitória mínima) de oxacilina estão próximos aos pontos de corte (HRYNIEWICZ & GARBACZ, 2017).

Devido a falta de aplicação de métodos de detecção para cepas BORSA, alguns isolados podem ser diagnosticados erroneamente como MRSA ou *S. aureus* sensível à meticilina (MSSA) (HRYNIEWICZ & GARBACZ, 2017). Cepas com fenótipo BORSA em sua maioria apresentam resistência a oxacilina e suscetibilidade à cefoxitina (MAALEJ et al., 2012). A determinação deste fenótipo de *S. aureus* é essencial clinicamente, pois as infecções podem ser controladas com inibidores de beta-lactamase, como ácido clavulânico ou sulbactam. Assim as cepas BORSA passam a ser suscetíveis à oxacilina e demais β -lactâmicos (MCDOUGAL & THORNSBERRY, 1986; ARGUDÍN et al., 2018).

Conforme estudo de MORAES e colaboradores (2018) a frequência de isolados resistentes à eritromicina e clindamicina encontrada foi maior em MRSA do que em MSSA. Desta forma, o presente estudo além de verificar a resistência a meticilina também avaliou a resistência aos macrolídeos, lincosamidas e estreptogramina do grupo B (resistência MLSB), visto que também são fortemente empregados no tratamento de infecções por *S. aureus*. Cerca de 50% das cepas resistente a oxacilina apresentaram fenótipo MLSB.

Neste trabalho o fenótipo que apresentou maior ocorrência foi o MLSB induzível, cerca de 37,5% das amostras resistentes a oxacilina e apenas 25% destas eram sensíveis aos dois antimicrobianos utilizados no teste D. O fenótipo induzível compromete a eficácia da clindamicina, desta forma é indispensável a realização do teste de indução e o monitoramento constante da susceptibilidade à droga dos isolados de *S. aureus*. Visto que a clindamicina é muito utilizada no tratamento de infecções causadas por este microrganismo, especialmente como um tratamento alternativo para pacientes alérgicos a penicilina (AMORIM et al., 2009).

Segundo OLIVEIRA & SILVA (2013) com o aumento da resistência bacteriana em hospitais e na comunidade é relevante investigar o papel dos fatores ambientais, incluindo os jalecos dos profissionais de saúde e universitários, pois se contaminados tornam-se veículos de disseminação de uma diversidade de microrganismos com diferentes perfis de resistência aos fármacos comumente empregados no tratamento das infecções.

6. CONCLUSÃO

Concluimos com o presente trabalho que não somente os jalecos de profissionais da saúde são passíveis de carrear microrganismos patogênicos e com alto perfil de resistência. Jalecos de graduandos também mostraram-se altamente contaminados por *S. aureus* e a proporção dos patógenos multirresistentes foram semelhantes quando comparados com os encontrados nos profissionais.

A presença do gene *mecA* em apenas uma cepa MRSA demonstra a necessidade de mais testes para a detecção de novas variante *mec* responsáveis pela resistência à meticilina. Contudo a detecção de uma cepa já retrata o cenário comum que estamos visualizando rotineiramente, com cepas altamente resistentes em vestimentas e objetos do dia a dia.

Além do fenótipo MRSA, tanto associado aos hospitais quanto à comunidade, também foram descritas cepas com fenótipo BORSA e MLSB. A presença de isolados com estes aspectos ilustram o risco de contaminação deste EPI. Desta forma, as infecções causadas por *S. aureus* multirresistentes deixam de ser problemas associados apenas ao ambiente hospitalar e se tornam um problema emergente na comunidade.

REFERÊNCIAS

AMORIM, D. M. R. *et al.* 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.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). **Módulo 3: Resistência Microbiana - mecanismos e impacto clínico**. Brasília, DF: ANVISA, 2007.

ARGUDÍN, M. *et al.* Genetic diversity among *Staphylococcus aureus* isolates showing oxacillin and/or cefoxitin resistance not linked to the presence of *mec* genes. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 62, n. 7, p. 1-6, jun. 2018.

AYRES, M. *et al.* BioEstat 5.0. **Imprensa Oficial do Estado do Pará**, Belém, v. 323, 2007.

BAKTHAVATCHALAM, Y. D.; NABARRO, L. E.; VEERARAGHAVAN, B. Evolving rapid methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* detection: Cover all the bases. **Journal of Global Infectious Diseases**, Flórida, v. 9, n. 1, p. 18-22, jan-mar 2017.

