ARTIGO ORIGINAL / *ORIGINAL ARTICLE*

Prevalência de colonização nasal por *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina em profissionais de saúde - caso do Hospital de Aveiro

Prevalence of nasal colonisation by methicillin-resistant Staphylococcus aureus on healthcare workers – Aveiro's Hospital case

/ H. S. F. Silva / E. Ramalheira
/ M. I. P. de Sousa / B. M. P. Duarte

Serviço de Patologia Clínica, laboratório de Microbiologia, Hospital Infante D. Pedro E.P.E Aveiro, Portugal
Departamento de Microbiologia, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, Portugal

Correspondência:

Helena Silva
Rua Sr. dos Milagres nº 15 5º Esq.
3800-261 Aveiro
Portugal

Telefone: 93 3317165
e-mail: helenasacchetti@gmail.com

/ Resumo

Há ainda poucos estudos sobre a colonização nasal por *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) nos profissionais de saúde dos hospitais portugueses. Este trabalho visa determinar a prevalência de colonização nasal por MRSA nos profissionais de saúde do Hospital Infante D. Pedro, em Aveiro, Portugal (HIP). Pretende-se também testar a susceptibilidade dos *S. aureus* isolados a outros antibióticos não ß-lactâmicos, nomeadamente à mupirocina, um dos antibióticos tópicos mais eficazes na descontaminação dos portadores nasais de MRSA. O rastreio foi realizado nos Serviços de Cirurgia, Medicina, Ortopedia, Medicina Intensiva e de Urgência, e nele participaram 92 profissionais (Médicos, Enfermeiros e Auxiliares de Acção Médica). As amostras colhidas por esfregaço nasal foram inoculadas em manitol salgado suplementado com um disco de 1 µg de oxacilina. A prevalência global de portadores nasais de *S. aureus* foi de 35,9% (n=92) e de MRSA 14,1%. Todas as estirpes isoladas apresentaram sensibilidade à mupirocina. Concluiu-se que no HIP a prevalência da colonização nasal por MRSA é significativa. A ausência de resistência à mupirocina nas estirpes isoladas sustenta o seu uso na descontaminação nasal. Mas, atendendo a que a recolonização após descontaminação é um fenómeno comum, outras medidas como reforçar a higiene das mãos devem também ser adoptadas.

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina; profissionais de saúde; mupirocina.

/ Abstract

O(MRSA) in Portuguese health care workers have been conducted. This study aims to determine the prevalence of MRSA nasal carriage in health care workers of Hospital Infante D. Pedro, in Aveiro, Portugal (HIP). The susceptibility of the isolated S. aureus will also be tested to other non-ß-lactam antibiotics, namely mupirocin, since it is one of the most effective topical antibiotics used for the eradication of MRSA nasal carriage. A screening procedure was made in a sample of 92 physicians, nurses and technicians working in the departments of Surgery, Medicine, Orthopaedics, Intensive Medicine and Emergency. The samples were collected by nasal swabs and inoculated into mannitol salt agar with a 1 µg oxacillin disk. The global prevalence of nasal carriage of S. aureus was 35.9%

(n=92) and of MRSA 14.1%. All isolated strains were susceptible to mupirocin. The health care workers in HIP had a high nasal colonization rate by MRSA. The absence of resistance to mupirocin supports its use in eradication of nasal carriers, but as it is known that recolonisation after decontamination is a common phenomenon, other measures like hand hygiene procedures should also be reinforced. .

Key-words: *Methicilin-resistant* ***Staphylococcus aureus****; healthcare workers; mupirocin*

/ Introdução

O *Staphylococcus aureus* é uma bactéria patogénica de relevo para o homem, quer na comunidade quer a nível hospitalar, sendo uma das causadoras mais frequentes de infecções nosocomiais[1].

O ser humano é um reservatório natural do *S. aureus*, sendo a colonização assintomática muito mais comum que a infecção[2]. Esta bactéria pode ser encontrada na pele, membranas mucosas, olhos, tracto gastrointestinal e no epitélio das narinas anteriores de indivíduos assintomáticos, onde pode existir como membro permanente ou transitório da flora normal, sem causar doença[3,4].

As narinas anteriores são o reservatório primário do *S. aureus* no homem[5], estimando-se que um terço da população geral é portadora a este nível, a dado momento[6].

Apesar de o *S. aureus* ser um habitante normal da pele e mucosas deve ser sempre considerado como um potencial patogénico para o homem. Efectivamente, estima-se que cerca de 80% das infecções invasivas nosocomiais por *S. aureus* têm origem endógena nos portadores nasais[6,7].

Há ainda muito poucos estudos publicados acerca da prevalência de colonização nasal por *Staphylococcus aureus* (nomeadamente MRSA) em profissionais de saúde[8]. Conhecer a frequência desta colonização pode ajudar à melhor compreensão da epidemiologia desta bactéria no ambiente hospitalar e ao desenvolvimento de estratégias de controlo de infecção hospitalar.

A transmissão das infecções por *S. aureus* ocorre geralmente por contacto directo com um portador colonizado[2]. Em ambiente hospitalar, o principal modo de transmissão de *S. aureus* entre doentes é pelas mãos contaminadas de profissionais de saúde[9].

