

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS**

Caracterização da susceptibilidade aos antimicrobianos de isolados de *Staphylococcus aureus* do Centro de Terapia Intensiva do Hospital Divina Providência

Jairo Luís Hoerlle

Orientador: Prof. Dr. Adriano Brandelli

Dissertação de Mestrado

**PORTO ALEGRE
2005**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS**

Caracterização da susceptibilidade aos antimicrobianos de isolados de *Staphylococcus aureus* do Centro de Terapia Intensiva do Hospital Divina Providência

Jairo Luís Hoerlle

Dissertação de mestrado, apresentada ao Programa de Pós-graduação em Medicina: Ciências Médicas, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para obtenção do Título de Mestre em Ciências Médicas. Área de concentração: Microbiologia – Linha de pesquisa: *Staphylococcus aureus*.

Orientador: Prof. Dr. Adriano Brandelli

**PORTO ALEGRE
2005**

Hoerlle, Jairo Luís

Caracterização da susceptibilidade aos antimicrobianos de isolados de *Staphylococcus aureus* do Centro de Terapia Intensiva do Hospital Divina Providência / Jairo Luís Hoerlle. – Porto Alegre: UFRGS / Faculdade de Medicina, 2005.

Viii, 81f. : il. 30 cm.

Orientador: Adriano Brandelli

Dissertação (mestrado) - UFRGS / Faculdade de Medicina / PPGMCM, 2005.

1. *Staphylococcus aureus*. 2. Centro de Terapia Intensiva. 3. Susceptibilidade a antimicrobianos. 4. Perfil fenotípico. 5. Controle de infecção. I. Brandelli, Adriano. II. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas. III. Título.

Dedico este estudo a

“Minha família”

Que sempre será a razão de todo o meu esforço.

À Margot, esposa, companheira, grande incentivadora em tudo o que faço e que muitas vezes assumiu minhas atribuições para que eu pudesse realizar este trabalho.

À Gabriela, minha filha, motivo do meu orgulho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, razão de tudo, por ter me propiciado realizar este trabalho, sem o qual nada seria possível.

Agradeço ao Prof. Dr. Adriano Brandelli pela orientação, sugestões, ensinamentos e auxílio no desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço à Dra. Alzira Resende do Carmo Aquino pelos ensinamentos, conselhos, amizade e apoio científico, primordiais nesta caminhada.

Agradeço ao Programa de Pós Graduação em Medicina: Ciências Médicas, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e todos os seus professores pelos ensinamentos e conhecimentos recebidos.

Agradeço ao Hospital Divina Providência, em especial, ao Dr. Hilton Barreto Orengo, Chefe da Comissão de Controle de Infecção, pela autorização para realização deste trabalho nesta instituição.

Agradeço aos amigos e colegas do Laboratório Unilab, pela contribuição espontânea e companheirismo dedicado.

A todos que de alguma forma fizeram parte desta caminhada: muito obrigado.

ÍNDICE

INTRODUÇÃO	8
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	10
1. Infecções Hospitalares	10
2. Resistência Bacteriana	11
2.1 Antimicrobianos	11
2.2 Características dos Antimicrobianos	13
2.2.1 Penicilinas	13
2.2.2 Cefalosporinas	13
2.2.3 Carbapenêmicos	14
2.2.4 Aminoglicosídeos	14
2.2.5 Macrolídeos	15
2.2.6 Tetraciclina	15
2.2.7 Sulfonamidas	15
2.2.8 Glicopeptídeos	16
2.3 β -Lactamases	16
3. <i>Staphylococcus aureus</i>	17
3.1 Descrição de Gênero e Espécie.....	17
3.1.1 Descrição do Gênero	17
3.1.2 Descrição da Espécie.....	18
3.2 <i>Staphylococcus aureus</i> e Resistência Bacteriana.....	18
3.3 Condições de Infecção por <i>Staphylococcus aureus</i>	22
4. Referências	23
5. Objetivos	27
6. Antimicrobial resistance in <i>Staphylococcus aureus</i> strains isolated from the center of intensive therapy of the Hospital Divina Providencia	28
6.1 Summary.....	30
6.2 Introduction	31
6.3 Materials and Methods.....	35
6.4 Results	37
Antimicrobial susceptibility	37
Typing of isolates by AST.....	38
6.5 Discussion.....	39
6.6 References	48
7. Resistência a antimicrobianos de isolados de <i>Staphylococcus aureus</i> do centro de terapia intensiva do Hospital Divina Providência	51
7.1 Resumo.....	51
7.2 Introdução	52
7.3 Materiais e Métodos	56
7.4 Resultados	58
Susceptibilidade aos antimicrobianos	58
Tipificação dos isolados por TSA	59
7.5 Discussão.....	61
7.5 Referências	70

8. Anexos.....	73
Anexo 1 – Termo de Compromisso de Utilização de Dados.....	74
Anexo 2 – Ágar Simples e Agar Sangue.....	75
Anexo 3 – Ágar Mueller-Hinton.....	75
Anexo 4 – Teste da Catalase.....	76
Anexo 5 – Teste da Coagulase em Tubo e em Lâmina.....	76
Anexo 6 – Coloração pelo Método de Gram	77
Anexo 7 – Caldo de Soja Trypticaseína ou Caldo Glicosado	77
Anexo 8 – Fluxograma para Identificação de <i>S.Aureus</i>	78
Anexo 9 – Perfil de Susceptibilidade em 2001.....	79
Anexo 10 – Perfil de Susceptibilidade em 2003.....	80
Anexo 11 – Perfil de Susceptibilidade em 2004.....	81

INTRODUÇÃO

A presença do *Staphylococcus aureus* no ambiente hospitalar vem sendo relatada há muitas décadas por diversos pesquisadores. O fato desta bactéria estar presente causando uma série de infecções provoca, conseqüentemente, a investida no uso de antimicrobianos para combater sua disseminação. Porém, são fatores de risco para o surgimento de organismos resistentes, a hospitalização prolongada e o tratamento prévio com antibióticos (Ueno, 2001).

Nos centros de terapia intensiva os pacientes também estão expostos à presença das bactérias, entretanto a chance de infecção aumenta na medida em que aumenta o grau de comprometimento dos mecanismos de proteção destes pacientes, seja por meio de aberturas cirúrgicas ou técnicas invasivas, como por meio de mecanismos de ventilação forçada e manuseios curativos executados com variável grau de repetibilidade. Nesta situação de comprometimento físico, as bactérias podem se desenvolver e provocar infecções. O *Staphylococcus aureus* já tornou-se resistente a vários antimicrobianos e acaba por gerar perfis específicos de sua espécie, como o MRSA (*Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina) e o ORSA (*Staphylococcus aureus* resistentes à oxacilina).

A aquisição de resistência à maioria dos antimicrobianos com atividade antiestafilocócica atualmente disponíveis, como penicilinas, cefalosporinas, carbapenêmicos, aminoglicosídeos, macrolídeos, tetraciclina e sulfonamidas, deixa, por conseguinte, os glicopeptídeos, principalmente a vancomicina, como uma das poucas alternativas terapêuticas eficazes no tratamento de infecções causadas por esta bactéria (Chambers, 1997; Oliveira, 2000).

A barreira necessária para o combate ao avanço desta e de outras bactérias, passa necessariamente por normas de controle de infecção e por boas práticas no uso de antimicrobianos. O reforço das medidas de controle de infecção e o uso adequado dos antimicrobianos ajudarão a evitar o aumento da disseminação destas bactérias no ambiente hospitalar.

O sistema ideal para identificação de linhagens envolvidas em surtos precisa ser padronizado, reprodutível, sensível, prontamente disponível. Deve ter baixo custo e ser aplicável a uma grande variedade de microrganismos. Embora um sistema perfeito não exista ainda disponível, vários métodos são utilizados na identificação de linhagens epidêmicas. Há duas principais vias de identificação, que utilizam características fenotípicas ou métodos moleculares (Ueno, 2001).

O objetivo deste estudo foi identificar o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos de 104 amostras de *Staphylococcus aureus* do Centro de Terapia Intensiva do Hospital Divina Providência de Porto Alegre, isoladas nos anos de 2001, 2003 e 2004, e, a partir dos resultados destes dados fazer a fenotipificação das amostras. Buscou-se avaliar também o controle do avanço bacteriano após a implantação, em 2002, das normas de controle de infecção preconizadas pelo Ministério da Saúde.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Infecções Hospitalares

A infecção hospitalar certamente acompanha a história dos hospitais desde o seu surgimento. Nos primórdios da biografia hospitalar a falta de condições sanitárias adequadas era a principal causa do problema. Pacientes ocupavam o mesmo leito, os alimentos e a água eram precários no que diz respeito à higiene, o que provavelmente contribuiu muito para os elevados índices de mortalidade da época (Gomes, 2002). Atualmente, com a criação das Comissões de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) e com os avanços na área da higienização, houve mudanças positivas na situação dos centros de saúde. Muitos ainda não oferecerem todos os cuidados básicos de maneira adequada, mas pode-se dizer que melhoras visíveis estão presentes.

Segundo o Ministério da Saúde, através da portaria 106 de 24/07/1983, anexo III, a caracterização de infecção hospitalar segue os seguintes critérios:

- a) Infecção hospitalar, também chamada nosocomial ou institucional, é qualquer infecção adquirida após a internação do paciente e que se manifeste durante a internação ou após a alta, quando puder ser relacionada com a hospitalização.
- b) Infecção comunitária, não institucional ou não hospitalar é a infecção constatada ou em incubação no ato da admissão do paciente, desde que não relacionada com a internação anterior no mesmo hospital (Silva 1999).

Considera-se infecção a existência de microrganismos em tecidos ou fluidos orgânicos com sintomas locais ou gerais e o diagnóstico pode se basear em informação clínica ou microbiológica. Sinais indiretos de infecção, tais como parâmetros sorológicos ou bioquímicos, não são decisivos para o diagnóstico de uma infecção hospitalar (Silva, 1999).

O fato de um paciente internar-se em um hospital lhe dá uma grande chance de contrair uma infecção, pois fatores como: imunidade baixa (por causa de alguma doença) e procedimentos cirúrgicos invasivos, (seja de pequeno ou grande porte) entre outros, contribuem para aumentar a chance de contaminação por microrganismos.

Seja em grandes hospitais ou hospitais menores, a Unidade de Terapia Intensiva (UTI) é responsável por concentrar os pacientes clínicos e cirúrgicos mais graves e que, conseqüentemente, necessitam de cuidados contínuos para suporte das funções vitais. Em geral estes pacientes permanecem por um tempo maior expostos ao ambiente hospitalar e por apresentarem condições clínicas predisponentes acabam por contrair infecção.

A associação de doenças e fatores iatrogênicos faz com que os pacientes sejam mais susceptíveis à aquisição de infecções. A resposta imunológica do paciente em terapia intensiva frente ao processo infeccioso é deficiente. Os seus mecanismos de defesa estão comprometidos tanto pela doença motivadora da hospitalização quanto pelas intervenções necessárias para o diagnóstico e tratamento (Pedrosa, 1999).

Embora, os leitos destinados para terapia intensiva representam menos de 2% dos leitos hospitalares disponíveis no Brasil (Pedrosa, 1999), eles contribuem com mais de 25% das infecções hospitalares, com significativo impacto nos índices de morbidade e mortalidade. Em muitos serviços as taxas chegam a ser 5 - 10 vezes maior neste grupo de pacientes (Trilla, 1994).

O que se pensa geralmente sobre infecção hospitalar é que esteja ligada apenas às condições sanitárias do hospital, mas doenças graves, que exigem procedimentos delicados, facilitam a ação de microrganismos (Farhat, 2002).

O *Staphylococcus aureus* é uma bactéria incidente em infecções hospitalares e como infectante está também associada às vias aéreas. Em virtude do paciente internado na UTI respirar por meio do tubo e receber ventilação mecânica, existe maior facilidade da aspiração da bactéria para o pulmão (Farhat, 2002).

2. Resistência Bacteriana

2.1 Antimicrobianos

Antimicrobianos são substâncias químicas que provocam morte ou inibição do crescimento de microrganismos. Podem ser produzidos pelos próprios microrganismos, como bactérias e fungos, ou ser sintetizados total ou parcialmente (Hindler et al., 1994; Barros, 1996). Atualmente, os antimicrobianos estão entre as drogas mais utilizadas em terapêutica, tanto em nível ambulatorial como hospitalar. O emprego indiscriminado destas drogas tem provocado o desenvolvimento de resistência bacteriana e, conseqüentemente, o surgimento de superinfecções por microrganismos resistentes (Barros, 1996). Desta forma, para preservar os pacientes, as instituições e a própria utilidade dos antimicrobianos, é essencial a racionalização do seu emprego e o conhecimento dos princípios que regem sua correta utilização (Barros, 1996).

Há diversas maneiras de classificar os antimicrobianos. Podem ser classificados segundo a sua origem, efeito antimicrobiano, espectro de atividade e mecanismo de ação.

Origem

1. Naturais: são obtidos a partir de microrganismos (fungos e bactérias);
2. Sintéticos: são obtidos totalmente por síntese química (em laboratório);
3. Semi-sintéticos: são obtidos por modificações químicas de antimicrobianos naturais, com a finalidade de melhorá-los.

Efeito

1. Bacteriostático: a máxima concentração tóxica que se alcança no soro e nos tecidos que impede o desenvolvimento e multiplicação de microrganismos, sem destruí-los, podendo estes se multiplicar novamente ao ser retirado o agente antimicrobiano. Servem para complementar os mecanismo de defesa do hospedeiro;
2. Bactericida: sua ação é letal sobre os microrganismos, pois estes perdem irreversivelmente sua viabilidade ou são lisados.

Espectro de atividade

1. Amplo: atuam sobre um grande número de espécies microbianas (ex.: tetraciclina);
2. Intermediário: atuam sobre um número limitado de microrganismos (ex.: macrolídeos);
3. Reduzido: atuam sobre um pequeno número de espécies microbianas (ex.: polimixina).

Mecanismo de ação

1. Inibição da síntese da parede celular;
2. Alteração da permeabilidade celular;
3. Inibição da síntese celular;
4. Inibição da síntese de DNA e RNA.

Os antimicrobianos de uso sistêmico devem reunir as seguintes características:

1. Devem ser mais bactericidas do que bacteriostáticos;
2. Devem manter-se ativos na presença de plasma e líquidos corporais;
3. É desejável que sejam efetivos frente a um amplo espectro de microrganismos;
4. Os microrganismos susceptíveis não devem desenvolver resistência genética ou fenotipicamente;
5. Não devem se tóxicos e os efeitos colaterais devem ser mínimos ao hospedeiro;
6. A concentração ativa frente aos microrganismos deve ser alcançada com rapidez e manter-se durante um tempo prolongado.
7. Devem ser hidro e lipossolúveis.

2.2 Características dos Antimicrobianos

2.2.1. Penicilinas

As penicilinas são antibióticos bactericidas amplamente utilizados em várias situações clínicas. A penicilina G continua sendo a droga de escolha no tratamento de infecções causadas pelos *Streptococcus* anaeróbios e aeróbios, incluindo o *Streptococcus pneumoniae*. *Staphylococcus* sp. não produtores de penicilinase, *Enterococcus* sp. e *Neisseria meningitidis* também são sensíveis. No entanto, a resistência é elevada entre *Staphylococcus* sp. e alguns anaeróbios, entre eles *Bacteroides fragilis*. Esta resistência também tem aumentado entre linhagens de *Neisseria meningitidis* e *Streptococcus pneumoniae* (Barros, 1996).

A ampicilina e agentes relacionados apresentam um espectro de ação semelhante ao da penicilina G com a diferença de maior atividade contra bastonetes Gram-negativos como *Haemophilus influenzae*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella* sp. e *Shigella* sp. A adição de inibidores da beta-lactamase, clavulanato ou sulbactam, acrescenta atividade contra *Staphylococcus* produtores de beta-lactamase, *H. influenzae*, *Neisseria Gonorrhoeae*, *Moraxella catarrhalis*, *Bacteroides* sp. e *Klebsiella* sp. (Chambers, 1997; Sanford, 1995; Mandell, 1996).

2.2.2. Cefalosporinas

São antibióticos beta-lactâmicos com amplo espectro de ação, sendo ativa contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e relativamente pouco tóxicas. São bactericidas, agindo na síntese da parede bacteriana de maneira semelhante às penicilinas. São amplamente distribuídas pelos líquidos e tecidos corporais. Entretanto, as cefalosporinas de primeira geração têm pouca penetração no humor vítreo e no sistema nervoso central. A maioria das cefalosporinas de terceira geração pode atingir níveis elevados no sistema nervoso central, sendo eficazes no tratamento da meningite (Conte, 1995; Fuchs, 1995).

As cefalosporinas de primeira geração são mais ativas contra *Staphylococcus* sp. e *Streptococcus* sp. sensíveis, mas não possuem boa atividade contra bastonetes Gram-negativos, exceto *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli* e *P. mirabilis*.

A segunda geração amplia sua atividade contra Gram-negativos, quando comparada com as drogas de primeira geração. A cefoxitina tem baixa atividade sobre cocos Gram-positivos, mas boa atividade contra *Klebsiella* sp. e anaeróbios.

As cefalosporinas de terceira geração expandem o espectro contra os Gram-negativos e perdem atividade contra os cocos Gram-positivos e anaeróbios.

As cefalosporinas de quarta geração apresentam, *in vitro*, atividade igual ou superior a das cefalosporinas de primeira geração contra Gram-positivos e atividade semelhante às de terceira geração contra Gram-negativos. São mais estáveis que as de terceira geração, frente às beta-lactamases, de amplo espectro, mas inferiores à ceftazidima contra *Pseudomonas aeruginosa*.

Nenhuma cefalosporina apresenta atividade contra *Enterococcus* sp. (Barros, 1996; Mandell, 1996; Reese, 1993; Sanford, 1995).

2.2.3. Carbapenêmicos

É uma classe de compostos intimamente relacionados que apresentam anel beta-lactâmico, mas diferem quimicamente das penicilinas, cefalosporinas e cefamicinas. Apresentam excelente atividade contra a maioria das bactérias Gram-positivas e bastonetes Gram-negativos aeróbios e também contra microrganismos anaeróbios (Hindler et al., 1994; Barros, 1996).

