

Avaliação da Resistência a Antimicrobianos de *Staphylococcus* Coagulase Negativa Encontrados nas Grades dos Leitos em uma Unidade de Terapia Intensiva

Evaluation of the Antimicrobial Resistance of Coagulase-Negative Staphylococci Found in the Bars of the Beds in an Intensive Care Unit

Thiago de Souza Candido^{a*}; Adilson César Abreu Bernardi^b

^a Universidade Estadual Paulista, Departamento de Bioquímica e Tecnologia Química. SP, Brasil.

^b Universidade Estadual Paulista, Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde. SP, Brasil.

*Email: thiago.s.candido@gmail.com

Recebido em: 11/08/2015; Aceito em: 16/11/2015

Resumo

Infecção hospitalar é toda infecção adquirida durante a internação hospitalar, geralmente provocada pela própria microbiota humana, que se desequilibra com os mecanismos de defesa em decorrência da doença, dos procedimentos invasivos (soros, cateteres e cirurgias) e do contato com o ambiente hospitalar. Este estudo objetivou determinar a distribuição dos microrganismos encontrados nas grades dos leitos em uma unidade de terapia intensiva e a resistência a antimicrobianos no grupo de microrganismo de maior incidência. Realizado em uma unidade de terapia intensiva de um hospital público filantrópico no estado de São Paulo, na cidade de Araraquara, onze leitos foram submetidos à coleta em suas grades de proteção laterais. A maior prevalência foi do grupo *Staphylococcus* coagulase negativo (54,2%), *Staphylococcus aureus* (29,2%), seguido da classe de bacilos Gram-negativos (12,5%) e com menor incidência o gênero *Streptococcus* sp. (4,2%). Os *Staphylococcus* coagulase negativos isolados apresentaram 84,6% de resistência à clindamicina, 76,9% à eritromicina, 38,5% à cefoxetina, 38,5% ao norfloxacin, 30,8% à rifampicina, 23% ao levofloxacino, 7,7% à nitrofurantoína e todos os isolados exibiram sensibilidade à tetraciclina e à vancomicina. Entre os patógenos isolados como causadores de infecção hospitalar neste estudo, destacou-se o grupo dos *Staphylococcus* coagulase negativo, que apresentou maior incidência e alto espectro de resistência, sendo um patógeno emergente causador de infecção hospitalar.

Palavras-chave: Infecção Hospitalar. Assepsia. Doenças Transmissíveis.

Abstract

Nosocomial infection is all infection acquired during the entire hospitalization, usually caused by the human microbiota, that unbalances the defense mechanisms as a result of the disease, invasive procedures (physiological serum, catheters and surgeries) and from the contact with the hospital environment. This study aimed to determine the distribution of micro-organisms found in the bars of the beds in an intensive care unit and the antimicrobial resistance of microorganism of higher incidence. Performed in an intensive care unit of a hospital charity in the State of São Paulo, in the city of Araraquara, eleven beds were submitted for collection at their side protection bars. The highest prevalence was the group of coagulase-negative Staphylococci (54.2%), Staphylococcus aureus (29.2%), followed by the class of gram-negative bacilli (12.5%) and lower the genus Streptococcus sp. (4.2%). The coagulase-negative Staphylococci isolates showed resistance to clindamycin, 84.6%, 76.9% to erythromycin, 38.5% to cefoxetin, 38.5% to norfloxacin, 30.8% to rifampicin, 23% to the levofloxacin, 7.7% to nitrofurantoin and all the isolates exhibited sensitivity to tetracycline and vancomycin. Among the pathogens isolated as causing nosocomial infection in this study, the group of coagulase-negative Staphylococci presented higher incidence and high resistance spectrum, being an emerging pathogen causing nosocomial infection.

Keywords: Cross Infection. Asepsis. Communicable Diseases.

