



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
EGAS MONIZ**

**MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**PESQUISA DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE À  
METICILINA (MRSA) EM FARMÁCIAS COMUNITÁRIAS DA  
REGIÃO DE LISBOA: UMA POSSÍVEL VIA DE TRANSMISSÃO  
NA COMUNIDADE?**

Trabalho submetido por  
**Vanessa Ramos Castanheira**  
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

**Novembro de 2016**





**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
EGAS MONIZ**

**MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**PESQUISA DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE À  
METICILINA (MRSA) EM FARMÁCIAS COMUNITÁRIAS DA  
REGIÃO DE LISBOA: UMA POSSÍVEL VIA DE TRANSMISSÃO  
NA COMUNIDADE?**

Trabalho submetido por  
**Vanessa Ramos Castanheira**  
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por  
**Prof. Doutora Patrícia Cavaco Silva**

**Novembro de 2016**



## **Agradecimentos**

Ao Prof. Doutor Manuel Jorge de Queiroz Medeiros e ao Professor Doutor José Martins dos Santos, representantes desta instituição, agradeço por todo o trabalho e empenho demonstrado em manter um ensino de qualidade para os alunos desta academia.

À Prof. Doutora Patrícia Cavaco Silva agradeço por toda a sua disponibilidade e atenção despendida em todos os momentos que precisei e pelo seu apoio incansável e determinante para que tudo se tornasse possível. O meu sincero obrigado por me ter ajudado, apoiado e me ter dado a atenção necessária para concretizar esta etapa importante do meu percurso académico, com o devido sucesso. Agradeço-lhe por me ter deixado aprender consigo, pois representa um verdadeiro exemplo a seguir, por todo o seu empenho no dia-a-dia, pela sua excelente carreira profissional e conhecimento inesgotável.

À Prof. Doutora Helena Barroso, à Prof. Doutora Filipa Alves da Costa, ao Prof. Luís Proença e ao Mestre João Aguiar agradeço por me terem ajudado, aconselhado e por todo o interesse que demonstraram em me acompanhar ao longo deste estudo.

À Susana, Natacha, Florinda, Filomena e Sandra agradeço por me terem recebido e acompanhado ao longo deste período e sempre se mostrarem disponíveis para me ajudar.

Aos meus pais, irmão e restantes familiares agradeço por me terem incentivado, apoiado nas minhas decisões e estarem sempre presentes em todos os momentos importantes.

Aos meus grandes amigos, Zé Maria d'Orey Branco, Constança Lino e Catarina Paes de Vasconcelos, agradeço por toda a motivação, mas também pelos momentos divertidos proporcionados para esporecer desta fase mais trabalhosa.

Aos meus amigos, Joana Agostinho, Ricardo Mendes, Margarida Guerreiro, Lúcia Mesquita, Inês Santos e André Reis agradeço a vossa amizade, paciência e apoio que foram essenciais para completar mais uma etapa da minha vida.

Ao Diogo Torres Campos agradeço por suportar todos os meus devaneios e receios, sem nunca duvidar das minhas capacidades, por estar sempre ao meu lado quando mais preciso, mas também por toda a paciência e ajuda, principalmente, nesta fase final.



## Resumo

**Enquadramento:** Nos últimos anos tem-se observado um aumento significativo de infeções por bactérias multirresistentes tornando-se um grave problema de saúde à escala mundial.

**Objetivos:** Este estudo foi realizado no âmbito da unidade curricular Estágio tendo como objetivos: 1) estudar a prevalência de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) numa amostra de farmácias comunitárias dos concelhos de Cascais e Oeiras; 2) avaliar possíveis fatores favorecedores de contaminação das farmácias por MRSA; e 3) indicar medidas de limpeza/desinfecção a serem aplicadas para controlo da disseminação desta bactéria.

**Métodos:** Para a pesquisa de MRSA foram recolhidas 300 amostras, entre Maio e Julho de 2016, provenientes de balcões de atendimento de farmácias comunitárias. Como métodos de identificação foram utilizados o método de deteção de MRSA com agar cromogénico – teste rápido de rastreio, com confirmação pelo teste de *screening* em gelose de Mueller-Hinton com oxacilina.

**Resultados:** Nas 50 farmácias em estudo, 30% apresentaram, pelo menos, um resultado positivo para a presença de MRSA nos balcões de atendimento. Em relação aos possíveis fatores associados, observou-se que: 1) 42,9% das farmácias que estavam próximas a unidades com internamento (UI) estavam contaminadas por MRSA; 2) farmácias com uma maior afluência apresentaram valores ligeiramente mais elevados de contaminação (45,5%); 3) farmácias que não realizam a limpeza/desinfecção diariamente, apresentaram 40% de contaminação por MRSA, e 4) a contratação de empresas especializadas de limpeza está relacionada com uma menor contaminação por MRSA, indicando que as empresas asseguram uma limpeza mais eficaz e profissional (9,1%).

**Conclusão:** Nos últimos tempos, a prevalência de MRSA tem vindo a diminuir; no entanto, de acordo com o ECDC, Portugal continua a ser um dos países com maior taxa de prevalência de MRSA na Europa, sendo importante realizar-se uma monitorização e identificação destas estirpes a nível hospitalar e na comunidade. As farmácias como importantes unidades de saúde, podem ser uma potencial fonte de contaminação de MRSA. É importante que a sua limpeza seja eficaz de modo a controlar possíveis fontes de infeção, e reduzir a propagação de bactérias multirresistentes entre os doentes que a elas recorrem diariamente.

**Palavras-chave:** MRSA, farmácia, contaminação, transmissão



## **Abstract**

**Background:** In the past few years we have observed a significant increase of infections caused by multi-resistant bacteria, which has become a serious health problem worldwide. The inadequate consumption of antimicrobials and long stays in hospital have increased the development and appearance of infections caused by these type of bacteria.

**Objectives:** This study was realized as part of the curricular unit Internship, aiming at: 1) study the prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in a sample of community pharmacies in the counties of Cascais and Oeiras; 2) to evaluate possible factors facilitating the contamination of these pharmacies by MRSA and 3) to indicate cleaning/disinfection measures to control MRSA dissemination.

**Methods:** Between May and July 2016, 300 samples were collected from pharmacy counters in the aforementioned pharmacies to investigate the presence of MRSA. MRSA detection/identification methods included: chromogenic agar – rapid screening test, confirmed by the screening test using agar Mueller-Hinton with oxacillin.

**Results:** In the 50 studied pharmacies, 30% revealed at least one positive result for the presence of MRSA in the pharmacy counters. In regards to the possible factors that may be associated this situation it was observed that: 1) 42,9% close to inpatient care units were contaminated with MRSA; 2) pharmacies with greater affluence showed slightly higher levels of contamination; 3) pharmacies that did not have daily cleaning showed 40% of MRSA contamination; and 4) pharmacies with companies providing specialised cleaning services were associated with a reduced MRSA contamination, thus revealing that these companies ensure a more efficient and professional cleaning (9,1%).

**Conclusion:** Lately, MRSA prevalence has decreased, however, according to European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), Portugal remains one of the countries with greater MRSA rate in Europe, therefore, it is important to monitor and identify these bacterial strains both in hospital and community settings. Pharmacies, as important health care facilities, may be considered as potential contamination sources of MRSA. Cleaning must be efficient in order to control possible infection sources, and to reduce the spread of multi-resistant bacteria among patients that resort daily to pharmacies.

**Keywords:** MRSA, pharmacy, contamination, transmission



## Índice Geral

|   |           |
|---|-----------|
| Índice de Figuras .....   | 7         |
| Índice de Tabelas .....   | 9         |
| Lista de Abreviaturas.....  | 11        |
| <b>1. Introdução .....</b>  | <b>13</b> |
| 1.1. <i>Staphylococcus aureus</i> .....                                 | 13        |
| 1.1.1. Colonização .....  | 14        |
| 1.1.2. Fatores de virulência.....                                       | 15        |
| 1.1.3. Infecções provocadas por <i>S. aureus</i> .....                  | 18        |
| 1.1.4. Mecanismos de resistência aos antibióticos .....                 | 21        |
| 1.1.4.1. Resistência à penicilina .....                                 | 21        |
| 1.1.4.2. Resistência à meticilina .....                                 | 22        |
| 1.1.4.3. Resistência à vancomicina.....                                 | 24        |
| 1.2. <i>Staphylococcus aureus</i> resistentes à meticilina (MRSA) ..... | 25        |
| 1.2.1. MRSA adquiridos a nível hospitalar (HA-MRSA) .....               | 26        |
| 1.2.2. MRSA adquiridos na comunidade (CA-MRSA).....                     | 28        |
| 1.2.3. Prevalência de MRSA.....   | 30        |
| 1.2.4. Prevenção e controlo da colonização e infeção por MRSA .....     | 32        |
| 1.2.5. Terapêutica antibiótica.....                                     | 34        |
| 1.3. Detecção e identificação laboratorial de MRSA .....                | 38        |
| <b>2. Objetivos do estudo.....</b>                                      | <b>41</b> |
| <b>3. Materiais e Métodos.....</b>                                      | <b>43</b> |
| 3.1. Desenho do estudo .....  | 43        |
| 3.2. População e Amostra .....  | 44        |
| 3.3. Recolha de informação .....  | 45        |
| 3.3.1. Questionário.....  | 45        |
| 3.4. Análise da amostra.....  | 45        |
| 3.4.1. Controlo de qualidade.....                                       | 45        |
| 3.4.2. Métodos de pesquisa de MRSA.....                                 | 46        |
| 3.4.2.1. Método de recolha das amostras dos balcões das farmácias ..... | 46        |
| 3.4.2.2. Método de controlo da recolha das amostras.....                | 46        |
| 3.4.2.3. Método de deteção de <i>S. aureus</i> .....                    | 46        |
| 3.4.2.4. Método de deteção de MRSA – teste rápido de rastreio .....     | 46        |

|   |           |
|---|-----------|
| 3.4.2.5. Métodos confirmatórios.....  | 47        |
| 3.4.3. Resumo do procedimento laboratorial.....                               | 48        |
| 3.5. Ética e Confidencialidade .....  | 49        |
| 3.6. Análise estatística .....  | 49        |
| <b>4. Resultados e Discussão .....</b>  | <b>51</b> |
| 4.1. Caracterização das farmácias comunitárias.....                           | 51        |
| 4.2. Estudo da prevalência de MRSA nas farmácias comunitárias aderentes ..... | 51        |
| 4.2.1. Proximidade a unidades com internamento (UI).....                      | 52        |
| 4.2.2. Afluência média diária das farmácias.....                              | 53        |
| 4.2.3. Frequência de limpeza das farmácias .....                              | 55        |
| 4.2.4. Contratação de uma empresa especializada de limpeza .....              | 56        |
| <b>5. Conclusão.....</b>  | <b>57</b> |
| Bibliografia.....   | 59        |
| Anexo I – Algoritmo clínico   |           |
| Anexo II – Questionário   |           |
| Anexo III – Declaração de Consentimento Informado                             |           |
| Anexo IV – Boletim de Análise   |           |

## Índice de Figuras

|  |    |
|--|----|
| <u>Figura 1</u> : Percentagem de colonização por <i>S. aureus</i> em diferentes locais do organismo .....    | 14 |
| <u>Figura 2</u> : Fatores de virulência de <i>S. aureus</i> .....  | 16 |
| <u>Figura 3</u> : Evolução da resistência antibiótica em <i>S. aureus</i> .....                              | 21 |
| <u>Figura 4</u> : Mecanismo de ação da PBP2a .....   | 23 |
| <u>Figura 5</u> : Prevalência de HA-MRSA no mundo.....   | 27 |
| <u>Figura 6</u> : Propagação global de CA-MRSA .....   | 29 |
| <u>Figura 7</u> : Disseminação global dos clones do CA-MRSA .....  | 30 |
| <u>Figura 8</u> : Número total de isolados de <i>S. aureus</i> e MRSA entre 2004 – 2014, na Europa .....     | 31 |
| <u>Figura 9</u> : Distribuição de MRSA na Europa em 2014 .....   | 32 |
| <u>Figura 10</u> : Esquema representativo das recolhas realizadas nas farmácias comunitárias analisadas..... | 43 |
| <u>Figura 11</u> : Distribuição geográfica das farmácias analisadas.....                                     | 44 |
| <u>Figura 12</u> : Esquema do procedimento laboratorial.....   | 48 |
| <u>Figura 13</u> : Contaminação por MRSA vs proximidade a UI.....  | 52 |
| <u>Figura 14</u> : Contaminação por MRSA vs afluência das farmácias.....                                     | 54 |
| <u>Figura 15</u> : Contaminação por MRSA vs frequência de limpeza.....                                       | 55 |
| <u>Figura 16</u> : Contaminação por MRSA vs contratação de empresa especializada de limpeza .....            | 56 |



## **Índice de Tabelas**

|  |    |
|--|----|
| <u>Tabela 1</u> : Resumo de conselhos para os indivíduos não hospitalizados afetados por MRSA..... | 34 |
| <u>Tabela 2</u> : Terapêutica empírica para a suspeita de infeções provocadas por MRSA.....        | 35 |
| <u>Tabela 3</u> : <i>Guidelines</i> da IDSA para o tratamento de infeções provocadas por MRSA..    | 36 |
| <u>Tabela 4</u> : Controlos de qualidade utilizados na análise.....                                | 45 |
| <u>Tabela 5</u> : Caracterização das farmácias analisadas .....                                    | 51 |
| <u>Tabela 6</u> : Caracterização da afluência das farmácias analisadas.....                        | 53 |



## Lista de Abreviaturas

ACME – *Arginine Catabolic Mobile Element*

BID – Duas vezes por dia

CA-MRSA – MRSA adquiridos na comunidade

CDC – *Centers for Disease Control and Prevention*

CLSI – *Clinical and Laboratory Standards Institute*

DGS – Direção-Geral de Saúde

ECDC – *European Centre for Disease Prevention and Control*

EMA – *European Medicines Agency*

EUA – Estados Unidos da América

F2F – *face-to-face*

FDA – *Food and Drug Administration*

HA-MRSA – MRSA adquiridos a nível hospitalar

IDSA – *Infectious Diseases Society of America*

ITU – Infecções do trato urinário

IV – Intravenoso

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MRSA – *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina

MSCRAMM – *Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules*

MSSA – *S. aureus* sensíveis à meticilina

NA – Não se aplica

OMS – Organização Mundial de Saúde

PBP – Proteínas de ligação às penicilinas

PO – Via oral

PRP – Penicilinas resistentes à penicilinasas

PVL – *Panton Valentine Leukocodin*

QD – Uma vez por dia

QID – Quatro vezes ao dia

SCCmec – *Staphylococcal Cassette Chromosome mec*

SCV – *Small-Colony Variants*

SFE – Soro fisiológico estéril

TID – Três vezes por dia

TSA – *Trypticase soy agar*

TSB – *Trypticase soy broth*

TSST-1 – Toxina associada à síndrome do choque tóxico

UCI – Unidades de Cuidados Intensivos

UE – União Europeia

UI – Unidades com internamento

VIH – Vírus da Imunodeficiência Humana

VISA – *S. aureus* com resistência intermédia à vancomicina

VRSA – *S. aureus* resistente à vancomicina

## 1. Introdução

Nos últimos anos tem-se observado um aumento significativo de infecções por bactérias multirresistentes tornando-se um grave problema de saúde à escala mundial. Desta forma, a eficácia dos antibióticos está a ser comprometida pela capacidade das bactérias adquirirem vários mecanismos de resistência aos mesmos. Em consequência, tem-se verificado um aumento das taxas de morbidade e mortalidade e dos custos associados aos cuidados de saúde das doenças infecciosas. O consumo inadequado de antimicrobianos e os internamentos prolongados têm favorecido o aparecimento e desenvolvimento de infecções provocadas por bactérias multirresistentes (Guimarães, Momesso, & Pupo, 2010; Mação, Lopes, Oliveira, Oliveira, & Rodrigues, 2013). Neste sentido, a União Europeia (UE) e a Organização Mundial de Saúde (OMS) têm vindo a implementar estratégias no combate à resistência antimicrobiana tendo por base quatro linhas fundamentais de ação: a vigilância, a prevenção, a investigação e a cooperação nacional e internacional (European Centre for Disease Prevention and Control, 2015a; World Health Organization, 2001, 2014).

Sabendo da existência deste problema, as infecções causadas por bactérias multirresistentes têm sido alvo de investigação em várias áreas clínicas: trato urinário, trato respiratório, infecções sistémicas, e infecções tópicas da pele e dos tecidos moles, entre outras, que podem ser causadas por diversas bactérias de Gram-positivo ou negativo. (Polsfuss, Bloemberg, Giger, Meyer, & Hombach, 2012).

### 1.1. *Staphylococcus aureus*

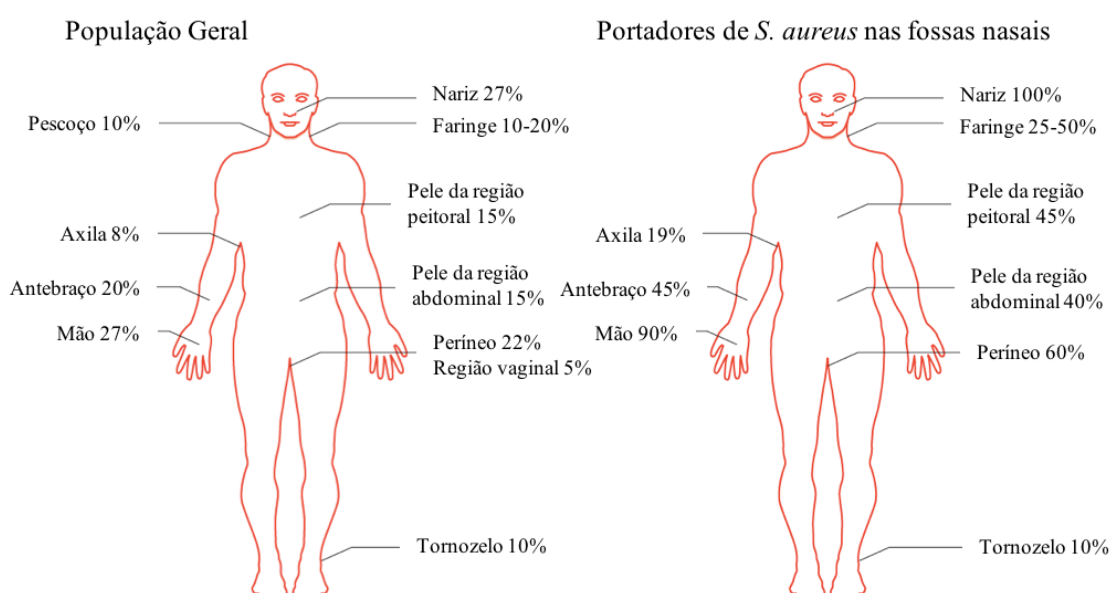
*Staphylococcus aureus* é uma bactéria do género *Staphylococcus* pertencente à família *Micrococcaceae*. Apresenta uma morfologia de cocos de Gram-positivo com diversas formas: isoladas, aos pares, em cadeia curta ou agrupadas em formato de cacho de uva e caracteriza-se por ser catalase positiva, oxidase negativa e fermentar o manitol (Barroso, Meliço-Silvestre, & Taveira, 2014; Santos et al., 2007).

Além disso, é considerado um microrganismo patogénico por causar infecções moderadamente graves a graves sobretudo em indivíduos imunodeprimidos e em meio hospitalar. Dentro destas infecções causadas no ser humano, as mais frequentes são infecções tópicas da pele e dos tecidos moles, infecções respiratórias, do trato urinário,

ossos, sangue e coração (Gelatti, Becker, Bonamigo, & D’Azevedo, 2009; Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2010).

