



**Marta Maria
Bezerra Valadas**

**Prevalência de colonização por MRSA no Centro
Hospitalar P.Varzim/V.Conde**



**Marta Maria
Bezerra Valadas**

**Prevalência de colonização por MRSA no Centro
Hospitalar P.Varzim/V.Conde**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Microbiologia, realizada sob a orientação científica da Dra. Carla Leite, Mestre em Ciências Farmacêuticas, e da Prof. Doutora Adelaide Almeida, Professora Auxiliar do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro.

o júri

Presidente

Prof^a. Doutora Maria Ângela Sousa Dias Alves Cunha
Professora Auxiliar do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro

Vogais

Dra. Carla Manuela Sampaio Gomes Leite (orientadora)
Mestre em Ciências Farmacêuticas no Centro Hospitalar Póvoa de Varzim/
Vila do Conde

Doutora Cláudia Sofia Soares de Oliveira (arguente)
Investigadora em Pós-Doc do CESAM

Prof^a. Doutora Maria Adelaide de Pinho Almeida (co-orientadora)
Professora Auxiliar do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro

Agradecimentos

À minha orientadora e amiga Dra. Carla Leite pelo excelente acompanhamento, disponibilidade, incentivo e otimismo demonstrados durante a realização deste trabalho.

À Professora Doutora Adelaide Almeida, co-orientadora, pelo acompanhamento e disponibilidade demonstrados durante a realização deste trabalho.

As minhas colegas de laboratório, pela ajuda e estímulo na concretização deste trabalho.

Ao meu filho e a minha mãe, pela paciência, estímulo e compreensão na realização deste estudo.

palavras-chave

Staphylococcus aureus resistentes à meticilina, colonização, prevalência,

resumo

Entre todas as infecções relacionadas com os cuidados de saúde, são particularmente preocupantes aquelas por *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA), devido à frequência, à morbilidade e aos custos de tratamento muito elevados.

Este estudo, teve como objectivo, determinar a prevalência e os factores associados à colonização e infecção, provocadas por MRSA, em doentes internados no Centro Hospitalar Póvoa de Varzim/Vila do Conde.

O rastreio foi efectuado através de colheitas de pus, hemoculturas, exsudado de lesão cutânea, exsudado umbilical, exsudado nasofaríngeo, expectoração, aspirado brônquico e aspirado nasofaríngeo, vindas dos internamentos do Centro Hospitalar.

A prevalência de MRSA foi de 14,6% no total de rastreios efectuados. Dos rastreios positivos, 50% corresponderam a amostras colhidas em pacientes do género masculino, 38,4% do género feminino. A prevalência de MSSA foi de 14,8% no período de estudo.

keywords

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, colonization, prevalence

abstract

Among all the infections related to the healthcare, the ones caused by the methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) are the most worrying, due to its frequency, morbidity and to the very high treatment costs.

This study had as goal to determine the prevalence and the factors associated to the colonization and infection, caused by MRSA, in hospitalised patients at the Medical Centre Póvoa de Varzim/Vila do Conde.

The search was made through pus, blood cultures, skin lesion exudates, umbilical swab, nasopharyngeal swab, sputum, bronchial aspirate and nasopharyngeal aspirates, coming from the hospitalized patients at the Medical Centre.

The prevalence of MRSA was 14,6% at the end of the searches. From the positive searches, 50% were from male patients and 38,4% were from female patients. The prevalence of MSSA was 14,8% during the study period.

ÍNDICE

1- INTRODUÇÃO

1.1 Enquadramento Geral	5
1.2 Estafilococos aureus metilina – resistentes (MRSA)	8
1.3 Definição e classificação do género Staphylococcus	8
1.4 Mecanismos de resistência	9
1.5 MRSA e resistência a antibióticos	11
1.6 Mecanismos de patogenicidade	12
1.7 Etiologia	13
1.8 Epidemiologia	13
1.9 Modo de transmissão	14
1.10 Factores de risco	14
1.11 MRSA em Portugal	15
1.12 Medidas de Prevenção e Controlo	16
1.13 Vigilância Epidemiológica	18
1.14 Programa de prevenção e controlo em Portugal	19

2- OBJECTIVOS 21

3- MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Caracterização da Unidade Hospitalar e Serviço	22
3.2 Período de estudo e tipo de amostras	22
3.3 Procedimento laboratorial	22

4- RESULTADOS 25

5- DISCUSSÃO 30

6- CONCLUSÃO 33

7- CONSIDERAÇÕES FINAIS 34

8- BIBLIOGRAFIA 35

9- ANEXOS 42

Lista de Abreviaturas

CH-MRSA – MRSA adquirido no hospital

CA-MRSA- MRSA adquirido na comunidade

CCI- Comissão de Controlo de Infecção

CDC- Center for Disease Control and Prevention

CMI- Concentração mínima inibitória

EARSS- European Antimicrobial Resistance Surveillance System

EUA- Estados Unidos da América

EU- União Europeia

HELICS- Hospital in Europe Link for Infection Control through Surveillance

HICPAC- Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee

HIS- Hospital Infection Society

IN- Infecção nosocomial

INCS- Infecção nosocomial da corrente sanguínea

INSPEAR- International Network for the Study and Prevention of Emerging

MRSA- *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina

MSSA- *Staphylococcus aureus* sensíveis à meticilina

NNIS- National Nosocomial Infections Surveillance System

PCR- *Polymerase Chain Reaction*

PNCI- Programa Nacional de Controlo de Infecção

S. aureus- *Staphylococcus aureus*

SHEA- Society for Healthcare Epidemiology of America

TSA- Teste de susceptibilidade aos antimicrobianos

UCI- Unidade de cuidados intensivos

Lista de figuras

Figura 1- Localização do <i>mecA</i> no cromossoma de <i>S. aureus</i> (Sousa, 2005). _____	10
Figura 2- Proporção de estirpes de MRSA, no ano de 2005, a nível dos países europeus participantes no <i>European Antimicrobial Resistance Surveillance System</i> (EARSS, 2006). ____	15
Figura 3- Fotografia do aparelho VITEK® 2 Compact™ . _____	24
Figura 4- Percentagem de MRSA isolados por produtos no período de estudo. _____	26
Figura 5- Distribuição do número de amostras com <i>S.aureus</i> por serviços, em 2007. _____	26
Figura 6- Distribuição de MRSA e MSSA isoladas por serviços, em 2007. _____	27
Figura 7- Distribuição do número de amostras com <i>S.aureus</i> por serviços, em 2008. _____	27
Figura 8- Distribuição de MRSA e MSSA isoladas por serviços, em 2008. _____	28
Figura 9- Distribuição do número de amostras com <i>S.aureus</i> por serviços, em 2009. _____	28
Figura 10- Distribuição de MRSA e MSSA isoladas por serviços, em 2009. _____	29
Figura 11- Número de MRSA isolados em relação aos indivíduos estudados. _____	29

Lista de tabelas

Tabela 1 – Percentagem de MRSA em Portugal adaptado (Ribeiro, 2008) _____ 16

Tabela 2- Número de MRSA e MSSA isolados, no período de estudo, no Centro Hospitalar Póvoa de Varzim/Vila do Conde. _____ 25

1- INTRODUÇÃO

1.1 Enquadramento geral

A infecção associada aos cuidados de saúde (IACS) é uma infecção adquirida pelos utentes em consequência dos cuidados e procedimentos de saúde prestado e que pode, também, afectar os profissionais de saúde durante o exercício da sua actividade. Por vezes, estas infecções são denominadas de infecções nosocomiais, apesar de esta designação não ser inteiramente abrangente por excluir o ambulatório. A IACS, assume cada vez maior importância no mundo. À medida que a esperança média de vida aumenta estas infecções tornam-se um problema importante de saúde pública, a sua frequência, estimada em cerca de 10% dos doentes hospitalizados, aumenta regularmente, preço a pagar por uma maior sofisticação dos tratamentos médico-cirúrgicos (Grundmann *et al.*, 2006). Dispomos de tecnologias cada vez mais avançadas e invasivas, de maior número de doentes em terapêutica imunossupressora, o que acarreta um aumento de risco de infecção. Estudos internacionais revelam que cerca de um terço das infecções adquiridas no decurso de cuidados de saúde são seguramente evitáveis (Grundmann *et al.*, 2006).

Staphylococcus aureus resistentes à meticilina (MRSA), é uma bactéria que pertence ao género dos *Staphylococcus* e é a responsável pela maioria das infecções em hospitais e em instituições de cuidados prolongados. Foi nos anos 60 no Reino Unido, pouco tempo depois da introdução da meticilina na prática clínica, que foram detectadas as primeiras estirpes resistentes desta bactéria ao referido antibiótico (Stefani *et al.*, 2003).

Esta bactéria multi-resistente é, primariamente, um agente patogénico nosocomial, no entanto, também atinge lares residenciais. Estas unidades acabam por actuar como reservatórios para MRSA, reintroduzindo-o, continuamente, nos hospitais, sempre que os seus residentes necessitam de cuidados hospitalares (French, 2004). Entre as infecções relacionadas com os cuidados de saúde são, particularmente preocupantes, aquelas por MRSA devido à frequência, à morbidade e aos custos muito elevados do seu tratamento. Em Dezembro de 2005, a Comissão Europeia publicou um documento "Public consultation on strategies for improving safety by prevention and control of health-care associated infections" que descreve que as infecções hospitalares afectam 1 em cada 10 pacientes e que conduzem a um aumento de doentes, mortalidade e custos (Dulce *et al.*, 2002).

As infecções por *Staphylococcus aureus* manifestam-se através de vários sintomas como por exemplo, borbulhas e inchaços ao nível da pele, algumas vezes com dores (Cooper *et al.*, 2003). As infecções por MRSA podem ser causadas por acção directa quando há invasão dos tecidos pela bactéria (*Staphylococcus aureus*) ou por acção indirecta, através de produção de toxinas. Por acção directa temos as doenças de pele e tecido celular subcutâneo (furúnculo, impétigo, celulite, inflamação de queimaduras, feridas traumáticas ou cirúrgicas, empiema), artrite;

osteomielite, pneumonia, infecções urinárias, pielonefrite, endocardite, meningite, infecção de cateteres ou próteses, septicemia e bacteriemia. Por acção indirecta, pode contrair-se infecção por intoxicação alimentar, síndrome da pele escaldada, síndrome do choque tóxico. Estas infecções por *S. aureus* podem espalhar-se rápida e facilmente pela corrente sanguínea, mas para a maioria dos indivíduos saudáveis geralmente são superficiais e discretas. Podem ser graves em recém-nascidos, pacientes após cirurgia e em portadores de doenças debilitantes como tumores, sida e diabetes (Milatovic *et al.*, 1987).

Doenças relacionadas com *S.aureus* são encontradas muito frequentemente nos hospitais em doentes com sistemas imunitários enfraquecidos, mas também há relatos de casos de MRSA fora do ambiente hospitalar (CA-MRSA), nomeadamente em locais fechados onde várias pessoas estão em contacto directo ou indirecto umas com as outras, caso de prisões, quartéis militares, infantários, escolas ou ginásios (Kluytmans *et al.*, 2006).

Estas infecções não são facilmente controláveis e podem ser rapidamente disseminadas para outros países. Infecções por MRSA, aparece entre as 10 primeiras causas de mortalidade nos países industrializados, tornando-se um problema internacional, apesar da prevalência variar consideravelmente entre os diferentes países (Grundmann *et al.*, 2006). Dos dois mil milhões de pessoas que se espera serem portadores de *S. aureus* a nível mundial, baseado nos valores de prevalência nos USA, estima-se que entre dois a três milhões, sejam portadores de MRSA (Grundmann *et al.*, 2006).

Em Portugal, nos últimos anos, a prevalência de MRSA, tem rondado os 50%, estando entre as mais elevadas a nível Europeu. São uma grande preocupação na maior parte dos hospitais e dos estabelecimentos de cuidados de saúde, uma vez que elas aumentam a morbidade e a mortalidade em relação às doenças iniciais dos pacientes (Ferreira, 2001).

Nas últimas duas décadas, devido à profilaxia e à terapêutica com antibióticos a nível hospitalar, as bactérias MRSA foram-se espalhando pelo mundo tornando-se endémicas, em muitos hospitais e casa de saúde (Wagenvoort, 2000). Numerosos trabalhos têm demonstrado que a detecção de estirpes de MRSA, traduzem bem o carácter de múltipla resistência desta bactéria frente aos antibióticos do grupo beta-lactâmico, incluindo as cefalosporinas de última geração e outros grupos de antibióticos. Embora existam antibióticos eficazes, doentes com septicemias por MRSA, continuam a morrer. Vários protocolos e orientações têm sido desenvolvidos para tentar prevenir o desenvolvimento de estirpes resistentes de *S. aureus*, bem como reduzir a sua transmissão nosocomial (Henderson, 2006). As recomendações variam desde as mais minimalistas e direccionadas, até sistemas altamente elaborados envolvendo serviços para isolamento de doentes, rastreio na admissão, rastreios periódicos aos profissionais, isolamento estrito, intervenções agressivas e descontaminação do ambiente e, ainda, tentativas de descolonização de doentes e profissionais, com rastreios subsequentes de controlo (Hartstein *et al.*, 2004; Henderson, 2006).

