

DIVERSIDADE DE ESTIRPES DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ISOLADAS num hospital de Lisboa num período de quatro anos

J. MELO CRISTINO, MARIA LUÍS FERNANDES, TERESA GARCIA, NUNO SERRANO,
MARIA JOSÉ SALGADO

Laboratório de Microbiologia. Faculdade de Medicina de Lisboa. Lisboa.

Instituto Bacteriológico Câmara Pestana. Lisboa.

Serviço de Patologia Clínica. Laboratório de Bacteriologia do Hospital de Santa Maria. Lisboa.

RESUMO

Durante um período de quatro anos estudaram-se 2020 estirpes de *Staphylococcus aureus* isoladas no Hospital de Santa Maria, das quais 26,3% eram resistentes à meticilina (MRSA). Os principais produtos onde os microrganismos foram isolados incluíram exsudados purulentos, sangue e expectoração / secreções brônquicas. O isolamento em hemoculturas foi o mais frequente em doentes de Serviços de Medicina. A susceptibilidade aos antimicrobianos mostrou que, enquanto as estirpes sensíveis à meticilina, para além da resistência à penicilina, se revelaram quase sempre sensíveis aos restantes antibióticos, o oposto verificou-se com as estirpes MRSA, multirresistentes, tendo sido a vancomicina o único antibiótico ao qual foram uniformemente sensíveis. A lisotípicia revelou que 75,5% dos microrganismos foram lisados com os fagos na diluição 100 x R.T.D. Nas estirpes sensíveis à meticilina, verificou-se haver uma grande diversidade de padrões de lise, nomeadamente dentro dos grupos I, II, III e V e com a associação fágica D11/95. A grande maioria das estirpes MRSA pertencia ao grupo III, embora se tenham observado vários padrões distintos de resposta. Nestas não houve reacções com os fagos dos grupos II ou V. O perfil plasmídico revelou-se o elemento menos discriminativo na caracterização dos microrganismos porque a maioria possuía apenas um (ou nenhum) plasmídeo. Os resultados obtidos demonstraram que não havia uma estirpe MRSA dominante no hospital mas sim várias estirpes distintas. Salientou-se a importância e também as dificuldades no controlo da disseminação hospitalar de estirpes MRSA nas condições actuais de prevalência elevada.

SUMMARY

Diversity of *Staphylococcus aureus* strains isolated in a Lisbon hospital over a 4 year period

Over a 4 year period, 2020 *Staphylococcus aureus* strains isolated in Santa Maria Hospital were studied, 26.3% of which were methicillin-resistant (MRSA). The main specimens from which the strains were isolated included pus, blood and sputum / bronchial secretions. Isolation in blood cultures was the most common source among patients from medical units. Antimicrobial susceptibility studies showed that while in methicillin susceptible strains sensitivity to other antimicrobial agents (apart from penicillin resistance) was the rule, in MRSA strains there was resistance to most antibiotics. Only vancomycin was active against all strains. Phage typing showed that 75.5% of the strains were typable with phages at 100 x R.T.D. Among methicillin sensitive strains, a big diversity of phage patterns was observed, including phage

groups I, II, III and V, as well as with phage association D11/95. The large majority of MRSA strains were lysed by group III phages, although several distinct patterns were observed. Within these strains, lysis by groups II and V phages was not observed. Plasmid profiling was the least discriminant issue in the characterization of these micro-organisms because most of the strains harboured only one plasmid (or none). These results showed that a dominant MRSA strain did not exist in this hospital, but rather several distinct strains. The importance, as well as the difficulties in controlling the spread of MRSA strains in the present conditions of high prevalence, are highlighted.

INTRODUÇÃO

As bactérias da espécie *Staphylococcus aureus* são desde há muito reconhecidas como importantes agentes patogénicos para o homem. As infecções que causam contam-se entre as mais frequentes nos doentes hospitalizados e podem ter graves consequências, apesar da terapêutica antibiótica¹. Nas últimas duas décadas a situação assumiu características novas e preocupantes porque se difundiram muito rapidamente as estirpes resistentes à meticilina, designadas internacionalmente pela sigla MRSA (Methicillin Resistant *Staphylococcus Aureus*).

As estirpes MRSA têm sido objecto de particular atenção e estudo nos últimos anos porque são frequentemente resistentes a muitos outros antimicrobianos, sendo muito limitadas as possibilidades de terapêutica etiográfica das infecções. Outro aspecto primordial é a sua íntima relação com a infecção hospitalar, sendo ainda pouco frequente o isolamento em doentes da comunidade². Embora a virulência não seja superior à das estirpes susceptíveis à meticilina, a infecção por MRSA, devido aos problemas terapêuticos e à fácil disseminação hospitalar, constitui um desafio constante para os clínicos e para as comissões de controlo de infecção³. A prevalência da infecção é, contudo, muito variável a nível internacional e, por exemplo, só na Europa, ela oscila entre valores inferiores a 1%, como na Dinamarca e Suécia, e superiores a 30%, casos de Espanha, França e Itália³. Em Portugal, em estudos multicêntricos recentes envolvendo vários hospitais do País, verificou-se que a prevalência era próxima dos 50%^{4,5}.