BALANINI, K. C.; MARCUZ, F. S. Utilização do jaleco pelos profissionais de saúde de um pronto atendimento do município de Cianorte - Paraná - Brasil. **Revista UNINGÁ**. Maringá, v. 17, n. 1, p. 35-41, jan./mar. 2014.

BALLHAUSEN, B. *et al.* The *mecA* homolog *mecC* confers resistance against β -lactams in *Staphylococcus aureus* irrespective of the genetic strain background. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, Washington, v. 58, n. 7, p. 3791–3798, jul. 2014.

CARVALHO, C. M. R. *et al.* Aspectos de biossegurança relacionado ao uso do jaleco pelos profissionais da saúde: uma revisão da literatura. **Revista Texto e Contexto-Enfermagem**. Florianópolis, v.18, n. 2, p.355-360, abr/jun. 2009.

CHAMBERS, H. Methicillin-resistance in Staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. **Clinical Microbiology Reviews**. Washington, v. 10, n. 4, p.781-791, oct. 1997.

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 29 th informational supplement**. CLSI document M100-S29, dec. 2018.

COLLI, V. C.; PIZZOLITTO, A. C.; RADDI, M. S. G. Determinação da resistência de *Staphylococcus aureus*: um desafio? **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v. 30, n. 1, p.115-118, jun. 2009.

COSTA, A. R. *et al.* *Staphylococcus aureus* virulence factors and disease. In book: **Microbial pathogens and strategies for combating them science, technology and education**. Formatex Research Center, Badajoz, p.702-710, 2013.

ENGELKIRK, P. G.; DUBEN- ENGELKIRK, J. **Burton, microbiologia para as ciências da saúde**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 9ª ed., 2015.

FRACAROLLI, F. L.; OLIVEIRA, S. A.; MARZIALE, M. H. P. Colonização bacteriana e resistência antimicrobiana em trabalhadores de saúde: revisão integrativa. **Acta Paulista de Enfermagem**, São Paulo, v. 30, n. 6, p. 651-657, nov/dec. 2017.

GARCÍA-GARROTE, F. *et al.* Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying the *mecC* gene: emergence in Spain and report of a fatal case of bacteraemia. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, Oxford, v. 69, n. 1, p. 45-50, jan. 2014.

GASPARD, P. *et al.* Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* contamination of healthcare workers' uniforms in long-term care facilities. **Journal of Hospital Infection**, Birmingham, v. 71, n. 2, p. 170-175, feb. 2009.

HRYNIEWICZ, M. M.; GARBACZ, K. Borderline oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* (BORSA) – a more common problem than expected? **Journal of Medical Microbiology**, Inglaterra, v. 66, n. 10, p. 1367– 1373. set. 2017.

IWG-SCC- **International Working Group on the Staphylococcal Cassette Chromosome elements**. 2012. Acesso em: 10 de dezembro de 2019. Disponível em: <http://www.sccmec.org/index.php/guidelines>

LEMIRE, J. A.; HARRISON, J. J.; TURNER, R. J. Antimicrobial activity of metals: mechanisms molecular target and applications. **Nature Reviews Microbiology**, London, v. 11, n. 1, p. 371- 384, jun. 2013.

LOVEDAY, H. P. *et al.* Public perception and the social and microbiological significance of uniforms in the prevention and control of healthcare-associated infections: an evidence review. **British Journal of Infection Control**, London, v. 8, n. 4, p. 10-12, set 2007.

MAALEJ, S. M. *et al.* Analysis of borderline oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* (BORSA) strains isolated in Tunisia. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 50, n. 10, p. 3345–3348, oct. 2012.

MCDUGAL, L. K.; THORNSBERRY, C. The role of β -lactamase in staphylococcal resistance to penicillinase-resistant penicillins and cephalosporins. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 23, n. 5, p. 832–839, may. 1986.

MORAES, I. C.; VILLARROEL, S. L.; PEREIRA, V. C. Detecção de resistência à metilicina e aos macrolídeos em *Staphylococcus aureus* isolados de jaleco. **Colloquium Vitae**, Presidente Prudente, v. 10, n. 3, p.34-41, set/dez 2018.

