

Prevalência de *Staphylococcus* spp resistentes à meticilina isolados em uma maternidade escola da Cidade de Natal, Estado do Rio Grande do Norte

Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus* spp isolated in a teaching maternity hospital in the City of Natal, State of Rio Grande do Norte

Francisco Canindé de Sousa Junior¹, Éderson William de Figueiredo Nunes¹,
Ermeton Duarte do Nascimento¹, Solange Maria de Oliveira²,
Maria Celeste Nunes de Melo¹ e Maria José de Britto Costa Fernandes¹

RESUMO

Com o objetivo de determinar a prevalência de *Staphylococcus* spp resistentes à meticilina isolados na Maternidade Escola Januário Cicco, Natal, RN, no período de 2002 a 2003, analisou-se 1.576 materiais clínicos de pacientes hospitalizados. As amostras foram coletadas, processadas e identificadas conforme procedimento padrão para cada espécime clínico. O perfil de susceptibilidade *in vitro* foi realizado pelo método de Kirby-Bauer. Isolou-se 188 cepas de *Staphylococcus* spp, das quais 105 foram identificadas como *Staphylococcus aureus* e 83 como *Staphylococcus* coagulase negativos. *Staphylococcus aureus* foi isolado com mais frequência em secreções enquanto *Staphylococcus* coagulase negativos foram mais prevalentes em hemoculturas. A elevada (41,5%) prevalência dos *Staphylococcus* spp resistentes à meticilina demonstra a necessidade de medidas profiláticas imediatas com o objetivo de impedir a disseminação desse fenômeno.

Palavra-chaves: *Staphylococcus*. Prevalência. Resistência à meticilina. Testes de sensibilidade microbiana.

ABSTRACT

Analyses on 1,576 clinical specimens from hospitalized patients were performed with the aim of determining the prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus* spp isolated in the Januário Cicco Teaching Maternity Hospital in Natal, Rio Grande do Norte, in 2002 and 2003. The samples were collected, processed and identified according to standard procedures, for each clinical specimen. *In vitro* susceptibility profiles were obtained using the Kirby-Bauer method. 188 strains of *Staphylococcus* spp were isolated: 105 were identified as *Staphylococcus aureus* and 83 as coagulase-negative *Staphylococcus*. *Staphylococcus aureus* was isolated most often in secretions, whereas coagulase-negative *Staphylococcus* was most prevalent in blood cultures. The high (41.5%) prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus* spp shows the need for immediate prophylactic measures aimed at impeding the dissemination of this phenomenon.

Key-words: *Staphylococcus*. Prevalence. Methicillin resistance. Microbial sensitivity tests.

A primeira cepa de *Staphylococcus* spp resistente à meticilina foi detectada na Europa em 1961 e pertencia a espécie *Staphylococcus aureus*¹⁸. Nas décadas seguintes os *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) se tornaram um grave problema de saúde pública mundial²⁰. Atualmente, os MRSA são importantes agentes de infecções hospitalares e comunitárias⁸. No Brasil, 40 a 60% dos *Staphylococcus aureus* isolados de amostras provenientes de pacientes hospitalizados são resistentes à meticilina⁷. Nestes

microrganismos, a resistência é resultado do gene cromossômico *mecA*, que produz uma nova proteína ligadora de penicilina (PBP) com baixa afinidade pelos beta-lactâmicos¹⁸.

Além dos MRSA, outras cepas do gênero têm sido isoladas de infecções hospitalares³. O isolamento de *Staphylococcus* coagulase negativa (CNS), tem sido descrito e demonstra que esse grupo tem desenvolvido resistência à vários antimicrobianos, inclusive à meticilina^{14 16}. Dentre as espécies de CNS, *Staphylococcus epidermidis* é a mais prevalente em bacteremias, situando-se entre 74% e 92% dos *Staphylococcus* spp isolados em hemoculturas⁴.