Este tipo de medidas poderão contribuir para uma melhor orientação para a prescrição dos antimicrobianos mais adequados, para melhorar o tratamento deste tipo de infecções, bem

como para melhorar as práticas clínicas e de higiene, contribuindo também para o controlo da disseminação da infecção e de resistências bacterianas e também para a diminuição do sofrimento humano.

1.2 Estafilococos aureus metilina-resistentes (MRSA)

1.3 Definição e classificação do género *Staphylococcus*

O género *Staphylococcus* pertence à família dos *Micrococcaceae*. O nome *Staphylococcus* foi pela primeira vez usado por Ogston em 1883 para a designação de cocos dispostos em cachos. São bactérias que vivem em contacto íntimo com o homem, numa relação de comensalismo ou mutualismo (Ferreira *et al.*, 2001).

Os *Staphylococcus aureus*, pertencem ao género *Staphylococcus*, que são bactérias gram-positivas, com forma esférica que formam grupos de células com aspecto de cachos de uvas, não esporulados, imóveis, não capsulados e com cor amarelada, devido à produção de carotenoides. São a espécie mais virulenta do seu género (Cruickshank *et al.*, 1990).

Produzem hemólise no ágar sangue, são catalase e coagulase positivas, crescem em gelose simples (são pouco exigentes) e são aeróbios ou anaeróbios facultativos ou seja fermentam a glicose tanto em meio aeróbio como anaeróbio. Os *S. aureus* são os únicos da sua família a produzir a enzima coagulase (Ferreira *et al.*, 2001). O seu habitat natural é a pele e vias respiratórias da população em geral, mais frequentemente a narina anterior onde poderá ocorrer disseminação, provocando doença e transmissão a outros indivíduos. Estas bactérias podem sobreviver intracelularmente. Cerca de 30% dos indivíduos saudáveis são portadores de *S. aureus* na pele ou nasofaringe, ou seja, estão colonizados (EARSS, 2006). Este valor aumenta para 50%, quando se trata de profissionais de saúde ou pessoas com internamentos em hospitais ou em casas de saúde (Cooper *et al.*, 2003).

Estirpes MRSA, são *Staphylococcus aureus* que se tornaram resistentes a vários antibióticos, primeiro à penicilina e depois à metilina e a outros antibióticos principalmente aos do grupo dos beta-lactâmicos (Garrett *et al.*, 2001). A resistência aos antibióticos ocorre quando as bactérias se adaptam ou modificam de modo a sobreviverem na presença de antibióticos que foram concebidos para as inactivar. Em alguns casos há bactérias que ficam tão resistentes que não existem antibióticos eficazes para as eliminar (Division of Healthcare Quality Promotion DHQP Issue MRSA). Em parte o aumento das resistências das bactérias é atribuído ao uso de vários agentes antibióticos (Garrett *et al.*, 2001).

MRSA foi descoberta originalmente no Reino Unido em 1961 e actualmente está muito propagada, principalmente no meio hospitalar. Até ao final da década de 90 os estafilococos resistentes aos antibióticos, nomeadamente estirpes de MRSA eram isolados quase exclusivamente em ambientes hospitalares onde a pressão selectiva é mais elevada. Esta noção está em concordância com o facto de, até há muito pouco tempo, as infecções causadas por MRSA serem exclusivas, de doentes hospitalizados. Um estudo, realizado em 1996 em Portugal, refere que a prevalência de MRSA numa população saudável era extremamente baixa (Leão *et al.*, 2001). Estudos semelhantes realizados nos USA, indicavam que a origem e reservatórios de

MRSA eram exclusivos dos hospitais e que essas linhagens resistentes e tão frequentes em ambiente hospitalar não eram transferidas para a população de *S. aureus* da comunidade (Huang *et al.*, 2006). No entanto foram descritas infecções graves e até mortais causadas por MRSA em indivíduos da comunidade sem risco aparente para aquisição de doença estafilocócica. Estas infecções ocorrem frequentemente em pacientes que fizeram cirurgias, que têm o sistema imunitário enfraquecido ou ainda os que estão a ser tratados em hospitais ou centros de saúde, lares e centros de diálise (Fridkin *et al.*, 2005).

As infecções por MRSA são muitas vezes subcategorizadas em, infecções de MRSA adquiridas na comunidade (CA-MRSA) e em infecções de MRSA adquiridas nos hospitais (HA-MRSA). A distinção entre estes dois tipos de MRSA é complexa, alguns investigadores têm definido o CA-MRSA pelas características dos pacientes que se infecta, enquanto outros a definem pelas características genéticas das próprias bactérias (Kluytmans *et al.*, 2006).

Infecções por MRSA não se desenvolvem em pessoas saudáveis, sendo mais comuns em pessoas hospitalizadas, que geralmente tem um ponto de entrada para a bactéria, por exemplo, um ferimento cirúrgico, feridas abertas, doenças de pele, pessoas com sistema imunitário enfraquecido ou com cateteres intravenosos (Hartstein *et al.*, 2004). A bactéria MRSA propaga-se através do contacto com alguém que tenha a infecção ou que esteja colonizado. Os indivíduos saudáveis podem estar colonizados com MRSA assintomaticamente por períodos que variam de algumas semanas a muitos anos (Hartstein *et al.*, 2004). Nos hospitais MRSA é normalmente transmitida através dos profissionais de saúde por contaminação cruzada entre doentes. Os profissionais de saúde ao prestarem assistência a pacientes portadores ou a manusear objectos colonizados, podem contaminar as suas mãos e subsequentemente transmitir a bactéria a outros pacientes. A colonização e infecção aumentam com o tempo de internamento no hospital, tratamentos intensivos, tratamentos com antibióticos e internamentos anteriores em outros hospitais onde estão presentes estirpes de MRSA. A colonização aumenta o risco de infecção. Este tipo de infecções tem como consequência o prolongamento dos internamentos devido às consequências que trazem em relação à doença inicial do doente (Stone *et al.*, 2004).

1.4 Mecanismos de resistência

A capacidade de resistência aos antibióticos pode dever-se a mutações espontâneas ou à aquisição de genes de resistência localizadas em elementos genéticos móveis como transposões, plasmídeos ou integrões (Köhler *et al.*, 1999). A resistência bacteriana aos antibióticos β -lactâmicos deve-se a quatro mecanismos: hidrólise enzimática dos β -lactâmicos por β -lactamases, modificação dos alvos (PBPs), impermeabilização da membrana externa e bombas de efluxo (Sousa, 2005).

Os *S. aureus* são bactérias que muito frequentemente adquirem resistências aos antimicrobianos e as transmitem entre si. A resistência desta bactéria à metilina é muito particular, apesar de estarem descritos casos em que é devida à hiperprodução de β -lactamases,

na maioria das vezes ela é intrínseca. Não há destruição enzimática do antibiótico, mas alteração nas proteínas da parede celular dos *S.aureus* às quais ele se liga (Ferreira, 2000). A síntese bacteriana de β -lactamases em *S. aureus* é codificada pelo gene plasmídico *blaZ*, sendo este regulado por outros dois genes, um com actividade repressora (*blaI*) e outro com actividade anti-repressora (*blaRI*). Estes genes codificam respectivamente, proteínas repressoras e sinalizadoras da expressão de *blaZ* (Lowy, 2003).

As estirpes de MRSA possuem o gene *mecA*, que codifica a “penicillin-binding protein 2^a” (PBP2a). A produção da PBP2a confere resistência a todos os antibióticos beta-lactâmicos, uma vez que possui baixa afinidade para este, impedindo, assim, que o fármaco induza a inibição da síntese da parede celular da bactéria. O nível de resistência à meticilina depende da quantidade da produção da PBP2a, que é influenciada por vários factores genéticos. O nível de resistência para as estirpes *mecA* positivas poderá, assim, variar entre fenotipicamente susceptível a altamente resistente (EARSS, 2006). O gene *mecA* é transportado num elemento genético móvel designado por cassette cromossómica estafilocócica *mec* (SCCmec) que está integrada no cromossoma do *S.aureus*. Na figura 1 encontra-se esquematizada a localização do gene *MecA* em MRSA. A região *mec* tem o gene *mecA*, gene estrutural para PBP2a sendo os genes *mec1* e *mecr1*, elementos reguladores que controlam a transcrição do gene *mecA*. Não se conhece a sua origem mas admite-se que houve transferência horizontal entre diferentes espécies de *Staphylococcus*, do gene *mecA* entre diferentes géneros Gram positivos. O gene *mecA* confere aos *Staphylococcus* resistência intrínseca a todos antibióticos β -lactâmicos (Sousa, 2005).

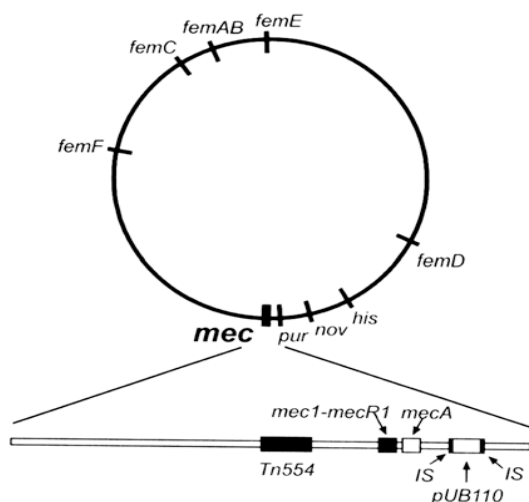


Figura 1 – Localização do gene *mecA* no cromossoma de *S. aureus* (Sousa, 2005).

Os *S. aureus* que possuem o gene *mecA* e consequentemente a PBP2a, como já foi referido, apresentam uma forma de resistência à meticilina designada por intrínseca. Quando

estes dois elementos estão ausentes poderá tratar-se de um *S. aureus* sensível à metilina (MSSA) e o doente poderá ser tratado com beta-lactâmicos e cefalosporinas (Hartstein *et al.*, 2004).

Se a resistência do *S. aureus* for independente de PBP2a as infecções podem ser tratadas com oxacilina, metilina ou com inibidores de β -lactamases associados aos β -lactâmicos, no entanto as dependentes devem ser tratadas com vancomicina, teicoplanina, linezolida e daptomicina, o que pode favorecer o aparecimento de estirpes resistentes a estes antibióticos. Por isso, a definição laboratorial do mecanismo de resistência envolvido é uma mais valia na escolha do antimicrobiano mais adequado (Murray *et al.*, 2003).

1.5 MRSA e resistência a antibióticos

A metilina é uma penicilina semi-sintética, quimicamente designada de 2,6-dimetoxifenilpenicilina. Pertence ao grupo dos antibióticos β -lactâmicos, que é um dos compostos mais utilizados no tratamento de infecções bacterianas devido à sua eficácia terapêutica e baixa toxicidade para organismos superiores. No entanto, deve ser apenas utilizada para o tratamento de infecções estafilocócicas resistentes à penicilina G, uma vez que podem ocorrer alguns efeitos secundários (Sousa, 2005; Murray *et al.*, 2006).

Os antibióticos β -lactâmicos têm uma utilização terapêutica generalizada dada a sua fraca toxicidade, características farmacocinéticas e actividade antimicrobiana. Sendo dos agentes antimicrobianos mais usados em todo mundo, não é de estranhar que, nas últimas décadas após a introdução de antibióticos de largo espectro antibacteriano, se tenha observado resistência a cefalosporinas de terceira e quarta geração, monobactams e carbapenems, o que constitui actualmente, e para o futuro, um enorme problema (Marín *et al.*, 2003).

Os antibióticos β -lactâmicos englobam quatro grandes grupos: as penicilinas, as cefalosporinas, os monobactams e os carbapenems. As penicilinas agrupam-se em 1) Penicilinas naturais, 2) Aminopenicilinas, 3) Isoxazolilpenicilinas, 4) Carboxipenicilinas, 5) Ureidopenicilinas. As cefalosporinas podem dividir-se em gerações de acordo com o seu desenvolvimento no tempo e de espectro de acção, fruto da necessidade de ultrapassar a resistência que foi surgindo ao longo do tempo devido à evolução das lactamases. As cefalosporinas agrupam-se em 1) cefalosporinas de 1ª geração, 2) cefalosporinas de 2ª geração e 3) cefalosporinas de 3ª e 4ª geração (Marín *et al.*, 2003).

