



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIOLOGIA DE AGENTES INFECCIOSOS E PARASITÁRIOS

**EPIDEMIOLOGIA E PERFIL DE SENSIBILIDADE DE *Staphylococcus aureus*
PROCEDENTES DE HOSPITAIS PÚBLICOS DE MACAPÁ-AMAPÁ**

MARGARIDA MARIA MACHADO DE SOUZA

Macapá-AP
2007

MARGARIDA MARIA MACHADO DE SOUZA

**EPIDEMIOLOGIA E PERFIL DE SENSIBILIDADE DE *Staphylococcus aureus*
PROCEDENTES DE HOSPITAIS PÚBLICOS DE MACAPÁ-AMAPÁ.**

Dissertação de mestrado apresentado ao Programa de Pós-graduação em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários do Centro de Ciências Biológicas da Universidade federal do Pará como requisito parcial para obtenção de do grau de Mestre em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários.

Orientadora: Prof^ª. Dr.^a. Karla T. Silva Ribeiro

Macapá-AP
2007

MARGARIDA MARIA MACHADO DE SOUZA

**EPIDEMIOLOGIA E PERFIL DE SENSIBILIDADE DE *Staphylococcus aureus*
PROCEDENTES DE HOSPITAIS PÚBLICOS DE MACAPÁ-AMAPÁ.**

Dissertação de mestrado apresentado ao Programa de Pós-graduação em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários.

Orientador (a):

Prof^a. Dr^a Karla Tereza Silva Ribeiro
Instituto de Ciências Biológicas, UFPA

Banca Examinadora:

Prof^a Dr^a. Antonia B. Rodrigues Vieira
Instituto de Ciências Biológicas, UFPA

Prof. Dr. Luiz Fernando Almeida Machado
Instituto de Ciências Biológicas, UFPA

Prof^a. Dr^a. Valéria Rodrigues de Oliveira
Instituto de Ciências Biológicas, UFPA

Prof. Dr. Antonio Carlos Rosário Vallinoto
(suplente), Instituto de Ciências Biológicas, UFPA

Belém, 13 de dezembro de 2007

Souza, Margarida Maria Machado de

Epidemiologia e perfil de sensibilidade de *Staphylococcus aureus* procedentes de hospitais públicos de Macapá-Amapá. Belém (PA): ICB/UFPA, 2007, p 72, Dissertação de Mestrado em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários.

1. *Staphylococcus aureus* - 2. Epidemiologia - 3. Perfil de Sensibilidade

"Um pouco de ciência nos afasta de Deus. Muito, nos aproxima"

Autor: *Louis Pasteur*

Aos meus amados pais por nunca terem desistido de mim.

Aos meus filhos (Luiz Otávio e Samuel Octávio), razão da minha vida.

Aos meus irmãos e sobrinhos pelo amor e dedicação.

À Prof^a Karla Ribeiro pelo incentivo, carinho, paciência e amizade.

Ao meu amado esposo Márlisson pela paciência e carinho constante.

As minhas grandes amigas Marlice e Cátia pelo apoio.

AGRADECIMENTOS

Meus profundos e sinceros agradecimentos:

Ao Senhor pela inspiração, ajuda e por me conceder tudo quanto necessito (Sl 23:1).

A minha família: meu pai, minha mãe, meu adorado filho, minha irmã e meu irmão.

Ao Márlisson, por estar junto a mim em todos os momentos.

A amiga Marlice por ter me convencido a me inscrever no teste de seleção do Mestrado por duas vezes.

A amiga Cátia Cilene pelo apoio, incentivado e amizade.

A Dra. Elza Silva por todo o apoio concedido.

A Profa. Dra. Karla T. S. Ribeiro com seu incansável desejo de transmitir algo mais valioso do que a prata e o ouro, o conhecimento.

A amiga Suzy Carla pela amizade e incentivo.

A Lidiane Lobato pelas orações feitas para Deus por mim.

A Danielle Fadul pela grande amizade e apoio que estabelecemos desde o início de nossa jornada neste mestrado.

A Margarete Gomes por ter me ajudado na análise estatística e acertos finais de meu trabalho de mestrado.

Aos meus amigos Rômulo e Marcio por me ajudar na formatação do meu trabalho.

Aos amigos do Serviço de Bacteriologia, em especial: Nerilda, Rubens, Márcia Gouveia e Olinda, por sempre me apoiarem.

A Telma Amorim e Gorete Cardoso e sua maravilhosa equipe do Serviço de Esterilização, Preparo de Reagentes e Meio de Cultura.

A minha amiga Ana Paula Correa pelo grande incentivo e apoio.

A todos os colegas deste Curso de Mestrado.

Aos meus amigos da UNIMED-Macapá pela compreensão durante minha longa jornada do Mestrado.

Ao Governo do Estado do Amapá e Universidade Federal do Pará pela oportunidade de qualificação profissional.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....		9
LISTA DE TABELAS.....		11
RESUMO.....		12
ABSTRACT.....		13
1 INTRODUÇÃO.....		14
1.1	CARACTERÍSTICAS GERAIS E CLASSIFICAÇÃO TAXONÔMICA DO GÊNERO ESTAFILOCOCOS.....	15
1.2	ESTAFILOCOCO COAGULASE POSITIVO DE INTERESSE CLÍNICO: <i>Staphylococcus aureus</i>.....	17
1.2.1	Caracterização genômica do <i>S. aureus</i>.....	18
1.2.2	Fatores de Virulência do <i>S. aureus</i>.....	19
1.2.3	Patogenia das Infecções por <i>S. aureus</i>.....	22
1.2.4	<i>Staphylococcus aureus</i> e a resistência aos antimicrobianos.....	24
1.2.5	Aspectos Epidemiológicos das Infecções Estafilocóccicas.....	27
1.2.6	<i>Staphylococcus aureus</i> e a Infecção Hospitalar.....	28
1.3	DIAGNÓSTICO LABORATORIAL.....	31
1.3.1	Métodos Convencionais de Identificação.....	31
1.3.2	Sistemas de Identificação Comerciais Automatizados.....	31
1.3.3	Sistemas de Identificação e Tipificação Molecular.....	32
1.4	OBJETIVOS.....	33
1.4.1	Objetivo Geral.....	33
1.4.2	Objetivos Específicos.....	33
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	34

2.1	OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS.....	34
2.2	ISOLAMENTO PRIMÁRIO DAS AMOSTRAS.....	35
2.3	PROVAS DE IDENTIFICAÇÃO DOS <i>Staphylococcus aureus</i>	35
2.3.1	Teste Automatizado de Identificação ID32 STAPH	35
2.3.2	Testes Bioquímicos Manuais	36
2.4	DETECÇÃO DA RESISTÊNCIA EM <i>Staphylococcus aureus</i>	37
2.4.1	Teste de Sensibilidade Automatizado ATB STAPH-5	38
2.4.2	Teste de Sensibilidade por disco difusão de Kirby-Bauer	39
2.4.3	Teste do Disco de Cefoxitina	39
2.5	CONTROLE DE QUALIDADE.....	40
2.6	ORDENAÇÃO E TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS DADOS.....	41
3	RESULTADOS	42
4	DISCUSSÃO	53
5	CONCLUSÕES	58
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
	ANEXO	

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1: Colônias amarelas de <i>S. aureus</i> em placas de Agar Sangue.....	16
Figura 2: Aspecto do Genoma do <i>S. aureus</i>	19
Figura 3: Fatores de virulência do <i>Staphylococcus aureus</i>	20
Figura 4: Síntese da Beta-lactamase na presença de um antibiótico beta-lactâmico.....	26
Figura 5: Estrutura e classificação dos tipos de SCCmec.....	27
Figura 6: Galeria de Identificação para <i>Staphylococcus</i> -ID 32 STAPH.....	36
Figura 7: Isolamento do <i>S. aureus</i> de acordo com a faixa etária nos hospitais públicos do município de Macapá (AP), no período de junho de 2002 a janeiro de 2006.....	42
Figura 8: Distribuição das cepas de <i>S. aureus</i> isoladas de acordo com o hospital de origem no município de Macapá (AP) no período de junho de 2002 a janeiro de 2006.....	44
Figura 9: Perfil da distribuição das linhagens de <i>S. aureus</i> nos sítios de infecções oriundas dos hospitais do município de Macapá (AP) no período de junho de 2002 a janeiro de 2006	47

Página

Figura 10: Perfil de sensibilidade dos <i>S. aureus</i> aos antimicrobianos oxacilina, penicilina, vancomicina e teicoplanina, isolados dos hospitais públicos do município de Macapá (AP), no período de junho de 2002 a janeiro de 2006.....	50
Figura 11: Frequência de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a oxacilina isolados de hospitais públicos do município de Macapá (AP), no período de junho de 2002 a janeiro de 2006.....	52

.

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1: Número de amostra de <i>S. aureus</i> de acordo com o hospital de origem do município de Macapá (AP), no período de junho de 2002 a janeiro de 2006.....	34
Tabela 2: Distribuição das cepas de <i>S. aureus</i> de acordo com o sexo no município de Macapá (AP), no período de junho de 2002 a janeiro de 2006.....	43
Tabela 3: Perfil de distribuição de <i>S. aureus</i> por unidade de internação de acordo com hospital de origem no município de Macapá (AP) no período de junho de 2002 a janeiro de 2006.....	45
Tabela 4: Ocorrência de cepas de <i>S. aureus</i> resistente a oxacilina nos hospitais públicos do município de Macapá (AP) no período de junho de 2002 a janeiro de 2006.....	46
Tabela 5: Perfil de sensibilidade e resistência dos <i>S. aureus</i> a diferentes antimicrobianos isolados de hospitais públicos do município de Macapá (AP) no período de junho de 2002 a janeiro de 2006.....	49
Tabela 6: Atividade <i>in vitro</i> das cepas de <i>S. aureus</i> resistentes a oxacilina para outros antimicrobianos isolados das unidades hospitalares do município de Macapá (AP) no período de junho de 2002 a janeiro de 2006.....	50

RESUMO

No gênero *Staphylococcus*, o *S. aureus* com resistência à oxacilina é sem dúvida alguma o patógeno de maior importância, quando associado às infecções hospitalares, sendo responsável por elevadas taxas morbidade e mortalidade. Este estudo descreve a epidemiologia e perfil de sensibilidade de linhagens de *S. aureus* procedentes de hospitais públicos de Macapá-Amapá. Todos os isolados usados neste trabalho foram novamente reisolados através de métodos convencionais da microbiologia e sistemas automatizados. As amostras com resistência à oxacilina foram todas submetidas ao teste *screening* com a cefoxitina 30 mcg. O tratamento estatístico dos dados revelou que houve predominância de *S. aureus* no sexo masculino (62,8%), sendo a média de idade dos pacientes de 20 anos, entretanto, a maior ocorrência foi na faixa etária de 0 a 10 anos, o hospital de maior prevalência foi o Hospital da Criança e do Adolescente (54,7%). A prevalência das amostras isoladas nos hospitais foi de 3,8%. Do total de amostras isolada (n=105), 25 (23,8%) foram resistentes à oxacilina. Essas amostras apresentaram resistência cruzada à Gentamicina (80%); Sulfazotrim (72%), Tetraciclina (64%), Eritromicina (60%), Clindamicina(44%), Norfloxacino(44%) e Quinupristina/Dalfopristina (32%). A Vancomicina apresentou 100% de sensibilidade. Apesar dos diversos estudos realizados no Brasil e no mundo mostrarem altos índices de resistência do *S. aureus* à oxacilina, nesta pesquisa os níveis de resistência da bactéria nos hospitais públicos de Macapá ainda podem ser considerados baixos. Contudo, os resultados revelam a necessidade de vigilância sistemática, visando o controle e prevenção da disseminação de linhagens resistentes deste patógeno associado com infecção hospitalar.

ABSTRACT

Amongst the *Staphylococcus* genus, the oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* is without doubts some the pathogen of bigger importance, when associated to the nosocomial infections, being responsible for high mortality and morbidity rates. This study describes the epidemiology and the sensitivity profile of the *Staphylococcus aureus* originated from public hospitals of Macapá-Amapá. All strains used in this study had been again isolated through manual and automatized methodology. The oxacillin-resistant samples had all been submitted to the *screening* test with cefoxitin 30 mcg. The statistical treatment of the data revealed the predominance of the masculine sex (62,8%), being of 20 years the average age of the patients. The biggest occurrence was in the age group of 0 to 10 years, the hospital of bigger prevalence was the Hospital of the Child and the Adolescent (54,7%). The prevalence of the isolated samples in the hospitals was 3,8%. 25(23,8) of the total isolated samples (n=105) were resistant to oxacilin. These samples presented crossed resistance to gentamycin (80%), sulfazotrim (72%), tetracyclin (64%), erythromycin (60%), clindamycin (44%), norfloxacin (44%) and quinupristin/dalfopristin (32%). The vancomycin presented 100% of sensitivity. Despite many studies done in Brazil and in the world show high rates of oxacillin-resistant *S. aureus*, in this research the resistance levels of the bacterium in the public hospitals of Macapá still can be considered low. However, the results reveal the need for systematic surveillance for the control and prevention of the spread of resistant strains of the pathogen associated with nosocomial infection.

1. INTRODUÇÃO

A emergência global da resistência bacteriana aos antimicrobianos tem se constituído como um progressivo e grave problema de saúde pública (Chalebois *et al.*, 2004). Este aumento tem sido observado entre alguns grupos de bactérias Gram positivas, destacando-se entre estes, o gênero *Staphylococcus* spp (Mendes *et al.*, 2002).

Neste gênero, o *Staphylococcus aureus* com resistente a meticilina (MRSA) ou a oxacilina (ORSA) é sem dúvida alguma o patógeno de maior importância quando associado às infecções hospitalares (Sakoulas *et al.*, 2001), sendo o mesmo responsável por elevada morbidade e mortalidade nos hospitais em várias partes do mundo (Farias *et al.*, 1997).

O *Staphylococcus aureus* é o agente etiológico de diversas patologias, incluindo infecções de pele, bacteremia, endocardite, infecções do sistema nervoso central, infecções do trato geniturinário (Gil, 2000), além de ser também o causador de diversos tipos intoxicações (Corbia *et al.*, 2000).

Estudos multicêntricos, como os realizados pelo *National Nosocomial Infection Surveillance* (NNIS), conduzido pelo Centro de Controle Prevenção de Doenças (CDC), nos Estados Unidos, apontam o *S. aureus* como o principal patógeno humano em frequência nas infecções de sítio cirúrgico, e o segundo em infecções de corrente sanguínea e pneumonias (Ricardo, 2004).

Nas infecções da corrente sanguínea o *S. aureus* acomete pacientes em todas as faixas etárias, porém, a maior frequência ocorre nos extremos de idade, com pior prognóstico em pacientes com idade acima de cinquenta anos. Entre as infecções hospitalares, as sepses causadas pelo *S. aureus* são responsáveis por elevada morbidade e mortalidade (Moreira *et al.*, 1998).