2.2.4. Aminoglicosídeos

Os aminoglicosídeos são um grupo de drogas com atividade sobre bastonetes Gram-negativos aeróbios e *Staphylococcus* sp. Em associação com beta-lactâmicos, são sinérgicos contra diversos microrganismos, incluindo aqueles pouco sensíveis aos aminoglicosídeos, como *Streptococcus* sp e *Enterococcus* sp. Apesar de serem usados há muitos anos, o grau de resistência das bactérias tem aumentado lentamente e essas drogas mantêm-se como uma das principais opções para o tratamento de infecções por microrganismos hospitalares (Barros, 1996; Sanford, 1995).

2.2.5. Macrolídeos

Os macrolídeos são um grupo de drogas com grande potencial de desenvolvimento e emprego, pela sua boa tolerabilidade, boa absorção oral e atividade contra microrganismos resistentes a outros antimicrobianos. Os macrolídeos mais novos apresentam diversas vantagens quando comparados à eritromicina: todos têm posologia mais cômoda e melhor tolerância gastrointestinal e alguns têm maior espectro de ação (azitromicina e claritromicina) (Barros, 1996).

2.2.6. Tetraciclínas

As tetraciclínas são antibióticos primariamente bacteriostáticos. O uso abusivo dessas drogas nos anos seguintes ao seu lançamento levou ao aumento de resistência, limitando sua utilidade. Por serem efetivas contra diversos patógenos contra os quais os beta-lactâmicos e outras drogas são inativas ou pouco eficazes, as tetraciclínas ainda encontram bom espaço na terapêutica (Smilack et al., 1990; Barros, 1996).

2.2.7. Sulfonamidas

As sulfonamidas foram os primeiros agentes quimioterápicos empregados para o tratamento e prevenção de infecções bacterianas no homem. Com o aparecimento de novas drogas, seu uso foi diminuindo em importância, mas na década de 70, com o surgimento da associação sulfametoxazol e trimetoprim, houve aumento do uso destas drogas para o tratamento de infecções específicas.

As sulfonamidas apresentam um amplo espectro de atividade antimicrobiana, atuando contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, sendo, inclusive, agentes de primeira escolha para o tratamento de algumas infecções, como, por exemplo, da pneumocistose (Barros, 1996; Mandell, 1996).

2.2.8. Glicopeptídeos

Vancomicina e teicoplanina são os glicopeptídeos atualmente comercializados, mas existem outras drogas desse grupo, como a ramoplanina e a daptomicina, que estão em desenvolvimento. Empregados basicamente em infecções por cocos Gram-positivos multirresistentes, os glicopeptídeos vêm tendo um consumo cada vez maior, devido ao aumento da prevalência de *Staphylococcus sp* resistente à oxacilina, *Enterococcus sp* resistente a ampicilina e, mais recentemente, *Streptococcus pneumoniae* resistente a beta-lactâmicos, macrolídeos, cotrimoxazol e cloranfenicol. Esse aumento de consumo se refletiu no surgimento de espécies de *Enterococcus sp*, especialmente *Enterococcus faecium*, resistentes aos glicopeptídeos e a todos os antimicrobianos existentes. Assim, cresce a necessidade de evitar o uso exagerado dessas drogas (Reese, 1993; Barros, 1996; Fekety, 1995).

2.3 β -Lactamases

As β -Lactamases são enzimas bacterianas heterogêneas que rompem o anel β -Lactamâmico das penicilinas e cefalosporinas para inativar o antibiótico. São encontradas em uma ampla variedade de espécies bacterianas Gram-negativas e Gram-positivas. As enzimas produzidas por espécies de *Staphylococcus*, *Haemophilus*, *Moraxella* (*Branhamella*) *catarrhalis* e *Neisseria Gonorrhoeae* são clinicamente as mais importantes (Koneman, 2001). As β -lactamases constituem uma família de enzimas cuja importância está no mecanismo quase exclusivo de resistência dos *Staphylococcus* à penicilina. Qualquer antibiótico ou grupo de antibióticos β -Lactamâmico pode ser inativado por essas enzimas. Na atualidade, o número de diferentes enzimas é superior a 170, e o ritmo de crescimento não mostra sinais de redução (Medeiros, 2001). As β -Lactamases de *Staphylococcus*, induzidas por exposição às penicilinas, são responsáveis pela maior parte da resistência à penicilina G e aos compostos relacionados, mas não são ativas contra as cefalosporinas ou as penicilinas resistentes às penicilinases, como a metilicina e a nafcilina, a não ser que essas enzimas sejam produzidas em grandes quantidades (Koneman, 2001).

Os antibióticos β -lactâmicos exercem seu efeito interferindo na formação de glicopeptídeo, mecanismo compartilhado com agentes glicopeptídicos, como a vancomicina. Há muitos anos foi reconhecido que a semelhança estrutural entre a molécula de penicilina e a porção terminal d-alanina-d-alanina da cadeia de glicopeptídeo era essencial para a ação antibacteriana do composto (Koneman, 2001).

3. *Staphylococcus aureus*

3.1. Descrição de Gênero e Espécie

3.1.1. Descrição do Gênero

Os *Staphylococcus* pertencem à família Micrococcaceae; são células esféricas de 0.5 – 1.5 µm em diâmetro, que ocorrem isoladamente ou em pares e se dividem caracteristicamente em mais de um plano para formar agrupamentos irregulares. São imóveis e Gram-positivos. A parede da célula contém dois componentes principais que são os peptidoglicanos em ligação com ácidos teicóicos. Apresentam metabolismo respiratório e fermentativo. Uma grande quantidade de carboidratos pode ser utilizada, particularmente na presença de ar, com produção de ácido. São anaeróbios facultativos e apresentam crescimento mais rápido e abundante sob condições aeróbias.

Descrito por Ogoston, em 1880 (Levy, 1997), como cocos em forma de cachos e responsáveis por infecções piogênicas, o gênero *Staphylococcus* compreendia inicialmente duas espécies discriminadas pela produção de pigmentos: *S. aureus*, de cor amarelo-dourado, e *S. albus*, de colônias brancas. Em 1974, Baird Parker (Levy, 1997) reconhecia apenas três espécies de importância clínica, utilizando como característica diferencial a prova da coagulase: a) coagulase-positiva - *S. aureus*; b) coagulase-negativa - *S. epidermidis* e *S. saprophyticus*.

Atualmente, este gênero compreende 33 espécies e 8 subespécies de bactérias caracterizadas como cocos Gram-positivos, catalase-positiva, imóveis, em geral não-capsulados e anaeróbios facultativos. Além do *S. aureus*, são coagulase-positiva as espécies: *S. delphini*, *S. intermedius* e algumas linhagens de *S. hyicus* (Kloos et al., 1994; Levy, 1997).

São encontrados principalmente colonizando a pele, glândulas da pele e membranas de mucosas de animais de sangue quente. O hospedeiro varia amplamente e muitas linhagens são potencialmente patogênicas (Bergey, 1997).

3.1.2. Descrição da Espécie

Os *Staphylococcus aureus* são esferas de 0.8-1.0 μ m de diâmetro. Algumas linhagens possuem uma cápsula ou capa mucosa (Bergey, 1997).

As paredes das células contêm fósforo orgânico, ribitol, glicosamina, ácido murâmico, glicina, lisina, ácido aspártico, serina, ácido glutâmico, alanina, e quantidades pequenas de treonina, prolina, valina e leucina.

As colônias são de superfície lisa, baixo-convexas, bordos circulares, brilhosas e opacas.

A pigmentação das colônias é extremamente variável, dependendo das condições de crescimento. Os *Staphylococcus aureus* são anaeróbios facultativos, no entanto se desenvolvem melhor sob condições aeróbias. A maioria das linhagens apresenta crescimento ótimo entre 30-37°C; valores de pH entre 7,0-7,5 e em 15% de cloreto de sódio (Bergey, 1997). A produção de coagulase é um dos principais testes utilizados na identificação do microorganismo (Pedro, 1997).

O *Staphylococcus aureus* foi originalmente isolado do pus de ferimentos e nas membranas nasais, folículos de cabelo, pele e períneo de animais de sangue quente. São potencialmente patogênicos e causam uma ampla variação de infecções e intoxicações; furúnculos, abscessos, meningite, piemia, osteomielite, supuração de ferimentos e intoxicação gastrointestinal. (Pedro, 1997).

Todas as linhagens são potencialmente patogênicas. As linhagens sob condições adequadas produzem uma variedade de enzimas responsáveis pelo início das infecções; hialuronidase, fibrinolisinase, nucleases e coagulases. Certos fatores antigênicos parecem representar um papel importante na capacidade de provocar infecções. Os sintomas podem ser causados por uma variedade de toxinas, a mais importante é provavelmente a α - toxina, que em ensaios em animais é letal, dermonecrótica, hemolítica, leucotóxica e trombotóxica. Outras toxinas são a β - hemolisina que rompe a membrana dos eritrócitos e a leucocidina que destrói os leucócitos humanos (Bergey, 1997; Pedro, 2001).

3.2 *Staphylococcus aureus* e Resistência Bacteriana

Na era pré-antibiótica, os *Staphylococcus aureus* dividiam com os *Streptococcus* a importância como agentes causadores de infecções hospitalares graves de elevada letalidade, especialmente as de natureza cirúrgica. Bacteremias por *S. aureus* levavam a óbito 80 a 90% dos casos (Smith et al., 1960; Sheagren, 1984; Wise et al., 1989). As sulfonamidas tiveram

impacto muito pequeno sobre as infecções estafilocócicas devido à sua ação reduzida em presença de pus e pelo rápido desenvolvimento de resistência (Wise et al., 1989).

O advento da penicilina apresentou maior impacto, melhorando o prognóstico da doença, já que todas as linhagens de *S. aureus*, isoladas de materiais clínicos, eram sensíveis a baixas doses de penicilina. Em 1942, amostras de *S. aureus* isoladas de 68 pacientes revelaram-se resistentes às sulfas em 27% dos casos e sensíveis a concentrações menores que 1µg de penicilina por ml em 100% dos casos. A letalidade devido a infecções caiu de 88% para 28%, em pacientes tratados em 1942 e 1944, respectivamente; porém, já em 1942, foi descrita resistência à penicilina em linhagens obtidas de pacientes sob tratamento (Wise et al., 1989).

Nas décadas de 40 e 50, apesar da penicilina, os *S. aureus* continuaram como os principais causadores das infecções hospitalares. Alguns pacientes tinham que ser tratados por via parenteral, com antibióticos muito tóxicos, tais como neomicina e bacitracina. A eritromicina foi lançada em 1952. Naquele ano, todas as linhagens de *S. aureus* eram sensíveis a essa droga. Porém no ano seguinte, 21% já eram resistentes. Durante a década de 50, com o amplo uso dos antibióticos, houve certa negligência nas práticas de assepsia e antisepsia, tornando urgente a necessidade de educação das equipes de saúde dos hospitais (Wise et al., 1989).

Um fato que tem despertado a atenção dos pesquisadores é que, apesar de o *S. aureus* ser considerado um dos principais patógenos humanos, tal bactéria é encontrada em um largo espectro de doenças, desde lesões superficiais até severas infecções sistêmicas, principalmente em pacientes imunodeprimidos (Coia et al., 1988). No indivíduo sadio, esse microrganismo é freqüentemente um comensal das fossas nasais anteriores, pele úmida e até do intestino. Quando de sua colonização e subsequente infecção em pacientes hospitalizados, esse microrganismo constitui um elevado risco, principalmente devido à possibilidade de apresentarem múltipla resistência aos antibióticos usualmente disponíveis no comércio. Além disso, os *S. aureus* podem expressar diversos fatores de virulência que lhes conferem capacidade de rápida colonização e, encontrando condições apropriadas, pode ocorrer sua disseminação através dos diversos tecidos e órgãos do hospedeiro (Gonçalves et al., 1987; Berger-Bächli, 1994). Seu amplo repertório de genes, que pode ser regulado diferentemente dependendo do sinal ambiental, permite a adaptação dessa bactéria em ambientes adversos, possibilitando assim, sua invasão, sobrevivência e multiplicação, em diferentes sítios do hospedeiro (Jordens et al., 1989).

A cápsula polissacarídica, por exemplo, parece impedir a sua fagocitose opsônica (Lee et al., 1997), enquanto o peptidoglicano da parede celular parece estar envolvido na resposta inflamatória do hospedeiro contra infecções estafilocócicas, através da ativação da via

alternativa do sistema complemento. Um outro constituinte da parede celular, o ácido teicóico, também parece estar envolvido com a ativação do sistema complemento e ainda, possivelmente, com a aderência desses microrganismos à mucosa do hospedeiro (Schliefer et al., 1972).

Os *Staphylococcus* podem produzir, ainda, um mucopolissacarídeo extracelular amorfo (slime), que permite a agregação bacteriana, levando à formação de um verdadeiro filme biológico. A produção do biofilme favorece a colonização dessa bactéria nas superfícies plásticas e nos tecidos do hospedeiro. Tem sido relatado que tal fenômeno está associado a um número considerável de infecções hospitalares, oriundas da utilização de catéteres intravenosos, urinários (Christensen et al., 1992), bem como de próteses médicas e válvulas cardíacas (Haagen et al., 1990). Uma das primeiras etapas envolvidas na formação do biofilme é a aderência bacteriana a superfícies sólidas, que parece ser controlada por interações hidrofóbicas entre as bactérias e essas superfícies (Pascual et al., 1988; Haagen et al., 1990).

A colonização da pele por essa bactéria ocorre provavelmente por sua capacidade de resistir a altas concentrações de sais e lipídios, bem como por produzirem proteínas de superfície que se ligam à fibronectina. Essas proteínas são denominadas de proteínas de ligação à fibronectina A e B, sendo consideradas importantes fatores de virulência, uma vez que promovem a ligação da bactéria às células do hospedeiro (Flock et al., 1996).

Além dos componentes de superfície, os *S. aureus* secretam várias enzimas e toxinas, consideradas fatores de virulência (Lebeau et al., 1994). *S. aureus*, produtores de elevada quantidade da enzima catalase, parecem possuir uma maior taxa de sobrevivência no interior de fagócitos polimorfonucleares (Mandell, 1975). Por outro lado, esse microrganismo pode produzir toxinas esfoliantes denominadas toxinas esfoliativas A e B, as quais estão associadas à síndrome da pele escaldada, uma doença que resulta em esfoliações generalizadas, eritema e lesões bolhosas na pele do hospedeiro, principalmente em bebês (Melish et al., 1972).

As enterotoxinas estafilocócicas são superantígenos que quando liberados em alimentos podem provocar intoxicações alimentares (Jordens et al., 1989). Uma outra toxina, a toxina da síndrome do choque tóxico (TSST-1), é responsável pela síndrome do choque tóxico, doença esta caracterizada por inúmeras disfunções orgânicas, tais como febre, hipotensão, diarreia, conjuntivites e escarlatina, podendo levar ao choque e subsequente morte do paciente (Ulrich et al., 1995).

As infecções por *Staphylococcus* podem ser didaticamente classificadas com base em dois mecanismos distintos: 1) processo infeccioso agudo; e 2) doenças causadas por toxinas. As infecções agudas podem ser localizadas, como pústulas, furúnculos, impetigos ou ser processos mais extensos e graves, como infecção cirúrgica, osteomielite, pneumonia,

endocardite, meningite, etc., ou disseminadas, como bacteremia e septicemia. Doenças causadas por toxinas também apresentam amplo espectro de manifestações clínicas, como síndrome da pele escaldada, síndrome do choque tóxico e intoxicação alimentar (Arbuthnott et al., 1990; Corbella et al., 1997).

Veach et al. (1990) relataram um caso de resistência à vancomicina por *Staphylococcus haemolyticus*, em um isolado de um paciente com septicemia. A pouca relação do *Staphylococcus haemolyticus* com episódios infecciosos no homem determinou pouca atenção ao fato. Entretanto, com a iminência do surgimento de resistência nos *S. aureus*, Edmond et al. (1996) publicaram um artigo sobre as possíveis medidas necessárias ao controle do surgimento do *S. aureus* resistente à vancomicina.

Coerente com o que já é preconizado pelos Serviços de Controle de Infecções Hospitalares, a medida apresentada como mais importante é a lavagem das mãos, uma vez que a principal forma de transmissão é através do contato direto. A lavagem das mãos com sabões germicidas tem demonstrado um bom resultado na remoção dos *Staphylococcus*. Para as linhagens resistentes, acredita-se que o álcool isopropílico a 60% tenha um efeito direto, mas a clorhexidina tem um efeito residual adicionado à ação germicida direta. Diante disso, a literatura atual encoraja o uso mais freqüente desta substância na lavagem das mãos do pessoal da área da saúde (Larson, 1995; Sproat, 1994).

A duração da colonização pelo MRSA é longa com relatos de mais de um ano de persistência. O uso de mupirocina aplicada na cavidade nasal, duas vezes por dia, durante cinco dias, tem mostrado ser eficiente na descolonização. Alguns casos de resistência foram relatados, mas estavam relacionados ao uso prolongado ou extensivo, como em pacientes com infecções dermatológicas (Bradley, 1995).

Os cuidados de isolamento de contato devem ser ampliados aos familiares e visitantes dos pacientes colonizados, requerendo um esforço conjunto dos médicos assistentes, coordenação de enfermagem e Serviços de Controle de Infecções Hospitalares, além da correta assistência do laboratório de Microbiologia na identificação e caracterização destes patógenos.