No presente estudo apresentam-se características microbiológicas e epidemiológicas de estirpes de *Staphylococcus aureus* isoladas no Hospital de Santa Maria durante um período de quatro anos.

MATERIAL E MÉTODOS

Estirpes bacterianas

O Hospital de Santa Maria é o maior hospital de Lisboa com cerca de 1300 camas. Todas as estirpes incluídas neste estudo (2020 *Staphylococcus aureus*) foram isoladas a partir de produtos biológicos e retiradas ao acaso de entre a totalidade dos microrganismos desta espécie isolados no

Laboratório de Bacteriologia do hospital durante um período de quatro anos, entre Janeiro de 1993 e Dezembro de 1996.

Identificação

A pesquisa de *Staphylococcus aureus* foi efectuada por metodologia convencional em todos os produtos onde a sua presença poderia ter significado patogénico ou interesse epidemiológico. A identificação efectuou-se com base nas características morfológicas e tinturiais e provas de produção de coagulase e/ou DNase.

Susceptibilidade aos antimicrobianos

A susceptibilidade aos agentes antimicrobianos foi efectuada por três métodos de difusão em gelose, utilizando discos incorporados com os antimicrobianos nas concentrações indicadas para cada método: método comparativo⁶ para os antibióticos ensaiados na rotina laboratorial hospitalar (penicilina, eritromicina, gentamicina, ciprofloxacina e vancomicina), método de Kirby-Bauer⁷ para os antimicrobianos ensaiados apenas como marcadores (tetraciclina, cloranfenicol, eritromicina, clindamicina, tobramicina, canamicina, neomicina, co-trimoxazol, ácido fusídico e rifampicina) e, para a determinação da susceptibilidade à meticilina foram utilizados os meios de DST® e Columbia Agar Base® adicionado de 5% de NaCl e, para cada estirpe, um disco de 5µg de meticilina e um disco de 1µg de oxacilina, com incubação a 35°C e a 30°C durante 24 horas⁸.

Lisotipia

A lisotipia foi efectuada no Centro Nacional de Lisotipia de Estafilococos no Instituto Bacteriológico Câmara Pestana, utilizando 29 bacteriófagos específicos na diluição 100 x R.T.D., de acordo com a metodologia descrita por Blair e Williams⁹. Utilizaram-se os bacteriófagos ou fagos do *basic-set* distribuídos pelos quatro grupos de lisotipia, a saber, grupo I (29, 52, 52A, 79, 80), grupo II (3A, 3C, 55, 71), grupo III (6, 42E, 47, 53, 54, 75, 77, 83A, 84, 85) e grupo V (94, 96), e ainda os fagos experimentais D11, 95, HK2, 81, 88, 89, 90 e 92.

Perfil plasmídico

O perfil plasmídico foi estudado após isolamento dos

plasmídios por um método de lise alcalina e sua posterior separação por electroforese em gel de agarose, segundo metodologia anteriormente descrita¹⁰.

RESULTADOS

Nos quatro anos a que se reporta o presente estudo, das 2020 estirpes de *Staphylococcus aureus* ensaiadas, 1488 eram sensíveis à meticilina (MSSA), sendo as restantes 532 (26,3%) resistentes (MRSA). Alguns resultados serão apresentados divididos em quatro grupos: Medicina (inclui estirpes isoladas de doentes de Serviços de Medicina e Serviços de especialidades médicas), Cirurgia (Serviços de Cirurgia e de especialidades cirúrgicas), UCI (Unidades de Cuidados Intensivos médicas, cirúrgicas e polivalentes) e Pediatria. Assim, no Quadro I está apresentada a distribuição das estirpes pelos vários Serviços e nos Quadros II a V estão assinalados os produtos onde foram isoladas.