A resistência que este micro-organismo vem desenvolvendo a antibióticos como a oxacilina tem sido motivo de grande preocupação na área médica, uma vez que a resistência a este antibiótico foi paralelamente acompanhado da aquisição de resistência à maioria dos antimicrobianos com atividade anti-estafilocócica disponíveis na atualidade, como aminoglicosídeos, cloranfenicol, lincosamídeos, macrolídeos, quinolonas e tetraciclina (Oliveira *et al.*, 2001a) e, por conseguinte, os glicopeptídeos, como a vancomicina, tornaram-se uma das poucas alternativas terapêuticas eficazes no tratamento das infecções causadas pelo *S. aureus* (Spiandorell *et al.*, 2000).

Diante deste panorama, é de fundamental importância conhecer e monitorar a prevalência e o padrão de suscetibilidade do *Staphylococcus aureus* aos antimicrobianos de uso clínico, visando controlar o aumento da resistência desta bactéria, permitindo aos clínicos e especialistas um tratamento mais adequado das infecções estafilocócicas, além de estimular a implementação de políticas mais adequadas que promovam o controle e a redução das taxas de infecções causadas por cepas multirresistentes (Gil, 2000).

1.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS E CLASSIFICAÇÃO TAXONÔMICA DO GÊNERO ESTAFILOCOCO.

Os *Staphylococcus* foram primeiramente observados e cultivados por Pasteur e por Robert Koch, entretanto, os estudos mais detalhados deste gênero foram realizados por Alexander Ogston, em 1881 e por Rosenbach em 1884 (Baird-Parker, *apud* Corbia *et al.*, 2000).

O nome *Staphylococcus* foi dado por Ogston em 1881, que observou um conjunto de bactérias no pus de abscessos humanos que se agrupavam em arranjos lembrando cachos de uva. Três anos depois, Rosenbach isolou o micro-organismo em cultura pura e nomeou a espécie de *Staphylococcus aureus*, devido à aparência das colônias que apresentavam pigmento amarelo-alaranjado. Rosenbach também demonstrou que a bactéria era responsável por infecções e furunculoses, e que era uma colônia normal e natural da pele (Vertoni, 1989)

Os *Staphylococcus* pertencem à família Staphylococcaceae e caracterizam-se por compreender bactérias que se apresentam como cocos Gram positivos, podendo ser encontrados isolados, aos pares ou em cadeias curtas. Medem em torno de 0,5-1,5 μm de diâmetro, é resistente à bacitracina, imóveis, oxidase negativa, produtores de catalase, reduz nitrato a nitrito e são fermentadores de glicose com produção de ácidos, tanto em aerobiose quanto em anaerobiose (Trabulsi, *et al*, 2005a). São bactérias não esporuladas que mais resistem ao meio ambiente, podendo sobreviver por meses em amostras clínicas seca, e apresentam temperatura de crescimento em torno de 37 °C, podem produzir pigmento amarelo e beta hemólise em Agar Sangue de animal (Figura 1) (Holt *et al.*, 1994).



Figura 1: Aspecto da morfologia das colônias de *Staphylococcus aureus* em placas de Agar Sangue (Disponível em: <<http://www.bakteriologieatlas.de/Bilder/Staphylococci>>).

Segundo a nona edição *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* foram descritas trinta e duas espécies, sendo dezessete associadas às infecções no homem. Essa classificação taxonômica tem com base os estudos de homologia de DNA e características bioquímicas e imunoquímicas desse micro-organismo (Holt *et al.*, 1994).

As espécies pertencentes ao gênero são tradicionalmente divididas em dois grandes grupos: estafilococos coagulase positivo e estafilococos coagulase negativo (Koneman *et al.*, 2006). Esta divisão é fundamentada na produção de uma enzima extracelular denominada de coagulase, capaz de converter o fibrinogênio sanguíneo em fibrina, conferindo à bactéria a capacidade de coagular o plasma humano (Devriese *et al.*, 2005)

Entre os estafilococos coagulase negativos destacam-se, principalmente, o *S. epidermidis* e o *S. saprophyticus* como agentes causadores de infecções no ambiente hospitalar (Calderón-Jaimes, 2002), porém, os estafilococos coagulase positivos são considerados como principais patógenos para o homem e os animais, sendo o *Staphylococcus aureus* subespécie *aureus* o patógeno de maior importância clínica. Além do *S. aureus*, são também considerados como coagulase positiva as espécies: *S. delphini*, *S. intermedius* e algumas cepas de *S. hyicus* (Novak, 1999).

1.2 ESTAFILOCOCOS COAGULASE POSITIVO DE INTERESSE CLÍNICO:

1.2.1 *Staphylococcus aureus*

O *Staphylococcus aureus* subespécie *aureus* é, sem dúvida, o patógeno humano de maior destaque do gênero estafilococo (Bernardes *et al.*, 2004). Acentuando-se a importância dessa bactéria enquanto agente causador de infecções comunitárias e

nosocomiais, destaca-se sua marcante tendência para resistência aos antimicrobianos (Koneman *et al.*, 2006).

Antes da introdução dos antibióticos na década de 40, os isolados de *Staphylococcus* eram responsáveis pela maioria das infecções hospitalares, principalmente em pacientes com pneumonia. No momento da introdução da penicilina no início de 1940, todas as infecções causadas por bactérias pertencentes a este gênero eram suscetíveis a esse medicamento, porém, em 1942, cepas de *S. aureus* produtoras de penicilinasas foram identificadas (Ricardo, 2004) e isoladas de pacientes sob tratamento, já no final dos anos 50, essa bactéria já tinham adquirido resistência a praticamente todos os antibióticos de uso parenteral, incluindo a tetraciclina e a eritromicina (Souza *et al.*, 2005).

Em 1960, foi desenvolvido um novo antibiótico, uma penicilina sintética que possuía atividade bactericida, inclusive contra bactérias multirresistentes, a meticilina. Entretanto, logo depois de sua introdução na prática clínica, surgiram os primeiros isolados de *S. aureus* resistentes a esse antimicrobiano. Esta resistência surgiu devido à integração de um elemento genético móvel denominado de *Staphylococcus cassette chromosome mec* (*SCCmec*), em um sítio específico do genoma bacteriano (Deresinski, 2005, Hiramatsu *et al.*, 2002; Ito *et al.*, 2001, Chambers, 1997).

1.2.2. Caracterização Genômica do *Staphylococcus aureus*

A bactéria possui genoma circular, com aproximadamente 2900 pares de base, com profágos, plasmídeos e transposons (Figura 2). Os genes responsáveis pela resistência aos antibióticos são encontrados tanto no cromossoma bacteriano como em elementos extracromossômicos. Estes genes são transferidos tanto entre espécies do

gênero *Staphylococcus* como entre outras espécies de bactérias Gram positivas através de elementos extracromossômicos (Lowy, 1998).

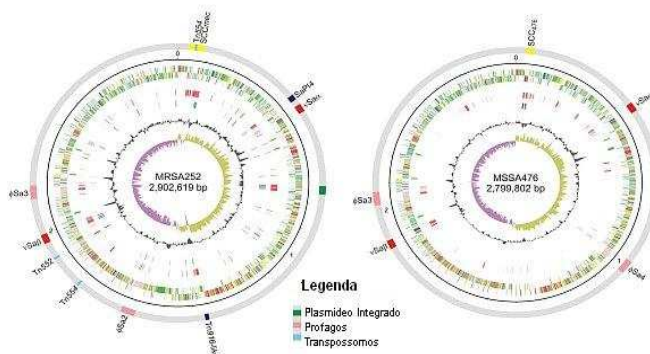


Figura 2: Aspecto do Genoma do *S. aureus* (Disponível em: <http://www.sanger.ac.uk/.../gfx/Holden_et_al_fig1.jpg>).

1.2.2. Fatores de Virulência do *S. aureus*

As células de *S. aureus* apresentam em sua estrutura alguns componentes de superfície (Figura 3), assim como produzem várias substâncias extracelulares, que contribuem para sua virulência (Cunningham *et al*, 1996). Entre os inúmeros fatores e componentes são citados: cápsula polissacarídica, peptidoglicano, ácido teicóico, proteases, adesinas, exoenzimas e exotoxinas (O’Riordan & Lee, 2004) além de produzirem o biofilme (Hammer *et al.*, 2005).

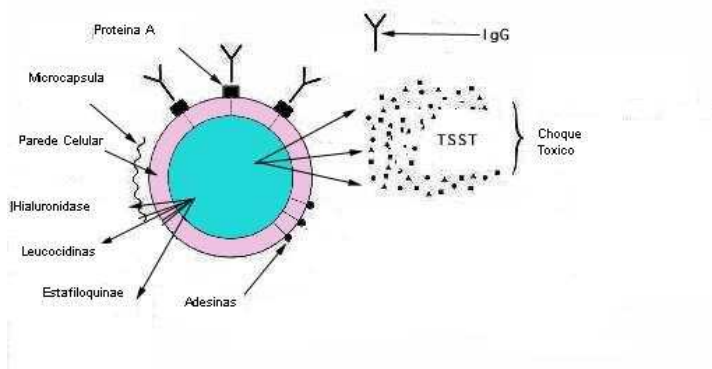


Figura 3: Fatores de Virulência do *Staphylococcus aureus* (Disponível em: <http://www.gsbs.utmb.edu/microbook/images/fig12_3.jpg>).

A cápsula polissacarídica do *S. aureus*, por exemplo, parece impedir a sua fagocitose, graças à produção de exopolissacarídeo. Essa substância parece facilitar aderência do micro-organismo às células do hospedeiro e aos dispositivos protéticos (Hammer *et al.*, 2005).

Os isolados clínicos de *S. aureus* são classificados em oito tipos de acordo com a tipificação do polissacarídeo celular; 70% a 80%, dos isolados clínicos pertencem aos sorotipos capsulares cinco e oito (Konemam *et al.*, 2006).

O peptidoglicano da parede celular parece estar envolvido na resposta inflamatória do hospedeiro contra infecções estafilocócicas, através da ativação da via alternativa do complemento. Outro constituinte importante da parede celular é o ácido teicóico, também parece estar envolvido na ativação do sistema de complemento e ainda, possivelmente, com aderência desse patógeno na mucosa do hospedeiro (Novak, 1999).

O *S. aureus* produz inúmeras proteínas de superfície, dentre elas, a mais estudada é a proteína A. Esta proteína tem capacidade impedir a fagocitose, graças a sua habilidade de ligação à porção Fc das Imunoglobulinas (Lowy, 1998). Outras proteínas de superfície também desempenham importante papel na patogênese das doenças estafilocócicas como: receptores de colágeno e proteínas de ligação a fibronectina (Cunningham *et al.*, 1996).

A bactéria produz enzimas extracelulares como proteases, lipases, hialuronidase e a coagulase. Essa última enzima também denominada de fator de agregação que promove a coagulação do plasma, convertendo a protrombina em trombina que, por sua vez, ativa a formação da fibrina, a partir do fibrinogênio, tornando a bactéria resistente a opsonização e a fagocitose (Lowy, 1998).

Este patógeno produz ainda toxinas imunologicamente distintas que são agrupadas com base em seu mecanismo de ação em onze tipos: A, B, C₁, C₂, C₃, D, E, Toxina da Síndrome do Choque Tóxico-TSST-1, G, H e I (Sá *et al.*, 2004). Estas toxinas quando liberadas pela bactéria produzem intoxicações alimentares e a síndrome do choque tóxico (*Staphylococcus*, 2005). Além disso, a TSST-1 e a maioria das enterotoxinas são também superantígenos que tem a capacidade de ativar linfócitos T, independente da especificidade dessas células, desencadeando uma série de respostas inflamatórias, como choque, febre e hipotensão, decorrentes da liberação de citocinas pelas células do sistema imune (Bohach *et al.*, 1990).

A produção de biofilme está associada à presença de um mucopolissacarídeo amorfo, que favorece a colonização dessa bactéria nas superfícies plásticas e nos tecidos do hospedeiro (Macêdo, 2000). Tem sido relatado que tal fenômeno está associado a um número considerável de infecções hospitalares, oriundas da utilização de cateteres intravenosos, urinários, bem como de próteses médicas e válvulas cardíacas (Christensen *et al.*, 1982). Uma das primeiras etapas envolvidas na formação do biofilme é a aderência às superfícies sólidas, que parecem ser controladas por interações hidrofóbicas entre a bactéria e essas superfícies (Macêdo, 2000).

Outro importante fator de virulência do *Staphylococcus aureus* é a Leucocidina de Pantan e Valentine (PVL), descrita primeiramente em 1932, essa toxina, codificada pelos genes *lukS-PV* e *lukF-PV*, que consiste em duas proteínas secretadas separadamente, conhecidas como componentes S e F, que atuam sinergicamente para lisar células polimorfonucleares, monócitos e macrófagos (Prevóst *et al.*, 1995). Os genes que a codificam encontram-se inseridos em bacteriófagos que possuem a capacidade de integrar-se no cromossomo do *S. aureus* (Kaneko & Kamio, 2004).

A Leucocidina de Panton Valentine foi reconhecida recentemente como um importante fator de virulência nas infecções causadas por *Staphylococcus aureus* resistente a oxacilina de origem comunitária, estas amostras estão fortemente associadas com infecções cutâneas e pneumonias necrosantes (Wannet *et al.*, 2005, Yamasaki *et al.*, 2005).

A alfa-hemolisina é a mais bem estudada toxina do *S. aureus*. O nome inicial, alfa-hemolisina, é decorrente da capacidade de lisar eritrócitos, apesar do alvo não ser restrito a estas células (Menestrina *et al.*, 2001). A alfa-hemolisina secretada na forma de hexâmero ou pentâmero é capaz de causar lise celular, ocasionando a formação de poros que permitem o influxo e efluxo de pequenas moléculas e íons, resultando na morte células eucarióticas e lise osmótica de eritrócitos. O influxo e efluxo de íons, principalmente do cálcio, resulta em outros efeitos, tais como aumento do metabolismo do ácido araquidônico, e conseqüentemente em maior síntese de prostaglandinas e tromboxano A₂, causando vasoconstrição, hipercoagulação e edema pulmonar (Bohach *et al.*, 1997).

1.2.3 Patogenia das Infecções por *Staphylococcus aureus*

O *S. aureus* é o agente mais comum nas infecções piogênicas e pode causar diversos processos infecciosos, que variam desde infecções cutâneas crônicas relativamente benignas até infecções sistêmicas potencialmente fatais. As infecções cutâneas incluem foliculite simples, que envolve os folículos pilosos e impetigo, infecção superficial da pele, assim como furúnculos e carbúnculos, que afetam o tecido subcutâneo e produzir sintomas sistêmicos (Foster, 2005).

Essa bactéria pode ser isolada de feridas cirúrgicas, serem o agente causal das pneumonias nosocomiais, causarem bacteremias originadas de endocardite, osteomielite, pioartrite e formação de abscessos metastático, em particular na pele, nos tecidos subcutâneos, pulmões, fígado, rins e cérebro. Esse micro-organismo é a segunda causa de meningite associada a derivações ventriculoperitoneais (Horita *et al.*, 1986; Konemam *et al.*, 2006; Marquet *et al.*, 2004).