Com o crescimento da caracterização de infecção por CNS, o interesse em estudar sua susceptibilidade aos antimicrobianos também tem aumentado². A elevada transmissibilidade de genes de resistência entre linhagens e o uso abusivo de drogas antimicrobianas têm se constituído em importantes fatores na seleção de amostras multirresistentes². Associados ao mecanismo de resistência à meticilina também podem ser citados a produção de invasinas, toxinas e a formação de biofilme⁸.

1. Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN. 2. Maternidade Escola Januário Cicco, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN.

Endereço para correspondência: Dra. Maria José de Britto Costa Fernandes. Dept^o de Microbiologia e Parasitologia/Centro de Biociências/UFRN. Campus Universitário s/n, 59072-970 Natal, RN.

Tel: 55 84 3215-3433

e-mail: majofernandes@gmail.com

Recebido para publicação em 17/12/2007

Aceito em 13/02/2009

Atualmente, no Brasil, a situação da resistência dos *Staphylococcus* à metilina, e conseqüentemente à oxacilina, já que ambos possuem o mesmo mecanismo de ação, têm apresentado uma grande variação entre os estados de uma mesma região e entre os hospitais analisados no mesmo estado, devendo ser avaliada localmente¹⁶.

Vários trabalhos realizados em maternidades-escola avaliam os riscos que envolvem a mãe e a criança quando da necessidade de procedimentos invasivos, do tipo de parto adotado pela equipe médica ou até mesmo da permanência dos pacientes no ambiente hospitalar, fazendo a correlação com processos infecciosos antes, durante e depois do parto¹⁷. Segundo Tsu e cols¹⁷, a sepsé está entre as principais causas de morte materna nesses hospitais. Em Unidades Pediátricas de Terapia Intensiva o maior problema enfrentado pelas equipes está no risco potencial de bacteremia entre os neonatos de baixo peso (<1.500g), que são imunologicamente imaturos e freqüentemente também necessitam de procedimentos invasivos para administração de substâncias nutritivas e medicamentosas².

Este trabalho tem como objetivo avaliar a prevalência de *Staphylococcus* spp resistentes à metilina isolados na Maternidade Escola Januário Cicco, Natal, RN, no período de 2002 a 2003.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliados 1.576 materiais clínicos de pacientes hospitalizados na Maternidade Escola Januário Cicco (MEJC) da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal, RN, no período de janeiro de 2002 a dezembro de 2003. As amostras foram coletadas de pacientes com suspeita clínica de infecção, conforme procedimento padrão para cada espécime clínico. Utilizaram-se frascos de hemocultura adulto e pediátrico contendo BHI para coleta de sangue, frascos estéreis para coleta de ponta de cateter e swabs e meio Stuart para coleta de secreções de ferida operatória, ocular e de ouvido.

Todas as hemoculturas culturas foram submetidas à subcultura em ágar sangue de carneiro a 5% e ágar chocolate, a 35°C, após 24h, 48h e 7 dias de incubação no BHI. As secreções foram semeadas em ágar sangue de carneiro a 5% e ágar manitol salgado. Para as pontas de cateter, foi utilizada a técnica Semiquantitativa de Maki e cols⁶ em ágar sangue de carneiro 5%, em que foram consideradas positivas culturas com contagem igual ou superior a 15 unidades formadoras de colônia (UFC).

Para identificação, utilizou-se a técnica de coloração de Gram, fermentação do manitol, e testes para avaliar a produção das enzimas catalase e coagulase. O perfil de susceptibilidade a antimicrobianos *in vitro* foi realizado pelo método de Kirby-Bauer, seguindo protocolos *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Para avaliar o perfil de resistência à metilina, observou-se a sensibilidade da cepa frente ao disco de oxacilina (1µg), em que cepas com halo de inibição menor ou igual a 10mm para oxacilina foram consideradas resistentes à metilina. Os dados foram descritos em freqüências absolutas e percentuais,

e para avaliar a diferença entre as freqüências observadas utilizou-se o teste estatístico do qui-quadrado utilizando-se o software Epi Info 6.2.