Todos têm em comum o anel - lactâmico. Os radicais alteram o espectro de acção, a resistência ao suco gástrico e a farmacocinética. Estes antibióticos têm como alvo a parede celular bacteriana. Nas bactérias gram-positivas esta parede é constituída por uma camada grossa de peptidoglicano. O peptidoglicano é uma molécula que só existe nas células bacterianas. Os antibióticos β -lactâmicos são também designados por antibióticos antiparietais, devido a actuarem na fase terminal da biosíntese do peptidoglicano. A estrutura básica do peptidoglicano é formada por uma cadeia de dez a sessenta e cinco resíduos de dissacarídeos, em que vão alternando com

moléculas de N-acetilglicosamina e ácido N-acetilmurâmico. A ligação destas cadeias é catalisada pelas enzimas serínicas D-D-carboxipeptidases-transpeptidases, também chamadas de PBPs (Penicillin-Binding Proteins). Os antibióticos β -lactâmicos fixam-se a estas enzimas inibindo a sua acção e consequentemente a interligação das bactérias em crescimento. Nesta situação são activadas autolisinas que degradam a parede celular, conduzindo à morte da célula bacteriana (Walsh, 2000; Sousa, 2005; Murray *et al.*, 2006).

Algumas bactérias são naturalmente resistentes a alguns antibióticos, mas a resistência bacteriana é normalmente associada à resistência adquirida pelas bactérias. Mais de 95% das MSSA são resistentes as penicilinas, mas são sensíveis à cloxacilina, cefalosporinas, carbapenemos e monobactamos. As MRSA são resistentes a todos os antibióticos β -lactâmicos (Marín *et al.*, 2003).

1.6 Mecanismos de patogenicidade

Os *Staphylococcus aureus*, vivem numa íntima interacção de comensalismo ou de mutualismo com o hospedeiro. Só em condições particulares quando há quebra do equilíbrio habitual ou acesso a áreas estéreis podem tornar-se patogénicos (Ferreira *et al.*, 2001).

Estas bactérias apresentam diversos mecanismos de patogenicidade o nível estrutural (cápsula, parede celular e os antigénios proteicos) e são produtores extracelulares de enzimas e toxinas (Ferreira *et al.*, 2001).

A parede celular destas bactérias é limitada exteriormente pela cápsula antifagocitária (pensa-se que têm um papel relevante como agente antifagocitário) e no interior pela membrana citoplasmática. É constituída por peptidoglicano (que lhe confere rigidez e é o responsável pela estabilidade osmótica da bactéria), pela proteína A (têm a capacidade de se ligar à região Fc das imunoglobulinas IgG1, IgG2 e IgG4) e pelos ácidos teicóicos de natureza polissacarídica que tanto se ligam ao peptidoglicano como à membrana citoplasmática mediando a ligação à fibronectina das mucosas (Baron *et al.*, 1990; Cristino, 2000; Murray *et al.*, 2006).

As principais toxinas são hemolisinas alfa, beta e gama, com acção hemolítica leucocida letal e dermonecrótica; a leucocidina Panton-Valentine, com acção lítica para leucócitos; as exfoliativas A e E, responsáveis pelo síndrome da pele escaldada, termoestáveis resistentes ao ácido gástrico e enzimas jejunais; sete enterotoxinas A, B, C, D, E, G e H, termoestáveis, responsáveis por intoxicação alimentar; e a Toxic Shock Syndrome Toxin-1 (TSST-1), anteriormente chamada de enterotoxina F, responsável pelo síndrome do choque tóxico (Baron *et al.*, 1990; Cristino, 2000; Murray *et al.*, 200; Tristan *et al.*, 2007).

As enzimas mais importantes são a coagulase, que actua a nível da coagulação do plasma, formando um depósito de fibrina que funciona como escudo protector contra a fagocitose; a catalase, que catalisa a conversão do peróxido de hidrogénio em oxigénio e água; a

hialuronidase com acção sobre o ácido hialurónico; a fibrinolisinina com acção fibrinolítica; a desoxirribonuclease que destrói o DNA; as lipases que hidrolisam lípidos facilitando a invasão da pele e tecido celular e as penicilinases que hidrolisam penicilinas (Baron *et al.*, 1990; Cristino, 2000; Murray *et al.*, 2006).

1.7 Etiologia

As infecções por MRSA, normalmente, não se desenvolvem em pessoas saudáveis, sendo mais comum em pessoas hospitalizadas (normalmente pessoas idosas), que, geralmente, apresentam um ponto de entrada para a bactéria, como, por exemplo um ferimento cirúrgico ou um cateter intravenoso, pessoas com o sistema imunitário enfraquecido, ou com doenças de pele graves como a psoríase (Scanvic *et al.*, 2001). Contudo, recentemente foram detectados casos de MRSA na comunidade, tais como infecções de pele. Ainda não se conhece bem as características destes isolados MRSA da comunidade. Não se sabe se são estirpes provenientes do hospital ou clones totalmente originados fora do ambiente hospitalar (Fridkin *et al.*, 2005).

Cerca de 30% da população mundial está colonizada nas narinas ou pele por *Staphylococcus aureus*, mas não têm sintomas de infecção (Cooper *et al.*, 2003). Estas bactérias propagam-se através do contacto com alguém que tem uma infecção causada pelas mesmas ou que esteja colonizado. Também podem propagar-se através do contacto com objectos que alguém infectado ou colonizado tenha tocado. Os dados disponíveis sobre as infecções provocadas por agentes resistentes demonstram que 30% a 40% das infecções são resultados da colonização e infecção cruzada, tendo como veículo principal as mãos dos profissionais de saúde; 20% a 25% das infecções podem ser resultado da terapêutica antibiótica sucessiva e prolongada; 20% a 25% das infecções podem resultar do contacto com microrganismos adquiridos na comunidade e 20% das infecções tem origem desconhecida (Weinstein, 2006).

1.8 Epidemiologia

A epidemiologia do MRSA está a mudar, as infecções já não estão confinadas ao ambiente hospitalar, mas também aparecem em indivíduos saudáveis da comunidade (CA-MRSA). Os *Staphylococcus aureus* colonizam as narinas ou a pele, com maior densidade nas regiões da pele mais ricas em glândulas sudoríparas e folículos pilosos (Ferreira, 2000). A colonização é mais comum quando há lesões na pele (existências de cortes, feridas erupções cutâneas, como por exemplo eczemas) (Cooper *et al.*, 2003). Solberg, 2000 refere que esta bactéria pode ser encontrada em até 80% dos adultos em que, aproximadamente, 20% são portadores persistentes (são portadores de algum tipo de *S. aureus*), 60% são portadores intermitentes e 20% não são portadores (quase nunca têm esta bactéria). São as crianças, principalmente as do género masculino, as que apresentam colonização mais frequente. As

peessoas idosas apresentam infecções por MRSA que são normalmente adquiridas nos hospitais (Solberg, 2000).

Os portadores de MRSA nas mãos, dedos, fossas nasais e área adjacente ao nariz são normalmente colonizados, pela mesma estirpe, o que parece representar transferência a partir das narinas. Solberg, 2000, refere que o grau de colonização, das mãos e dedos, é directamente proporcional à colonização nasal e que a eliminação do MRSA das narinas, também elimina das mãos. A colonização por *S. aureus* pode persistir de meses a anos e é assintomática, na maioria dos casos (Bergh *et al.*, 2006). Scanvic *et al.* 2001 ao estudar 78 doentes em que se tinha detectado MRSA, encontraram, na altura de um segundo internamento, que 40% eram portadores persistentes e que o tempo médio para um resultado negativo era cerca de 8,5 meses. Já Sanford *et al.* 1994 estimaram que a semi-vida da colonização por MRSA é de 40 meses.

Eveillard *et al.* 2004 ao estudar a colonização de MRSA em 965 profissionais de saúde, detectaram uma prevalência de 6,2% e a transmissão da bactéria do profissional à sua família.

1.9 Modo de transmissão

Existem vários dados que sugerem que a maior parte dos doentes adquirem estes microrganismos multirresistentes através da transmissão cruzada entre doentes. Muto *et al.* 2003 mencionam que o MRSA foi controlado com sucesso através de uma prática rigorosa de controlo de infecção. Suporta a premissa de que a transmissão cruzada é o principal factor que contribui para o aumento da prevalência do MRSA.

Ao nível hospitalar a transmissão de MRSA, ocorre, principalmente, de um doente colonizado ou infectado para outro doente, através das mãos dos profissionais. Segundo o PNCl (2006b) o que normalmente sucede, é que 1) os microrganismos que estão presentes na pele do doente ou nos objectos que estão na sua proximidade, podem ser transferidos para as mãos dos profissionais de saúde; 2) este tipo de microrganismos sobrevive durante alguns minutos nas mãos dos profissionais; 3) se a higienização das mãos dos profissionais de saúde não for executada ou for executada inadequadamente o profissional vai contaminar os doentes; 4) finalmente, as mãos contaminadas dos prestadores de cuidados entram em contacto directo com outro doente, ou com objectos inanimados que irão entrar em contacto com o doente.

Os lares residenciais são referidos em vários estudos como reservatórios de MRSA, por se tornar endémico nestes locais. Os seus residentes permanecem colonizados por longos períodos de tempo, actuando como reservatórios de MRSA, introduzindo continuamente o MRSA nos hospitais, sempre que necessitam de cuidados hospitalares (Hartstein *et al.*, 2004).

1.10 Factores de risco

Estão descritos vários factores para a aquisição de MRSA. Segundo Ducei *et al.* 2002 os factores que aumentam a probabilidade de aquisição do MRSA são: internamentos prolongados;

doentes idosos, com mobilidade reduzida, imunossupressão ou sujeitos a antibioticoterapia prévia; doentes em unidades especiais (por exemplo, unidades de cuidados intensivos (UCI'S), queimados ou hospitais de referência); transferências frequentes de doentes ou profissionais entre serviços e hospitais; uso excessivo de antibióticos; sobrelotação dos serviços; insuficiência de recursos humanos; insuficiência de lavatórios ou condições de isolamento.

1.11 MRSA em Portugal

As taxas de MRSA variam consideravelmente entre países, com uma prevalência alta nos USA e Sudoeste da Europa (> 20%) e uma prevalência baixa no Nordeste da Europa (5%) (EARSS, 2004).

Em 2005, a situação do MRSA na Europa era a seguinte: República Checa - 13%, Eslováquia - 19%, Hungria - 19% e Alemanha - 21%. Por sua vez, a maioria dos países da Europa central reportou valores de resistência à meticilina inferiores a 25%, enquanto os situados no sul registaram valores altos, 8 dos quais com taxas superiores a 40% (Chipre - 45,6%; Grécia - 42,1%; Irlanda - 41,8%; Israel - 41,5%; Malta - 45,1%; Portugal - 56,6%; Roménia - 41,4% e Reino Unido - 43,6%) (ver Figura 2).

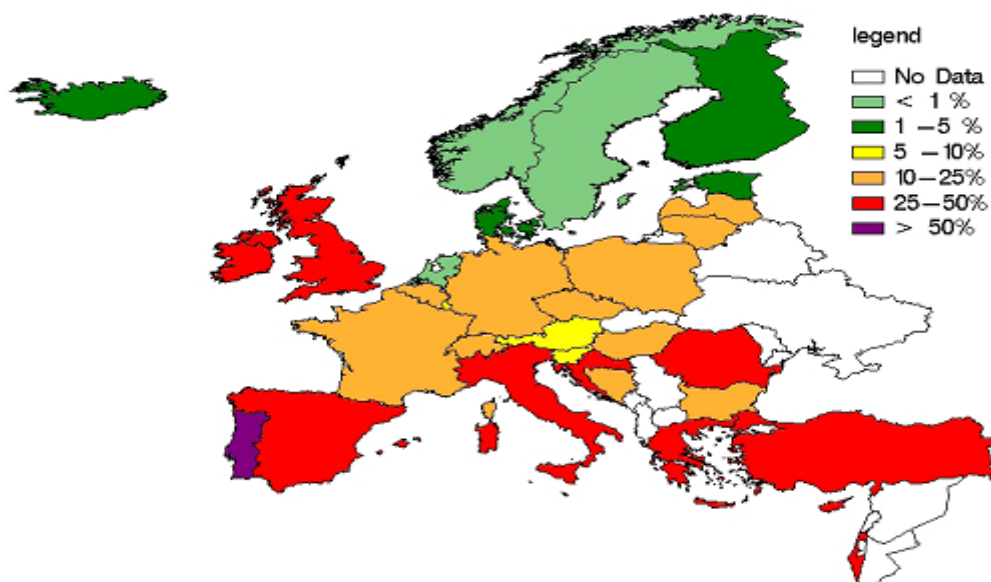


Figura 2- Proporção de estirpes de MRSA, no ano de 2005, ao nível dos países europeus participantes no *European Antimicrobial Resistance Surveillance System* (EARSS, 2006).

