

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

MARLENE ANDRADE MARTINS

Staphylococcus spp. em úlceras venosas na perspectiva clínica
e microbiológica

Goiânia
2012

MARLENE ANDRADE MARTINS

***Staphylococcus* spp. em úlceras venosas na perspectiva
clínica e microbiológica**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Goiás para obtenção do Título de Doutor em Ciências da Saúde.

Orientador(a): Prof^a. Dra. Márcia Bachion

Área de concentração: Patologia, Clínica e Tratamento das Doenças Humanas

Linha de pesquisa: Aspectos Clínicos e Laboratoriais das Doenças Transmissíveis e Não Transmissíveis.

Goiânia
2012

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS**

BANCA EXAMINADORA DA TESE DE DOUTORADO

Aluno(a): Marlene Andrade Martins

Orientador(a): Prof. Dr.^a Maria Márcia Bachion

Membros:

1. Prof. Dr.^a Maria Márcia Bachion – Universidade Federal de Goiás

2. Prof. Dr.^a Denise de Andrade – Universidade de São Paulo

3. Prof. Dr.^a Maria Cláudia Dantas P. B. André – Universidade Federal de Goiás

4. Prof. Dr.^a Lilian Pereira Varanda – Universidade Federal de Goiás

5. Prof. Dr.^a Paula Regina de Souza – Universidade Federal de Goiás

OU

1º Suplente: Prof. Dr.^a Anaclara Ferreira Veiga Tipple – Universidade Federal de Goiás

2º Suplente: Prof. Dr. Gilson Vasconcellos Torres – Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Data: 05/04/2012

Dedico este trabalho a minha querida
mãe, mulher guerreira, sábia, que
sempre soube superar as adversidades
da vida.

Ao meu pai, que sempre esteve ao nosso
lado, incentivando e apoiando durante
oitenta e seis anos em que esteve
conosco. Amaremos-te sempre.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e a todos da família, em especial à minha mãe por ser tão guerreira e sábia, ao enfrentarmos as adversidades da vida.

Agradecimento especial à prof.^a Dr.^a Maria Márcia Bachion por todas as contribuições neste e nos demais trabalhos, por me acompanhar no decorrer desta busca por conhecimentos e agora nesta outra trajetória, sempre com postura ética e sábia nos momentos de dúvidas e incertezas, diante dos desafios que nos apresentam nas questões de pesquisa.

Agradecimento também especial à prof.^a MS. Lara Stefânia Netto de Oliveira Leão, exemplo de dedicação, profissionalismo, ética, perseverança e paciência.

Agradecimento à prof.^a Dr.^a Anaclara Ferreira Tipple: obrigada por contribuir para o caminho da ciência.

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG) pelo incentivo e subsídios à realização da pesquisa.

Às colegas também especiais de sempre: Silvana, Suelen, Sílvia, Cinthia, Adriana e demais integrantes da Rede Goiana de Pesquisa em Avaliação e Tratamento de Feridas. A todo o grupo de docentes e técnicos do curso de enfermagem – *Campus de Jataí*.

Às amigas de sempre Suziene e Marilda: obrigada pelo apoio e pelos momentos em que souberam ser, simplesmente, amigas.

A todos os funcionários da Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Goiás.

Aos participantes da pesquisa: sei um pouco o quanto a cura das feridas significa para todos vocês.