RESULTADOS

De uma casuística de 1.576 amostras clínicas, 188 apresentaram crescimento de *Staphylococcus* spp. Destas, 105 foram identificadas como *Staphylococcus aureus* e 83 como *Staphylococcus* coagulase negativa (CNS). Na **Tabela 1**, está descrita a distribuição das cepas de *Staphylococcus aureus* e CNS isoladas de hemoculturas e secreção, de acordo com o ano estudado.

Ao se correlacionar o isolamento de *Staphylococcus* spp com o tipo de amostra, observou-se que *Staphylococcus aureus* foi mais freqüente em secreções enquanto CNS foi mais prevalente em hemoculturas (P < 0,001).

A avaliação da susceptibilidade das cepas à metilina mostrou uma prevalência de resistência de 18,1% para *Staphylococcus aureus* e 71,1% para o grupo dos CNS. A análise de todos os isolados de *Staphylococcus* spp mostrou uma prevalência 41,5% para cepas resistentes à metilina, como mostra a **Tabela 2**.

TABELA 1

Freqüência de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus* coagulase negativa isolados de hemoculturas e secreções na Maternidade Escola Januário Cicco.

| Ano | Hemocultura | | | | Secreção | | | |
|--------------|------------------|--------------|----------------|--------------|------------------|--------------|----------------|--------------|
| | <i>S. aureus</i> | | CNS | | <i>S. aureus</i> | | CNS | |
| | n ^a | % | n ^a | % | n ^a | % | n ^a | % |
| 2002 | 5 | 50,0 | 14 | 38,9 | 40 | 42,1 | 24 | 51,1 |
| 2003 | 5 | 50,0 | 22 | 61,1 | 55 | 57,9 | 23 | 48,9 |
| Total | 10 | 100,0 | 36 | 100,0 | 95 | 100,0 | 47 | 100,0 |

S. aureus: *Staphylococcus aureus*, CNS: *Staphylococcus* coagulase negativa, ≤0,05 (qui quadrado)

TABELA 2

Prevalência de *Staphylococcus aureus* e CNS resistentes à metilina isolados na Maternidade Escola Januário Cicco

| Isolado | Total | Cepas resistentes à metilina | Prevalência | Intervalo de confiança 95% |
|------------------|------------|------------------------------|-------------|----------------------------|
| <i>S. aureus</i> | 105 | 19 | 18,1 | 14,3 a 21,9 |
| CNS | 83 | 59 | 71,1 | 66,1 a 76,1 |
| Total | 188 | 78 | 41,5 | 37,9 a 45,1 |

S. aureus: *Staphylococcus aureus*, CNS: *Staphylococcus* coagulase negativa.

DISCUSSÃO

O presente estudo fundamentou-se na avaliação da prevalência de *Staphylococcus* spp resistentes à metilina isolados em uma maternidade escola da Cidade do Natal, RN. Nesse estudo os agentes mais freqüentes nas hemoculturas foram os *Staphylococcus* coagulase negativa, o que pode ser conseqüência do uso de dispositivos intravenosos, como cateteres. Os cateteres vasculares são importantes fontes de infecção, por serem

facilmente colonizados por microrganismos da pele presentes ao longo do local de inserção, especialmente CNS, microrganismos prevalentes como microbiota da pele e mucosas².

Os nossos resultados apresentaram, para as secreções, uma pequena frequência de CNS quando comparado a incidência de *Staphylococcus aureus*. No Brasil, *Staphylococcus aureus* é o microrganismo mais frequentemente isolado em infecções hospitalares¹¹, sendo também o maior responsável pela mastite puerperal em maternidades¹⁵. Este patógeno tem ainda se destacado em infecções comunitárias, sendo a principal causa daquelas adquiridas na comunidade em vários países²⁰.

Staphylococcus coagulase negativa apresentam elevado risco potencial de bacteremia nosocomial entre recém-nascidos de baixo peso em UTIs pediátricas. O aumento da incidência desses processos infecciosos, nos últimos 20 anos, tem sido também associado a maior sobrevivência de crianças prematuras de baixo peso ao nascimento e a sua longa permanência no ambiente hospitalar².