Em Portugal, nos últimos anos a prevalência de *S. aureus* resistentes à metilina, tem rondado os 50%, sendo este valor, um dos mais elevados ao nível Europeu, apenas atrás de Malta e Roménia (Sousa *et al.*, 2008). A infecção por MRSA em Portugal foi descrita, pela primeira vez, em 1985. Vários estudos realizados nos maiores hospitais do país mostraram uma prevalência de 47 a 49% uma das mais altas ao nível europeu (Melo-Cristino *et al.*, 2002). Num estudo mais recente, Melo-Cristino e a sua equipa (2006), ao comparar dados de nove hospitais em Portugal com intervalo de uma década, detectaram uma taxa alta de MRSA, embora com diferenças significativas nas diversas instituições estudadas.

Outro estudo de Ribeiro (2008) (Tabela 1), refere que em 2007 a taxa de MRSA variou entre 58-67% na zona norte, 53-62% na zona centro e 23-56% na zona sul de Portugal.

	Variação da Percentagem de MRSA em Portugal
NORTE	58-67%
CENTRO	53-62%
SUL	23-56%

Tabela 1 – Percentagem de MRSA em Portugal adaptado (Ribeiro, 2008).

1.12 Medidas de Prevenção e Controlo

A disseminação de MRSA, no entendimento de Wenzel e Cols (1991), é o reflexo da falência de medidas básicas de controlo da infecção como por exemplo a simples lavagem de mãos. No passado, os hospitais restringiram-se à prestação de cuidados com uma abordagem mais humanitária do que propriamente científica. Com os trabalhos pioneiros de Semmelweiss, Lister e Florence Nightingale, foram desenvolvidos os primeiros contornos da prevenção e controlo da infecção hospitalar, fundamentais ao pensamento moderno sobre prestação de cuidados (DGS, 2007).

O benefício de medidas de controlo para situações endémicas é hoje motivo de controvérsia. Embora, existam vários estudos que revelam melhorias no controlo da infecção (redução na transmissão, diminuição da prevalência) (Hartstein *et al.*, 2004). Devem ser feitos esforços para implementar normas e rotinas destinadas a limitar a disseminação entre os pacientes hospitalizados, tendo em vista o facto de este microrganismo ser resistente a múltiplos antibióticos, à sua toxicidade e ao alto custo do tratamento (DGS, 2007).

Hartstein *et al.* 2004 referem várias razões para a falta de consenso das orientações para vigilância, prevenção e controlo do MRSA nas instituições de saúde 1) aumento progressivo de MRSA em instituições de cuidados agudos e crónicos de muitas áreas geográficas; 2) a erradicação numa instituição é muito difícil e muitas vezes condenada ao fracasso; 3) aumento do CA-MRSA; 4) pouco sucesso na eliminação do MRSA em doentes colonizados e infectados, que são os reservatórios mais importantes; 5) poucos estudos controlados, focando intervenções para minimizar a disseminação numa instituição de saúde; 6) estratégias para contenções podem ser muito dispendiosas e afectar a prestação de cuidados.

Nos países da Europa do norte, onde se relatam taxas de MRSA extremamente baixas, é geralmente aplicado um conjunto de medidas rigorosas para o controlo desta bactéria. A estratégia “search and destroy” utilizada nestes países, monitoriza os doentes à chegada à instituição de saúde e os doentes com MRSA e os doentes suspeitos são isolados. As salas e quartos são desinfectados e o contacto com os doentes é feito após a desinfeção das mãos. Os doentes colonizados são tratados com antibiótico e o seu uso é restrito (Wertheim *et al.*, 2004). Um estudo de Ducek *et al.* 2002, mostrou melhorias no controlo da infecção, quando se tomam medidas severas de controlo de MRSA como 1) melhorar a adesão de higienização das mãos do pessoal clínico (utilizando antisépticos); 2) precaução de contacto até rastreio negativo dos doentes para determinado microrganismo (uso de luvas); 3) formação dos profissionais, doentes e visitas; 4) isolamento de doentes com MRSA e suspeitos, até sair o resultado do rastreio; 5) higienização adequada do ambiente; 6) alteração na utilização de antibióticos; 7) rastreio de profissionais; 8) culturas de controlo ambiental; 9) descolonização de portadores; 10) comunicação entre instituições de saúde em relação à transferência de doentes portadores de microrganismos multirresistentes.

As mãos são consideradas uma das vias para propagação da infecção, como tal a sua lavagem ou desinfeção é provavelmente a medida mais importante no controlo de infecção (Ayliffe *et al.*, 2000).

A higienização das mãos recorrendo a soluções alcoólicas é, hoje em dia, amplamente utilizada e apoiada cientificamente (tem uma eficácia microbiológica *in vivo* e *in vitro* superior à lavagem das mãos), pela facilidade e rapidez de utilização e maior adesão dos profissionais a esta prática (Widmer, 2000).

A descolonização de doentes e profissionais é, contudo, suficientemente eficaz para garantir a sua utilização por rotina, existem vários estudos que o comprovam (Siegel *et al.*, 2006). Assim o uso desta medida de prevenção em algumas instituições de saúde limitou o seu uso somente em casos de surtos ou situações de alta prevalência (Coia *et al.*, 2006).

O uso impróprio e desnecessário de antibióticos deve ser evitado, reduzindo assim, as resistências e transmissão de estirpes de MRSA (OMS, 2001). A OMS, 2001, publicou um documento onde faz referência a uma estratégia a nível global para lutar contra a disseminação dos microrganismos resistentes. Nesse documento são referidas as seguintes medidas 1) reduzir

a ocorrência de doença e disseminação de infecção; 2) melhorar o acesso aos antimicrobianos apropriados; 3) melhorar a utilização dos antimicrobianos; 4) fortalecer os sistemas de saúde e a sua capacidade de vigilância; 5) assegurar que a legislação e regulamentação são cumpridas; 6) encorajar o desenvolvimento apropriado de novos fármacos e vacinas.

Nicolle 2001, refere três estratégias para lidar com este problema a nível hospitalar 1) programa de controlo de infecção; 2) apoio adequado do laboratório de Microbiologia; 3) programa para utilização racional dos antimicrobianos.

O CDC lançou, em 2002, a Campaign to Prevent Antimicrobial Resistance in Healthcare Settings, tendo como objectivo focar a prevenção das resistências antimicrobianas em instituições de saúde através da possibilidade dos médicos colocarem em prática quatro estratégias diferentes de prevenção 1) prevenir a infecção (vacinar; retirar cateteres); 2) diagnosticar e tratar infecções de modo eficaz (direccionar a acção ao microrganismo; recorrer a especialistas); 3) otimizar a utilização dos antimicrobianos; 4) prevenir a transmissão (isolar o microrganismo; quebrar a cadeia de transmissão).

1.13 Vigilância Epidemiológica

A vigilância é uma ferramenta que pode facilitar a prevenção da infecção e o melhoramento dos seus efeitos, a curto e longo prazo, providenciando informação adequada para tomadas de decisão (OMS, 2002). Um bom sistema de vigilância não garante que se tomará as decisões certas, mas reduz a probabilidade de se tomar as erradas (Gaynes, 1999). A vigilância epidemiológica, deverá ser feita por cada serviço da instituição, dadas as especificidades de cada um tendo em conta o tipo de doentes, procedimentos, ambiente, estrutura física e profissionais (Coia *et al.*, 2006).

Os EUA possuem um sistema de vigilância global designado por National Nosocomial Infection Surveillance (NNIS) que é de carácter voluntário, confidencial e é resultante de um esforço conjunto do CDC e dos hospitais participantes.

Na Europa existe o Hospital in Europe Link for Infection Control through Surveillance (HELICS), que instituiu uma rede de vigilância epidemiológica e de controlo das doenças transmissíveis na comunidade. As redes associadas ao HELICS recolhem dados das Infecções nosocomiais (IN) de acordo com protocolos padronizados, característicos deste programa (HELICS, 2006).

Em Portugal existe o Programa Nacional de Controlo de Infecção (PNCI) que colabora com o HELICS com uma vigilância a nível das UCI's, das cirurgias, nos estudos de prevalência, infecção nosocomial da corrente sanguínea, IN nas UCI recém-nascidos, eventos em diálise e investigação de surtos.

A descolonização nasal e extranasal efectuadas nas admissões aos hospitais podem reduzir o risco de infecção por MRSA (Sousa, 2010).

Informar os doentes e familiares acerca das implicações da colonização, infecção e tratamento do MRSA, na altura do diagnóstico e idealmente antes de serem tomadas as medidas de isolamento de contacto, são algumas das orientações britânicas do *Hospital Infection Society* (HIS). Outra das orientações é, antes do doente ter alta, actualizar a informação sobre a situação e ser aconselhado de, se necessitar de novo internamento, a informar a equipa que o recebe do seu historial de colonização por MRSA (Coia *et al.*, 2006).

Ducel *et al.* 2002 referem que os resultados da vigilância epidemiológica devem ser divulgados periodicamente. Esta informação de retorno deve ser produzida em tempo útil, ser relevante para o grupo alvo (profissionais de saúde) e com potencial para terem a máxima influência na prevenção da infecção.

Siegel *et al.* 2006 fazem referência à importância da formação dos profissionais de saúde: utilizando estratégias formativas, quer comuns à instituição, quer específicas a determinada unidade, com o objectivo de possibilitar mudanças de comportamento, para melhorar o conhecimento dos microrganismos multirresistentes.

A informação dos doentes com MRSA com infecção ou colonização, é essencial de modo a todos os profissionais de saúde estarem informados e tomarem as medidas para a prevenção da transmissão.

Muitos estudos foram realizados, várias estratégias e medidas foram tomadas nos hospitais em todo mundo para a prevenção da transmissão de MRSA. O ideal seria que sempre que um doente com MRSA tivesse contacto com os cuidados de saúde, seja no internamento, no serviço de urgência, nas consultas externas ou serviços de diagnóstico, o sistema informático daria um alerta automático ao profissional de saúde da necessidade de tomar medidas específicas. A colonização ou infecção por MRSA, não deverá ser uma barreira para as práticas clínicas, as transferências para outros hospitais não devem ser impedidas ou atrasadas. É da responsabilidade do hospital que pretende transferir um doente colonizado ou infectado informar as casas de saúde para onde este é transferido. Para que os programas de prevenção e controlo de MRSA tenham sucesso é necessário 1) existência de estruturas físicas (existências de quartos de isolamento); 2) conhecimento e sensibilização dos profissionais que prescrevem e prestam cuidados; 3) existência de políticas de admissão (transferências e comunicação entre as instituições de saúde) (Coia *et al.*, 2006).

1.14 Programa de Prevenção e Controlo em Portugal

Em Portugal, a infecção hospitalar foi abordada pela primeira vez em 1930, pela Direcção-Geral de Saúde e depois, em 1979, pela Direcção-Geral dos Hospitais, através de uma Circular Informativa do Conselho da Europa, que abordava a temática da prevenção das infecções hospitalares. Esta informação foi divulgada a todos os serviços e unidades de saúde. Em consequência, foram criadas as Comissões de Controlo da Infecção (CCI) nas unidades de saúde públicas ou privadas.

Em 14 de Maio de 1999, foi criado o Programa Nacional de Controlo da Infecção (PNCI), com o objectivo de dar a conhecer a verdadeira dimensão do problema e promover medidas necessárias para prevenção da infecção através da identidade e modificação das práticas de risco.

A OMS em 2006, através da World Alliance for Patient Safety, estabeleceu como desafio, a redução do problema da infecção associada aos cuidados de saúde, tendo como mensagem principal “Clean Care is Safer Care”. O Ministério da Saúde através deste desafio reformulou o PNCI associada aos cuidados de saúde. Este programa pretende conhecer a realidade nacional e reunir esforços para diminuir a incidência, de infecções associadas aos cuidados de saúde (IACS) e que esta seja promovida a curto prazo em Portugal, contribuindo para a segurança do doente. Este novo programa da PNCI, têm como estratégias de actuação quatro medidas 1) a organização; 2) o desenvolvimento individual e organizacional; 3) o registo e a monitorização; 4) a comunicação.

Com estas estratégias a PNCI, procura dotar as unidades de saúde de instrumentos facilitadores da melhoria da organização dos serviços, da prestação de cuidados e da medição dos resultados.