1 Introdução

Segundo a Organização Pan-Americana de Saúde - OPAS, infecção hospitalar é toda infecção adquirida durante a internação hospitalar e geralmente provocada pela própria microbiota bacteriana humana, que se desequilibra com os mecanismos de defesa anti-infecciosa em decorrência da doença, dos procedimentos invasivos (soros, cateteres e cirurgias, por exemplo) e do contato com a microbiota hospitalar¹.

As infecções hospitalares representam um grave problema médico-social, resultando em significativa morbidade e mortalidade, sendo que o melhor conhecimento, prevenção e controle constituem um desafio a ser enfrentado^{2,3}. Vários fatores relativos a cada elemento da tríade ecológica fundamental (hospedeiro-agente-ambiente) contribuem para a prevalência e o difícil controle desses tipos de infecção⁴. Em relação ao

hospedeiro, verifica-se a existência cada vez maior do número de doentes com defesas diminuídas, seja decorrente da idade avançada, seja devido múltiplas doenças subjacentes ou terapêuticas depressoras do sistema imune³. Como fatores contribuintes, salienta-se o uso crescente de procedimentos invasivos, tais como cateteres venosos, centrais e arteriais, diálise, ventilação mecânica e intervenções cirúrgicas em doentes, que há alguns anos não apresentavam condições para tal⁵.

Em termos de infecção hospitalar, a problemática é mais séria na unidade de terapia intensiva - UTI⁶. Neste ambiente o paciente está mais exposto ao risco de infecção, haja vista sua condição clínica e a variedade de procedimentos invasivos rotineiramente realizados⁶. É destacado que na UTI os pacientes têm de 5 a 10 vezes mais probabilidades de contrair infecção e que esta pode representar cerca de 20% do total das

infecções de um hospital⁷.

Sem dúvida a associação dos microrganismos multirresistentes à infecção hospitalar agravou a situação gerando expectativas sombrias para o futuro, se medidas urgentes não forem tomadas⁸. Nesse sentido, cabe ressaltar que o uso inadequado dos recursos diagnósticos e terapêuticos proporcionam aumento significativo do risco de infecção⁸. Isto justifica a inclusão dos índices de infecção hospitalar como um dos indicadores de qualidade da assistência à saúde⁹.

Os indivíduos são colonizados desde o nascimento, em diversos sítios anatômicos por estafilococos coagulase negativo - ECN¹⁰. Estes microrganismos podem se apresentar como bactérias oportunistas emergentes, especialmente em pacientes hospitalizados, imunocomprometidos, prematuros e com dispositivos implantados¹¹. Podem causar infecção no sítio primário de colonização ou se disseminarem causando infecções hospitalares graves como bacteremias, septicemias e sepsis neonatal¹².

Com o crescimento da caracterização de infecção por ECN, o interesse em estudar sua susceptibilidade aos antimicrobianos também tem aumentado¹³. 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 multirresistentes¹⁴.

Vancomicina é considerada geralmente o tratamento de escolha para as infecções causadas por esse tipo de microrganismo. No entanto, em razão do aparecimento de enterococos resistentes a vancomicina¹⁴ e estafilococos resistentes à vancomicina¹⁵ a redução do uso dessa droga tem sido recomendado¹⁶. Então, é adequado, quando a infecção por ECN é relatada, realizar o antibiograma para direcionar o tratamento antimicrobiano.

Este estudo objetivou avaliar a resistência das cepas de ECN encontradas nas grades dos leitos na unidade de terapia intensiva de um hospital filantrópico no estado de São Paulo, na Cidade de Araraquara.

2 Material e Métodos

Foram coletadas em um hospital municipal do interior do estado de São Paulo, da UTI22, amostras das grades de

proteção de onze leitos e encaminhadas para o Laboratório de Microbiologia do Centro Universitário de Araraquara para realização de cultura, identificação e teste de sensibilidade aos antimicrobianos. As coletas foram realizadas com o auxílio de um *swab* com meio de transporte, para análise qualitativa, friccionando as grades dos leitos dos pacientes, do lado direito e esquerdo de cada leito, totalizando onze leitos que deram origem a 22 pontos de coleta.