### 1.1.1. Colonização

*S. aureus* tem grande capacidade de resistir a ambientes adversos pelo que se dissemina facilmente. Esta bactéria apresenta como principal reservatório o organismo humano, podendo colonizar várias partes do corpo, principalmente o nariz, como está representado na figura 1 (Dancer, 2008).



**Figura 1:** Percentagem de colonização por *S. aureus* em diferentes locais do organismo (adaptado de Dancer, 2008)

Estima-se que cerca de 20% da população são portadores persistentes e 30% são portadores intermitentes. Nestas duas situações, os indivíduos não apresentam sintomatologia associada sendo por isso considerados portadores sãos. Consequentemente, 50% da população não é portadora desta bactéria (Ammerlaan, Kluytmans, Wertheim, Nouwen, & Bonten, 2009; Gordon & Lowy, 2008; Wertheim et al., 2005).

Em termos clínicos, esta condição assume um importante papel na disseminação da bactéria a outras zonas do corpo e mesmo a outros indivíduos. Assim, as mãos

representam um modo de transmissão deste microrganismo uma vez que a sua colonização aumenta de 27% na população geral para 90% em indivíduos portadores. Este acontecimento deve-se principalmente ao facto dos indivíduos portadores de *S. aureus* terem 100% de colonização nas narinas, mas também dependem de outros fatores relacionados com as características do hospedeiro (Dancer, 2008; Gorwitz et al., 2008; Wertheim et al., 2005).

Os fatores que cooperam para o desenvolvimento deste fenómeno são, por exemplo, a idade, a condição socioeconómica, o sexo, a etnia, o tamanho do agregado familiar, a hospitalização prévia e a exposição recente a antibioterapia (Wertheim et al., 2005).

Assim, os hospedeiros assintomáticos contribuem para uma elevada disseminação, principalmente em meio hospitalar, a qual pode acontecer através do próprio doente, familiar ou profissional de saúde tornando-se fundamental monitorizar para evitar a transmissão da bactéria e consequentemente, a existência de surtos de infeções provocadas pelas mesmas (Santos et al., 2007).

No entanto, no que diz respeito ao aparecimento e disseminação desta bactéria na comunidade são necessários mais estudos, uma vez que as suas implicações e fatores não são ainda completamente conhecidos (M. Miller et al., 2009).

### 1.1.2. Fatores de virulência

*S. aureus* é capaz de produzir um número extraordinário de fatores de virulência incluindo elementos estruturais e produtos de secreção, sendo significativamente diferente das outras espécies de *Staphylococcus* no que diz respeito ao seu potencial patogénico. O estadio em que se encontra o processo infeccioso influencia a produção destes compostos, responsável pela patogenicidade desta bactéria, sendo que esta mesma produção é regulada por um sistema regulatório específico tendo em conta a evolução da infeção, e controlada por dois genes principais acessórios: *agr* e *sae*, dando assim origem a uma resposta de virulência global (Barroso et al., 2014; Gordon & Lowy, 2008).

Os fatores de virulência podem ser agrupados dependendo da evolução do processo de infeção:

- 1) na adesão ao hospedeiro os fatores de virulência estão envolvidos na ligação das bactérias às células do mesmo ou às matrizes extracelulares;

2) na evasão os fatores impedem a fagocitose ou interferem com as defesas do hospedeiro;

3) por último, na invasão destroem especificamente as células do hospedeiro ou as matrizes extracelulares (Barroso et al., 2014).

A adesão e a colonização do hospedeiro dão início à infecção, que é acompanhada pela síntese de proteínas de superfície (proteínas de ligação à elastina, proteínas de ligação ao colagénio e proteínas de ligação à fibronectina, por exemplo) e de adesinas durante a fase exponencial de crescimento bacteriano. Posteriormente, ocorre a invasão e penetração dos tecidos nas fases pós-exponencial e estacionária o que leva à produção de exoproteínas e toxinas com possível disseminação para outros locais do organismo (figura 2) (Barroso et al., 2014).

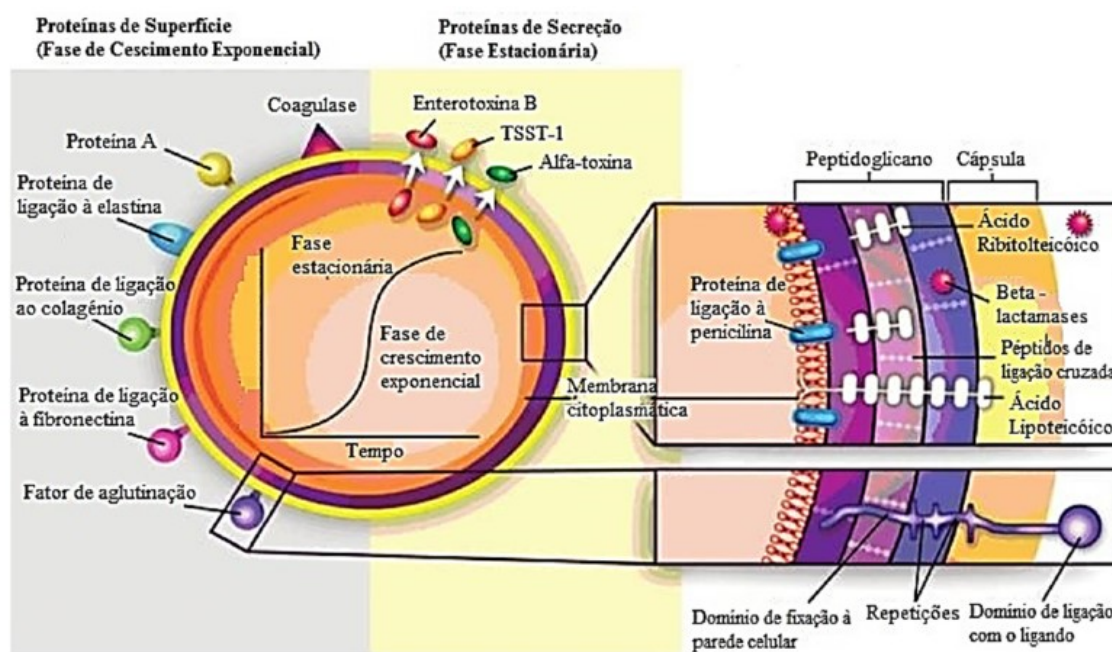


Figura 2: Fatores de virulência de *S. aureus* (adaptado de Gordon & Lowy, 2008)

A adesão de *S. aureus* à superfície celular do hospedeiro inicia o processo de colonização que é mediado por compostos proteicos denominados de *Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules* (MSCRAMM), donde são exemplo a proteína A, a proteína de ligação à elastina e a proteína de ligação ao colagénio. Estes têm vindo a ganhar relevância, uma vez que estão presentes no início das infeções vasculares, do osso e articulações (Bien, Sokolova, & Bozko, 2011; Gordon & Lowy, 2008).

Este microrganismo apresenta sinais de resistência à resposta imunitária do hospedeiro, através dos seguintes mecanismos:

- 1) Promoção da opsonização do complemento através da proteína A, uma proteína inexistente em todas as outras espécies de *Staphylococcus*, que se liga à porção Fc das imunoglobulinas;
- 2) Neutralização da fagocitose através da microcápsula envolvente da bactéria;
- 3) Inibição da resposta humoral e celular através da secreção de proteínas inibidoras da quimiotaxia e/ou proteínas de aderência extracelular, que interferem com o local de infecção;
- 4) Formação de biofilmes – associação de várias células bacterianas numa matriz de polissacáridos, os quais conferem igualmente proteção antibiótica;
- 5) Formação de *Small-Colony Variants* (SCV) que se originam por mutações dos genes metabólicos, resultando no surgimento de subpopulações bacterianas auxotróficas (Bartlett & Hulten, 2010; Bien et al., 2011; Gordon & Lowy, 2008; Melter & Radojevič, 2010).

Durante a infecção, *S. aureus* é capaz de produzir enzimas, tais como, proteases extracelulares, lipases, elastases, coagulase,  $\beta$ -lactamases e catalase e toxinas como as  $\alpha$ -toxina,  $\beta$ -toxina,  $\delta$ -toxina,  $\gamma$ -toxina, *Panton Valentine Leukocodin* (PVL), toxina associada à síndrome do choque tóxico (TSST-1) e enterotoxinas A, B, C, D e E. Estas enzimas e toxinas são capazes de invadir e destruir os tecidos do hospedeiro provocando consequentemente a sua disseminação para outras zonas do corpo (Barroso et al., 2014; Bien et al., 2011; Murray et al., 2010).

A PVL apresenta uma grande importância atualmente, uma vez que se tem vindo a tornar cada vez mais comum em *S. aureus* resistentes à meticilina (MRSA) isolados na comunidade (CA-MRSA), onde anteriormente se observava uma taxa de 5% em estirpes de *S. aureus*. Esta está associada a infeções cutâneas e pulmonares graves (Berkold et al., 2012; Boyle-Vavra & Daum, 2007; Shashindran, Nagasundaram, Thappa, & Sistla, 2016).

### **1.1.3. Infecções provocadas por *S. aureus***

Existem duas formas de caracterizar as infecções causadas por *S. aureus*, pela produção de toxinas ou pela invasão direta e destruição dos tecidos. As manifestações clínicas de algumas infecções são causadas apenas pela atividade das toxinas como por exemplo, síndrome da pele escaldada, intoxicação alimentar estafilocócica e síndrome do choque tóxico. No entanto, outras infecções resultam da reprodução do microrganismo, que originam abscessos e a destruição dos tecidos (por exemplo, infecções cutâneas, endocardites, pneumonia, osteomielite e artrite séptica). Salienta-se o facto desta bactéria ter também capacidade de causar infecções através de dispositivos prostéticos e de cateteres por formação de biofilmes (Murray et al., 2010; Stulberg, Penrod, & Blatny, 2002; van Bijnen et al., 2014).

Apresentam-se, de seguida, as infecções e/ou síndromes mais comuns causados por este microrganismo, divididas em:

#### 1) Infecções mediadas por toxinas:

##### 1.1. Síndrome da pele escaldada

É caracterizada por diversas manifestações cutâneas, como a formação de bolhas isentas de microrganismos e leucócitos, podendo ser acompanhada de febre alta, eritema difuso e doloroso e descamação superficial da pele ao toque (Hennigan & Riley, 2016; Smith & Sandall, 2012; Sunilkumar, 2015).

##### 1.2. Intoxicação alimentar estafilocócica

Também designada por gastroenterite estafilocócica, é uma das doenças mais comuns originada por alimentos e é provocada pela ingestão de enterotoxinas termoestáveis. Após a ingestão dos alimentos contaminados, o desenvolvimento da doença é rápido e agudo, ocorrendo em menos de 24 horas: os sintomas observados incluem náuseas e vômitos, diarreia e dor abdominal sem a ocorrência de febre (Argudín, Mendoza, & Rodicio, 2010; Schelin et al., 2011).

##### 1.3. Síndrome do choque tóxico

Ocorre principalmente em crianças e mulheres adultas menstruadas. É provocado pela TSST-1 e caracteriza-se por falência multiorgânica que se manifesta pelo aparecimento de febre, hipotensão e o surgimento de eritema. Esta síndrome tem uma taxa de

mortalidade associada elevada, caso o doente não seja tratado de imediato com antibioterapia e o foco de infeção não seja eliminado (Kiska, 1997; Lappin & Ferguson, 2009).

## 2) Infeções supurativas:

### 2.1. Impetigo

É uma infeção cutânea superficial que começa em locais da pele traumatizada e que se caracteriza pela presença de vesículas com pus que evoluem para pústulas com crosta, sobre uma base eritematosa (Bangert, Levy, & Hebert, 2012; Pereira, 2014).

### 2.2. Folliculites

Tem origem nos folículos pilosos sendo geralmente acompanhada pela formação de abcessos: caracteriza-se por ser uma infeção superficial e que pode ocorrer em qualquer zona da pele, sendo mais habitual em zonas mais oleosas (Barroso et al., 2014; Hsu & Hsu, 2012).

### 2.3. Furúnculos e Carbúnculos

O furúnculo surge quando ocorre necrose do folículo e dos tecidos adjacentes, que originam nódulos contendo pus e se caracterizam por serem dolorosos. Os carbúnculos resultam da junção de vários furúnculos atingindo o tecido subcutâneo, podendo dar origem a uma infeção sistémica (Barroso et al., 2014; Hsu & Hsu, 2012).

### 2.4. Bacteriémia e endocardites

A bacteriémia geralmente tem origem no ambiente hospitalar, caracteriza-se pela presença de bactérias na corrente sanguínea, partindo de um foco infeccioso que pode originar disseminação para outros órgãos, como por exemplo o coração, originando a endocardite (Fowler et al., 2006; F. K. Gould et al., 2012; Naber, 2009; van Hal et al., 2012).

### 2.5. Pneumonia e Empiema

A pneumonia é uma doença inflamatória ao nível pulmonar que pode ter origem bacteriana, havendo uma obstrução dos espaços aéreos presentes nos alvéolos. Por vezes, sensivelmente em 10% dos casos de pneumonia bacteriana, poderá estar associado empiema, que é caracterizado pela formação de abcessos em cavidades naturais. É mais

comum em jovens, idosos e em doentes que já tenham uma patologia respiratória, recente ou não (Murray et al., 2010).

## 2.6. Osteomielite

É caracterizada por uma destruição ao nível ósseo (após colonização e desenvolvimento de resposta inflamatória), sobretudo na zona metafisária dos ossos longos (Johansen & Jensen, 2013; Olson & Horswill, 2013).

## 2.7. Artrite Séptica

Infeção que tem como foco as articulações e é caracterizada por dores nas articulações e aparecimento de eritema com eventual formação de pus. É localizada sendo que é mais comum surgir nos ombros, joelhos, ancas e cotovelos (Mathews & Coakley, 2008).

### 3) Outras infeções:

#### 3.1. Infeções de feridas

Infeção de ferida traumática ou cirúrgica é caracterizada pela presença de um eritema e acumulação de pus (abcessos) (Murray et al., 2010).

#### 3.2. Infeções originadas por cateteres

É caracterizada pela resposta inflamatória crónica do organismo à presença da bactéria e de uma possível entrada da mesma pelo dispositivo médico, dando origem a uma bacteriémia. Podem apresentar diversas complicações relacionadas com o seu implante, manipulação e manutenção, com risco agravado em indivíduos imunodeprimidos, como é o caso dos pacientes a realizar quimioterapia, ou em hemodiálise (Murray et al., 2010).

#### 3.3. Infeções de próteses

É caracterizada por infeção crónica associada à dor e que limita a mobilidade da zona afetada, como consequência da colonização do material que compõe o dispositivo médico (Murray et al., 2010).

### 1.1.4. Mecanismos de resistência aos antibióticos

Os antibióticos são compostos naturais ou sintéticos e podem ter uma atividade bactericida, quando causam a morte da bactéria, ou bacteriostática, quando promovem a inibição do crescimento microbiano (Guimarães et al., 2010).

A resistência aos antibióticos ocorre quando estes perdem a capacidade de controlar o crescimento ou a morte bacteriana, ou seja, é a forma que as bactérias encontram para neutralizar o efeito do antibiótico. Assim, uma bactéria é considerada resistente a determinado antibiótico quando continua a multiplicar-se na presença de níveis terapêuticos desse antibiótico (Guimarães et al., 2010).

*S. aureus* apresenta resistência a três antibióticos diferentes devido à sua evolução ao longo dos anos e que são abordadas detalhadamente abaixo. Na figura 3 estão representadas de forma sistemática resistências aos três antibióticos: 1) penicilina; 2) metilina; 3) vancomicina (Mendes, 2010).

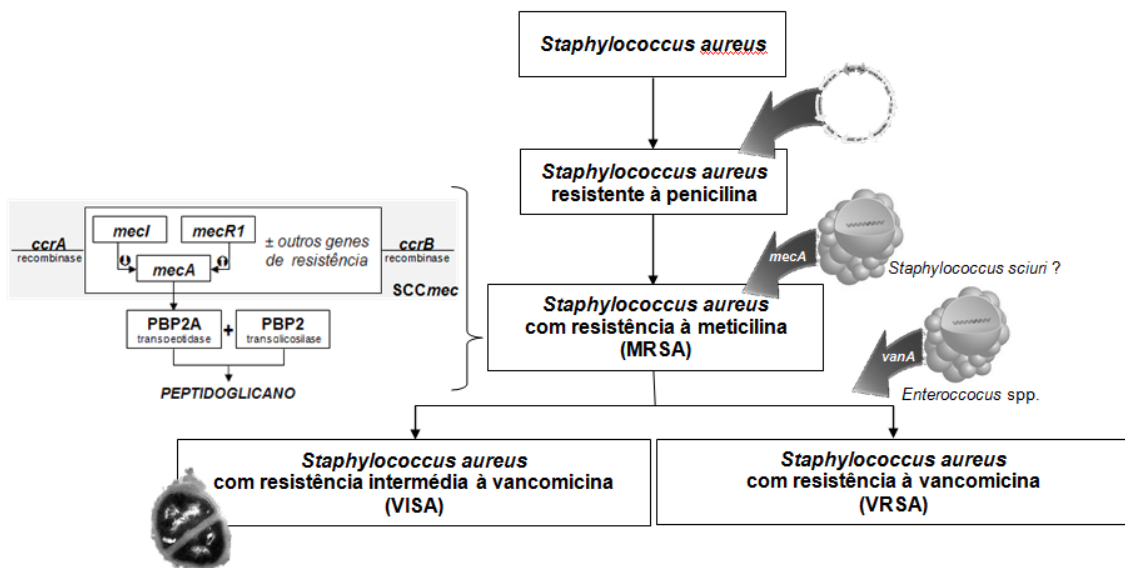


Figura 3: Evolução da resistência antibiótica em *S. aureus* (adaptado de Mendes, 2010)

#### 1.1.4.1. Resistência à penicilina

Antes do surgimento dos antibióticos, as infecções graves causadas por *S. aureus*, em particular a bacteriemia, eram mortais em cerca de 80% dos casos. Com o aparecimento da penicilina em 1940, a taxa de mortalidade diminuiu consideravelmente.

No entanto, a primeira resistência descrita de *S. aureus* foi em 1942, decorrente de produção de penicilinases, o que limitou o uso das penicilinas e seus derivados nos anos subsequentes. As primeiras estirpes resistentes surgiram a nível hospitalar com posterior propagação para a comunidade. No final dos anos 60, 80% das infeções já apresentavam esta resistência. Atualmente, mais de 90% dos isolados de *Staphylococcus* spp. produzem penicilinases. Este fenómeno ocorreu devido à introdução de um plasmídeo que contém outros genes de resistência aos antimicrobianos no genoma deste microrganismo (Deurenberg et al., 2007; Deurenberg & Stobberingh, 2008; Lowy, 2003).

#### **1.1.4.2. Resistência à meticilina**

Em 1959 surge pela primeira vez a meticilina, pertencente à classe das penicilinas resistentes às penicilinases (PRP) e que inibe a síntese da parede celular bacteriana tendo surgido como alternativa terapêutica para as estirpes produtoras de penicilinases, uma vez que esse fármaco não sofre ação desta enzima (Deurenberg et al., 2007; Enright et al., 2002; Gordon & Lowy, 2008). No entanto, em 1961, foi identificado o primeiro isolado de *S. aureus* resistente a este antibiótico no Reino Unido, sendo que nos anos seguintes disseminou-se para o resto da Europa e posteriormente para diversos países do Mundo, como por exemplo Austrália, Japão e Estados Unidos da América (EUA) (Deurenberg et al., 2007; Deurenberg & Stobberingh, 2008; Enright et al., 2002; Huang et al., 2006). Estas estirpes foram isoladas principalmente em meio hospitalar, designando-se assim como MRSA adquiridos a nível hospitalar (HA-MRSA). Nos anos 90, tornou-se num problema emergente uma vez que foram reportados os primeiros isolados de CA-MRSA numa população remota na Austrália e mais tarde nos EUA (Deurenberg et al., 2007; Diederer & Kluytmans, 2006; Gordon & Lowy, 2008; Witte, 2009).