A bactéria produz ainda toxinas responsáveis pela necrose epidérmica tóxica ou Síndrome da Pele Escaldada Estafilocócica ou Doença de Reiter (SPEE), que se caracteriza por eritema, desprendimento generalizado das camadas superficiais da epiderme, envolvendo principalmente recém-nascidos e lactentes com menos de dois anos de idade (Souza, 2003).

Outra síndrome importante causada pelo *S. aureus* e a Síndrome do Choque Tóxico, que acomete também recém-nascido e mulheres pelo uso de tampões absorventes. O quadro se caracteriza principalmente pelo início súbito de febre, hipotensão, eritema cutâneo mucoso generalizado e, posteriormente, falência de múltiplos sistemas (Haijeh *et al.*, 1999; Kikuchi *et al.*, 2003; Marquet *et al.*, 2003).

Os *S. aureus* estão ainda associados às doenças transmitidas por alimentos, através da ingestão de alimentos contaminados com a toxina. Essas toxinas são chamadas de enterotoxinas e, atualmente são conhecidas cinco imunologicamente distintas: A, B, C, D e E (Kikuchi *et al.*, 2003).

1.2.4 *Staphylococcus aureus* e a resistência aos antimicrobianos

A resistência aos antimicrobianos é um fenômeno genético, relacionado à existência de genes contidos no patógeno que codificam diferentes mecanismos bioquímicos impedindo a ação das drogas (Tavares, 2000).

A resistência pode ser originada em mutações que ocorrem no germe durante seu processo reprodutivo e resultam em erros de cópia na sequência de bases que formam o DNA cromossômico, responsáveis pelo código genético. Outra origem da resistência acontece através dos mecanismos de transdução, transformação e conjugação e, frequentemente, envolve genes situados em plasmídeos e transposons (Cunha, 1998).

Dentre os micro-organismos que sofreram grandes modificações na sensibilidade aos antimicrobianos com o decorrer dos anos, destacam-se os estafilococos especialmente, o *Staphylococcus aureus* com resistência à meticilina ou oxacilina (Diekema *et al.*, 2001).

Os beta-lactâmicos são a classe de antibióticos mais indicada para o tratamento das infecções por *S. aureus*, por isso é importante entender o mecanismo de ação dessas substâncias e os mecanismos de resistência da bactéria (Novak, 1999).

Os alvos de atuação dos antibióticos beta-lactâmicos são enzimas com função de transpeptidase e que atuam nas etapas finais da formação da parede celular das bactérias. Essas enzimas, por se ligarem aos antibióticos β -lactâmicos, são chamadas de proteínas ligadoras de penicilina (PLP) (Figura 4). As PLP são proteínas de membrana que estão envolvidas na biossíntese da parede celular. Essas proteínas promovem a formação das pontes transversas de pentaglicinas do peptidoglicano, através da ligação da D-alanina de uma cadeia peptídica com a L-lisina da cadeia subsequente. Os antibióticos beta-lactâmicos, ao inibirem as PLP, impedem a formação da camada de

peptidoglicano da parede celular, o que parece desencadear a morte bacteriana por um processo ainda desconhecido (Trabulsi *et al.*, 2005b).

A resistência aos antimicrobianos para o *Staphylococcus aureus* pode ser codificada cromossomicamente ou pode ser mediada por plasmídeos. Atualmente, o *S. aureus* possui três mecanismos distintos de resistência à meticilina ou oxacilina: 1) por hiperprodução de beta-lactamases; 2) pela presença de uma proteína ligadora de penicilina alterada, denominada de PLP 2a; e 3) por modificações na capacidade de ligações das PLP (Souza, 2000).

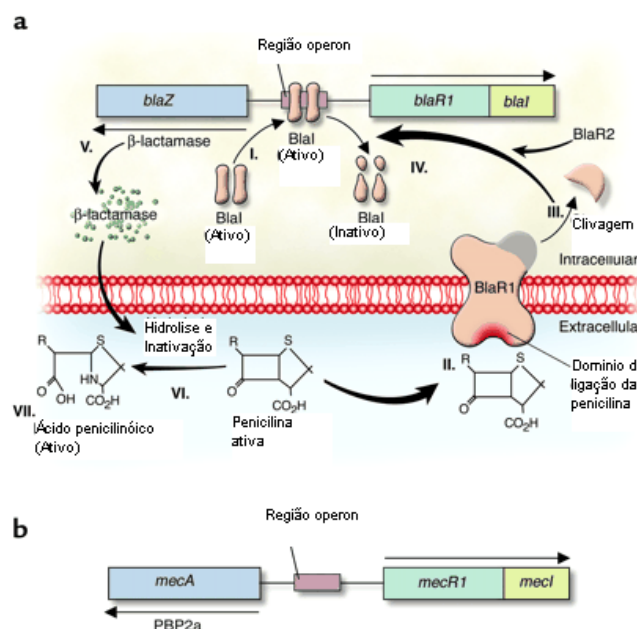


Figura 4: Síntese da Beta-lactamase na presença de um antibiótico beta-lactâmico

(Disponível em: < <http://www.jci.org/cgi/content/full/111/9/1265>>).

Todos os isolados de *S. aureus* resistentes à oxacilina testado até o momento apresentam o gene *mecA*, e este fato implica a resistência para todos os beta-lactâmicos (Torres, 2002). Esse gene codifica uma nova proteína-alvo para a penicilina a qual foi denominada de PLP 2a. Essa proteína apresenta baixa afinidade para os antibióticos beta-lactâmicos, e, portanto nas bactérias resistentes à meticilina não ocorrerá a inibição

da síntese da parede bacteriana, na presença dessa droga uma vez que a PLP 2a parece funcionar como PLP substituta (Rossi & Andreazzi, 2005).

O gene *mecA* encontra-se no determinante *mec* ou segmento *mec*, variando aproximadamente de 40Kb a 60Kb. A parte central desse segmento, é composta pelo gene *mecA*. Estando sua origem está relacionada aos *Staphylococcus* (coagulase negativo) (Lowy, 2003).

O gene *mecA*, ao contrário do gene *blaZ*, está localizado no cromossomo, em uma ilha genômica chamada *SCCmec* (*Staphylococcal Casset Cromossomal mec* ou *Cromossomal mec de Staphylococcus*). Oito famílias de ilhas genômicas foram identificadas em *S aureus*, todas elas caracterizadas pela presença de genes de virulência, com exceção do *SCCmec* que se restringe a genes de resistência a antibióticos (Ito *et al.*, 2003). Basicamente foram caracterizados quatro tipos de *SCCmec*, variando de 21 a 67 Kb. Essa classificação é baseada nas combinações dos tipos do complexo gene *mec*, responsável pela resistência à meticilina, e do complexo *ccr*, que é responsável pela mobilidade e inserção específica da ilha. A caracterização dos subtipos de *SCCmec* é realizada através das diferenças da junção J (Figura 5) (Ito *et al.*, 2003).

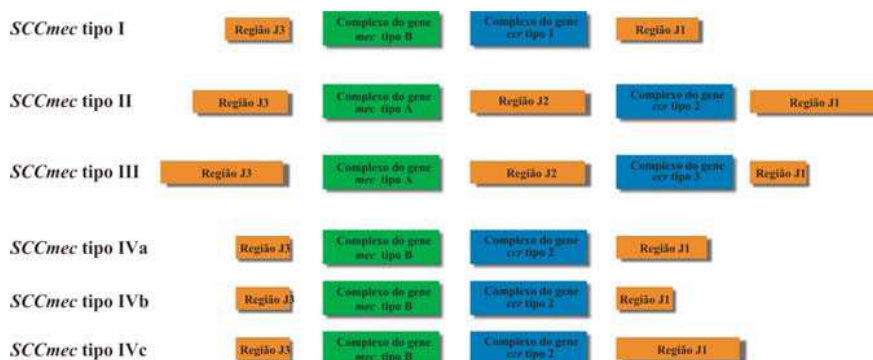


Figura 5: Estrutura e classificação dos tipos de *SCCmec*. (Disponível em: <<http://www.jci.org/cgi/content/full/111/9/1265>>).

A expressão fenotípica da resistência dos *S. aureus* à oxacilina pode ser homogênea ou heterogênea. Na resistência heterogênea, apenas uma pequena fração da população expressa resistência (10^{-6} a 10^{-8}). Um fenótipo menos frequente é a resistência homogênea, onde toda a população é altamente resistente (Rossi & Andreazzi, 2005). Assim a expressão da resistência à oxacilina no *S. aureus* pode variar em diferentes cepas, desde a concentração mínima inibitória (CMI) de $15\mu\text{g/mL}$, muito próxima da CMI de cepas suscetíveis, até $800\mu\text{g/mL}$ em culturas uniformemente resistentes. Os mecanismos reguladores da expressão da resistência são complexos e ainda não totalmente conhecidos (El-Aldhami & Stewart, 1997).

1.2.5 Aspectos Epidemiológicos das Infecções Estafilocócicas

O *S. aureus* é encontrado no ambiente externo; no solo, na água, no ar, no homem e nos animais. Em seu principal reservatório, o homem, pode ser encontrado nas fossas nasais de 20% a 40% dos adultos, de onde se propaga direta ou indiretamente para pele e feridas (Ricardo, 2004). Cerca de 30 a 50% dos adultos saudáveis são colonizados pelo patógeno, apesar de estarem associados a variados tipos de infecções (Peacock, 2001).

As infecções causadas por essa bactéria frequentemente resultam da introdução de cepas em locais previamente estéreis, após um trauma da pele ou mucosa (Chambers, 2001).

A incidência das infecções causadas por *S. aureus* continua aumentando em países desenvolvidos. A taxa de mortalidade das bacteremias causadas pelo germe esta em torno de 30%, um fator predominante associado a esta taxa pode ser o uso de dispositivos intravasculares. O *S. aureus* esta associado ainda em 50% dos casos de

síndrome sepsis, em 1 a 9% dos casos de meningites bacterianas, pneumonias e formações de abscessos (Weems, 2001).

A bactéria pode ser transmitida diretamente de pessoa a pessoa. Uma vez transmitidos, estes micro-organismos podem se estabelecer como microbiota do organismo colonizado e, posteriormente, provocar, infecções. Por outro lado, eles também podem ser diretamente introduzidos em locais estéreis pelos profissionais de saúde, durante um procedimento cirúrgico. Esta transmissão interpessoal é muito importante no ambiente hospitalar, principalmente quando as cepas envolvidas forem multirresistentes aos antimicrobianos (Santos, 1999).

Os principais fatores de risco para colonização ou infecção pelo *S. aureus* resistente à oxacilina, nos hospitais, são: internações prolongadas, o uso de antibiótico de amplo espectro, internação em unidade de terapia intensiva ou de queimados e a proximidade de um paciente colonizado ou infectado e aparentemente, a restrição ao leito, isto é, a dependência total do paciente à equipe de saúde, também pode constituir um fator de risco para aquisição de MRSA, sem contar que o uso prévio de antibióticos tem sido fortemente correlacionado ao MRSA (Chambers, 2001).

1.2.6 *Staphylococcus aureus* e a Infecção Hospitalar

O *Staphylococcus aureus* sempre esteve presente na história das infecções nosocomiais por sua capacidade de desenvolver rápida resistência às drogas (Jaimes-Calderón, *et al.*, 2002).

Nos anos 40, logo depois do surgimento das penicilinas, já apareceram cepas capazes de produzir penicilinase. Na década de 60, na Inglaterra os primeiros *S. aureus* tornaram-se rapidamente resistentes à meticilina e à oxacilina, antibióticos semi-

sintéticos resistentes à penicilinase (Bernardes *et al.*, 2004). Tais micro-organismos resistentes a estes antibióticos foram denominados de meticilina-resistentes (MRSA) ou oxacilina-resistentes (ORSA), já que à meticilina não era utilizada nos testes de sensibilidade, por sua inexistência no comércio nacional (Spiandorello *et al.*, 2005).

Em 1970, o estafilococo tornou-se um importante causa de infecção hospitalar, com os primeiros surtos descritos, primeiramente nos Estados Unidos da América, onde o mesmo passou a ser endêmico em muitos hospitais, contribuindo, inclusive, para o aumento das taxas de infecção hospitalar do país (Stamm *et al.*, 1993).

No Brasil, o estafilococo resistente à oxacilina é responsável por 26,6% a 71% das cepas de *S. aureus* isolados em diversos hospitais do país (Almeida *et al.*, 2007).

De acordo com Sader *et al.*, em 1994, foi identificado uma cepa de *S. aureus* resistente à oxacilina de origem comum entre as diversas instituições brasileiras, sugerindo que exista a transmissão inter-hospitalar desse microrganismo (Moreira *et al.*, 1998).

Estudos realizados com cepas resistentes à oxacilina em hospitais brasileiros revelaram que existe um único clone predominante em todas as regiões do Brasil, com elevada multirresistência, denominado como clone epidêmico brasileiro (Oliveira *et al.*, 2001b) Estes isolados são geralmente resistentes à aminoglicosídeos, cloranfenicol, lincosaminas, macrolídeos, sulfametoxazol associado à trimetropina, e a tetraciclina, com sensibilidade somente para a rifampicina (Oliveira *et al.*, 2001b).

Uma vez que o *S. aureus* resistente à oxacilina tenha sido detectado em um determinado hospital, ele tende a persistir, aumentando progressivamente sua prevalência. Embora as infecções causadas por essa bactéria resistente à oxacilina em hospitais seja um problema desde os anos setenta, só recentemente tem-se tornado uma

das principais causas de epidemias em berçário ou unidade de terapia intensiva de cuidados neonatais (Farrington *et al.*, 1990).

Relatos do Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC), nos Estados Unidos, de 1982, sugeriam que as infecções por ORSA envolviam, predominantemente, grandes centros terciários de referência e as instituições universitárias, porém, dados mais recentes mostram que 96% dos hospitais nos Estados Unidos que fazem vigilância epidemiológica, tiveram infecções causadas por estafilococos resistentes à oxacilina no período de 1987 a 1989 (Moreira *et al.*, 2001).

As crianças internadas em unidade de terapia intensiva estão entre a população que apresenta maior risco de adquirirem infecções por *S. aureus* resistente à oxacilina (Kikuchi *et al.*, 2003).

Muitos são os fatores que parecem contribuir para essas infecções, apesar da utilização de medidas de controle para infecções rigorosas. Alguns estão relacionados com a prematuridade, síndromes respiratórias, cateteres intravasculares, exposições a múltiplos antibióticos e internações prolongadas. Além disso, os bebês que permanecem por meses em unidade de terapia intensiva, passam a funcionar como reservatórios, o que contribui para o estabelecimento das infecções cruzadas (Silval *et al.*, 2003).

Sabe-se que as infecções causadas pelo *Staphylococcus aureus* resistente à oxacilina apresentam alta letalidade, variando entre 4,5% a 50%, e, se considerarmos especificamente as bacteremias, estas variam de 5 a 47%, dependendo das unidades estudadas e do tratamento instituído. Atualmente, a incidência das infecções por esta bactéria continua alta, e estudos vêm demonstrando que o ORSA apresenta letalidade maior que os estafilococos sensíveis à oxacilina (Moreira *et al.*, 1998).