SUMÁRIO

TABELAS, QUADROS E FIGURAS.....	viii
SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS.....	x
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xiii
1 INTRODUÇÃO.....	13
1.1 DELIMITANDO O OBJETO DE ESTUDO.....	13
1.2 REVISÃO DA LITERATURA.....	20
1.2.1 Úlceras venosas com e sem complicações arteriais.....	20
1.2.2 Parâmetros para avaliação clínica em úlcera venosa.....	24
1.2.3 <i>Staphylococcus</i> spp. na perspectiva clínica e microbiológica.....	34
1.2.4 <i>Staphylococcus aureus</i>	36
1.2.5 <i>Staphylococcus</i> coagulase-negativos (CoNS).....	41
1.2.6 Mecanismos de resistência dos <i>Staphylococcus</i> spp.....	43
1.2.7 <i>Staphylococcus</i> sp. resistentes à metilicina.....	46
1.2.8 <i>Staphylococcus</i> spp. resistentes ao grupo MLS _B	54
2 OBJETIVOS.....	60
3 MÉTODO.....	61
3.1 TIPO DE ESTUDO.....	61
3.2 LOCAL E PERÍODO DA PESQUISA.....	61
3.3 CARACTERIZAÇÃO DO CENÁRIO DE ESTUDO.....	61
3.4 POPULAÇÃO E AMOSTRA.....	62
3.5 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO.....	63
3.6 PROCEDIMENTOS PARA A COLETA DE DADOS.....	64
3.6.1 Treinamento dos integrantes de pesquisa.....	64
3.6.2 Aplicação do instrumento para caracterização dos sujeitos.....	65
3.6.3 Parâmetros clínicos para detecção de infecção em úlcera venosa de acordo com EWMA (2005).....	67
3.6.4 Avaliação do estágio clínico de infecção de ferida de acordo com EWMA (2006).....	70
3.7 ASPECTOS ÉTICOS/LEGAIS.....	70
3.8 Procedimentos para a coleta dos espécimes clínicos.....	71
3.9 Procedimentos laboratoriais.....	73
3.9.1 Transporte e processamento das amostras.....	73
3.9.2 Isolamento e identificação presuntiva de <i>Staphylococcus</i> spp.....	74
3.9.3 Provas de identificação de <i>Staphylococcus</i> sp.....	75
3.9.4 Prova de fermentação do manitol.....	75
3.9.5 Prova de detecção da catalase.....	76
3.9.6 Prova de detecção da coagulase em tubo.....	76

3.9.7 Prova de detecção da DNase.....	78
3.9.8 Prova de detecção da lecitinase.....	79
3.9.9 Armazenamento.....	80
3.9.10 Teste de suscetibilidade aos antimicrobianos pelo método de disco difusão.....	81
3.9.11 Teste de detecção fenotípica de resistência à metecilina.....	83
3.9.12 Teste de <i>screening</i> para oxacilina.....	83
3.9.13 Teste confirmatório (<i>E-test</i>).....	84
3.9.14 Teste de detecção fenotípica de resistência induzível ao grupo MLS _B	86
3.10 ORGANIZAÇÃO E ANÁLISE DOS DADOS.....	86
4 RESULTADOS/PUBLICAÇÕES	88
Artigo 1.....	89
Artigo 2.....	110
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	129
6 REFERÊNCIAS	131
APÊNDICES	143
APÊNDICE 1 - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA.....	144
APÊNDICE 2 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	148
ANEXOS	152
ANEXO 1 - INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS.....	153
ANEXO 2 - CRITÉRIO DE CLASSIFICAÇÃO ECONÔMICA BRASIL.....	159
ANEXO 3 - CRITÉRIOS CLÍNICOS PARA IDENTIFICAÇÃO DE INFECÇÃO EM ÚLCERA VENOSA DE ACORDO COM DOCUMENTO: <i>IDENTIFYING CRITERIA FOR WOUND INFECTION</i> (EWMA, 2005).....	162
ANEXO 4 - NORMA DE PUBLICAÇÃO – ARTIGO 1.....	163
ANEXO 5 - NORMA DE PUBLICAÇÃO – ARTIGO 2.....	171

