

Incidência e determinação do perfil de sensibilidade de cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas da microbiota natural das fossas nasais e orofaringe de acadêmicos do curso de Enfermagem

Incidence and antimicrobial susceptibility of Staphylococcus aureus strains isolated from nasal and oral carriers, in student's nursing

Luciana Furlaneto*
Silvio Krol Sobrinho**
Lediane Zaniboni**
Célia Terezinha Perin**
Eliana Silveira Hernandez**
Marcelo Tempesta de Oliveira***

Resumo

Introdução – *Staphylococcus aureus* é um dos principais patógenos hospitalares e a resistência desses microrganismos contribui para a sua habilidade em disseminar-se entre os pacientes. A emergência e a disseminação de microrganismos resistentes aos antibióticos no âmbito hospitalar tem se tornado cada vez mais um problema grave e mundial para a Saúde Pública. O objetivo deste trabalho foi avaliar a frequência de isolamento de *S. aureus* de mucosa nasal e oral de alunos do curso de Enfermagem, bem como determinar o perfil de sensibilidade deste microrganismo. **Métodos** – Foi utilizado swab, sendo friccionado nas mucosas nasal e oral de 55 alunos do 4º ano do curso de Enfermagem, e posterior inóculo em agar manitol salgado. As colônias suspeitas foram identificadas através de reação morfotintorial e dos teste de catalase, coagulase, acetoina e DNase. Das 105 amostras obtidas de swab nasal e oral, 58% apresentaram-se positivas para presença de *S. aureus*, sendo que 20% apresentaram-se na região orofaríngea, 55% na mucosa nasal e 25% em ambos sítios anatômicos. **Resultados** – No teste de sensibilidade microbiana, 93,3% apresentaram sensibilidade aos antibióticos testados, 6,6% das amostras apresentaram resistência para sulfonamida, e 1,7% para eritromicina e cloranfenicol. **Conclusão** – Estes dados ressaltam a importância do estudo de distribuição de *S.aureus*, bem como determinar a sensibilidade/resistência a antibióticos, em profissionais da área de Saúde.

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus* – Testes de sensibilidade microbiana – Cavidade nasal, microbiologia – Faringe, microbiologia – Estudantes de Enfermagem

Abstract

Introduction – *Staphylococcus aureus* is a very important hospital pathogen and its resistance to antibiotics is associated to several nosocomial infection. The emergence and dissemination of resistant microorganisms have become a serious problem to the public health. This study aimed the analysis of *S. aureus* from nasal and oral cavities of nurse's students and the sensitive profile of the isolates to different antimicrobial agents. **Methods** – It were utilized samples of nasal and oral flora from 55 individuals were swabbed with a sterile swab and inoculated on mannitol salt agar. All samples were identified using biochemical characteristics for the species identification, i.e. Gram, catalase, coagulase and DNase. *S. aureus* was found in 58% of the carriers, being 20% of oral carriers, 55% of nasal carriers and 25% from nasal and oral carriers. **Results** – Some 93.3% of all 105 strains showed sensitivity to the antimicrobial agents; 6.6% showed resistance to sulfonamide, and 1.7% showed resistance to erythromycin and chloramphenicol agents. **Conclusion** – This dates were important for our purpose, showed the distribution of *S.aureus* and the correlation with sensibility and resistance to drugs in mucosa carriers student's nursing.

Key words: *Staphylococcus aureus* – Microbial sensitivity tests – Nasal cavity, microbiology – Pharynx, microbiology – Students, nursing

Introdução

Staphylococcus aureus é o patógeno de maior significado clínico para o homem, dentre as outras espécies do gênero. Segundo o manual Bergey's (1994) são co-

nhecidas mais de 30 espécies de *Staphylococcus* que apresentam etiologia diferenciada e exigências terapêuticas específicas. *S. aureus* encontra-se em uma grande variedade de habitats e frequentemente faz parte da microbiota natural do homem, principalmente das muco-

* Microbiologista e Docente do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Norte do Paraná (UNOPAR). E-mail: lfmaia@sercomtel.com.br

** Acadêmica do Curso de Enfermagem da UNOPAR.

*** Acadêmico do Curso de Farmácia da UNOPAR.

nasal e oral, glândulas mamárias, intestino, trato genitourinário, e da pele do perineo, vagina e mãos (Kloss e Banner⁷, 1999; Sandel e McKillip¹⁵, 2004). *S. aureus* é considerado um microrganismo comensal, contudo pode causar sérias infecções em condições apropriadas. Estas condições incluem injúrias da pele, presença de sondas e cateter, presença de outros patógenos e infecções crônicas (Halpin-Dohnalek e Marth⁴, 1989). Nestas condições, este patógeno pode causar diversas lesões de pele e infecções sistêmicas (Jablonski e Bohach⁶, 2001), incluindo infecções em tecidos moles, endocardite, bacteremia com formação de abscessos metastáticos, gastroenterite, síndrome da pele escaldada, síndrome do choque tóxico (Marrack e Kappler¹¹, 1990), além de osteomielite, flebites, mastites e meningites (Silva¹⁶, 1999).