Em uma pesquisa realizada num Hospital Escola de Uberaba, foram isoladas cepas de *Staphylococcus aureus* em 87% dos colchões dos leitos da UTI, demonstrando a necessidade de um maior controle do processo de limpeza e desinfecção dos mesmos⁹.

Vários trabalhos relatam o envolvimento de CNS em processos infecciosos de próteses, implantes, cateteres venosos e outros dispositivos cirúrgicos, porém o isolamento de cepas de *Staphylococcus epidermidis* em hemoculturas tem se tornado rotina na maioria dos hospitais, e revela ser esse um dos principais agentes causadores de bacteremia⁸.

Em nosso trabalho, quando comparamos o número de casos de microrganismos resistentes à metilina, verificamos que os CNS apresentam uma maior prevalência de cepas resistentes que *Staphylococcus aureus* (71,1% frente a 18,1%). O programa SENTRY encontrou uma proporção de resistência à metilina em torno de 34% para *Staphylococcus aureus* e 80% para CNS, em hospitais brasileiros no período de três anos¹³, mostrando que a resistência é mais pronunciada em CNS, embora não se possa desconsiderar a prevalência de *Staphylococcus aureus*.

O fenômeno da resistência tem sido atribuído ao uso indiscriminado de antimicrobianos, o que onera excessivamente o hospital, pelo aumento do uso de fármacos e da permanência dos pacientes infectados no hospital, aumentando ainda, o risco de contrair uma outra infecção nesse ambiente que possa levar esse paciente ao óbito⁵.

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a mortalidade nas maternidades se correlaciona negativamente com o funcionamento do sistema de saúde, entretanto, no Brasil a notificação da mortalidade nesses hospitais ainda é precária, exigindo um maior empenho das autoridades¹⁸. Em estudo retrospectivo, realizado entre 1927 a 2001, numa Maternidade Escola de Juiz de Fora, MG, a infecção puerperal representou 15,4% das causas de morte materna nesse local¹. Nesses ambientes, os processos infecciosos são mais comuns em pacientes submetidas a cesarianas do que aquelas submetidas ao parto transpélvico^{10 12}, o que indica que o processo cirúrgico é um dos fatores de risco nesses hospitais.

Os casos de mortalidade materna por infecção tiveram forte redução nos últimos 50 anos, mas ainda representam um dado preocupante, principalmente quando o agente etiológico é um organismo resistente ou multiresistente. A literatura internacional e as evidências em nosso meio, vêm mostrando a acentuada evolução do *Staphylococcus aureus* e do *Staphylococcus* coagulase negativa e a sua resistência à metilina no ambiente hospitalar¹⁴. Vale ressaltar que sua importância não diz respeito apenas à frequência, mas também ao seu potencial de gravidade nas infecções hospitalares e a sua forma de disseminação¹⁵. Esses aspectos têm fundamento e despertam preocupação, ao passo que, assim como o paciente, a equipe que o acompanha pode estar colonizada pela cepa, especialmente na mucosa e na pele, o que acarreta uma maior chance de contaminação ou reinfecção⁸.

A frequência e a evolução das infecções por *Staphylococcus* spp resistentes em indivíduos hospitalizados, especialmente em UTIs pediátricas e leitos de maternidades como um todo, demonstra a necessidade de medidas profiláticas imediatas com o objetivo de impedir a disseminação desse fenômeno, tais como: lavagem das mãos, racionalização do uso de antimicrobianos, desenvolvimento de um banco de dados nacional confiável, criação de laboratórios de referência para verificação da resistência e melhoria técnica dos laboratórios de microbiologia.