3.3 Condições de Infecção por *Staphylococcus aureus*

O *Staphylococcus aureus* está presente na flora normal de 30-70% das pessoas e permanece colonizando por longos períodos, sem causar primariamente nenhuma patologia infecciosa. Algumas vezes pode invadir o organismo e causar sérias infecções, tanto de origem comunitária quanto hospitalar. É, sem dúvida, o patógeno humano mais importante entre os *Staphylococcus*. É encontrado no ambiente externo e em narinas anteriores de 20% a 40% dos adultos. Outros sítios de colonização incluem pregas cutâneas, períneo, axilas e vagina. Embora esse microorganismo possa formar parte da microbiota humana normal, pode produzir infecções oportunistas importantes em condições apropriadas (Pfaller, 2001). Os fatores que podem predispor um indivíduo a infecções graves por *S. aureus* incluem as seguintes:

- Alterações quimiopáticas dos leucócitos, tanto congênitas (p.ex., síndrome de Wiskott-Aldrich, síndrome de Down, síndrome de Job) quanto adquiridas (p.ex., diabetes melito, artrite reumatóide)
- Alterações na opsonização por anticorpos (p.ex., hipogamaglobulinemia)
- Alterações na destruição intracelular das bactérias após fagocitose (p.ex., doença granulamatosa crônica)
- Lesões cutâneas (p.ex., queimaduras, incisões cirúrgicas, eczema)
- Presença de corpos estranhos (p.ex., suturas, cateteres endovenosos, próteses)
- Infecções por outros agentes, em particular vírus (p.ex., influenza)
- Doenças crônicas de base, como tumores malignos, alcoolismo e cardiopatias
- Administração profilática ou terapêutica de agentes antimicrobianos

Nestas circunstâncias o *S. aureus* pode causar diversos processo infecciosos, que variam desde infecções cutâneas crônicas relativamente benignas até infecções sistêmicas potencialmente fatais (Waldvogel, 2001).

4. Referências

- Arbuthnott JP, Coleman DC, Azavedo JS. Staphylococcal toxins in human disease. *J. Appl. Bacteriol.* 1990; 19: 101-107.
- Barros E, Bittencourt H, Caramori ML, Machado A. *Antimicrobianos Consulta Rápida*, Porto Alegre: ArtMed; 1996.
- Berger-Bächli B. Expression of resistance to methicillin. *Trends Microbiol.* 1994; 10: 389-393.
- Bergey DH, Buchamann RE, Gibsons NE. *Manual of Determinative Bacteriology*. 9.ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1997; v.2, p. 1013-1019.
- Bradley SF, Ramsey MA, Morton TM, Kauffmann CA. Mupirocin resistance: clinical and molecular epidemiology. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 1995; v.16, p 354-358.
- Chambers HF. Methicillin-resistance in *Staphylococci*: molecular and biochemical basis and clinical implications. *Clin. Microbiol. Rev.* 1997; 10: 781-91.
- Christensen GD, Simpson WA, Bisno AL, Beachey EH. Adherence of slime-producing strains of *Staphylococcus epidermidis* to smooth surfaces. *Infect. Immun.* 1992; 37: 318-326.
- Coia JE, Noor-Hussain I, Platt DJ Plasmid profiles and restriction enzyme fragmentation patterns of plasmids of methicillin-resistant isolates from hospital and the community. *J. Med. Microbiol.* 1988; 27: 271-276.
- Conte Jr. JE. *Manual of antibiotics and infectious diseases*. 8. ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1995.
- Corbella X, Dominguez MA, Pujol M, Ayats J, Sendra M, Pallares R, et al. *Staphylococcus aureus* nasal carriage as a marker; 1997.
- Edmond MB. et al. Vancomycin-Resistant *S. aureus*: Perspectives on Measures Needed for Control, *Ann. Intern. Med.* 1996; 124: 323-34.
- Farhat C. In: Gomes B. Infecção hospitalar aumenta tempo de internação na UTI, *Jornal da Escola Paulista de Medicina*, ano 15, ed 163; 2002.
- Fekety R. Vancomycin and teicoplanin. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin RD. *Principles and practice of infectious diseases*. 4.ed. New York: Churchill Livingstone, p.346; 1995.
- Flock JI, Hienz SA, Heimdahl A, Schennings T. Reconsideration of the role of fibronectin binding in endocarditis caused by *Staphylococcus aureus*. *Infect. Immun.* 1996; 64: 1.876-1.878.
- Fuchs FD, Wannamacher L. *Farmacologia Clínica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1995.
- Gomes B. Infecção hospitalar aumenta tempo de internação na UTI, *Jornal da Escola Paulista de Medicina*, ano 15, ed 163; 2002.
- Gonçalves AJR, Rozembaum R, Cardos FLL. Doenças estafilocócicas. *Arq. Bras. Med.* 61: 13-24; 1987.

- Haagen IA, Heezius HC, Verkooyen RP, Verhoef J, Verbrugh HA. Adherence of peritonitis-causing staphylococci to human peritoneal mesothelial cell monolayers. *J. Infect. Dis.* 1990; 161: 266-273.
- Hindler JA, Howard BJ, Keiser JF. Antimicrobial agents and antimicrobial susceptibility testing. In: Howard BJ. *Clinical and Pathogenic Microbiology*. Mosby-Year Book, Saint Louis. 1994; pp. 145-195.
- Jordens JZ, Duckworth J, Williams RJ. Production of “virulence factors” by epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus in vitro*. *J. Med. Microbiol.* 1989; 30: 245-252.
- Kloos WE, Schleifer KH. Genus IV – *Staphylococcus*. In: *Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology*. Sneath, P. H. A, Mair, N. S., Sharpe, M. E. and Holt, J. G. (eds). Baltimore. 1994; p. 1.013-1.035.
- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schrecknberger PC, Winn Jr. WC. *Diagnóstico Microbiológico – Texto e Atlas Colorido – 5ª ed.* Medsi Editora Médica e Científica Ltda, Rio de Janeiro, RJ; 2001.
- Larson EL. APIC guideline for handwashing and hand antisepsis in health care settings. *Am J Infect Control*; 1995; 23:251-69.
- Lebeau C, Vandenesch F, Greenland T, Novick RP, Etienne J. Coagulase expression in *Staphylococcus aureus* is positively and negatively modulation by an agr-dependent mechanism. *J. Bacteriol.* 1994; 176: 5.534-5.536.
- Lee YL, Cesario T, Gupta G, Flionis L, Tran C, Decker M. et al. Surveillance of colonization and infection with *Staphylococcus aureus* susceptible or resistant to methicillin in a community skilled-nursing facility. *Am. J. Infect. Control.* 1997; 25: 312-321.
- Levy CE. Aspectos Microbiológicos In: *Infecções hospitalares: prevenção e controle*. Rodrigues EAC, Mendonça JS, Amarante JMB, Filho MBA, Grinbaum RS, Richtmann R. São Paulo, Sarvier. 1997; p. 591-598.
- Mandell GL, Petri Jr. WA. Fármacos Antimicrobianos, penicilinas, cefalosporinas e outros antibióticos β -lactâmicos. In: Hardman JG, Limbird LE. *As Bases Farmacológicas da Terapêutica*. 9ed. Rio de Janeiro: MC Graw-Hill, 1996; p. 794-798.
- Mandell GL. Catalase, superoxide dismutase, and virulence of *Staphylococcus aureus*: *In vitro* and *In vivo* studies with emphasis on *Staphylococcal*-leukocyte interaction. *J. Clin. Invest.* 1975; 55: 561-566.
- Medeiros AA. Evolution and dissemination of β -Lactamases accelerated by generation of β -Lactam antibiotics. In Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schrecknberger PC, Winn Jr. WC. *Diagnóstico Microbiológico – Texto e Atlas Colorido – 5ª ed.* Medsi Editora Médica e Científica Ltda, Rio de Janeiro, RJ; 2001.
- Melish ME, Glasgow LA, Turner MD. The staphylococcal scalded skin syndrome: Isolation and partial characterization of the exfoliative toxin. *J. Infect. Dis.* 1972; 125: 129-140.

- Oliveira GA, Levy CE, Mamizuka EM. Estudo do perfil de resistência de 626 linhagens de *Staphylococcus aureus* isoladas de 25 hospitais brasileiros entre setembro de 1995 e junho de 1997. J. Bras. Pat. 2000; 36: 147-56.
- Pascual A, Fleer A, Westerdaal NAC, Berghuis M, Verhoef J. Surface hydrophobicity and opsonic requirements of coagulase-negative staphylococci in suspension and adhering to a polymer substratum. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 1988; 7: 161-166.
- Pedro RJ, Branchini ML. Estafilococcias. In: Veronesi R, Focaccia R. Tratado de Infectologia. 2 ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2001; v.2, p.284-285.
- Pedrosa TMG, Couto RC. Prevenção de infecção em terapia intensiva de adultos e pediátrica. In: Couto RC, Pedrosa TMG, Nogueira JM. Infecção Hospitalar: epidemiologia e controle. Belo Horizonte: MEDSI. p. 527; 1999.
- Pfaller M., Davenport D., Bale M. et al. Development of the quantitative microtest for slime production by coagulase-negative staphylococci. In Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schrecknberger PC, Winn Jr. WC: Diagnóstico Microbiológico – Texto e Atlas Colorido – 5ª ed. Medsi Editora Médica e Científica Ltda, Rio de Janeiro, RJ; 2001.
- Reese RE, Beets RF. Handbook of antibiotics. 2.ed. Boston: Little, Brown and Company; 1993.
- Sanford JP, Gilbert DN, Sande MA. Guide to antimicrobial therapy – 1995. 25. ed. Dallas: Antimicrobial Therapy, Inc; 1995.
- Schambers HF, Sandle MA. Antimicrobial agents general considerations. In: Goodman & Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics. 9. ed. New York: McGraw-Hill, p.1029; 1996.
- Schliefer KH, Kandler O. Peptidoglycan types of bacterial cell walls and their taxonomic implications. Bacterial. Rev. 1972; 36: 407-413.
- Sheagren JN. *Staphylococcus aureus*. The persistent pathogen. New Engl. J. Med. 1984; 310: 1368-1373.
- Silva CHPM. Bacteriologia: um texto ilustrado; Teresópolis, RJ; Editora Eventos; 1999.
- Smilack JD, Wilson WR, Cockerill FR. Tetracyclines, chloramphenicol, erythromycin, clindamycin, and metronidazole. Mayo Clinic Proceedings. 1990; 66, 1270-1280.
- Smith JM, Vickers AB. Natural history of 338 treated and untreated patients with staphylococcal septicaemia. Lancet. 1960; 13: 18-22.
- Sproat LJ, Inglis TJ. A multicenter survey of hand hygiene practice in intensive care units. J Hosp Infect; 1994; 26:137-48.
- Trilla A. Epidemiology of nosocomial infections in adult intensive care units. Intensive Care Med., 20; 1994; (suppl. 3): 51-4.
- Ueno M, Jorge AOC, Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus Aureus* by phenotypic methods and plasmid profile analysis (dissertation) Taubate Univ., SP, 2001.
- Ulrich RG, Bavari S, Olson MA. Bacterial superantigens in human disease: structure, function and diversity. Trends in Microb .1995; 3: 463-468.

- Veach LA, Pfaller MA, Bennett M. et al: Vancomycin resistance in *Staphylococcus haemolyticus* causing colonization and bloodstream infection. J.Clin. Microbiology; 1990; 28: 2064-2068.
- Waldvogel FA. Chapter 173. *Staphylococcus aureus* (including toxic shock syndrome). In Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schrecknberger PC, Winn Jr. WC: Diagnóstico Microbiológico – Texto e Atlas Colorido – 5ª ed. Medsi Editora Médica e Científica Ltda, Rio de Janeiro, RJ; 2001.
- Wise RI, Ossman EA, Littlefield DR. Personnel reflections on nosocomial staphylococcal infections and the development of hospital surveillance. Rev. Infect. Dis. 1989; 11: 1.105-1.119.

5. Objetivos

A presença de isolados de *Staphylococcus aureus* no ambiente hospitalar e o repertório de antimicrobianos utilizados para o combate a esta bactéria vêm sendo estudados a muitas décadas em diversas instituições de saúde. Particularmente em situações de maior comprometimento físico, geralmente associadas ao ambiente de terapia intensiva, os pacientes apresentam maior chance de infecção e conseqüentemente estão expostos a um painel mais amplo de uso de antibióticos.

A resposta dos isolados de *Staphylococcus aureus* observada *in vitro* nos testes de susceptibilidade aos antimicrobianos, fornece uma boa indicação dos rumos a serem seguidos quanto ao uso destes antimicrobianos. Faz-se necessário, então, que existam padronizações que permitam a interface entre as instituições e que sejam, preferencialmente, de baixo custo, bem como se faz necessário que programas de controle de infecção, devidamente implantados, possam ser avaliados quanto a sua eficácia.

O objetivo geral deste estudo foi avaliar a variabilidade de isolados de *Staphylococcus aureus* do Centro de Terapia Intensiva do Hospital Divina Providência de Porto Alegre, coletados nos anos de 2001, 2003 e 2004, por meio do teste de susceptibilidade *in vitro* aos antimicrobianos.

Os objetivos específicos foram:

- Identificar o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos dos isolados de *Staphylococcus aureus*;
- fazer a fenotipificação dos isolados a partir dos dados de susceptibilidade;
- avaliar o controle do avanço bacteriano após a implantação das normas de controle de infecção.

Antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* strains isolated from the center of intensive therapy of the Hospital Divina Providencia, Southern Brazil

Artigo submetido à Revista: Journal of Clinical Microbiology

Antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* strains isolated from the center of intensive therapy of the Hospital Divina Providencia, Southern Brazil

Running Title: Antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* strains

A. Brandelli^{1,2}, J.L. Hoerlle*²

Address of institution where this work was performed:

Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rua Ramiro Barcelos, 2400/2º andar, Porto Alegre, RS, Brazil.

Adriano Brandelli^{1,2} and Jairo Luís Hoerlle*²

Footnote:

¹Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos – UFRGS

²Programa de Pós Graduação em Medicina: Ciências Médicas – UFRGS

Jairo Luís Hoerlle*: Fax 55 (51) 3714.1070
Telephone: 55 (51) 3748.2483

Corresponding author:

Jairo Luís Hoerlle

Rua Bento Gonçalves, 927/704, CEP 95900-000, Lajeado, RS, Brazil.

e-mail: jhoerlle@terra.com.br

Article

ANTIMICROBIAL RESISTANCE IN *Staphylococcus aureus* STRAINS ISOLATED FROM THE CENTER OF INTENSIVE THERAPY OF THE HOSPITAL DIVINA PROVIDENCIA

SUMMARY

OBJECTIVE. To evaluate the resistance patterns of isolate of *Staphylococcus aureus* through susceptibility to the antimicrobial drugs and the possible changes after the implantation of norms of infection control.

MATERIALS AND METHODS. During the period of 2001 to 2004, samples (n=104) were isolated from materials of patients of the Center of Intensive Therapy of the Hospital Divina Providencia, Porto Alegre, Southern Brazil, and conducted to the Laboratory of Clinical Analyses. The evaluation of antimicrobial susceptibility was accomplished by the disk diffusion method described by Kirby-Bauer, following the recommendations of NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2005). The antimicrobial agents used belonged to the groups of the penicillins, cephalosporins, carbapenems, aminoglycosides, macrolides, tetracycline, sulfonamides and glycopeptides. From the antimicrobial susceptibility data, the phenotypic profile of each strain was determined. It was also evaluated the progress of *S. aureus* control in this hospital after the implantation of norms of infection control in 2002.

RESULTS. The glycopeptides were the antimicrobial agents that presented larger activity in vitro against the isolates of *S. aureus* (100% of susceptibility for vancomycin and teicoplanin). Along 2001, 96% of the samples showed resistance for at least one drug; in 2003, 97% and in 2004, a 100% of the samples showed resistance for at least a drug. Among all the identified phenotypic profiles (15), a single profile (phenotype A) was identified in all three years of investigation, corresponding to *Staphylococcus aureus* resistant to meticillin (MRSA). The number of isolated *S. aureus* decreased the following years to the first, being 50 in 2001, 34 in 2003 and 20 in 2004.

CONCLUSION. The results of the present study showed a reduction in antimicrobial resistance rates for the samples of *S. aureus* of CTI of the Hospital Divina Providencia and also a decrease in the isolated number after the implantation of norms for infection control.

1 - INTRODUCTION

The increasing prevalence of bacterial resistance to antibiotics, mostly associated to the extensive use of antimicrobial agents, may result in an insufficient array of substances to combat some bacterial infections. The prevalence of *Staphylococcus aureus* resistant to conventional antibiotics has been increasing at high levels in some hospitals (Mandell, 1995). Increased resistance among other microorganisms, such as *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterococcus* spp. have also been described (Kresken et al., 1988; Suzuki et al., 1989; van der Brugge et al., 1999).

Staphylococcus aureus is a bacterium that colonizes both the community and hospital settings. In the hospital environment, for being subject to a wide spectrum of antibiotics, it ends for developing an increased resistance to these antimicrobial agents. Among the hospitalized patients, 5 to 10% acquire infection during the internment (Vandepitte et al., 1994). Globally, *Staphylococcus aureus* is one of the principal microorganisms involved in nosocomial infections, and strains resistant to methicillin (MRSA) represent 15-45% of all *Staphylococcus aureus* isolated (Emori et al., 1993; Kesah et al., 2003). The treatment of infections caused by these bacteria falls only to the vancomycin use. A recent emergency with MRSA isolates with reduced susceptibility to vancomycin reinforced the importance of growing research in this area (Hiramatsu et al., 1997).

The mechanisms by which the *S. aureus* develops resistance can be varied. Genes of *S. aureus* related to quinolone resistance have been identified (Trucksis et al., 1991), and mutations in the genes *gyrA* and *gyrB* can be responsible for the quinolone resistance in this microorganism (Ito et al., 1994). The MRSA isolates examined so far exhibit the gene *mec*, a 2130 bp DNA fragment of non-staphylococci origin codifying for a penicillin-binding protein. Since the resistance to methicillin was identified for the first time in an isolate of *S. aureus*, its incidence increased extensively, and the *mec* gene has been detected in several other staphylococci species. These bacteria can be resistant to penicillinase-resistant penicillins, due to production of great amounts of β -lactamases. It has been also suggested that several auxiliary genes influence in the methicillin resistance (Lencastre et al., 1994). In this reasoning, to study the variability of the isolates and to know about their resistance profile is extremely important to trace and to identify the origin, and to combat the infections.

Typing is an important tool for characterization and control of infectious microorganisms. Molecular methods of typing, based on analysis of DNA (PFGE, RAPD, RFLP), have been used with the premise of larger discrimination in relation to the phenotypical

methods (Walker et al., 1998; Hookey et al., 1998; van Leeuwen et al., 1999). However the characterization based on phenotypical aspects, as for instance, the antimicrobial susceptibility pattern (Tondo et al., 2000) and antigens associated to the virulence (Hermans et al., 2001), can contribute in the discrimination among different isolates. Besides, the typing by the resistance to antibiotics can aid in the detection of the best line to be adopted in infection treatments.