Em 2004, a Direcção Geral de Saúde definiu como objectivos gerais, para diminuir a incidência da IACS a nível nacional, 1) conhecer, com rigor e de forma continuada a incidência e a natureza da IACS nas unidades prestadoras de cuidados do Serviço Nacional de Saúde com maior risco de infecção; 2) diminuir a IACS nas unidades prestadoras de cuidados do Serviço Nacional de Saúde. Foram definidos ainda como objectivos específicos 1) até ao final do ano de 2009, conhecer a incidência da IACS em 60% das unidades prestadoras de cuidados de saúde do Serviço Nacional de Saúde; 2) até ao final do ano de 2013, reduzir em 5% a incidência da IACS em 30% das unidades prestadoras de cuidados de saúde do Serviço Nacional de Saúde.

A Direcção Geral de Saúde reconhece pois que a IACS é um problema de grande acuidade, afectando não só a qualidade de prestação dos cuidados mas também a qualidade de vida dos doentes, a segurança dos doentes e dos profissionais, aumentando exponencialmente os custos directos e indirectos do sistema de saúde (PNCI, 2006).

2- Objectivos

Os objectivos deste trabalho foram:

- 1- Conhecer a prevalência de colonização/infecção nos pacientes dos serviços de internamento no Centro Hospitalar Póvoa de Varzim/Vila do Conde.
- 2- Contribuir para o estudo de MRSA como agente bacteriano de infecção em doentes internados no Centro Hospitalar, ao nível do controlo de infecção nosocomial e no tratamento das infecções.

3- Material e Métodos

3.1 Caracterização da Unidade Hospitalar e do Serviço

O Centro Hospitalar Póvoa de Varzim/Vila do Conde E.P.E., é uma Entidade Pública Empresarial, dotada de autonomia administrativa, financeira e patrimonial, que sucedeu às entidades colectivas Hospital São Pedro Pescador, S.A e Hospital Distrital de Vila do Conde, S.A. Este centro, presta cuidados de saúde a 65 882 habitantes, (de acordo com o Instituto Nacional de Estatística de 2005) na cidade da Póvoa de Varzim e nas suas 12 Freguesias, e ainda a 77.320 habitantes, (de acordo com o Instituto Nacional de Estatística, 2003) na cidade de Vila do Conde e nas suas 30 Freguesias. O Centro Hospitalar Póvoa de Varzim/Vila do Conde é constituído por duas unidades Hospitalares uma na cidade da Póvoa de Varzim e outra na cidade de Vila do Conde, com 6 especialidades médicas e 2 serviços de urgência.

O serviço de Patologia Clínica do Centro Hospitalar Póvoa de Varzim/Vila do Conde é composto por 6 secções, nomeadamente, Hematologia, Bioquímica, Microbiologia, Imunologia, Imunohemoterapia e um sector administrativo. O funcionamento destes sectores é assegurado por um quadro constituído por médicos, farmacêuticos, técnicos de diagnóstico e terapêutica, pessoal administrativo e auxiliares de acção médica. As várias secções funcionam das 8h as 15h, sendo o serviço de urgência assegurado todos os dias 24h por dia.

3.2 Período de estudo e tipo de amostras

Neste estudo foram usados os dados das 2556 amostras analisadas para pesquisa de *Staphylococcus aureus* no laboratório do Centro Hospitalar Póvoa de Varzim/Vila do Conde. Foram usadas amostras de pús, hemoculturas, expectoração, exsudado de lesão cutânea, exsudado umbilical, exsudado nasofaríngeo, aspirado brônquico, aspirado nasofaríngeo, do sexo masculino e feminino da faixa etária (17-100) e de crianças (0-17) que deram entrada no serviço de Patologia Clínica do Centro Hospitalar, oriundos dos serviços de internamento, durante o período compreendido entre Janeiro de 2007 a Dezembro de 2009. Os dados usados neste estudo foram, o género, a proveniência da amostra, o resultado do exame cultural, a identificação de estirpe bacteriana e o padrão de susceptibilidade aos antimicrobianos.

3.3 Procedimento laboratorial

O diagnóstico de *S. aureus* foi feito através de métodos tradicionais. As amostras foram observadas ao microscópico após coloração de Gram, semeadas em meios não selectivos, selectivos e de enriquecimento. Para a identificação de MRSA foram realizados os testes

bioquímicos simples, catalase e coagulase, para o estudo da susceptibilidade microbiana, foi utilizado o aparelho automático VITEK® 2 Compact, (bioMérieux®).

Sementeira em meio de cultura

As amostras, foram semeadas em meios de cultura sólido, não selectivo, gelose de sangue (Gelose Columbia +5% de sangue de carneiro, COS bioMérieux®), que é um meio de isolamento, especialmente designado para facilitar o crescimento de microrganismos exigentes e em gelose de chocolate (Gelose Chocolate Polyvitex, PVX, bioMérieux®) que se destina particularmente ao crescimento das estirpes mais exigentes. Utilizou-se a técnica de esgotamento de quadrantes para a sementeira. Depois de semeadas as placas foram incubadas a 35°C em atmosfera CO₂ durante 24-48h. Após este período, avaliou-se o crescimento bacteriano nos meios, prolongando-se a incubação para 48h, em casos de dúvidas quanto ao crescimento bacteriano. Após 48h de incubação na ausência de colónias suspeitas o resultado foi emitido como sendo negativo. Para as colónias suspeitas, após 24 ou 48h de incubação, foram realizadas os testes bioquímicos.

Em todas as amostras foi realizado o exame directo microscópico após coloração de Gram.

Provas bioquímicas

Teste da Coagulase

Para identificação presuntiva de *Staphylococcus aureus* realizou-se a prova da coagulase, utilizando o reagente da Bio-Rad Coagulase Pastorex™ STAPH-PLUS. A reacção foi considerada positiva quando se observou a formação de agregados. Convém referir que algumas estirpes de *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina podem não aglutinar (anexo 2).

Teste da catalase

Este teste serve essencialmente para distinção entre *Staphylococcus* e *Streptococcus*. Para a realização deste teste utilizou-se o Peróxido de Hidrogénio e adicionou-se a colónia em estudo. A reacção foi considerada positiva quando se observou a formação de bolhas de ar (anexo 1).

Teste de sensibilidade aos antibióticos

Utilizou-se o aparelho VITEK® 2 Compact, (bioMérieux®), (Figura 3). A metodologia usada neste aparelho é baseada na técnica da CMI descrita por Maclowry, Marsh e Gerlach, é uma versão miniaturizada e abreviada da técnica de dupla diluição para CMI determinadas pelo método

de microdiluição. A carta de sensibilidade aos antibióticos utilizada foi Carta VITEK® de Gram positivos, AST-P580 da (bioMérieux®), que é uma carta destinada à determinação da sensibilidade de *Staphylococcus spp* a determinados antibióticos (anexo 3). Os valores de CMI são determinados para cada antibiótico contido na carta.



Figura 3- Fotografia do aparelho **VITEK® 2 Compact™**

4- Resultados

Das 2556 amostras de pús, hemoculturas, expectoração, exsudado de lesão cutânea, exsudado umbilical, exsudado nasofaríngeo, aspirado brônquico, aspirado nasofaríngeo, para pesquisa de *Staphylococcus aureus*, o exame cultural foi negativo para 2015 amostras (78,8) %, e foram identificadas 541 amostras (21,2%) com *Staphylococcus aureus*, das quais 272 amostras (50,3%) eram *Staphylococcus aureus* sensíveis à metilina e 269 amostras (49,7%) *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina. Os resultados por anos são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2- Número de MRSA e MSSA isolados, no período de estudo, no Centro Hospitalar Póvoa de Varzim/Vila do Conde.

ANO	Nº de amostras usadas para pesquisa de <i>Staphylococcus aureus</i>	Nº de amostras positivas para <i>Staphylococcus aureus</i>	Nº de amostras com <i>Staphylococcus aureus</i> resistentes à metilina	Nº de amostras com <i>Staphylococcus aureus</i> sensíveis à metilina
2007	815 (100%)	165 (20,2%)	90 (54,5%)	75 (45,5%)
2008	645 (100%)	196 (30,4%)	91 (46,4%)	105 (53,6%)
2009	991 (100%)	178 (18%)	88 (49,4%)	90 (50,6%)

Dos rastreios positivos, obtidos em função do produto estudado, 42,4% são de pús, 18,2% de expectoração, 16,7% de hemoculturas, 13% de exsudado de lesão cutânea, 3,7% de exsudado nasofaríngeo, 3% de exsudado umbilical, 2,2% de aspirado nasofaríngeo e 0,7% de aspirado brônquico, no período de estudo (Figura 4).

Distribuição das amostras positivas por produto biológico em 2007,2008 e 2009

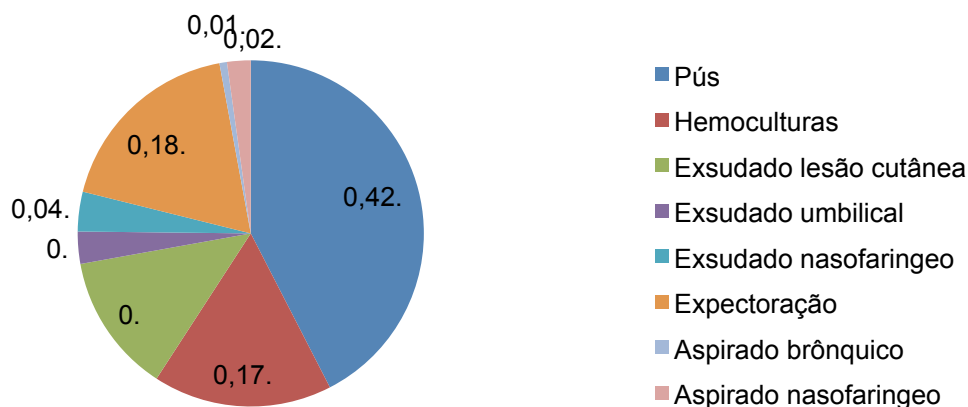


Figura 4- Percentagem de *S. aureus* isolados por produtos no período de estudo.

Em 2007, deram entrada no serviço de Patologia Clínica 815 amostras dos internamentos do Centro Hospitalar para rastreio de *S. aureus*, 30% são do serviço de medicina, 16% do serviço de Ortopedia, 15% do serviço de pediatria, 14% do serviço de cirurgia, 13% do serviço de neonatologia e 12% do serviço de obstetrícia (Figura 5).

Distribuição do total de amostras pelos diferentes serviços, em 2007

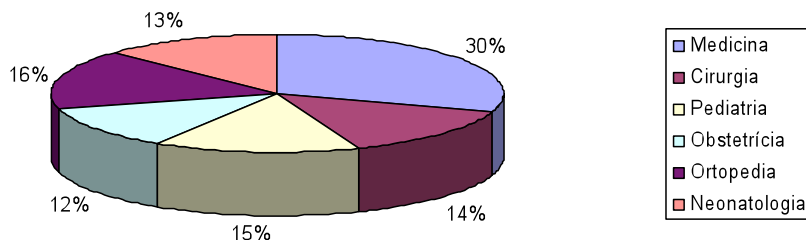


Figura 5- Distribuição do número de amostras com *S. aureus* por serviços, em 2007.

No mesmo ano da distribuição de estirpes de MRSA e MSSA isoladas nos internamentos do Centro Hospitalar, está representada na Figura 6.

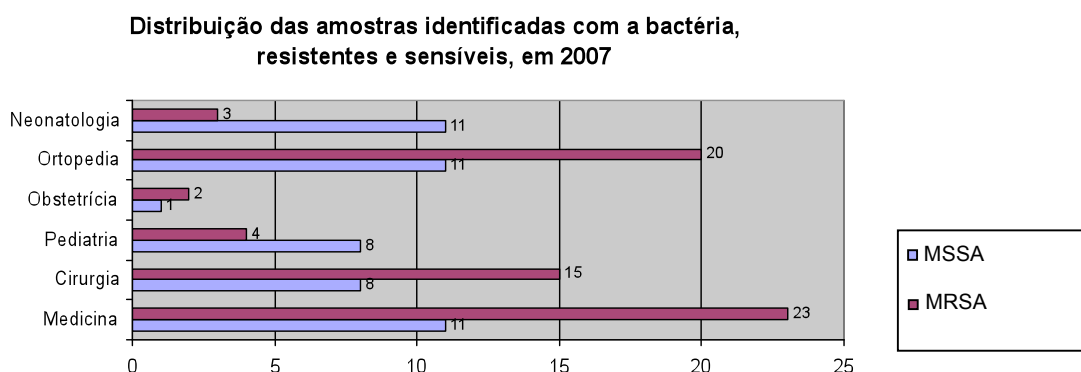


Figura 6- Distribuição de MRSA e MSSA isoladas por serviços, em 2007.