Quadro I - Origem das 2020 estirpes de Staphylococcus aureus

Serviços	MSSA	MRSA
Medicina	517 (34,7%)	169 (31,8%)
Cirurgia	408 (27,4)	206 (38,7)
UCI	311 (20,9)	121 (22,7)
Pediatria	252 (16,9)	36 (6,8)
Total	1488 (100)	532 (100)

Quadro II - Produtos onde se isolaram estirpes de Staphylococcus aureus em doentes de Medicina

Produto	Número de estirpes (%)	
	MSSA (n=517)	MRSA (n=169)
Sangue	212 (41,0%)	43 (25,4%)
Pus	163 (31,5)	73 (43,2)
Expect./S.Brônq.	73 (14,1)	26 (15,4)
Urina	41 (7,9)	6 (3,6)
Cateter	16 (3,1)	12 (7,1)
Líquido ascítico	4 (0,8)	3 (1,8)
Outros	8 (1,5)	6 (3,6)

Expect./S. Brônq. - Expectoração/Secreções brônquicas

Quadro III - Produtos onde se isolaram estirpes de Staphylococcus aureus em doentes de Cirurgia

Produto	Número de estirpes (%)	
	MSSA (n=408)	MRSA (n=206)
Pus	282 (69,1%)	128 (62,1%)
Expect./S.Brônq.	37 (9,1)	23 (11,2)
Sangue	32 (7,8)	15 (7,3)
Cateter	20 (4,9)	14 (6,8)
Urina	17 (4,2)	11 (5,3)
Líquido pleural	2 (0,5)	4 (1,9)
Outros	18 (4,4)	11 (5,3)

Expect./S. Brônq. - Expectoração/Secreções brônquicas

Quadro IV - Produtos onde se isolaram estirpes de Staphylococcus aureus em doentes de Unidades de Cuidados Intensivos

Produto	Número de estirpes (%)	
	MSSA (n=311)	MRSA (n=121)
Pus	172 (55,3%)	39 (32,2%)
Sangue	53 (17,0)	28 (23,1)
Expect./S.Brônq.	47 (15,1)	22 (18,2)
Cateter	13 (4,2)	12 (9,9)
Urina	8 (2,6)	4 (3,3)
Líquido ascítico	5 (1,6)	4 (3,3)
Líquido pleural	4 (1,3)	5 (4,1)
Outros	9 (2,9)	7 (5,8)

Expect./S. Brônq. - Expectoração/Secreções brônquicas

Quadro V - Produtos onde se isolaram estirpes de Staphylococcus aureus em doentes de Pediatria

Produto	Número de estirpes (%)	
	MSSA (n=252)	MRSA (n=36)
Expect./S.Brônq.	149 (59,1%)	20 (55,6%)
Pus	49 (19,4)	6 (16,7)
Sangue	30 (11,9)	2 (5,6)
Urina	2 (0,8)	1 (2,8)
Exsudado auricular	6 (2,4)	
Exsudado ocular	9 (3,6)	4 (11,1)
Outros	7 (2,8)	3 (8,3)

Expect./S. Brônq. - Expectoração/Secreções brônquicas

A susceptibilidade aos agentes antimicrobianos está indicada no Quadro VI.

Quadro VI - Susceptibilidade aos Agentes Antimicrobianos das estirpes de Staphylococcus aureus

Agente Antimicrobiano	Número de estirpes resistentes (%)	
	MSSA (n=1488)	MRSA (n=532)
Penicilina	1384 (93,0%)	532 (100%)
Meticilina	0 (0,0)	532 (100)
Tetraciclina	106 (7,1)	473 (88,9)
Eritromicina	48 (3,2)	467 (87,8)
Clindamicina	21 (1,4)	59 (11,1)
Cloranfenicol	9 (0,6)	14 (2,6)
Gentamicina	63 (4,2)	506 (95,1)
Tobramicina	63 (4,2)	509 (95,7)
Canamicina	63 (4,2)	509 (95,7)
Neomicina	64 (4,3)	509 (95,7)
Ciprofloxacina	136 (9,1)	512 (96,2)
Co-trimoxazol	23 (1,5)	48 (9,0)
Ácido fusídico	14 (0,9)	6 (1,1)
Rifampicina	31 (2,1)	143 (26,9)
Vancomicina	0 (0,0)	0 (0,0)

Das estirpes incluídas no presente estudo foram submetidas à prova da lisotipia 1813. Os resultados conjuntos estão apresentados no Quadro VII, e nos Quadros

VIII a XI assinala-se a distribuição por Serviços. Foram considerados tipáveis todos os microrganismos em que se obteve uma reacção de lise de + ou superior com pelo menos um dos fagos utilizados. Os resultados estão apre-

Quadro VII - Lisotipia (100 x R.T.D.) de 1813 estirpes de Staphylococcus aureus

Grupo Fágico	Número de estirpes (%)	
	MSSA (n=1345)	MRSA (n=468)
I	118 (8,8%)	6 (1,3%)
II	203 (15,1)	
III	186 (13,8)	229 (48,9)
III +	81 (6,0)	55 (11,8)
I + III	19 (1,4)	17 (3,6)
I + III +	171 (12,7)	75 (16,0)
V	87 (6,5)	
D11/95	61 (4,5)	2 (0,4)
89	11 (0,8)	7 (1,5)
90	1 (<0,1)	
92	23 (1,7)	9 (1,9)
HK2	8 (0,6)	
NT (Não Tipáveis)	376 (28,0)	68 (14,5)