TABELAS, FIGURAS E QUADROS

FIGURA 1 - Fases da carga microbiana das feridas.....	31
FIGURA 2 - Papel da bactéria na cicatrização de ferida (biofilme).....	38
QUADRO 1 - Fatores de virulência de <i>Staphylococcus aureus</i>	39
FIGURA 3 - Mapa de distribuição dos participantes atendidos nas salas de curativos de unidades municipais de saúde incluídos no estudo de acordo com os distritos sanitários de saúde de Goiânia, OUT/2009 a OUT/2010.....	62
QUADRO 2 - Descrição e método para avaliação de parâmetros clínicos para detecção de infecção em úlcera venosa de acordo com documento: <i>Identifying criteria for wound infection</i> (EWMA, 2005).....	68
FIGURA 4 - Prova de fermentação do manitol.....	76
FIGURA 5 - Prova de detecção da coagulase em tubo.....	78
FIGURA 6 - Prova de detecção da DNase.....	79
FIGURA 7 - Prova de detecção da lecitinase.....	80
FIGURA 8 - Armazenamento isolados em eppendorfs.....	80
FIGURA 9 - Placa de antibiograma.....	82
FIGURA 10 - Teste de <i>screening</i> isolados resistente a meticilina (A e B).....	84
FIGURA 11 - Teste confirmatório (E-test) (A e B).....	85
FIGURA 12 - Detecção do fenótipo MLS _B (D-test positivo).....	96
ARTIGO 1	
Table 1 –Susceptibility of methicillin-resistant (MRSA) and – sensitive staphylococcus aureus (MSSA) and methicillin-resistant (MRCoNS) and –sensitive coagulase-negative staphylococcus (MSCoNS) (N=98), isolated from venous ulcers of patients treated in dressing rooms of municipal health centers in Goiânia, to the tested antimicrobials. October of 2009 to October of 2010.	108
Table 2 –Distribution of the Minimal Inhibitory Concentration (MIC µg/mL) of MRSA and MRCoNS isolated from the venous ulcers of patients treated in dressing rooms of municipal health centers in Goiânia, October of 2009 to October of 2010.	108
Table 3 –Distribution of the MLS _B phenotype detected for methicillin-sensitive (MSSA) and methicillin-resistant (MRSA) staphylococcus aureus and methicillin-resistant coagulase-negative (MSCoNS) and methicillin-resistant coagulase-negative (MRCoNS) staphylococcus aureus isolated from venous ulcers of patients treated in dressing rooms of municipal health centers in Goiânia, October of 2009 to October of 2010.	109
ARTIGO 2	
FIGURA 1 - Estágio clínico de infecção das úlceras venosas (n=98) de pessoas atendidas em salas de curativos de unidades municipais de saúde, Goiânia, OUT/2009 a OUT/2010.....	117

TABELA 1 - Relação de parâmetros clínicos para detecção de infecção em úlceras venosas (F=98) de pacientes atendidos nas salas de curativo de unidades municipais de saúde de Goiânia, com o resultado de cultura para *Staphylococcus* spp., OUT/2009 a OUT/2010..... 117

TABELA 2 - Associação de parâmetros clínicos de identificação de infecção em úlceras venosas (F=80) de pacientes atendidos nas salas de curativo de unidades de municipais de saúde de Goiânia, com o resultado de culturas para *Staphylococcus* spp. resistentes à meticilina, OUT/2009 a OUT/2010. 120

121

SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

ATCC:	<i>American Type Clinical Collection</i>
ACME:	<i>Arginine Catabolic Mobile Element</i>
CA MRSA:	<i>Community-Associated Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus</i>
CHIPS:	<i>Chemotaxis inhibitory protein of Staphylococci</i>
CLSI:	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
CoNS:	<i>Coagulase-negative Staphylococci</i>
EWMA:	<i>European Wound Management Association</i>
Eap:	<i>Extracellular adherence protein</i>
HA-MRSA:	<i>Healthcare-Associated Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus</i>
ITB:	Índice Tornozelo/Braço
IPTSP:	Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública
MRSA:	<i>Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i>
MLS _B :	<i>Macrolídeos Lincosaminas Estreptograminas B</i>
MSSA:	<i>Methicillin-Susceptible Staphylococcus aureus</i>
MIC:	<i>Minimal Inhibitory Concentration</i>