Em 2008, entraram no serviço de Patologia Clínica 645 amostras para rastreio de *S. aureus*, 45% são do serviço de medicina, 17% dos serviços de pediatria e cirurgia, 14% do serviço de ortopedia e 7% do serviço de neonatologia e 0 do serviço de obstetrícia (Figura 7).

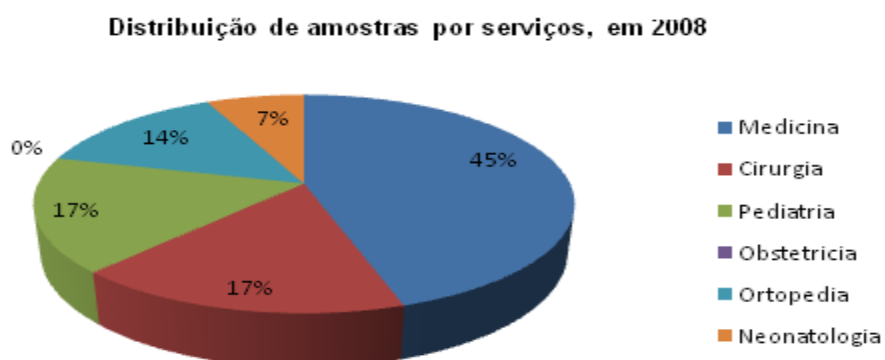


Figura 7- Distribuição do número de amostras com *S. aureus* por serviços, em 2008.

Podemos observar a distribuição de estirpes de MRSA e MSSA, isoladas nos internamentos do Centro Hospitalar Póvoa de Varzim/Vila do Conde, em 2008 (Figura 8).

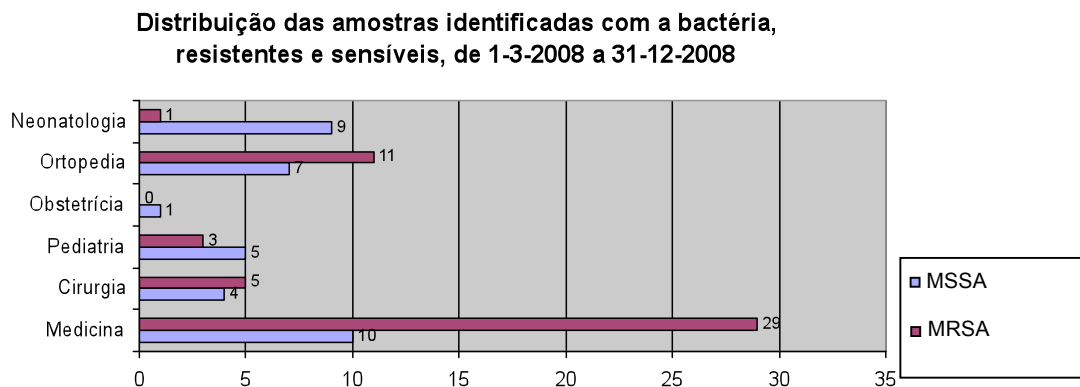


Figura 8- Distribuição de MRSA e MSSA isoladas por serviços, em 2008.

Em 2009, entraram no serviço de Patologia Clínica 991 amostras para rastreio de *S. aureus*, 25% são do serviço de medicina, 18% do serviço de ortopedia, 17% do serviço de obstetria, 16% do serviço de neonatologia, 15% do serviço de cirurgia e 9% do serviço de pediatria (Figura 9).

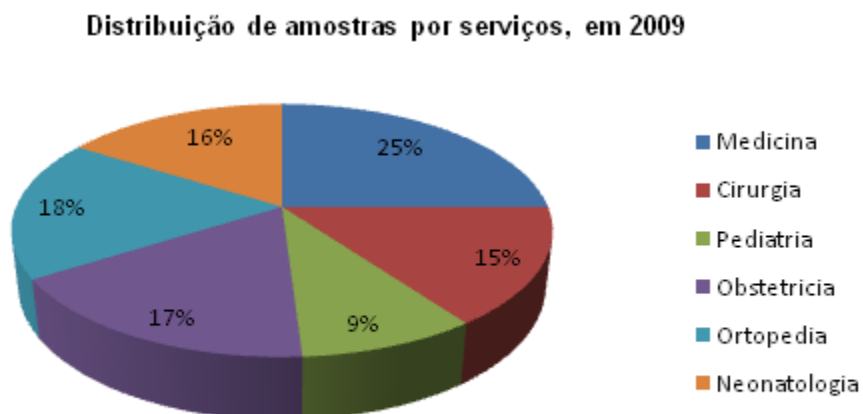


Figura 9- Distribuição do número de amostras com *S. aureus* por serviços, em 2009.

No mesmo ano da distribuição de estirpes de MRSA e MSSA isoladas nos internamentos do Centro Hospitalar Póvoa de Varzim/Vila do Conde, está representada na Figura 10.

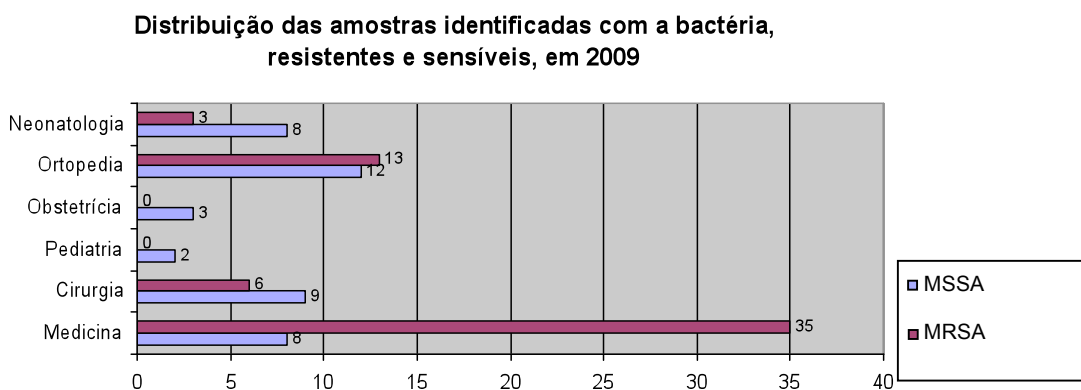


Figura 10- Distribuição de MRSA e MSSA isoladas por serviços, em 2009.

Na Figura 11, podemos observar a distribuição de MRSA encontrados no período de estudo, no género masculino com faixa etária dos 17-100 anos, género feminino com faixa etária dos 17-100 anos e crianças com a faixa etária dos 0-17 anos.

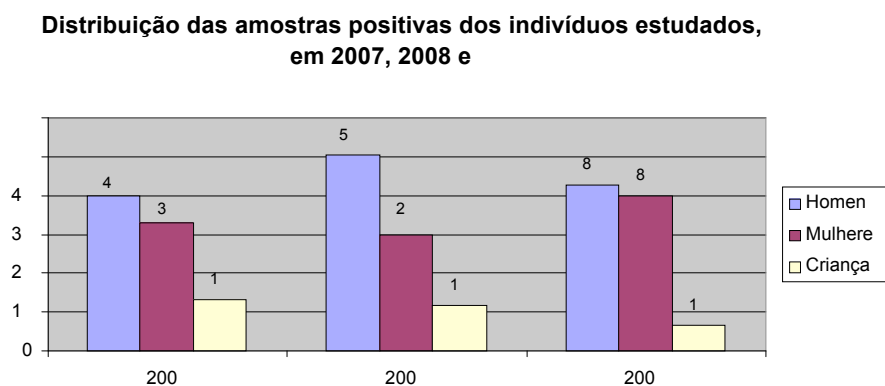


Figura 11- Número de *S. aureus* isolados em relação aos indivíduos estudados.

5- DISCUSSÃO

A luta contra a disseminação do MRSA deve continuar porque quando as estirpes MRSA se instalam é quase impossível erradicá-las. As estirpes MRSA E MSSA são muito virulentas, a presença destas aumenta o tempo de internamento, a mortalidade e os custos com tratamentos e com a implementação de novas medidas de controlo hospitalar.

Neste estudo propôs-se caracterizar a prevalência e incidência de *S. aureus* resistentes à meticilina (MRSA) no Centro Hospitalar Póvoa de Varzim/Vila do Conde. Este microrganismo multiresistente é, por muitos, considerado como um dos indicadores da eficácia das medidas de controlo das infeções instituídas, sendo usado para avaliar, a segurança da qualidade dos cuidados prestados numa determinada instituição. O método de detecção de MRSA nos doentes do Centro Hospitalar faz-se através de uma metodologia de vigilância passiva usando os dados das análises pedidas, por rotina, ao Laboratório de Microbiologia.

Em comparação com dados europeus e nacionais, a prevalência de MRSA detectada foi inferior aos valores médios nacionais (14,6%). Se considerarmos a base de dados do European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS) em que mostra um claro aumento da prevalência de MRSA em Portugal 25,3% em 2000 para 46,6% em 2005, o valor atingido pelo Centro Hospitalar está abaixo da média Portuguesa. Isto poderá ser justificado pelo facto de o Centro Hospitalar ser um hospital médico-cirúrgico tendo, por isso menos camas e menos especialidades.

Dos *S. aureus* encontrados verificou-se que 49,7% eram resistentes à meticilina (MRSA) e 50,3% sensíveis à meticilina (MSSA), mostrando que era de metade dos *S. aureus* encontrados nas amostras são MRSA o que está de acordo com os dados do EARSS.

A prevalência das estirpes MRSA, durante o período deste estudo diminuiu. Esta diminuição pode ser explicada pela campanha de sensibilização realizada em 2008 pela Comissão de Infecção da instituição. Nesta campanha, a equipa clínica foi sensibilizada para a importância da lavagem das mãos e da utilização de antisépticos. Em relação às estirpes de MSSA verificou-se um aumento da sua prevalência, o que sugere que as estirpes de MSSA estão menos relacionadas com o controlo de infecção cruzada no ambiente hospitalar. Morgan *et al.* 2010, referem que os hospitais no Reino Unido depois de terem instituído medidas rigorosas de controlo de infecção, a prevalência de MRSA diminuiu, mas a prevalência de MSSA manteve-se igual.

A incidência de estirpes MRSA foi mais elevada nos homens (50%), quando comparada com o grupo das mulheres (38,4%) e das crianças (11,5%). Chaves *et al.* 2005 obtiveram resultados semelhantes. A prevalência de MRSA foi de 67,6% para o género masculino.

Os serviços de medicina e de cirurgia geral foram aqueles que registaram maior número de casos.

Na distribuição total das amostras que entraram por serviços (2556) no laboratório de microbiologia, 27,6% era do serviço de medicina, 19% do serviço de ortopedia, 16,2% do serviço

de cirurgia, 13,5% do serviço de pediatria, 12,1% do serviço de neonatologia e 12,0% do serviço de obstetrícia. O número de MRSA encontrados por serviço, foi de 35% no serviço de medicina, 21,5% no serviço de cirurgia, 16,5% no serviço de pediatria, 16% no serviço de ortopedia, 9% no serviço de obstetrícia e 6,5% no serviço de neonatologia. Os resultados deste estudo coincidem com outros estudos em que referem que o serviço de medicina é o que apresenta sempre uma maior prevalência de MRSA, seguido do serviço de cirurgia. Normalmente estes estudos são realizados com as prevalências das UCI, serviço de medicina e serviço de cirurgia, abrangendo todas as especialidades cirúrgicas. Madani *et al.* 2001 detectam, num centro hospitalar de 1295 camas, uma prevalência maior nas UCI (26,6%), serviço de medicina (24,8%) e cirurgia (19,8%). Neste estudo tal não acontece porque os valores de MRSA que deveriam pertencer às UCI estão inseridos nos internamentos das especialidades.

Mais de metade das amostras positivas para MRSA (55,4%) eram de pús e exsudado de lesão cutânea, correspondente geralmente a feridas operatórias ou a úlceras infectadas. Vinte e quatro por cento dos produtos positivos, eram amostras, do tracto respiratório superior, expectoração, aspirado nasofaríngeo e exsudado nasofaríngeo. Os produtos do trato respiratório (aspirado brônquico), apresentaram melhor qualidade microbiológica, só 0,7% dos produtos colhidos foram positivos para MRSA. Cerca de dezassete por cento dos produtos positivos são hemoculturas, valor semelhante ao referido no Protocolo da Vigilância Epidemiológica das Infecções Nosocomiais da Corrente Sanguínea (INCS) do PNCI. Um estudo realizado em 1997 e 1999, em vários centros participantes dos EUA, Canada, América Latina, Europa e região oeste do Pacífico, com dados de origem nosocomial e da comunidade relata ser o *S. aureus* o agente causal mais frequente de infecções da pele/tecidos moles (39,2%), tracto respiratório inferior (23,2%) e da corrente sanguínea (22%) (Diekema *et al.*, 2001).