A emergência de estirpes de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) levanta grandes preocupações, principalmente a nível hospitalar, pois representa um aumento da taxa de mortalidade em relação às infecções por *Staphylococcus aureus* sensíveis à meticilina (MSSA)[10]. A percentagem de resistência à meticilina varia de país para país e de hospital para hospital. No entanto, a prevalência de MRSA é actualmente superior a 50% na maioria das instituições de saúde, tendo vindo também a aumentar na comunidade[5,11]. Além disto, recentemente têm surgido casos de susceptibilidade reduzida aos glicopéptidos, que podem indicar emergência de resistência a este grupo de antibióticos. Este facto causa um problema sério de saúde pública, a nível de antibioterapia de infecções por Gram-positivos multirresistentes, nomeadamente os MRSA, pois a vancomicina é, como já foi referido, o tratamento de primeira linha nestas infecções[5,12,13]. No entanto, um estudo recente que envolveu mais de 2600 estirpes de MRSA teve como resultado 100% de susceptibilidade à vancomicina[1].

A resistência à meticilina no *S. aureus* é mediada por uma proteína de ligação à penicilina (PBP), que foi sujeita a alterações que lhe conferem baixa afinidade de ligação aos antibióticos ß-lactâmicos, a PBP2a. Esta proteína é codificada pelo gene *mecA*, que por sua vez é transportado no interior de um elemento genético móvel chamado *staphylococcal-cassete chromossome mec* (SCC*mec*), que se localiza no cromossoma do *S. aureus*[10,12].
O mecanismo responsável pela transferência do gene *mec*A é ainda desconhecido, mas factos

TABELA I –TOTAL DE *S. AUREUS* ISOLADOS NO LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA DO SERVIÇO DE PATOLOGIA CLÍNICA DO HOSPITAL INFANTE D. PEDRO NOS ANOS 2003 A 2007 E PERCENTAGENS DE MRSA ENTRE OS ISOLADOS DE CADA ANO.

Ano	Total *S. aureus* Isolados	%MRSA
2003	230	36
2004	224	50
2005	237	40
2006	339	62
2007	333	64

TABELA II – PERCENTAGEM DE SENSIBILIDADE DOS S. AUREUS ISOLADOS NO ANO DE 2007 NO LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA DO SERVIÇO DE PATOLOGIA CLÍNICA DO HOSPITAL INFANTE D. PEDRO A UMA SELECÇÃO DE ANTIBIÓTICOS COM ACTIVIDADE CONTRA STAPHYLOCOCCUS, EM FUNÇÃO DO NÚMERO TOTAL DE ISOLADOS QUE FORAM TESTADOS PARA CADA ANTIBIÓTICO.

2007	n.º total	%sensíveis
Ácido Fusídico	333	94
Ciprofloxacina	149	43
Clindamicina	149	87
Cotrimoxazol	333	82
Eritromicina	333	39
Gentamicina	333	78
Kanamicina	186	72
Levofloxacina	149	43
Lincomicina	186	76
Linezolide	333	100
Minociclina	186	85
Mupirocina	16	100
Nitrofurantoína	333	98
Norfloxacina	143	43
Ofloxacina	186	30
Oxacilina	333	36
Penicilina-G	149	6
Quinupristina/Dalfopristina	142	98
Teicoplanina	333	100
Tetraciclina	333	76
Tobramicina	333	76
Vancomicina	333	100

recentes apontam para a transferência horizontal entre *staphylococcus* bem como entre bactérias de Gram positivo de diferentes géneros[10].

Uma das principais dificuldades na detecção laboratorial de MRSA prende-se com a heterogeneidade da expressão da resistência à meticilina. As estirpes heterorresistentes apesar de terem o gene *mec*A, nem sempre o expressam, ou seja, dão muitas vezes resultados falsamente negativos nos métodos culturais, dependendo das condições em que é efectuado o teste. Não há ainda consenso sobre as melhores condições de cultura para contornar este problema, havendo no entanto indícios de que temperaturas acima de 35ºC podem diminuir a expressão de PBP2a e o tempo de incubação deve ser alargado a 48h para detecção de estirpes de crescimento mais lento[9]. O manitol salgado e suas variações são frequentemente usados no rastreio de MRSA com bons resultados. A alteração mais comum que se faz para este fim é adicionar-lhe oxacilina, incorporando-a no meio numa concentração de 2mg/L ou usando discos de 1µg[9].

Os MRSA têm um alto nível de resistência a todos os ß-lactâmicos, que deixam assim de ser uma opção terapêutica. A co-existência de resistência a vários outros grupos de antibióticos é um desenvolvimento recente alarmante[14,15].

No Hospital Infante D. Pedro (HIP) de Aveiro a prevalência de infecções por *S. aureus*, particularmente por MRSA, tem vindo a aumentar (Tabela I), causando uma situação preocupante. O perfil de resistências das estirpes de *S. aureus* isoladas, em 2007, no Hospital Infante D. Pedro levanta preocupações, não só pela elevada percentagem de MRSA, mas também por muitas dessas estirpes apresentarem resistência a outros grupos de antibióticos, como já se tinha referido ser comum em muitas estirpes de MRSA (Tabela II).