RESUMO

INTRODUÇÃO: Nos últimos anos, tem sido observada a ocorrência de cepas multirresistentes provenientes de pacientes atendidos na atenção primária com lesões de etiologia venosa. **OBJETIVOS:** Determinar nos isolados de úlceras venosas a frequência e o perfil de suscetibilidade de *Staphylococcus* spp. aos antimicrobianos e, assim determinar a concentração inibitória mínima (MIC); detectar a resistência MLS_B e correlacionar a positividade das culturas com os sinais e sintomas clássicos de infecção. Adiciona-se a classificação do estágio clínico de infecção das úlceras segundo critérios de EWMA, 2005. **MÉTODOS:** Foram avaliadas 69 pessoas com 98 úlceras no período de outubro/09 a outubro/2010. Os isolados resistentes a cefoxitina e/ou oxacilina (disco-difusão) foram submetidos ao teste confirmatório para detecção da CIM, empregando fitas de oxacilina (E-test®). Realizou-se a detecção fenotípica da resistência induzível ao grupo MLS_B por meio do *D-test*. Utilizou-se o *software Statistics Package for the Social Sciences for Windows®* (SPSS 17.0), para processamento dos dados. A análise de associação envolveu os testes Qui-quadrado ou Exato de Fisher's, adotando-se o nível de significância de 5% ($\alpha=0,05$). Aspectos éticos legais foram atendidos. **RESULTADOS:** A prevalência de *S. aureus* foi de 83% e de 15% de CoNS. Identificou-se 28% de MRSA e 47% de MRCoNS. Entre o *S. aureus*, 69,6% apresentaram resistência a eritromicina, 69,6% a clindamicina, 69,6% a gentamicina e 100% a ciprofloxacina. 74% dos MRSA apresentaram elevado nível de resistência a oxacilina, MIC ≥ 256 µg/mL, e em 65,2% predominou a resistência constitutiva MLS_B. Dentre os dois isolados MRSA com sensibilidade à clindamicina, apenas um foi positivo para o D-teste. Os sinais e sintomas de infecção mais frequentes foram: descoloração do leito da lesão e aumento do volume do exsudato. O estágio III de infecção representou 70 (71,4%) das úlceras. Verificou-se associação entre tecido de granulação friável e culturas positivas para *Staphylococcus* spp. ($p=0,004$) e, aumento da temperatura local da pele com a ocorrência de *Staphylococcus* multirresistentes ($p=0,002$). **CONCLUSÕES:** *Staphylococcus* multirresistentes foram isolados de úlceras venosas em pessoas atendidas na atenção primária. Os resultados apresentados confirmam que os isolados MRSA, além da resistência aos beta-lactâmicos, também apresentam resistência cruzada a outros antimicrobianos. Cabe a preocupação com o aumento dessa resistência microbiana o que exige além da vigilância epidemiológica, também a priorização das políticas públicas em saúde por meio de programas efetivos de prevenção e controle. Ainda, permanece o desafio acerca dos indicadores de infecção para as úlceras venosas.

Palavras-chave: *Staphylococcus*, *Staphylococcus* Resistente a Meticilina; Resistência Bacteriana a fármacos; Úlcera Varicosa; Atenção primária à saúde.

