

Colonização de trabalhadores de um hospital oncológico da Região Centro-Oeste do Brasil por *Staphylococcus* sp. resistentes à metilina* - Resultados preliminares

Dayane de Melo COSTA¹; Marinésia Aparecida PRADO-PALOS²; André KIPNIS³; Lara Stefânia Netto de Oliveira LEÃO⁴; Larissa Oliveira ROCHA-VILEFORT⁵; Ana Cláudia Alves de OLIVEIRA⁶; Ana Beatriz Mori LIMA⁷

Palavras-chave: Risco Ocupacional; Resistência à Metilina; Portador Sadio

INTRODUÇÃO

A colonização de trabalhadores de serviços de saúde (TSS) por bactérias multirresistentes desafia a saúde pública, pois estes atuam como reservatórios e possíveis fontes de disseminação de agentes infecciosos, além dos agravos à sua própria saúde⁽¹⁾.

Neste sentido, *Staphylococcus* sp. são bactérias de importância no contexto das Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde, devido à patogenicidade e à capacidade de desenvolver resistência aos antimicrobianos, como a metilina. Esses patógenos são relevantes, principalmente, no que se refere a indivíduos com maior vulnerabilidade em adquirir infecção, como é o caso dos portadores de câncer⁽²⁾.

Sabe-se que o mecanismo de resistência dos *Staphylococcus* sp. à metilina pode ocorrer por meio da expressão do gene *mecA*. Este gene codifica uma proteína ligadora de penicilina (PBP – *penicillin binding proteins*) com afinidade reduzida aos antibióticos beta-lactâmicos, a PBP2a. Outro mecanismo de resistência, denominado *borderline*, ocorre pela hiperprodução de enzimas beta-lactamases ou modificações em PBP⁽³⁾.

Estudos evidenciam a colonização de TSS por *Staphylococcus* sp. resistentes à metilina em mãos⁽⁴⁾, na cavidade nasal⁽⁵⁾ e na cavidade bucal⁽⁶⁻⁷⁾. Tais

* Órgãos financiadores: Programa Nacional de Reorientação da Formação Profissional em Saúde (PRÓ-SAÚDE) e Concessão de Bolsa CAPES.

¹ Faculdade de Enfermagem da Universidade Federal de Goiás (FEN/UFG) - daynesaga@yahoo.com.br

² FEN/UFG - marinesiaprado@gmail.com

³ Instituto de Patologia Tropical de Saúde Pública da UFG (IPTSP/UFG) - akipnis@iptsp.ufg.br

⁴ IPTSP/UFG - larastefania@yahoo.com.br

⁵ FEN/UFG - larissarocha@yahoo.com.br

⁶ IPTSP/UFG - anaclaudiabiomedica@yahoo.com.br

⁷ Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás - anabeatrizmori@yahoo.com.br

evidências suscitam a importância de investigações a fim de monitorar TSS portadores dessa bactéria e proceder ao acompanhamento recomendado⁽⁸⁾.

Nesse sentido, os objetivos deste estudo foram determinar a prevalência de trabalhadores colonizados por *Staphylococcus* sp. resistentes à metilina em um hospital oncológico da Região Centro-Oeste do Brasil, identificar fatores associados à colonização, determinar a prevalência do gene *mecA* e das espécies dos isolados resistentes, bem como avaliar a similaridade genética entre esses isolados.

MATERIAL E MÉTODOS

Delineamento, local e população do estudo

Estudo analítico, de corte transversal, realizado com trabalhadores que atuam em setores de assistência e de apoio de um hospital oncológico, localizado em Goiânia, Goiás.

Participaram do estudo os indivíduos que atenderam ao seguinte critério de inclusão: Atuar nos setores da instituição selecionados para o estudo. Os critérios de exclusão foram: Exercer função administrativa e ter feito uso de antimicrobianos nos últimos sete dias antecedentes à coleta.

Procedimento de coleta de dados e saliva

A coleta de dados foi realizada no período de maio de 2009 a novembro de 2010, por meio de entrevista, norteada por um roteiro estruturado, após assinatura e devolução do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Amostras de saliva foram coletadas em frascos de polietileno esterilizados e, posteriormente, enviados à temperatura ambiente ao Laboratório de Microbiologia Médica, Ambiental e Biotecnologia do IPTSP/UFG para processamento em até 24 horas.

Procedimentos laboratoriais

•Isolamento e identificação

Amostras de saliva foram semeadas em ágar tríptico de soja e caldo tríptico de soja, suplementados com 4% NaCl e 6µg/mL de oxacilina, e ágar manitol salgado, incubadas a 35°C por 48 horas. As colônias que se desenvolveram foram submetidas às provas bioquímicas/enzimáticas de identificação: produção de catalase, coagulase livre e desoxirribonuclease⁽⁹⁾.