Verifica-se que 100% das estirpes isoladas em 2007 têm sensibilidade à mupirocina. Estas estirpes têm ainda sensibilidade de 100% aos glicopéptidos (vancomicina e teicoplanina), à linezolida e acima de 90% são sensíveis ao ácido fusídico, nitrofurantoína e streptogaminas (quinupristina/dalfopristina). A susceptibilidade ao cotrimoxazol é de 82%. No entanto apenas 36% são sensíveis à oxacilina, o que significa que os MRSA ascendem aos 64%, e apenas 6% das estirpes isoladas apresentam sensibilidade à penicilina. A susceptibilidade às fluoroquinolonas testadas (ciprofloxacina, levofloxacina, norfloxacina e ofloxacina) também não ultrapassa os 43% nas estirpes isoladas. A susceptibilidade às lincosamidas (clindamicina e lincomicina), quando testadas isoladamente, ainda é elevada (87% e 76%, respectivamente), mas a susceptibilidade aos macrólidos (eritromicina) é de apenas 39%. No que diz respeito aos aminoglicosídeos (gentamicina, kanamicina, tobramicina) a susceptibilidade tem valores entre os 70 e 80%. A susceptibilidade às tetraciclinas, minociclina e tetraciclina é, respectivamente, de 85% e 76% (Tabela II).

Para tentar compreender as causas que podem estar a contribuir para a grande prevalência de infecções por MRSA foi organizado um rastreio dos portadores nasais sãos de *Staphylococcus aureus* em profissionais de saúde do Hospital Infante D. Pedro e foi feita

a determinação de susceptibilidade dos *S. aureus* isolados à meticilina. Foi feita ainda a avaliação de susceptibilidade dos *S. aureus* isolados a uma selecção de antibióticos não ß-lactâmicos usados frequentemente em infecções por esta bactéria. Finalmente foi feita a avaliação de susceptibilidade dos *S. aureus* isolados à mupirocina para avaliação do seu uso na descontaminação dos portadores nasais de MRSA.

/ Material e Métodos

Desenho do estudo

O rastreio dos portadores nasais sãos de *S. aureus* foi realizado nos Serviços do HIP mais afectados a nível de infecções por *S. aureus* e nos que apresentam maiores percentagens de MRSA nos *S. aureus* isolados (Tabela III). Assim, foram alvo de rastreio os Serviços de Cirurgia, Ortopedia, Medicina, Serviço de Urgência e Serviço de Medicina Intensiva. O rastreio incluiu médicos, enfermeiros e auxiliares de acção médica, de forma voluntária, tendo o recrutamento sido feito directamente nos serviços, após aprovação pela comissão de controlo de infecção do hospital e com consentimento informado dos participantes. O rastreio foi feito de uma forma anónima, sendo apenas registado, para cada voluntário, a categoria profissional, serviço a que pertence e data da colheita.

Foram utilizados como critérios de exclusão: idade inferior a 18 anos, gravidez, hospitalização nos últimos 60 dias, historial de infecção por MRSA e imunocomprometidos. Estes critérios foram escolhidos de forma a aumentar a probabilidade dos casos de MRSA detectados reflectirem a exposição relacionada com o trabalho.

Procedimentos microbiológicos

As colheitas para rastreio de *S. aureus* foram feitas com zaragatoas de algodão e estéril, nas narinas anterior direita e esquerda de cada rastreado, esfregando o interior 4 vezes, aplicando pressão constante e rodando a zaragatoa sobre si, sem interrupção (63). Imediatamente após a colheita, cada zaragatoa foi introduzida num tubo de ensaio contendo o meio de transporte Stuart (BBL Culture swab BD, Sparks, Md.) e mantida à temperatura de aproximadamente 25º C até ser inoculada não mais que 24h após a colheita. As amostras colhidas no rastreio no Hospital Infante D. Pedro foram transportadas para o Departamento de Microbiologia da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto para aí serem analisadas.

No Laboratório de Microbiologia as amostras foram inoculadas em placas de manitol salgado (meio liofilizado, da Oxoid, reconstituição com água pura fervente (111g/l), esterilizado em autoclave a 121ºC durante 15 minutos, colocado em placas estéreis) directamente com a zaragatoa de colheita, em três quadrantes, tendo sido colocado na zona de maior crescimento esperado (o primeiro quadrante), um disco de 1µg de oxacilina (Bio-discs, Biomérieux). Como estirpes controlo foram utilizadas a estirpe ATCC 43866, que corresponde a um MRSA, e a estirpe ATCC 29213, um MSSA. Todos os procedimentos microbiológicos foram realizados numa câmara de fluxo laminar vertical (Aura Ve 190 EHRET) para protecção do operador e dos produtos manipulados.