The correct characterization by antimicrobial susceptibility allows the use of the adequate antimicrobial to address each case properly. It would be expected that as more specific goes the antibiotic, best it will be the treatment. The inadequate use of very wide spectrum antimicrobial agent can unbalance the patients' biota and may lead to the appearance of 'super-infections' by multi-resistant microorganisms (Castro, 2002).

The Center of Intensive Therapy of the Hospital Divina Providencia in Porto Alegre city, Southern Brazil, frequently enrolls patients infected by *Staphylococcus aureus* with variable antimicrobial resistance degree. With the intention of determining the prevalence of these isolates, *S. aureus* prevalence was investigated in materials conducted to the Laboratory of Clinical Analyses by the Center of Intensive Therapy of this Hospital during the whole year of 2001.

In 2002, the Commission for Control of Hospital Infection (CCIH) of the Hospital Divina Providencia started to implant the rules extolled by Brazilian Ministry of Health, according to the entrance no. 2.616, of May 12, 1998, adapting the procedures of this health institution to the norms of this law.

Among the points assisted in this new situation, we detached some determinations that were established in the conduct of the routine of this Hospital, that are:

Organization:

1. The Program of Control of Hospital Infection (PCIH) it is a group of actions developed deliberate and systematically, with views to the possible maximum reduction of the incidence and of the gravity of the hospital Infection.
2. For the appropriate execution of PCIH, the hospitals should constitute Commission of Control of Hospital Infection (CCIH), consultant ship organ to the maximum authority of the institution and of execution of the actions of control of hospital Infection.

Epidemic surveillance and epidemic indicators of the hospital Infections:

1. Epidemic surveillance of the hospital Infection is the observation it activates, systematic and continuous of your occurrence and of your distribution among patient,

- hospitalized or not, and of the events and conditions that affect the risk of your occurrence, with views to the opportune execution of the prevention actions and control.
2. CCIH should choose the method of Epidemic Surveillance more appropriate to the characteristics of the hospital, to personnel's structure and the nature of the risk of the attendance, with base in magnitude criteria, gravity, reduced of the rates or cost;
 3. The methods of search assets of collection of data are recommended for Epidemic Surveillance of the hospital Infection.

Wash of the Hands:

1. Wash of the hands is the vigorous manual friction of the whole surface of the hands and fists, being used soap/detergent, followed by abundant washing in running water.
2. The wash of the hands is, separately, the most important action for the prevention and control of the hospital Infections.
3. The use of gloves doesn't spare the wash of the hands before and after contacts that involve mucous membranes, blood or other corporal fluids, secretions or excretions.
4. The wash of the hands should be accomplished so many times as necessary, during the attendance to an only patient, whenever it involves contact with several corporal ranches, among each one of the activities.
5. The decision for the wash of the hands with use of antiseptic should consider the contact type, the degree of contamination, the patient's conditions and the procedure to be accomplished.
6. They should be used measured and resources with the objective of incorporating the practice of the wash of the hands in all the levels of hospital attendance.

General recommendations:

1. The use of the antiseptic, disinfecting and sterile will follow the determinations of the Entrance no. 15, of August 23, 1988, of the Clerkship of Sanitary Surveillance (SVS) / of ministry of Health and the Processing of Goods and Surfaces in Establishments of Health/MS, 2nd edition, 1994, or another that complement them or substitute.
2. The norms of cleaning, disinfecting and sterilization are those defined by the publication of ministry of Health, Processing of Goods and Surfaces in Establishments of Health, 2nd edition, 1994 - active beginnings liberated the defined ones accordingly by the Entrance no. 15, SVS, of August 23, 1988, or another that complement her or substitute.
3. The norms of procedures in the area of Microbiology are those defined by the publication of ministry of Health - Manual of Basic Procedures in Clinical Microbiology

for Hospital Infections Control, 1st edition, 1991, or another that complement them or substitute.

4. The norms for laundry are those defined by the publication of ministry of Health - Manual of Hospital Washing, 1st edition, 1986, or another that complement them or substitute.

5. The Hospital Pharmacy will follow the orientations contained in the publication of ministry of Health - it Guides Basic for the Hospital Pharmacy, 1st edition, 1994, or another that complement them or substitute.

Seeking to monitor the progress of the bacterial control of this hospital and to compare the prevalence of the isolated *S. aureus* in the following years, it was investigated the materials directed by the Center of Intensive Therapy to the Laboratory of Clinical Analyses during the years of 2003 and 2004.

2 - MATERIALS AND METHODS

Delineation

A non-controlled transverse study was accomplished where it was determined the prevalence of antibiograms of the isolates of *Staphylococcus aureus*, and these isolates were typed in agreement with its susceptibility to the antimicrobial agents. The factor in study was: isolates of *Staphylococcus aureus* and the issue: the amplitude of diversity of the antibiogram and typing.

Materials

The culture media used were blood agar, tryptic sou broth and Muller-Hinton agar, distributed in disposable petri dishes. Swabs and commercial antibiotic disks were from Laborclin.

Samples

A total of 104 samples of materials originating from patients of CIT of the Hospital Divina Providencia (Porto Alegre, Southern Brazil) were used. Samples were transported to the Laboratory of Clinical Analyses for strain isolation and characterization. Of these samples, 50 were collected in the period of January to December of 2001; 34 in the period of January to December of 2003 and 20 in the period of January to December of 2004. The samples consisted of: blood culture, corporal fluids, secretions, materials of procedures (stems, catheters, drains), spittles and swabs of surgery wounds. The strain isolation was accomplished in blood agar media. Catalase and coagulase tests, Gram stain, and additional identification tests followed the protocols described by MacFaddin (2000). The samples were kept in tryptic soy broth containing 50% (v/v) glycerol and stored at -20°C.

Criteria of Exclusion

Samples originating from a same patient were excluded, as well as those that had origin in the same location or that had origin in different place, but presented the same bacteria and antimicrobial sensibility profile, received within a time frame of three or less days.

Antibiotic Susceptibility Test (AST)

The 104 selected isolates were cultured in Mueller-Hinton agar to perform the AST. The method used for the susceptibility test to the antimicrobial agents was the disk diffusion assay described by Kirby-Bauer, being followed the norms extolled by NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1999). The antibiotic used were: Ampicillin 10 µg, Cefalotin 30 µg, Cefoxitin 30 µg, Gentamicin 10 µg, Amikacin 30 µg, Chloranphenicol 30 µg, Tetracycline 30 µg, Sulfamethoxazole 25 µg, Rifampicin 5 µg, Ampicillin/Sulbactan 10/10 µg, Oxacillin 1 µg, Penicillin 10 U, Erythromycin 15 µg, Clindamycin 2 µg, Vancomycin 30 µg, Teicoplanin 30 µg.

After evaluating the size of the specific inhibition zones for each antibiotic, it was attributed the indications of **S** for sensitive, **I** for intermediate resistance and **R** for resistant.

For the typing purpose, a numerical code profile was created based on the resistance to the antimicrobial of each isolate. Resistance was classified as 1, intermediate resistance as 2, and sensibility as 3 (Acco, 2003).

Ethical aspects

The samples used in this study were from clinical materials of the routine of the laboratory and they did not characterize any close to increment of conducts, treatments or inquire the patients. Therefore, the consent need was not characterized on the part of these. However, for ends of the correct use of the clinical findings intended the completion of a commitment term, on the part of the researchers, characterizing the handling of the materials and data supplied by the laboratory, for research and science ends (enclosure 1). This research was approved by the Committee of Ethics in Research of the Federal University from Rio Grande do Sul, Southern Brazil (register no. 2001/39).

3 - RESULTS

Antimicrobial susceptibility

The antimicrobial susceptibility of the *S. aureus* isolated from patients of CIT was determined. In 2001, 50 isolates originated predominantly from spittle (44%), of nasal secretion (20%) and of catheter tips (12%). The remaining of the samples corresponded to 4% of each: cervical secretion, blood culture, thorax drain, aspirated of windpipe, jejunostomy and operative wound. The origin of the samples and the respective resistance to the antibiotics tested is presented visualized in the Table 1. A great proportion of resistant isolates was observed, 96% of the samples presented resistance to at least one drug. Only two isolates (1 and 22), both coming from spittle, were susceptible to all the antimicrobials tested. *Staphylococcus aureus* resistant to meticillin corresponding 76% of total (38 samples). In 2003, 34 selected isolates were from spit (41%), surgery wound (18%), aspirate of trachea (12%), blood cultures (9%), washed of bronchi (9%), secretions and liquid peritoneal (11%). The distribution of the samples and the respective resistance to the tested antibiotics can be visualized in the Table 2. A great proportion of resistant isolates was observed, since 97% of the samples presented resistance to at least one drug. A single isolate (25) originating from hemoculture was susceptible to all the antimicrobials tested. In 2004, 20 isolates arose of: aspirated of windpipe (40%), spit (35%), blood culture (10%), catheter tips (10%) and abdominal secretion (5%). The origin of the samples and the respective resistance to the antibiotics tested can be visualized in the Table 3. In this last year, however, 100% of the isolates presented resistance to at least one drug. The MRSA sampling corresponding to 35% of total (7 samples).

Among the *S. Aureus* isolated in 2001, high resistance to β -lactams was observed. The resistance to ampicillin and penicillin was 88% and to the other antimicrobials tested stayed in the range from 72 to 76% of the isolates, except for the rifampicin (68%) and chloranphenicol (66%). A single isolate presented intermediate resistance to teicoplanin and all isolates were susceptible to vancomycin (Table 4). In 2003, the resistance to β -lactams remained high. The resistance to ampicillin and penicillin was 91% and the resistance to other antimicrobials were within 53% to 68%, except for ampicillin/sulbactam (88%). All the isolates were susceptible to teicoplanin and vancomycin (Table 4). Among the isolates studied in 2004, the resistance to the β -lactams ampicillin and penicillin increased to 100% and ampicillin/sulbactam and in the others isolates the resistance was between 25% and 40%. All the isolates were susceptible to vancomycin and teicoplanin (Table 4).

Most of *S. aureus* isolated in 2001 presented multiple resistance (resistance to 2 or more antimicrobials) (Fig. 1A). Among these, samples of different origins demonstrated resistance to 14 of the 16 antimicrobial agents tested. The smallest resistance indexes were observed in samples from cervical secretion, blood culture and jejunostomy (classified as other). In this group, 50% of the isolates were susceptible or they only presented resistance to one or two antimicrobial agents.

The *S. aureus* isolated in 2003 also presented a multi-resistance pattern (Fig. 1B). Among these, mostly isolated samples from different origins showed resistance to 14 of the 16 antimicrobial agents tested. The isolates of 2004 presented a different profile, with most of the samples resistant to 3 antimicrobial agents (Fig. 1C).

Typing of isolates by AST

For typing the isolates, numeric codes were attributed in agreement with the susceptibility to each antimicrobial tested, and then the isolates were grouped in agreement with the generated characteristic profile. As it is extolled by the norms of NCCLS/2005, the cefoxitina disk should be used to predict resistance the oxacilin and, being *Staphylococcus aureus* resistant the oxacilina (MRSA), the choice of the antimicrobial relapses on the vancomycin and the teicoplanin, results for this case a profile fenotípico with only three numeric codes. The results of the antimicrobial susceptibility test of the 50 isolates of 2001 resulted in six different phenotypic profiles (Table 5). The phenotypic profile A, corresponding to multi-resistant lineages, was predominant representing 76% of the samples. This phenotypic profile was found in all the sample groups (spit, nasal secretion, catheter tip and other). The profiles E and F were only found in blood culture samples and jejunostomy, respectively. The result of the antimicrobial susceptibility test of the 34 isolates of 2003 increased six different phenotypic profiles (Table 5), however only two were corresponding to those observed in the year of 2001. The phenotypic profile A stayed predominant representing 59% of the samples. In 2004 the result of AST extended four new phenotypic profiles (Table 5), and only two were corresponding to the previous years: the profile A with 35% of the samples and the profile G with 45% of the samples.

Associating the susceptibility profiles with the different sources of the isolates, seven profiles were related to the spit samples, while one profile were associated to nasal secretion (Table 6). The isolates from catheter tips, tracheal aspirate and of other origins corresponded to one, four and ten different profiles, respectively.

4 - DISCUSSION

The infections caused by multi-resistant strains of *S. aureus* represent an important problem that affects many health institutions. Due to the great amount of procedures and to the diverse possibilities of contamination for existent *S. aureus* in these places, it is necessary to observe the evolution of the antimicrobial resistance and the therapeutic response of these bacterial strains.

The important decrease in the number of *S. aureus* isolates that occurred in the subsequent years to the implantation of the norms of infection control for CCIH of the Hospital Divina Providencia is extremely positive. There were isolated 50 *S. aureus* isolates in 2001 and after the implantation of the norms in 2002, 34 isolates in 2003 and 20 isolates in 2004. This reduction demonstrates the importance of the implantation of programs of infection control and it evokes the need of their maintenance.

When analyzing the antimicrobial resistance of the *S. aureus* samples of the Unit of Intensive Therapy of the Hospital Divina Providencia of Porto Alegre, particularly for the year of 2001, it was observed high resistance levels in comparison with data described by the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, for Brazil (Sader et al., 2001) and Latin America (Sader et al., 2003).

A low proportion of isolates presented susceptibility to penicillin and ampicillin. It was expected, since, currently, it has been recognized that only a small percentage of the *S. aureus* lineages from hospital origin does not produce β -lactamases. The high resistance to penicillin and the total susceptibility to vancomycin are commonly notified for *S. aureus* isolated at different hospitals of the world (Jensen, 1999; Rohani, 2000; Gonlugur, 2003; Subedi, 2005). Among the lineages tested in this study, the resistance to drugs such as clindamycin and rifampicin was much higher than described for *S. aureus* isolates (n = 390) of hospitals in Malaysia (Rohani et al. 2000). The low resistance to clindamycin is supported by the lack of exposure of the lineages of *S. aureus* to this drug, since it is not available in the hospitals of Malaysia.

Urassa et al. (1999) compared the resistance profile of *S. aureus* isolated from neonates, children and adults hospitalized at a general hospital of Tanzania (n = 260). Those authors did not observe significant differences among the groups, and the resistance values to tetracycline and penicillin were comparable to the observed in the present study. The resistance values to erythromycin and tetracycline obtained for isolated of CTI of the Hospital Divina Providencia were still comparable with those described for isolates of *S. aureus* from respiratory origin at a hospital of Turkey, in the period of 1999-2002 (Gonlugur et al., 2003).

Comparing the response of the isolates of *S. aureus* to the antibiotics, particularly to β -lactams, an increase in the resistance is observed with time. In 2001, for instance, the *S. aureus* isolates presented a resistance rate to ampicillin and penicillin of 88%, against 91% in 2003 and 100% in 2004. This fact is not isolated of this institution, having already been notified in other hospitals (Sudebi et al., 2005; Kesha et al., 2003; Rohani et al., 2000).

In spite of the considerable progress in the antimicrobial therapy, the resistance in Gram-positive pathogens continues to increase, mainly in relation to the drugs commonly used in medical practice. The predominant profile observed in this study just indicated sensibility to vancomycin and teicoplanin (phenotypic profile B), corroborating the fact that these glycopeptides remain as the reference therapy for serious infections caused by multi-resistant Gram-positive strains (Sader et al., 2001). Currently, lineages with increased resistance to teicoplanin are being reported in Europe and United States (Cormican 1996). Resistance to vancomycin is uncommon, but *S. aureus* with decreased susceptibility have been reported in the United States and Japan (Jones, 1997; Bhavnani et al., 2000). However, considering only the isolates of 2004, the phenotype B passed to not be the predominant profile, signaling an important change in the resistance profile of the isolates. Excepting for the ampicillin and penicillin, the resistance to the other antimicrobials decreased significantly. The values of resistance to drugs like gentamicin, tetracycline and oxacillin were similar to that described for hospitals of Brazil (Sader et al., 2001) and of Latin America (Sader et al., 2003).

In this study, only three isolates presented sensitivity to all the antimicrobials tested, representing 3% of the total (phenotypic profile A), and 52 isolates only demonstrated sensitivity to vancomycin and teicoplanin, representing 50% of the total (profile B). In spite of the predominance of profile B, the other isolates alternate resistance and susceptibility to the tested drugs, resulting in a great phenotypic diversity as it can be observed in the Table 6 (profiles D to Z). Although the strain typing based on genotypic methods is considered superior as they present a high discrimination power, these techniques are usually difficult, time-consuming and expensive. The typing by antimicrobial susceptibility profile is an inexpensive technique, of easy execution, and, besides, it supplies information on the resistance of the lineages in study (Acco et al., 2003).

TABLE 1. Antimicrobial resistance in *S. aureus* isolated from patients at CIT in 2001.

Samples	n	Ampicilin	Cefalotin	Cefoxitin	Gentamicin	Amikacin	Chloranphenicol	Tetracycline	Sulfametoxazol	Rifampicin	Amp/Sulbactan	Oxacillin	Penicillin	Erythromycin	Clindamycin	Vancomycin	Teicoplanin
Spit	22	20	18	18	18	18	17	18	18	16	18	18	18	18	18	0	0
Nasal secretion	10	10	10	10	8	8	8	8	8	8	8	10	10	10	8	0	0
Catheter tip	6	6	4	4	4	4	2	4	4	4	4	6	6	4	4	0	0
Other*	12	8	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	10	6	6	0	0
Total	50	44	38	38	36	36	33	36	36	34	36	40	44	38	26	0	0

* Samples from cervical secretion, hemoculture, torax drainage, tracheal aspirate, jejunostomy and surgery wound.

TABLE 2. Antimicrobial resistance in *S. aureus* isolated from patients at CIT in 2003.

Samples	n	Ampicilin	Cefalotin	Cefoxitin	Gentamicin	Amikacin	Chloranphenicol	Tetracycline	Sulfametoxazol	Rifampicin	Amp/Sulbactan	Oxacillin	Penicillin	Erythromycin	Clindamycin	Vancomycin	Teicoplanin
Spit	14	14	9	8	8	8	10	8	8	8	14	9	14	9	9	0	0
Surgery wound	6	5	3	3	2	3	2	3	3	2	4	3	4	3	3	0	0
Tracheal aspirate	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	0	0
Other*	10	8	4	4	4	4	7	5	4	4	8	4	8	4	4	0	0
Total	34	31	20	19	18	19	23	20	19	18	30	20	30	20	20	0	0

* Samples from hemoculture, bronchi wash, peritoneal fluid, and abdominal, cervical and pulmonary secretions.