A problemática das infecções causadas pelo *S. aureus* resistentes à oxacilina torna-se ainda mais grave e severa com o surgimento de linhagens que apresentam sensibilidade reduzida à vancomicina (Kuehnert *et al.*, 2005). O primeiro registro da resistência desse antimicrobiano foi feito por Hiramatsu *et al.*, em 1997, no Japão (Rodriguez & Vesga, 2005).

1.3 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

O diagnóstico microbiológico das infecções causadas pelos *Staphylococcus* é baseado no isolamento e identificação do germe em meios de cultura apropriados, através de provas de identificação convencional, sistemas de identificação automatizados e métodos de identificação e tipificação molecular (Konemam *et al.*, 2006).

1.3.1 Métodos Convencionais de Identificação

Em 1975, Kloos e Schleifer publicaram um esquema para identificação de estafilococos coagulase negativo, que utilizava a prova da coagulase para identificar o *S. aureus* e uma ampla bateria de provas fisiológicas e bioquímicas para diferenciar as espécies coagulase negativas (Shleifer & Kloos, 1975).

1.3.2 Sistemas de Identificação Comerciais Automatizados

Na atualidade, encontram-se disponíveis o comercialmente inúmeros sistemas para identificação de estafilococos. Todos esses sistemas utilizam modificações de provas de fermentação de carboidratos, adaptações de provas convencionais de

identificação bacteriológica, por exemplo, a prova da urease; e provas com substratos enzimáticos cromogênicos para identificação do micro-organismo (Layer *et al.*, 2006).

1.3.3 Sistemas de Identificação e Tipificação Molecular

Para identificar estafilococos e caracterizar cepas em estudos epidemiológicos e em surtos de cepas pouco habituais ou resistentes a múltiplas drogas, também são utilizados diversos procedimentos moleculares. Dentre estes métodos moleculares podemos destacar o polimorfismo de fragmento de restrição (RFLP), as técnicas de amplificação e as técnicas de seqüenciamento (Trindade *et al.*, 2003).

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 Objetivo Geral

O presente estudo tem por objetivo avaliar os aspectos da epidemiologia e o perfil de suscetibilidade de *Staphylococcus aureus* isolados de processos infecciosos de pacientes internados em hospitais da rede pública do município de Macapá/AP, no período de junho de 2002 a janeiro de 2006.

1.4.2. Objetivos Específicos

- a) Analisar a distribuição das amostras do *S. aureus* nos diferentes tipos de processos infecciosos de pacientes internados na rede hospitalar de Macapá (AP).
- b) Verificar a frequência dos isolados de *S. aureus* nos indivíduos de acordo com as variáveis de pessoa: idade e gênero.
- c) Realizar e confirmar teste de suscetibilidade a antimicrobianos dos isolados de *S. aureus*.
- d) Conhecer a prevalência das infecções causadas por cepas de *S. aureus* resistentes à oxacilina nas unidades hospitalares estudadas.
- e) Fornecer informações que possam subsidiar as ações de controle das Comissões de Controle de Infecção Hospitalar do Estado.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

Nesse estudo foram utilizadas 105 amostras de *Staphylococcus aureus* procedentes de amostras de sangue, líquido cefalorraquidiano (LCR), líquido pleural, ponta de cateter e secreções purulentas provenientes de Unidades de Terapia Intensiva e enfermarias da Rede Pública Hospitalar do Estado do Amapá, a saber: Hospital da Criança e do Adolescente, Hospital Maternidade Mãe Luzia, Hospital de Emergência e Hospital de Clínicas Dr. Alberto Lima. O número de amostras isoladas por procedência esta descrito na tabela abaixo.

Tabela 1: Número de amostras de *S. aureus* isoladas de acordo com o hospital de origem no município de Macapá-AP no período de junho de 2002 a janeiro de 2006.

Procedência	Numero de amostras
Hospital da Criança e do Adolescente	57
Hospital Maternidade Mãe Luzia	7
Hospital de Emergência	7
Hospital de Clínicas Dr. Alberto Lima	34

Fonte: Livro de Registro de Serviço de Bacteriologia-Laboratório Central de Saúde Pública do Amapá.

Todos os isolados obtidos foram encaminhados ao Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN-AP) para diagnóstico microbiológico durante o período de junho de 2002 a janeiro de 2006. E para a efetivação dessa pesquisa foi encaminhado ofício solicitando permissão para a consulta dos registros aos gestores da rede hospitalar do estado do Amapá e um termo de consentimento, onde constava o objetivo deste trabalho (Anexo 1).

2.2 ISOLAMENTO PRIMÁRIO DAS AMOSTRAS

O isolamento foi realizado em meios de cultura comuns. Para amostras obtidas do sangue foram semeadas em Agar Chocolate e Agar *Salmonella-Shigella*, sendo os demais espécimes biológicos semeados em Ágar Sangue de Carneiro e Ágar MacConkey. Posteriormente as placas foram incubadas em estufa à 35 °C por 24 horas, com exceção do Ágar Chocolate que foi incubado em atmosfera úmida por 24 a 48 horas. As colônias suspeitas selecionadas apresentavam pigmentação amarela e beta hemólise em Ágar Sangue (Oplustil *et al.*, 2004).

2.3 PROVAS DE IDENTIFICAÇÃO DO *Staphylococcus aureus*

A caracterização fenotípica foi feita através de testes bioquímicos automatizados (Layer *et al.*, 2006) e manuais como a catalase, que separa o gênero *Staphylococcus* do gênero *Streptococcus*, o teste da coagulase, DNase e o teste do manitol (Brasil, 2004).

2.3.1. Teste Automatizado de Identificação

✦ **Teste de Identificação ID 32 STAPH:** é um sistema padronizado para a identificação dos gêneros *Staphylococcus* e *Micrococcus*. A galeria é composta de 32 cúpulas, das quais 26 são utilizadas como cúpula teste que contém o substrato liofilizado como: uréia, L-arginina, L-ornitina, esculina citrato de ferro, D-glicose, D-frutose, D-manose, D-lactose de origem bovina, D-trealose, D-manitol, D-rafinose, D-ribose, D-celobiose, nitrato de potássio, piruvato de sódio, 2-naftil- β D-galactosídio, L-argina β -naftilamida, ácido piroglutâmico, β -naftilamida, novobiocina, D-sacarose, N-acetil-glicosamina, D-turanose, L-arabinose, α -nitrofenil- β D-glucoronida.

Após 24 horas de incubação em estufa 35 °C, as reações foram lidas no sistema automatizado ATB[®] *expression* (Biomérieux, França, 2006). Todas as 105 amostras de

S. aureus foram identificadas utilizando as galerias ID32 STAPH (figura 6) de acordo com a técnica descrita a seguir:

- Foi preparada uma suspensão homogênea das colônias suspeitas com turvação equivalente a 0,5 da escala de Mac Farland;
- Esta turvação foi confirmada no Densimat®;
- Com uma pipeta automática foi realizada a inoculação de 55 µL da suspensão em cada uma das 32 cúpulas da galeria de identificação;
- A leitura foi realizada após 24 horas de incubação por colorimetria no sistema de automação da bioMérieux ATB *expression*;
- Os resultados foram aceitos quando a probabilidade de identificação do gênero e da espécie foi acima de 97%.



Figura 6: Galeria de Identificação para *Staphylococcus*-ID 32 STAPH (Disponível em: < <http://www.microbes-edu.org/.../imgsapro/apisapro.jpg>).

2.3.2 Testes Bioquímicos Manuais

✦ **Teste da Catalase:** O teste foi realizado em lâmina por transferência das colônias com auxílio da alça de inoculação de platina para uma lâmina de vidro com adição sob as colônias de uma gota de peróxido de hidrogênio a 3 %, o aparecimento rápido e a produção sustentada de bolhas de gás ou efervescência foram considerados reação positiva (Oplustil *et al.*, 2004).

✦ **Teste da Coagulase em tubo:** as colônias suspeitas foram inoculadas em Caldo BHI e incubado a 35° C / 24 horas. Em seguida 0,1 mL da suspensão foram transferidas para tubos de ensaio contendo com 0,5 mL de plasma de coelho, e incubado por 4 horas a 35 °C em estufa, logo após este tempo, foi observado a formação do coágulo com a inclinação suave do tubo a 90° da vertical (Brasil, 2004; Konemam *et al.*, 2006).

✦ **Prova da Desoxirribonuclease-DNAse:** nesta prova foi utilizado o Agar DNAse com indicador azul de toluidina 0,1 %, neste meio foi realizado um espesso semeio de colônias de *S. aureus*, com incubação em estufa a 35 °C por 24 horas. A prova foi considerada positiva quando houve o aparecimento de um coloração rósea característica ao redor das colônias de *S.aureus* produtoras de DNAse (Brasil, 2004; Konemam *et al.*, 2006).

✦ **Prova da Fermentação do Manitol:** O meio utilizado para este teste foi o Agar Manitol-Sal a 1 % e 7,5 % de NaCl com vermelho de fenol como indicador. As colônias suspeitas foram inoculadas no meio e após 18 a 24 horas de incubação na estufa foi realizada a leitura para observar a fermentação do manitol (Brasil, 2004; Konemam *et al.*, 2006).

2.4 DETECÇÃO DA RESISTÊNCIA EM *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Após a identificação as mostras de *S. aureus* foram submetidas a testes de sensibilidade manuais e automatizadas para a detecção da resistência segundo normas descrita pelo manual de Normas de Desempenho para Teste de Sensibilidade Antimicrobiana (CSLI, 2005).

✦ **Teste de Sensibilidade Automatizado ATB STAPH-5:** na galeria do sistema automatizado é possível determinar a sensibilidade dos estafilococos aos antimicrobianos em meio semi-sólido em condições muito próximas das técnicas de referência de diluição em gelose ou de microdiluição segundo as recomendações do *Clinical and Laboratory Standards Institute (CSLI) (Biomerieux, França, 2006)*.

O ATB STAPH-5 contém 16 cúpulas. O primeiro par, sem antibiótico, serve como controle de crescimento. As 15 cúpulas seguintes contêm os antibióticos com uma única ou duas concentrações. Os antibióticos que compõe a galeria são: penicilina 0,12 mg/L, sulfazotrim (Sulfametoxazol+ trimetropim) 2/38 mg/L, gentamicina 4-8 mg/L, Eritromicina 0,5-4 mg/L, clindamicina 0,5-2 mg/L, tetraciclina 4-8 mg/L, minociclina 4-8 mg/L, vancomicina 4-16 mg/L, teicoplanina 8-16 mg/L, rifampicina 1-2 mg/L, norfloxacino 4-8 mg/L, levofloxacino 2-4 mg/L, ácido fusídico 2-16 mg/L, nitrofurantoína 32-64 mg/L, quinopristina/dalfopristina 1-2 mg/L, oxacilina 2 mg/L e oxacilina para oxacilina para Coagulase Negativo 0,25 mg/L (*Biomerieux, França, 2006*).

✦ **Procedimento para o preparo da galeria:**

- a) Foi feita uma suspensão com turvação equivalente a 2,0 da escala de MacFarland;
- b) Em seguida foi transferido 200 µL da suspensão bacteriana para duas ampolas: uma que possui um meio a base de Agar Mueller Hinton e cloreto de sódio a 2 %; e a outra contendo somente o meio de enriquecimento;

- c) Com a pipeta automática foi realizada a inoculação de 132 μL do meio de enriquecimento em todas as cúpulas com os antibióticos, com exceção da oxacilina, onde foi colocado 132 μL do meio acrescido de 2 % de sal;
- d) As galerias foram incubadas em estufa a 35°C por 18 a 24 horas;
- e) A leitura foi feita por turbidimetria e/ou nefelometria no sistema de automação da bioMérieux ATB *expression* após o período de incubação.

✦ **Teste de Sensibilidade por Difusão em Disco de Kirby-Bauer:** para este teste foram utilizados discos da marca Oxoid[®] de penicilina, oxacilina, eritromicina, tetraciclina, ciprofloxacino, sulfazotrim, clindamicina, vancomicina e teicoplanina (CSLI, 2005). Segue uma breve descrição do teste:

- a) Um inóculo padronizado 0,5 da escala de Mac Farland (10^8 UFC/mL) da bactéria foi preparado e incubado em estufa a 35 °C por 2 horas para realização do teste;
- b) Após este período um *swab* estéril foi introduzido na suspensão, retirado o excesso na parede do tubo com realização do semeio na superfície do Agar Mueller Hinton nas três direções;
- c) Depois de 5 minutos os discos dos antibióticos foram colocados na superfície da placa e incubados por 24 horas em estufa a 35 °C;
- d) Após o período de incubação foi realizada a leitura dos testes;
- e) Os halos de inibição para cada antimicrobiano testado foram interpretados nas categorias sensível, intermediário ou resistente, de acordo com os critérios estabelecidos nas tabelas do CSLI.

✦ **Teste do Disco de Cefoxitina:** Este ensaio foi realizado para as amostras de *S. aureus* que apresentaram resistência à oxacilina pelo método manual e automatizado. O

resultado do disco de cefoxitina 30 mcg fornece pontos de corte alternativos para a detecção de resistência ao grupo PPR (oxacilina, meticilina) em *Staphylococcus* spp e funciona como um marcador, portanto, o resultado da cefoxitina não deve ser reportado, pois os pontos de corte fornecidos funcionam como um teste *screening* para verificação da resistência mediada pelo gene *mecA* (Rossi & Andreazzi, 2005).

- a) Foi preparada uma suspensão bacteriana equivalente a 0,5 da escala de MacFarland e incubado por 2 horas em estufa 35°C;
- b) Um *swab* estéril foi introduzido no inóculo, retirando-se o excesso na parede do tubo;
- c) Foi realizado o semeio na superfície do Agar Mueller Hinton, e após 5 minutos foi depositado o disco de cefoxitina;
- d) O teste foi lido após incubação por 24 horas em estufa a 35 °C;
- e) Para o *Staphylococcus aureus*: resultados com zona de diâmetro de cefoxitina \leq 19 mm devem ser reportados com resistentes à oxacilina. Para amostras com zona de diâmetro de cefoxitina \geq 20 mm devem ser reportados como sensíveis à oxacilina.

2.5 CONTROLE DE QUALIDADE

Para o controle de qualidade dos meios de cultura, bem como das galerias foi utilizada a cepa padrão da *American Type Culture Collection* (ATCC) 25923 de *Staphylococcus aureus*, segundo normas definidas pelo manual de Normas de Desempenho para Teste de Sensibilidade Antimicrobiana (CSLI, 2005).

2.6 ORDENAÇÃO E TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS DADOS

Os resultados obtidos foram armazenados em banco de dados utilizando programa da Microsoft EXCEL versão 5.1 e *BioEstat* versão 4.0 (Ayres *et al.*, 2004).

Por ser um trabalho descritivo, os dados foram analisados através de contagem e proporção. Foram obtidas as proporções de sensibilidade e resistência os antimicrobianos dividindo-se o número de amostras sensíveis e resistentes pelo número total de amostras e multiplicando-se o resultado obtido por 100 (Buielgmam, 2002).

