



Identificação de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus aureus* resistente à metilina em estudantes universitários

Ilana Farias Ribeiro¹; Sílvia Fernandes Ribeiro da Silva^{1,2,*}; Sônia Leite da Silva²; Thyciana Rodrigues Ribeiro³; Márcia Maria Negreiros Pinto Rocha²; Ângela Maria Veras Stolp²

¹ Centro de Pesquisas em Doenças Hepato-Renais, Fortaleza, CE, Brasil.

² Universidade de Fortaleza, Centro de Ciências da Saúde, Fortaleza, CE, Brasil.

³ Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências da Saúde, Fortaleza, CE, Brasil.

RESUMO

S. aureus é um dos principais patógenos humanos, sendo resistente à metilina (MRSA) um paradigma das infecções adquiridas no ambiente hospitalar e, mais recentemente, na comunidade. O objetivo deste estudo foi identificar *S. aureus* e MRSA em estudantes universitários de Fortaleza- CE. Foram analisadas 204 amostras provenientes de 102 estudantes, sendo 102 amostras obtidas da cavidade nasal e 102 das mãos. As amostras foram semeadas em Agar de Baird Parker e, as colônias circulares, de coloração negra, rodeadas ou não de um halo opaco ou transparente foram semeadas em placas contendo Agar nutriente e em tubos contendo caldo BHI. Em seguida foram realizadas Provas de catalase, coagulase e coloração de Gram. Os MRSA foram identificados por meio do teste de sensibilidade à oxacilina e à cefoxitina. Trinta e nove (38,2%) dos 102 estudantes estavam colonizados por *S. aureus*, sendo, o nariz, o principal sítio de colonização (48,7%), seguido das mãos (15,4%). Dois (3,8%) dos 39 estudantes colonizados apresentaram cepas MRSA e foram encontradas em dois (5,1%) estudantes da área da saúde. Este estudo evidencia elevada prevalência (38,2%) de portadores são de *S. aureus* em universitários de Fortaleza-CE, sendo 5,1% portadores de MRSA. O nariz foi o principal sítio de colonização (48,7%), seguido da narina e mãos (38,5%). A maioria (71,7%) dos estudantes colonizados pertencia à área da saúde, o que reforça a importância da identificação desses portadores são que podem ser fontes de disseminação na comunidade e no meio hospitalar.

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus*. MRSA. Metilina.

INTRODUÇÃO

As infecções causadas por *S. aureus* apresentam morbidade e mortalidade elevadas, sendo responsável por 20% das infecções bacterianas humanas e por mais de 30% dos casos de infecções hospitalares, nas quais, os pacientes, funcionários e o próprio ambiente são considerados como potenciais reservatórios (Mundim et al., 2003). O *S. aureus* é considerado um dos principais patógenos humanos com capacidade de desenvolver rapidamente resistência a antibióticos, sendo o *S. aureus metilina* resistente (MRSA) um paradigma das infecções bacterianas (Gelatti et al., 2009).

Inicialmente, as infecções causadas por MRSA estavam limitadas aos hospitais, mas nos últimos anos, as infecções associadas ou adquiridas na comunidade passaram a ocorrer de forma crescente, em indivíduos saudáveis e, sem nenhum fator de risco identificável (Gelatti et al., 2009; Calffe, 2012). O tratamento empírico de uma variedade de infecções comunitárias da pele, tecidos moles e até mesmo pneumonias é realizado com antimicrobianos beta-lactâmicos, o que contribui para a seleção, disseminação e emergência de isolados de MRSA. Este dado é preocupante uma vez que pacientes infectados com MRSA apresentam probabilidade de morte até cinco vezes maior que pacientes infectados por *S. aureus metilina* sensível (Ferreira et al., 2009).

Por estarem presentes na pele e nasofaringe, torna-se difícil a erradicação de *S. aureus* dos ambientes, principalmente o hospitalar. Desta forma, somente com a prevenção e o controle da transmissão de organismos multirresistentes será possível reduzir os índices de infecções e disseminação (Cavalcanti et al., 2006; Prates et al., 2010).