TABLE 3. Antimicrobial resistance in *S. aureus* isolated from patients at CIT in 2004.

Samples	n	Ampicilin	Cefalotin	Cefoxitin	Gentamicin	Amikacin	Chloranphenicol	Tetracycline	Sulfametoxazol	Rifampicin	Amp/Sulbactan	Oxacillin	Penicillin	Erythromycin	Clindamycin	Vancomycin	Teicoplanin
Tracheal aspirate	8	8	3	3	5	5	4	5	4	4	8	5	8	5	3	0	0
Spit	7	7	1	1	1	1	2	2	1	0	7	1	7	1	1	0	0
Other*	5	5	1	1	1	1	1	1	1	1	5	1	5	1	1	0	0
Total	20	20	5	5	7	7	7	8	6	5	20	7	20	7	5	0	0

* Samples from hemoculture, catheter tip and abdominal secretion.

TABLE 4. Antimicrobial resistance profile of *S. aureus* isolated from CIT in 2001, 2003 and 2004.

Antimicrobial	2001		2003		2004	
	n	%	n	%	n	%
Ampicillin	44	88	31	91	20	100
Cefalotin	38	76	20	59	5	25
Cefoxitin	38	76	19	56	5	25
Gentamicin	36	72	18	53	7	35
Amikacin	36	72	19	56	7	35
Chloranphenicol	33	66	23	68	7	35
Tetracycline	36	72	21	62	8	40
Sulfametoxazole	37	74	19	56	6	30
Rifampicin	34	68	18	53	5	25
Amp/Sulbactan	37	74	30	88	20	100
Oxacillin	38	76	20	59	7	35
Penicillin	44	88	31	91	20	100
Erythromycin	38	76	20	59	7	35
Clindamycin	37	74	20	59	7	35
Vancomycin	0	0	0	0	0	0
Teicoplanin	0	0	0	0	0	0

TABLE 5. Typing of *S. aureus* isolates by antimicrobial susceptibility testing.*

Isolate	AST profile	Phenotypical profile
Year 2001 – MRSA		
2-7; 9-14; 16-21; 23-33; 35-37; 43-46; 49-50	133	A
Year 2001 – Not MRSA		
1,22	3333333333333333	B
8,15	1333333333323333	C
34, 38, 39, 40	1333333333313333	D
41,42	2333333333313333	E
47,48	333333333333233	F
Year 2003 – MRSA		
1-5; 7-9; 12; 17-19; 21-24; 26; 28-29;33	133	A
Year 2003 – Not MRSA		
25	3333333333333333	B
15	1333333333313333	D
6; 10; 11; 20; 31	1333333331313333	G
13; 14; 27; 34	13333133331313333	H
16	3333323333332233	I
30	1333331331313333	J
32	3333313333333333	K
Year 2004 – MRSA		
1-3; 7; 8; 15; 20	133	A
Year 2004 – Not MRSA		
4;9;10;12;14;16-19	1333333331313333	G
5	1333333311313333	L
6	1331133331311333	M
11	1333331331313333	N
13	1333313331313333	O

* Susceptibility profiles are given as a numeric code based on the resistance (1), intermediate resistance (2), and susceptibility (3) to the antibiotic tested.

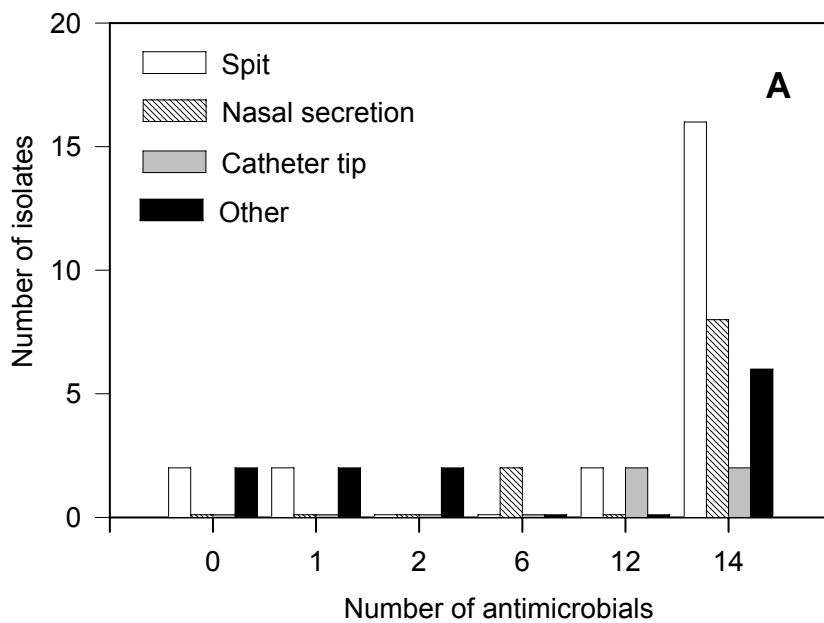
TABLE 6. Antimicrobial susceptibility patterns of *S. aureus* isolated from patients of CIT.

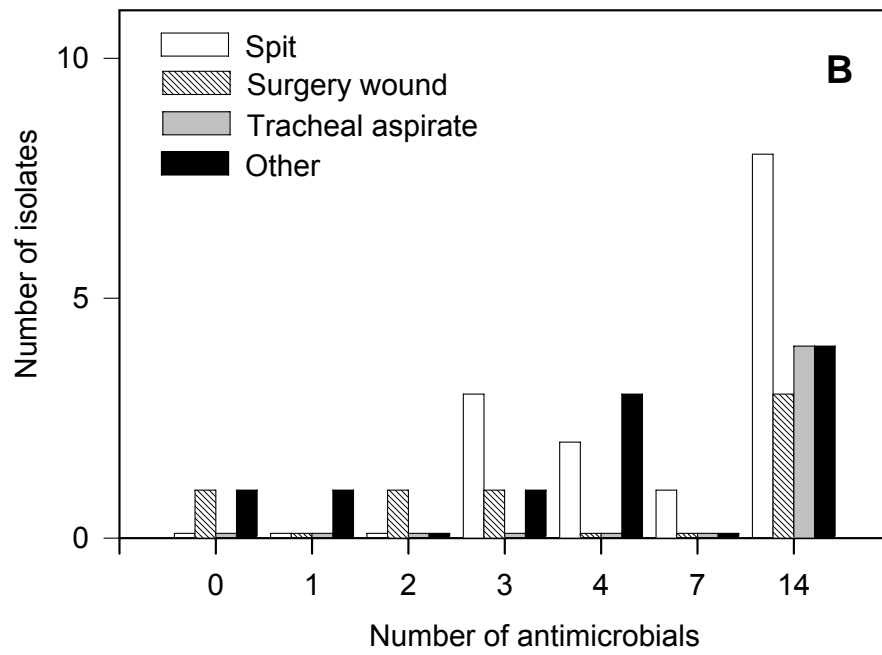
Phenotypical profile	Spit	Nasal secretion	Catheter tip	Tracheal aspirate	Other*	Total
A	28	10	4	11	12	65
B	2	0	0	0	1	3
C	2	0	0	0	0	2
D	0	0	0	0	5	5
E	0	0	0	0	2	2
F	0	0	0	0	2	2
G	7	0	0	1	6	14
H	2	0	0	0	2	4
I	0	0	0	0	1	1
J	0	0	0	0	1	1
K	0	0	0	0	1	1
L	0	0	0	1	0	1
M	0	0	0	1	0	1
N	1	0	0	0	0	1
O	1	0	0	0	0	1

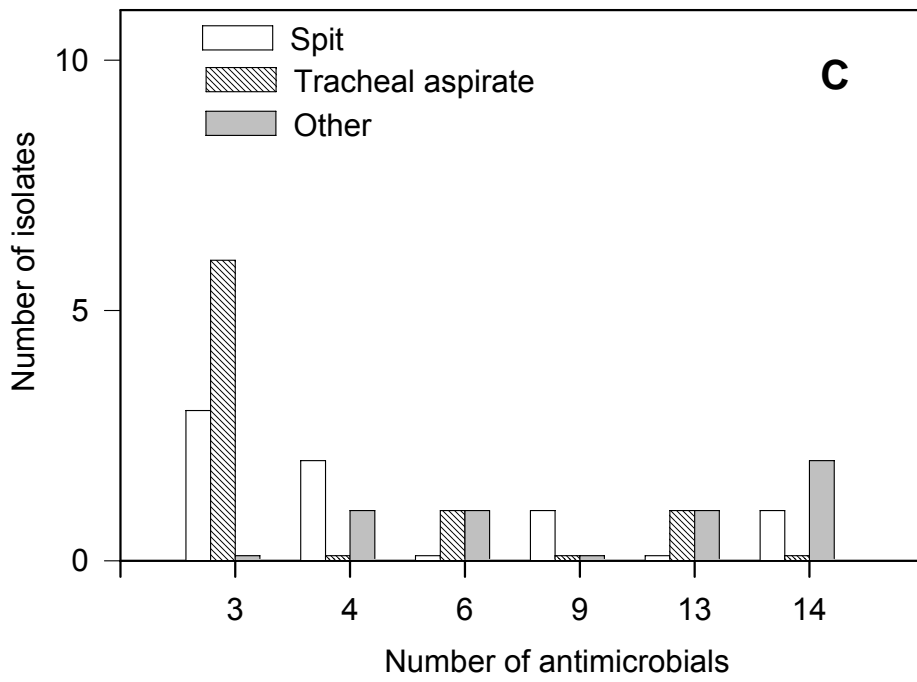
* Samples from hemoculture, torax drain, jejunostomy, surgery wound and abdominal, cervical and pulmonary secretions.

FIGURE LEGEND

FIGURE 1. Antimicrobial resistance of *S. aureus* isolates in 2001 (A), 2003 (B) and 2004 (C). X-axis represents the number of antimicrobials to which strains are resistant. Isolates were grouped according to the number of antimicrobial agents they were resistant.







REFERENCES

- Acco M, Ferreira FS, Henriques JAP, Tondo EC. Identification of multiple strains of *Staphylococcus aureus* colonizing nasal mucosa of food handlers. *Food Microbiology* 2003; 20, 489-493.
- Bhavnani SM, Ballow CH. New agents for Gram-positive bacteria. *Current Opinion in Microbiology* 2000; 3, 528-534.
- Castro MS, Pilger D, Ferreira MBC, et al. Tendências na utilização de antimicrobianos em um hospital universitário, 1990-1996. *Revista de Saúde Pública* 2002; 36, 553-558.
- Cormican MG, Jones RN. Emerging resistance to antimicrobial agents in Gram-positive bacteria. *Drugs* 1996; 51 (1): 6-12.
- De Lencastre H, Tomasz A. Reassessment of the number of auxiliary genes essential for expression of high-level methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1994; 38, 2590-2598.
- Emori TG, Gaynes RP. An overview of nosocomial infections, including the role of the microbiology laboratory. *Clinical Microbiology Reviews* 1993; 6, 428-42.
- Gonlugur U, Akkurt I, Ozdemir L, Bakici MZ, Icgasioglu S, Gultekin F. Antibiotic susceptibility patterns of respiratory isolates of *Staphylococcus aureus* in a Turkish university hospital. *Acta Microbiologica* 2003; 52, 143-148.
- Hermans K, de Herdt P, Devriese LA, Haesebrouck F. Secreted antigens as virulence-associated markers in *Staphylococcus aureus* strains from rabbits. *Veterinary Microbiology* 2001; 81, 345-352.
- Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover FC. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 1997; 40, 135-136.
- Hookey JV, Richardson JF, Cookson BD. Molecular typing of *Staphylococcus aureus* based on PCR restriction fragment length polymorphism and DNA sequence analysis of the coagulase gene. *Journal of Clinical Microbiology* 1998; 36, 1083-1089.
- Ito H, Yoshida H, Bogaki-Shonai M, Niga T, Hattori H, Nakamura S. Quinolone resistance mutations in the DNA gyrase *gyrA* and *gyrB* genes of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1994; 38, 2014-2023.
- Jensen TG, Kolmos HJ, Siboni K. Resistance problems in two university hospitals in Denmark. *Int J Antimicrob Agents* 1999; 12, 71-73.
- Jones RN, Barrett MS, Erwin ME. In vitro activity and spectrum of LY333326, a novel glycopeptide derivative. *Antimicrob. Agents Chemother* 1997; 41: 488-91.
- Kesha C, Redjeb SB, Odugbemi TO, Boye CSB, Dosso M, Achola JON, et al. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in eight African hospitals and Malta. *Clin. Microbiol. Infect.* 2003; 9, 153-156.

- Kresken M, Wiedemann B. Development of resistance to nalidixic acid and the fluoroquinolones after the introduction of norfloxacin and ofloxacin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1988; 32, 1285-1288.
- MacFaddin JF. *Biochemical tests for Identification of Medical Bacteria*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2000.
- Mandel GL, Bennett JE, Dolin R. *Principles and practice of infectious diseases*. 4.ed. New York: Churchill Livingstone, 1995.
- Marshall JR. *Manual de Laboratório Clínico: Microbiologia*, 20^a ed., Santos Livraria Editora, São Paulo SP, 1995.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. NCCLS, Wayne, PA, 1999.
- Rohani MY, Raudzah A, Lau MG, Zaidatul AAR, Salbiah MN, Keah KC, et al. Susceptibility pattern of *Staphylococcus aureus* isolated in Malaysian hospitals. *Int. J. Antimicrob. Agents* 2000; 13, 209-213
- Sader HS, Gales AC, Jones RN. Antimicrobial activity of Linezolid against Gram-positive cocci isolated in Brazil. *Brazilian Journal of Infectious Diseases* 2001; 5, 171-176.
- Sader HS, Gales AC, Pfaller MA, Mendes RE, Zoccoli CM, Barth A, et al. Pathogen frequency and resistance patterns in Brazilian hospitals: summary of results from three years of the SENTRY antimicrobial surveillance program. *Brazilian Journal of Infectious Diseases* 2001; 5, 200-214.
- Sader HS, Jones RN, Andrade-Baiocchi S, Biedenbach DJ. The SENTRY Participants Group Four-year evaluation of frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility patterns of bacteria from bloodstream infections in Latin America medical centers. *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases* 2003; 44, 273-280.
- Schaeffler S. Methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus* resistant to quinolones. *Journal of Clinical Microbiology* 1989; 27, 335-336.
- Subedi S, Brahmadathan KN. Antimicrobial susceptibility patterns of clinical isolates of *Staphylococcus aureus* in Nepal. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11, 235-237
- Suzuki K, Nagata Y, Naide Y, Horiba M *Reviews Infectious Diseases* 1989; 11, S969-S970.
- Tondo EC, Guimarães MCM, Henriques JAP, Ayub MAZ. Assessing and analysing contamination of dairy products processing plant by *Staphylococcus aureus* using antibiotic resistance and PFGE. *Canadian Journal of Microbiology* 2000; 46, 136-142.
- Trucksis M, Wolfson JS, Hooper DC. A novel locus conferring fluoroquinolone resistance in *Staphylococcus aureus*. *Journal of Bacteriology* 1991; 173, 5854-5860.
- Urassa WK, Haule EA, Kagoma C, Langeland N. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains at Muhimbili Medical Centre, Tanzania. *East African Med. J.* 1999; 76, 693-695.

- Van der Brugge S, Arend SM, Bernardts AT, Berbee GAM, Westendorp RGJ, Feuth JDM, van den Broek PJ. Risk factors for acquisition of *Serratia marcescens* in a surgical Intensive Care Unit. *Journal of Hospital Infection* 1999; 41, 291-299.
- Van Leeuwen W, Verbrugh H, van der Velden J, van Leeuwen N, Heck M, van Belkum A. Validation of binary typing for *Staphylococcus aureus* strains. *Journal of Clinical Microbiology* 1999; 37, 664-674.
- Vandepitte J, Engback K, Piot P, Heuck CC. *Procedimentos Laboratoriais em Bacteriologia Clínica*, OMS, 1994; 64p.
- Walker J, Borrow R, Edwards-Jones V, Oppenheim A, Fox AJ. Epidemiological characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated in the North West of England by protein A (*spa*) and coagulase (*coa*) gene polymorphisms. *Epidemiology and Infection* 1998; 121, 507-514.

Artigo

RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS DE ISOLADOS DE *Staphylococcus aureus* DO CENTRO DE TERAPIA INTENSIVA DO HOSPITAL DIVINA PROVIDÊNCIA

RESUMO

OBJETIVO. Avaliar a variabilidade de isolados de *Staphylococcus aureus* por meio da susceptibilidade in vitro aos antimicrobianos através de fenotipagem e a resposta ao controle bacteriano após a implantação de normas de controle de infecção

MATERIAIS E MÉTODOS. Foram analisadas 104 amostras de materiais oriundos de pacientes do CTI do Hospital Divina Providência de Porto Alegre, RS, encaminhados ao Laboratório de Análises Clínicas nos anos de 2001, 2003 e 2004. A avaliação da susceptibilidade foi realizada pelo método de difusão por disco descrito por Kirby-Bauer, seguindo as normas preconizadas pelo NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2005) e os antimicrobianos utilizados fazem parte dos grupos das penicilinas, cefalosporinas, carbapenêmicos, aminoglicosídeos, macrolídeos, tetraciclina, sulfonamidas e glicopeptídeos. A partir do resultado de susceptibilidade foi feita a fenotipificação das amostras e identificado o perfil fenotípico de cada uma. Avaliou-se também o avanço do controle bacteriano deste hospital após a implantação de normas de controle de infecção em 2002.

RESULTADOS. Os glicopeptídeos foram os antimicrobianos que apresentaram maior atividade in vitro contra amostras de *Staphylococcus aureus* (100% de susceptibilidade para vancomicina e teicoplanina). Em 2001 noventa e seis por cento das amostras mostraram resistência para pelo menos uma droga; em 2003, noventa e sete por cento e em 2004, cem por cento das amostras mostraram resistência para pelo menos uma droga. Dentre todos os perfis identificados (15), apenas um (perfil fenotípico A), equivalente aos *S. aureus* resistentes a meticilina (MRSA), foi identificado nos três anos da pesquisa e o número de isolados diminuiu nos anos seguintes ao primeiro, sendo 50 em 2001, 34 em 2003 e 20 em 2004.