Para avaliar a significância das diferenças de sensibilidade do *S. aureus* aos antimicrobianos testados, usou-se o teste do Qui-Quadrado (χ^2), fixando-se em 5% o nível de nulidade e pela correlação linear de Pearson (r) (Ayres *et al.*, 2004).

3 RESULTADOS

Foram analisadas 105 amostras de *Staphylococcus aureus* isolados de diversos materiais biológicos provenientes de pacientes internados nos quatros hospitais públicos de Macapá, a saber: Hospital da Criança e do Adolescente (HCA), Hospital de Clinicas Dr. Alberto Lima (HCAL), Hospital Maternidade Mãe Luzia (HMML) e Hospital de Emergência (HE), no período de junho de 2002 a janeiro de 2006.

Na análise da epidemiologia descritiva as amostras isoladas foram agrupadas de acordo com a faixa etária, com o sexo, por hospital de origem e pelo sítio de infecção.

Neste estudo a média de idade obtida foi de 19 anos, com variação de 0 a 80 anos. Na Figura 7 observa-se que o micro-organismo foi isolado com maior frequência em amostras procedentes de crianças, na faixa etária entre 0 a 10 anos, correspondendo a um percentual de 43,8 %, sendo a faixa etária de 50 a 60 anos a que apresentou a menor frequência de isolamento dessa bactéria, com percentual de 4,8 %.

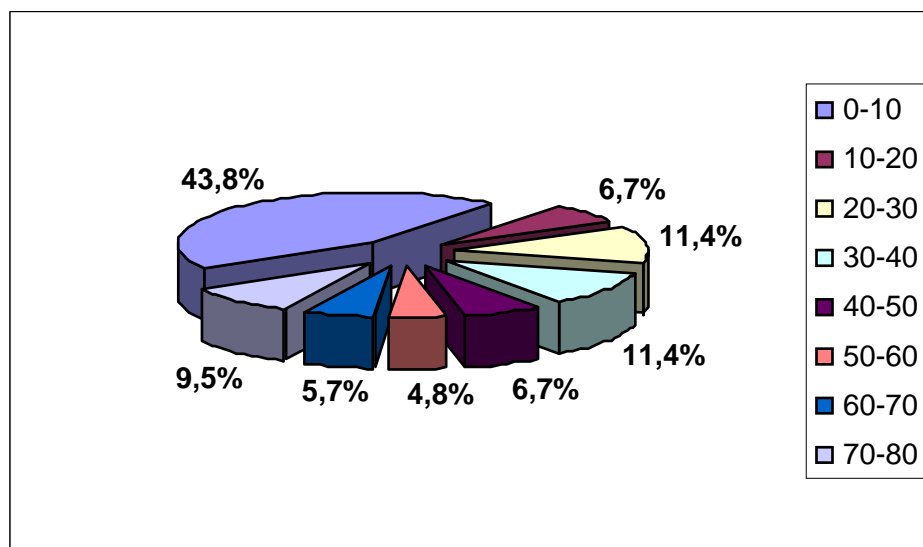


Figura 7: Isolamento do *S. aureus* de acordo com a faixa etária nos hospitais públicos do município de Macapá-AP no período de junho de 2002 a janeiro de 2006. Fonte: Primária, 2007.

Na Tabela 2, é possível observar que a maior ocorrência de amostras de *S. aureus* foi procedente de 66 (62,9 %) pacientes do gênero masculino, e no gênero feminino o isolamento ocorreu em 32 pacientes (30,5 %). Não foi informado o sexo de sete recém-nascidos, sendo considerados para este estudo como sexo ignorado, com um percentual de 6,6 %.

Tabela 2: Distribuição das amostras de *S. aureus* de acordo com o gênero, no município de Macapá-AP no período de junho de 2002 a janeiro de 2006.

Característica	N*	Percentual
Gênero		
Feminino	32	30,5
Masculino	66	62,9
Ignorado (Recém-nascido)	7	6,6

*N: Números absolutos (Fonte: Livro de Registro de Serviço de Bacteriologia-Laboratório Central de Saúde Pública do Amapá).

No que diz respeito à origem do material biológico utilizado no estudo, o maior número de isolados bacterianos obtidos foi procedente do Hospital da Criança e do Adolescente com 57 amostras isoladas, o que corresponde a 54,3%; no Hospital de Clínicas Dr. Alberto Lima foram obtidas 34 cepas de *Staphylococcus aureus*, o equivalente a 32,5 %; já no Hospital Maternidade Mãe Luzia e Hospital de Emergência, somente 7 cepas foram isoladas com percentual de 6,6% para cada um, como ilustra a figura 8.

A relação entre a procedência e a sensibilidade das amostras para a oxacilina foi analisada através da correlação linear de *Pearson* (r), onde $r = 0,9952$ e $p = 0,0048$, com Índice de Confiança (IC) 95% = 0.78 a 1.00, enquanto que para a resistência $r = 0,9456$, $p = 0,0543$ e (IC) 95% = -0.17 a 1.00.

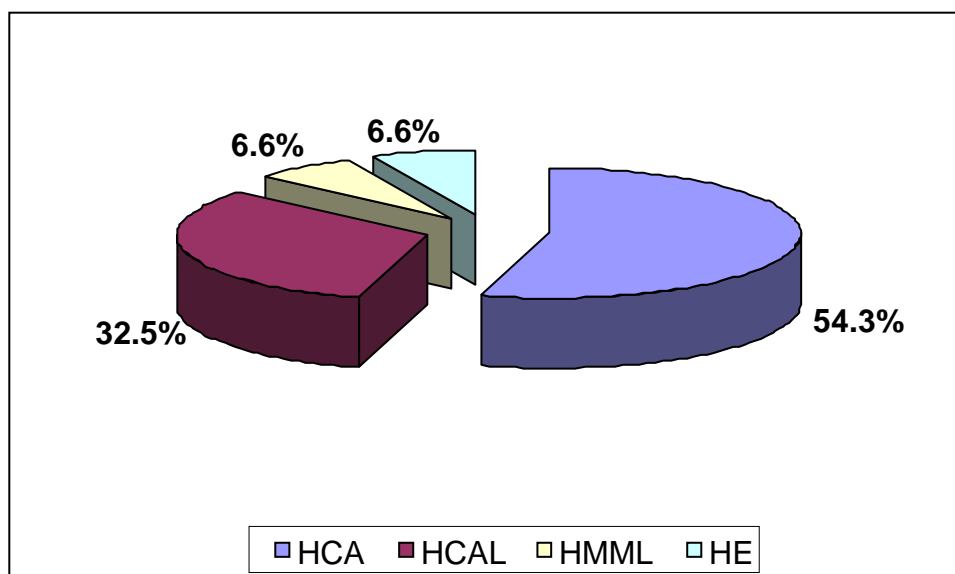


Figura 8: Distribuição dos isolados de *S. aureus* de acordo com o hospital de origem, no município de Macapá-AP no período de junho de 2002 a janeiro de 2006. Fonte: Primária, 2007.

Ainda de acordo com hospital de origem das amostras analisadas, as mesmas foram agrupadas por unidades de internação em: pacientes internado em enfermaria, pacientes internados em unidade de terapia intensiva, pacientes internados em berçário e pacientes internados em clínica cirúrgica como demonstra a Tabela 4. As enfermarias apresentaram o maior percentual de isolamento de *S. aureus* com 57/46 para o Hospital da Criança e do Adolescente e 29/34 para o Hospital de Clinicas Dr. Alberto Lima. Em todos os hospitais, as unidades de terapia intensiva apresentaram menor frequência de cepas isoladas com 10,5 %, 2,9 %, 1,8 % e 0,9 %, para o HCA, HCAL, HMML e HE, respectivamente.

Tabela 3: Perfil de distribuição de *S. aureus* por unidade de internação de acordo com hospital de origem no município de Macapá-AP, no período de junho de 2002 a janeiro de 2006.

Unidades de Internação	N*	Percentual
Hospital da Criança e do Adolescente	57	54,2
Unidade de Tratamento Intensivo	11	10,5
Internado em enfermaria	46	43,7
Hospital Maternidade Mãe Luzia	7	6,6
Unidade de Tratamento Intensivo	2	1,8
Berçário	5	4,8
Hospital de Emergência	7	6,6
Clinica Cirúrgica	1	0,9
Internado em enfermaria	5	4,8
Unidade de Tratamento Intensivo	1	0,9
Hospital de Clínicas Dr. Alberto Lima	34	32,4
Clinica Cirúrgica	2	1,9
Internado em enfermaria	29	27,6
Unidade de Tratamento Intensivo	3	2,9

*N: Números absolutos (Fonte: Livro de Registro de Serviço de Bacteriologia-Laboratório Central de Saúde Pública do Amapá).

A tabela 4 refere-se às informações sobre a ocorrência das cepas resistentes a oxacilina por local de internação, pode-se afirmar que no Hospital da Criança e do Adolescente, das 12 amostras encontradas, somente duas (16,6 %), foram isoladas de pacientes da unidade de tratamento intensivo, as demais cepas foram procedentes das enfermarias. Nos demais hospitais todas as amostras resistentes foram provenientes de pacientes internados em enfermarias. Quando se aplica o teste estatístico para avaliar a sensibilidade em relação à resistência nas unidades de terapia, o que se tem é $r = 0,9175$, $p = 0,0825$. Com relação às enfermarias o obtido foi $r = 0,9990$, $p = 0,0000$. Este dado demonstra significado estatístico, uma vez que nas enfermarias o índice de amostras resistentes foi bem maior que a resistência encontrada nas UTIS, fato este que pode significar que nas Unidades de Terapia Intensiva, existe subnotificação de caso ou o controle de pessoas e o uso de EPIs é rigoroso.

Tabela 4: Ocorrência de isolados de *Staphylococcus aureus* resistente à oxacilina nos hospitais públicos do município de Macapá-AP no período de junho de 2002 a janeiro de 2006.

<i>S. aureus</i> resistente à Oxacilina	N*	Percentual
Hospital da Criança e do Adolescente		
Unidade de Tratamento Intensivo	2	16,6
Internado na Enfermaria	10	83,4
Hospital Maternidade Mãe Luzia		
Unidade de Tratamento Intensivo	0	-
Berçário	3	100
Hospital de Emergência		
Clinica Cirúrgica	0	-
Internado na Enfermaria	0	-
Unidade de Tratamento Intensivo	0	-
Hospital de Clínicas Dr. Alberto Lima		
Clinica Cirúrgica	0	-
Internado na Enfermaria	10	100
Unidade de Tratamento Intensivo	0	-

*N: Números absolutos (Fonte: Livro de Registro de Serviço de Bacteriologia-Laboratório Central de Saúde Pública do Amapá).

Com relação ao sítio de infecção das 105 cepas de *Staphylococcus aureus* de acordo com hospital de origem no município de Macapá, no período de junho de 2002 a janeiro de 2006, 47 (44,9 %) amostras foram isoladas de secreção de purulentas de diversos sítio pleural e 4(3,8 %) de líquido cefalorraquidiano.

No que se refere ao sítio de infecção em relação à presença de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes foi observado que em 5/47 amostras de secreções purulentas, diversas apresentaram cepas resistentes, equivalendo a 10,6%, nas 33 amostras de hemoculturas, 10 isolados apresentaram cepas resistentes correspondendo a 30,3%, houve 8 / 12 amostras de ponta de cateter com isolados resistentes equivalendo a 66,6%, nenhuma das 9 amostras de líquido pleural, apresentaram resistência, e 2/ 4 amostras de líquido cefalorraquidiano tiveram isolados resistentes, correspondendo a 50%. Estes dados estão ilustrados na figura 9.

Para verificar se a resistência do *S. aureus* dependia do sítio de infecção, foi aplicado o teste do Qui-Quadrado (χ^2), onde, tanto as amostras na ponta de cateter como no líquido cefalorraquidiano, não apresentaram diferença estatística significativa em relação à presença de cepas resistentes ($\chi^2 = 0.3556$, $p = 0.5510$). Quando comparadas, entretanto, com a hemocultura ($\chi^2 = 4.8485$, $p = 0.0277$), a secreção purulenta ($\chi^2 = 17.4681$, $p = 0.0000$), e ao líquido pleural ($\chi^2 = 9.6923$, $p = 0.0019$) foi observado que as discrepâncias são muito significativas. A figura 9 ilustra esta relação.

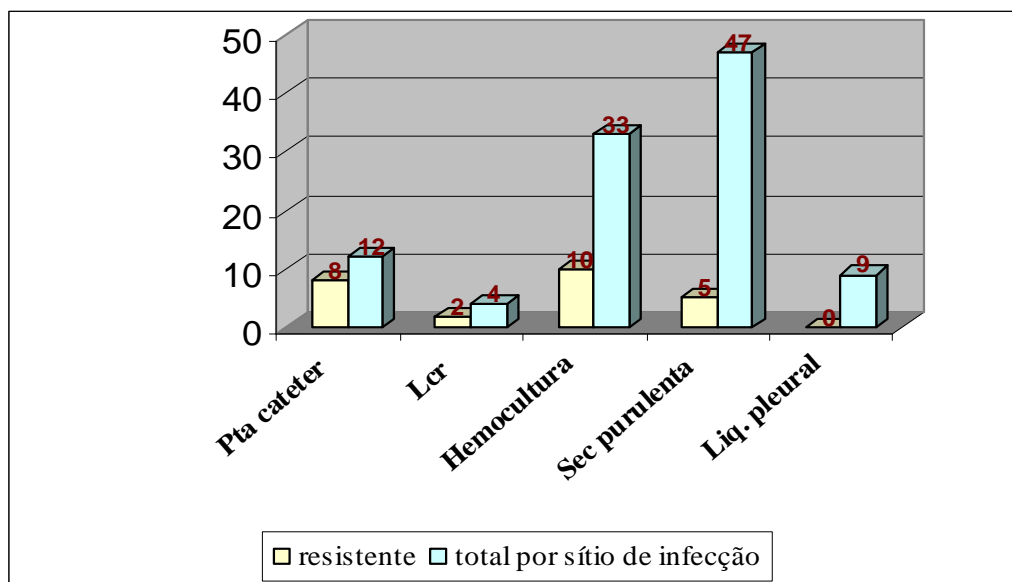


Figura 9: Perfil da distribuição das linhagens de *S. aureus* nos sítios de infecções oriundas dos hospitais do município de Macapá-AP no período de junho de 2002 a janeiro de 2006. Fonte: Primária, 2007.

Neste estudo, de um total de 2.756 amostras que deram entrada no Laboratório Central de Saúde Pública do Amapá para análise microbiológica, no período de junho de 2002 a janeiro de 2006, o percentual de prevalência das cepas de *Staphylococcus aureus* foi de 3,8 %.

Com referência ao estudo de sensibilidade aos antimicrobianos, na tabela 6 observa-se que do total de 105 cepas de *S. aureus* submetidas ao teste de sensibilidade

aos antimicrobianos, somente 3 (2,85 %) amostras apresentaram atividade *in vitro* para penicilina, ou seja, sensibilidade para este antimicrobiano, e 97,1 % foram resistentes quando testadas tanto no sistema automatizado como pelo método de disco difusão, 80 (76,2 %) amostras foram sensíveis à oxacilina e 23,8 % resistentes.