Assim, diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo identificar a presença de *S. aureus* e MRSA em estudantes de uma universidade privada de Fortaleza-Ceará.

Autor correspondente: Sílvia Fernandes Ribeiro da Silva. Av. José Bastos, 3390 – Rodolfo Teófilo. Centro de Pesquisas em Doenças Hepato-Renais, Fortaleza, CE, Brasil. Email: silviafernandes@unifor.br

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostragem

Trata-se de um estudo transversal realizado com estudantes da Universidade de Fortaleza-CE, no período de agosto a dezembro de 2011.

Os estudantes foram convidados a participar do estudo, de forma aleatória, independente do curso matriculado. Foram excluídos aqueles que tinham sido hospitalizados ou realizavam estágio em ambiente hospitalar, e que fizeram uso de antimicrobianos até sete dias antes da sua inclusão no estudo ou que tinham realizado a lavagens de mãos antes da coleta das amostras.

Cento e dois estudantes, 66 (64,7%) do gênero feminino, participaram do estudo e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. Destes, 37 eram do curso de Farmácia, 17 de Odontologia, 9 de Medicina, 2 de Nutrição, 2 de Enfermagem, 1 de Terapia Ocupacional, 7 de Direito, 6 de Publicidade, 3 de Arquitetura, 2 de Jornalismo, 1 de Administração de Empresas, 1 de Psicologia e, em 14 não foi informado o curso.

O projeto do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Fortaleza sob no 09-237, tendo sido obedecidas todas as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos, estabelecidas na resolução nº 196 de 10 de outubro de 1996 do Conselho Nacional de Saúde.

Amostras estudadas

Foram analisadas 204 amostras de *swab* dos 102 universitários obtidas da cavidade nasal (narina direita) e das mãos (mão direita e esquerda).

As amostras foram coletadas com *swab* estéril e semeadas em placas com Agar de *Baird Parker* - OXOID (MERK®), meio seletivo e diferencial para *S. aureus*, e incubadas em estufa por 18-24 horas. Após o período de incubação, as placas foram analisadas e as colônias circulares com bordos inteiros, lisas, úmidas, de coloração negra, rodeadas ou não por um halo opaco e/ou halo transparente foram coletadas e semeadas em placas contendo Agar nutriente e em tubos contendo caldo BHI - *Brain Heart Infusion* (HIMEDIA®). Em seguida, as placas e os tubos foram incubados a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 18 a 24 horas.

A partir do crescimento bacteriano obtido nas placas e nos tubos, foram realizadas as provas da catalase e coagulase livre e coloração de Gram para determinação das características morfológicas e de arranjo. Cepas de *S. aureus* ATCC 25923 e *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 foram utilizadas como controle destas provas.

Deteção de MRSA e teste de sensibilidade aos antimicrobianos

A resistência das amostras de *S. aureus* isoladas foi determinada por meio do teste de sensibilidade por disco difusão (*Kirby-Bauer*) de acordo com as recomendações do CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*), utilizando-se o disco de oxacilina 1 mcg e o de cefoxitina 30 mcg (CLSI, 2006).

Com auxílio de um *swab* estéril, o inóculo a ser analisado foi semeado na superfície do Agar *Mueller-Hinton* (HIMEDIA®) e, após a secagem, os discos de oxacilina e cefoxitina foram aplicados sobre o Agar. Após incubação, entre 33 a 35°C por 16-18 para o disco da cefoxitina e 24h para o de oxacilina, os diâmetros das zonas de inibição foram medidos e comparados com os critérios interpretativos do CLSI. Foram considerados MRSA os *S. aureus* que formaram halo ≤ 10 mm com o disco da oxacilina e os que apresentaram halo ≤ 19 mm com o disco da cefoxitina (CLSI, 2006).