As placas foram incubadas a 35º C e foram feitas leituras às 24, 48 e 72h, para pesquisa de colónias suspeitas de *S. aureus*. As culturas negativas às 72h foram rejeitadas. As colónias suspeitas de *S. aureus* (colónias amarelas fermentadoras de manitol) foram confirmadas recorrendo à coloração de Gram e observação microscópica, prova da coagulase em tubo, prova da catalase e pesquisa de DNAse. A prova da coagulase foi realizada fazendo uma suspensão bacteriana num tubo com plasma de coelho liofilizado, regenerado com 3 ml de água pura, e incubando a 37ºC. Os tubos negativos às 4h foram re-examinados às 24h pois algumas estirpes de *S. aureus* necessitam de mais de 4h para coagular o plasma[9]. A actividade da DNAse foi testada numa placa de DNAse agar (meio liofilizado, da Oxoid, reconstituído com água pura fervente (111g/l), esterilizado em Autoclave a 121ºC durante 15 minutos e colocado em placas estéreis) incubando 24h a 37ºC. A sensibilidade à oxacilina foi interpretada de acordo com as normas do CLSI, as estirpes foram classificadas como sensíveis (≥13mm), intermédias (11-12mm) ou resistentes (≤10mm).

Nas placas em que foram isolados *Staphylococcus aureus* presumivelmente resistentes à meticilina, foi feita a confirmação de resistência através da detecção do PBP2a, recorrendo ao teste de detecção em látex (Slidex MRSA Detection, da Biomérieux). Este teste é baseado na reacção de partículas de látex sensibilizadas com anticorpos monoclonais para a PBP 2a. Procede-se à extracção da PBP2a de colónias suspeitas seguida de detecção por aglutinação com partículas de látex sensibilizadas com anticorpos monoclonais para esta proteína, aglutinação essa que é visível a olho nu (9,16). O teste foi realizado de acordo com as instruções do fabricante. Todos os *S. aureus* isolados (MRSA e MSSA) foram repicados para gelose de sangue (CDS da bioMérieux) para avaliação do tipo de hemólise. As placas foram incubadas a 37ºC e as leituras foram feitas as 24 e 48h. As hemólises foram caracterizadas como α hemólise (parcial), ß hemólise (total) ou γ hemólise (sem hemólise).

Para todas as estirpes de *S. aureus* isoladas foi feita determinação de susceptibilidade a uma selecção de antibióticos. Os antibióticos utilizados foram a gentamicina (Bio-discs de 10µg da bioMérieux), a eritromicina (Bio-discs de 15 µg da bioMérieux), a clindamicina (Bio-discs de 2 µg da bioMérieux), a ciprofloxacina (Bio-discs de 5 µg da bioMérieux), o ácido fusídico (Bio-discs de 10 µg da bioMérieux) e a mupirocina (discos de 5µg da Oxoid). Foi ainda testado um antibiótico adicional em cada placa, a benzilpenicilina (Bio-discs de 10IU da bioMérieux) nas estirpes de MSSA, e a cefoxitina (Bio-discs de 30 µg da bioMérieux) nas estirpes de MRSA. Assim, todos os isolados foram inoculados em placas de agar de Mueller-Hinton (MH2 da bioMérieux) para determinação de susceptibilidade por difusão em disco. Os discos de antibióticos foram colocados à superfície das placas que foram depois incubadas a 35ºC durante 24h. Para medição do diâmetro dos halos de inibição foi utilizada uma craveira e os valores obtidos foram

TABELA III – PERCENTAGEM DE MRSA E NÚMERO TOTAL DE S. AUREUS ISOLADOS NO LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA DO SERVIÇO DE PATOLOGIA CLÍNICA DO HOSPITAL INFANTE D. PEDRO DE AMOSTRAS PROVENIENTES DOS SERVIÇOS DE MEDICINA, ORTOPEDIA, CIRURGIA, SERVIÇO DE MEDICINA INTENSIVA (SMI) E SERVIÇO DE URGÊNCIA (SU) E DO TOTAL DE AMOSTRAS PROCESSADAS EM 2007.

Serviço	%MRSA	Total *S. aureus* isolados
Total	64,3	333
Medicina	75,6	86
Ortopedia	75	28
Cirurgia	83,6	61
SMI	46,4	28
SU	49,2	65

TABELA IV – DISCRIMINAÇÃO POR SERVIÇO E POR CATEGORIA PROFISSIONAL DO NÚMERO DE AMOSTRAS COLHIDAS NO RASTREIO NASAL DOS PORTADORES SÃOS DE *S. AUREUS* NO HOSPITAL INFANTE D. PEDRO.

	Médicos	Enfermeiros	Auxiliares	Total
Cirurgia	5	12	5	22
Ortopedia	5	6	3	14
SU	5	8	4	17
Medicina	12	14	4	30
SMI	2	6	1	9
Total	29	46	17	92

TABELA V – NÚMERO DE INDIVÍDUOS RASTREADOS E PERCENTAGENS DE PORTADORES NASAIS DE *S. AUREUS*, MRSA E MSSA DISCRIMINADAS POR CATEGORIA PROFISSIONAL.

Todos Serviços	N.º Total	% portadores nasais MRSA	% portadores nasais MSSA	% portadores nasais *S. aureus*
Médicos	29	3,4	24,1	27,6
Enfermeiros	46	19,6	17,4	37,0
Auxiliares de Acção Médica	17	17,6	29,4	47,1
Total	92	14,1	21,7	35,9

interpretados de acordo com as normas do CLSI, exceptuando o ácido fusídico e mupirocina. Para o ácido fusídico foi usado o valor de ≥21 mm para definir a susceptibilidade (17). No que diz respeito à mupirocina, a estirpe foi considerada susceptível se apresentou um halo de inibição ≥ 14 mm (18).