CONCLUSÃO. Os resultados do presente estudo mostraram uma alta taxa de resistência a antimicrobianos para as amostras de *S. aureus* do CTI do Hospital Divina Providência e em contrapartida uma diminuição no número de isolados após a implantação de normas para controle de infecção.

1 – INTRODUÇÃO

A crescente prevalência de bactérias resistentes a antibióticos, muitas vezes associada ao uso extensivo de agentes antimicrobianos, poderá resultar em um conjunto insuficiente de substâncias para combater algumas infecções bacterianas. A prevalência de isolados de *Staphylococcus aureus* resistentes a antibióticos convencionais tem aumentado a níveis elevados em alguns hospitais (Mandell, 1995). Resistência entre isolados de outros microrganismos como *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus* spp. também têm sido descritos (Kresken et al., 1988; Suzuki et al., 1989; van der Brugge et al., 1999).

O *Staphylococcus aureus* é uma bactéria que coloniza tanto o meio comunitário quanto o meio hospitalar. No meio hospitalar, por estar sujeito a um amplo espectro de antibióticos, acaba por desenvolver um aumento na resistência a estes agentes antimicrobianos. Entre os pacientes hospitalizados, 5 a 10% adquirem infecção durante a internação (Vandepitte et al., 1994). Mundialmente, o *Staphylococcus aureus* é um dos principais microrganismos envolvidos em infecções, e isolados resistentes a meticilina (MRSA) representam 15-45% de todos *Staphylococcus aureus* isolados (Emori et al., 1993). O tratamento de infecções causadas por estas bactérias recai somente ao uso de vancomicina. Uma recente emergência de isolados clínicos MRSA com susceptibilidade reduzida a vancomicina reforçou a importância de desenvolver-se pesquisa nesta área (Hiramatsu et al., 1997).

Os mecanismos pelos quais o *S. aureus* desenvolve resistência podem ser diversos. Genes de *S. aureus* relacionados à resistência a quinolonas têm sido identificados (Trucksis et al., 1991), sendo que mutações nos genes *gyrA* e *gyrB* podem ser responsáveis pela resistência a quinolonas neste microrganismo (Ito et al., 1994). Os isolados MRSA examinados apresentam o gene *mec*, um fragmento de DNA de 2130 bp de origem não-estafilocócica codificando para uma proteína de união à penicilina. Desde que a resistência a meticilina foi identificada pela primeira vez em um isolado de *Staphylococcus aureus*, sua incidência aumentou enormemente, e o gene *mec* tem sido detectado em várias outras espécies de *Staphylococcus*. Esta bactéria pode ser ainda resistente a penicilinas resistentes a penicilinases, devido a produção de grandes quantidades de β -lactamases. Sugere-se entretanto que vários genes auxiliares influenciam ainda na resistência a meticilina (de Lencastre et al., 1994). Neste sentido, estudar a variabilidade dos isolados e conhecer seu perfil de resistência é extremamente importante para rastrear e identificar a origem, e combater a infecção.

A tipificação é uma ferramenta importante para caracterização e controle de microrganismos infecciosos. Métodos moleculares de tipificação, baseados em análise de

DNA (PFGE, RAPD, RFLP), tem sido usados com a premissa de maior discriminação em relação aos métodos fenotípicos (Walker et al., 1998; Hookey et al., 1998; van Leeuwen et al., 1999). Entretanto a tipificação baseada em aspectos fenotípicos, como por exemplo, a resistência a antimicrobianos (Tondo et al., 2000) e antígenos associados à virulência (Hermans et al., 2001) pode contribuir na discriminação entre diferentes isolados. Além disso, a tipificação da resistência aos antibióticos pode auxiliar na detecção da melhor linha a ser adotada em tratamentos de infecção por *Staphylococcus aureus*.

A correta caracterização dos isolados permite a utilização dos antimicrobianos de maneira a direcioná-los adequadamente para cada caso. Espera-se que quanto mais específico for o antibiótico, melhor será o tratamento. O uso inadequado de antimicrobianos de espectro muito amplo pode desequilibrar a biota dos pacientes e levar ao surgimento de superinfecções por microrganismos multirresistentes (Castro, 2002).

O Centro de Terapia Intensiva do Hospital Divina Providência de Porto Alegre dispõe de dez leitos, nos quais freqüentemente registra-se a ocorrência de pacientes infectados por *Staphylococcus aureus* com variável grau de resistência a antimicrobianos. Com o intuito de determinar a prevalência destes isolados, fez-se uma pesquisa em materiais encaminhados ao Laboratório de Análises Clínicas pelo Centro de Terapia Intensiva deste Hospital durante todo o ano de 2001.

Em 2002 a Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) do Hospital Divina Providência passou a implantar as regras preconizadas pelo Ministério da Saúde, conforme a portaria nº 2.616, de 12 de maio de 1998, adequando os procedimentos da instituição dentro das normas desta lei.

Dentre os pontos atendidos nesta nova situação, destacamos algumas determinações que foram estabelecidas na conduta da rotina hospitalar, que são:

Organização:

1. O Programa de Controle de Infecção Hospitalares (PCIH) é um conjunto de ações desenvolvidas deliberada e sistematicamente, com vistas à redução máxima possível da incidência e da gravidade das infecções hospitalares.
2. Para a adequada execução do PCIH, os hospitais deverão constituir Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH), órgão de assessoria à autoridade máxima da instituição e de execução das ações de controle de infecção hospitalar.

Vigilância epidemiológica e indicadores epidemiológicos das infecções hospitalares:

1. Vigilância Epidemiológica das infecções hospitalares é a observação ativa, sistemática e contínua de sua ocorrência e de sua distribuição entre pacientes, hospitalizados ou não, e dos eventos e condições que afetam o risco de sua ocorrência, com vistas à execução oportuna das ações de prevenção e controle.
2. A CCIH deverá escolher o método de Vigilância Epidemiológica mais adequado às características do hospital, à estrutura de pessoal e à natureza do risco da assistência, com base em critérios de magnitude, gravidade, redutibilidade das taxas ou custo;
3. São recomendados os métodos de busca ativos de coleta de dados para Vigilância Epidemiológica das infecções hospitalares.

Lavagem Das Mãos:

1. Lavagem das mãos é a fricção manual vigorosa de toda a superfície das mãos e punhos, utilizando-se sabão/detergente, seguida de enxágüe abundante em água corrente.
2. A lavagem das mãos é, isoladamente, a ação mais importante para a prevenção e controle das infecções hospitalares.
3. O uso de luvas não dispensa a lavagem das mãos antes e após contatos que envolvam mucosas, sangue ou outros fluidos corpóreos, secreções ou excreções.
4. A lavagem das mãos deve ser realizada tantas vezes quanto necessária, durante a assistência a um único paciente, sempre que envolver contato com diversos sítios corporais, entre cada uma das atividades.
5. A decisão para a lavagem das mãos com uso de anti-séptico deve considerar o tipo de contato, o grau de contaminação, as condições do paciente e o procedimento a ser realizado.
6. Devem ser empregadas medidas e recursos com o objetivo de incorporar a prática da lavagem das mãos em todos os níveis de assistência hospitalar.

Recomendações Gerais:

1. A utilização dos anti-sépticos, desinfetantes e esterilizantes seguirá as determinações da Portaria nº 15, de 23 de agosto de 1988, da Secretaria de Vigilância Sanitária (SVS)/ do Ministério da Saúde e o Processamento de Artigos e Superfícies em Estabelecimentos de Saúde/MS, 2ª edição, 1994, ou outras que as complementem ou substituam.

2. As normas de limpeza, desinfecção e esterilização são aquelas definidas pela publicação do Ministério da Saúde, Processamento de Artigos e Superfícies em Estabelecimentos de Saúde, 2ª edição, 1994 - princípios ativos liberados conforme os definidos pela Portaria nº 15, SVS, de 23 de agosto de 1988, ou outras que a complementem ou substituam.
3. As normas de procedimentos na área de Microbiologia são aquelas definidas pela publicação do Ministério da Saúde - Manual de Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Hospitalar, 1ª edição, 1991, ou outras que as complementem ou substituam.
4. As normas para lavanderia são aquelas definidas pela publicação do Ministério da Saúde - Manual de Lavanderia Hospitalar, 1ª edição, 1986, ou outras que as complementem ou substituam.
5. A Farmácia Hospitalar seguirá as orientações contidas na publicação do Ministério da Saúde - Guia Básico para a Farmácia Hospitalar, 1ª edição, 1994, ou outras que as complementem ou substituam.

Assim, visando monitorar o avanço do controle bacteriano deste hospital e comparar a prevalência dos isolados de *Staphylococcus aureus* nos anos seguintes a implantação das regras de controle de infecção hospitalar, fez-se a pesquisa dos materiais encaminhados pelo Centro de Terapia Intensiva ao Laboratório de Análises Clínicas durante o anos de 2003 e 2004.

2 – MATERIAIS E MÉTODOS

Delineamento

Foi realizado um estudo transversal não controlado onde se determinou a prevalência de antibiogramas dos isolados de *Staphylococcus aureus* (anexo 8), e realizou-se a tipificação destes isolados de acordo com sua susceptibilidade aos antimicrobianos. O fator em estudo foi: isolados de *Staphylococcus aureus* e o desfecho: a amplitude de variação do antibiograma e sua tipificação.

Materiais

Foram utilizados os meios de cultura ágar sangue e ágar Muller Hinton (anexos 2 e 3) distribuídos em placas de petri descartáveis, swabs, e discos de antibióticos comerciais da Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda.

Amostras

Foram utilizadas 104 amostras de materiais oriundos de pacientes do CTI do Hospital Divina Providência, encaminhados ao Laboratório de Análises Clínicas. Destas amostras, 50 foram coletadas no período de janeiro a dezembro de 2001 (anexo 9); 34 no período de janeiro a dezembro de 2003 (anexo 10) e 20 no período de janeiro a dezembro de 2004 (anexo 11). As amostras consistiram de: hemoculturas, fluidos corporais, secreções, materiais de procedimentos (cânuas, cateteres, drenos), escarros e “swabs” de feridas operatórias. A inoculação, identificação e o conseqüente isolamento das bactérias deu-se em meios de cultura (ágar sangue) tendo sido feitas provas de catalase e coagulase e coloração por Gram (anexos 4, 5 e 6) para identificação, seguindo-se roteiro descrito por MacFaddin (2000). As amostras foram conservadas em caldo de soja tripticaseína (anexo 7) acrescidas ao caldo glicerol na proporção de 1 para 5 e armazenadas à -20°C para posteriores confirmações ou repetições, se necessárias.

Critérios de Exclusão

Foram excluídas amostras oriundas de um mesmo paciente, que tiveram origem no mesmo sítio ou que tiveram origem em sítios diferentes, mas apresentaram a mesma bactéria e perfil de sensibilidade aos antimicrobianos, recebidas em um período de três ou menos dias.

Teste de Susceptibilidade aos Antibióticos (TSA)

As 104 amostras selecionadas foram semeadas em Ágar Muller Hinton para fazer-se o teste de susceptibilidade aos antimicrobianos. Os antimicrobianos utilizados foram os seguintes: Ampicilina 10 µg, Cefalotina 30 µg, Cefoxitina 30 µg, Gentamicina 10 µg, Amicacina 30 µg, Cloranfenicol 30 µg, Tetraciclina 30 µg, Sulfametoxazol 25 µg, Rifampicina 5 µg, Ampicilina/Sulbactam 10/10 µg, Oxacilina 1 µg, Penicilina 10 U, Eritromicina 15 µg, Clindamicina 2 µg, Vancomicina 30 µg, Teicoplanina 30 µg.

O método utilizado para o teste de susceptibilidade aos antimicrobianos foi o de difusão por disco descrito por Kirby-Bauer, seguindo-se as normas preconizadas pelo NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1999).

Após avaliar-se o tamanho do halo específico para cada antibiótico, atribuiu-se a este as indicações de **S** para sensível, **I** para resistência intermediária e **R** para resistente.

Para a tipificação, foi criado um código numérico baseado na resistência aos antimicrobianos de cada isolado. Resistência foi classificada como 1, resistência intermediária como 2, e sensibilidade como 3 (Acco et al. 2003).

Aspectos Éticos

As amostras utilizadas neste estudo foram oriundas de materiais clínicos da rotina do laboratório e não caracterizaram qualquer acréscimo de condutas, tratamentos ou questionamentos junto aos pacientes. Logo, não se caracterizou a necessidade de consentimento por parte destes. Entretanto, para fins da correta utilização dos achados clínicos propôs-se o preenchimento de um termo de compromisso, por parte dos pesquisadores, caracterizando o manuseio dos materiais e dados fornecidos pelo laboratório, para fins de pesquisa e ciência (anexo 1). Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFRGS, parecer nº 2001/39.

3 – RESULTADOS

Susceptibilidade aos antimicrobianos

A susceptibilidade a antimicrobianos de *S. aureus* isolados de pacientes da CTI foi determinada. Em 2001 os 50 isolados selecionados originaram-se predominantemente de escarro (44%), de secreção nasal (20%) e de ponteiras de cateter (12%). O restante das amostras correspondeu a 4% de cada: secreção cervical, hemocultura, dreno de tórax, aspirado traqueal, jejunostomia e ferida operatória. A distribuição das amostras e a respectiva resistência aos antibióticos testados pode ser visualizada na Tabela 1. Uma grande proporção de isolados resistentes foi observada, 96% das amostras apresentaram resistência pelo menos para uma droga. Apenas dois isolados (1 e 22 da Tabela 5), ambos provenientes de escarro, foram suscetíveis a todos os antimicrobianos testados. *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (MRSA) representam 76% do total (38 amostras). Em 2003 os 34 isolados selecionados originaram-se de: escarro (41%), ferida operatória (18%), aspirado traqueal (12%), hemoculturas (9%), lavado brônquico (9%), secreções e líquido peritoneal (11%). A distribuição das amostras e a respectiva resistência aos antibióticos testados pode ser visualizada na Tabela 2. Novamente uma grande proporção de isolados resistentes foi observada, pois 97% das amostras apresentaram resistência pelo menos a uma droga. Apenas 1 isolado (25) proveniente de hemocultura foi suscetível a todos os antimicrobianos testados. As amostras MRSA representaram neste ano 59% do total (20 amostras). Em 2004 os 20 isolados selecionados originaram-se de: aspirado traqueal (40%), escarro (35%), hemocultura (10%), ponteiras de cateter (10%) e secreção abdominal (5%). A distribuição das amostras e a respectiva resistência aos antibióticos testados pode ser visualizada na Tabela 3. Neste ano, porém, 100% dos isolados apresentaram resistência pelo menos para uma droga. As amostras MRSA representaram 35% do total (7 amostras).

Entre os isolados estudados em 2001, elevada resistência a β -lactâmicos foi observada. A resistência à ampicilina e à penicilina foi de 88% e aos outros antimicrobianos testados manteve-se na faixa de 72 a 76% dos isolados, com exceção da rifampicina (68%) e cloranfenicol (66%). Todos isolados foram suscetíveis a vancomicina e a teicoplanina (Tabela 4). Em 2003 a resistência a β -lactâmicos manteve-se elevada. A resistência a ampicilina e a penicilina foi de 91% e os demais ficaram na faixa de 53% a 68% exceto a ampicilina/sulbactam (88%). Todos os isolados foram suscetíveis a vancomicina e a teicoplanina (Tabela 4). Nos isolados estudados em 2004 a resistência a β -lactâmicos aumentou chegando aos 100% de resistência para ampicilina, penicilina e

ampicilina/sulbactam e nos outros isolados a faixa de resistência ficou entre 25% e 40%. Todos os isolados foram suscetíveis a vancomicina e a teicoplanina (Tabela 4).

A maioria dos *S. aureus* isolados em 2001 apresentou multirresistência (resistência a 2 ou mais antimicrobianos) (Fig. 1-A). Entre estes, amostras isoladas das diferentes origens demonstraram resistência a 14 dos 16 antimicrobianos testados. Os menores índices de resistência foram observados em amostras provenientes de secreção cervical, hemocultura e jejunostomia (classificados como 'outros'). Neste grupo, 50% dos isolados foram suscetíveis ou apresentaram resistência a apenas um ou dois antimicrobianos.

A maioria dos de *S. aureus* isolados em 2003 também apresentou multirresistência (resistência a 2 ou mais antimicrobianos) (Fig. 1-B). Entre estes, amostras isoladas das diferentes origens demonstraram resistência a 14 dos 16 antimicrobianos testados. Os isolados de 2004 apresentaram um perfil distinto, com a maioria das amostras resistentes a 3 antimicrobianos (Fig. 1-C).

Tipificação dos isolados por TSA

Para tipificação dos isolados foram atribuídos códigos numéricos de acordo com a susceptibilidade a cada antimicrobiano testado, e então os isolados foram agrupados de acordo com o perfil característico gerado. Como é preconizado pelas normas do NCCLS/2005, deve-se utilizar o disco de cefoxitina para predizer resistência a oxacilina e, sendo o *Staphylococcus aureus* resistente a oxacilina (MRSA), a escolha do antimicrobiano recai sobre a vancomicina e a teicoplanina, resultando para este caso um perfil fenotípico com apenas três códigos numéricos. Os resultados do teste de susceptibilidade a antimicrobianos dos 50 isolados de 2001 resultou em seis perfis fenotípicos diferentes (Tabela 5). O perfil fenotípico A, correspondente a linhagens MRSA, foi predominante representando 76% das amostras. Apenas este perfil fenotípico foi encontrado em todos os grupos de amostras (escarro, secreção nasal, ponta de cateter e outros). Os perfis E e F foram encontrados apenas em amostras de hemocultura e jejunostomia, respectivamente. O resultado do teste de susceptibilidade a antimicrobianos dos 34 isolados de 2003 acrescentou seis perfis fenotípicos diferentes (Tabela 5), porém apenas dois foram correspondentes ao ano de 2001, sendo que o perfil fenotípico A permaneceu predominante representando 59% das amostras. Em 2004 o resultado acrescentou quatro novos perfis fenotípicos (Tabela 5), sendo que apenas dois foram correspondentes aos anos anteriores: o perfil fenotípico A com 35% das amostras e o perfil fenotípico G com 45% das amostras.