Todos os isolados de *S. aureus*, ou seja, 100 % foram sensíveis à vancomicina e teicoplanina, tanto pelo método convencional como pelo método automatizado. Para verificar se a resistência do *S. aureus* estava relacionada ao antibiótico foi aplicada a correlação de *Pearson*, sendo observada correlação significativa para os quatro antibióticos acima citados ($r= 0,9968$ e $p=0,0000$).

Com relação aos antimicrobianos teicoplanina e vancomicina, não foi observada diferença estatística significativa ($\chi^2= 0,0000$, $p=1,0000$). Entretanto, ao observar o perfil de resposta do *S. aureus* para a oxacilina em comparação com a vancomicina ($\chi^2 = 28,3784$, $p = 0,0000$), à teicoplanina ($\chi^2 = 28,3784$, $p = 0,0000$) e penicilina ($\chi^2= 118,1188$, $p=0,0000$), verificou-se que as respostas apresentaram diferença estatística muito significativa.

A tabela 6, evidência também que as cepas de *S. aureus* apresentaram elevado perfil de resistência a outros antimicrobianos, como o sulfazotrim (sulfametoxazol+trimetropim) com (55/105) 52,4 %, à tetraciclina com (58/105) 55,2 %, a eritromicina com (30/105) 28,6 % e à gentamicina com (26/105) 24,7 %, entre as quinolonas testadas a que apresentou maior resistência foi o norfloxacino com (14/105) um percentual de 13,3 %.

Tabela 5: Perfil de sensibilidade e resistência dos *S. aureus* a diferentes antimicrobianos isolados de hospitais públicos do município de Macapá-PA no período de junho de 2002 a janeiro de 2006.

<i>Staphylococcus aureus</i>						
Antimicrobiano	Sensível		Intermediário		Resistente	
	N*	%	N*	%	N*	%
Penicilina**	3	2,85	0	-	102	97,1
Oxacilina**	80	76,2	0	-	25	23,8
Gentamicina**	79	75,2	0	-	26	24,7
Sulfazotrim**	50	47,6	0	-	55	52,4
Tetraciclina**	45	42,9	2	1,9	58	55,2
Eritromicina**	66	62,8	9	8,6	30	28,6
Clindamicina**	93	88,6	1	1	10	10,4
Rifampicina**	98	93,3	2	1,9	5	4,7
Levofloxacino**	98	93,3	2	1,9	5	4,7
Ciprofloxacino***	98	93,3	2	1,9	5	4,7
Mincociclina***	95	90,4	3	2,9	7	6,7
Norfloxacino***	91	86,7	0	-	14	13,3
Nitrofurantoina**	100	95,4	1	1	4	3,8
Quinupristin/dalfopristin***	96	91,4	0	-	9	8,6
Acido fusídico***	99	94,3	2	1,9	4	3,8
Teicoplanina**	105	100	0	-	0	-
Vancomicina**	106	100	0	-	0	-

*N: Números absolutos; % valor percentual; ** Testado pelos dois métodos; ***Testado por um método. (Fonte: Livro de Registro de Serviço de Bacteriologia-Laboratório Central de Saúde Pública do Amapá).

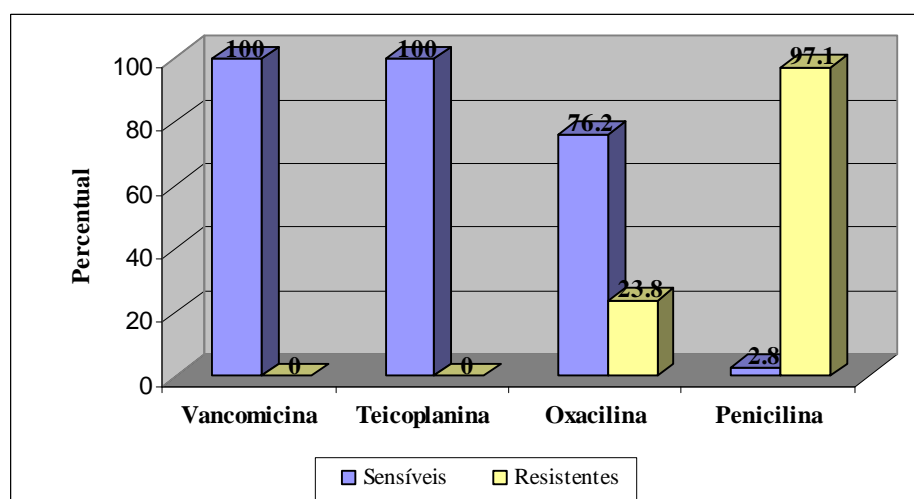


Figura 10: Perfil de sensibilidade dos *S. aureus* aos antimicrobianos oxacilina, penicilina, vancomicina e teicoplanina, isolados dos hospitais públicos do município de Macapá-AP no período de junho de 2002 a janeiro de 2006. Fonte: Primária, 2007.

Para as 25 amostras que apresentaram resistência à oxacilina pelo método automatizado e pelo método manual de disco difusão foi realizado o teste *Screening* com disco de cefoxitina, com todas as cepas testadas apresentando diâmetro do halo menor ou igual a 19 mm (≤ 19 mm), sugerindo assim a resistência mediada pelo gene *mecA*.

A tabela 7 a seguir, demonstra que as cepas de *S. aureus* resistentes à oxacilina (25=23,8%) apresentaram resistência cruzada a outros antimicrobianos como à Gentamicina (80%), Sulfazotrim (72%), Tetraciclina (64%), Eritromicina (60%), Clindamicina (44%), Norfloxacino (44%) e Quinupristina/Dalfopristina (32%) ($r=-0,9970$, e $p=0.0000$). Foi observada resistência intermediária para Tetraciclina e Levofloxacino com 2/25 (8%) para ambas, e 1/25 (4%) para Minociclina, Nitrofurantoína e Ácido Fusídico.

Tabela 6: Atividade *in vitro* das cepas de *S. aureus* resistentes a oxacilina para outros antimicrobianos isolados das unidades hospitalares do município de Macapá-AP, no período de junho de 2002 a janeiro de 2006.

Antimicrobiano N=25	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente Á Oxacilina					
	N*	Sensível %	Intermediário N*	Intermediário %	Resistentes N*	Resistentes %
Penicilina**	0	-	0	-	25	100
Gentamicina**	5	20	0	-	20	80
Sulfazotrim**	6	28	0	-	18	72
Tetraciclina**	9	28	2	8	16	64
Eritromicina**	10	40	0	-	15	60
Clindamicina**	14	56	0	-	11	44
Rifampicina**	20	80	0	-	5	20
Levofloxacino***	18	72	2	8	5	20
Mincociclina***	20	80	1	4	4	16
Ciprofloxacino	14	56	0	-	11	44
Norfloxacino***	14	56	0	-	11	44
Nitrofurantoina**	24	96	1	4	0	-
Quinupristin/dalfopristin***	17	68	0	-	8	32
Acido fusídico***	21	84	1	4	3	12
Teicoplanina**	25	100	0	-	0	-
Vancomicina**	25	100	0	-	0	-

N*Valor absoluto % Valor Percentual (Fonte: Livro de Registro de Serviço de Bacteriologia-Laboratório Central de Saúde Pública do Amapá).

A figura 11 mostra detalhadamente, que a maior incidência de cepas resistentes à oxacilina foi encontrada no Hospital da Criança e do Adolescente com 12 amostras, correspondendo a 48%, seguido do Hospital de Clinicas com 10 amostras (40%), e no Hospital Maternidade Mãe Luzia foram isoladas somente 3 (12%) amostras, e nenhuma amostra foi isolada no Hospital de Emergência. Para verificar se a resistência do *S. aureus* estava associada à procedência da rede hospitalar foi aplicada a correlação de *Pearson* para os quatros hospitais acima citados, onde $(r)= 0,9968$ e $p=0,0000$, sendo observado uma associação positiva nos resultados, significando que quanto maior o numero de isolados de *S. aureus* nos Hospitais estudados, maior o numero de cepas com resistência à oxacilina.

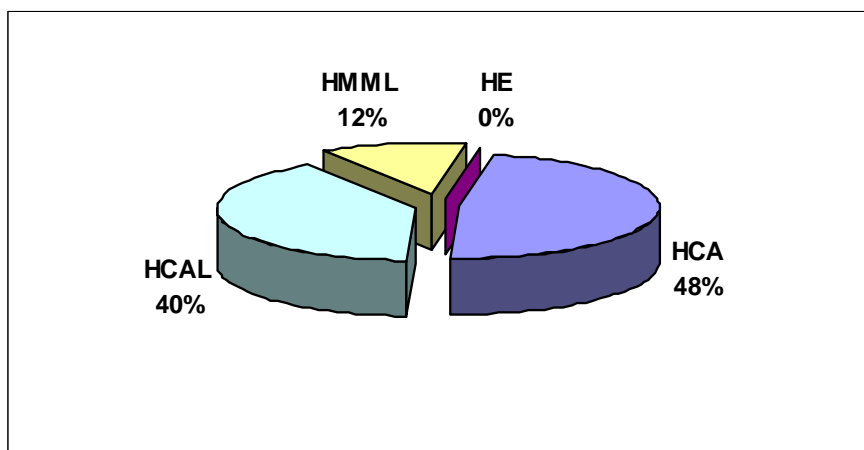


Figura 11. Frequência de *Staphylococcus aureus* resistente a Oxacilina isolados de hospitais públicos do município de Macapá-AP, no período de junho de 2002 a janeiro de 2006. Fonte: Primária, 2007.

4 DISCUSSÃO

As infecções causadas pelo *Staphylococcus aureus* têm sido endêmica em muitos hospitais do mundo (Cavalcante *et al.*, 2006), corroborando com o observado nesse estudo, que verificou a presença da bactéria em culturas provenientes de diversos espécimes biológicos nos hospitais públicos de Macapá.

Nesta casuística, quanto à faixa etária, ficou evidente que a maior parte dos isolados foi em pacientes de 0 a 10 anos (Cimolai, 2003), com reduzido isolamento em pacientes com idade superior a 50 anos. Estes dados são muito similares ao encontrados no estudo realizado por Cavalcante *et al.* (2006) e Martins *et al.*, 2007.

A maior ocorrência na faixa etária de 0 a 10 anos, pode ser traduzida provavelmente pela exposição mais frequente de crianças e adolescentes a traumas eventualmente imperceptíveis, mais comprometedores da barreira natural à patogenicidade deste habitante normal da flora cutânea (Netto *et al.*, 2001), além disso, os recém-nascidos prematuros e de baixo peso ficam muito mais expostos à infecção causada pela bactéria devido à longa permanência no hospital, e a utilização de procedimentos terapêuticos que servem como porta de entrada para o microrganismo (Sadek & Ceccon, 2006).

Com relação ao gênero foi observado predominância de *S. aureus* no gênero masculino (n= 66/105; 62,8 %), estes achados também são similares aos encontrados no estudo realizado em um hospital de Caixas do Sul em 2000, onde dos 194 pacientes, 114 (58,8%) eram do sexo masculino (Spiandorello *et al.*, 2000), porém, são totalmente discordantes dos dados encontrados por Porter *et al.* (2003), onde o maior número de isolados foi predominante no sexo feminino.

Apesar da grande maioria dos estudos realizados terem relatado ser o *Staphylococcus aureus* o patógeno mais comumente isolado em infecções da corrente sanguínea (David, 1998; Medeiros *et al.*, 1998; Conterno *et al.*, 2002), neste estudo, a maior parte dos isolados foram procedentes de secreções purulentas (44,9%), seguida de infecções da corrente sanguínea (31,4%), de ponta de cateter (11,4%), de líquido pleural (8,5%) e de líquido cefalorraquidiano (3,8%). Dados mais próximos a esta pesquisa foram achados por Filho *et al.* (2006) e Blatt & Piazza (2004).

Neste estudo, apesar do maior número de isolados terem sido realizados de secreção purulenta, os espécimes biológicos que apresentaram maior significância estatística com relação à resistência bacteriana através dos testes de sensibilidade foram procedentes do LCR e ponta de cateter ($p=0,00277$), em relação à hemocultura, secreção purulenta ($p=0,0000$) e líquido pleural ($p=0,0019$). Lowy, em 2003, relata o micro-organismo como maior causa de infecções nosocomiais, e Mylotte & McDermont, 1987, reportam em seu artigo que o *S. aureus* é frequentemente relacionado a infecções da corrente sanguínea com percentual de 20 a 40%.

No Brasil, a taxa média de prevalência das infecções hospitalares associadas ao *Staphylococcus aureus*, como principal agente etiológico varia entre 17% a 26% (Tavares, 2002). Nesse estudo, a taxa de prevalência obtida foi de 3,8% nas unidades hospitalares do município de Macapá. Durante o período do estudo, não foi possível relacionar estes achados com a infecção hospitalar por falta de estudo clínico epidemiológico para cada caso, todavia, determinar a prevalência de ocorrência de infecção hospitalar é uma estratégia epidemiológica importante para a proposição de medidas de prevenção e controle, assim como é também um dos critérios mais utilizados para escolha adequada da terapêutica (Almeida *et al.*, 2007).

No que diz respeito à procedência das amostras, o Hospital da Criança e do Adolescente foi o que apresentou maior ocorrência de isolamento de *S. aureus*, sendo 46 procedentes da enfermaria e 11 da UTI. Os mesmos achados foram encontrados em um estudo da frequência de isolamento desse patógeno com perfil de resistência à oxacilina em diferentes enfermarias do Hospital de Clínicas da Faculdade de Medicina de Marília (Caldas *et al.*, 2007).

O *S. aureus* possui um conjunto de mecanismo de virulência e grande versatilidade em suas estratégias patogênicas, o que influi no desenvolvimento da resistência aos antibióticos e elevada vulnerabilidade à infecção (Beretta *et al.*, 2004). Neste estudo ficou evidente a presença de amostras ORSA com elevada resistência a inúmeros antimicrobianos, incluindo os beta-lactâmicos, aminoglicosídeos, lincosaminas e macrolídeos.

Atualmente, um grande número de isolados de *S. aureus* que causam infecção ou simplesmente colonizam adultos saudáveis são resistentes à penicilina (Oliveira *et al.*, 2002). Estes dados corroboram com os dados encontrados nesta pesquisa, onde do total de 105 amostras, 102 (97,1%) apresentaram resistência para este antimicrobiano.

A taxa de resistência do *S. aureus* à oxacilina tem aumentado vertiginosamente (Chambers, 2001; Lowy, 2003). Esta resistência pode variar muito de hospital para hospital, de um lugar para outro (Sader, 2002). Neste estudo, a taxa de ocorrência de ORSA, entre as infecções estafilocócicas hospitalares foi de 23,8%, estes resultados não estão de acordo com alguns estudos realizados no Brasil, que demonstraram taxas de prevalência de *S. aureus* resistentes à oxacilina variando entre 40% a 80% (Sader *et al.*, 2001, Almeida *et al.*, 2007). Valores semelhantes foram encontrados em países como os

Estados Unidos da América com 43,2% (Kuehnert *et al.*, 2005) e na Europa, em estudo realizado por Timersma *et al.*, no período de 1999-2002 (2004).