As placas de manitol salgado relativas às amostras que não continham colónias suspeitas de *S. aureus* foram rejeitadas após 72h de incubação, exceptuando placas onde foram isolados *Staphylococcus* coagulase negativos (CoNS) que cresciam em zona que indicava resistência à oxacilina. Para estes microrganismos isolados foi também feita a confirmação de resistência à meticilina pelo teste de difusão em disco com cefoxitina, numa placa de Mueller-Hinton. A classificação em CoNS foi atribuída aos microrganismos que cumpriam os seguintes requisitos: observação microscópica de cocos Gram positivos aglomerados, leituras negativas às 4 e 24h na prova da coagulase e prova da catalase positiva (19).

/ Resultados

Participaram no rastreio 46 enfermeiros, 29 médicos e 17 auxiliares de acção médica, tendo sido obtido um total de 92 amostras (Tabela IV). Nas 92 amostras analisadas foram identificados S. aureus em 33 amostras, das quais 20 tinham MSSA e 13 tinham MRSA. Estes resultados significam que 35,9% da população rastreada é portadora nasal de *S. aureus* e que 14,1% da população rastreada é portadora nasal de MRSA (Tabela V).

Os enfermeiros e auxiliares de acção médica foram as classes profissionais onde se registaram maiores taxas de colonização nasal por MRSA, com percentagens de colonização de 19,6% e 17,6%, respectivamente. Na classe Médica registou-se uma percentagem de colonização nasal por MRSA de apenas 3,4% (Tabela V).

No que diz respeito ao tipo de hemólise 72,7% dos *S. aureus* isolados fazem ß-hemólise. Em relação aos MRSA 100% são ß-hemolíticos. Apenas 6,1% das estirpes de *S. aureus* isoladas apresentam ausência de hemólise (γ -hemólise) o que significa que 93,9% dos S. aureus isolados são hemolíticos (α ou ß-hemólise) (Tabela VI).

TABELA VI – CLASSIFICAÇÃO DO TOTAL DE S. AUREUS, MRSA E MSSA ISOLADOS QUANTO AO TIPO DE HEMÓLISE.

Hemólise	*S. aureus* (%) n=33	MRSA (%) n=13	MSSA (%) N=20
?	21,2	0,0	35,0
?	72,7	100,0	55,0
?	6,1	0,0	10,0

TABELA VII – RESULTADOS DA SENSIBILIDADE DO TOTAL DE S. AUREUS ISOLADOS, MRSA E MSSA AOS ANTIBIÓTICOS ESCOLHIDOS.

Antibiótico	% Sensiblidade *S. aureus* (n=33)	% Sensiblidade MRSA (n=13)	% Sensiblidade MSSA (n=20)
Ácido Fusídico	97 (n=32)	100 (n=13)	95 (n=19)
Ciprofloxacina	60,6 (n=20)	8 (n=1)	95 (n=19)
Clindamicina	97 (n=32)	92 (n=12)	100 (=20)
Eritromicina	64 (n=21)	15 (n=2)	95 (n=19)
Gentamicina	100 (n=33)	100 (n=13)	100 (n=20)
Mupirocina	100 (n=33)	100 (n=13)	100 (n=20)
Oxacillin MIC	60,6 (n=20)	0 (n=0)	100 (n=20)
Penicilina-G	-	-	5 (n=1)
Cefoxitina	-	0 (n=0)	-

A susceptibilidade dos *S. aureus* isolados à oxacilina é de 60,6% (Tabela VII) o que corresponde a uma percentagem de 39,4% de MRSA. Este valor não deve ser comparado com o valor de 64% obtido dos *S. aureus* isolados em 2007 (Tabela I), pois este último refere-se aos isolados clínicos de infecções dos doentes do hospital e o estudo aqui desenvolvido é referente à colonização nasal em portadores sãos.

Todos os *S. aureus* isolados apresentaram susceptibilidade à mupirocina e gentamicina. Apenas um isolado mostrou resistência ao ácido fusídico. A susceptibilidade à eritromicina é de 64% o que significa que 36% dos isolados são resistentes à eritromicina. No entanto, apenas um isolado apresentou resistência à clindamicina. A susceptibilidade à ciprofloxacina é de 60,6%, ou seja 39,4% de resistência. A resistência à eritromicina e ciprofloxacina é especialmente elevada nas estirpes de MRSA que apresentam respectivamente 85% e 92% de resistência a estes antibióticos (nas estirpes de MSSA apenas 5% dos isolados demonstraram resistência a estes antibióticos). Nenhuma estirpe de MRSA é sensível à cefoxitina e apenas uma estirpe de *Staphylococcus* aureus sensíveis à meticilina (MSSA) é sensível à penicilina G (Tabela VII).

Foram isolados cinco *Staphylococcus* coagulase negativos que apresentavam crescimento na zona de resistência à oxacilina. Todos confirmaram a resistência no teste de difusão em disco com cefoxitina.