A parede celular da bactéria é composta por peptidoglicano sendo indispensável para a sua formação as proteínas de ligação às penicilinas (PBP). As PRP como é o caso da meticilina, são responsáveis pela inibição da atividade das PBP que apresentam uma elevada afinidade para estes antibióticos (Spratt, 2012).

*S. aureus* adquiriu o gene cromossómico *mecA* que codifica para PBP2a em vez de PBP2 tornando-o assim resistente às PRP, dado que a PBP2a apresenta uma baixa

afinidade para a maioria dos  $\beta$ -lactâmicos, como representado na figura 4 (Deurenberg et al., 2007; Lowy, 2003; Rybak & LaPlante, 2005; van Hal et al., 2012).

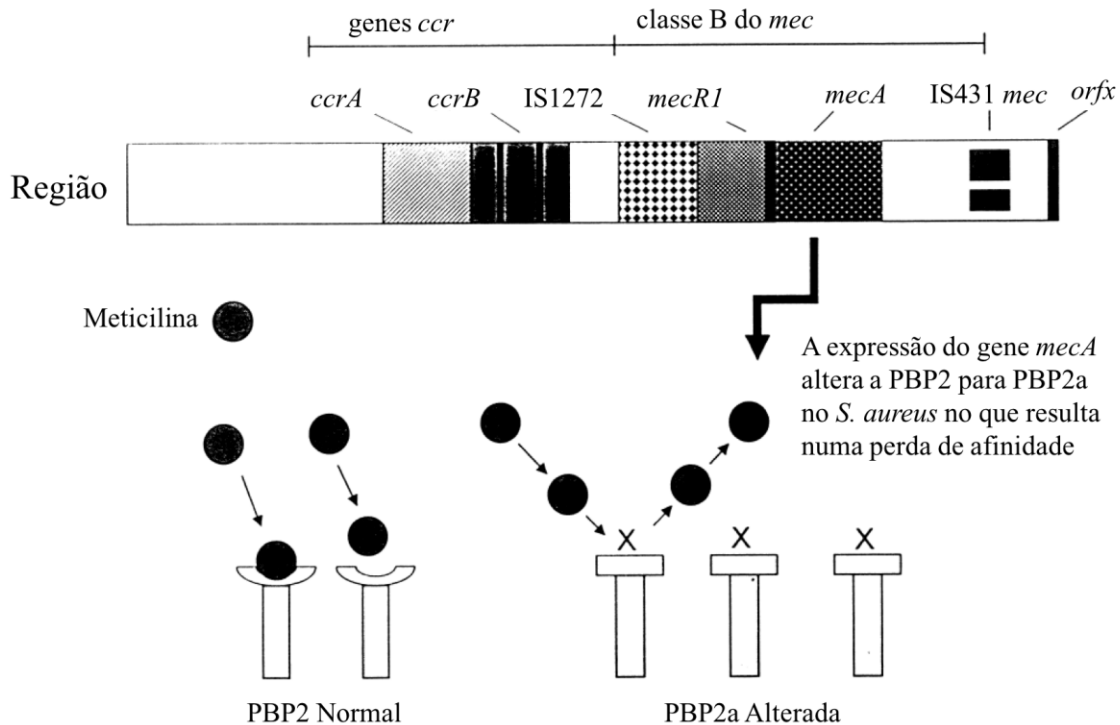


Figura 4: Mecanismo de ação da PBP2a (adaptado de Rybak & LaPlante, 2005)

Este gene, *mecA*, é parte integrante de um elemento móvel designado por *Staphylococcal Cassette Chromosome mec* (SCC*mec*) e é regulado pelo repressor MecI e pelo transdutor transmembranar de sinal de  $\beta$ -lactâmicos, MecRI. Assim, aquando da presença de antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, o MecRI é clivado autocataliticamente e o domínio metalo-protease, que se encontra localizado no citoplasma, é ativado. O domínio metalo-protease é então capaz de clivar a MecI (proteína repressora) e, assim, o operador fica livre para que possa ocorrer a transcrição do gene *mecA* e, conseqüentemente, a codificação da PBP2a (Deurenberg et al., 2007; Deurenberg & Stobberingh, 2008; Gelatti et al., 2009; Lowy, 2003).

Desde que surgiu têm sido realizados inúmeros estudos para tentar descobrir como terá o *S. aureus* evoluído ao ponto de desenvolver mecanismos de resistência à metilina. A hipótese mais forte atualmente, baseia-se na transferência horizontal da unidade móvel SCC*mec* a partir de uma espécie diferente, *Staphylococcus sciuri*, apoiando-se nos estudos que apontam que a sequência de aminoácidos da PBP presentes nesta espécie

eram superiores a 87%, idêntica à PBP2a presente em MRSA (Deurenberg et al., 2007; Deurenberg & Stobberingh, 2008).

#### **1.1.4.3. Resistência à vancomicina**

A vancomicina pertencente à família dos glicopéptidos, foi introduzida no mercado pela primeira vez em 1958 e tem como mecanismo de ação a inibição da síntese da parede celular bacteriana através da sua atividade ao nível do peptidoglicano (Holmes, Johnson, & Howden, 2012; Howden, Davies, Johnson, Stinear, & Grayson, 2010; Kobayashi, Musser, & DeLeo, 2012).

A suscetibilidade intermédia à vancomicina por *S. aureus* (VISA) deve-se a alterações genéticas ao nível desta bactéria que promove uma maior produção de peptidoglicano com uma grande quantidade de resíduos de D-Ala-D-Ala. Assim, a ligação da vancomicina aos terminais D-Ala-D-Ala das camadas mais externas impede a ligação do antibiótico ao seu local de ação. Em 1997, foi reportado o primeiro isolado de VISA no Japão (Howden et al., 2010; Kobayashi et al., 2012; Lowy, 2003).

*S. aureus* resistente à vancomicina (VRSA) deve-se à aquisição do gene *vanA* importado de *Enterococcus* spp. sob a regulação de um sistema de transdução de sinal ativado apenas na presença da vancomicina. Esta ativação leva à produção de várias enzimas que sintetizam precursores modificadores do peptidoglicano que contêm um terminal D-Ala-D-Ala com menor afinidade para a vancomicina (Howden et al., 2010; Mendes, 2010).

Tanto a nível hospitalar como em ambulatório registou-se uma emergência crescente de MRSA, fator determinante no desenvolvimento de resistência à vancomicina, dado que este é um antibiótico de primeira linha usado no tratamento da maioria das infeções graves que esta bactéria causa. Foi registada a primeira estirpe de VRSA em 2002 nos EUA e dois casos adicionais na Índia e no Irão. Contudo a resistência demonstrada por esta espécie ainda apresenta valores muito reduzidos, tendo sido isolados muito poucas estirpes de VRSA na Europa. É de salientar que o primeiro VRSA europeu foi isolado em 2013 em Portugal, num indivíduo de 74 anos (Howden et al., 2010; Kobayashi et al., 2012; Melo-Cristino, Resina, Manuel, Lito, & Ramirez, 2013; Mendes, 2010; van Hal et al., 2012).

## 1.2. *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA)

MRSA pode colonizar indivíduos saudáveis numa baixa percentagem, entre 1 a 8%, no entanto, sabe-se que este facto representa um risco elevado para uma possível infeção, sendo a severidade da mesma superior à causada por *S. aureus* sensíveis à meticilina (MSSA). A taxa de colonização por MRSA, desde 2001 até 2004, nos EUA, aumentou de 0,8% para 1,5%, no sentido inverso encontra-se a taxa de colonização por MSSA, uma vez que diminuiu de 32,4% para 28,6%. Diversos autores dão como hipótese explicativa, o facto da elevada exposição aos antibióticos promover a colonização por MRSA ao passo que suprime o crescimento de MSSA (Gorwitz et al., 2008; Nazareth et al., 2012; Rasamiravaka, Rasoanandrasana, Zafindraibe, Rakoto Alson, & Rasamindrakotroka, 2013).

MRSA é extremamente transmissível, podendo suceder através do contacto com objetos contaminados (por exemplo toalhas) e de indivíduo para indivíduo, como por exemplo, as mãos dos profissionais de saúde, sendo que este é atualmente o veículo mais comum de transmissão (Castro et al., 2016; Scott, Duty, & Callahan, 2008). No entanto, fatores de risco que contribuem para a passagem de HA-MRSA para a comunidade são: o longo período de hospitalização, internamento em Unidades de Cuidados Intensivos (UCI), hemodiálise, terapêutica antibiótica prolongada, intervenções cirúrgicas, presença de dispositivos invasivos, indivíduos a viver em unidade de internamento de cuidados continuados, ou residências/lares de idosos, e contacto próximo com portadores são de MRSA (Carvalho, Mamizuka, & Filho, 2009; Deurenberg et al., 2007; Direção Geral da Saúde, 2015; Witte, 2009).

Em termos de classificação têm-se utilizado os termos HA-MRSA e CA-MRSA para definir as diferenças ao nível do genótipo e do fenótipo existentes nos isolados de MRSA, assim como as diferenças relativas à epidemiologia das infeções que estas causam. Por isso, para clarificar estas estirpes, os estudos baseiam-se: 1) no local onde foi adquirida a infeção por MRSA (hospital vs comunidade); 2) na exposição vs não exposição a unidades de cuidados de saúde (por exemplo, hospitais e centros de saúde); 3) em fatores de risco que predispõem para a aquisição de MRSA; 4) nas características genéticas e suscetibilidade aos antimicrobianos; 5) na infeção ou síndrome desenvolvida pelo doente (David & Daum, 2010; Deurenberg et al., 2007; Deurenberg & Stobberingh, 2008).

A nível genotípico, CA-MRSA normalmente apresenta o SCC $mec$  do tipo IV e V, o que lhe confere resistência exclusivamente aos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, sendo assim sensível à maioria dos restantes antibióticos, enquanto que os SCC $mec$  tipo I, II, e III estão associados ao HA-MRSA, que são resistentes a diversas classes de antibióticos uma vez que possuem uma enorme capacidade de colonizar e disseminar-se através do ambiente ou de potenciais hospedeiros (Carvalho et al., 2009; David & Daum, 2010; Deurenberg & Stobberingh, 2008; Gordon & Lowy, 2008; Yamamoto et al., 2010).

Além disso, é comum encontrar-se nestas estirpes CA-MRSA a exotoxina PVL, estando associada a diversas apresentações clínicas. No entanto, a classificação que era inicialmente utilizada para classificar os SCC $mec$ , tem vindo a demonstrar que já não é tão exata, devido à descoberta das cassetes do tipo I, II e III em estirpes de CA-MRSA (Carvalho et al., 2009; David & Daum, 2010; Deurenberg & Stobberingh, 2008; Diederer & Kluytmans, 2006; Yamamoto et al., 2010).

Como era espectável, dada a elevada disseminação destas estirpes ao longo dos anos, HA-MRSA foi encontrado na comunidade e CA-MRSA a nível hospitalar, o que torna difícil a sua distinção. Este fenómeno prende-se com o facto de poderem existir indivíduos que possam ter sido colonizados num meio e desenvolverem a infeção noutra, indivíduos que têm contacto frequente com entidades de saúde, residentes em instituições (por exemplo, residências, lares de idosos e unidades de cuidados paliativos) e toxicodependentes de drogas injetáveis (Chen, 2013; David & Daum, 2010; Huang et al., 2006; Witte, 2009; Yamamoto et al., 2010).

O controlo da infeção no combate à transmissão tem sido ineficaz, por isso o aparecimento destas infeções na comunidade tem-se vindo a tornar um verdadeiro problema de saúde pública (Barroso et al., 2014; Stefani et al., 2011; Yasmin et al., 2016).

### **1.2.1. MRSA adquiridos a nível hospitalar (HA-MRSA)**

Define-se como HA-MRSA uma estirpe isolada de um indivíduo hospitalizado com testes negativos para MRSA mas que após 48h da hospitalização apresenta infeções provocadas por MRSA, assim como estirpes isoladas a partir de infeções que ocorram fora do meio hospitalar, num período até 12 meses após ter sido exposto a unidades de cuidados de saúde (Yamamoto et al., 2010). Fatores de risco para ter uma infeção por HA-MRSA incluem: história de hospitalização nos últimos 12 meses, cirurgia recente,

hemodiálise, residência de longo-termo em unidades de cuidados continuados, presença de dispositivos médicos como cateteres no momento da cultura, isolados prévios de MRSA e o uso inadequado de antibióticos (Boucher & Corey, 2008; David & Daum, 2010; Huang et al., 2006; Witte, 2009; Yamamoto et al., 2010).

Em relação à prevalência de HA-MRSA, verificou-se um aumento nos últimos anos. A Ásia apresenta as taxas mais elevadas do mundo, nomeadamente, o Sri Lanka (86,5%), Coreia do Sul (77,6%), Vietname (74,1%), Taiwan (65,0%), Tailândia (57,0%) e Hong Kong (56,8%) seguida pela América do Sul e do Norte e Malta. Relativamente aos valores intermédios (25-50%), foram essencialmente observados na China, Austrália, África e alguns países europeus como Portugal (49%), Grécia (40%), Itália (37%), e Roménia (34%). Contrariamente, a Holanda e a Escandinávia registam as taxas mais baixas de prevalência de MRSA do mundo, como representado na figura 5 (Stefani et al., 2011; Yamamoto et al., 2010).

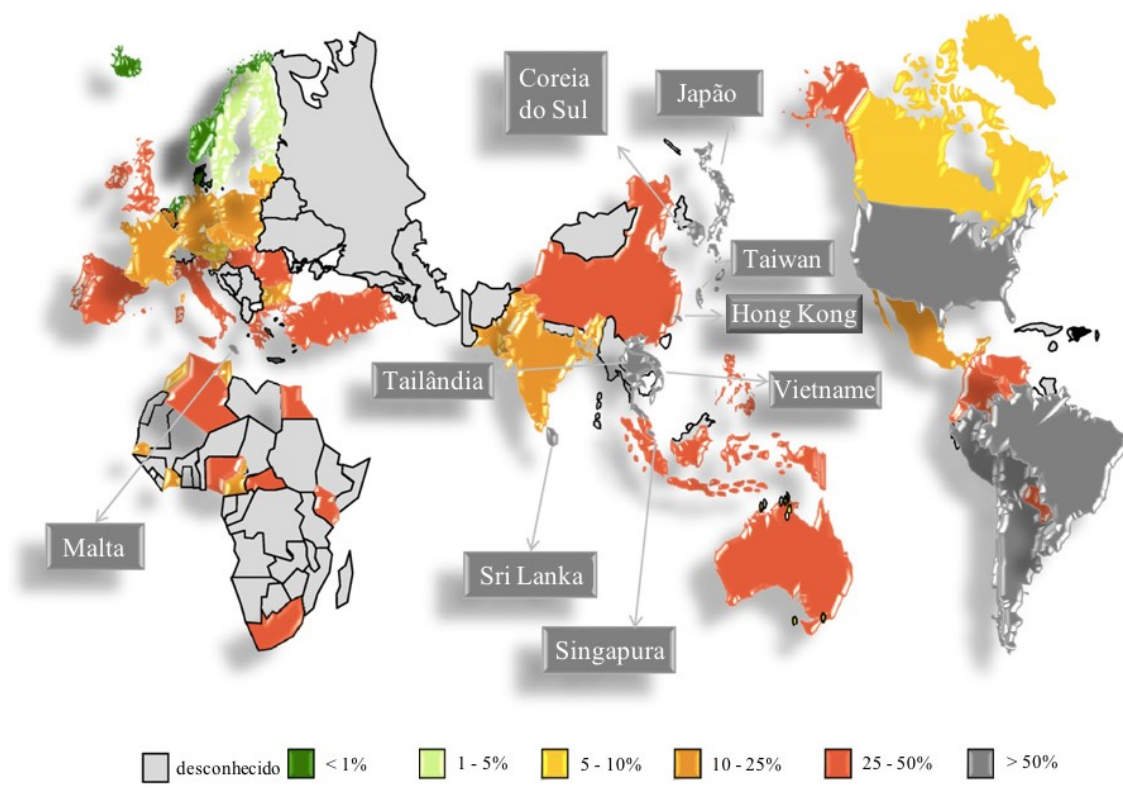


Figura 5: Prevalência de HA-MRSA no mundo (adaptado de Stefani et al., 2011)

HA-MRSA pode ser isolado em feridas cirúrgicas ou não cirúrgicas, bacteriémias, pneumonias associadas ao ventilador e infeções do trato urinário (ITU) em doentes algaliados, sendo mais comum em indivíduos portadores de infeção com idade superior

a 50 anos e em doentes imunocomprometidos, como doentes com o Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH). Estas infeções consideradas nosocomiais têm consequências como elevada taxa de mortalidade, enormes custos em saúde e tempo prolongado de internamento (Ray, Gautam, & Singh, 2011; Yamamoto et al., 2010).

### **1.2.2. MRSA adquiridos na comunidade (CA-MRSA)**

O *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) em 2000 definiu CA-MRSA como diagnóstico de MRSA no ambulatório ou nas primeiras 48 horas de internamento (Chen, 2013; David & Daum, 2010; Deurenberg & Stobberingh, 2008; Skov et al., 2012; Witte, 2009). Devido à sua enorme capacidade de colonização, a estirpe CA-MRSA tem sofrido uma maior vigilância não só a nível hospitalar, como referido anteriormente, mas também ao nível da comunidade (Carvalho et al., 2009; Deurenberg & Stobberingh, 2008; Köck et al., 2010).

Para as infeções causadas por CA-MRSA foram reportados diversos fatores de risco de colonização como: o contacto próximo com pessoas colonizadas com CA-MRSA (por exemplo, familiares que habitem em zonas com elevada prevalência desta bactéria), utilização de drogas injetáveis, indivíduos que habitem em comunidades, partilha de objetos pessoais, falta de higiene e indivíduos que pratiquem desportos coletivos. Assim, têm sido reportados diversos surtos deste agente patogénico pelo mundo inteiro, como por exemplo, em comunidades nativas e indígenas, equipas de desportos de contacto, infantários, escolas e universidades, centros militares e prisões (David & Daum, 2010; DeLeo, Otto, Kreiswirth, & Chambers, 2010; Deurenberg et al., 2007; Köck et al., 2010; Skov et al., 2012; Yamamoto et al., 2010).

A primeira infeção provocada por CA-MRSA foi identificada em 1982 nos EUA. Porém, o primeiro caso provado como CA-MRSA foi em 1993 na Austrália, visto que o caso anterior não se conseguiu apurar, efetivamente, se pertencia ao tipo CA-MRSA. A partir do ano 2000, deu-se uma disseminação global desta bactéria com múltiplos relatórios de infeções graves na comunidade, como representado na figura 6 (DeLeo et al., 2010; Deurenberg et al., 2007; Deurenberg & Stobberingh, 2008; Skov et al., 2012).