REFERÊNCIAS

1. Andrade ATL, Guerra MO, Andrade GN, Araújo DAC, Souza JP. Mortalidade materna: 75 anos de observações em uma Maternidade Escola. Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetria 28:380-387, 2006.
2. Cunha MLRS, Lopes CAM. Estudo da produção de β -lactamase e sensibilidade às drogas em linhagens de estafilococos coagulase-negativos isolados de recém-nascidos. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial 38:281-290, 2002.
3. Cunha MLRS, Lopes CAM, Rugolo LMSS, Chalita IVAS. Significância clínica de estafilococos coagulase-negativa isolados de recém-nascidos. Jornal de Pediatria 78:279-288, 2002.
4. Hudome SM, Fisher MC. Nosocomial infections in the neonatal intensive care. Current Opinion in Infectious Diseases 14: 303-307, 2001.
5. Kloosi WE, Bannerman TL. Update on Clinical Significance of Coagulase-Negative Staphylococci. Clinical Microbiology Reviews 7:117-140, 1994.
6. Maki DG, Weise CE, Sarafin HW. A semiquantitative culture method for identifying intravenous-catheter-related infection. The New England Journal of Medicine 296:1305-1309, 1977.
7. Melo MCN, Carvalho MCS, Ferreira RL, Coelho LR, Souza R, Gobbi CN, Rozenbaum R, Solari CA, Ferreira-Carvalho BT, Figueiredo AMS. Detection and molecular characterization of a gentamicin-susceptible, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) clone in Rio de Janeiro that resembles the New York/Japanese clone. Journal of Hospital Infection 58: 276-285, 2004.
8. Michelim L, Lahude M, Araújo PR, Giovanaz DSH, Müller G, Delamare APL, Costa SOP, Echeverrigaray S. Pathogenicity factors and antimicrobial resistance of *Staphylococcus epidermidis* associated with nosocomial infections occurring in intensive Care units. Brazilian Journal of Microbiology 36:17-23, 2005.
9. Mundim GJ, Dezena RA, Oliveira ACS, Silva PR, Cardoso M, Pereira GA, Morais CA, Terra APS. Avaliação da presença de *Staphylococcus aureus* nos leitos do Centro de Terapia Intensiva do Hospital Escola da Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro, em relação à posição no colchão antes e após a limpeza. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 36:685-688, 2003.
10. Nomura RMY, Alves EA, Zugaib M. Complicações maternas associadas ao tipo de parto em hospital universitário. Revista de Saúde Pública 38:9-15, 2004.

11. Oliveira GA, Faria JB, Levy CE, Mamizuka EM. Characterization of the Brazilian Endemic Clone of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from Hospitals Throughout Brazil. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases* 5:163-170, 2001.
12. Ramos JGL, Martins-Costa S, Vettorazzi-Stuczynski J, Brietzke E. Morte Materna em Hospital Terciário do Rio Grande do Sul - Brasil: um Estudo de 20 Anos. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia* 25:431-436, 2003.
13. Sader HS, Gales AC, Pfäller MA, Mendes RE, Zoccoli C, Barth A, Jones RN. Pathogen frequency and resistance patterns in brazilian hospitals: summary of results from three years of the SENTRY antimicrobial surveillance program. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases* 5:200-214, 2001.
14. Sader HS, Streit JM, Fritsche TR, Jones RN. Antimicrobial susceptibility of Gram-positive bacteria isolated from European medical centres: results of the Daptomycin Surveillance Programme (2002-2004). *Clinical Microbiology and Infection*, 12:844-852, 2006.
15. Sales AN, Vieira GO, Moura MSQ, Almeida SPTMA, Vieira T. Mastite Puerperal: Estudo de Fatores Predisponentes. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia* 22: 627-632, 2000.
16. Tavares W. Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 33:281-301, 2000.
17. Tsu VD, Shane B. New and underutilized technologies to reduce maternal mortality: call to action from a Bellagio workshop. *International Journal of Gynaecology and Obstetrics* 85:S83-93, 2004.
18. Vivone AM, Moreira BM. Application of molecular techniques in the study of *Staphylococcus aureus* clonal evolution – A Review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 100: 693-698, 2005.
19. World Health Organization. *Maternal mortality in 2000: estimates developed by WHO, UNICEF and UNFPA*. Geneva: World Health Organization, 2004.
20. Zetola N, Francis JS, Nuermberger EI, Bishai WR. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: na emerging threat. *Lancet Infectious Diseases* 5:275-286, 2005.