/ Discussão

Foram isolados *S. aureus* em 35,9% das amostras recolhidas o que, ao contrário do que se verificou para os MRSA, não é um valor alarmante, pois estima-se que um terço da população em geral é portador nasal de *S. aureus*, a dado momento (6).

Os resultados obtidos a nível de colonização nasal por MRSA nos profissionais de saúde do Hospital Infante D. Pedro (14,1%) estão de acordo com um estudo semelhante realizado num hospital dos Estados Unidos, em que se registou 15% de colonização nasal por MRSA (8). Estes resultados indicam que a colonização nasal por MRSA no pessoal do hospital é muito superior à colonização nasal por MRSA na comunidade, que geralmente não atinge 1% (6).

Neste estudo, verificou-se que os enfermeiros e auxiliares de acção médica apresentam percentagens de colonização nasal MRSA significativamente superiores às dos médicos. Este facto sugere que estas classes profissionais têm possivelmente maior contacto com os doentes e/ou cuidados insuficientes de higiene, nomeadamente das mãos.

O facto de 93,9% de todos os *S. aureus* isolados terem mostrado ser hemolíticos (α ou ß) e de todos os MRSA isolados terem feito ß-hemólise na gelose sangue é mais um indicador da virulência desta bactéria.

Nos resultados pudemos constatar que apenas se detectou uma estirpe resistente à clindamicina entre os *S. aureus* isolados mas 36% das estirpes apresentaram resistência à eritromicina, o que pode significar que estamos perante fenótipos MLSb indutíveis, que só seriam revelados com um teste de indução (20,21). Apesar do fenótipo MLS_B constitutivo resultar em resistência de alto nível aos macrólidos, lincosamidas e streptogaminas B, estas estirpes continuam a apresentar 100% de susceptibilidade à quinupristina/ dalfopristina (provavelmente devido ao componente streptogamina A) (21).

Pode-se verificar que as estirpes de MRSA isoladas apresentam altos valores de

resistência à ciprofloxacina e à eritromicina, ao contrário do que se observou nas estirpes de MSSA. De facto, a resistência às fluoroquinolonas e macrólidos é comum nos *S. aureus* e tem normalmente valores superiores nos MRSA em relação aos encontrados nos MSSA, sendo que a prevalência de estirpes resistentes às quinolonas nos MRSA chega aos 80% em alguns casos[21,22].

Verificou-se que todos os *S. aureus* isolados se mostraram susceptíveis à gentamicina e apenas uma estirpe mostrou resistência ao ácido fusídico. A resistência aos aminoglicosídeos nos *S. aureus* tem vindo a aumentar. No entanto, os valores de resistência não são ainda tão alarmantes como noutros grupos de antibióticos como os macrólidos ou as fluoroquinolonas. Os valores de resistência aos aminoglicosídeos nos *S. aureus* variam entre os 20% e 30%, sendo mais elevados nos MRSA, onde podem atingir os 75%[23]. O ácido fusídico é um antibiótico de largo espectro de acção com grande actividade para *Staphylococcus* muitas vezes usado topicamente para tratar infecções dos olhos ou da pele [24,25]. A maioria das estirpes de *S. aureus* permanece ainda sensível ao ácido fusídico, com valores de resistência nos MRSA de cerca de 2%[17].

Entre as 20 estirpes de MSSA isoladas apenas uma se mostrou sensível à penicilina G, o que está de acordo com o que se passa com a resistência à penicilina nos *S. aureus* em geral, sendo que a penicilina já não é uma opção para o tratamento de infecções por esta bactéria desde 1950[3].

Todas as estirpes de MRSA detectadas se mostraram resistentes à cefoxitina. Actualmente há já muitos indícios de que o teste com cefoxitina é mais adequado para a detecção da resistência á meticilina do que o teste com oxacilina pois parece ser menos influenciado pelo fenómeno de heterogeneidade da expressão de resistência[9].

Em relação aos *Staphylococcus* coagulase negativos resistentes à meticilina, foram isolados apenas 5 num total de 92 amostras (5,4%). No entanto, estas estirpes levantam preocupações pois são habitantes normais da pele e mucosas, nomeadamente da mucosa nasal, onde muitas vezes co-existem com os *S. aureus* nos portadores sãos e há estudos que levantam a hipótese do gene *mec*A poder ser sujeito a transferência horizontal entre *Staphylococcus*[10].

Todas as estirpes de *S. aureus* isoladas apresentaram susceptibilidade à mupirocina, o que está de acordo com estudos recentes que demonstram que a prevalência de resistência à mupirocina é actualmente ainda muito baixa[7]. A mupirocina é um antibiótico de uso tópico comercializado numa pomada nasal a 2% (Bactroban Nasal; GlaxoSmithKline), que é utilizado por aplicação directa na mucosa nasal, ao nível das narinas anteriores, para erradicação dos portadores nasais de *S. aureus* e para tratamento de infecções na pele[26,27]. Apesar da prevalência de resistência à mupirocina ser actualmente ainda muito baixa[7], há uma preocupação recente em entender melhor esta resistência e a sua implicação na descontaminação dos portadores nasais.