Quadro VIII - Lisotipia (100 x R.T.D.) das estirpes de Staphylococcus aureus isoladas em doentes de Medicina

Grupo Fágico	Número de estirpes (%)	
	MSSA (n=484)	MRSA (n=149)
I	41 (8,5%)	
II	65 (13,4)	
III	74 (15,3)	80 (53,7)
III +	20 (4,1)	15 (10,1)
I + III	12 (2,5)	3 (2,0)
I + III +	57 (11,8)	21 (14,1)
V	34 (7,0)	
D11/95	25 (5,2)	1 (0,7)
89	3 (0,6)	4 (2,7)
92	7 (1,4)	3 (2,0)
HK2	5 (1,0)	
NT (Não Tipáveis)	141 (29,1)	22 (14,8)

Quadro IX - Lisotipia (100 x R.T.D.) das estirpes de Staphylococcus aureus isoladas em doentes de Cirurgia

Grupo Fágico	Número de estirpes (%)	
	MSSA (n=354)	MRSA (n=177)
I	29 (8,2%)	6 (3,4%)
II	59 (16,7)	
III	47 (13,3)	85 (48,0)
III +	30 (8,5)	21 (11,9)
I + III	4 (1,1)	11 (6,2)
I + III +	45 (12,7)	29 (16,4)
V	15 (4,2)	
D11/95	9 (2,5)	
89	4 (1,1)	3 (1,7)
92	13 (3,7)	4 (2,3)
NT (Não Tipáveis)	99 (28,0)	18 (10,2)

Quadro X - Lisotipia (100 x R.T.D.) das estirpes de Staphylococcus aureus isoladas em doentes de Unidades de Cuidados Intensivos

Grupo Fágico	Número de estirpes (%)	
	MSSA (n=275)	MRSA (n=110)
I	31 (11,3%)	
II	58 (21,1)	
III	22 (8,0)	45 (40,9)
III +	14 (5,1)	19 (17,3)
I + III	3 (1,1)	3 (2,7)
I + III +	29 (10,5)	18 (16,4)
V	24 (8,7)	
D11/95	12 (4,4)	1 (0,9)
89	4 (1,5)	
90	1 (0,4)	
92	3 (1,1)	2 (1,8)
NT (Não Tipáveis)	74 (26,9)	22 (20,0)

Quadro XI - Lisotipia (100 x R.T.D.) das estirpes de Staphylococcus aureus isoladas em doentes de Pediatria

Grupo Fágico	Número de estirpes (%)	
	MSSA (n=232)	MRSA (n=32)
I	17 (7,3%)	
II	21 (9,1)	
III	43 (18,5)	19 (59,4)
III +	17 (7,3)	
I + III +	40 (17,2)	7 (21,9)
V	14 (6,0)	
D11/95	15 (6,5)	
HK2	3 (1,3)	
NT (Não Tipáveis)	62 (26,7)	6 (18,8)

sentados de forma simplificada porque se indicam apenas os grupos de lisotipia a que pertencem e / ou os fagos experimentais que lisaram as diferentes estirpes. Os microrganismos pertencentes a um grupo de lisotipia e ainda lisados por um ou mais fagos experimentais estão assinalados como pertencentes ao grupo respectivo acrescido do sinal +. Não está indicada a intensidade das reacções de lise nem as diferenças entre as estirpes pertencentes aos mesmos grupos de lisotipia.

No grupo I as reacções mais frequentemente observadas foram 29, 29/79 e 29/52/52A/79. No grupo III 77/84, 85, 54/77/84, 75/77, 6/47/54/75/77/84/85 e 42E/54/75/77/83A/84/85. Em III+ observaram-se reacções por um ou mais fagos do grupo III e os fagos 88, 89, 90 e/ou 92. As associações observadas em I+III e I+III+ incluíram igualmente como mais frequentes os fagos anteriormente referidos.

O estudo dos perfis plasmídicos foi efectuado em 673 estirpes. Verificou-se que a maioria apresentava só um plasmídeo (422; 62,7%), ou nenhum (168; 25,0%). Em apenas 55 (8,2%) estirpes se demonstrou a existência de

dois plasmídios e em 28 (4,2%) de três ou mais. Não foi objectivo do presente estudo demonstrar qual ou quais as resistências aos antimicrobianos codificadas pelos plasmídios.