Além de todas as síndromes que *S. aureus* pode causar, as cepas hospitalares são freqüentemente resistentes a vários antibióticos. A resistência a meticilina ou a oxacilina tem sido utilizada como um marcador para o reconhecimento de cepas com resistência a múltiplas drogas, sendo estas cepas denominadas de MARSAs (*S. aureus* resistente a meticilina) (Parker e Hewitt¹³, 2000).

S. aureus pode produzir diversas exoenzimas que contribuem para sua virulência. Por exemplo, a produção de catalase, cuja função é inativar o peróxido de hidrogênio e radicais livres formados pelas células fagocíticas (Kloss e Banner⁷, 1999). A enzima coagulase e a proteína A, ambas presentes no envólucro celular deste microrganismo, podem impedir a eposonização e fagocitose pela célula hospedeira (Dinges *et al.*³, 2000). Termolucase, hialuronidase, lipases e hemolisinas também contribuem como fatores de virulência, sendo responsáveis pela hidrólise do DNA e RNA, degradação da matrix intercelular, atividade fosfolipásica e hemólise das células sanguíneas, respectivamente (Betley *et al.*², 1992), contribuindo para a invasão e destruição tecidual pelo microrganismo.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a incidência e determinação de sensibilidade a antibiótico de amostras *S. aureus* isolados de alunos do último ano do curso de Enfermagem.

Métodos

População estudada

A população estudada compreendeu 55 alunos do 4º ano do Curso de Enfermagem, que atuam ou não na área. Os alunos foram esclarecidos dos objetivos do trabalho e assinaram um Termo de Consentimento dos resultados obtidos.

Coleta e semeadura das amostras

Foram coletadas 105 amostras, com auxílio de zaragatoa estéril, sendo que 50 eram das fossas nasais e 55 da cavidade oral. As coletas foram realizadas no laboratório de microbiologia da Universidade Norte do Paraná – UNOPAR. O isolamento bacteriano foi realizado se-

gundo Silva¹⁶ (1999). O material proveniente do swab foi transferido para placas contendo meio de cultura Agar Manitol Hipertônico (AMH), sendo as placas incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 48 horas.

Identificação e confirmação de *Staphylococcus aureus*

As colônias com características de *S. aureus* crescidas em AMH, foram submetidas a análise morfotintorial. Após a análise microscópica, as colônias foram submetidas às provas bioquímicas de catalase, coagulase, acetoina e DNase, segundo Holt⁵ (1994) e Koneman⁹ (2001).

Determinação do perfil de sensibilidade bacteriana

Os testes de sensibilidade de *S. aureus* foram realizados utilizando o método de difusão em agar Mueller Hinton (Silva¹⁶, 1999). Foram utilizados os seguintes antibióticos: vancomicina (30 µg), penicilina G (10 UI), clindamicina (2 µg), cloranfenicol (30 µg), gentamicina (10 µg), eritromicina (15 µg) e sulfonamida (300 µg).

Resultados e Discussão

Os resultados obtidos neste experimento estão representados na Tabela 1. Os testes bioquímicos de identificação e a reação morfotintorial revelaram que dos 55 alunos analisados, perfazendo um total de 105 amostras, 32 (58%) eram portadores de *S. aureus*, e 13 (24%) de outras espécies de *Staphylococcus*. Cinco alunos não permitiram a coleta de amostras provenientes da mucosa nasal. O isolamento dos sítios anatômicos mostraram que do total de *S. aureus* isolados, 55% eram das fossas nasais e 20% da cavidade oral, e 25% eram concomitantemente de ambos os sítios anatômicos.

Tabela 1. Freqüência de portadores nasais e orais *S. aureus* em alunos do 4º ano do curso de Enfermagem

Alunos portadores de <i>S. aureus</i>	Isolados por nicho anatômico analisado		
	OR	FN	OR/NA
32/55 (58%)	12/60 (20%)	33/60 (55%)	15/60 (25%)

FN – fossas nasais
OR – orofaringe

Todas as amostras isoladas e identificadas como *S. aureus* apresentaram resultado positivo para as provas bioquímicas de coagulase, catalase, DNase e acetoina. Embora neste trabalho tenham sido utilizadas técnicas clássicas de isolamento, identificação e perfil de resistência de *S. aureus*, pode-se empregar técnicas moleculares para determinação destas propriedades, com maior rapidez nos resultados (Silva¹⁶, 1999; Tenover¹⁸, 1994). Tanaka *et al.*¹⁷ (2001) também utilizaram provas bioquímicas clássicas para a caracterização de cepas de *S. aureus* isoladas da microbiota natural.