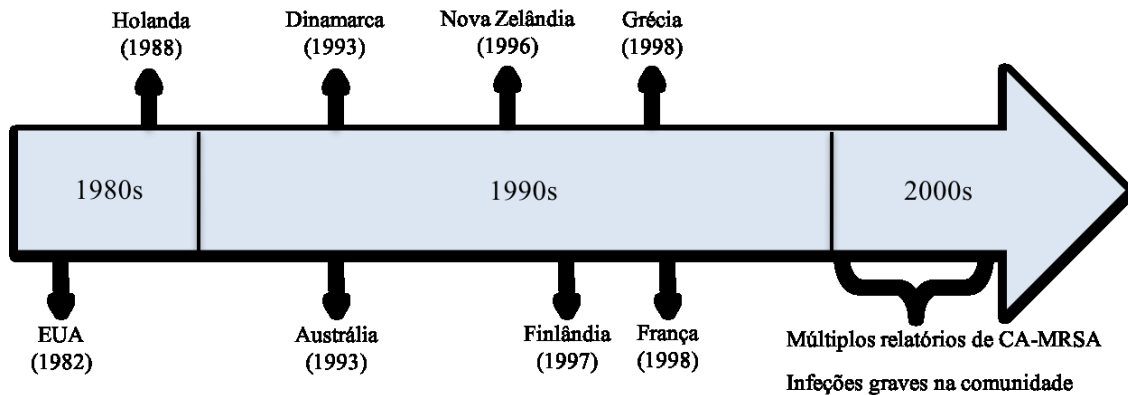
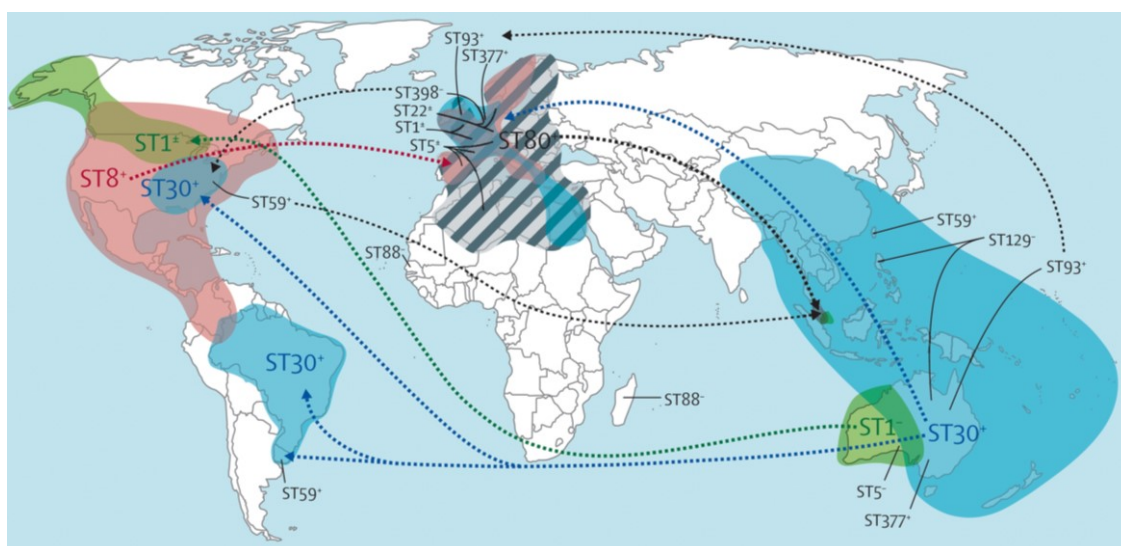


Figura 6: Propagação global de CA-MRSA (adaptado de Skov et al., 2012)

A prevalência de CA-MRSA varia ao longo do globo. Nos países onde foram reportados casos destas infeções, a taxa pode atingir os 50% e é mais comum em crianças do que em adultos (Skov et al., 2012).

Apesar de ainda ser reduzida, estima-se que a prevalência de CA-MRSA vai tender a aumentar nos próximos anos a nível mundial. Pensa-se que, atualmente, a sua prevalência seja inferior a 0,5%. Contudo, um estudo mais recente, demonstrou que a prevalência deste agente patogénico, na Europa, varia entre 0,03 e 1,5% (Deurenberg et al., 2007; Deurenberg & Stobberingh, 2008).

Os clones mais frequentemente reportados são: clones USA300 (ST8-IVa), que está bastante representado tanto na comunidade como a nível hospitalar, e USA400 (ST1-IV) ambos originários dos EUA, clone Europeu (ST80-IVc) e o clone do Pacífico Sudoeste (ST30-IV) da Austrália, como representado na figura 7. Porém, todos estes clones já se disseminaram pelo mundo inteiro. Destes clones destaca-se USA300 dada a sua enorme disseminação, tanto a nível hospitalar como ao nível da comunidade (DeLeo et al., 2010; Echániz-Aviles, Velazquez-Meza, Vazquez-Larios, Soto-Noguerón, & Hernández-Dueñas, 2015; L. G. Miller et al., 2012; Nazareth et al., 2012; Skov et al., 2012; Witte, 2009; Yamamoto et al., 2010). Acrescenta-se o facto do clone USA300 apresentar um elemento genético responsável pela sua capacidade de se disseminar por diversas regiões do planeta e patogenicidade, designado por *Arginine Catabolic Mobile Element* (ACME). Diversos estudos defendem a teoria de que, através de *Staphylococcus epidermidis*, este fator de virulência poderá ter sido transmitido a MRSA. (Yamamoto, Stefani 2012; Gordon Lowy)



**Figura 7:** Disseminação global dos clones do CA-MRSA (adaptado de DeLeo et al., 2010)

Em termos clínicos, calcula-se que 70-80% das infeções causadas por CA-MRSA são ao nível da pele e dos tecidos moles. No entanto, dependendo da evolução da infeção, poderão ocorrer diversas infeções sistémicas, como por exemplo, osteomielite, bacteriémia e pneumonia necrosante (David & Daum, 2010; Yamamoto et al., 2010).

Relativamente às infeções por CA-MRSA verificou-se que quando as estirpes são produtoras de PVL, estas são mais patogénicas causando infeções mais graves, nomeadamente: infeções ao nível da pele e dos tecidos moles mais profundas, pneumonia necrosante e a fascite necrosante. Já as estirpes PVL-negativas estão normalmente associadas a indivíduos que desenvolveram impetigo (Stefani et al., 2011; Yamamoto et al., 2010).

### **1.2.3. Prevalência de MRSA**

Na Europa em 2014, de acordo com a *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC), foram reportados 1118 isolados de *S. aureus* onde se verifica um aumento de 2,2% desde 2013 (n = 1094). Destes casos reportados, 218 (19,5%) foram identificados como MRSA positivo, observando-se uma diminuição do número de isolados ao longo dos anos, sendo este o valor mais baixo desde 1999, como representado na figura 8 (European Centre for Disease Prevention and Control, 2015b; Health Protection Surveillance Centre, 2014).

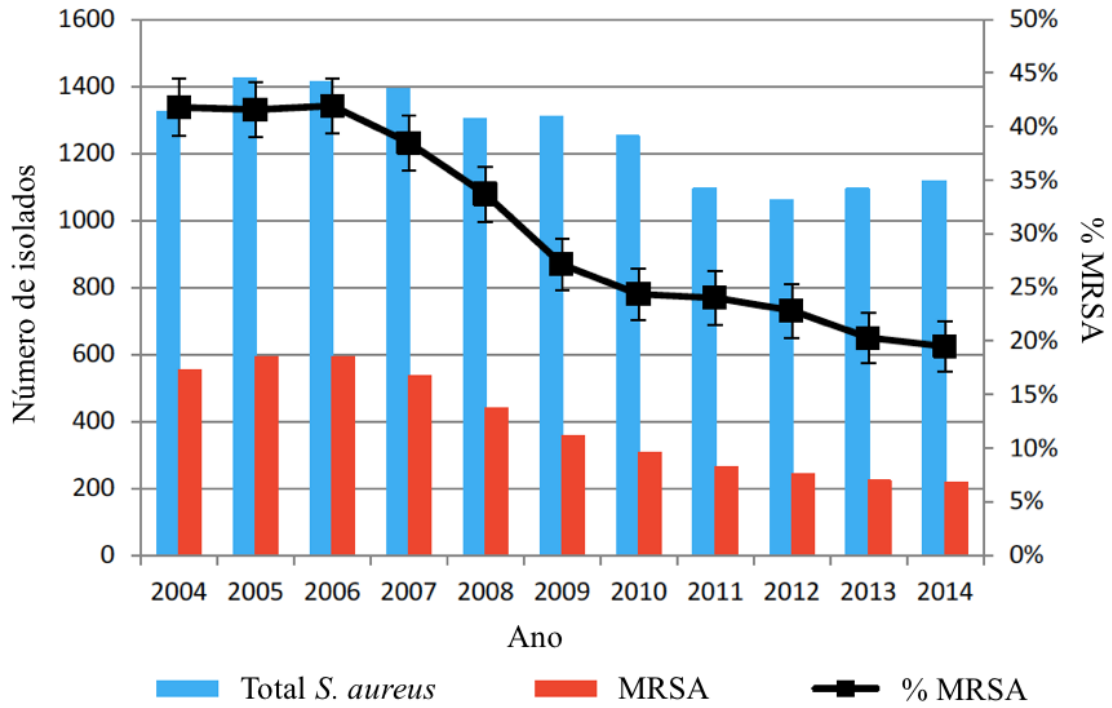


Figura 8: Número total de isolados de *S. aureus* e MRSA entre 2004 – 2014, na Europa

(adaptado de Health Protection Surveillance Centre, 2014)

Em 2010, observou-se pela primeira vez uma prevalência de MRSA inferior a 25% na Europa (24,4%) tendo vindo a diminuir ao longo dos anos. Porém, na figura 9 verifica-se que Portugal, em 2014, ainda apresentava uma prevalência acima da média da Europa, com 47,4% de isolados de MRSA, sendo considerado um grande problema de saúde pública, uma vez que apresenta a segunda taxa mais elevada na Europa (European Centre for Disease Prevention and Control, 2015b; Health Protection Surveillance Centre, 2014).

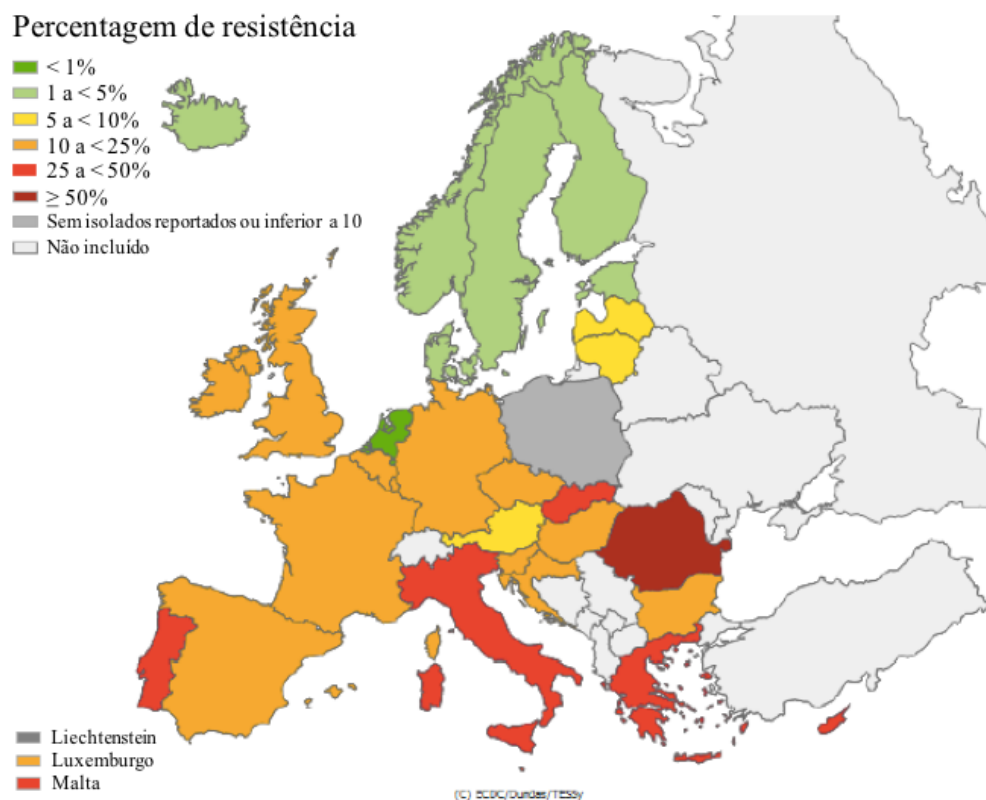


Figura 9: Distribuição de MRSA na Europa em 2014

(adaptado de European Centre for Disease Prevention and Control, 2015b)

A Roménia é o único país que onde se observa uma percentagem acima de 50% (56%), seguido de Portugal (47,4%), Malta (42,7%), Grécia (37,1%), Chipre (36%) e Itália (33,6%) (European Centre for Disease Prevention and Control, 2015b; Health Protection Surveillance Centre, 2014).

#### 1.2.4. Prevenção e controlo da colonização e infeção por MRSA

Para a prevenção e controlo de infeções causadas por *Staphylococcus* spp. em meio hospitalar foram implementadas várias medidas como: a vigilância frequente de portadores, tomada de precauções de transmissão, descolonização (por exemplo, a higiene diária é realizada com toalhetes com clorhexidrina a 0,2% nos doentes internados), uso racional da prescrição de antibióticos e introdução de medidas específicas para procedimentos com um risco elevado de infeção (por exemplo, numa intervenção cirúrgica é necessário os doentes realizarem banhos com gluconato de

clorohexidrina  $\geq 2\%$  na véspera e no dia da intervenção) (Direção Geral da Saúde, 2015; Ellis et al., 2014; Humphreys, Grundmann, Skov, Lucet, & Cauda, 2009; Johnson et al., 2015).

Porém, como já referido, este problema não está apenas restringido ao hospital uma vez que têm sido reportados diversos casos de infecções causadas por CA-MRSA. Atualmente, verifica-se que CA-MRSA tem a capacidade de causar doença hospitalar, assim como, HA-MRSA pode causar infecções na comunidade (Chen, 2013; David & Daum, 2010; Huang et al., 2006; Witte, 2009; Yamamoto et al., 2010).

Desta forma, a Direção-Geral de Saúde (DGS) criou um algoritmo clínico para as unidades de internamento com o objetivo de minimizar a disseminação e consequente diminuição de infecções provocadas por MRSA, baseado nos locais de internamento e gravidade das patologias (Anexo I) (Direção Geral da Saúde, 2015).

O CDC recomenda práticas de isolamento como: o acesso limitado aos doentes infetados com MRSA, meticulosa higienização das mãos e particular atenção à desinfeção e esterilização dos objetos, equipamentos, superfícies e materiais que tenham estado em contato ou perto de indivíduos infetados. (Gupta, Lyons, & Rosen, 2015) Além destes procedimentos de prevenção, também publicou outras medidas para controlar a disseminação de MRSA, que inclui:

- 1) Manter as feridas cobertas com material limpo e seco até à cura, seguindo as instruções do médico sobre o cuidado adequado da ferida (o pus das feridas contaminadas pode conter MRSA e assim ajuda a prevenir a propagação);
- 2) Lavar as mãos com frequência, principalmente depois de tratar de uma ferida infetada, preferencialmente com gel à base de álcool, em opção, com água e sabão;
- 3) Não partilhar objetos pessoais como toalhas, lâminas de barbear e roupas;
- 4) Lavar os têxteis com cuidado redobrado e de acordo com as indicações estabelecidas pelo fabricante (Centers for Disease Control and Prevention, 2016).

Para os indivíduos não hospitalizados afetados por MRSA a *Infection Prevention Society* redigiu um folheto informativo com conselhos sobre a gestão do dia-a-dia, que está representado, em resumo, na tabela 1 (Infection Prevention Society, 2008).

**Tabela 1:** Resumo de conselhos para os indivíduos não hospitalizados afetados por MRSA (adaptado de Infection Prevention Society, 2008)

|                      | <b>MRSA positivo</b>  |   |
|----------------------|---|---|
|                      | <b>Portador</b>   | <b>Infetado</b>   |
| Natação              | Sim, mas se não tiver feridas abertas   | Sim, mas se não tiver feridas abertas   |
| Trabalho             | Sim, normalmente  | Sim, normalmente  |
| Escola e Infantário  | Sim, normalmente  | Sim, normalmente  |
| Lares                | Sim, mas as feridas devem ser cobertas  | Sim, mas as feridas devem ser cobertas  |
| Amigos e Parceiros   | Sim, mas as eventuais feridas abertas devem ser cobertas                                    | Sim, mas as eventuais feridas abertas devem ser cobertas                                    |
| Relações sexuais     | Normalmente   | Normalmente   |
| Amamentação          | Sim, mas estar atenta a sinais de mastite, como habitual                                    | Sim, mas estar atenta a sinais de mastite, como habitual                                    |
| Animais de estimação | Lavar as mãos depois de tocar nos animais   | Lavar as mãos depois de tocar nos animais   |
| Limpeza da casa      | Regime de limpeza habitual  | Regime de limpeza habitual  |
| Lavagem da roupa     | Lavar a roupa à temperatura mais alta recomendada pelo fabricante com o detergente habitual | Lavar a roupa à temperatura mais alta recomendada pelo fabricante com o detergente habitual |
| Lavagens e Banhos    | Normalmente   | Seguir as instruções de tratamento dadas pelo profissional de saúde                         |
| Barbear              | Não partilhar o equipamento de barbear  | Não partilhar o equipamento de barbear  |
| Toalhas              | Normalmente   | Não deve partilhar e deve trocar diariamente  |
| Vestuário            | Normalmente   | Usar roupa limpa diariamente  |

### **1.2.5. Terapêutica antibiótica**

Uma terapêutica atempada e apropriada é essencial para controlar as infeções causadas por este agente. A terapêutica recomendada está dependente de diversos fatores, incluindo o tipo de infeção, a estirpe em causa e as características do doente. Se a infeção

for causada por estirpes de CA-MRSA isoladas de doentes sem contacto prévio com o hospital, a gama de antibióticos torna-se mais limitada, uma vez que estas estirpes são resistentes aos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, como mencionado anteriormente (VanEperen & Segreti, 2016). No entanto, esta situação tem vindo a alterar-se, as estirpes de CA-MRSA entraram em muitos países no ambiente hospitalar e, devido à pressão exercida pelo elevado uso dos antibióticos neste ambiente, estes agentes patogénicos têm desenvolvido uma resistência a muitas classes de antibióticos. Contudo existem ainda inúmeros antibióticos que já demonstraram ser efetivos no controlo destas infeções. Por isso, no tratamento de infeções causadas por CA-MRSA, deverá ter-se em conta o local geográfico e epidemiologia da bactéria em causa e fundamentalmente o conhecimento da sua resistência aos antibióticos (Barroso et al., 2014; VanEperen & Segreti, 2016).

Assim, aquando de uma suspeita de infeção provocada por MRSA é inicialmente utilizada uma terapêutica empírica a curto prazo até ser identificada a bactéria causadora desta mesma infeção. Para infeções ligeiras e superficiais a clindamicina é preferencialmente administrada uma vez que demonstrou uma grande eficácia contra o clone USA300. Relativamente às infeções moderadas a graves, a terapêutica recomendada é a vancomicina, como representado na tabela 2 (Gupta et al., 2015; VanEperen & Segreti, 2016).

**Tabela 2:** Terapêutica empírica para a suspeita de infeções provocadas por MRSA (adaptado de VanEperen & Segreti, 2016)

| <b>Manifestações</b>   | <b>Terapêutica empírica</b>  | <b>Alternativas</b> |
|--|------------------------------|---------------------|
| Infeções da pele e dos tecidos moles ligeiras com abscessos < 5 cm | Incisão e drenagem           |                     |
| Infeções da pele e dos tecidos moles moderadas                     | Trimetoprim - Sulfametoxazol |                     |
|  | Clindamicina                 |                     |
|  | Doxiciclina/Minociclina      |                     |
|  | Linezolida                   |                     |
| Infeções da pele e dos tecidos moles severas a complicadas         | Vancomicina                  | Daptomicina         |
|  |                              | Linezolida          |
|  |                              | Telavancina         |
| Pneumonia  | Vancomicina                  | Telavancina         |
|  | Linezolida                   |                     |

| <b>Manifestações</b>           | <b>Terapêutica empírica</b> | <b>Alternativas</b>       |
|--------------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| Bacteriemia                    | Vancomicina                 | Daptomicina               |
|                                |                             | Teicoplanina              |
|                                |                             | Daptomicina + Ceftarolina |
| Infecções ósseas e articulares | Vancomicina                 | Daptomicina               |
|                                |                             | Vancomicina + Rifampicina |
|                                |                             | Linezolida                |
|                                |                             | Clindamicina              |
|                                |                             | Doxiciclina/Minociclina   |

A *Infectious Diseases Society of America* (IDSA) publicou *guidelines* terapêuticas para os vários tipos de infecções provocadas por MRSA. Como primeira linha, para infecções ligeiras, é recomendado a utilização dos  $\beta$ -lactâmicos, como a cefalexina. Porém, se a taxa de CA-MRSA for elevada deverá optar-se por antibióticos de outra classe terapêutica. Caso a infecção seja mais grave é recomendado a vancomicina, como se pode observar na tabela 3 (Gupta et al., 2015; Liu et al., 2011).