Associando os perfis de susceptibilidade as diferentes origens dos isolados, foram obtidos sete perfis para amostras de escarro, um perfil para secreção nasal, um perfil para ponta de cateter, quatro perfis para aspirado traqueal e dez perfis para isolados de outras origens (Tabela 6).

4 – DISCUSSÃO

As infecções causadas por linhagens multirresistentes de *S. aureus* representam um importante problema que afeta as instituições de saúde. Devido a grande quantidade de procedimentos e à diversidade de possibilidades de contaminação por *S. aureus* existentes nestes locais, faz-se necessário observar a evolução da resistência aos antimicrobianos e a resposta terapêutica frente a estas bactérias.

O fato de haver ocorrido uma importante diminuição no número de isolados nos anos subsequentes a implantação das normas de controle de infecção pela CCIH do Hospital Divina Providência é extremamente positivo. Foram isoladas 50 amostras em 2001 e após a implantação das normas em 2002, 34 amostras foram isoladas em 2003 e 20 amostras em 2004. Esta redução mostra a importância da implantação de programas de controle de infecção e fomenta a necessidade de sua manutenção.

Ao analisar o perfil de susceptibilidade a antimicrobianos das amostras de *S. aureus* obtidas da Unidade de Terapia Intensiva do Hospital Divina Providência de Porto Alegre, particularmente para o ano de 2001, observou-se que os níveis de resistência foram elevados em comparação com dados descritos pelo Programa de Vigilância em Antimicrobianos SENTRY, para o Brasil (Sader et al., 2001) e para a América Latina (Sader et al., 2003).

Apenas uma baixa proporção de isolados apresentaram susceptibilidade a penicilina e ampicilina. Este é um dado esperado, sendo reconhecido que apenas uma pequena porcentagem das linhagens hospitalares de *S. aureus* não produzem β -lactamases. A elevada resistência a penicilina e a total susceptibilidade para vancomicina são comumente relatadas para *S. aureus* isolados de diferentes hospitais do mundo (Jensen et al., 1999; Rohani et al., 2000; Gonlugur et al., 2003; Subedi et al., 2005). Entre as linhagens testadas neste estudo, a resistência a drogas como clindamicina e rifampicina foi muito mais elevada que o descrito para isolados de *S. aureus* (n = 390) de hospitais da Malásia (Rohani et al., 2000). A baixa resistência a clindamicina foi atribuída a não exposição das linhagens de *S. aureus* a esta droga, que não está disponível nos hospitais da Malásia.

Urassa et al. (1999) compararam o perfil de resistência de *S. aureus* isolados de neonatos, crianças e adultos hospitalizados em um hospital da Tanzânia (n = 260). Os autores não observaram diferenças significativas entre os grupos, sendo que os valores de resistência a tetraciclina e penicilina foram comparáveis aos observados no presente estudo. Os valores de resistência a eritromicina e tetraciclina obtidos para isolados do CTI do Hospital Divina Providência foram ainda comparáveis com aqueles descritos para isolados de *S. aureus* de origem respiratória de um hospital da Turquia, no período de 1999-2002 (Gonlugur et al., 2003).

Comparando a resposta dos isolados de *S. aureus* aos antibióticos, particularmente os β -lactâmicos, observa-se um aumento na resistência na medida em que o tempo passa. Em 2001, por exemplo, os isolados de *S. aureus* apresentaram uma taxa de resistência a ampicilina e a penicilina de 88%, contra 91% em 2003 e 100% em 2004. Este fato não é isolado desta instituição já tendo sido relatado em outras instituições (Sudebi et al., 2005; Kesha et al., 2003; Rohani et al., 2000).

Apesar dos grandes avanços na terapia antimicrobiana, a resistência em patógenos Gram-positivos continua a aumentar, principalmente em relação às drogas comumente utilizadas na prática médica. O perfil predominante observado neste estudo indicou sensibilidade apenas a vancomicina e teicoplanina (perfil fenotípico B), corroborando o fato de que estes glicopeptídeos continuam sendo a terapia de referência para infecções graves causadas por Gram-positivos multirresistentes (Sader et al., 2001). Atualmente, linhagens com crescente resistência frente a teicoplanina estão sendo reportadas na Europa e Estados Unidos (Cormican, 1996). Resistência a vancomicina é incomum, mas níveis de resistência de *S. aureus* têm sido recentemente reportados nos Estados Unidos e Japão (Jones 1997; Bhavnani et al., 2000). Entretanto considerando apenas os isolados de 2004, o perfil B passa a não ser predominante, sinalizando uma importante mudança no perfil dos isolados. Com exceção da ampicilina e penicilina, a resistência aos outros antimicrobianos diminuiu significativamente. Os valores de resistência de drogas como gentamicina, tetraciclina e oxacilina foram similares aos descritos para hospitais do Brasil (Sader et al., 2001) e da América Latina (Sader et al., 2003).

Neste estudo, apenas três isolados apresentaram sensibilidade a todos os antimicrobianos, representando 3% do total (perfil fenotípico B), e 65 isolados demonstraram sensibilidade apenas à vancomicina e à teicoplanina representando 63% do total (perfil fenotípico A - MRSA). Apesar da predominância do perfil A, os demais isolados alternam resistência e sensibilidade às drogas testadas, resultando em grande diversidade fenotípica. Embora os métodos genotípicos de tipificação sejam considerados superiores por apresentarem um elevado poder de discriminação, estas técnicas são geralmente trabalhosas, demoradas e caras. A tipificação por perfil de susceptibilidade a antimicrobianos é uma técnica barata, de fácil execução, e, além disso, fornece informação sobre a resistência das linhagens em estudo (Acco et al., 2003).

TABELA 1. Resistência a antimicrobianos de isolados de *S. aureus* em 2001

Amostras	n	Ampicilina	Cefalotina	Cefoxitina	Gentamicina	Amicacina	Cloranfenicol	Tetraciclina	Sulfametoxazol	Rifampicina	Amp/Sulbactam	Oxacilina	Penicilina	Eritromicina	Clindamicina	Vancomicina	Teicoplanina
Escarro	22	20	18	18	18	18	17	18	18	16	18	18	18	18	18	0	0
Secreção nasal	10	10	10	10	8	8	8	8	8	8	8	10	10	10	8	0	0
Cateter	6	6	4	4	4	4	2	4	4	4	4	6	6	4	4	0	0
Outros*	12	8	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	10	6	6	0	0
Total	50	44	38	38	36	36	33	36	36	34	36	40	44	38	26	0	0

* Amostras de secreção cervical, hemocultura, dreno do tórax, aspirado traqueal, jejunostomia e ferida operatória.

TABELA 2. Resistência a antimicrobianos de isolados de *S. aureus* em 2003

Amostras	n	Ampicilina	Cefalotina	Cefoxitina	Gentamicina	Amicacina	Cloranfenicol	Tetraciclina	Sulfametoxazol	Rifampicina	Amp/Sulbactam	Oxacilina	Penicilina	Eritromicina	Clindamicina	Vancomicina	Teicoplanina
Escarro	14	14	9	8	8	8	10	8	8	8	14	9	14	9	9	0	0
Ferida Operatória	6	5	3	3	2	3	2	3	3	2	4	3	4	3	3	0	0
Aspirado Traqueal	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	0	0
Outros*	10	8	4	4	4	4	7	5	4	4	8	4	8	4	4	0	0
Total	34	31	20	19	18	19	23	20	19	18	30	20	30	20	20	0	0

* Amostras hemocultura, lavado brônquico, líquido peritoneal, e secreções abdominal, cervical e pulmonar.

TABELA 3. Resistência a antimicrobianos de isolados de *S. aureus* em 2004

Amostras	n	Ampicilina	Cefalotina	Cefoxitina	Gentamicina	Amicacina	Cloranfenicol	Tetraciclina	Sulfametoxazol	Rifampicina	Amp/Sulbactan	Oxacilina	Penicilina	Eritromicina	Clindamicina	Vancomicina	Teicoplanina
Aspirado Traqueal	8	8	3	3	5	5	4	5	4	4	8	5	8	5	3	0	0
Escarro	7	7	1	1	1	1	2	2	1	0	7	1	7	1	1	0	0
Outros*	5	5	1	1	1	1	1	1	1	1	5	1	5	1	1	0	0
Total	20	20	5	5	7	7	7	8	6	5	20	7	20	7	5	0	0

* Amostras de hemocultura, ponta de caterer e secreção abdominal.

TABELA 4
Perfil de resistência a antimicrobianos de isolados de *S. aureus* em 2001, 2003 e 2004.

Antimicrobiano	2001		2003		2004	
	n	%	n	%	n	%
Ampicilina	44	88	31	91	20	100
Cefalotina	38	76	20	59	5	25
Cefoxitina	38	76	19	56	5	25
Gentamicina	36	72	18	53	7	35
Amicacina	36	72	19	56	7	35
Cloranfenicol	33	66	23	68	7	35
Tetraciclina	36	72	21	62	8	40
Sulfametoxazol	37	74	19	56	6	30
Rifampicina	34	68	18	53	5	25
Amp/Sulbactan	37	74	30	88	20	100
Oxacilina	38	76	20	59	7	35
Penicilina	44	88	31	91	20	100
Eritromicina	38	76	20	59	7	35
Clindamicina	37	74	20	59	7	35
Vancomicina	0	0	0	0	0	0
Teicoplanina	0	0	0	0	0	0

TABELA 5. Tipificação de isolados de *Staphylococcus aureus* pelo teste de susceptibilidade a antimicrobianos.*

Isolado	Perfil TSA	Perfil fenotípico
Ano 2001 – MRSA		
2-7; 9-14; 16-21; 23-33; 35-37; 43-46; 49-50	133	A
Ano 2001 – Não MRSA		
1,22	3333333333333333	B
8,15	1333333333323333	C
34, 38, 39, 40	1333333333313333	D
41,42	2333333333313333	E
47,48	333333333333233	F
Ano 2003 – MRSA		
1-5; 7-9; 12; 17-19; 21-24; 26; 28-29;33	133	A
Ano 2003 – Não MRSA		
25	3333333333333333	B
15	1333333333313333	D
6; 10; 11; 20; 31	1333333331313333	G
13; 14; 27; 34	1333313331313333	H
16	3333323333332233	I
30	1333331331313333	J
32	3333313333333333	K
Ano 2004 – MRSA		
1-3; 7; 8; 15; 20	133	A
Ano 2004 – Não MRSA		
4;9;10;12;14;16-19	1333333331313333	G
5	1333333311313333	L
6	1331133331311333	M
11	1333331331313333	N
13	1333313331313333	O

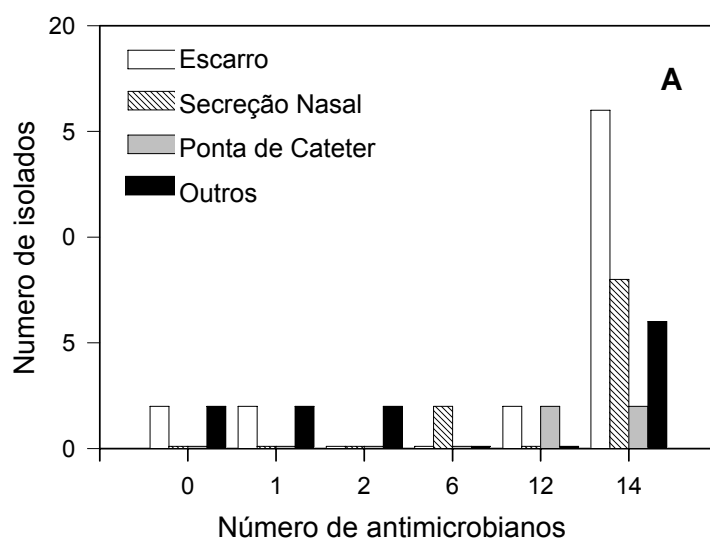
* Para tipificação da susceptibilidade dos antibióticos atribuiu-se valores numéricos aos resultados, sendo: sensível (3), intermediário (2) e resistente (1).

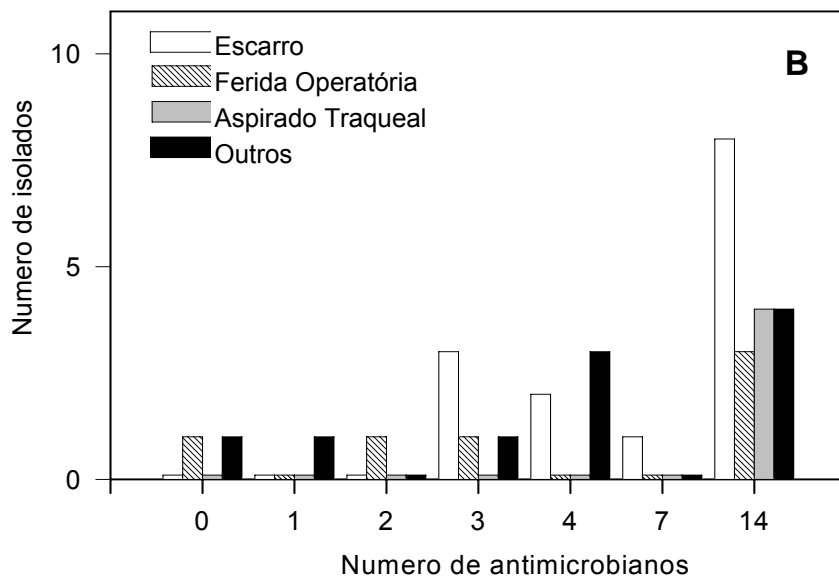
TABELA 6. Perfis de susceptibilidade a antimicrobianos de isolados de *S. aureus* de pacientes do CTI.

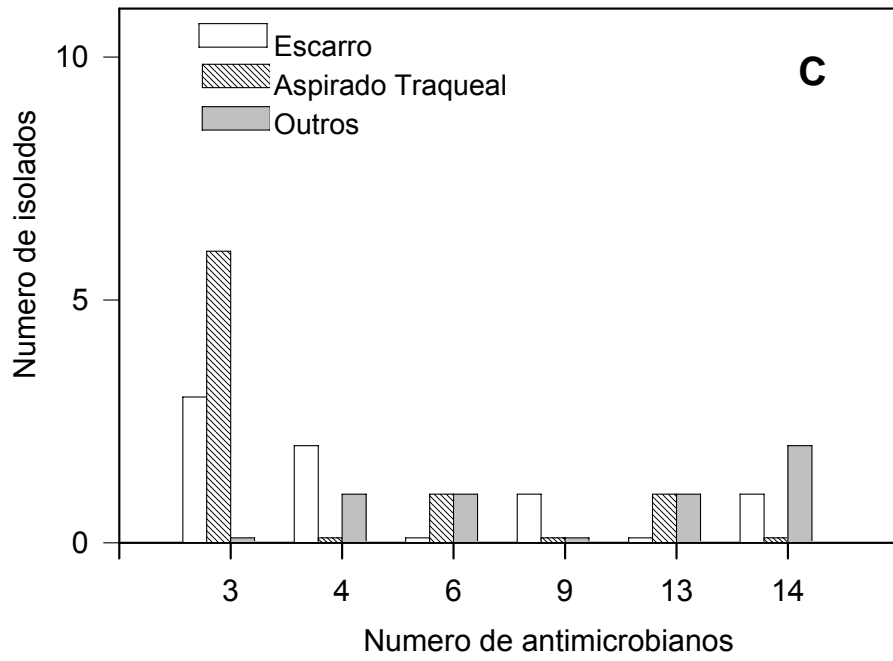
Perfil fenotípico	Escarro	Sec. Nasal	Pt. Cateter	Aspirado Traqueal	Outros*	Total
A	28	10	4	11	12	65
B	2	0	0	0	1	3
C	2	0	0	0	0	2
D	0	0	0	0	5	5
E	0	0	0	0	2	2
F	0	0	0	0	2	2
G	7	0	0	1	6	14
H	2	0	0	0	2	4
I	0	0	0	0	1	1
J	0	0	0	0	1	1
K	0	0	0	0	1	1
L	0	0	0	1	0	1
M	0	0	0	1	0	1
N	1	0	0	0	0	1
O	1	0	0	0	0	1

* Amostras de hemocultura, dreno do tórax, jejunostomia, ferida operatória e secreções abdominal, cervical e pulmonar.

FIGURA 1. Resistência a antimicrobianos de *S. aureus* isolados em 2001 (A), 2003 (B) e 2004 (C). O eixo X representa o número de antimicrobianos aos quais os isolados foram resistentes. Os isolados foram agrupados de acordo com o número de antimicrobianos aos quais foram resistentes.







REFERÊNCIAS

- Acco M, Ferreira FS, Henriques JAP, Tondo EC. Identification of multiple strains of *Staphylococcus aureus* colonizing nasal mucosa of food handlers. Food Microbiology 2003; 489-493.
- Bhavnani SM, Ballow CH. New agents for Gram-positive bacteria. Current Opinion in Microbiology 2000; 3, 528-534.
- Castro MS, Pilger D, Ferreira MBC, et al. Tendências na utilização de antimicrobianos em um hospital universitário, 1990-1996. Rev. Saúde Pública 2002; vol.36, no.5, p.553-558. ISSN 0034-8910.
- Cormican MG, Jones RN. Emerging resistance to antimicrobial agents in Gram-positive bacteria. Drugs 1996; 51 (1): 6-12.
- De Lencastre H, Tomasz A. Reassessment of the number of auxiliary genes essential for expression of high-level methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 1994; 38, 2590-2598.
- Emori TG, Gaynes RP. An overview of nosocomial infections, including the role of the microbiology laboratory. Clinical Microbiology Reviews 1993; 6, 428-42.
- Gonlugur U, Akkurt I, Ozdemir L, Bakici MZ, Icagasioglu S, Gultekin F. Antibiotic susceptibility patterns of respiratory isolates of *Staphylococcus aureus* in a Turkish university hospital. Acta Microbiologica 2003; 52, 143-148.
- Hermans K, de Herdt P, Devriese LA, Haesebrouck F. Secreted antigens as virulence-associated markers in *Staphylococcus aureus* strains from rabbits. Veterinary Microbiology 2001; 81, 345-352.
- Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover FC. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 1997; 40, 135-136.
- Hookey JV, Richardson JF, Cookson BD. Molecular typing of *Staphylococcus aureus* based on PCR restriction fragment length polymorphism and DNA sequence analysis of the coagulase gene. Journal of Clinical Microbiology 1998; 36, 1083-1089.
- Ito H, Yoshida H, Bogaki-Shonai M, Niga T, Hattori H, Nakamura S. Quinolone resistance mutations in the DNA gyrase *gyrA* and *gyrB* genes of *Staphylococcus aureus*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 1994; 38, 2014-2023.
- Jensen TG, Kolmos HJ, Siboni K. Resistance problems in two university hospitals in Denmark. Int J Antimicrob Agents 1999; 12, 71-73.
- Jones RN, Barrett MS, Erwin ME. In vitro activity and spectrum of LY333326, a novel glycopeptide derivative. Antimicrob. Agents Chemother 1997; 41: 488-91.