NASCIMENTO, T. H. D. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana de *Momordica charantia L*, contra *Staphylococcus aureus*. **Revista Terra & Cultura: Cadernos de Ensino e Pesquisa**, Londrina, v. 34, n. 67, p. 31-42, mar. 2019.

OLIVEIRA, A. C.; SILVA, M. D. M. Comportamento dos profissionais de saúde em relação ao uso do jaleco. **Revista de enfermagem**, Recife, v. 7, n. 9, p. 5469 – 5470, set. 2013.

OTTER, J. A; FRENCH, G. L. Molecular epidemiology of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. **Lancet Infectious Diseases**, London, v. 10, n. 4, p. 221-239, apr, 2010.

PEREIRA, I. S. M.; HENTSCHKE, G. S.; SCHUH, L. X. Fatores associados ao rigor da aplicação de medidas preventivas à Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde em uma UTI adulto do interior do Rio Grande do Sul. In: V Semana Acadêmica da Enfermagem, Saberes e Práticas de Enfermagem: Possibilidades de Atuação Profissional, Cachoeira do Sul. Resumo. **Revista das Semanas Acadêmicas da ULBRA Cachoeira do Sul**, v. 5, n. 2, 2018.

PETERSEN, A. *et al.* Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying the novel *mecC* gene in Denmark corroborates a zoonotic reservoir with transmission to humans. **Clinical Microbiology and Infection**, Basileia, v. 19, n. 1, p. 16–22, jan. 2013.

POLISENA, J. *et al.* Clinical effectiveness of rapid test for methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in hospitalized patients: A systematic review. **BMC Infectious Diseases**, London, v.11, n. 336, dec. 2011.

PRASANTH, H. *et al.* Identification of macrolides lincosamides and type B streptogramin (MLSB) resistant strains of *Staphylococcus aureus* in a tertiary care centre at Thanjavur, India. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, Kancheepuram, v. 7, n. 8, p. 3729-3735, ago. 2018.

ROSSI, F.; ANDREAZZI, D. B. **Resistência bacteriana: interpretando o antibiograma**. São Paulo: Editora Atheneu, Cap.1, p. 1-7, Cap.2, p.21-26, 2005.

SHETTY, J.; AFROZ, Z. Prevalence of constitutive and inducible clindamycin resistance among clinical isolates of *Staphylococcus aureus* in a tertiary care institute in North India. **International Journal of Research in Medical Sciences**, Ahmedabad, v. 5, n. 7, p. 3120-3125, may 2017.

SKOV, R. *et al.* Phenotypic detection of *mecC*-MRSA: cefoxitin is more reliable than oxacilin. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, Oxford, v. 69, n. 1, p. 133-135, jan. 2014.

SNYDER, G. M. *et al.* Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin- resistant enterococci on the gowns and gloves of healthcare works. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, Cambridge, v. 29, n. 7, p 583-589, jul 2008.

SOUZA A. C. S., *et al.* Conhecimento dos graduandos de enfermagem sobre equipamentos de proteção individual: a contribuição das instituições formadoras. **Revista Eletrônica de Enfermagem**. Goiânia. v. 10, n. 2, 2008.

TONG, S. Y. C. *et al.* *Staphylococcus aureus* infections: Epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 28, n. 3, p. 603-661, jul. 2015.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

UNEKE, C. J.; IJEOMA, P. A. The potential for nosocomial infection transmission by white coat used by physicians in Nigeria: Implications for improved patient-safety initiatives. **World health & population**, Toronto, v. 11, n. 3, p. 44-54, 2010.

URUSHIBARA, N. *et al.* Novel staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) type XIV (5A) and a truncated SCC*mec* element in SCC composite islands carrying *speG* in ST5 MRSA in Japan. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, Oxford, [online], oct. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1093/jac/dkz406>. Acesso em nov. 2019.

VELÁZQUEZ-MEZA, M. E. Surgimiento y diseminación de *Staphylococcus aureus* meticilinoresistente. **Salud pública de México**, Cuernavaca, vol. 47, n. 5, p. 381-387 set/out. 2005.

VERMELHO, A. B.; BASTOS, M. C. F.; SÁ, M. H. B. **Bacteriologia geral**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2008.

APÊNDICE A**FICHA DE COLETA****Número da amostra:** _____**Idade:** _____**Sexo:** Feminino () Masculino ()**Graduação:** Sim () Não ()**Curso:** _____**Profissional:** Sim () Não ()**Sector:** _____**E-mail:**