A vancomicina continua como peça fundamental na terapêutica utilizada na maioria das situações graves, no entanto já foram registados alguns tratamentos que falharam com a administração deste antibiótico. Apesar disso e segundo alguns estudos, uma dosagem adequada deste antibiótico é a chave para que o tratamento possa resultar (F. K. Gould et al., 2012).

**Tabela 3:** *Guidelines* da IDSA para o tratamento de infecções provocadas por MRSA (adaptado de Liu et al., 2011)

| <b>Manifestações</b>                  | <b>Fármacos</b>              | <b>Dose para adulto</b>         |
|---------------------------------------|------------------------------|---------------------------------|
| Abcessos<br>Furúnculos<br>Carbúnculos | Incisão e drenagem           | NA                              |
| Celulite purulenta                    | Clindamicina                 | 300-450 mg PO TID               |
|                                       | Trimetoprim - Sulfametoxazol | 1-2 comprimidos PO BID          |
|                                       | Doxiciclina                  | 100 mg PO BID                   |
|                                       | Minociclina                  | 200 mg x 1 depois 100 mg PO BID |
|                                       | Linezolida                   | 600 mg PO BID                   |

| <b>Manifestações</b>                              | <b>Fármacos</b>  | <b>Dose para adulto</b>                                    |
|---|--|--|
| Celulite não purulenta                            | $\beta$ -lactâmicos (e.g. cefalexina, dicloxacilina)                                     | 500 mg PO QID  |
|   | Clindamicina   | 300-450 mg PO TID  |
|   | $\beta$ -lactâmicos (e.g. amoxicilina) e/ou Trimetoprim – Sulfametoxazol ou Tetraciclina | 500 PO mg TID<br>1-2 comprimidos PO BID<br>100 mg PO BID   |
|   | Linezolida   | 600 mg PO BID  |
| Infecções da pele e dos tecidos moles complicadas | Vancomicina  | 15-20 mg/kg/dose IV, intervalo de 8-12h                    |
|   | Linezolida   | 600 mg PO/IV BID   |
|   | Daptomicina  | 4 mg/kg/dose IV QD   |
|   | Telavancina  | 10 mg/kg/dose IV QD  |
|   | Clindamicina   | 600 mg PO/IV TID   |
| Bacteriemia                                       | Vancomicina  | 15-20 mg/kg/dose IV, intervalo de 8-12h                    |
|   | Daptomicina  | 6 mg/kg/dose IV QD   |
| Endocardite                                       | Vancomicina  | 15-20 mg/kg/dose IV, intervalo de 8-12h                    |
|   | Daptomicina  | 6 mg/kg/dose IV QD   |
| Endocardite, válvula prostética                   | Vancomicina  | 15-20 mg/kg/dose IV, intervalo de 8-12h                    |
|   | Gentamicina  | 1 mg/kg/dose IV, 8h  |
|   | Rifampicina  | 300 mg PO/IV, 8h   |
| Pneumonia   | Vancomicina  | 15-20 mg/kg/dose IV, intervalo de 8-12h                    |
|   | Linezolida   | 600 mg PO/IV BID   |
|   | Clindamicina   | 600 mg PO/IV TID   |
| Osteomielite                                      | Vancomicina  | 15-20 mg/kg/dose IV, intervalo de 8-12h                    |
|   | Daptomicina  | 6 mg/kg/dia IV QD  |
|   | Linezolida   | 600 mg PO/IV BID   |
|   | Clindamicina   | 600 mg PO/IV TID   |
|   | Trimetoprim - Sulfametoxazol e Rifampicina   | 3,5-4 mg/kg/dose PO/IV, intervalo de 8-12h<br>600 mg PO QD |

| <b>Manifestações</b> | <b>Fármacos</b>              | <b>Dose para adulto</b>                    |
|----------------------|------------------------------|--|
| Artrite Séptica      | Vancomicina                  | 15-20 mg/kg/dose IV, intervalo de 8-12h    |
|                      | Daptomicina                  | 6 mg/kg/dia IV QD                          |
|                      | Linezolida                   | 600 mg PO/IV BID                           |
|                      | Clindamicina                 | 600 mg PO/IV TID                           |
|                      | Trimetoprim - Sulfametoxazol | 3,5-4 mg/kg/dose PO/IV, intervalo de 8-12h |
| Meningite            | Vancomicina                  | 15-20 mg/kg/dose IV, intervalo de 8-12h    |
|                      | Linezolida                   | 600 mg PO/IV BID                           |
|                      | Trimetoprim - Sulfametoxazol | 5 mg/kg/dose PO/IV, intervalo de 8-12h     |
| Abscesso cerebral    | Vancomicina                  | 15-20 mg/kg/dose IV, intervalo de 8-12h    |
|                      | Linezolida                   | 600 mg PO/IV BID                           |
|                      | Trimetoprim - Sulfametoxazol | 5 mg/kg/dose PO/IV, intervalo de 8-12h     |

(IV – intravenoso; PO – via oral; QD – 1 vez por dia; BID – 2 vezes por dia; TID – 3 vezes por dia; QID – 4 vezes ao dia; NA – não se aplica)

Existem muitos outros agentes que são eficazes contra MRSA, mas ainda não foi realizado um estudo aprofundado sobre eles, e por isso a sua utilização ainda não consta nas *guidelines* (I. M. Gould et al., 2012).

### **1.3. Detecção e identificação laboratorial de MRSA**

Neste contexto, é necessário existirem testes de diagnóstico rápidos e eficazes que permitam identificar as estirpes resistentes e instituir uma terapêutica adequada no mínimo tempo possível, de forma a combater eficazmente uma infeção bacteriana grave e controlar as resistências bacterianas.

A deteção e a caracterização de MRSA é recomendada para fins de controlo da infeção e baseiam-se na realização de testes fenotípicos e/ou genotípicos ou imunológicos. Os laboratórios de diagnóstico microbiológico normalmente utilizam os métodos fenotípicos porque são testes rápidos, de baixo custo e de fácil acesso (Bina, Pournajaf, Mirkalantari, Talebi, & Irajian, 2015).

Para detecção de *S. aureus* é utilizado o meio Chapman que contém 7,5% de cloreto de sódio que inibe o crescimento da maioria dos microrganismos, e manitol que permite diferenciar entre *S. aureus* e restantes espécies de *Staphylococcus*, dado que este consegue fermentar o manitol (Murray et al., 2010).

Para a detecção em laboratório de MRSA é utilizado o meio cromogéneo para identificação direta de MRSA, uma vez que as amostras clínicas estão amplamente contaminadas, como é o caso do presente estudo em que as superfícies das farmácias comunitárias apresentam diferentes microrganismos, por isso é necessário utilizar meios seletivos e diferenciais. Este método tem como princípio o crescimento de MRSA incluindo estirpes hetero-resistentes e as variantes do gene *mecC* pela revelação da atividade enzimática, através de uma gelose constituída por nutrientes que associa diferentes peptonas, substratos cromogénicos e uma associação de antibióticos. Esta mistura seletiva permite inibir a maioria das bactérias de Gram-negativo, de Gram-positivo não pertencentes ao género *Staphylococcus*, bem como leveduras e bolores. Dado que este ensaio é um teste rápido de rastreio, a interpretação dos resultados deve ser complementada com outros métodos confirmatórios (Brown et al., 2005; E. Verkade, Elberts, Verhulst, & Kluytmans, 2009; Erwin Verkade, Ferket, & Kluytmans, 2011).

O *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) e o CDC recomendam em diagnóstico clínico laboratorial, o teste de *screening* em gelose de Mueller-Hinton com oxacilina como um dos métodos fenotípicos confirmatórios para a pesquisa de MRSA (Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases, & Division of Healthcare Quality Promotion, 2016; Clinical and Laboratory Standards Institute, 2016).

Este método utiliza uma gelose constituída por oxacilina e cloreto de sódio para reforçar o crescimento de subpopulações resistentes às PRP, como por exemplo, a meticilina e oxacilina. Este antibiótico (oxacilina) é o mais utilizado para a detecção da resistência às PRP uma vez que é mais estável e apresenta resultados mais fiáveis de acordo com o CLSI (Centers for Disease Control and Prevention et al., 2016; Clinical and Laboratory Standards Institute, 2016).

O teste da coagulase em tubo é também realizado como método confirmatório, após a observação de colónias rosa a vermelho no teste cromogénico para a detecção de MRSA. Este ensaio é um *gold standard* para a identificação de *S. aureus*, que se consiste na detecção da produção da enzima coagulase que na presença de fibrinogénio é capaz de

*Pesquisa de Staphylococcus aureus resistente à meticilina (MRSA) em farmácias comunitárias da região de Lisboa: uma possível via de transmissão na comunidade?*

formar um coágulo de fibrina. Os resultados devem ser observados às 4 horas e 24 horas após incubação a 37°C (Brown et al., 2005).

## **2. Objetivos do estudo**

Este estudo, realizado no âmbito da unidade curricular Estágio, tem como objetivos gerais consolidar e aprofundar conhecimentos adquiridos ao longo do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), e descobrir novas potencialidades na área de investigação científica.

Os objetivos específicos são: 1) estudar a prevalência de MRSA numa amostra de farmácias comunitárias dos concelhos de Cascais e Oeiras; 2) avaliar possíveis fatores favorecedores de contaminação das farmácias por MRSA e 3) indicar medidas de limpeza/desinfecção a serem aplicadas para controlo da disseminação desta bactéria.

*Pesquisa de Staphylococcus aureus resistente à meticilina (MRSA) em farmácias comunitárias da região de Lisboa:  
uma possível via de transmissão na comunidade?*

### 3. Materiais e Métodos

#### 3.1. Desenho do estudo

Neste trabalho recorreu-se a um estudo transversal. Este tipo de estudo foi efetuado num determinado ponto no tempo, onde a exposição e o resultado são medidos no mesmo momento, permitindo estimar uma prevalência de MRSA nas farmácias comunitárias analisadas. Apresenta como vantagens ser rápido, barato e permitir avaliar bem os resultados. Porém, tem como desvantagens a dificuldade em determinar a causalidade, ou seja, saber se uma farmácia contaminada com MRSA é uma possível via de transmissão para a comunidade (Schulz & Grimes, 2006).

Para a deteção de MRSA foram recolhidas 300 amostras entre o período de Maio e Julho de 2016 a partir de dois balcões de atendimento em utilização no momento da recolha, de acordo com o horário de funcionamento de cada farmácia. As amostras foram recolhidas em três períodos diferentes: manhã (8h00 – 10h00), ao início da tarde (13h00 – 15h00) e ao final da tarde (18h00 – 20h00), para que houvesse uma melhor distribuição da amostragem, como representado na figura 10. Além das recolhas realizadas, foi aplicado um breve questionário, elaborado para o efeito, sobre a limpeza/desinfecção da farmácia (Anexo II). No final do estudo todas as farmácias aderentes foram informadas dos seus resultados e realizadas recomendações.

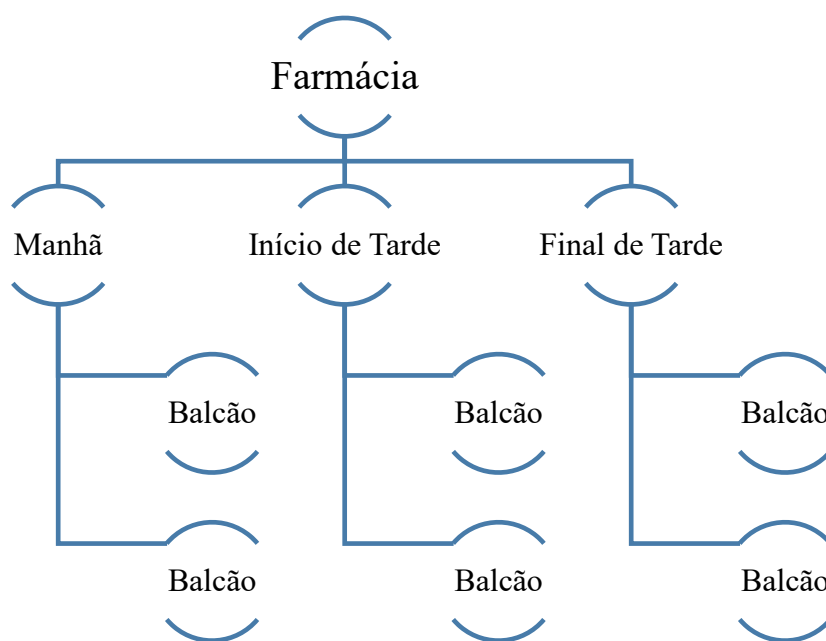


Figura 10: Esquema representativo das recolhas realizadas nas farmácias comunitárias analisadas

### 3.2. População e Amostra

A população em estudo foi constituída por 90 farmácias de três concelhos na região da Grande Lisboa: 47 farmácias em Oeiras, 41 em Cascais e 2 em Sintra, que foram convidadas a participar *face-to-face* (F2F), acompanhada de uma carta elaborada anteriormente, onde constava uma breve apresentação do estudo. A população selecionada foi a totalidade das farmácias existentes nos concelhos de Oeiras e Cascais, no entanto acrescentaram-se duas farmácias do concelho de Sintra devido ao interesse de um grupo querer incluir todas as suas farmácias no estudo.

Sendo assim, a amostra foi constituída por 50 farmácias, em que 25 farmácias pertencem ao concelho de Oeiras, 23 ao concelho de Cascais e 2 ao concelho de Sintra, havendo uma distribuição geográfica bastante homogénea, como pode ser visto pela figura 11. Esta é caracterizada como sendo uma amostra por conveniência uma vez que é composta por elementos fáceis de adquirir, de acordo com quem está a realizar a pesquisa, neste caso, relativamente à zona. Dentro de cada concelho selecionado não houve uma escolha por conveniência, mas sim pelas que aceitaram participar no estudo. Porém, tem a desvantagem de não ser representativa uma vez que foi utilizada uma técnica de amostragem não probabilística.

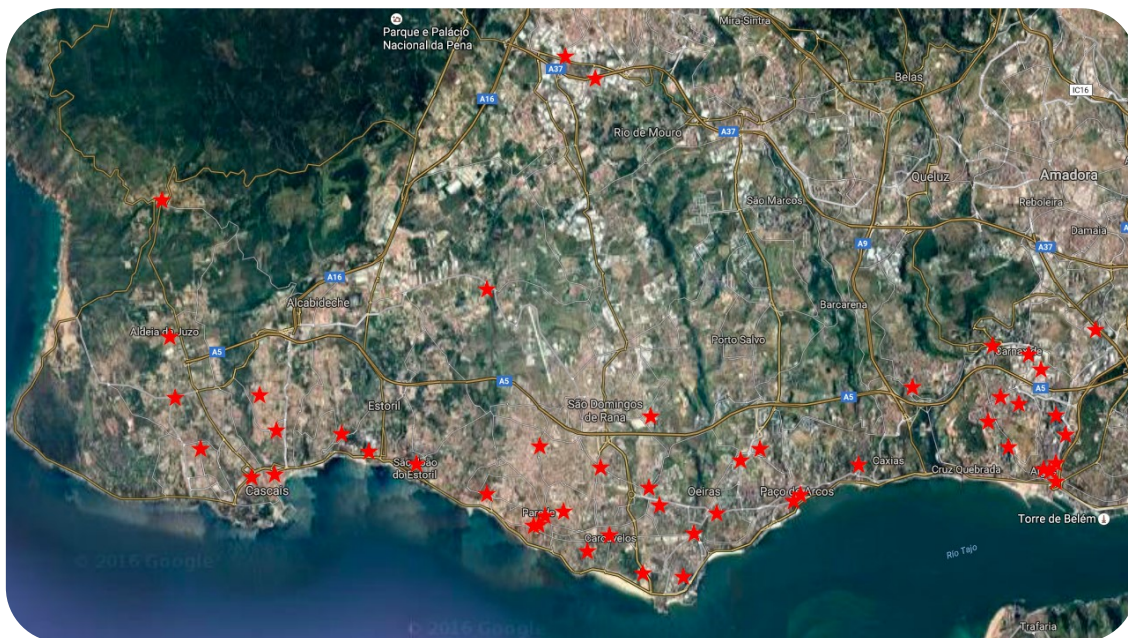


Figura 11: Distribuição geográfica das farmácias analisadas

### 3.3. Recolha de informação

#### 3.3.1. Questionário

O questionário elaborado para o efeito, destinou-se a caracterizar a amostra de acordo com:

- 1) a escala da limpeza/desinfecção de cada farmácia para ter em conta o tempo que decorre entre a limpeza e o momento de recolha da amostra;
- 2) a contratação de empresas especializadas para a realização da limpeza;
- 3) o tipo de produtos utilizados na desinfecção das superfícies;
- 4) a afluência da farmácia com o intuito de estimar a dimensão das fontes de contaminação geral da mesma.

Além disso, tem como objetivo avaliar as boas práticas de limpeza/desinfecção das superfícies das farmácias para, adicionalmente, recomendar possíveis medidas a aplicar às farmácias com resultados insatisfatórios.

### 3.4. Análise da amostra

#### 3.4.1. Controlo de qualidade

Inicialmente, foi isolada a estirpe padrão *S. aureus* ATCC 43300 (controlo positivo) e a *S. aureus* ATCC 29213 (controlo negativo) em meio TSA e incubadas a 37°C/24h para a pesquisa de MRSA nas amostras recolhidas. Foi igualmente utilizada a estirpe padrão *S. aureus* ATCC 29213 como controlo positivo para a pesquisa de *S. aureus*, como representado na tabela 4.

Tabela 4: Controlos de qualidade utilizados na análise

|                              | Controlo Positivo           | Controlo Negativo           |
|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Pesquisa de MRSA             | <i>S. aureus</i> ATCC 43300 | <i>S. aureus</i> ATCC 29213 |
| Pesquisa de <i>S. aureus</i> | <i>S. aureus</i> ATCC 29213 | ---                         |

### **3.4.2. Métodos de pesquisa de MRSA**

#### **3.4.2.1. Método de recolha das amostras dos balcões das farmácias**

Inicialmente, foram esterilizadas as luvas e as gazes e embaladas individualmente. De seguida, foram distribuídos 40 ml de caldo de *Trypticase soy broth* (TSB) (bioMérieux) em boiões esterilizados de recolha (DeltaLab).

Para realizar a recolha da amostra na farmácia, procedeu-se à colocação da luva devidamente esterilizada e humedeceu-se a gaze, também esterilizada, em TSB. Assim, foi utilizada a gaze para cobrir toda a área do balcão de atendimento. Por fim, esta foi colocada no boião de recolha com TSB para posterior análise. O transporte foi realizado numa arca isotérmica até ao laboratório, onde a análise microbiológica foi iniciada no mesmo dia.

#### **3.4.2.2. Método de controlo da recolha das amostras**

Após a recolha das amostras, os boiões de recolha foram incubados a 37°C/16h numa estufa com agitação (Certomat H) a 135 rpm, para enriquecimento das mesmas.