Há dois tipos de resistência à mupirocina, a resistência de baixo nível (geralmente associada com uma mutação no gene que codifica a enzima alvo e que corresponde a MIC de 8 a 256 µg/ml), e a resistência de alto nível (com MIC > 512µg/ml) e que é mediada por um plasmídeo contendo um gene que codifica uma isoleucil--tRNA sintetase diferente, sem afinidade para a mupirocina. A resistência de alto nível, por ser mediada por um plasmídeo, levanta mais preocupações acerca da transmissão[26,27].

As estirpes susceptíveis são as que apresentam MIC ≤4 µg/ml ou que formam halos de inibição ≥14 mm com discos de 5µg de mupirocina. As estirpes que formam halos <14 mm são consideradas resistentes, não sendo estes discos adequados para determinar se a resistência é de alto ou de baixo nível. Actualmente não há ainda critérios definidos para, recorrendo ao método de difusão em disco, discriminar os três tipos de susceptibilidade à mupirocina. Estudos recentes sugerem o uso de discos de 5 e 200 µg para este fim[28].

Os dados disponíveis actualmente sugerem que as estirpes que apresentam resistência de baixo nível à mupirocina são ainda susceptíveis às concentrações usadas na descontaminação nasal, pois a pomada nasal contém uma concentração muito maior (20000µg/ml) do que o MIC destas estirpes[28].

No entanto, o recurso à descontaminação nasal com mupirocina, em estirpes sensíveis, dos profissionais de saúde portadores de

MRSA é um tema muito controverso. Por um lado a recolonização é um fenómeno extremamente comum, o que leva muitas vezes ao insucesso da descontaminação nasal com mupirocina na prevenção de infecções nosocomiais[7]. Por outro lado, há evidências de que a descontaminação nasal é benéfica na redução de infecções nosocomiais por MRSA, quando o nariz é o único local de colonização (o que é frequente nos profissionais de saúde), pois é diminuída a transmissão através das mãos (29,30). O esquema para descontaminação consiste em aplicar mupirocina na mucosa nasal duas vezes por dia, durante 5 dias consecutivos. Se for uma estirpe susceptível à mupirocina, obtêm-se taxas de eliminação de 91% logo após o tratamento[7].

A melhor forma de prevenir as infecções nosocomiais por MRSA e a solução definitiva para este patogénico seria o desenvolvimento de uma vacina eficaz contra o *S. aureus*. A descontaminação dos portadores nasais com mupirocina, seguida de uma vacina que prevenisse a recolonização seria uma arma importantíssima no controlo de infecção por esta bactéria[31].

Neste momento, medidas simples e inquestionavelmente eficazes que se podem tomar a nível hospitalar são as que visam uma melhoria das práticas de higiene, como a desinfecção frequente das mãos com um anti-séptico com álcool, antes e depois do manuseamento dos doentes, nomeadamente a nível dos enfermeiros e auxiliares de acção médica, e a descontaminação frequente do ambiente hospitalar, para prevenir a transmissão não só de *S. aureus* mas também de outras bactérias patogénicas[30].

Os valores de colonização por MRSA obtidos neste estudo indicam que muitos profissionais de saúde do Hospital Infante D. Pedro podem estar em risco de transmitirem esta bactéria aos doentes com quem estabelecem contacto. Também deve ser considerado o risco de eles mesmos adquirirem uma infecção por MRSA pois como já foi referido, a maioria de infecções invasivas por *S. aureus* têm origem endógena, resultando da colonização nasal[6].

/ Bibliografia

1. Saginur R, Suh KN. "*Staphylococcus aureus* bacteraemia of unknown primary source: Where do we stand?". *Int J Antimicob Agents* 2008; 32S: S21-5.

2. Chambers HF. "The Changing Epidemiology of *Staphylococcus aureus". Emerging Infect Dis* 2001; 7(2):178-82.

3. Casey AL, Lambert PA, Elliott TSJ. "Staphylococci". *Int J Antimicob Agents* 2007; 29(Suppl.3):S23-32.

4. Boynukara B, Gulhan T, Guturk K, Alisarli M, Ogun E. "Evolution of slime production by coagulase negative staphylococci and enterotoxigenic characteristics of *Staphylococcus aureus* strains isolated from various human clinical specimens". *J Med Microbiol* 2007; 56:1296-300

5. Ferrara AM. "Treatment of hospital-acquired pneumonia caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus". Int J Antimicob Agents* 2007; 30:19-24.

5. Mainous III AG, Hueston WJ, Everett CJ, Diaz VA. "Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* and Methicillin-Resistant *S. aureus* in the United States, 2001-2002". *Ann Fam Med* 2006; 4(2):132-7.

7. Wertheim HFL, Verveer J, Boelens HAM, van Belkum A, Verbrugh HÁ, Vos MC. "Effect of Mupirocin Treatment on Nasal, Pharyngeal and Perineal Carriage of *Staphylococcus* in Healthy Adults". *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49(4):1465-7.

8. Bisaga A, Paquette K, Sabatini L, Lovell EO. "A Prevalence Study of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Colonization in Emergency Department Health Care Workers". *Ann of Emerg Med* 2008; 52(5):525-8.

9. Brown DFJ, Edwards DI, Hawkey PM, Morrison D, Ridgway GL, Towner KJ, et al. "Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)". *J Antimicrob Chemother* 2005; 56:1000-18.