O meio de transporte foi inoculado e semeado por esgotamento em ágar sangue e incubado por até 48 horas a 37 °C¹⁷. Após este período foi observado os aspectos macroscópicos e microscópicos das colônias¹⁸. As colônias isoladas foram caracterizadas segundo morfologia após coloração de Gram, e as com características morfotintoriais de cocos Gram positivas foram submetidas à identificação bioquímica e foi confeccionado o teste de sensibilidade aos antimicrobianos para as identificadas como ECN^{13,17-19}.

Outros microrganismos com características morfológicas diferentes aos ECN foram caracterizados segundo aspecto morfológico e padrão bioquímico e classificados respectivamente como *Streptococcus sp.* e Bacilos Gram-negativos^{17,19}.

Os ECN identificados foram submetidos ao teste de disco-difusão, segundo protocolo CLSI/M100 S21³¹. Foram utilizados discos de Cefoxitina, Clindamicina, Eritromicina, Levofloxacino, Nitrofurantoína, Norfloxacino, Rifampicina, Tetraciclina, Vancomicina (Oxoid, Inglaterra).

3 Resultados e Discussão

Das 22 grades coletadas, 10 (45,5%) não apresentaram crescimento de microrganismos e 12 (54,5%) demonstraram a presença de bactéria, com prevalência do grupo ECN (54,2%), seguido dos *Staphylococcus aureus* (29,2%), bacilos Gram-negativos (12,5%) e o gênero *Streptococcus sp.* (4,2%).

O resultado do teste de sensibilidade aos antimicrobianos realizado para as cepas isoladas de ECN evidenciaram que 84,6% exibiram resistência à clindamicina, 76,9% à eritromicina, 38,5% à cefoxetina, 38,5% ao norfloxacino, 30,8% à rifampicina, 23% ao levofloxacino, 7,7% à nitrofurantoína e todos os isolados exibiram sensibilidade à tetraciclina e à vancomicina (Quadro 1).

Quadro 1: Associação entre as cepas de *Staphylococcus coagulase negativo* e a resistência apresentada aos antibióticos utilizados no teste de disco-difusão

Nº das Cepas	Antimicrobiano								
	Cefoxitina	Clindamicina	Eritromicina	Levofloxacino	Nitrofurantoína	Norfloxacino	Rifampicina	Tetraciclina	Vancomicina
1	R	*R	R	R	S	S	S	S	S
2	S	R	R	S	S	R	S	S	S
3	S	R	R	S	S	S	S	S	S
4	S	*R	R	S	S	S	R	S	S
5	S	R	S	S	S	S	R	S	S
6	R	S	S	S	S	S	S	S	S
7	S	R	R	S	S	S	R	S	S
8	S	R	R	R	S	R	S	S	S
9	S	R	R	S	S	R	R	S	S
10	R	R	R	R	R	R	S	S	S
11	R	R	R	S	S	S	S	S	S
12	R	R	R	S	S	R	S	S	S

Legenda: S: sensível; R: resistente; *: teste de indução (D) positivo.

Fonte: Dados da pesquisa.

Inicialmente, mais da metade dos leitos apresentaram colonização bacteriana em suas grades, isto indica um alto índice de contaminação em um ambiente no qual os pacientes se encontram com enfermidades graves e com o sistema imunológico debilitado^{2,3}.

Dentre as grades que apresentaram colonização bacteriana, os ECN foram o grupo de bactérias mais encontrado. Este grupo está presente nas superfícies corporais e mucosas do ser humano, principalmente nas mãos e na boca dos profissionais, o que pode ser um vínculo na cadeia de transmissibilidade, pois é o grupo mais detectado em casos de infecções em humanos, em particular naquelas associadas a superfícies abióticas¹⁰. Por isso, é o principal agente causador de bacteremia, endocardite de válvula protética, infecção relacionada à diálise peritoneal, cateteres intravasculares, próteses e ferida cirúrgica no ambiente hospitalar^{11,20-22}.