A seguir, foram repicadas para *Trypticase soy agar* (TSA) (bioMérieux) com uma ansa calibrada e incubadas a 37°C/16h, para confirmar a viabilidade das amostras.

#### **3.4.2.3. Método de deteção de *S. aureus***

Após enriquecimento, a amostra foi inoculada com uma ansa em meio seletivo para *Staphylococcus* – gelose Chapman (bioMérieux) e incubada a 37°C/24h.

De seguida, nas amostras que revelaram colónias amarelas (manitol positivas), sugestivas para a presença de *S. aureus*, foi realizado o método de deteção de MRSA.

#### **3.4.2.4. Método de deteção de MRSA – teste rápido de rastreio**

As amostras foram guardadas à temperatura ambiente durante 24h após enriquecimento, para aguardar os resultados das pesquisas anteriores.

Nas amostras positivas, os boiões de recolha foram colocados no vórtex (Grant-Bio PSU-20i) a 150 rpm durante 5 minutos. De seguida, as amostras foram inoculadas em meio seletivo cromogéneo para identificação direta de MRSA – chromID MRSA smart (MRSM) (bioMérieux) com uma ansa, e incubadas a 37°C/24h.

Após o período mínimo de incubação (24h), as colónias com coloração rosa a vermelho indicam um resultado positivo. No caso das placas com pouco crescimento ou sem crescimento visível, prolongou-se a incubação durante mais 24h a 37°C e avaliou-se novamente.

Apenas as amostras positivas foram posteriormente confirmadas através do teste da coagulase em tudo e do teste de *screening* em gelose de Mueller-Hinton com oxacilina. Estas amostras foram reisoladas em meio TSA e incubadas a 37°C/24h.

### **3.4.2.5. Métodos confirmatórios**

#### **3.4.2.5.1. Teste da coagulase em tubo**

Para confirmar a identificação de *S. aureus* usou-se o método da coagulase em tubo: foi inoculada uma a duas colónias num tubo com 500µl de plasma de coelho, e posteriormente, incubado a 37°C/24h. Quando há a formação de um coágulo, este resultado é classificado como positivo.

#### **3.4.2.5.2. Teste de *screening* em gelose de Mueller-Hinton com oxacilina**

Os reisolados bacterianos foram ressuspensos em ampolas com 2 ml de soro fisiológico estéril (SFE) de modo a obter uma turvação de 0,5 na escala de *McFarland*. Esta suspensão foi inoculada em meio Mueller-Hinton com oxacilina a 6µg/ml/4% NaCl e foram incubadas a 30°C/24h. O isolado bacteriano é considerado como MRSA quando se observa o crescimento de, pelo menos, uma colónia.

Este teste confirmatório foi realizado após a confirmação de *S. aureus* pelo teste da coagulase.

### 3.4.3. Resumo do procedimento laboratorial

Na figura 12 está esquematizado o procedimento laboratorial efetuado para cada amostra recolhida dos balcões de atendimento nas farmácias comunitárias para a pesquisa de MRSA e *S. aureus*.

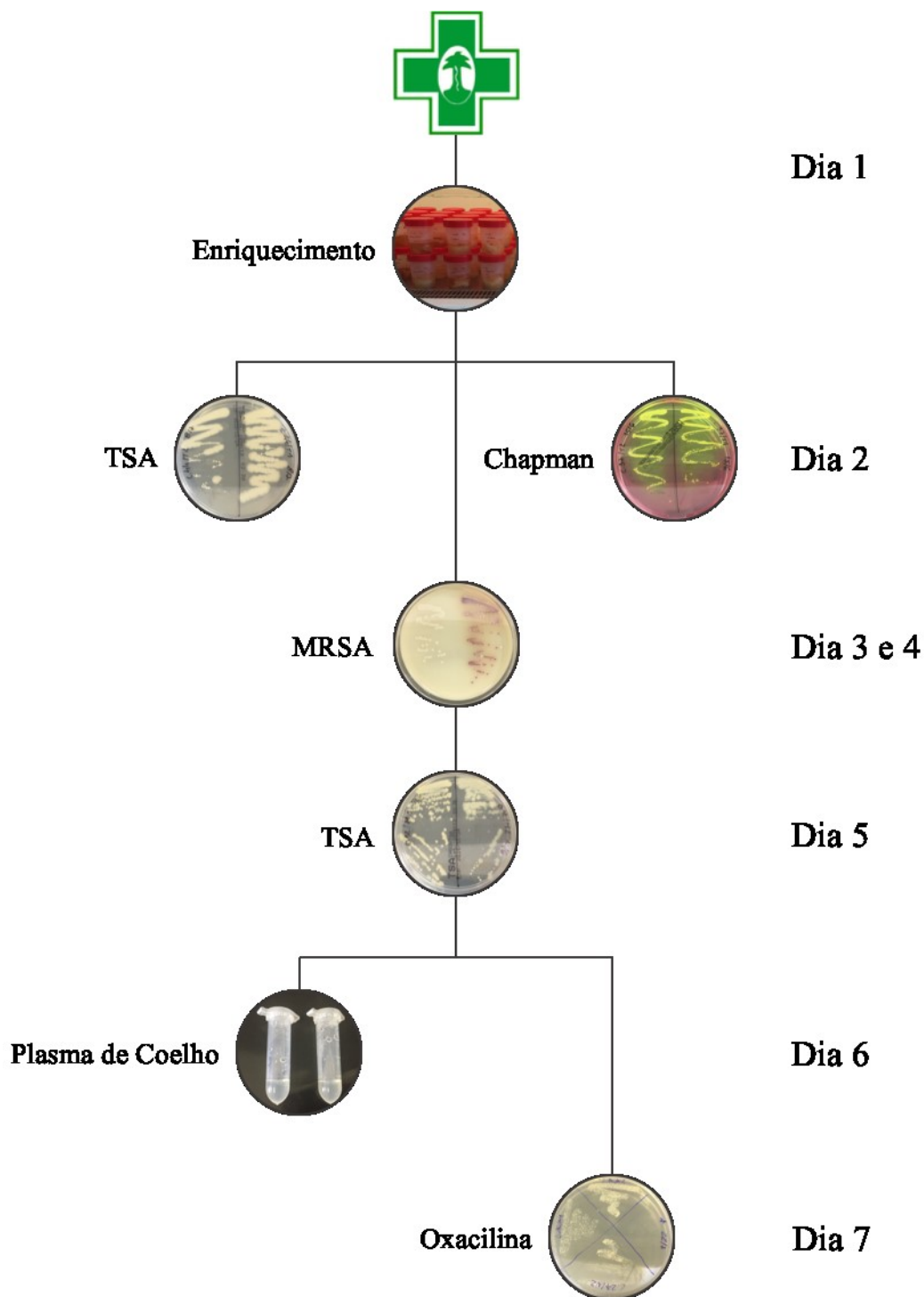


Figura 12: Esquema do procedimento laboratorial

### **3.5. Ética e Confidencialidade**

As farmácias que aceitaram participar no estudo, assinaram uma Declaração de Consentimento Informado (Anexo III) autorizando a recolha de amostras para pesquisa de MRSA em superfícies (balcões de atendimento).

Os dados das farmácias foram tratados com um código alfanumérico atribuído pela equipa de investigação no decorrer da realização do estudo. Assim, manteve-se a privacidade das farmácias participantes e a confidencialidade dos dados recolhidos. O código atribuído foi constituído pelo concelho da farmácia e por um número de identificação aleatório (por exemplo C-01, O-02).

### **3.6. Análise estatística**

A análise dos dados foi realizada recorrendo ao programa estatístico *IBM SPSS Statistics* v. 24,0, sendo feita uma análise descritiva de variáveis categoriais e escalares. As variáveis categoriais foram analisadas recorrendo-se às frequências relativas e absolutas. No entanto, as variáveis escalares foram analisadas através de medidas de tendência central (média, moda e mediana) e medidas de dispersão (desvio-padrão, máximo e mínimo).

*Pesquisa de Staphylococcus aureus resistente à meticilina (MRSA) em farmácias comunitárias da região de Lisboa:  
uma possível via de transmissão na comunidade?*

## 4. Resultados e Discussão

### 4.1. Caracterização das farmácias comunitárias

A amostra inicial foi constituída por 51 farmácias da região de Lisboa dado que uma não foi possível recolher as amostras dos balcões de atendimento, nem responder ao questionário, por isso a amostra real em estudo é constituída por 50 farmácias comunitárias. Assim, a taxa de adesão real das farmácias participantes é de 55,6%, o que é um valor bastante elevado. Presume-se que tal seja devido ao facto da maioria das farmácias estar interessada em saber a sua contaminação por MRSA, sem gastos ou trabalho associado.

Relativamente à caracterização das farmácias aderentes, verificou-se que, em média, estas apresentam 248 atendimentos diários ( $DP = 143,1$ ), 5 balcões de atendimento ( $DP = 2,1$ ) e 9 colaboradores ( $DP = 4,7$ ) por farmácia comunitária, como se pode observar na tabela 5.

Tabela 5: Caracterização das farmácias analisadas

|                                  | Média | Desvio Padrão | Mínimo | Máximo |
|----------------------------------|-------|---------------|--------|--------|
| Média de atendimentos diários    | 248   | 143,1         | 70     | 750    |
| Número de balcões de atendimento | 5     | 2,1           | 2      | 12     |
| Número de colaboradores          | 9     | 4,7           | 3      | 21     |

### 4.2. Estudo da prevalência de MRSA nas farmácias comunitárias aderentes

Nas 50 farmácias em estudo, 30% ( $n = 15$ ) apresentaram, pelo menos, um resultado positivo para a presença de MRSA nos balcões de atendimento.

A presença de *S. aureus* nos balcões de atendimento das farmácias também foi calculada, tendo 90% ( $n = 45$ ) das farmácias apresentado resultados positivos, pelo menos numa das seis recolhas das amostras realizadas no âmbito deste estudo.

De acordo com outros autores com estudos semelhantes, este resultado está dentro do esperado. No entanto, não foram encontrados estudos com amostras recolhidas em

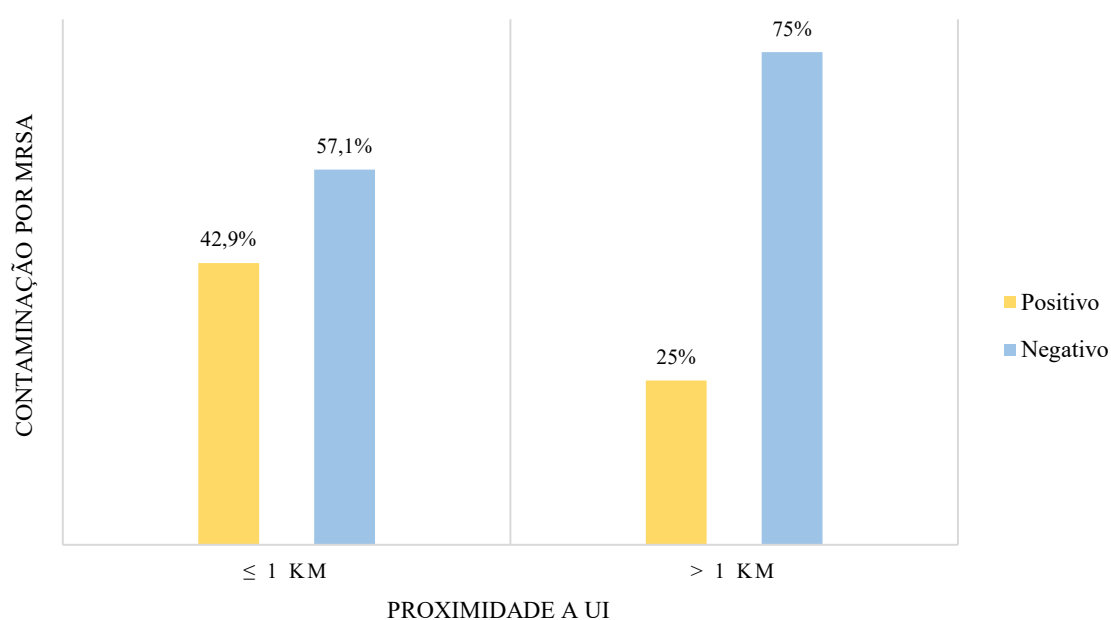
superfícies de farmácias comunitárias, mas apenas em hospitais, casas ou autocarros. Scott et al. analisaram superfícies em habitações domésticas, observando que 26% das superfícies estavam contaminadas com MRSA e 97% com *S. aureus*, o que também vai de encontro com os resultados obtidos neste estudo (Scott et al., 2008).

Num estudo realizado a autocarros na região de Lisboa, Conceição et al. obtiveram 36,2% de amostras positivas para MRSA (Conceição, Diamantino, Coelho, de Lencastre, & Aires-de-Sousa, 2013)

#### **4.2.1. Proximidade a unidades com internamento (UI)**

Equacionando o facto da proximidade a unidades com internamento (UI) estar relacionada com uma maior contaminação de MRSA nas farmácias comunitárias os resultados vão de encontro ao esperado. As farmácias foram consideradas como próximas estando a 1 km de raio de distância das UI.

Assim, foi observado que das farmácias que estão próximas a USI, 42,9% estavam contaminadas por MRSA. As farmácias que distam mais de 1 km de UI, apresentaram resultados positivos para MRSA bastante mais baixos – 25%, como representado na figura 13.



**Figura 13:** Contaminação por MRSA vs proximidade a UI

Dado estes resultados foi possível afirmar que a proximidade de UI está de facto relacionada com uma maior contaminação por MRSA nas farmácias comunitárias, o que se deve à elevada contaminação por MRSA existente nas UI.

Segundo Castro et al. os profissionais de saúde que exercem as suas funções no hospital apresentam maiores taxas de colonização do que outros. Neste estudo 8,9% estavam colonizados nas mãos com *S. aureus* e 39,6% no nariz, e 4,7% dos profissionais estavam colonizados com MRSA nas mãos e 17,2% no nariz (Castro et al., 2016). Conceição et al. analisando a contaminação de autocarros públicos encontraram igualmente uma maior contaminação por MRSA nas rotas com maior proximidade a USI (Conceição et al., 2013).

Outro estudo realizado, por Roberts et al. nas superfícies de dois quartéis de bombeiros, demonstrou que o local com maior contaminação por MRSA foi o veículo de transporte de doentes para hospitais, o que significa, mais uma vez, que o hospital é uma grande fonte de contaminação, também para o exterior (Roberts, Soge, No, Beck, & Meschke, 2011).

#### 4.2.2. Afluência média diária das farmácias

A afluência das farmácias analisadas foi calculada pelos percentis desta amostra através do número médio de atendimentos diários de cada uma, como representado na tabela 6.

Tabela 6: Caracterização da afluência das farmácias analisadas

| Afluência da farmácia | Média de atendimentos diários |
|-----------------------|-------------------------------|
| Reduzida              | ≤ 150                         |
| Média                 | 150 a 300                     |
| Elevada               | > 300                         |

Em relação à análise efetuada à afluência das farmácias em estudo é possível observar na figura 14, que as farmácias com uma maior afluência apresentaram valores ligeiramente mais elevados de contaminação (45,5%).

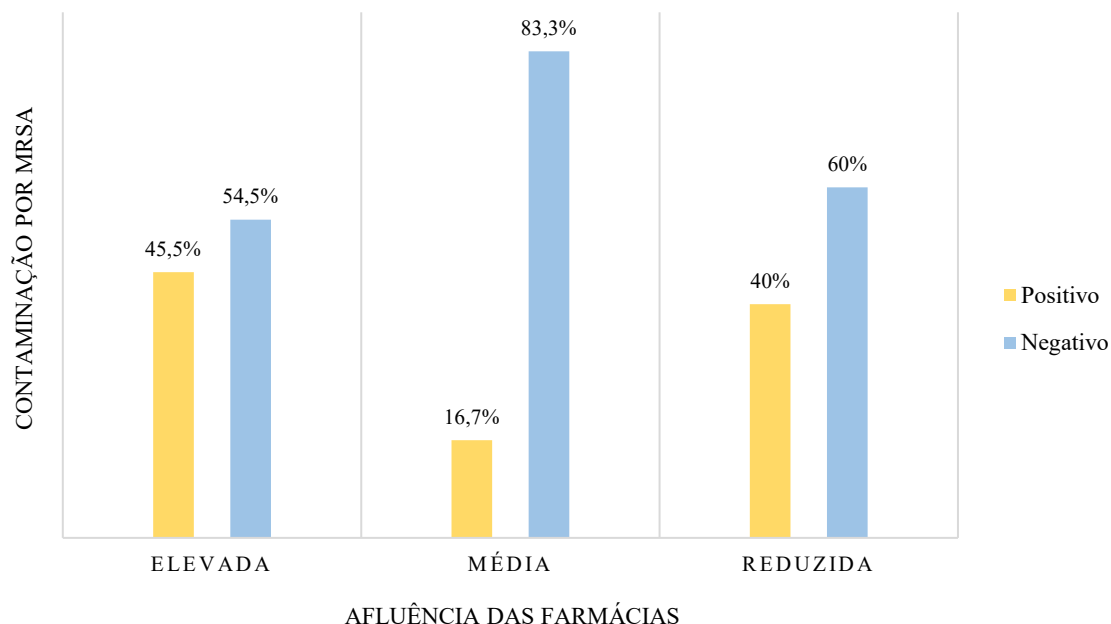


Figura 14: Contaminação por MRSA vs afluência das farmácias

Quando uma farmácia apresenta uma elevada afluência existe, naturalmente, uma maior exposição a utentes/doentes. Existe igualmente uma maior rotação dos seus profissionais, assim como da utilização dos balcões de atendimento, estando estes frequentemente ocupados. Por isso, pelo que foi observado durante a realização do estudo, a equipa de limpeza não tem praticamente acesso aos balcões de atendimento, uma vez que esta é realizada durante o horário de funcionamento.

Relativamente aos valores registados numa farmácia com afluência média, estes são significativamente mais baixos (16,7%), o que pode resultar do facto da farmácia apresentar os meios financeiros para obter as condições de limpeza adequadas, isto é, uma equipa especializada ou um membro extra da equipa para apenas essa função, associado a mais tempo livre dos balcões de atendimento para que a limpeza seja efetuada.

Os valores obtidos para a afluência reduzida, surpreendentemente, revelaram uma elevada contaminação por MRSA (40%). Uma hipótese poderá ser devido a haver menos recursos financeiros, provocando uma redução na frequência da limpeza da farmácia, não sendo esta diária. Outro motivo poderá ser o facto dos profissionais destas farmácias serem encarregues de várias funções como é habitual, tendo também a limpeza da farmácia a seu cargo. Por isso, apenas quando dispõem de algum tempo livre, após a realização das tarefas mais importantes para a farmácia, é que tratam da limpeza da

mesma e, normalmente, não da maneira mais adequada, preocupando-se mais com a estética e não com a desinfecção.

#### 4.2.3. Frequência de limpeza das farmácias

A frequência da limpeza das farmácias é um fator muito importante na contaminação por MRSA. Neste caso, apesar de apenas 5 farmácias desta amostra realizarem a limpeza semanalmente, foi possível verificar que uma limpeza semanal está efetivamente relacionada com uma maior contaminação por MRSA.

Assim, na figura 15, foi possível observar que as farmácias que realizam a limpeza/desinfecção semanalmente, apresentaram 40% de contaminação por MRSA. Contrariamente, para as farmácias em que a limpeza é diária foi obtido um valor de 28,9% de contaminação.