DISCUSSÃO

No presente estudo não se fez a distinção entre microrganismos oriundos da comunidade ou adquiridos no hospital mas o grande número de estirpes e a diversidade da sua proveniência ilustram a elevada frequência das infecções por *Staphylococcus aureus*, facto aceite por muitos autores que demonstraram que a espécie se encontra entre os microrganismos patogénicos primários mais frequentes em doentes hospitalizados e é um dos principais agentes etiológicos de infecção hospitalar^{11,12}.

A análise dos produtos onde as estirpes foram isoladas merece alguns comentários. É indiscutível que a grande maioria dos isolamentos teve origem em produtos nos quais a sua valorização como agentes patogénicos é indiscutível. A excepção verifica-se no caso da expectoração e secreções brônquicas (10 a 15% das estirpes isoladas em Medicina, Cirurgia e UCI e mais de 50% em Pediatria), onde a distinção entre infecção e colonização não é fácil e para a clarificar, são também indispensáveis os critérios clínicos e imagiológicos, para além dos microbiológicos. A razão deste elevado número em Pediatria deve-se ao facto de o Hospital de Santa Maria ser um dos centros nacionais de fibrose quística e, por isso, a maioria dos isolamentos ter tido origem em doentes com esta situação clínica, na qual a espécie *Staphylococcus aureus* é reconhecida como uma das bactérias mais frequentemente responsáveis pelos surtos de infecção respiratória característicos da evolução da doença^{13,14}.

É também de salientar a natural predominância de estirpes isoladas de exsudações ou colecções purulentas mas, sobretudo, a frequência do isolamento a partir do sangue, em hemoculturas. É significativo o facto de em doentes de Medicina este ter sido o produto onde mais vezes se isolaram *Staphylococcus aureus* (37,2% das estirpes). Os resultados estão de acordo com a experiência recente de alguns autores que verificaram ser actualmente esta espécie o agente mais frequentemente isolado em hemoculturas, em doentes hospitalizados¹⁵.

A prevalência de estirpes MRSA em hospitais portugueses é muito elevada, como já foi salientado. A situação não é exclusiva do nosso País, verificando-se igualmente noutros hospitais europeus e americanos^{16,17}. O controlo da sua ocorrência é nestas circunstâncias mais

dificultado. As medidas de isolamento dos doentes e de rastreio de portadores na admissão hospitalar, como é recomendado por peritos internacionais¹⁸, são impraticáveis nos hospitais portugueses ou de qualquer outro local onde a prevalência é tão elevada. Contudo, este facto não deverá servir de justificação para o abrandamento das medidas tendentes à limitação da sua transmissão no hospital, aspecto a abordar mais adiante.

No presente estudo, a frequência do isolamento de estirpes MSSA e MRSA foi idêntica em todos os doentes do hospital (com excepção da Pediatria, onde a ocorrência de MRSA foi mais baixa) e para todos os produtos, o que mostra que embora não esteja provado que as estirpes MRSA sejam mais virulentas, em ambiente hospitalar, elas são capazes de causar infecções com frequência e importância clínica comparável às causadas por MSSA^{19,20}.

O estudo da susceptibilidade aos antimicrobianos não revelou resultados inesperados e permitiu confirmar a grande diferença existente entre as estirpes sensíveis e resistentes à meticilina. Assim, as estirpes MSSA, para além da resistência à penicilina, revelaram baixa percentagem de resistência aos restantes antimicrobianos ensaiados, incluindo aqueles com reduzido interesse terapêutico. A resistência foi sempre inferior a 5% em relação aos macrólidos, aminoglicosidos, co-trimoxazol, ácido fusídico e rifampicina. Os valores mais elevados obtiveram-se para a ciprofloxacina e tetraciclina mas em ambos os casos foram inferiores a 10%.

As estirpes MRSA, pelo contrário, para além da resistência à meticilina, revelaram-se igualmente resistentes à maioria dos restantes antibióticos. Apenas a vancomicina se revelou sempre activa. Para além deste, foram poucos os outros antimicrobianos em relação aos quais se demonstrou susceptibilidade num número apreciável de estirpes. A clindamicina e sobretudo o cloranfenicol não são fármacos de eleição para a terapêutica das infecções estafilocócicas e o co-trimoxazol, ácido fusídico ou rifampicina, embora activos, não devem ser administrados isoladamente porque a eclosão de resistência é, nesses casos, elevada^{21,22}.

É de salientar que este padrão de multiresistência é o mais habitual¹¹ mas ocorrem por vezes diferenças interessantes como, por exemplo, a relatada por Zaman e Dibb²³ que verificaram que as estirpes MRSA isoladas em Jeddah (Arábia Saudita) eram igualmente multiresistentes mas, em relação à ciprofloxacina, a percentagem de resistência encontrada foi de apenas 1%. Assim, as estirpes MRSA continuam a colocar problemas de terapêutica etiotrópica quando causam infecções

graves^{17,24} porque os antibióticos disponíveis e eficazes continuam actualmente limitados à classe dos glicopeptídicos, como também se verificou no presente estudo.