O perfil de sensibilidade dos MRSA a outros antimicrobianos foi realizado utilizando-se o teste por disco difusão. *S. aureus* ATCC 25923 *meticilina* sensível e ATCC 33591 *meticilina* resistente foram utilizados como controle dos testes.

Os dados coletados foram analisados de acordo com as frequências encontradas para *S. aureus*, *S. coagulase negativo* (SCN), sítio de colonização (nariz e/ou mão), MRSA pelo disco da oxacilina e cefoxitina e perfil de sensibilidade dos MRSA detectados a outros antimicrobianos, tais como ciprofloxacina, clindamicina, penicilina, tetraciclina, amoxicilina e clavulonato, sulfá/trimetoprim, cloranfenicol, gentamicina e amicacina.

RESULTADOS

Dos 102 estudantes avaliados, 39 (38,2%) apresentaram *S. aureus* e 63 (61,8%) SCN. Dos 39 estudantes com *S. aureus*, 24 (61,5%) eram do gênero feminino e 15 (38,5%) do gênero masculino.

Como mostra a figura 1, o principal sítio colonizado pelo *S. aureus* foi o nariz seguido pelas mãos. Em 35,9% dos estudantes foi encontrado *S. aureus* no nariz e nas mãos.

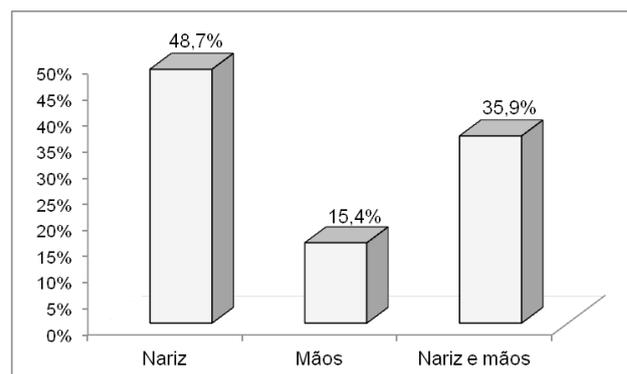


Figura 1. Distribuição de 39 universitários de Fortaleza-Ceará que apresentaram *Staphylococcus aureus*, segundo o sítio de colonização.

Dois (5,1%) dos 39 estudantes colonizados por *S. aureus* apresentaram cepas de MRSA, sendo que em um aluno o MRSA estava no nariz e no outro aluno a cepa encontrava-se nas mãos e, os dois alunos eram do curso de Farmácia. Essas cepas de MRSA foram detectadas pelo disco da cefoxitina, entretanto, uma cepa mostrou-se resistente somente ao disco da oxacilina.

Quando a análise da resistência dos MRSA foi realizada com os outros antimicrobianos testados, foi observado que as cepas apresentavam 100% de resistência à penicilina, tetraciclina, amoxicilina + clavulanato, gentamicina e ampicilina. Entretanto, a resistência à ciprofloxacina, clindamicina, sulfa-trimetoprim e ao cloranfenicol foi de 50%.

Do total de amostras analisadas (n=204), o *S. aureus* estava presente em 53 (26%) amostras e SCN em 151 (74%). A colonização por SCN foi superior à observada por *S. aureus* ($p < 0,05$), tanto no nariz (67,6% versus 32,4%, respectivamente) quanto nas mãos (80,4% versus 19,6%, respectivamente). Entretanto, a colonização do nariz por *S. aureus* foi superior àquela observada nas mãos (32,4% versus 19,6%, respectivamente, $p < 0,05$).

Das 53 amostras que apresentavam *S. aureus*, 26 (49%) eram provenientes de alunos do Curso de Farmácia, 6 (11,3%) de Odontologia, 4 (7,5%) de Medicina, 1 (1,9%) de Enfermagem, 1 (1,9%) de Nutrição, 4 (7,5%) de Direito, 2 (3,8%) de Arquitetura, 2 (3,8%) de Terapia Ocupacional e 1 (1,9%) de Psicologia. Em 6 (11,4%) amostras, o curso dos alunos não foi determinado.

DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo demonstraram uma prevalência de 38,2% de portadores sãos de *S. aureus* no meio universitário. Apesar dos nossos resultados se situarem dentro dos limites estabelecidos pela literatura, que mostra incidência entre 20% e 40%, esses estudantes exercem papel chave na epidemiologia e na patogênese da infecção, uma vez que podem ser fontes de disseminação do *S. aureus* na comunidade e no ambiente hospitalar (Pereira & Cunha, 2009; Prates et al., 2010).

O encontro de *S. aureus* somente no nariz (48,7%) e simultaneamente no nariz e nas mãos (35,9%) dos estudantes avaliados mostra em concordância com a literatura, que as narinas constituem o principal sítio de colonização do *S. aureus* (Bresolin et al., 2005; Prates et al., 2010). Sabe-se que o *S. aureus* presente na narina pode contaminar também as mãos, o que explicaria a elevada taxa (35,9%) de estudantes com esta bactéria nos dois sítios pesquisados (Pereira & Cunha, 2009). Esse fato torna-se ainda mais preocupante uma vez que a maioria (71,7%) dos estudantes colonizados pertencem à área da saúde. Diante desses achados é imperativo que se realize sistematicamente, no meio universitário, palestras informativas e de conscientização, enfatizando a importância da lavagem correta das mãos no controle da infecção adquirida na comunidade e nos hospitais.

A cepa de MRSA é considerada atualmente como um dos principais problemas de saúde pública, podendo ser encontrada em pessoas não hospitalizadas e sem fatores predisponentes a infecção (Menegotto & Picoli, 2007; Prates et al., 2010; Manfredini et al., 2011). No presente estudo, o encontro de 5,1% de estudantes colonizados com MRSA e com cepas também resistentes a outros agentes

antimicrobianos reforça o caráter emergente da cepa MRSA na comunidade. Estas cepas podem surgir em decorrência do uso empírico e indiscriminado de antimicrobianos para tratamento de infecções, favorecendo a seleção e, conseqüentemente, a sua disseminação na população (Prates et al., 2010; Manfredini et al., 2011).

A prevalência de MRSA encontrada em outros estudos brasileiros, 12,7% em Curitiba-PR e 7,1% em São Paulo-SP, foi superior àquela encontrada em nossa casuística (5,1%). Porém, estes estudos foram realizados em profissionais da área da saúde que entram em contato direto com pacientes. Esses profissionais estão sujeitos à colonização por microrganismos tipicamente hospitalares e, frequentemente, multirresistentes, colocando-os na condição de portadores, disseminadores e responsáveis por surtos de infecção hospitalar (Cruz, 2008; Moura et al., 2011).

AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório de Microbiologia da Universidade de Fortaleza por ter fornecido o material necessário para a realização deste trabalho.

ABSTRACT

Identification of Staphylococcus aureus and methicillin-resistant S. aureus in college students

***Staphylococcus aureus* is one of the commonest human pathogens and *S. aureus* resistant to methicillin (MRSA) is a paradigm of the infections acquired in hospital and, more recently, in the community. The aim of this study was to identify *S. aureus* and MRSA in college students in Fortaleza (CE, Brazil). A total of 204 samples were analyzed from 102 students, 102 of the samples being acquired from the nasal cavity and 102 from the hands. The samples were spread on *Baird Parker* Agar and the circular, black colonies, surrounded or not by an opaque or transparent halo, were used to inoculate nutrient agar plates and tubes of BHI broth. The resulting isolates were tested for catalase, coagulase and Gram staining. The MRSA were identified by testing sensitivity to oxacillin and cefoxitin. Thirty-nine (38.2%) of the 102 college students were colonized by *S. aureus*, the nasal cavity being the main colonization site (48.7%), followed by the hands (15.4%). Two (5.1%) of the 39 colonized students carried MRSA strains and both were students from the area of pharmacy. This study showed a high prevalence of *S. aureus* carriers (38.2%) among college students in Fortaleza-CE, 5.1% of them being MRSA carriers. The nasal cavity was the main site of colonization (48.7%), followed by the hands (38.5%). The majority (71.7%) of the colonized students studied in the health area, which reinforces the importance of identifying these unaware carriers who might be sources of dissemination in the community and in hospitals.**