Fatores de virulência presentes nos ECN estão bem estabelecidos quando se encontra para os *Staphylococcus aureus*, sem encontrarmos neste primeiro grupo toxinas ou outros fatores de virulência importantes tal qual são para os *S. aureus*, observando a presença dos ECN em superfícies, principalmente mecanismos de formação de biofilme e resistência microbiana¹⁰. Uma característica marcante envolvida na patogênese dos ECN é a alta taxa de resistência aos antimicrobianos que estes microrganismos apresentam, principalmente à oxacilina, aminoglicosídeos e macrolídeos^{24,25}.

Nossos resultados demonstraram um alto espectro de resistência aos antibióticos testados nas cepas de ECN, como demonstrado no Quadro 1, que apresentou uma diminuição do arsenal de possíveis drogas a serem utilizadas em pacientes com infecções causadas por ECN nesse ambiente.

Os beta-lactâmicos, antimicrobiano de primeira escolha para infecções estafilocócicas apresentou 41,7% de resistência frente a cefoxitina, antimicrobiano recomendado pela CLSI para verificação do teste²⁷. O uso da clindamicina para algumas infecções estafilocócicas, particularmente em infecções de pele e tecidos moles, e com alternativa para pacientes sensíveis aos beta-lactâmicos já foram descritas²⁸. A clindamicina pode apresentar falhas terapêuticas, causada por resistência a macrolídeos, lincosamidas e estreptograminas²⁹. O uso de macrolídeos tem sido acompanhado pela seleção de bactérias resistentes, como por exemplo, os estafilococos³⁰.

No presente trabalho 83,3% dos ECN encontrados possuem fenótipo de resistência a macrolídeos e lincosaminas pelo gene *erm*, sendo 8 (80,0%) pela enzima MLSbc e 2 (16,7%) pela enzima MLSbi, com teste de indução (D) positivo e 1 (8,3%) cepa gene *msrA*. O gene *erm* tem sua resistência constitutiva pela enzima MLSbc (alteração ribossômica) ou induzida pela enzima MLSbi, na presença do teste de indução positivo, o que torna a bactéria resistente a clindamicina, e baixos níveis de eritromicina podem induzir resistência à clindamicina²⁸.

Os estafilococos resistentes aos β-lactâmicos penicilinas-

resistentes (oxacilina e meticilina) frequentemente mostraram-se também resistentes aos macrolídeos, aminoglicosídeos, tetraciclina e outros agentes antimicrobianos. Nesta pesquisa pudemos observar que 5 (41,6%) das cepas apresentaram resistências à cefoxitina, o que reporta a resistência aos antimicrobianos acima citados. Entre as cepas resistentes observamos que 4 (33,3%) expressaram resistência tanto aos beta-lactâmicos quanto para os macrolídeos, diminuindo assim as chances de tratamento^{29,31}.

Os ECN estão entre os principais microrganismos emergentes nosocomiais e com resistência a vários antimicrobianos, sendo que os ECN multirresistentes são comuns em pacientes hospitalizados²³⁻²⁵. A emergência deste microrganismo tem limitado o arsenal terapêutico, o que contribui para um risco aumentado de fracasso no tratamento com um impacto substancial nos cuidados com a saúde, afetando desfavoravelmente a morbidade e mortalidade dos pacientes²³⁻²⁵.

A frequência e a evolução das infecções por ECN resistentes em indivíduos hospitalizados, especialmente em UTI, demonstram 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 e criação de laboratórios de referência para verificação da resistência³¹.