A América do Sul apresenta uma dos índices mais altos de resistência bacteriana em infecções hospitalares (Sader, 2003). A identificação de cepas de *S. aureus* resistentes à oxacilina em instituições hospitalares é uma ferramenta epidemiológica importante, pois estas estirpes funcionam como marcador de resistência para outro grupo de antibióticos como aminoglicosídeos, macrolídeos e cefalosporina (Almeida *et al.*, 2007).

Na presente pesquisa foi observado elevada resistência das cepas ORSA às quinolonas e aos macrolídeos (ciprofloxacina e tetraciclina, 44%, eritromicina, 64%). Vários estudos realizados no Brasil demonstraram dados semelhantes aos encontrados nos hospitais de Macapá (Mendes *et al.*, 2002; Netto *et al.*, 2001). Em outros estudos realizados por Calderón-James *et al.* (2002), no México, e Thouverez *et al.* (2003) na França, também encontraram resultados semelhantes aos dessa pesquisa.

Ressaltam-se ainda os estudos realizados em hospitais brasileiros, entre 1995 e 1997, onde foi possível demonstrar a existência de um clone endêmico de ORSA resistente ao ciprofloxacino, á eritromicina, á lincomicina, ao sulfazotrim e à tetraciclina (Oliveira *et al.*, 2001), porém, neste estudo não se procedeu a análise molecular das amostras ORSA para se identificar a existência da correlação clonal entre as cepas.

Avaliar a resistência aos aminoglicosídeos é muito importante, uma vez que esta classe de antibiótico pode ser associada aos beta-lactâmicos e glicopeptídeos para o tratamento de infecções graves. Durante o período avaliado, a resistência detectada para gentamicina foi muito elevada (80%). Almeida *et al.* (2007), em estudo de prevalência e

perfil de sensibilidade do *S. aureus*, encontraram um percentual de resistência a gentamicina de 66,75%.

O aumento da frequência de infecções hospitalares causada por cepas ORSA, assim como, o tratamento prolongado além do uso indiscriminado, e nem sempre criterioso, dos antibióticos de amplo espectro de ação, como a vancomicina, dificultam cada vez mais o controle das infecções estafilocócicas (Spiandorello *et al.*, 2000; Mímica & Berezim, 2006).

Inúmeros são os estudos que têm relatado a redução da sensibilidade ou até mesmo resistência total para os glicopeptídeos (Tenover *et al.*, 2001; Oliveira *et al.*, 2001a; Lutz *et al.*, 2003; Rodriguez & Vesga, 2005; Mímica & Berezim, 2006). Lutz *et al.* (2003), descreveram a falência do tratamento com a vancomicina em infecção estafilocócica em um hospital brasileiro. Destaca-se que durante o período de realização deste estudo, todas as amostras de *S. aureus* apresentaram 100% de sensibilidade para a vancomicina e teicoplanina, quando aplicado o teste estatístico.

Neste trabalho, nove amostras apresentaram resistência à quinupristina/dalfopristina, sendo que 32% deste total apresentaram resistência à oxacilina. Estes dados são discordantes dos achados por Mendes *et al.* (2002), que avaliaram a atividade *in vitro* da quinupristina/dalfopristina para cocos Gram positivos isolados de cinco centros brasileiros.

5. CONCLUSÕES

- A prevalência de isolados de *Staphylococcus aureus* neste estudo foi 3,8%.
- O hospital de maior incidência desse patógeno foi o Hospital da Criança e do Adolescente, sendo que a faixa etária com maior número de amostras foi a de 0 a 10 anos de idade.
- Entre os profissionais de saúde, as enfermarias apresentaram a maior ocorrência de cepas resistentes, enquanto que as Unidades de Terapia Intensiva baixo percentual de amostras resistentes.
- Este estudo evidenciou uma resistência de 97,1 % para penicilina.
- A resistência encontrada para o *Staphylococcus aureus* em relação à oxacilina foi de 23,8%, este índice é considerado baixo.
- As cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes à oxacilina, apresentaram resistência cruzada com à Gentamicina (80%); Sulfazotrim (72%), Tetraciclina (64%), Eritromicina (60%), Clindamicina (44%), Norfloxacino (44%) e Quinupristina/Dalfopristina (32%). Esta resistência demonstrou ser de alta significância quando foi aplicado o teste estatístico.
- A vancomicina e à teicoplanina apresentaram 100% de sensibilidade para todos isolados.
- O perfil de sensibilidade de amostras clínicas a antimicrobianos sofre influência importante na maneira como os antimicrobianos são utilizados em um determinado hospital ou região geográfica. Desse modo, os dados revelam a necessidade de controle no uso de antibióticos no ambiente hospitalar, e de maior vigilância da equipe de Controle de Infecção Hospitalar no combate à disseminação de linhagens resistentes de *Staphylococcus aureus*.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, M. I., BEDENDO, J., CAVASIN, E. D., TOGNIM, M. C. B. Prevalência e perfil de sensibilidade de *Staphylococcus aureus* isoladas de casos clínicos de infecções hospitalares. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, 9: 489- 495, 2007.
- AYRES, M., AYRES JR, M., AYRES, D. L., SANTOS, A. S. **BIO ESTAT 4.0. Aplicação Estatística nas Áreas das Ciências Bio-Médicas**. Belém: Sociedade Civil Mamirauá, 2005, 290p.
- BARNARDES, R. C., JORGE, A. O. C., LEÃO, M. V. P. Sensibilidade a oxacilina, vancomicina e teicoplanina de *Staphylococcus* coagulase positivos isolados de pacientes hospitalizados em São José dos Campos. **Revista Biociências**, **10**: 73-78, 2004.
- BLATT, J. M., PIAZZA, C. M. Perfil de sensibilidade de cepas *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus* coagulase negativo isolados em pacientes internados. **RBAC**, 36: 129-131, 2004.
- BERETTA, A. I. R. Z., TRABASSO, P., STUCHI, R. B., MORETTI, L. Use of molecular epidemiology to monitor the nosocomial dissemination of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in university hospital from 1991 to 2001. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, **37**: 1345-1351, 2004.
- BIOMERIEUX. ID32 STAPH. Sistema de Identificação dos Estafilococos. França, 2006.
- BIOMERIEUX. ATB STAPH 5. Antibiograma para os Estafilococos. França, 2006.
- BEIGUELMAN, B. **Curso Prático de Bioestatística**. 5^a ed. Ribeirão Preto (SP): Fundação de Pesquisa Científica, 2002, 272p.

- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Deteção e Identificação de Bactérias de Importância Médica**. Modulo V, p. 1-9. Brasília: ANVISA, 2004.
- BOHACH, G. A., FAST, D. J., NELSON, R.D., SCHILIEVERT, P. M. *Staphylococcal and Streptococcal pyogenic toxins involved in shock syndrome and related illnesses*. **Critical Reviews in Microbiology**, 17:251-271, 1990.
- BOHACH, G. A., DINGES, M. M., MITCHELL, D. T., OHLENDORF, P. M., SCLIEVERT, P. M. Exotoxins. In: **The Staphylococci in human disease**. Crossley, K. B. & Archer, G. L. (eds). Churchill Livingstone, 1997. P. 83-111.
- CALDEIRON-JAIMES, E., MONTEROS, L. E. E., BELTRAN-AVILA, R. Epidemiology of drug resistance: the case of *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci infections. **Salud Pública de Mexico**, 44: 108-112, 2002.
- CAVALCANTE, S. M. M., FRANÇA, E. R., VILELA, M. A., MONTENEGRO, F., CABRAL, C., MEDEIROS, A. C. R. Estudo comparativo da prevalência de *Staphylococcus aureus* importado para as unidades de terapia intensiva de hospital universitário, Pernambuco, Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, 9: 436-446, 2006.
- CALDAS, F. A. A., TRONCOSO, F. T., FERNANDES, S. T., COELHO, M. A. R., NONAKA, R. O., GONÇALVES, M. A, TANAKA, I. I. Estudo da frequência de isolamento de *Staphylococcus aureus* resistentes a oxacilina em diferentes enfermarias do Hospital de Clínicas da Faculdade de Medicina de Marília. Disponível em: <<http://www.famema.br/disc/microbiologia/trabalh5.htm>>. Acesso em: 28/11/2007.

- CHAMBERS, F.H. The Changing Epidemiology of *Staphylococcus aureus*? **Emerging Infectious Diseases**, **7**: 178-182, 2001.
- CHARLEBOIS, E.D., PERDREAUS-REMINGTON, F., KREISWIRTH, B., BANGSBERG, D.R., CICCARONE, D., DIEP, B.A., NG, V.L., CHANSKY, K., CHAMBERS, F. H. Origins of Community Strains of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. **The Infectious Diseases Society of America**, **39**: 47-54, 2004.
- CHRISTENSEN, G. D., SIMPSON, W. A., BISNO, A. L. BEACHEY, E. H. Adherence of slime-producing strains of *Staphylococcus epidermidis* to smooth surfaces. **Infection and Immunity**, **37**: 318-326, 1982.
- CIMOLAI, M. *Staphylococcus aureus* outbreaks among newborns: new frontiers in and old dilemma. **American Journal of Perinatology**, **20**:125-36, 2003.
- CONTERNO, L. O., WEY, S.B., CASTELO, A. *Staphylococcus aureus* bacteremia; comparison of two periods and a predictive model of mortality. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, **6**: 288-297, 2002.
- CORBIA, A.C.G., NASCIMENTO, M.G.F., OLIVEIRA, C.Z.F., NASCIMENTO, E.R. *Staphylococcus aureus*: **importância para a saúde pública e aspectos epidemiológicos**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2000, 15p.
- CUNHA, B. A. Antibiotic resistance. **Drugs of today**, **34**: 691-698, 1998.
- CUNNINGHAM, R., COCKAYNE, A., HUMPHREYS, H. Clinical and molecular aspects of the pathogenesis of *Staphylococcus aureus* bone and joint infections. **The Journal of Medical Microbiology**, **44**: 157-164, 1996.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE - CSLI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Fifteenth informational

- supplement. CLSI document M100-S15. *Clinical and Laboratory Standards Institute*. Wayne, Pennsylvania, Estados Unidos, 2005.
- DAVID, C. M. N. Infecção em UTI. **Medicina**, 31: 337-348, 1998.
- DERESINSKI, S. Meticillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: An evolutionary, epidemiologic, and therapeutic odyssey. **Clinical Infectious Diseases**, 40:562-73, 2005.
- DIEKEMA, D. J., PFALLER, M. A., SCHMITZ, F. J., SMAYEVSKY, J., BEEL, J., JONES, N. R., BEACH, M., SENTRY GROUP. Survey of infections due to *Staphylococcus* species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada Latin America, Europe and Western Pacific Region for SENTRY antimicrobial surveillance program, 1997- 1999. **Clinical Infectious Diseases**, 32: 114-132, 2001.
- EL-ALDHAMI, W., STEWART, P. R. Genome organization of *Staphylococcus aureus* isolates from different populations. **Journal Medical of Microbiology**, 46:297-306, 1997.
- FARIAS, W. V. L., SADER, H. S., LEME, I. L., PIGNATARI, A. C. Padrão de sensibilidade de 117 amostras clínicas de *Staphylococcus aureus* isoladas em 12 hospitais. **Revista da Associação Médica do Brasil**, 43: 199-204 1997.
- FARRINGTON, M., LING, J., LING, T., FRENCH, G. L. Outbreaks of infection with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on neonatal and burns units of a new hospital. **Journal of Epidemiology and Infections**, 105: 215-228, 1990.
- FILHO, V.C.B., RESCHEKE, C. R., HÖRNER, R. Perfil epidemiológico das infecções hospitalares na unidade de terapia intensiva infantil do Hospital de Caridade e

- Beneficiência de Cachoeira do Sul, RS, Brasil. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, 38: 267-270, 2006.
- FOSTER, T. *Staphylococcus*. Disponível em: <<http://www.gsbs.utmb.edu/microbook/ch012.Htm>>. Acesso em: 28/09/2005.
- GIL., D. M. M. *Staphylococcus aureus*: Microbiología y aspectos moleculares de la resistencia a meticilina. **Revista Chilena de Infectología**, 17: 145-152, 2000.
- HAMMER, K. A., CARSON, C. F., RILEY, T. V. **Effects of Tea Tree Oil on *Staphylococcus aureus* virulence factors**. Rural Industries Research and Development Corporation, 2005, 32p.
- HIRAMATSU K., KATAYAMA Y., YUZAWA H. Molecular Genetics of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal of Medical Microbiology**. 292:67-74, 2002.
- HOLT, J. G., KRIEG, N. R., SNEATH, P. H. A., STALEY, J. T., WILLIAMS, S. T. The Mycobacteria. In: **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. 9th ed. Philadelphia; Lippincott Williams Wilkins, 1994. p. 597-603.
- HORITA, S., NETO, B. L., KIMURA, H., EJZENBERG, B., NETO, R. J. A., GRISI, E. F. J. S. Septicemia por *Staphylococcus aureus*. **Pediatria (São Paulo)**, 8: 94- 98, 1986.
- ITO, T., KATAYAMA, Y., ASADA, K., MORI, N., TSUTSUMIMOTO, K., TIENSATORN, C., HIRAMATSU, K. Structural comparison of three types of *Staphylococcal* cassette chromosome *mec* integrated in chromosome in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 45:1323-1336, 2001.

- JAIMES-CALDERÁON, E., MONTEROS, L. E., BELTRÁN-AVILA, R.
Epidemiology of Drug Resistance: the case of *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci infections. **Revista de Salud Pública de México**, 44: 108-112, 2002.
- KANEKO, J., KAMIO, Y. Bacterial two-component and hetero-heptameric pore-forming cytolytic toxins; Structures, pore-forming mechanism and organization of the genes. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, 68:981-1003, 2004.
- KIKUCHI, k., TAKAHASHI, N., PIAO, C., TOTSUAKA, H. N., UCHIYAMA, T.
Molecular Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains Causing Neonatal Toxic Shock Syndrome-like Exantematous Disease in Neonatal and Perinatal Wards. **Journal Clinical Microbiology**, 7: 3001-3006, 2003.
- KONEMAN, E. W., ALLEN, S. D., JANDA, W. M., SCHRECKENBERGER, P. C. & WINN, W. C. Cocos Gram-Positivos: Parte I: Estafilococos e Microrganismos Relacionados In: **Diagnóstico Microbiológico - Texto e Atlas Colorido**. 5ª ed. Rio de Janeiro: Médica & Científica, 2006, p. 619-643.
- KLOOS, W.E., SCHLEIFER, K. H. Simplified scheme for routine identification of human *Staphylococcus* species. **Journal of Clinical Microbiology**, 1: 82-88, 1975.
- KUEHNERT, M. J., HILL, H. A., KUPRONIS, B. A., TOKARS, J. I., SOLOMON, S. L. Methicillin-resistant-*Staphylococcus aureus* hospitalizations, United States. **Emerging Infectious Diseases**, 11:868-872, 2005.
- LAYER, F., GHEBREMEDHIN, B., MODER, K. A., KÖNIG, W., KÖNIGB.
Comparative Study Using Various Methods for Identification of *Staphylococcus* Species in Clinical Specimens. **Journal of Clinical Microbiology**, 44: 2824-2830, 2006.