A prova da lisotipia foi efectuada exclusivamente com os fagos na diluição 100 x R.T.D. e revelou que 75,5% das estirpes ensaiadas foram lisadas por pelo menos um dos fagos usados. A percentagem de microrganismos tipáveis foi ainda superior (85,5%) se se considerarem apenas as estirpes MRSA.

É interessante verificar que nas estirpes MSSA, embora em 33,9% dos casos se tenha verificado susceptibilidade a pelo menos um dos fagos do grupo III, houve uma grande diversidade nos padrões de lisotipia encontrados, nomeadamente dentro dos grupos I, II, III e V e com a associação fágica D11/95. Os fagos experimentais, quer isoladamente quer em associação com os fagos dos grupos I e III, revelaram-se também úteis, possibilitando a obtenção de um número mais elevado de estirpes tipadas. É ainda digno de realce o facto de a diversidade de respostas obtida se ter verificado de forma idêntica em todos os grupos de doentes. Não se demonstrou, por isso, haver estirpes claramente dominantes em alguns serviços do hospital.

As estirpes MRSA foram, na sua maioria (80,3%), lisadas por pelo menos um fago do grupo III, embora se tenham observado vários padrões distintos de resposta. O domínio do grupo III tem sido verificado nos últimos anos em MRSA²⁵⁻²⁷. Como já foi anteriormente referido, foram poucos os microrganismos não tipáveis (14,5%), um achado que contraria a experiência de alguns autores, que verificam ser cada vez mais elevado o número de estirpes MRSA não susceptíveis aos fagos usados correntemente nas provas de lisotipia^{27,28}.

Uma das razões que pode explicar esta situação deve-se ao facto de não se ter demonstrado a ocorrência de uma estirpe dominante no hospital, mas sim a existência simultânea de várias estirpes distintas, o que pode ter elevado o número de microrganismos tipáveis.

É digno de registo o facto de, apesar de ter sido relativamente frequente a lise por fagos dos grupos II e V em MSSA, esta não se ter demonstrado nas estirpes MRSA. Os dados observados no presente estudo são muito semelhantes aos obtidos por Rossney et al²⁷ na Irlanda e por Mlynarczyk et al²⁹ e Trzcinski et al³⁰ na Polónia, onde a maioria das estirpes MRSA hospitalares é lisada por fagos do grupo III e /ou por alguns dos fagos experimentais e, mais raramente, observa-se a associação I + III. É também concordante a ausência de MRSA lisados por fagos dos grupos II ou V, apesar da sua frequência significativa nas estirpes MSSA isoladas em simultâneo.

O perfil plasmídico revelou-se o elemento menos discriminativo na caracterização dos microrganismos. A maioria das estirpes estudadas ou tinha apenas um plasmídio, ou não possuía nenhum. Resultados idênticos foram referidos por outros autores³¹. Ao contrário do que acontece com as espécies não produtoras de coagulase, o perfil plasmídico é pouco discriminativo e tem um interesse reduzido na caracterização de *Staphylococcus aureus*. Por este motivo o estudo foi efectuada num número menor de estirpes, e os resultados não foram diferentes de outros obtidos no mesmo hospital em 1986 e 1987¹⁰.

No hospital existiam, no período do estudo, várias estirpes MRSA distintas, como o demonstram os resultados aqui apresentados, bem como outros estudos recorrendo a técnicas de biologia molecular mais discriminativas anteriormente realizados³², apesar do número restrito de estirpes então analisado. Esta situação, embora seja ocasionalmente encontrada por outros autores^{26,29,33}, não é a habitual quando existe um surto de infecções por MRSA. Neste caso, a maioria dos microrganismos isolados pertencem ao mesmo clone³⁴⁻³⁶, o que não se verificou no presente estudo. A existência simultânea de várias estirpes MRSA coloca dificuldades adicionais para o controlo da sua disseminação porque é mais difícil a identificação de reservatórios e a sua eliminação¹⁸.