4 Conclusão

Com este estudo concluímos que as grades dos leitos da UTI são um potencial veiculador de microrganismos com maior prevalência do grupo ECN, o qual está presente na microbiota da pele humana, principalmente nas mãos, onde apresenta ser multirresistente. Estes relatos são de suma importância para a realização de medidas profiláticas para o controle dos microrganismos e para diminuir a disseminação de infecção hospitalar nestes ambientes de alto risco para o paciente em tratamento.

Agradecimentos

Fonte financiadora da pesquisa: Centro Universitário de Araraquara - UNIARA.

Referências

1. OPAS. Organização Pan-Americana de Saúde. 2000. [acesso em abr 2015]. Disponível em <http://www.opas.org.br>.
2. Randrianirina F, Vaillant L, Ramarokoto CE, Rakotoarijaona A, Andriamanarivo ML, Razadimahandry HC, et al. Antimicrobial resistance in pathogens causing nosocomial infections in surgery and intensive care wards in Antananarivo, Madagascar. *J Infect Dev Ctries* 2010;4:74-82.
3. Mundim GJ, Dezena RA, Oliveira ACS, Silva PR, Cardoso M, Pereira GA, et al. 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. *Rev*

- Soc Bras Med Trop 2003;36:685-8.
4. Maxwell JG, Ford CR, Peterson DE, Mitchell CR. Long term study of nasal staphylococci among hospital personal. *Am J Surg* 1969;116:849-54.
 5. Hwang MH, Pyo YJ, Mun HM, Pai CH. Clonal spread of *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistance to vancomycin in a university hospital in Korea. *J Clin Microbiol* 2002;40:1376-80.
 6. Lima ME, Andrade D, Haas VJ. Avaliação prospectiva da ocorrência de infecção em pacientes críticos de unidade de terapia intensiva. *Rev Bras Ter Intensiva* 2007;19:342-7.
 7. Gusmao ME, Dourado I, Fiaccone RL. Nosocomial pneumonia in the intensive care unit of a Brazilian university hospital: an analysis of the time span from admission to disease onset. *Am J Infect Control* 2004;32:209-14.
 8. Andrade D, Leopoldo VC, Haas VJ. Ocorrência de bactérias multirresistentes em um centro de Terapia Intensiva de Hospital brasileiro de emergências. *Rev Bras Ter Intensiva* 2006;18:27-33.
 9. Andrade DA, Angerami ELS. Reflexões acerca das infecções hospitalares às portas do terceiro milênio. *Rev Méd* 2010;32:492-97.
 10. Rosa JO, Moura JP, Palos MAP, Gir E, Reis C, Kipnis A *et al.* Detecção do gene *mecA* em estafilococos coagulase negativa resistentes à oxacilina isolados da saliva de profissionais da enfermagem. *Rev Soc Bras Med Trop* 2009;42:398-403.
 11. Heikens E, Fleer A, Paauw A, Florijn A, Fluit AC. Comparison of genotypic and phenotypic methods for species-level identification of clinical isolates of coagulase-negative staphylococci. *J Clin Microbiol* 2005;43:2286-90.
 12. Krause R, Haberl R, Daxböck F, Auner HW, Kreis GL, *et al.* Molecular typing of coagulase-negative staphylococcal blood and skin culture isolates to differentiate between bacteremia and contamination. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2003;22:760-3.
 13. Cunha MLRS, Lopes CAM. Estudo da produção de β -lactamase e sensibilidade às drogas em linhagens de estafilococos coagulase-negativos isolados de recém-nascidos. *J Bras Patol Med Laborat* 2002;38:281-90.
 14. Marshall SA, Wilke WW, Pfaller MA, Jones RN. *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci from blood stream infections: frequency of occurrence, antimicrobial susceptibility, and molecular (*mecA*) characterization of oxacillin resistance in the SCOPE Program. *Diag Microbiol Infect Dis* 1998;30:205-14.