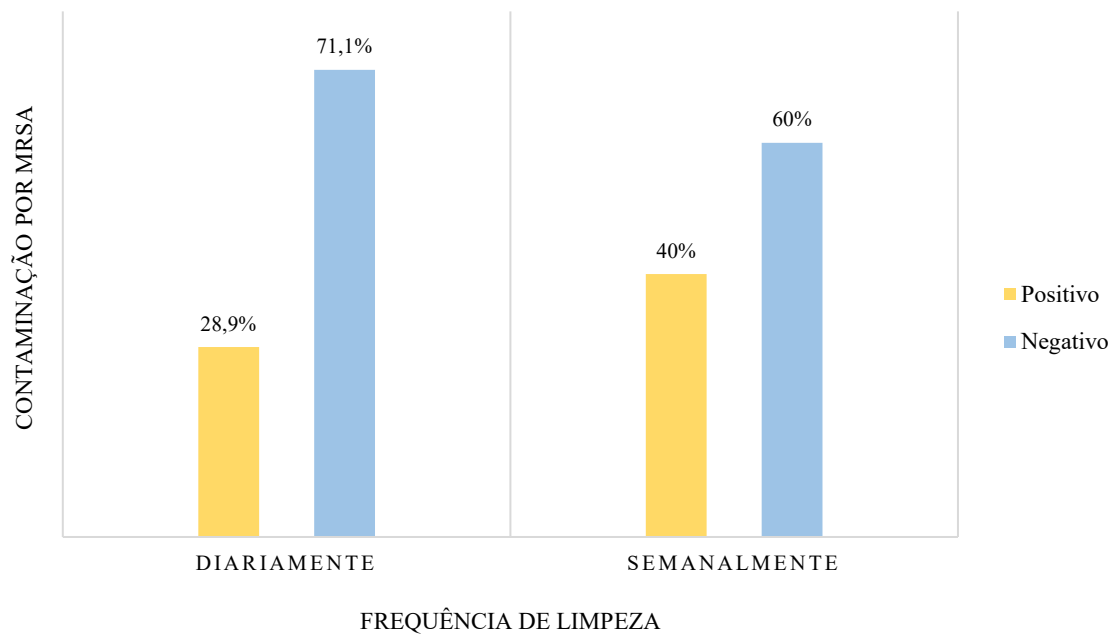


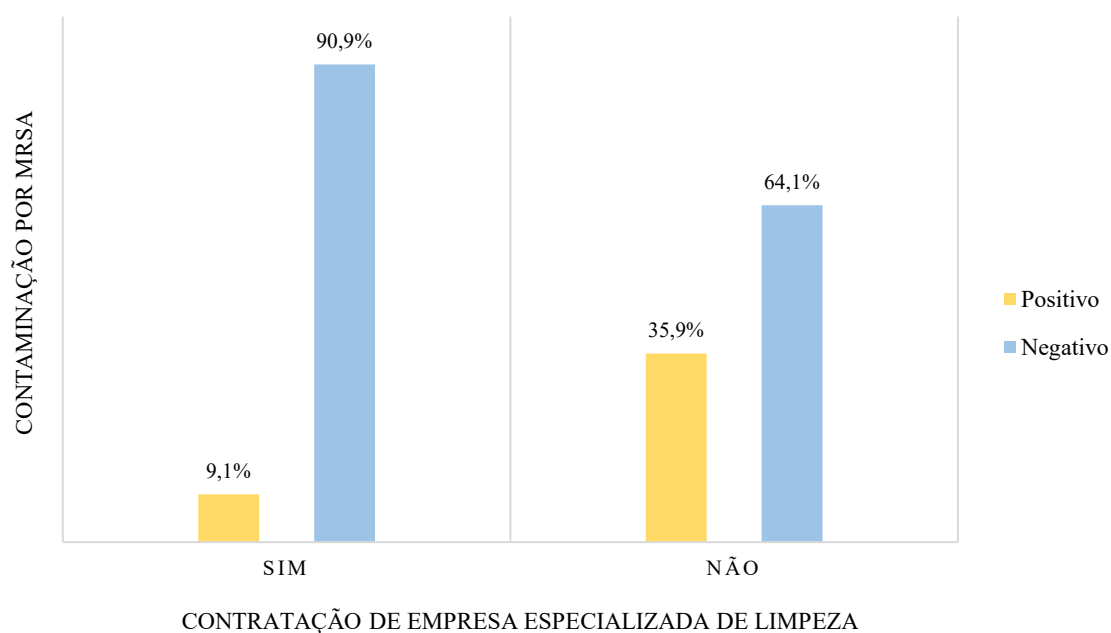
Figura 15: Contaminação por MRSA vs frequência de limpeza

Dado os resultados obtidos foi possível determinar que a frequência diária de limpeza/desinfecção das farmácias comunitárias está relacionada com uma menor contaminação por MRSA.

#### **4.2.4. Contratação de uma empresa especializada de limpeza**

Atualmente existem vários tipos de empresas especializadas em limpeza. Neste estudo foi possível comparar farmácias que contratam empresas profissionais que utilizam equipas maiores de funcionários, e por vezes, produtos específicos para a desinfeção de espaços de saúde, como por exemplo produtos antibacterianos, com outras que apenas contratam funcionários de limpeza tradicionais.

De acordo com a figura 16, foi possível constatar que a contratação de empresas especializadas de limpeza está relacionada com uma menor contaminação por MRSA, indicando que as empresas asseguram uma limpeza mais eficaz e profissional (9,1%).



**Figura 16:** Contaminação por MRSA vs contratação de empresa especializada de limpeza

## 5. Conclusão

As doenças infecciosas são uma das maiores causas de mortalidade no mundo, por isso justificam a necessidade urgente de novos agentes antibióticos. O que se tem observado ao longo do tempo é um aumento das taxas de resistência microbiana, especialmente em ambientes hospitalares, o decréscimo constante do número total de novos agentes antimicrobianos aprovados pelo *Food and Drug Administration* (FDA) e pela *European Medicines Agency* (EMA) e a necessidade de agentes que atuem por mecanismos de ação diferentes aos fármacos em uso (Guimarães et al., 2010; Mação et al., 2013; Payne, Gwynn, Holmes, & Pompliano, 2007).

Deste modo, algumas estratégias podem ser adotadas para evitar o desenvolvimento de resistência bacteriana, nomeadamente ao nível da prevenção, da vigilância e da educação dos profissionais de saúde quanto à prescrição de antibióticos. Para além disso, existe uma necessidade de reformular a regulamentação, designadamente na promoção do desenvolvimento de antibióticos pela indústria farmacêutica, na criação de meios para facilitar a investigação e desenvolvimento, principalmente ao nível do estudo dos mecanismos de resistência e da sua disseminação. O diagnóstico laboratorial precoce e preciso também é essencial no combate às resistências, para identificar as bactérias multirresistentes, diminuir a sua disseminação, e permitir obter resultados que auxiliem na escolha do antibiótico mais adequado, prolongando a vida do doente (Guimarães et al., 2010; Mação et al., 2013; Oliveira & Cardoso, 2012; Payne et al., 2007).

Nos últimos tempos, a prevalência de MRSA tem vindo a diminuir, nomeadamente na Europa. No entanto, de acordo com a ECDC, Portugal continua a ser um dos países com maior taxa de prevalência de MRSA na Europa. Por isso, é importante realizar-se uma monitorização e identificação precoce destas estirpes para instituir o tratamento antibiótico adequado o mais cedo possível e monitorizar a resistências. As farmácias como importantes unidades de saúde, podem ser uma potencial fonte de contaminação de MRSA. É importante que a sua limpeza seja eficaz de modo a controlar possíveis fontes de infeção, e reduzir a propagação de bactérias multirresistentes entre os doentes que a elas recorrem diariamente (European Centre for Disease Prevention and Control, 2015b; European Centre for Disease Prevention and Control & European Medicines Agency, 2013; Health Protection Surveillance Centre, 2014).

Os resultados obtidos neste estudo de identificação de MRSA revelaram 15 casos positivos (30%) numa amostra de farmácias comunitárias da área da Grande Lisboa. Porém, para confirmar estes resultados seria importante realizar testes genotípicos.

De acordo com os resultados, recomenda-se que: 1) farmácias com proximidade de UI e elevada afluência obrigam a um cuidado redobrado para que a limpeza seja eficaz; 2) a limpeza das farmácias seja realizada diariamente, e 3) a contratação de empresas especializadas de limpeza.

Dado a elevada percentagem de farmácias contaminadas por MRSA, é crucial realizar estudos semelhantes em Portugal e noutros países, visto que as infeções provocadas por MRSA são um grave problema de saúde pública. Atualmente, não existem estudos realizados em superfícies de farmácias comunitárias, o que é uma lacuna muito importante, uma vez que estas são um espaço de saúde de primeira instância.

Nos últimos anos tem-se assistido a um aumento significativo de infeções por bactérias multirresistentes, pelo que a prevenção da sua disseminação e transmissão revelaram-se indispensáveis no combate à resistência (Guimarães et al., 2010; Mação et al., 2013).

## Bibliografia

- Ammerlaan, H. S. M., Kluytmans, J. A. J. W., Wertheim, H. F. L., Nouwen, J. L., & Bonten, M. J. M. (2009). Eradication of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Carriage: A Systematic Review. *Clinical Infectious Diseases*, 48(7), 922–930. doi:10.1086/597291
- Argudín, M. Á., Mendoza, M. C., & Rodicio, M. R. (2010). Food Poisoning and *Staphylococcus aureus* Enterotoxins. *Toxins*, 2(7), 1751–1773. doi:10.3390/toxins2071751
- Bangert, S., Levy, M., & Hebert, A. A. (2012). Bacterial Resistance and Impetigo Treatment Trends: A Review. *Pediatric Dermatology*, 29(3), 243–248. doi:10.1111/j.1525-1470.2011.01700.x
- Barroso, H., Meliço-Silvestre, A., & Taveira, N. (2014). *Microbiologia Médica*. (Lidel, Ed.).
- Bartlett, A. H., & Hulten, K. G. (2010). *Staphylococcus aureus* Pathogenesis: Secretion Systems, Adhesins, and Invasins. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 29(9), 860–861. doi:10.1097/INF.0b013e3181ef2477
- Berktdold, M., Grif, K., Mäser, M., Witte, W., Würzner, R., & Orth-Höller, D. (2012). Genetic characterization of Pantone-Valentine leukocidin-producing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Western Austria. *The Central European Journal of Medicine*, 124(19–20), 709–715. doi:10.1007/s00508-012-0244-8
- Bien, J., Sokolova, O., & Bozko, P. (2011). Characterization of Virulence Factors of *Staphylococcus aureus*: Novel Function of Known Virulence Factors That Are Implicated in Activation of Airway Epithelial Proinflammatory Response. *Journal of Pathogens*, 2011, 1–13. doi:10.4061/2011/601905
- Bina, M., Pournajaf, A., Mirkalantari, S., Talebi, M., & Irajian, G. (2015). Detection of the *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) in *K. pneumoniae* Isolated from the Clinical Samples by the Phenotypic and Genotypic Methods. *Iranian Journal of Pathology*, 10(3), 199–205. doi:10.1007/s10346-005-0027-7

- Boucher, H. W., & Corey, G. R. (2008). Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Clinical Infectious Diseases*, 46(S5), S344–S349. doi:10.1086/533590
- Boyle-Vavra, S., & Daum, R. S. (2007). Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: the role of Panton-Valentine leukocidin. *Laboratory Investigation*, 87(1), 3–9. doi:10.1038/labinvest.3700501
- Brown, D. F. J., Edwards, D. I., Hawkey, P. M., Morrison, D., Ridgway, G. L., Towner, K. J., & Wren, M. W. D. (2005). Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 56(6), 1000–1018. doi:10.1093/jac/dki372
- Carvalho, K. S., Mamizuka, E. M., & Filho, P. P. G. (2009). Methicillin/Oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a hospital and public health threat in Brazil. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 14(1), 71–76. doi:10.1590/S1413-86702010000100014
- Castro, A., Komora, N., Ferreira, V., Lira, A., Mota, M., Silva, J., & Teixeira, P. (2016). Prevalence of *Staphylococcus aureus* from nares and hands on health care professionals in a Portuguese Hospital. *Journal of Applied Microbiology*, 121(3), 831–839. doi:10.1111/jam.13186
- Centers for Disease Control and Prevention. (2016). General Information About MRSA in the Community. Consultado a 12 de Setembro de 2016, disponível em <http://www.cdc.gov/mrsa/community/index.html>
- Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases, & Division of Healthcare Quality Promotion. (2016). Laboratory Testing for MRSA. Consultado a 21 de Junho de 2016, disponível em <http://www.cdc.gov/mrsa/lab/index.html#fn1>
- Chen, L. F. (2013). The changing epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: 50 years of a superbug. *American Journal of Infection Control*, 41(5), 448–451. doi:10.1016/j.ajic.2012.06.013

- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2016). *M100S Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing* (26<sup>a</sup> edição).
- Conceição, T., Diamantino, F., Coelho, C., de Lencastre, H., & Aires-de-Sousa, M. (2013). Contamination of Public Buses with MRSA in Lisbon, Portugal: A Possible Transmission Route of Major MRSA Clones within the Community. *PLOS ONE*, 8(11), 1–6. doi:10.1371/journal.pone.0077812
- Dancer, S. J. (2008). Importance of the environment in meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* acquisition: the case for hospital cleaning. *The Lancet Infectious Diseases*, 8(2), 101–113. doi:10.1016/S1473-3099(07)70241-4
- David, M. Z., & Daum, R. S. (2010). Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Epidemiology and Clinical Consequences of an Emerging Epidemic. *Clinical Microbiology Reviews*, 23(3), 616–687. doi:10.1128/CMR.00081-09
- DeLeo, F. R., Otto, M., Kreiswirth, B. N., & Chambers, H. F. (2010). Community-associated meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *The Lancet*, 375(9725), 1557–1568. doi:10.1016/S0140-6736(09)61999-1
- Deurenberg, R. H., & Stobberingh, E. E. (2008). The evolution of *Staphylococcus aureus*. *Infection, Genetics and Evolution*, 8(6), 747–763. doi:10.1016/j.meegid.2008.07.007
- Deurenberg, R. H., Vink, C., Kalenic, S., Friedrich, A. W., Bruggeman, C. A., & Stobberingh, E. E. (2007). The molecular evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology and Infection*, 13(3), 222–235. doi:10.1111/j.1469-0691.2006.01573.x
- Diederens, B. M. W., & Kluytmans, J. A. J. W. (2006). The emergence of infections with community-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Infection*, 52(3), 157–168. doi:10.1016/j.jinf.2005.09.001
- Direção Geral da Saúde. (2015). *Norma 018/2014 - Prevenção e Controlo de Colonização e Infeção por *Staphylococcus aureus*, resistente à Meticilina (MRSA) nos Hospitais e Unidades de Internamento de Cuidados Continuados Integrados*.

- Echániz-Aviles, G., Velazquez-Meza, M. E., Vazquez-Larios, M. del R., Soto-Noguerón, A., & Hernández-Dueñas, A. M. (2015). Diabetic foot infection caused by community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (USA300). *Journal of Diabetes*, 7(6), 891–892. doi:10.1111/1753-0407.12324
- Ellis, M. W., Schlett, C. D., Millar, E. V., Wilkins, K. J., Crawford, K. B., Morrison-Rodriguez, S. M., ... Tribble, D. R. (2014). Hygiene Strategies to Prevent Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Skin and Soft Tissue Infections: A Cluster-Randomized Controlled Trial Among High-Risk Military Trainees. *Clinical Infectious Diseases*, 58(11), 1540–1548. doi:10.1093/cid/ciu166
- Enright, M. C., Robinson, D. A., Randle, G., Feil, E. J., Grundmann, H., & Spratt, B. G. (2002). The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(11), 7687–7692. doi:10.1073/pnas.122108599
- European Centre for Disease Prevention and Control. (2015a). *Antimicrobial resistance (AMR) reporting protocol 2015*.
- European Centre for Disease Prevention and Control. (2015b). *Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2014*.
- European Centre for Disease Prevention and Control, & European Medicines Agency. (2013). *The bacterial challenge: time to react*.
- Fowler, V. G., Boucher, H. W., Corey, G. R., Abrutyn, E., Karchmer, A. W., Rupp, M. E., ... Cosgrove, S. E. (2006). Daptomycin versus Standard Therapy for Bacteremia and Endocarditis Caused by *Staphylococcus aureus*. *The New England Journal of Medicine*, 355(7), 653–665. doi:10.1056/NEJMoa053783
- Gelatti, L. C., Becker, A. P., Bonamigo, R. R., & D’Azevedo, P. A. (2009). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: emerging community dissemination. *The Journal Brazilian Annals of Dermatology*, 84(5), 501–506. doi:10.3390/antibiotics2010083
- Gordon, R. J., & Lowy, F. D. (2008). Pathogenesis of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infection. *Clinical Infectious Diseases*, 46(5), 350–359. doi:10.1086/533591

- Gorwitz, R. J., Kruszon-Moran, D., McAllister, S. K., McQuillan, G., McDougal, L. K., Fosheim, G. E., ... Kuehnert, M. J. (2008). Changes in the Prevalence of Nasal Colonization with *Staphylococcus aureus* in the United States, 2001-2004. *The Journal of Infectious Diseases*, 197(9), 1226–1234. doi:10.1086/533494
- Gould, F. K., Denning, D. W., Elliott, T. S. J., Foweraker, J., Perry, J. D., Prendergast, B. D., ... Watkin, R. W. (2012). Guidelines for the diagnosis and antibiotic treatment of endocarditis in adults: a report of the Working Party of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67(2), 269–289. doi:10.1093/jac/dkr450
- Gould, I. M., David, M. Z., Esposito, S., Garau, J., Lina, G., Mazzei, T., & Peters, G. (2012). New insights into methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) pathogenesis, treatment and resistance. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 39(2), 96–104. doi:10.1016/j.ijantimicag.2011.09.028
- Guimarães, D. O., Momesso, L. da S., & Pupo, M. T. (2010). Antibióticos: Importância Terapêutica e Perspectivas para a Descoberta e Desenvolvimento de Novos Agentes. *Quim. Nova*, 33(3), 667–679. doi:10.1590/S0100-40422010000300035
- Gupta, A. K., Lyons, D. C. A., & Rosen, T. (2015). New and emerging concepts in managing and preventing community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *International Journal of Dermatology*, 54(11), 1226–1232. doi:10.1111/ijd.13010
- Health Protection Surveillance Centre. (2014). *Annual Epidemiological Report 2014*.
- Hennigan, K., & Riley, C. (2016). Staphylococcal Scalded Skin Syndrome: A Case Review. *European Journal of Pediatric Dermatology*, 35(1), 8–12.
- Holmes, N. E., Johnson, P. D. R., & Howden, B. P. (2012). Relationship between Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus*, Vancomycin-Intermediate *S. aureus*, High Vancomycin MIC, and Outcome in Serious *S. aureus* Infections. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(8), 2548–2552. doi:10.1128/JCM.00775-12

- Howden, B. P., Davies, J. K., Johnson, P. D. R., Stinear, T. P., & Grayson, M. L. (2010). Reduced Vancomycin Susceptibility in *Staphylococcus aureus*, Including Vancomycin-Intermediate and Heterogeneous Vancomycin-Intermediate Strains: Resistance Mechanisms, Laboratory Detection, and Clinical Implications. *Clinical Microbiology Reviews*, 23(1), 99–139. doi:10.1128/CMR.00042-09
- Hsu, A. R., & Hsu, J. W. (2012). Topical Review: Skin Infections in the Foot and Ankle Patient. *Foot & Ankle International*, 33(7), 612–619. doi:10.3113/FAI.2012.0612
- Huang, H., Flynn, N. M., King, J. H., Monchaud, C., Morita, M., & Cohen, S. H. (2006). Comparisons of Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and Hospital-Associated MRSA Infections in Sacramento, California. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(7), 2423–2427. doi:10.1128/JCM.00254-06
- Humphreys, H., Grundmann, H., Skov, R., Lucet, J. C., & Cauda, R. (2009). Prevention and control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology and Infection*, 15(2), 120–124. doi:10.1111/j.1469-0691.2009.02699.x
- Infection Prevention Society. (2008). *Conselhos para pessoas não hospitalizadas afectadas por MRSA*.
- Johansen, L. K., & Jensen, H. E. (2013). Animal models of hematogenous *Staphylococcus aureus* osteomyelitis in long bones: a review. *Orthopaedic Research and Reviews*, 5, 51–64. doi:10.2147/ORR.S45617
- Johnson, R. C., Schlett, C. D., Crawford, K., Lanier, J. B., Scott Merrell, D., & Ellis, M. W. (2015). Recurrent Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Cutaneous Abscesses and Selection of Reduced Chlorhexidine Susceptibility during Chlorhexidine Use. *Journal of Clinical Microbiology*, 53(11), 3677–3682. doi:10.1128/JCM.01771-15
- Kiska, D. L. (1997). Staphylococcal and Streptococcal Toxic Shock Syndrome. *Clinical Microbiology Newsletter*, 19(5), 51–54. doi:10.1016/S0196-4399(01)80013-1