LOWY, F. D. *Staphylococcus aureus* Infections. **The New Journal of Medicine**, 20: 520-532, 1998.

LOWY, F. D. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. **The New Journal of Clinical Investigation**, 111: 1265-1273, 2003.

LUTZ, L., MACHADO, A., KUPLITCH, N., BARTH, A.F. Clinical Failure of vancomycin treatment of *Staphylococcus aureus* infection in a tertiary care hospital in southern Brazil. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, 7: 224-228, 2003.

MACÊDO, J.A.B. Biofilmes Bacterianos, uma preocupação da indústria farmacêutica. **Revista FÁrmaco e Medicamentos**, 7: 19-24, 2000.

MARTINEZ, R., GIRONI, R. H. A. R., SANTOS, V. R. Sensibilidade bacteriana a antimicrobianos usados na prática médica-Ribeirão Preto-SP-1994. **Medicina**, 29: 278-284, 1996.

MARTINS, J. F. L., MARTINS, A. D. O., MILAGRES, R. C. R. M., ANDRADE, N. J. Resistência a antibióticos de *Staphylococcus aureus* isolados de dietas enterais em um hospital público de Minas Gerais. **Seminário: Ciências Biológicas e da Saúde**, 28:9-14, 2007.

MENDES, C., SINTO, S.I., HSIUNG, A., OPLUSIL, C. TEIXEIRA, L., SEGURA, A., BARTH, A., NICODEMO, A. C. Atividade antimicrobiana *in vitro* de quinupristina/ dalfopristina para cocos gram-positivos isolados de cinco centros brasileiros: resultado do estudo de vigilância L-SMART. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Tropical**, 38: 191-197, 2002.

MEET-MARQUET, N. V. D., LINA, G., QUENTIN, R., YAOUANC-LAPALLE, C. F., TAKAHASHI, N., ETIENNE, J. Staphylococcal exanthema Disease in

- Newborn Due to a Virulent Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* strain Containing the TSS-1 Gene in Europe: an Alert for Neonatologists. **Journal Clinical Microbiology**, 10: 4883-884, 2003.
- MIMICA, M. J., BEREZIN, E. N. *Staphylococcus aureus* resistente à vancomicina: um problema emergente. **Arquivo Médico do Hospital da Faculdade de Ciências Médicas de Santa Casa de São Paulo**, 51:2-56, 2006.
- MYLOTTE, J. M., McDERMONT, C. *Staphylococcus aureus* bacteremia caused by infected intravenous catheters. **American Journal of Infection Control**, 15:1-6, 1987.
- MOREIRA, M., MEDEIROS, E.A.S., PIGNATARI, S.B., CARDO, W.D.M. Efeito da Infecção hospitalar da corrente sanguínea por *Staphylococcus aureus* resistente à oxacilina sobre a letalidade e o tempo de hospitalização. **Revista da Associação Médica Brasileira**, 44: 263-268, 1998.
- NETTO, M. Z., HERREIRO, M., BANDEIRA, C. O. P., ITO, Y., CIORLIN, E., SAQUETI, E. E., ANSILEIRO, I. J., GONSALVES, L., SIQUEIRA, V. L. D. *Staphylococcus aureus*: incidência e resistência antimicrobiana em abscessos cutâneos de origem comunitária. **Acta Scientiarum**, 23: 709-712, 2001.
- NOVAK, R.F. **Ocorrência de *Staphylococcus aureus* Resistente à Meticilina em Leite Humano Ordenado**. Tese (Doutorado em ciências (Microbiologia)) - Rio de Janeiro, Instituto de Microbiologia Prof.Paulo de Góes, 1999,102 p.
- OLIVEIRA, G.A., OKADA, S. S., GUENTA, R. S., MAMIZUKA, E. M. Avaliação da Tolerância à vancomicina em 395 cepas hospitalares de *Staphylococcus aureus* resistente à oxacilina. **Jornal Brasileiro de Patologia**, 37: 239-246, 2001a.

- OLIVEIRA, G. A., FARIA, J. B., LEVY, C. E., MAMIZUKA, E. M. Characterization of the Brazilian Endemic Clone of Methicilin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from Hospitals Throughout Brazil. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, **5**: 163-170, 2001b.
- OLIVEIRA, D.C., TOMASZ, A., DE LENCASTRE H. Secrets of success of a human pathogen: molecular evolution of pandemic clones of methicillin resistance *Staphylococcus aureus*. **Lancet Infectious Diseases**, **2**: 180-189, 2002.
- OPLUSTIL, C. P., ZOCOLLI, C. M., TOBOUTI, N. R., SINTO, S. I. **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica**. São Paulo: Editora Savier, 2004, p. 39-40.
- O'RIORDAN, K., L E E, J. C. *Staphylococcus aureus* capsular polysaccharides. **Clinical Microbiology Reviews**, **17**: 218-234, 2004.
- PEACOCK, S.J., SILVA, I., LOWY, F. D. What determines nasal carriage of *Staphylococcus aureus*? **Trends in Microbiology**, **9**: 605-610, 2001.
- PORTER, R., SUBRAMANI, K., THOMAS, A. N., CHADWICK, P. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* on admission to intensive care: incidence and prognostic significance. **Intensive Care Medical**, **29**: 655-658, 2003.
- PREVÓST, G., CRIBIER, B., COUPPIÉ, P., SUPERSAC G., FINCK-BARBANÇON, V., MONTEIL, H., PIEMONT, Y. Panton-Valentine leucocidin and gamma-hemolysin from *Staphylococcus aureus* ATCC49775 are encoded by distinct genetic loci and have different biological activities. **Infection and Immunity**, **63**:4121-4129, 1995.
- RICARDO, S. B. Emergência de *S. aureus* Metilina-Resistente(MARSA) na comunidade. **Prática Hospitalar**, **34**:131-133, 2004.

- RODRIGUEZ, A.C., VESGA, O. *Staphylococcus aureus* resistente à vancomicina. **Biomédica**, 25:575-587, 2005.
- ROSSI, F., ANDREAZZI, D. B. Cocos Gram-Positivos: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* spp. e *Streptococcus pneumoniae* e os principais mecanismos de resistência **in: Resistência bacteriana:interpretando o antibiograma**. 1ª ed. São Paulo: Atheneu, 2005, p.27- 64.
- SÁ, M. E. P., CUNHA, M. L. R. S., ELIAS, A. O., LANGONI, C. V. H. Importância do *Staphylococcus aureus* nas mastites subclínicas: pesquisa de enterotoxinas e toxinas e toxina do choque tóxico, e a relação com a contagem de células somáticas. **Brazilian Journal of Veterinary Research na Animal Science**, 41: 320-326, 2004.
- SADECK, E. S. R., CECCON, M. E.J. R. Aspectos clínicos das infecções estafilocócicas em Unidade de terapia intensiva neonatal. **Pediatria**, 28: 234-241, 2006.
- SADER, H. S. Bactéria multirresistentes: microbiologia, epidemiologia e controle. Prática Hospitalar, 2003. Disponível em: <
<http://www.praticahospitalar.com.br/pratica%2030/paginas/materia%2003-30.html>>. Acesso em: 30/11/2007.
- SADER, H. S. Resistência antimicrobiana em Latinoamérica: Como estamos? **Revista Chilena de Infectologia**, 19: 510-513, 2002.
- SADER, H. S., MENDES, R. E., GALES, A. C., JONES, R. N., PFLER, M. A., ZCOLLI, C., SAMPAIO, J. Perfil de sensibilidade a antimicrobianos de bactérias isoladas do trato respiratório baixo de pacientes com pneumonia internados em

- hospitais brasileiros. Resultados do Programa SENTRY, 1997 e 1998. **Jornal de pneumologia**, 27: 59-67, 2001.
- SANTOS, B.M.O. Estudo longitudinal sobre portadores sãos de *Staphylococcus aureus* em alunos de um curso de auxiliar de enfermagem. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 32: 394-400, 1999.
- SAKOULAS, G., GOLD, H.S., VENKATARAMAN, L., DEGIROLAMI, P. C., ELIOPOULOS, G.M., QIAN, Q. Methicilin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Comparison of Susceptibility testing Methods and Analysis of *mecA*-Positive Susceptible Strains. **Journal of Clinical Microbiology**, 39: 3946-3951, 2001.
- SILVA, H. A., ABDALLAH, V. O. S., CARNEIRO, C. L., FILHO, P. P. G. Infection and colonization by *Staphylococcus aureus* in a high risk nursery of a Brazilian hospital. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, 7:381-386, 2003.
- SPIANDORELLO, W.P., MORSH, F., SEBBEN, S., SPIANDORELLO, F. S. A. A resistência do *Staphylococcus aureus* à oxacilina em hospital de Caxias do Sul. **Revista Associação Médica do Rio Grande do Sul**, 44: 120-125, 2005.
- SOUZA, M.V., REIS, C., PIMENTA, F.C. Revisão sobre a aquisição gradual de Resistência de *Staphylococcus aureus* aos antimicrobianos. **Revista de Patologia Tropical**, 34: 27-36, 2005.
- SOUZA, C. S. Infecções dos tecidos moles - Erisipela, Celulite, Síndromes Infeciosas mediadas por toxinas. **Medicina**, 36: 351-356, 2003.
- STAMM, A. M., LONG, M. N., BELCHER, B. Higher overall nosocomial infection rate because of increased attack rate of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **American Journal of Infection control**, 21:70-74, 1993.

- STAPHYLOCOCCUS.** Disponível em: < <http://www.textbookbacteriology.net/staph.htm> >. Acesso em: 26/09/2005.
- TAVARES, W. Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 33: 281-301, 2000.
- TENOVER, F. C., BIDDLE, J. W., LANCASTER, M. V., Increasing resistance to vancomycin and other glycopeptides in *Staphylococcus aureus*. **Emerging Infectious Diseases**, 7: 327-332, 2001.
- TIEMERSMA, E. W., BRONZWAER, S. L. A. M., LYYTIKÄINEN, O., DEGENER, J. E., SCHRIJNEMKERS, P., BRUINSMA, N., MONEN, J., WITTE, W., GRUNDMANN, H., EUROPIAN ANTIMICROBIAL RESISTANCE SURVEILLANCE SYSTEM PARTICIPANTS. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe, 1999-2002. **Emerging Infectious Diseases**, 10: 1627-1634, 2004.
- TORRES, C. Lectura interpretación del antibiograma de cocos grampositivos. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, 30: 354-364, 2002.
- THOUVEREZ, M., MULLER, A., HOCQUET, D., TALON, D., BERTRAND, X. Relationship between molecular epidemiology and antibiotic susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in French teaching hospital. **Journal of Medical Microbiology**, 52: 801-806, 2003.
- TRABULSI, L. R., ALTERTHUM, F., GOMPERTZ, O. F., CANDEIAS, J. A. N. *Staphylococcus* in: **Microbiologia**. 4^a ed. São Paulo: Atheneu, 2005, p. 175-182.

- TRINDADE, P. A., McCULLOCH., J. A., OLIVEIRA, G. A., MAMIZUKA, E. M.
Molecular techniques for MRSA typing: current issues and perspectives. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, 7: 32-43, 2003.
- WANNET, W. J. B., SPALBURG, E., HECK, M. E. O. C., PLUISTER, G. N.,
TIEMERSMA, E., WILLENS, R. J. L., HUIJSDENS, X. W., DE NEELING, A. J.,
ETIENNE, J. Emergence of virulent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*
Journal of Clinical Microbiology, 43:3341-3345, 2005.
- WEENS, J. J.JR. The many face of *Staphylococcus aureus* infection. Recognizing and
managing its life-threatening manifestations. **Postgraduate Medical**, 110: 24-6,
29-31, 35-6, 2001.
- YAMASAKI, O., KANEKO, J., MORIZANE, S., AKIYAMA, H., ARATA J.,
NARITA, S., CHIBA, J., KAMIO, Y., IWATSUKI, K. The association between
Staphylococcus aureus strains carrying Panton-Valentine leukocidin genes and the
development of deep-seated follicular infection. **Clinical Infectious Diseases**,
40:381-385, 2005.

ANEXO I



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

1. Justificativa e objetivo da pesquisa: A utilização dos antimicrobianos em terapêutica revolucionou, de início, a abordagem das infecções e o seu sucesso geraram grande otimismo em relação à prevenção e ao tratamento dos processos infecciosos. Entretanto, o uso abusivo e nem sempre criterioso ou racional dos antibióticos e quimioterápicos rapidamente gerou dificuldades, sendo a maior delas representada pela progressiva resistência bacteriana às drogas. Com o aumento da resistência bacteriana as drogas em escala mundial, o problema que inicialmente era predominante entre as enterobactérias, começou a crescer entre as bactérias Gram positivas, e dentre estes patógenos destacam-se principalmente os microrganismos pertencentes ao gênero *Staphylococcus*. Deste gênero, o *Staphylococcus aureus* e o agente que mais vem se destacando como agente etiológico das infecções comunitárias e hospitalares.

2. Está sendo realizada no LACEN-AP, uma pesquisa sobre a frequência de isolamento de cepas de *S. aureus* resistente aos β -lactâmicos em processos infecciosos procedentes de pacientes internados em hospitais públicos de Macapá (AP), que será apresentada como uma dissertação de mestrado na Universidade Federal do Pará (UFPA). A finalidade maior deste trabalho, cujo título é **epidemiologia e perfil de sensibilidade de *staphylococcus aureus* procedentes de hospitais públicos de Macapá-Amapá**, é Identificar linhagens resistentes de *S. aureus* aos β -lactâmicos, particularmente a

oxacilina, apoiando as atividades das Comissões de Controle de Infecção Hospitalar do Estado e sugerir medidas de controle se necessário.

3. As responsáveis pela pesquisa são a Farmacêutica-Bioquímica do LACEN-AP, Margarida Maria Machado de Souza e a Prof. Dra.: Dr^a. Karla T. S. Ribeiro (UFPA).

4. Benefícios que poderão ser obtidos: As Instituições que aceitarem participar desta pesquisa terão acesso aos resultados obtidos, os quais estarão disponíveis para suas referidas Comissões de Controle de Infecção Hospitalar.

5. Esclarecemos que é dada toda garantia aos participantes da pesquisa de:

5.1. Acesso a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos e benefícios relacionados à pesquisa.

5.2. Liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo.

5.5. Que a participação na pesquisa é sigilosa, isto significa que os dados de cada Instituição/Hospital utilizados na pesquisa terão uso exclusivo neste trabalho, sem a identificação individual do participante.

6. Consentimento livre e esclarecido:

Declaro que li as informações acima sobre a pesquisa, e que como gestor da Instituição/Hospital me sinto perfeitamente esclarecido (a) sobre o conteúdo da mesma e sendo assim autorizo a utilização dos dados da Instituição do qual sou responsável.

Macapá, de de 2004.

Assinatura do Participante

Assinatura do Pesquisador