Os resultados deste estudo, mostram que se justifica a implementação de estratégias de prevenção e controlo do MRSA para o Centro Hospitalar Póvoa de Varzim/Vila do Conde. Mas ainda, neste estudo não foram incluídos os portadores assintomáticos, restringindo-se a análise só de casos clínicos, não sendo uma maneira confiável de estimar a ocorrência e distribuição de MRSA.

As principais medidas a implementar devem ser 1) melhorar a higiene em geral, medida já implementada, mas que deve ser melhorada; 2) investir na detecção mais rápida de MRSA, actualmente somente após 24-48h há resultados para a detecção de MRSA. Se houvesse tecnologia mais rápida, como a Polymerase Chain Reaction (PCR) em algumas horas já se saberia o resultado, diminuindo o tempo de isolamento de doentes e os custos acrescidos com o prolongamento do internamento. Teste para detecção de MRSA rápidos são ferramentas fundamentais para a detecção rápida de portadores de MRSA. Estes são particularmente eficazes para a detecção de grupos de pacientes com alto risco de MRSA. A detecção rápida de MRSA neste grupo de doentes tem duplo valor pois permite começar o tratamento mais cedo e evitar que outros pacientes fiquem colonizados (Stürenburg, 2009).

3) Usar, sistemas de vigilância electrónica. Os doentes iriam referenciados numa base de dados electrónica e sempre que estes se dirigissem a uma unidade de saúde já estariam referenciados, diminuindo desta forma os custos com novos testes de identificação, com internamentos e pessoal clínico. Hilde *et al.*, (2010), refere que uma vigilância electrónica de MRSA baixou a sua incidência consideravelmente, reduzindo os dias de isolamento e os custos médicos associados, comparando dois anos de vigilância electrónica e dois anos sem implementação desta medida. 4) Isolamento de doentes colonizados/infectados e os que esperam pelos resultados dos exames para identificação de MRSA, evitando-se desta forma a transmissão entre doentes e a transmissão cruzada através do pessoal clínico. 5) Identificação de doentes colonizados/infectados na admissão ao hospital, através de testes para identificação de MRSA para que fiquem referenciados no hospital. 6) Uso de antibióticos tópicos para descolonização de portadores de MRSA em pacientes e pessoal clínico. O número de infecções por MRSA adquiridas nos hospitais podem ser reduzidas pela monitorização e descolonização de portadores nasais de MRSA na admissão ao hospital, esta intervenção reduz os dias de internamento (Kramer *et al.*, 2010). As medidas de controlo de MRSA devem incluir os portadores de MRSA. Todos os casos de colonização ou infecção por MRSA, devem ser tidos em conta como os casos clínicos, só assim a análise e interpretação de MRSA fará algum sentido. A não monitorização de portadores de MRSA assintomáticos, que geralmente são um número grande de novos casos é negligenciar uma importante parte da prevalência de MRSA (EARSS, 2006).

A instituição, não tem, espaço físico necessário para a implementação de algumas destas medidas, caso do isolamento de doentes tanto no serviço de urgência como nos internamentos, o que dificulta a implementação do procedimento.

6- CONCLUSÃO

Este estudo propôs-se caracterizar a prevalência e a incidência de colonização de *S. aureus* resistentes à meticilina (MRSA) no Centro Hospitalar Póvoa de Varzim/ Vila do Conde. A realização destes estudos é uma importante ferramenta na vigilância epidemiológica de MRSA,

A prevalência de MRSA detectada foi de 14,6% da totalidade do *S. aureus* isolados pelo laboratório deste hospital.

Foi no género masculino onde se identificou maior número de estirpes de MRSA 50%.

Os serviços de medicina e cirurgia geral foram aqueles que registaram maior número de casos de MRSA.

Os produtos onde o MRSA foi mais frequentemente encontrado foram o pus e exsudado de lesão cutânea, correspondente a feridas cirúrgicas ou úlceras infectadas.

7- CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em termos de perspectivas futuras seria útil a realização de estudos de prevalência de MRSA, usando não só o estudo de casos clínicos, mas também o estudo dos portadores assintomáticos que recorrem as unidades de saúde. Assim como o estudo dos factores de risco de aquisição de MRSA, seria útil para efectuar uma escala de risco, tal como indicado por Harbarth *et al.* 2006 para o MRSA. Esta escala poderia ser utilizada pelas instituições para triar os doentes de alto risco, minimizando a probabilidade de transmissão cruzada.

A realização de trabalhos de caracterização dos mecanismos moleculares de resistência, envolvidos na transferência de genes de resistência para estirpes de MRSA altamente virulentas, seria uma mais valia devido às implicações dramáticas destes mecanismos na terapêutica.

Os laboratórios de microbiologia deveriam pelo menos uma vez por ano, publicar dados sobre os agentes etiológicos mais frequentes e o seu padrão de susceptibilidades aos antimicrobianos. Esta informação seria extremamente útil para que os clínicos pudessem instalar um tratamento empírico adequado, que é útil não só para o doente, como para prevenir o aparecimento e disseminação de resistências.

Para evitar a transmissão de MRSA são precisas mais medidas do que as que existem actualmente a nível nacional.

8- BIBLIOGRAFIA

AYLIFFE, GAJ; Fraise, AP; Geddes, AM; Mitchell, K. (2000) Control of Hospital Infection – A Practical Handbook. 4ª Edição. Londres: Arnold Publishers.

BARCLAY, L. (2010) Decolonizing Nasal Carriers May Reduce Surgical-Site *Staphylococcus aureus* Infections. Medscape; 326:9-17, 75-76.

BARON, EJ e Finegold, SM. (1990) Diagnostic Microbiology, 8ª Edição Bailey & Scotts P323-330.

CDC (2002a) Guideline for Hand Hygiene in Health Care Settings- Recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. 51(16):1-44.

CDC (2002b) Campaign to Prevent Antimicrobial Resistance [online] Center for Disease Control and Prevention. Acessível em:
www.cdc.gov/drugresistance/healthcare/ [consultado a 10 Fevereiro de 2010].

CHAVES, F; Garcia-Martinez, J; de Miguel, S; Sanz, F; Otero, JR. (2005) Epidemiology and clonality of methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* causing bacteremia in a tertiary-care hospital in Spain. Infect Control Hosp Epidemiol. 26(2):150-6.

COOPER, BS; Stone, SP; Kibbler, CC; Cookson, BD; Roberts, JA; Medley, GF; Duckworth, GJ; Lai, R; Ebrahim, S. (2003) Systematic review of isolation policies in the hospital management of the methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a review of the literature with epidemiological and economic modelling. Health Technol Assess. 7(39): 1-194.

COIA, JE; Duckworth, G; Edwards, DI; Farrington, M; Fry, C; Humphreys, H; Mallaghan, C; Tucker, DR; for the Joint Working Party of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy, the Hospital Infection Society and the Infection Control Nurses Association (2006) Guidelines for the control and prevention of methicillin *Staphylococcus aureus* (MRSA) in healthcare facilities. J Hosp Infect. 63: 1-44.

COSGROVE, SE; Sakoulas, G; Perencevich, EN; Schwaber, MJ; Karchmer, AW; Carmeli, Y. (2003) Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia: a meta-analysis. Clin Infect Dis. 36(1):53-9.

CRISTINO, JM. (2000). *Staphylococcus* In: Ferreira WFC, Sousa JFC. Microbiologia. Lidel. Vol2. 2:239-49.

CRUICKSHANK, R; Duguid, JP; Marmion, BP; Swain, CHA. (1990). Microbiologia Médica Vol1, 5ª Edição – Fundação Calouste Gulbenkian.

DIEKEMA, DJ; Pfaller, MA; Schmitz, FJ; Smayevsky, JB; Jones, RN; Beach, M and the SENTRY Group. (2001) Survey of infections due to *Staphylococcus* species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe and the Western Pacific Region for the SENTRY antimicrobial surveillance program, 1997-1999. Clin Infect Dis. 32(2):114-32.

DGS, (2007) Programa Nacional de Prevenção e Controlo da Infecção Associada aos Cuidados de Saúde. Acessível em: www.dgs.pt (consultado em 4 de Junho 2010).

DUCEL, G; Fabry, J; Nicolle, L. (2002) Prevention of Hospital Acquired Infections- A Practical Guide. 2ª Edição. Organização Mundial de Saúde.

EARSS, (2006) European Antimicrobial Resistance Surveillance System Annual Report 2005 [online] Netherlands Institute for Public Health and the Environment. Acessível em: www.rivm.nl/earss/result/Monitoring_reports/ [consultado a 17 de Setembro de 2009].

EVEILLARD, M; Martin, Y; Hidri, N; Boussougant, Y; Joly-Guillou, ML. (2004) Carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among hospital employees: prevalence, duration, and transmission to households. Infect Control Hosp Epidemiol. 25(2):114-20.

EVEILLARD, M; Lassence, A; Lancien, E; Barnaud, G; Ricard, JD; Joly-Guillou, ML. (2006) Evaluation of a strategy of screening multiple anatomical sites for methicillin resistant *Staphylococcus aureus* at admission to a teaching hospital. Infect Control Hosp Epidemiol. 27(2):181-4.

FARR, BM; Salgado, CD; Karchmer, TB; Sherertz, RJ. (2001) Can antibiotic-resistant nosocomial infections be controlled? Lancet Infect Dis 1:38-45.

FERREIRA, W; Sousa J. (2000) Microbiologia Vol2, Edições LIDEL

FRENCH, GL. (2004) Antimicrobial Resistance in Hospital Flora and Nosocomial Infections. In: C. Glen MAYHALL, ed. Hospital Epidemiology and Infection Control. 3ª Edição. Filadélfia: Lippincott Williams & Wilkins.

FRIDKIN, SK; Hageman, JC; Morrison, M; Sanza, LT; Como-Sabetti, K; Jernigan, JA; Harriman, K; Harrison, LH; Lynfield, R; Farley, MM. (2005) Active Bacterial Core Surveillance Program of the Emerging Infections Program Network. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* disease in three communities. N Engl J Med. 352(14):1436-44.

FRIEDRICH A; Haardt I; Kock R; Verhoeven F; Mellmann A; Harmsen D; Pijnen J; Becker K; Hendrix MG. (2008) A Dutch-German cross-border network for the prevention and control of infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. EuroSurveill, 2008; (<http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=18965/>) (consultado a 10 Março de 2010).

GARRETT, J e Moura, D (2001) Mecanismos Gerais da Quimioterapia Anti-Infecçiosa. In: GARRETT, J *et al.*, Terapêutica Medicamentosa e Suas Bases Farmacológicas. Vol2, 3ª Edição. Porto: Porto Editora.

GAYNES, R; Horan, T. (2004) Surveillance of Nosocomial Infections in Mayhall, C. Glen *et al.*, Hospital Epidemiology and Infection Control, 3ª Edição, Lippincott Williams & Wilkins, Filadélfia.

GRUNDMANN, H; Aires-de-Sousa, M; Boyce, J; Tiemersma, E. (2006) Emergence and resurgence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a public-health threat. Lancet. 368(9538):874-85.

HARBARTH, S; Sax, H; Frankhauser-Rodriguez, C; Schrenzel, J; Agostinho, A; Pittet, D. (2006) Evaluating the probability of previously unknown carriage of MRSA at hospital admission. Am J Med. 119(3): 275:15-23.

HARTSTEIN, AI; Sebastian, TJ; Strausbaugh, LJ. (2004) Methicillin- Resistant *Staphylococcus aureus* In: C. Glen MAYHALL, ed. Hospital Epidemiology and Infection Control. 3ª Edição. Filadélfia: Lippincott Williams & Wilkins.

HELICS, (2006) Hospital In Europe Link for Infection Control through Surveillance [online] Universidade de Lyon - França.

Acessível em: <http://helics.univ-lyon1.fr/helicshome.htm> [consultado a 17 de Junho de 2009].

HENDERSON, DK. (2006) Managing methicillin-resistant staphylococci: a paradigm for preventing nosocomial transmission of resistant organisms. Am J Med. 119(1):45-52.

HUANG, BSS; Platt, R. (2003) Risk of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection after previous infection or colonization. Clin Infect Dis. 36(3):281-5.

HUANG, SS; Datta, R; Platt, R. (2006) Risk of acquiring antibiotic-resistant bacteria from prior room occupants. Arch Intern Med. 166(18):1945-51.

KÖHLER, T; Pechère, JC; Plésiat, P. (1999). Bacterial antibiotic efflux systems of medical importance. Cell. Moll. Life.Sci. 56:771-778.