- Kesha C, Redjeb SB, Odugbemi TO, Boye CSB, Dosso M, Achola JON, et al. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in eight African hospitals and Malta. *Clin. Microbiol. Infect.* 2003; 9, 153-156.
- Kresken M, Wiedemann B. Development of resistance to nalidixic acid and the fluoroquinolones after the introduction of norfloxacin and ofloxacin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1988; 32, 1285-1288.
- MacFaddin JF. *Biochemical tests for Identification of Medical Bacteria*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2000.
- Mandel GL, Bennett JE, Dolin R. *Principles and practice of infectious diseases*. 4.ed. New York: Churchill Livingstone, 1995.
- Marshall JR. *Manual de Laboratório Clínico: Microbiologia*, 20^a ed., Santos Livraria Editora, São Paulo SP, 1995.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. NCCLS, Wayne, PA, 1999.
- Rohani MY, Raudzah A, Lau MG, Zaidatul AAR, Salbiah MN, Keah KC, et al. Susceptibility pattern of *Staphylococcus aureus* isolated in Malaysian hospitals. *Int. J. Antimicrob. Agents* 2000; 13, 209-213
- Sader HS, Gales AC, Jones RN. Antimicrobial activity of Linezolid against Gram-positive cocci isolated in Brazil. *Brazilian Journal of Infectious Diseases* 2001; 5, 171-176.
- Sader HS, Gales AC, Pfaller MA, Mendes RE, Zoccoli CM, Barth A, et al. Pathogen frequency and resistance patterns in Brazilian hospitals: summary of results from three years of the SENTRY antimicrobial surveillance program. *Brazilian Journal of Infectious Diseases* 2001; 5, 200-214.
- Sader HS, Jones RN, Andrade-Baiocchi S, Biedenbach DJ. The SENTRY Participants Group Four-year evaluation of frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility patterns of bacteria from bloodstream infections in Latin America medical centers. *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases* 2003; 44, 273-280.
- Schaeffler S. Methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus* resistant to quinolones. *Journal of Clinical Microbiology* 1989; 27, 335-336.
- Subedi S, Brahmadathan KN. Antimicrobial susceptibility patterns of clinical isolates of *Staphylococcus aureus* in Nepal. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11, 235-237
- Suzuki K, Nagata Y, Naide Y, Horiba M *Reviews Infectious Diseases* 1989; 11, S969-S970.
- Tondo EC, Guimarães MCM, Henriques JAP, Ayub MAZ. Assessing and analysing contamination of dairy products processing plant by *Staphylococcus aureus* using antibiotic resistance and PFGE. *Canadian Journal of Microbiology* 2000; 46, 136-142.

- Trucksis M, Wolfson JS, Hooper DC. A novel locus conferring fluoroquinolone resistance in *Staphylococcus aureus*. *Journal of Bacteriology* 1991; 173, 5854-5860.
- Urassa WK, Haule EA, Kagoma C, Langeland N. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains at Muhimbili Medical Centre, Tanzania. *East African Med. J.* 1999; 76, 693-695.
- Van der Brugge S, Arend SM, Bernards AT, Berbee GAM, Westendorp RGJ, Feuth JDM, van den Broek PJ. Risk factors for acquisition of *Serratia marcescens* in a surgical Intensive Care Unit. *Journal of Hospital Infection* 1999; 41, 291-299.
- Van Leeuwen W, Verbrugh H, van der Velden J, van Leeuwen N, Heck M, van Belkum A. Validation of binary typing for *Staphylococcus aureus* strains. *Journal of Clinical Microbiology* 1999; 37, 664-674.
- Vandepitte J, Engback K, Piot P, Heuck CC. *Procedimentos Laboratoriais em Bacteriologia Clínica*, OMS, 1994; 64p.
- Walker J, Borrow R, Edwards-Jones V, Oppenheim A, Fox AJ. Epidemiological characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated in the North West of England by protein A (*spa*) and coagulase (*coa*) gene polymorphisms. *Epidemiology and Infection* 1998; 121, 507-514.

Anexos

Anexo 1

Termo de Compromisso de Utilização de Dados

Projeto:

“Caracterização de isolados de *Staphylococcus aureus* do Centro de Terapia Intensiva do Hospital Divina Providência”.

Os autores do projeto supra citado se comprometem em manter o sigilo total dos dados fornecidos pelo laboratório, assim como utilizarão única e exclusivamente os achados clínicos com finalidade científica e de desenvolvimento da ciência.

Porto Alegre, ____ de _____ de 2001.

Autores:

Nome:	Assinatura:

Anexo 2

Ágar Simples

<u>Componentes</u>	<u>Quantidade</u>
Extrato de carne (solução a 0,5%).....	1 000 mL
Peptona	10 g
Cloreto de sódio	5 g
Ágar	15-20 g

Autoclavar a 115°, por 20 minutos, para dissolver.

Neutralizar com NaOH a 10% usando como indicador o papel de tornassol e levar à autoclave a 115°C, durante 20 minutos, o que determina a formação de um precipitado.

A filtração do Ágar deve ser feita a quente: ou na autoclave, ou em funis apropriados. Pode-se filtrar em papel ou em algodão hidrófilo umedecido com água quente; neste último caso, deve-se repassar o filtrado até que saia perfeitamente límpido.

Ágar Sangue

A 100 mL de Ágar simples, fundido e resfriado a cerca de 45°C, adicionar 5 mL de sangue desfibrinado (estéril) de cavalo, de carneiro ou de coelho. Misturar bem e distribuir assepticamente em placas.

Anexo 3

Ágar Mueller-Hinton

<u>Componentes</u>	<u>Quantidade</u>
Extrato de carne	2 g
Hidrolisado de caseína	17,5 g
Amido solúvel	1,5 g
Ágar	17 g
Água destilada q.s.p	1000 mL

Aquecer para dissolver, ajustar o pH a 7,4, distribuir e esterilizar a 120°C por 15 minutos.

Anexo 4

Teste da Catalase

Em uma lâmina limpa colocar uma pequena porção de colônias de bactérias. Adicionar a estas colônias 1 gota de água oxigenada (H₂O₂). Se as bactérias forem *Staphylococcus* a mistura irá “ferver”, ou seja, produzirá bolhas de gás imediatamente. Se demorar mais de 30 segundos para ferver e a produção de gás for pequena não é *Staphylococcus*.

Anexo 5

Teste da Coagulase em Tubo

Colocar algumas gotas (0,5 mL) de plasma num tubo 12 X 75 mm esterilizado e juntar duas gotas da cultura pura em caldo. Uma suspensão com densidade equivalente também pode ser preparada diretamente com o crescimento da placa de Ágar-sangue. Incubar o tubo em 35°C por 4-18 horas e então verificar se há coagulação.

O plasma usado no teste de coagulase deve ser plasma fresco humano ou de coelho, obtido com ácido etileno-diamino-tetracético (EDTA). Este deve ser guardado em refrigerador em pequenas quantidades (1 mL) e sua atividade verificada em testes paralelos com culturas conhecidas de *S. aureus* e *S. epidermidis*.

Teste da Coagulase em Lâmina

Numa lâmina limpa, emulsificar uma ou algumas colônias similares de *Staphylococcus* em uma gota de solução salina. A suspensão deve conter boa quantidade de células. Mergulhe um fio reto em plasma usando-o para misturar a suspensão bacteriana. Verificar se a coagulação ocorre no prazo de 10 segundos. Em cerca de 10% das linhagens de *S. aureus* ocorrem resultados falso-negativos. Se o teste de lâmina for negativo para um isolado que parece ser patogênico por outras razões (pigmento, fonte clínica), este deve ser reexaminado no teste do tubo.

Anexo 6

Coloração pelo Método de Gram

1. Corar 1 minuto com solução de cristal violeta fenicada.
2. Escorrer o corante e cobrir, durante 1 minuto, com solução de Lugol (iodo, 1 g; iodeto de potássio, 2 g; água destilada, 300 mL).
3. Lavar em água corrente.
4. Diferenciar com álcool/acetona (30 segundos).
5. Lavar em água corrente.
6. Corar o fundo rapidamente com fucsina diluída.
7. Lavar e secar.

Microrganismos Gram-positivos: roxos; microrganismos Gram-negativos e núcleos celulares: vermelhos.

Anexo 7

Caldo de Soja Tripticaseína ou Caldo Glicosado

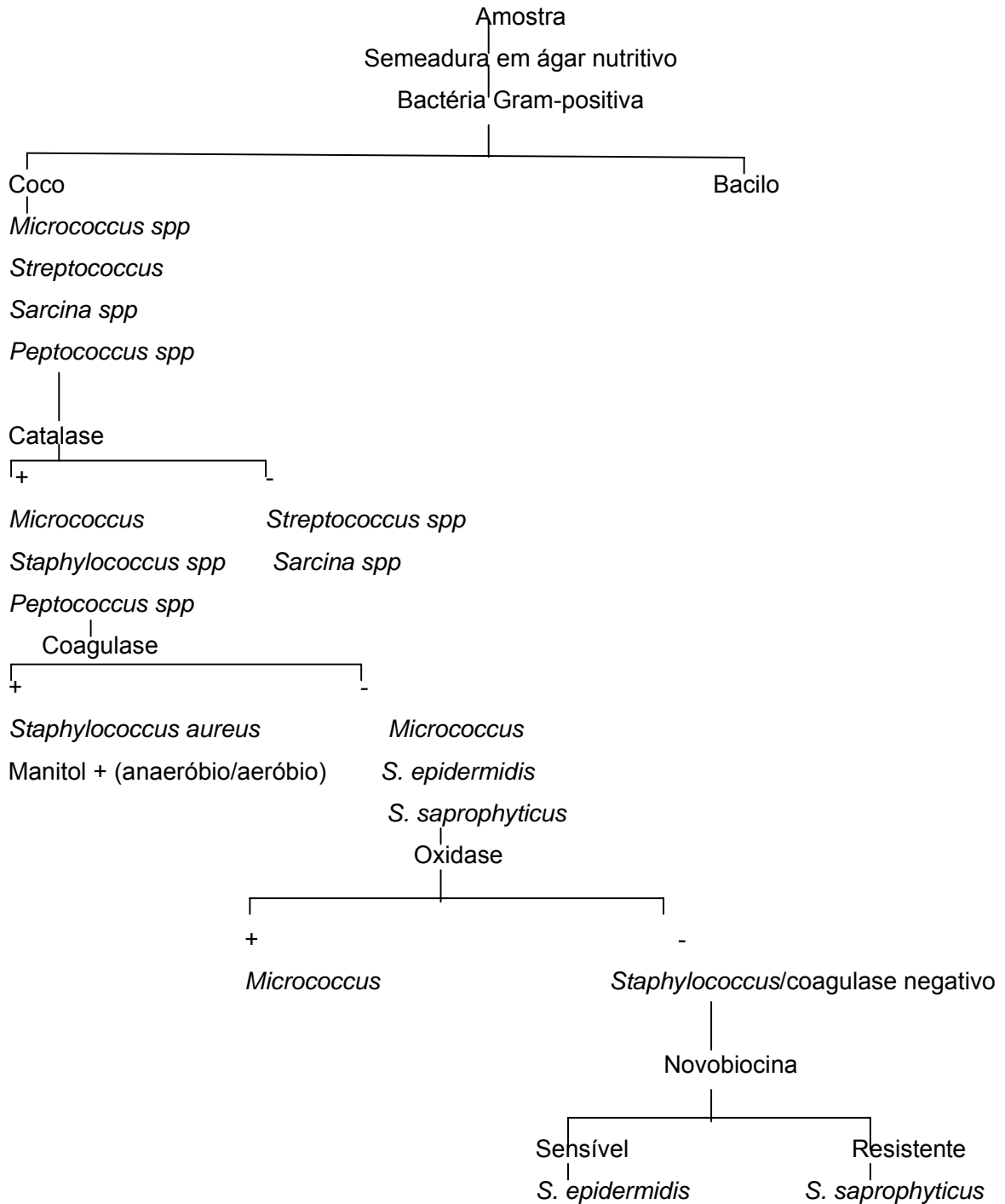
<u>Componentes</u>	<u>Quantidade</u>
Peptona de caseína.....	17 g
Peptona de soja.....	3 g
Dextrose	2,5 g
Cloreto de sódio	5 g
Fosfato bibásico de potássio.....	2,5 g

Ajustar o pH final a 7,1-7,5, na temperatura de 25° C.

Diluir 30 g do produto industrializado em 1L de água destilada.

Anexo 8

Fluxograma para identificação e diferenciação de *Staphylococcus*.



Anexo 9

Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos de isolados de *Staphylococcus aureus* em 2001

Identificação	Amostras	Ampicilina	Cefalotina	Cefoxitina	Gentamicina	Amicacina	Cloranfenicol	Tetraciclina	Sulfametoxazol	Rifampicina	Amp/Subactan	Oxacilina	Penicilina	Eritromicina	Clindamicina	Vancomicina	Teicoplanina	
1	Escarro	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	
2	Escarro	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	
3	Escarro	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	
4	Escarro	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	
5	Escarro	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	
6	Escarro	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	I	
7	Escarro	R	R	R	R	R	S	R	R	I	R	R	R	R	R	S	S	
8	Escarro	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	
9	Escarro	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	
10	Escarro	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	
11	Escarro	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	
12	Escarro	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	
13	Escarro	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	
14	Escarro	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	
15	Escarro	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	
16	Escarro	R	R	R	R	R	S	R	R	I	R	R	R	R	R	S	S	
17	Escarro	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	
18	Escarro	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	
19	Escarro	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	
20	Escarro	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	
21	Escarro	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	
22	Escarro	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	
23	Sec. Nasal	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	I	S	S
24	Sec. Nasal	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S
25	Sec. Nasal	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S
26	Sec. Nasal	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S
27	Sec. Nasal	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S
28	Sec. Nasal	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	I	S	S
29	Sec. Nasal	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S
30	Sec. Nasal	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S
31	Sec. Nasal	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S
32	Sec. Nasal	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S
33	Pta. Cateter	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S
34	Pta. Cateter	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	
35	Pta. Cateter	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S
36	Pta. Cateter	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S
37	Pta. Cateter	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S
38	Pta. Cateter	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	
39	Sec. Cervical	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	
40	Sec. Cervical	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	
41	Hemocultura	I	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	
42	Hemocultura	I	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	
43	Dreno do Tórax	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S
44	Dreno do Tórax	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S
45	Aspirado Traqueal	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S
46	Aspirado Traqueal	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S
47	Jejunostomia	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	
48	Jejunostomia	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	
49	Ferida Operatória	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S
50	Ferida Operatória	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S

Anexo 10

Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos de isolados de *Staphylococcus aureus* 2003

Identificação	Amostras	Ampicilina	Cefalotina	Cefoxitina	Gentamicina	Amicacina	Cloranfenicol	Tetraciclina	Sulfametoxazol	Rifampicina	Amp/Sulbactam	Oxacilina	Penicilina	Eritromicina	Clindamicina	Vancomicina	Teicoplanina	
		1	Escarro	R	R	R	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	S	S
2	Escarro	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	
3	Escarro	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	
4	Escarro	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	
5	Escarro	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	
6	Escarro	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	
7	Escarro	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	
8	Escarro	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	
9	Escarro	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	
10	Escarro	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	
11	Escarro	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	
12	Escarro	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	
13	Escarro	R	S	S	S	S	R	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	
14	Escarro	R	S	S	S	S	R	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	
15	Ferida Operatória	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	
16	Ferida Operatória	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	I	I	S	S	S	
17	Ferida Operatória	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	
18	Ferida Operatória	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	S	S	
19	Ferida Operatória	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	
20	Ferida Operatória	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	
21	Aspirado Traqueal	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	
22	Aspirado Traqueal	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	
23	Aspirado Traqueal	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	
24	Aspirado Traqueal	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	
25	Hemocultura	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	
26	Hemocultura	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	
27	Hemocultura	R	S	S	S	S	R	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	
28	Lavado Brônquico	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	
29	Lavado Brônquico	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	
30	Lavado Brônquico	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	R	S	S	S	S	
31	Líqu. Peritoneal	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	
32	Sec. Abdominal	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	
33	Sec. Cervical	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	
34	Sec. Pulmonar	R	S	S	S	S	R	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	

Anexo 11

Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos de isolados de *Staphylococcus aureus* 2004

Identificação	Amostras	Ampicilina	Cefalotina	Cefoxitina	Gentamicina	Amicacina	Cloranfenicol	Tetraciclina	Sulfametoxazol	Rifampicina	Amp/Sulbactam	Oxacilina	Penicilina	Eritromicina	Clindamicina	Vancomicina	Teicoplanina
1	Aspirado Traqueal	R	S	R	S	I	R	R	S	S	R	R	R	I	I	S	S
2	Aspirado Traqueal	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S
3	Aspirado Traqueal	R	S	R	R	S	R	R	R	S	R	R	R	R	S	S	S
4	Aspirado Traqueal	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S
5	Aspirado Traqueal	R	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R	S	S	S	S
6	Aspirado Traqueal	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	S	R	R	S	S	S
7	Aspirado Traqueal	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S
8	Aspirado Traqueal	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S
9	Escarro	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S
10	Escarro	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S
11	Escarro	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	R	S	S	S	S
12	Escarro	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S
13	Escarro	R	S	S	S	S	R	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S
14	Escarro	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	R	S	S	S	S
15	Escarro	R	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	S	S
16	Hemocultura	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S
17	Hemocultura	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S
18	Pta. Cateter	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S
19	Pta. Cateter	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S
20	Sec. Abdominal	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S