•Teste de triagem para detecção de resistência à metilina

Após subcultivo em ágar nutriente por 24 horas a 35°C, uma suspensão bacteriana correspondente a escala 0,5 de McFarland foi semeada em ágar Mueller

Hinton. *S. aureus* com zonas de inibição de crescimento de diâmetro ≤ 21 mm para cefoxitina e/ou ≤ 10 mm para oxacilina, assim como SCoN com zona de inibição de crescimento de diâmetro ≤ 24 mm para cefoxitina e/ou ≤ 17 mm para oxacilina foram submetidos ao teste confirmatório de resistência à este antimicrobiano⁽¹⁰⁾.

•Teste confirmatório de resistência à meticilina (*E-test*®)

O *E-test*® foi realizado sobre as mesmas condições técnicas do teste de disco difusão. *S. aureus* com CIM ≥ 4 μ g/ml e SCoN com CIM $\geq 0,5$ μ g/ml foram reportados como resistentes à meticilina.

•Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

Após a realização da extração do DNA cromossomal dos *Staphylococcus* sp. resistentes à meticilina⁽¹¹⁾, a reação em cadeia da polimerase (PCR) foi realizada para verificar a presença do gene *mecA*⁽¹²⁾ nos isolados resistentes à meticilina. A identificação da espécie dessas bactérias foi realizada por meio da técnica *Internal Transcribed Spacer* – PCR (ITS-PCR)⁽¹³⁻¹⁴⁾ com adaptações.

•Eletroforese em gel em campo pulsado (PFGE)

A técnica de eletroforese em gel em campo pulsado (PFGE)⁽¹⁵⁾ será utilizada para a análise da similaridade genética entre os isolados resistentes à meticilina⁽¹⁶⁾.

Vínculo, aspectos éticos-legais e análise dos dados

Este estudo está inserido em um projeto maior, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Associação de Combate ao Câncer em Goiás sob o protocolo-CEPACCG/040/08.

Para organização e análise dos dados foi utilizado o programa SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows (versão 15.0).

RESULTADOS PRELIMINARES E DISCUSSÃO

Participaram do estudo 295 TSS. Destes, 120 (40,67%) foram identificados como portadores de *Staphylococcus* sp., sendo que 65 (22,03%) estavam colonizados por SCoN, 39 (13,22%) por *S. aureus* e 16 (5,42%) por ambos. Entre os TSS colonizados, 44/120 (14,91%) foram identificados como portadores de *Staphylococcus* coagulase-negativos resistentes à meticilina (SCoN-MR). Nenhum *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) foi isolado desses TSS.

Dos 120 TSS colonizados, foram isolados 102 SCoN e 57 *S. aureus*. Entre os SCoN, 53/102 (51,96%) apresentaram-se resistentes à meticilina, sendo 52 *S. epidermidis* e 1 *S. haemolyticus*. A presença do gene *mecA* foi detectada em 48

(90,56%) deles. Em estudo semelhante⁽⁷⁾, a presença do gene *mecA* foi detectada em 75% dos SCoN-MR, sendo a maioria da espécie *S. epidermidis*.

No presente estudo não foi isolado MRSA, porém a prevalência dessa bactéria da cavidade bucal de trabalhadores de hospitais públicos foi de 9,7% em Goiânia-GO⁽¹⁷⁾, sendo que valor menor, de 4,1%, foi encontrado em Santo André-SP⁽⁶⁾.

Diante desses resultados, destaca-se a cavidade bucal de TSS como sítio de colonização por *Staphylococcus* sp. resistentes à meticilina, colocando-os na condição de potenciais disseminadores desses agentes infecciosos. Nesse sentido, recomenda-se que a colonização da cavidade bucal deveria ser incluída na elaboração de estratégias para controle e erradicação de MRSA⁽¹⁸⁾.

Os resultados encontrados em nosso estudo corroboram com o pensamento dos estudiosos na temática, tendo em vista que a colonização dos TSS por SCoN-MR também é uma realidade e precisa de maior atenção na elaboração de políticas efetivas direcionadas às medidas preventivas. Além disso, ressalta-se a importância da identificação das espécies e o perfil de suscetibilidade dos SCoN⁽⁷⁾.

CONCLUSÕES PRELIMINARES

A colonização dos TSS por SCoN-MR (14,91%) na instituição pesquisada é realidade, sendo 98,11% *S. epidermidis* e o gene *mecA* detectado em 90,56%.