Keywords: *Staphylococcus aureus*. MRSA. Methicillin

REFERÊNCIAS

- Bresolin BMZ, Dall’Stella JK, Fontoura-da-Silva SE. Pesquisa sobre a bactéria *Staphylococcus aureus* na mucosa nasal e mãos de manipuladores de alimentos em Curitiba/Paraná/Brasil. *Estud Biol.* 2005;27(59):27-32.
- Calfee DP. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant enterococci, and other Gram-positives in healthcare. *Curr Opin Infect Dis.* 2012;25(4):385-94.
- Cavalcanti SMM, França ER, Vilela MA, Montenegro F, Cabral C, Medeiros ACR. Estudo comparativo da prevalência de *Staphylococcus aureus* importado para as unidades de terapia intensiva de hospital universitário, Pernambuco, Brasil. *Rev Bras Epidemiol.* 2006;9(4):436-46.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Sixteenth Informational Supplement. CLSI Publication M100-S16. Wayne, PA: CLSI; 2006.*
- Cruz EDA. *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus* resistente à *meticilina* em trabalhadores de um hospital universitário: colonização e crenças em saúde. [Tese]. Ribeirão Preto (SP): Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo; 2008.
- Ferreira WA, Vasconcelos WS, Ferreira CM, Silva MFP, Gomes JS, Alecrim MGC. Prevalência de *Staphylococcus aureus* *meticilina* resistente (MRSA) em pacientes atendidos em ambulatório de dermatologia geral em Manaus-Amazonas. *Rev Patol Trop.* 2009;38(2):83-92.
- Gelatti LC, Bonamigo RR, Becker AP, Azevedo PA. *Staphylococcus aureus* resistentes à *meticilina*: disseminação emergente na comunidade. *An Bras Dermatol.* 2009;84(5):501-6.
- Menegotto FR, Picoli SU. *Staphylococcus aureus* oxacilina resistente (MRSA): incidência de cepas adquiridas na comunidade (CA-MRSA) e importância da pesquisa e descolonização em hospital. *Rev Bras Anal Clin.* 2007;39(2):147-150.
- Manfredini C, Picoli SU, Becker AP. Comparação de métodos na determinação de sensibilidade à vancomicina em *Staphylococcus aureus* resistentes à *meticilina*. *J Bras Patol Med Lab.* 2011;47(2):141-5.
- Moura JP, Pimenta FC, Hayashida M, Cruz EDA, Canini SRMS, Gir E. A colonização dos profissionais de enfermagem por *Staphylococcus aureus*. *Rev Latino-Am Enfermagem.* 2011;19(2):1-7.
- Mundim GJ, Dezena RA, Oliveira ACS, Silva PR, Cardoso M, Pereira GA, Morais CA, Terra APS. Avaliação da presença de *Staphylococcus aureus* nos leitos do Centro de Terapia Intensiva do Hospital Escola da Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro, em relação à posição no colchão antes e após a limpeza. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2003;36(6):685-8.
- Pereira EPL, Cunha MLRS. Avaliação da colonização nasal por *Staphylococcus* spp. resistente à oxacilina em alunos de enfermagem. *J Bras Patol Med Lab.* 2009;45(5):361-9.
- Prates KA, Torres AM, Garcia LB, Ogatta SFY, Cardoso CL, Tognim MCB. Nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in university students. *Braz J Infect Dis.* 2010;14(3):316-8.

Recebido em 26 de dezembro de 2012.

Aceito em 03 de abril de 2013.