Com relação a incidência de *S. aureus*, como microbiota natural, vários fatores podem interferir na popula-

ção de estudo, contudo, nenhum dos alunos que serviram de doadores apresentaram ferimentos nos sítios anatômicos analisados. Fatores intrínsecos e extrínsecos, como idade, sexo, uso de drogas lícitas e ambiente de trabalho, podem interferir nos resultados de isolamento deste microrganismo (Kluytmans *et al.*⁸ 1997).

Os resultados obtidos neste trabalho indicam uma prevalência maior (58%) quando comparado com os obtidos por Alves¹ (2001), que relataram uma prevalência de 36% de portadores de *S. aureus* na comunidade universitária. Tanaka *et al.*¹⁷ (2001) observaram uma prevalência de 44,13% entre os funcionários de um hospital.

Estudos realizados por Kluytmans *et al.*⁸ (1997) demonstraram que 75,5 % dos portadores de *S. aureus*, albergam a bactéria nas fossas nasais, o que vem corroborar com este estudo em que apresentou uma prevalência maior desta bactéria nas fossas nasais quando comparado com os isolados da orofaringe.

Kooistra-Smid *et al.*¹⁰ (2004) relataram que 35% dos pacientes admitidos durante cinco dias de internação, foram colonizados por cepas de *S. aureus*, sendo que a maior taxa de colonização se deu na mucosa nasal. Em análises de genotipagem ficou identificado que as cepas colonizadoras dos pacientes foram provenientes dos membros do hospital.

Vários autores tem relatado a presença de *S. aureus* em pacientes hospitalizados, e apresentando resistência ao antibiótico metililina. Uemura *et al.*¹⁹ (2003) identificaram a incidência de 51% desse microrganismo isolados de mucosa nasal e oral, sendo que 7 amostras apresentaram resistência a metililina. Mendelsen *et al.*¹² (2003) relataram a incidência de 27% de isolamento em pacientes acima de 80 anos de idade, sendo que 27% das amostras apresentaram resistência a este antibiótico, e Porter *et al.*¹⁴ (2003) relataram a presença de 22% de amostras resistentes a metililina, isoladas de diversos sítios anatômicos.

A população alvo deste estudo foram alunos que estavam cursando o último ano do curso de Enfermagem, e portanto, estavam tendo maior contato com o ambiente hospitalar, bem como pacientes portadores de diversas enfermidades. Muitos das amostras analisadas pertenciam aos estudantes que também exerciam alguma atividade no ambiente hospitalar, como técnicos e auxiliares de enfermagem (dados não apresentados).

Médicos, enfermeiros e outros membros que compõem a equipe de saúde, podem apresentar-se como reservatórios das cepas de *S. aureus*.

Os resultados do perfil de sensibilidade aos antimicrobianos estão representados na Tabela 2. Das 60 amostras de *S. aureus* isoladas, 93,3% apresentaram sensibilidade aos antibióticos testados. Apenas 10% do total de amostras analisadas apresentaram resistência a

pelo menos um dos antibióticos testados, e nenhuma amostra apresentou multirresistência. Quatro amostras (6,6%) de *S. aureus* apresentaram resistência para sulfonamida, 1 (1,7%) amostra para eritromicina e 1 (1,7%) para cloranfenicol. Embora parte das amostras apresentaram-se sensíveis aos antibióticos testados, estes microrganismos podem trocar genes de resistência entre as células, podendo tornar-se multirresistentes.

Tabela 2. Teste de sensibilidade das amostras isoladas de *S. aureus* de acordo com o nicho anatômico

Antibiótico	Sensibilidade	Resistência	Nicho anatômico
Vancomicina (30 µg)	60/60 (100%)	0/60 (0%)	-
Penicilina G (10 UI)	60/60 (100%)	0/60 (0%)	-
Clindamicina (2 µg)	59/60 (98,3%)	1/60 (1,7%)	FN
Cloranfenicol (30 µg)	60/60 (100%)	0/60 (0%)	-
Gentamicina (10 µg)	60/60 (100%)	0/60 (0%)	-
Eritromicina (15 µg)	59/60 (98,3%)	1/60 (1,7%)	FN
Sulfonamida (300 µg)	56/60 (93,3%)	4/60 (6,6%)	FN/OR

FN – fossas nasais

OR – orofaringe

Em um estudo realizado por Tanaka *et al.*¹⁷ (2001) revelaram que 85,7% de *S. aureus*, isolados de microbiota natural, apresentaram resistência a 7 antibióticos testados.