10. Layer F, Ghebremedhin B, König W, König B. "Heterogeneity of Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* Strains at a German University Hospital Implicates the Circulating-Strain Pool as a Potential Source of Emerging Methicillin-Resistant *S. aureus* Clones". *J Clin Microbiol* 2006; 44(6):2179-85.

11. Hsu DI, Hidayat LK, Quist R, Hindler J, Karlsson A, Yusof A, et al. "Comparison of method-specific vancomycin minimum inibitory concentration values and their predictability for treatment outcome of meticilin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections". *Int J Antimicob Agents* 2008; 32:378-85.

12. Revazishvili T, Bakanidze L, Gomelauri T, Zhgenti E, Chanturia, Kekelidze M, et al. "Genetic Background and Antibiotic Resistance of *Staphylococcus aureus* Strains Isolated in the Republic of Georgia". *J Clin Microbiol 2006*; 44(10):3477-83.

13. Gould IM. "Clinical relevance of increasing glycopeptide MICs against *Staphylococcus aureus*". *Int J Antimicob Agents* 2008; 31:1-9

14. Polyzou A, Slavakis A, Pournaras S, Maniatis NA, Sofianou D, Tsakris A. "Predominance of a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone susceptible to erythromycin and several other non-ß-lactam antibiotcs in a Greek hospital". *J Antimicrob Chemother* 2001; 48: 231-4.

15. Georgopapadakou NH. "Penicillin-Binding Proteins and Bacterial Resistance to ß-Lactams". *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37(10):2045-53.

16. Van Griethuysen A, Pouw M, van Leeuwen N, Heck M, Willemse P, Buiting A, et al. "Rapid Slide Latex Agglutination Test for Detection of Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus". J Clin Microbiol* 1999; 37(9):2789-92.

17. Samra Z, Ofir O, Shmuely H. "In vitro susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* to daptomycin and other antibiotics". *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2007; 26:363-5.

18. Semret M, Miller MA. "Topical Mupirocin for Erradication MRSA Colonization With Mupirocin-Resistant Strains". *Infect Control Hosp Epidemiol* 2001; 22(9):578-80.

19. Weist K, Cimbal AK, Lecke C, Kampf G, Rüden H, Vonberg RF. "Evaluation of six agglutination tests for *Staphylococcus aureus* identification depending upon local prevalence of methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA)". *J Med Microbiol* 2006; 55:283-90.

20. Krishnan MY, Manning EJB, Collins MT. "Constitutive and inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* and their association with methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA): experience from a tertiary hospital in Nepal". *Int J Antimicob Agents* 2009; 33:183-92.

21. Cetin ES, Gunes H, Kaya S, Aridogan BC, "Demirci M. Macrolide-lincosamide-streptogamin B resistance phenotypes in clinical staphylococcal isolates". *Int J Antimicob Agents* 2008; 31:364-8.

22. Hooper DC. "Fluoroquinolone resistance among Gram-positive cocci". *Lancet Infect Dis* 2002; 2:530-8.

23. Schmitz FJ, Fluit AC, Gondolf M, Beyrau R, Lindenlauf E, Verhoef J, et al. "The prevalence of aminoglycoside resistance and corresponding resistance genes in clinical isolates of staphylococci from 19 European hospitals". *J Antimicrob Chemother* 1999; 43:253-59.

24. Sule O, Brown NM, Willocks LJ, Day J, Shankar S, Palmer CR, et al. "Fusidic acid-resistant *Staphylococcus aureus* (FRSA) carriage in patients with atopic eczema and pattern of prior topical fusidic acid use". *Int J Antimicob Agents* 2007; 30:78-82.

25. Collignon P, Turnidge J. "Fusidic acid in vitro activity". *Int J Antimicob Agents* 1999;12:S45-58.

26. Chaves F, Martínez JG, de Miguel S, Otero JR. "Molecular Characterization of Resistance to Mupirocin in Methicilin-Susceptible and –Resistant Isolates of *Staphylococcus aureus* form Nasal Samples". *J Clin Microbiol* 2004; 42(2):822-4.

27. Gadepalli R, Dhawan B, Mohanty S, Kapil A, Das BK, Chaudhry R, et al. "Mupirocin resistance in *Staphylococcus aureus* in na Indian hospital". *Diagon Microbiol Infect Dis* 2007; 58:125-7.

28. De Oliveira NEM, Cardozo APCM, Marques EA, dos Santos KRN, de Marval MG. "Intrepretive criteria to differentiate low- and high-level mupirocin resistance in *Staphylococcus aureus*". *J Med Microbiol* 2007; 56:937-9.

29. Gemmell CG, Edwards DI, Fraise AP, Gould FK, Ridgway GL, Warren RE. "Guidelines for the prophylaxis and treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections in the UK". *J Antimicrob Chemother* 2006; 57:589-608.

30. "Harbarth S. Controlo f endemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-recent advances and future challenges". *Clin Microb Infect* 2006; 12:1154-62.

31. Schaffer AC, Lee JC. " Vaccination and passive immunisation against *Staphylococcus aureus*". *Int J Antimicob Agents 2008*; 32S:S71-8.