- Kobayashi, S. D., Musser, J. M., & DeLeo, F. R. (2012). Genomic Analysis of the Emergence of Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *American Society for Microbiology*, 3(4), 3–5. doi:10.1128/mBio.00170-12
- Köck, R., Becker, K., Cookson, B., van Gemert-Pijnen, J. E., Harbarth, S., Kluytmans, J., ... Friedrich, A. W. (2010). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): burden of disease and control challenges in Europe. *Eurosurveillance*, 15(41), 1–9.
- Lappin, E., & Ferguson, A. J. (2009). Gram-positive toxic shock syndromes. *The Lancet Infectious Diseases*, 9(5), 281–290. doi:10.1016/S1473-3099(09)70066-0
- Liu, C., Bayer, A., Cosgrove, S. E., Daum, R. S., Fridkin, S. K., Gorwitz, R. J., ... Chambers, H. F. (2011). Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America for the Treatment of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections in Adults and Children. *Clinical Infectious Diseases*, 52(3), 18–55. doi:10.1093/cid/ciq146
- Lowy, F. D. (2003). Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *The Journal of Clinical Investigation*, 111(9), 1265–1273. doi:10.1172/JCI200318535.In
- Mação, P., Lopes, J. C., Oliveira, H., Oliveira, G., & Rodrigues, F. (2013). Bactérias Multirresistentes Associadas aos Cuidados de Saúde num Hospital Pediátrico: Experiência de Cinco Anos. *Revista Científica Da Ordem Dos Médicos*, 26(4), 385–391.
- Mathews, C. J., & Coakley, G. (2008). Septic arthritis: current diagnostic and therapeutic algorithm. *Current Opinion in Rheumatology*, 20(4), 457–462. doi:10.1097/BOR.0b013e3283036975
- Melo-Cristino, J., Resina, C., Manuel, V., Lito, L., & Ramirez, M. (2013). First case of infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. *The Lancet*, 382(9888), 205. doi:10.1016/S0140-6736(13)61219-2
- Melter, O., & Radojevič, B. (2010). Small Colony Variants of *Staphylococcus aureus* - review. *Folia Microbiologica*, 55(6), 548–558. doi:10.1007/s12223-010-0089-3

- Mendes, J. J. (2010). Resistência Antibiótica no Staphylococcus aureus: da Investigação Básica à Prática Clínica. *Revista Portuguesa de Medicina Intensiva*, 17(1), 11–15.
- Miller, L. G., Eells, S. J., Taylor, A. R., David, M. Z., Ortiz, N., Zychowski, D., ... Daum, R. S. (2012). Staphylococcus aureus Colonization Among Household Contacts of Patients With Skin Infections: Risk Factors, Strain Discordance, and Complex Ecology. *Clinical Infectious Diseases*, 54(11), 1523–1535. doi:10.1093/cid/cis213
- Miller, M., Cook, H. A., Furuya, E. Y., Bhat, M., Lee, M. H., Vavagiakis, P., ... Lowy, F. D. (2009). Staphylococcus aureus in the Community: Colonization Versus Infection. *PLOS ONE*, 4(8), 1–9. doi:10.1371/journal.pone.0006708
- Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A. (2010). *Microbiologia Médica*. (Elsevier, Ed.) (6ª edição).
- Naber, C. K. (2009). Staphylococcus aureus Bacteremia: Epidemiology, Pathophysiology, and Management Strategies. *Clinical Infectious Diseases*, 48(4), 231–237. doi:10.1086/598189
- Nazareth, R., Gonçalves-Pereira, J., Tavares, A., Miragaia, M., de Lencastre, H., Silvestre, J., ... Póvoa, P. (2012). Infecção por staphylococcus aureus meticilina-resistente da comunidade em Portugal. *Revista Portuguesa de Pneumologia*, 18(1), 34–38. doi:10.1016/j.rppneu.2011.05.007
- Oliveira, M. V. de, & Cardoso, A. M. (2012). A Importância da Detecção de Enterobactérias Produtoras de Carbapenemases pelo Teste de Hodge Modificado. *NewsLab*, 113, 168–172.
- Olson, M. E., & Horswill, A. R. (2013). Staphylococcus aureus Osteomyelitis: Bad to the Bone. *Cell Host and Microbe*, 13(6), 629–631. doi:10.1016/j.chom.2013.05.015
- Payne, D. J., Gwynn, M. N., Holmes, D. J., & Pompliano, D. L. (2007). Drugs for bad bugs: confronting the challenges of antibacterial discovery. *Nature Reviews Drug Discovery*, 6, 29–40. doi:10.1038/nrd2201
- Pereira, L. B. (2014). Impetigo – review. *The Journal Brazilian Annals of Dermatology*, 89(2), 293–299. doi:10.1590/abd1806-4841.20142283

- Polsfuss, S., Bloemberg, G. V., Giger, J., Meyer, V., & Hombach, M. (2012). Comparison of European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) and CLSI screening parameters for the detection of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase production in clinical Enterobacteriaceae isolates. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67(1), 159–166. doi:10.1093/jac/dkr400
- Rasamiravaka, T., Rasoanandrasana, S., Zafindraibe, N. J., Rakoto Alson, A. O., & Rasamindrakotroka, A. (2013). Evaluation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal carriage in Malagasy patients. *Journal of Infection in Developing Countries*, 7(4), 318–322. doi:10.3855/jidc.2460
- Ray, P., Gautam, V., & Singh, R. (2011). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in developing and developed countries: implications and solutions. *Regional Health Forum*, 15(1), 74–82.
- Roberts, M. C., Soge, O. O., No, D., Beck, N. K., & Meschke, J. S. (2011). Isolation and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from fire stations in two northwest fire districts. *American Journal of Infection Control*, 39(5), 382–389. doi:10.1016/j.ajic.2010.09.008
- Rybak, M. J., & LaPlante, K. L. (2005). Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: A Review. *Pharmacotherapy*, 25(1), 74–85. doi:10.1592/phco.25.1.74.55620
- Santos, A. L. dos, Santos, D. O., Freitas, C. C. de, Ferreira, B. L. A., Afonso, I. F., Rodrigues, C. R., & Castro, H. C. (2007). *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. *Jornal Brasileiro de Patologia E Medicina Laboratorial*, 43(6), 413–423. doi:10.1590/S1676-24442007000600005
- Schelin, J., Wallin-Carlquist, N., Cohn, M. T., Lindqvist, R., Barker, G. C., & Rådström, P. (2011). The formation of *Staphylococcus aureus* enterotoxin in food environments and advances in risk assessment. *Landes Bioscience*, 2(6), 580–592. doi:10.4161/viru.2.6.18122
- Schulz, K., & Grimes, D. (2006). *The Lancet Handbook of Essential Concepts in Clinical Research*. (Elsevier, Ed.) (1ª edição).

- Scott, E., Duty, S., & Callahan, M. (2008). A pilot study to isolate Staphylococcus aureus and methicillin-resistant S aureus from environmental surfaces in the home. *American Journal of Infection Control*, 36(6), 458–460. doi:10.1016/j.ajic.2007.10.012
- Shashindran, N., Nagasundaram, N., Thappa, D. M., & Sistla, S. (2016). Can Panton Valentine Leukocidin Gene And Clindamycin Susceptibility Serve As Predictors of Community Origin of MRSA From Skin and Soft Tissue Infections? *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 10(1), DC01-DC04. doi:10.7860/JCDR/2016/14531.7036
- Skov, R., Christiansen, K., Dancer, S. J., Daum, R. S., Dryden, M., Huang, Y. C., & Lowy, F. D. (2012). Update on the prevention and control of community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus (CA-MRSA). *International Journal of Antimicrobial Agents*, 39(3), 193–200. doi:10.1016/j.ijantimicag.2011.09.029
- Smith, J., & Sandall, M. (2012). Staphylococcus Scalded Skin Syndrome in the newborn: A case review. *Journal of Neonatal Nursing*, 18(6), 201–205. doi:10.1016/j.jnn.2012.08.004
- Spratt, B. G. (2012). The 2011 Garrod Lecture: From penicillin-binding proteins to molecular epidemiology. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67(7), 1578–1588. doi:10.1093/jac/dks109
- Stefani, S., Chung, D. R., Lindsay, J. A., Friedrich, A. W., Kearns, A. M., Westh, H., & MacKenzie, F. M. (2011). Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA): global epidemiology and harmonisation of typing methods. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 39(4), 273–282. doi:10.1016/j.ijantimicag.2011.09.030
- Stulberg, D. L., Penrod, M. A., & Blatny, R. A. (2002). Common Bacterial Skin Infections. *American Family Physician*, 66(1), 119–124.
- Sunilkumar, M. N. (2015). Staphylococcal scalded skin syndrome – A case series with review of literature. *International Archives of Integrated Medicine*, 2(6), 214–219.

- van Bijnen, E. M. E., Paget, W. J., den Heijer, C. D. J., Stobberingh, E. E., Bruggeman, C. A., & Schellevis, F. G. (2014). Primary care treatment guidelines for skin infections in Europe: congruence with antimicrobial resistance found in commensal *Staphylococcus aureus* in the community. *BMC Family Practice*, *15*, 1–8. doi:10.1186/s12875-014-0175-8
- van Hal, S. J., Jensen, S. O., Vaska, V. L., Espedido, B. A., Paterson, D. L., & Gosbell, I. B. (2012). Predictors of Mortality in *Staphylococcus aureus* Bacteremia. *Clinical Microbiology Reviews*, *25*(2), 362–386. doi:10.1128/CMR.05022-11
- VanEperen, A. S., & Segreti, J. (2016). Empirical therapy in Methicillin-resistant *Staphylococcus Aureus* infections: An Up-To-Date approach. *Journal of Infection and Chemotherapy*, *22*(6), 351–359. doi:10.1016/j.jiac.2016.02.012
- Verkade, E., Elberts, S., Verhulst, C., & Kluytmans, J. (2009). Performance of Oxoid Brilliance MRSA medium for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: An in vitro study. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, *28*(12), 1443–1446. doi:10.1007/s10096-009-0802-9
- Verkade, E., Ferket, M., & Kluytmans, J. (2011). Clinical evaluation of Oxoid Brilliance MRSA Agar in comparison with bioMérieux MRSA ID medium for detection of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Medical Microbiology*, *60*(7), 905–908. doi:10.1099/jmm.0.021964-0
- Wertheim, H. F. L., Melles, D. C., Vos, M. C., Leeuwen, W. van, Belkum, A. van, Verbrugh, H. A., & Nouwen, J. L. (2005). The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *The Lancet Infectious Diseases*, *5*(12), 751–762. doi:10.1016/S1473-3099(05)70295-4
- Witte, W. (2009). Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: what do we need to know? *Clinical Microbiology and Infection*, *15*(7), 17–25. doi:10.1111/j.1469-0691.2009.03097.x
- World Health Organization. (2001). *Global Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance*.

World Health Organization. (2014). *Antimicrobial Resistance: Global Report on Surveillance*.

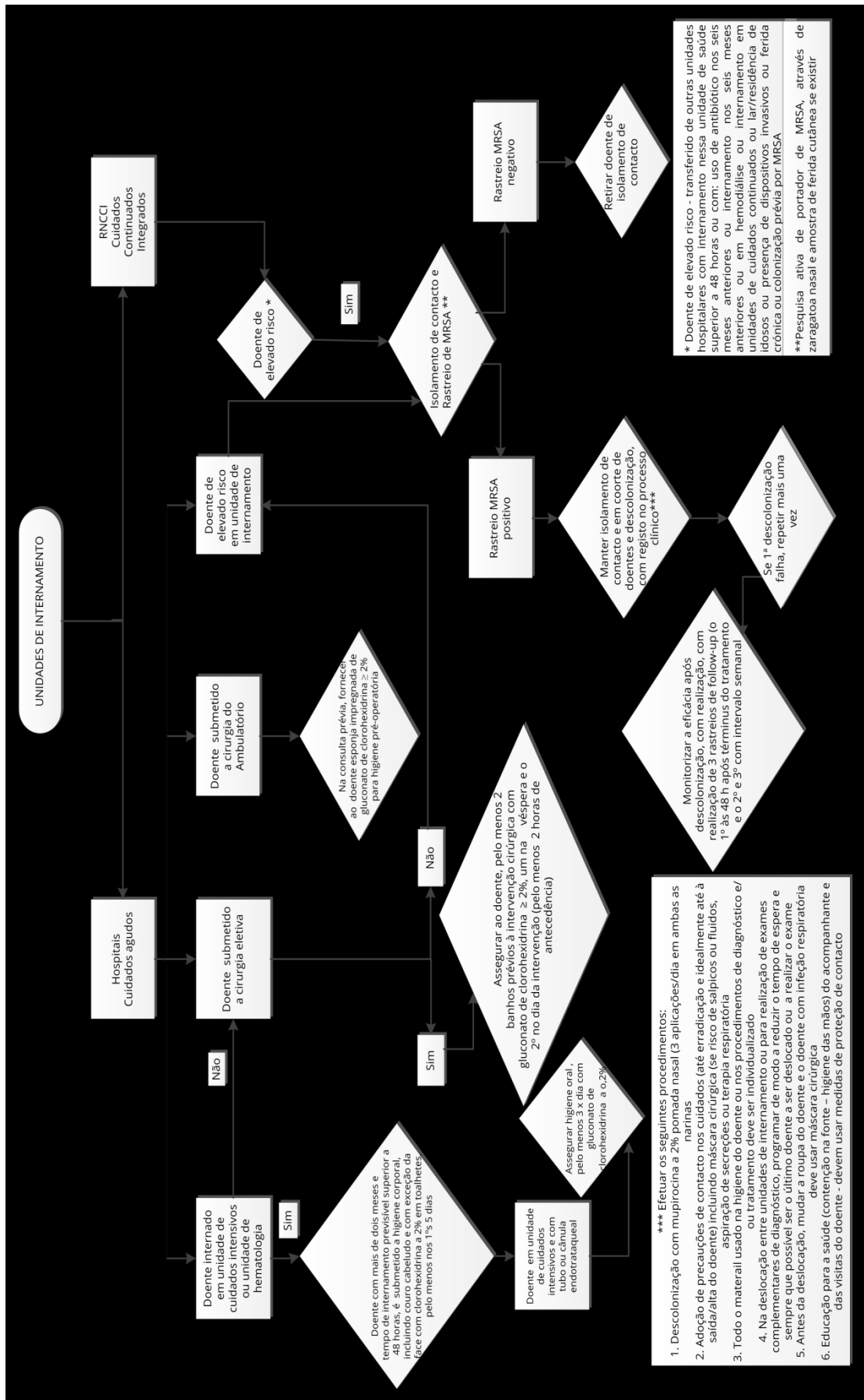
Yamamoto, T., Nishiyama, A., Takano, T., Yabe, S., Higuchi, W., Razvina, O., & Shi, D. (2010). Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: community transmission, pathogenesis, and drug resistance. *Journal of Infection and Chemotherapy*, *16*(4), 225–254. doi:10.1007/s10156-010-0045-9

Yasmin, M., El Hage, H., Obeid, R., El Haddad, H., Zaarour, M., & Khalil, A. (2016). Epidemiology of bloodstream infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at a tertiary care hospital in New York. *American Journal of Infection Control*, *44*(1), 41–46. doi:10.1016/j.ajic.2015.08.005

# **Anexos**



# Anexo I – Algoritmo clínico



## Anexo II – Questionário



Código

### Questionário

#### 1. Frequência de limpeza/desinfecção da farmácia.

- Diária
- Semanal
- Quinzenal
- Mensal

#### 2. Escala de limpeza/desinfecção da farmácia com especificação dos balcões.

| Horário   | 2ª feira | 3ª feira | 4ª feira | 5ª feira | 6ª feira | Sábado | Domingo |
|-----------|----------|----------|----------|----------|----------|--------|---------|
| 8h - 9h   |          |          |          |          |          |        |         |
| 9h - 10h  |          |          |          |          |          |        |         |
| 10h - 11h |          |          |          |          |          |        |         |
| 11h - 12h |          |          |          |          |          |        |         |
| 12h - 13h |          |          |          |          |          |        |         |
| 13h - 14h |          |          |          |          |          |        |         |
| 14h - 15h |          |          |          |          |          |        |         |
| 15h - 16h |          |          |          |          |          |        |         |
| 16h - 17h |          |          |          |          |          |        |         |
| 17h - 18h |          |          |          |          |          |        |         |
| 18h - 19h |          |          |          |          |          |        |         |
| 19h - 20h |          |          |          |          |          |        |         |
| 20h - 21h |          |          |          |          |          |        |         |
| 21h - 22h |          |          |          |          |          |        |         |
| 22h - 23h |          |          |          |          |          |        |         |
| 23h - 24h |          |          |          |          |          |        |         |

#### 3. Produtos de limpeza/desinfecção da farmácia.

- Produtos de limpeza comuns
- Desinfetantes

Quais? \_\_\_\_\_

#### 4. Caracterização da farmácia.

|                                      |  |
|--------------------------------------|--|
| Número de balcões                    |  |
| Número médio de atendimentos diários |  |
| Número de membros da equipa técnica  |  |

## Anexo III – Declaração de Consentimento Informado



### Consentimento Informado

Código | IMP:EM.PE.17\_02

Cascais, \_\_\_ de Maio de 2016

Exmo.(a) Sr.(a),

Eu, Vanessa Ramos Castanheira, no âmbito do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas na Unidade Curricular de Estágio do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz (ISCSEM), sob a orientação da Professora Doutora Patrícia Cavaco Silva, solicito autorização para a participação no estudo com o tema “Pesquisa de *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina (MRSA) em farmácias comunitárias da região de Lisboa: uma possível via de transmissão na comunidade?”, sobre a contaminação de superfícies em farmácias comunitárias com o objetivo de recolher amostras para posterior identificação, e que irá decorrer entre Maio e Julho de 2016.

A participação neste estudo é voluntária. A sua não participação não lhe trará qualquer prejuízo.

Este estudo pode trazer benefícios ao progresso do conhecimento sobre as vias de transmissão de MRSA na comunidade.

A informação recolhida destina-se unicamente a tratamento estatístico e/ou publicação e será tratada pelo orientador e/ou pelos seus mandatados. As recolhas realizadas na farmácia são anónimas e confidenciais, nunca sendo mencionado a identificação da farmácia.

*(Riscar o que não interessa)*

**ACEITO/NÃO ACEITO** participar neste estudo, confirmando que fui esclarecido sobre as condições do mesmo e que não tenho dúvidas.

---

*(Assinatura do responsável)*

## Boletim de Análise

Pesquisa de *S. aureus* e MRSA em balcões de atendimento  
no âmbito do estudo:

“Pesquisa de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA)  
em farmácias comunitárias da região de Lisboa: uma possível via de  
transmissão na comunidade?”

### Análise microbiológica

| Microrganismo                | Resultado |
|------------------------------|-----------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> |           |
| MRSA                         |           |

Atenciosamente,

Vanessa Castanheira  
Prof. Doutora Patrícia Cavaco Silva