A condição de portadores desses trabalhadores por SCoN-MR, representa um risco eminente para os clientes e para o próprio trabalhador. Diante disso, ressalta-se a necessidade de repensar as medidas preventivas específicas para interromper a cadeia de transmissão de micro-organismos multirresistentes na referida instituição.

REFERÊNCIAS

1. Bertin et al. Outbreak of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Colonization and Infection in a Neonatal Intensive Care Unit Epidemiologically Linked to a Healthcare Worker With Chronic Otitis. *Infect Control Hosp Epidemiol* [internet]. 2006, [cited 2011 Jun 08];27:581-585. Available from: <http://www.jstor.org/stable/pdfplus/10.1086/504933.pdf?acceptTC=true>
2. Oberdorfer P, Pongwilairat N, Washington CH. Nosocomial Infections among Pediatric Patients with Neoplastic Diseases. *International Journal of Pediatrics*. 2009.
3. Rossi F, Andreazzi D. Resistência Bacteriana: interpretando o antibiograma. São Paulo: Editora Atheneu; 2005. 118p.

4. Khan et al. Amplification of *mecA* gene in multi-drug resistant *Staphylococcus aureus* strains from hospital personnel. *J Infect Developing Countries*. 2007;1(3):289-295.
5. Askarian M, Zeinalzadeh A, Japoni A, Memish Z. Prevalence of nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and its antibiotic susceptibility pattern in healthcare workers at Namazi Hospital, Shiraz, Iran. *International Journal of Infectious Diseases*. 2009;13.
6. Carvalho MJ, Pimenta FC, Hayashida M, Gir E, Silva AM. Prevalence of methicillin-resistant and methicillin-susceptible *S. aureus* in the saliva of health professionals. *Clinics (Sao Paulo) [Internet]*. 2009 [cited 2010 Feb 05];64(4):295-302.
7. Rosa JO, Moura JP, Palos MAP, Gir E, Reis C, Kipnis A. Detecção do gene *mecA* em estafilococos coagulase negativa resistentes à oxacilina isolados da saliva de profissionais da enfermagem. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2009;42(4):398-403.
8. Ben-David D, Mermel LA, Parenteau S. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* transmission: the possible importance of unrecognized health care worker carriage. *Am J Infect Control*. 2008;36(2):93-7.
9. Konemam EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido. 5 ed. Rio de Janeiro: Editora Medsi; 2008. p.1565.
10. Clinical And Laboratory Standards Institute-CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. In: CLSI. Abstract of the 19th Informational Supplement Document M100-S19, Wayne, Pennsylvania, USA, 2009.
11. van Soolingen D, de Haas PE, Hermans PW, van Embden JD. DNA fingerprinting of *Mycobacterium tuberculosis*. *Methods Enzymol*. 1994;235: 196-205.
12. Geha DJ, Uhl JR, Gustaferra CA, Persing DH. Multiplex PCR for identification of methicillin-resistant staphylococci in the clinical laboratory. *J Clin Microbiol*. 1994;32: 1768-1772.
13. Jensen MA, Webster JA, Straus N. Rapid identification of bacteria on the basis of polymerase chain reaction-amplified ribosomal DNA spacer polymorphisms. *Appl Environ Microbiol*. 1993;59:945-952.
14. Couto I, Pereira S, Miragaia M, Sanches IS, Lencastre H. Identification of clinical staphylococcal isolates from humans by internal transcribed spacer PCR. *J Clin Microbiol*. 2001;39: 3099-3103.
15. Chung M, Lencastre H, Matthews P, Tomasz A, Adamsson I, Aires de Sousa M *et al*. Molecular typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by pulsed-field gel electrophoresis: comparison of results obtained in a multilaboratory effort using identical protocols and MRSA strains. *Microb Drug Resist*. 2000;6:189-198.
16. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV. How to select and interpret molecular strain typing methods for epidemiological studies of bacterial infections: a review for healthcare epidemiologists. Molecular Typing Working Group of the Society for Healthcare Epidemiology of America. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 1997;18:426-439.
17. Prado-Palos MA. *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus aureus* metilina resistentes (MRSA) em Profissionais de saúde e as interfaces com as infecções nosocomiais [Tese]. Ribeirão Preto: Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto/Universidade de São Paulo; 2006. 188 p.
18. Palazzo CV, Gir E, Pimenta FC, Carvalho MJ, Canini SRMS, Cruz EDA *et al*. Does the oral cavity represent an important reservoir for MRSA in healthcare workers? *Journal of Hospital Infection*. 2010;76:264-279.