 15. Szarapinska-Kwaszewska J, Farkas LI. Synthesis of siderophores by strains of *Staphylococcus cohnii* isolated from various environments. *Acta Microbiol Pol* 2003;52:261-9.
 16. Szweczyk EM, Rozalskz M. *Staphylococcus cohnii*-resident of hospital environment: cell-surface features and resistance to antibiotics. *Acta Microbiol Pol* 2000;49:121-33.
 17. Oplustil CP, Zocoli CM, Tobouti NR. Procedimentos básicos em microbiologia clínica. São Paulo: Sarvier; 2004.
 18. Kloos WE, Schleifer KH. Simplified scheme for routine identification of human *Staphylococcus* species. *J Clin Microbiol* 1975;1:82-8.
 19. Koneman EW, Woods GL, Procop GW, Schreckenberger PC, Allen SD, Janda WM. Konema's color atlas and textbook of diagnostic microbiology. Lippincott: Williams & Willkins; 2005.
 20. Chong SC, Yin CS, Bakar AA, Sakewi Z, Nainq NN, Jamal F, *et al.* Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* among healthy adults. *J Microbiol Immunol Infec* 2006;39:458-64.
 21. Oliveira ADD, d'Azevedo PA, Sousa LB, Viana-Niero C, Francisco W, Lottenberg C, *et al.* Laboratory detection for methicillin resistance in coagulase negative *Staphylococcus* isolated from ophthalmic infections. *Arq Bras Oftalmol* 2007;70:6667-75.
 22. Hurdle JG, O'Neill AJ, Mody L, Chopra I, Bradley SF. *In vivo* transfer of high-level mupirocin resistance from *Staphylococcus epidermidis* to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* associated with failure of mupirocin prophylaxis. *J Antimicrob Chemother* 2005;6:1166-8.
 23. Higuchi W, Isobe H, Iwao Y, Dohmaes S, Saito K, Takano T, *et al.* Extensive multidrug resistance of coagulase-negative staphylococci in medical students. *J Infec Chemother* 2007;13:63-6.
 24. Monsen T, Karlsson C, Wistrom J. Spread of clones of multidrug-resistant, coagulase-negative staphylococci within a university hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005;26:76-80.
 25. Nascimento JS, Ceotto H, Nascimento SB, Giambiagi-Demarval M, Santos KR, Bastos MC. Bacteriocins as alternative agents for control of multiresistant staphylococcal strains. *Lett Appl Microbiol* 2006;42:215-21.
 26. CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Twenty-second Informational Supplement Approved Standard M100-S21. CLSI, Wayne, Pennsylvania; 2012.
 27. Fiebelkorn KR, Crawford SA, Mcelmeel JH, Jorgensen JH Practical disk diffusion method for detection of inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci. *J Clin Microbiol* 2003;41:4740-4.
 28. Silva GM, Sturmer FCR, Maier V. Resistência induzida aos macrolídeos e lincosamidas em *Staphylococcus* spp oriundo de leite humano. 2014. [acesso em abr 2015]. Disponível em www.abev.com.br/controlodeinfeccao/id425.doc.
 29. Schlegelova J, Vlkova H, Babak V, Holasova M, Jaglic Z, Stosova T, *et al.* Resistance to erythromycin of *Staphylococcus* spp. isolates from the food chain. *Vet Med* 2008;53:307-14.
 30. Freitas MFL, Mota RA, Leão AEDS, Figueiredo ML, Fonte MM, Vieira RFC. Sensibilidade antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus* spp. isoladas de carcaças de frango comercializadas em Recife. *Arq Bras Med Vet Zootec* 2004;56:405-7.
 31. Sousa Junior FC, Nunes EWF, Nascimento ED, Oliveira SM, Melo MCN, Fernandes MJBC. Prevalência de *Staphylococcus* spp resistentes à meticilina isolados em uma maternidade escola da cidade de Natal, Estado do Rio Grande do Norte. *Rev Soc Bras Med Trop* 2009;42:179-82.