KRAMER, A.; Wagenvoort, H.; Daniels, I.; Assadian, O. (2010) Epidemiology of MRSA and current strategies in Europe and Japan. Journal List Vol5(1).

KLUYTMANS-VANDENBERGH, MF; Kluymans, JA. (2006) Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: current perspectives. Clin Microbiol Infect. 12(1):9-15.

LOWY, DF. (2003) Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Invest. 111(4):1265-1273.

MADANI, TA; Al-Abdullah, NA; Al-Sanousi, AA; Ghabrah, TM; Afandi, SZ; Bajunid, HÁ. (2001) Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in two tertiary-care centers in Jeddah, Saudi Arabia. Infect Control Hosp Epidemiol. 22(4):211-6.

MARÍN, M; Gudiol, F. (2003) Antibióticos betalactámicos. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 21(1): 42-55

MELO-CRISTINO, J; Marques-Lito, L; Pina, E. (2002) The control of hospital infection in Portugal. J Hosp Infect. 51(2):85-8.

MELO-CRISTINO, J e POSGAR - Portuguese Study Group of Antimicrobial Resistance (1998) Antimicrobial resistance in staphylococci and enterococci in 10 Portuguese hospitals in 1996 and 1997. Microb Drug Resist. 4(4):319-24.

MELO-CRISTINO, J; Alves, AF; Amorim, JM; Diogo, J; Lito, LM; Lopes, P; Marques, J; Marques, T; Martins, F; Monteiro, L; Nascimento, I; Pessanha, MA; Piedade, J; Ramos, MH; Ribeiro, G; Rodrigues, A; Salgado, MJ; Sobral, L; Spencer, O. (2006) Estudo multicêntrico de resistência aos antimicrobianos em nove hospitais portugueses – Comparação de resultados num intervalo de uma década. Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas. Set - Dez 2006 (no prelo).

MURRAY, PR; Baron, EJ; Jorgensen, JH; Pfaller, MA; Tenover, RC; Tenover, FC. (2003) *Staphylococcus*; *Micrococcus*; and Other Catalase-Positive Cocci that Grow Aerobically. In: Manual of Clinical Microbiology; 8ª Edição; ASM Press; 1:384-404.

MURRAY, PR; Roshenthal, KS; Pfaller, MA. (2006) *Microbiologia Médica*. Elsevier 22:215-229.

MUTO, Carlene, A; Jernigan, JA; Ostrowsky, BE; Richet, HM; Jarvis, WR; Boyce, JM; Farr BM. (2003) SHEA Guideline for Preventing Nosocomial Transmission of Multidrug- Resistant Strains of *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus*. *Infect Control Hosp Epidemiol* 24:362-386.

NICOLLE, LE. (2001) *Infection Control Programmes to Contain Antimicrobial Resistance*. Suíça: Organização Mundial de Saúde.

NNIS, (2004) National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. *Am J Infect Control*. 32(8):470-85.

OMS, (2001) WHO Global Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance. Suíça: Organização Mundial de Saúde.

OMS, (2002) Surveillance standards for antimicrobial resistance. Suíça: Organização Mundial de Saúde.

OMS, (2006) WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care- Advanced Draft. [online] Suíça: Organização Mundial de Saúde.

Acessível em: www.who.int/patientsafety/information_centre/en/ [consultado a 8 Julho de 2010].

PNCI, (2003) Critérios do CDC para Diagnóstico de Infecções. Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge - Programa Nacional de Controlo de Infecção.

PNCI, (2004a) Protocolo para a vigilância epidemiológica das infecções nosocomiais da corrente sanguínea. Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge – Programa Nacional de Controlo de Infecção.

PNCI, (2004b) Relatório da vigilância epidemiológica das infecções nosocomiais da corrente sanguínea. Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge – Programa Nacional de Controlo de Infecção.

PNCI, (2005) Relatório do Inquérito de Prevalência do Ano de 2003. Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge - Programa Nacional de Controlo de Infecção.

PNCI (2006a) Recomendações para a Higienização das Mãos nas Unidades de Saúde. Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge - Programa Nacional de Controlo de Infecção.

PNCI, (2006b) Recomendações para as Precauções de Isolamento. Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge - Programa Nacional de Controlo de Infecção.

RIBEIRO, G. (2008) Comunicação oral no “Dia Europeu dos Antibióticos”, em 18/11/2008, www.bd.com/resource.aspx ; (consultado 23 de Julho de 2010).

ROBERT, J; Renard, L; Grenet, K; Galerne, E; Dal Farra, A; Aussant, M; Jarlier, V. (2006) Implementation of isolation precautions: role of a targeted information flyer. J Hosp Infect. 62(2):163-5.

SA-LEAO, R; Sanches, IS; Couto, I; Alves, CR; De Lencastre, H. (2001) Low prevalence of methicillin-resistant strains among *Staphylococcus aureus* colonizing young and healthy members of the community in Portugal. Microb Drug Resist 7(3):237-45.

SCANVIC, A; Denic, L; Gaillon, S; Giry, P; Andremont, A; Lucet, JC. (2001) Duration of colonization by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* after hospital discharge and risk factors for prolonged carriage. Clin Infect Dis. 32(10):1393-8.

SIEGEL, J; Strausbaugh, L; Jackson, M; Rhinehart, E; Chiarello, LA. (2004) Draft Guideline for Isolation Precautions: Preventing Transmission of Infections Agents in Healthcare Settings - Recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee.

SIEGEL, JD; Rhinehart, E; Jackson, M; Chiarello, L; HICPAC. (2006) Management of Multidrug-Resistant Organisms in Healthcare Settings, 2006. [online] EUA: Center for Disease Control and Prevention.

Acessível em: www.cdc.gov/ncidod/dhqp/ [consultado a 1 de Novembro de 2006].

~

SIEVERT, D. M. *et al.* (2002) *Staphylococcus aureus* Resistant to Vancomycin- United States, 2002. 51(26):565-67.

SOLBERG, CO. (2000) Spread of *Staphylococcus aureus* in hospitals: causes and prevention. Scand J Infect Dis; 32(6):587-95.

SOUSA, JC. (2005) Manual de Antibióticos Antibacterianos. Porto: Edições Universidade Fernando Pessoa.

SOUSA, M; Correia, B; Lencastre, H. (2008) Alterações nos padrões de frequência de recuperação de *Staphylococcus aureus* resistentes em clones Portugueses. J. Clin. Microbiol. 46(9): 2912-2917. (consultado em 8 de Maio de 2010).

STEFANI, S; Varaldo, PE. (2003) Epidemiology of methicillin-resistant staphylococci in Europe. Clin Microbiol Infect. 9(12):1179-86

STONE, PW; Clarke, SP; Cimiotti, J; Correa-de-Araujo, R. (2004) Nurses working conditions: implications for infectious disease. Emerg Infect Dis. 10(11):1984-9.

STÜRENBURG, E. (2009) Rapid detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* directly from clinical samples: methods, effectiveness and cost consideration. Germed Sci Vol7.

TRISTAN, A.; Tristan F.; Durand G.; Dauwalder O.; Bes M.; Lina G.; Vandenesch F.; Etienne J. (2007) Virulence determinants in community and hospital methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Journal of Hospital Infections 65(2):105-109.

WAGENVOORT, JHT. (2000) Dutch Measures to Control MRSA and the Expanding European Union. Eurosurveillance (2000); ([http:// www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=31](http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=31)) / (consultado a 20 julho 2010).

WALSH, C. (2000) Molecular mechanism that confer antibacterial drug resistance. Nature.406:775-781.

WENZEL, RP; Nettleman, MD; Pfaller, MA.(1991) Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: implications for the 1990s and effective control measures.

WEINSTEIN, RA. (2001) Controlling Antimicrobial Resistance in Hospitals: Infection Control and Use of Antibiotics. Emerg Infect Dis. 7:188-192.

WERTHEIM, HF; Vos, MC; Boelens, HA; Voss, A; Vandenbroucke-Grauls, CM; Meester, MH; Kluytmans, JA; Van Keulen, PH; Verbrugh, HA. (2004) Low prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) at hospital admission in the Netherlands: the value of search and destroy and restrictive antibiotic use. J Hosp Infect. 56(4):321-5.

WIDMER, AF. (2000) Replace hand washing with use of a waterless alcohol hand rub? Clin Infect Dis. 31(1):136-43.

9- ANEXOS

Testes de Metabolismo:

1-Catalase

Proclínica

Frasco de 0.25 l uso externo

Objectivo

- Diferenciação de *Staphylococcus* de *Streptococcus*

Princípio

- A catalase (formalmente denominada hidropoxidase) é uma enzima intracelular, encontrada na maioria dos organismos, que decompõe o Peróxido de Hidrogénio (H₂O₂) em água e oxigénio. Servindo essencialmente para a distinção entre *Staphylococcus* e *Streptococcus*

A enzima catalase desdobra o peróxido de hidrogénio (3%) em água e oxigénio segundo a reacção $2\text{H}_2\text{O}_2 = 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$.

Procedimento

- Com a ponta de uma ansa esterilizada ou com um palito, transferir a colónia em estudo para uma lâmina de vidro.
- Adicionar uma gota de peróxido de hidrogénio a 3% e observar imediatamente se existe ou não formação de bolhas de ar (reacção positiva).
- É possível também fazer esta prova pela ordem inversa.

Culturas com mais de 24h podem dar falsos negativos. Devido à existência de catalase nos eritrócitos, a prova deve ser interpretada com muito cuidado quando efectuada a partir de colónias retiradas de meios contendo sangue (possibilidade de falso positivo). Conservar o frasco à temperatura ambiente, evitando contaminações

2- Coagulase

Bio-Rad

PASTOREX™ STAPH-PLUS

REF 56356

Embalagem de 50 testes

Objectivo

- Identificação presuntiva de *Staphylococcus aureus*

Princípio

- A coagulase é uma enzima termoestável produzida principalmente pelas estirpes de *S. aureus*. Existem duas formas de coagulase: uma “ligada à parede celular” ou factor clumping e outra libertada pela célula bacteriana que é a “coagulase livre”.

Proteína A (Staph-plus pastorex):

- A maioria dos *S. aureus* produz proteína A que tem afinidade específica para o fragmento Fc da imunoglobulina IgG. A pesquisa de proteína A é um método alternativo ao teste coagulase em lâmina.
- Partículas de latex revestidas de plasma humano contendo imunoglobulina G e Fibrinogénio reagem quer com o factor de aglutinação (factor clumping) quer com a proteína A originando aglutinação.

Procedimento

- Deixar o reagente atingir a temperatura ambiente
- Homogeneizar o reagente de látex
- Depositar uma gota do reagente num dos círculos da cartolina de aglutinação e outra de controlo negativo noutra cartolina
- Com uma ansa retirar 1 a 3 colónias e emulsionar na gota do reagente durante 10 segundos
- Repetir o passo anterior com o controlo negativo
- Observar a existência ou não de aglutinação nos 30 segundos imediatos agitando lentamente a cartolina.

Reacção positiva

Formação de agregados visíveis somente na cúpula do reagente. (agregados de vários tamanhos com um fundo rosa mais ou menos leitoso). A aparição de uma reacção lenta e débil pode significar uma reacção inespecífica.

Reacção negativa - Não se produz agregados a suspensão fica com aspecto leitoso.

Reacção não interpretável - Aglutinação com o controlo negativo.

S. hyicus e *S. intermedius* podem dar uma reacção positiva mas são raramente isolados como agentes de infecção no ser humano.

S. saprophyticus podem dar uma reacção positiva, pelo que quando se trata de estirpe isolada de urina tem de ser identificada por outro método.

Espécies de *Micrococcus* spp., *E. coli*, *C. albicans*, *Streptococcus* spp. e *Enterococcus* spp. podem também originar aglutinação.

Algumas estirpes de *S. aureus* resistentes à metilina podem não aglutinar.

Uma vez aberta conserva-se no frigorífico de 2° a 8° C livre de contaminações até à data de validade.

Carta de identificação de bactérias Gram-Positivas

Carta GP

Biomerieux®

REF 21342

20 cartas

- Carta de identificação de Gram Positivos. Deve ser usada para a identificação automática dos microrganismos Gram positivos de maior relevância clínica.
- A carta GP baseia-se em métodos bioquímicos estabelecidos e em substratos recentemente desenvolvidos. Existem 43 testes bioquímicos que medem a utilização da fonte de carbono, a resistência e a actividade enzimática.
- Os resultados finais estão disponíveis em aproximadamente 8 horas ou menos

Cartas de sensibilidade aos antibióticos

Carta AST-P580

Biomerieux®

REF 22233

20 cartas

- Carta destinada à determinação da sensibilidade de *Staphylococcus* spp a determinados antibióticos.