Contudo, mesmo existindo estirpes diversas em simultâneo, o cumprimento rigoroso das medidas que contrariam a disseminação hospitalar de MRSA levarão a uma redução da sua prevalência. O instrumento de transmissão mais frequente são as mãos. A via aérea é mais rara e tem uma importância desconhecida³⁷. O controlo da transmissão é aparentemente simples e passa pelo impedimento de que um microrganismo que coloniza ou infecta um doente possa ter acesso a outro. Esta medida seria facilmente conseguida com a lavagem correcta das mãos antes e após a manipulação de cada doente, prática tão simples e desejável quanto falível. As razões que justificam a dificuldade de implementação deste tipo de medidas de controlo de infecção estão fora do âmbito do presente estudo, mas são uma realidade preocupante. Medidas adicionais, como o isolamento dos doentes colonizados (em salas individuais ou em coortes) e a pesquisa de portadores assintomáticos são igualmente importantes, mas só serão eficazes se a lavagem das mãos for correctamente cumprida³⁷.

Para além de todos os procedimentos cujo objectivo é o impedimento da transmissão das estirpes entre doentes, outro componente essencial para diminuir a prevalência

das infecções por MRSA é a redução da pressão selectiva exercida pelos antibióticos. Para alcançar este importante objectivo é essencial que a prescrição antibiótica seja sempre correcta, tanto na escolha dos fármacos a utilizar, como nas doses administradas e duração das terapêuticas. Se não se efectuar um esforço para aliviar a pressão selectiva, a redução de estirpes MRSA no ecossistema hospitalar será mais difícil^{24,38}.

Embora a resolução deste complexo problema seja muito difícil de alcançar, há exemplos de hospitais em que foi conseguida^{37,40,41}. Tal como salientaram Faoagali et al³⁸, para além da importância na morbidade dos doentes, provavelmente o maior impacto das estirpes MRSA é como indicador da eficácia das práticas de controlo de infecção usadas no hospital. Entre outras, esta razão é suficientemente importante para que prossigam os estudos de vigilância epidemiológica como o agora apresentado.

AGRADECIMENTO

O autor (J.M.C.) agradece à Sociedade Portuguesa de Patologia Clínica o apoio que lhe foi concedido para a realização deste trabalho.

BIBLIOGRAFIA

1. YZERMAN EPF, BOELEN HAM, TJHIE JHT et al: Δ PACHE II for predicting course and outcome of nosocomial *Staphylococcus aureus* bacteremia and its relation to host defense. *J Infect Dis* 1996; 173: 914-919.
2. JOHNSON Z, FITZPATRIK P, HAYES C et al: National survey of MRSA: Ireland, 1995. *J. Hosp. Infect.* 1997; 35: 175-184.
3. VOSS A, MILATOVIC D, WALLRAUCH-SCHWARZ C et al: Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994; 13: 50-55.
4. MELO CRISTINO J, ALVES MF, CALADO E et al: Microrganismos isolados em laboratórios hospitalares portugueses. Experiência de sete hospitais centrais. *Rev Port D Inf* 1994; 17: 147-154.
5. MELO CRISTINO J, CALADO E, CALHEIROS IM et al: Estudo multicêntrico de microrganismos isolados e de resistência aos antimicrobianos em dez hospitais portugueses em 1994. *Acta Med Port* 1996; 9: 141-150.
6. Report of a Working Party on Antibiotic Sensitivity Testing of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy. A Guide to Sensitivity Testing (1991). The British Society for Antimicrobial Chemotherapy. Academic Press Limited.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. (1993). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test. Approved standard M2-A5, 5th ed. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, Pa.
8. LAW D, MEGSON GM, KEANEY MGL et al: The influence of salt concentration on the detection of methicillin resistance in coagulase-negative staphylococci. *J Antimicrob Chemother* 1992; 30: 603-614.
9. BLAIR JE, WILLIAMS REO: Phage typing of staphylococci. *Bull. World Health Org.* 1961; 24: 771-784.
10. MELO CRISTINO J, TORRES PEREIRA A: Plasmid analysis of 219 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains with uncommon profiles isolated in Lisbon. *J Hosp Infect* 1989; 13: 133-141.
11. VOSS A, DOEBBELING BN: The worldwide prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Int J Antimicrob Ag* 1995; 5: 101-106.
12. KLUYTMANS J, VAN BELKUN A, VERBRUGH H: Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: Epidemiology, Underlying Mechanisms, and Associated Risks. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10: 505-520.
13. BRANGER C, FOURNIER JM, LOULERGUE J et al: Epidemiology of *Staphylococcus aureus* in patients with cystic fibrosis. *Epidemiol Infect* 1994; 112: 489-500.
14. MOSS RB: Cystic Fibrosis: Pathogenesis, Pulmonary Infection, and Treatment. *Clin Infect Dis* 1995; 21: 839-851.
15. REIMER LG, WILSON ML, WEINSTEIN MP: Update on Detection of Bacteremia and Fungemia. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10: 444-465.
16. PANLILIO AL, CULVER DH, GAYNES RP et al: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in U.S. hospitals, 1975-1991. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1992; 13: 582-586.
17. MULLIGAN M.E, MURREY-LEASURE KA, RIBNER BS et al: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a consensus review of the microbiology, pathogenesis and epidemiology with implications for prevention and management. *Am J Med* 1993; 94: 313-328.
18. Working party of the Hospital Infection Society and British Society for Antimicrobial Chemotherapy. Revised guidelines for the control of epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Hosp Infect* 1990; 16: 351-377.
19. PEACOCK JE, MOORMAN DR, WENZEL RP et al: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: microbiologic characteristics, antimicrobial susceptibilities, and assessment of virulence of an epidemic strain. *J Infect Dis* 1981; 144:575-582.
20. HERSHOW RC, KHAYR WF, SMITH NL: A comparison of clinical virulence of nosocomially acquired methicillin-resistant and methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* infections in a university hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1992; 13: 587-593.
21. GRUNEBERG RN, EMMERSON AM: Failure to prevent emergence of bacterial resistance by combination of two antibiotics: fusidic acid and rifampicin. *J Antimicrob Chemother* 1980; 6: 562-564.
22. SORRELL TC, PACKHAM DR, SHANKER S et al: Vancomycin therapy for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Ann Int Med* 1982; 97: 344-350.
23. ZAMAN R, DIBB WL: Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated in Saudi Arabia: epidemiology and antimicrobial resistance patterns. *J Hosp Infect* 1994; 26: 297-300.
24. BRUMFITT W, HAMILTON-MILLER J: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *N Engl J Med* 1989; 320: 1188-1196.
25. HANIFAH YA, HIRAMATSU K, YOKOTA T: Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* associated with nosocomial infections in the University Hospital, Kuala Lumpur. (1992). *J Hosp Infect* 1992; 21: 15-28.
26. VICKERY AM and the Australian Group for Antimicrobial Resistance. Strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated in Australian hospitals from 1986 to 1990. *J Hosp Infect* 1993; 24: 139-151.
27. ROSSNEY AS, POMEROY HM, KEANE CT: *Staphylococcus aureus* phage typing, antimicrobial susceptibility patterns and patient data correlated using a personal computer: advantages for monitoring the epidemiology of MRSA. *J Hosp Infect* 1994; 26: 219-234.
28. KEANE CT, CAFFERKEY MT: Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: a guide to epidemiology and control. *Rev Med Microbiol* 1991; 2:50-56.
29. MLYNARCZYK G, ROSDAHL, VT, SKOV R et al: Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a Warsaw hospital. *J Hosp Infect* 1996; 34:151-160.
30. TRZCINSKI K, HRYNIEWICZ W, KLUYTMANS J et al: Simultaneous persistence of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus* in a neonatal ward of a Warsaw hospital. *J Hosp Infect* 1997; 36: 291-303.
31. HAMMERBERG O, BIAŁKOWSKA-HOBRZANSKA H,