Embora cepas de *S. aureus* sejam produtoras de beta-lactamases, nenhuma das amostras testadas neste estudo apresentaram resistência a penicilina ou vancomicina.

O uso indiscriminado e desinformado de antibióticos podem induzir a seleção de cepas de *S. aureus* resistentes, entre portadores são. Este fenômeno foi observado após a utilização de penicilinas nos tratamentos de infecções causadas por *S. aureus*, sendo que há cerca de 70%, chegando a 100% de cepas resistentes a este antibiótico (Kluytmans *et al.*⁸ 1997).

Estes resultados sugerem que a flora estafilocócica presente no homem, requer atenção, pois podem estar diretamente relacionadas a casos de infecções graves e nosocomiais.

Conclusão

Os dados obtidos neste trabalho corroboram com a literatura, ressaltando a preocupação e importância de investigações em relação a presença de *S. aureus* em agentes de saúde, bem como determinar a sensibilidade/resistência destes a antibióticos, a fim de minimizar possíveis surtos de infecções nosocomiais.

Referências

1. Alves SMC. *Estudo da prevalência de portadores nasais de Staphylococcus aureus meticilina resistente (MRSA) na comunidade, sem fatores de risco predisponente*. [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual de Campinas; 2001.
2. Betley MJ, Borst DW, Regassa LB. Staphylococcal enterotoxins toxic shock syndrome toxin and streptococcal pyrogenic exotoxins: a comparative study of their molecular biology. *Chem Immunol* 1992; 55:1-35.
3. Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Rev* 2000; 13(1):16-34.
4. Halpin-Dohnalek MI, Marth EH. *Staphylococcus aureus*: production of extracellular products and behavior in foods: a review. *J Food Prot* 1989; 4:267-82.
5. Holt JG. *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 9th ed. Baltimore: Williams; 1994. 787p.
6. Jablonski LM, Bohach, G. *Staphylococcus aureus*. *Food Microbiol* 2001; 411-34.
7. Kloos W, Banner T. *Staphylococcus and Micrococcus*. In: Murray PR, editor. *Manual of clinical microbiology*. 7th ed. Washington: ASM Press; 1999. p. 264-71.
8. Kluytmans J, Belkum A, Verbrugh H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms and associated risks. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10(3):505-20.
9. Koneman EW. *Diagnostico microbiológico: texto e atlas colorido*. Rio de Janeiro: Medsi; 2001. 1465p.
10. Kooistra-Smid M, Dijk SV, Beerthuisen G, Vogels W, Zwet TV, Belkum AV *et al*. Molecular epidemiology of *Staphylococcus aureus*, colonization in a burn center. *Burns* 2004; 30(1):27-33.
11. Marrack P, Kappler J. The staphylococcal enterotoxins and their relatives. *Science* 1990; 248 (495): 705-11.
12. Mendelson G, Yearmack Y, Granot E, Ben-Israel J, Colodner R, Raz R. *Staphylococcus aureus* carrier state among elderly residents of a long-term care facility. *J Am Med Dir Assoc* 2003; 4(3):125-7.
13. Parker MT, Hewitt JH. Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Lancet* 1970; 1 (7651): 800-4.
14. Porter R, Subramani K, Thomas AN, Chadwick P. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* on admission to intensive care: incidence and prognostic significance. *Intensive Care Med*. 2003; 29 (4):655-8.
15. Sandel MK, Mackillip JL. Virulence and recovery of *Staphylococcus aureus* relevant to the food industry using improvements on traditional approaches. *Food Control* 2004; 15:5-10.
16. Silva CHPM. *Bacteriologia: um texto ilustrado*. Teresópolis: Eventos; 1999. 531p.
17. Tanaka AY, Anno IS, Date SLK, Mamizuka EM, Leite CQF. Ocorrência e determinação do perfil de sensibilidade às drogas das cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas de fossas nasais e orofaringe dos servidores hospitalares. *Rev Ciênc Farm* 2001; 22(2):201-9.
18. Tenover FC. Comparison of traditional and molecular methods of typing isolates of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 1994; 32(2):407-15.
19. Uemura E, Higa N, Kakinohana S, Toma C, Nakasone N. Comparative characterization of *Staphylococcus aureus* isolates from throats and noses of healthy volunteers. *Jpn J Infect Dis* 2004; 57 (1): 21-4.

Recebido em 13/7/2004

Aceito em 16/9/2004