GREGSON D: et al Diversity of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated in a Canadian Hospital. *Eu J Clin Microbiol Infect Dis* 1995; 14: 199-205.

32. COUTO I, MELO CRISTINO J, FERNANDES ML et al: Unusually large number of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in a Portuguese hospital. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 2032-2035.

33. KONO K, ARAKAWA K: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated in clinics and hospitals in the Fukuoka city area. *J Hosp Infect* 1995; 29: 265-273.

34. BARRETT SP, TEARE EL, SAGE R: Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in three adjacent Health Districts of south-east England 1986-91. *J Hosp Infect* 1993; 24: 313-325.

35. COX RA, CONQUEST C, MALLAGHAN C et al: A major outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* caused by a new phage-type (EMRSA-16). *J Hosp Infect* 1995; 29: 87-106.

36. HOEFNAGELS-SCHUERMANS A, BORREMANS A, PEETERMANS W et al: Origin and transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in an endemic situation: differences between

geriatric and intensive-care patients. *J Hosp Infect* 1997; 36: 209-222.

37. BENNETT ME, THURN JR, KLICKER R et al: Recommendations from a Minnesota task force for the management of persons with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Am J Infect Control* 1992; 20: 42-48.

38. FAOAGALI JL, THONG ML, GRANT D: Ten years' experience with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a large Australian hospital. *J Hosp Infect* 1992; 20: 113-119.

39. BOYCE JM, LANDRY TR, DEETZ TR et al: Epidemiologic studies of an outbreak of nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *Infect Control* 1981; 2: 110-116.

40. MURREY-LEASURE KA, GEIB S, GRACELEY D et al: Control of epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1990; 11: 343-350.

41. KLUYTMANS JAJW, VAN LEEUWEN W, GOESSENS W et al: Food-initiated outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* analyzed by pheno. and genotyping. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 1121-1128.



Hospital de Santa Maria. Lisboa.