ABSTRACT

INTRODUCTION: In recent years, there has been the emergence of multidrug-resistant strains from patients seen in primary lesions with venous ulcers. **OBJECTIVES:** To determine the frequency and susceptibility profile of *Staphylococcus* sp.; verify the prevalence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and minimum inhibitory concentration (MIC) of isolates; detect MLS_B resistance in *Staphylococcus* sp. isolated from venous ulcers; describe the frequency of clinical signs and symptoms indicative of infection of venous ulcers (2005); identify the clinical stage of infection, to determine the relationship between clinical signs and symptoms of infection and culture results found for *Staphylococcus* sp. **METHODS:** Were evaluated 69 people with 98 ulcers in the period of October/09 to October/2010. The isolates resistant to cefoxitin and/or oxacillin (disk diffusion) were subjected to confirmatory test for detection of MIC, using tapes of oxacillin (E-test ®). The phenotypic detection of the inducible resistance to the MLS_B group was performed by the D-test. The clinical signs and symptoms were investigated in accordance with criteria established by the document *Identifying criteria for wound infection* (EWMA, 2005). Were used the software *Statistics Package for Social Sciences for Windows* ® (SPSS 17.0) for data processing. For association analysis were used the Chi-square or Fisher's exact tests, adopting a significance level of 5% ($\alpha = 0.05$). Legal ethical aspects have been respected. **RESULTS:** The prevalence of *S. aureus* was 83% and 15% of CoNS. Were identified 28% of MRSA and 47% MRCoNS. Among *S. aureus*, 69.6% were resistant to erythromycin, 69.6% to clindamycin, 69.6% to gentamicin and 100% to ciprofloxacin. 74% of MRSA showed high level resistance to oxacillin, MIC ≥ 256 µg/mL, and in 65.2% predominated MLS_{B/C} constitutive resistance. Of the two MRSA isolates with sensibility to clindamycin, just one was positive for D-test. Signs and symptoms of infection more frequent were: discoloration of the wound and increase the volume of exudate. The stage III of infection was identified in 70 (71.4%) ulcers. An association among friable granulation tissue and cultures positive for *Staphylococcus* sp. ($P = 0.004$) and increase the local temperature of the skin and multiresistant *Staphylococcus* ($p = 0.002$). **CONCLUSIONS:** *Staphylococcus* sp. multidrug-resistant were isolates of venous ulcers in people treated in primary care. The results confirm that the MRSA isolates, beyond resistance to beta-lactams, also exhibit cross-resistance to other antimicrobials such as clindamycin, erythromycin, ciprofloxacin, and gentamicin. Remain a challenge to find indicators of infection for venous ulcers.

Keywords: Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*; Drug Resistance, Bacterial; Varicose Ulcer; Signs and Symptoms, Primary Health Care.

1 INTRODUÇÃO

1.1 DELIMITANDO O OBJETO DE ESTUDO

O cuidado com pessoas com úlceras venosas atendidas em serviço de saúde na atenção primária na Rede Municipal de Saúde de Goiânia exige atenção sobre como avaliar os sinais e sintomas indicativos de infecção.

Em 2008, foi desenvolvido um estudo sobre a avaliação de pacientes com úlceras crônicas atendidos na atenção primária de unidades básicas de saúde do município de Goiânia, com o objetivo de caracterizar as pessoas atendidas nas salas de curativos e avaliar a ocorrência dos patógenos isolados nessas feridas. Nesse estudo, além dos sinais e sintomas clássicos de infecção, pesquisei outros sinais e sintomas adicionais característicos de infecção de ferida crônica, análise de suscetibilidade antimicrobiana e a caracterização das pessoas atendidas nas instituições de saúde (MARTINS, 2008; MARTINS *et al.*, 2010).

Em 2005, a *European Wound Management Association* - EWMA (2005), apresentou outros sinais e sintomas característicos de infecção em úlcera venosa. Com esse novo quadro de referência, achados antes inespecíficos, tais como escurecimento do leito da lesão, de um dia para o outro ganharam novo significado, direcionando as decisões terapêuticas quanto à escolha de coberturas mais apropriadas.

A motivação para o engajamento contínuo na atividade de pesquisa foi o desejo de contribuir na produção de conhecimento para embasar um cuidado de enfermagem seguro e de qualidade, assim como a vontade de dar minha contribuição ao tratamento para a cura dessas lesões. Nesse sentido, propomos a realização deste estudo sobre a análise do perfil de suscetibilidade de *Staphylococcus* sp. e a ocorrência de infecções em úlceras venosas, com e sem complicações arteriais, de pessoas atendidas na atenção primária em saúde, com a utilização de quinze sinais e sintomas específicos para a úlcera venosa propostos por órgão internacional.

A avaliação de infecção com a utilização de um conjunto de sinais e sintomas pode ser uma ferramenta útil na prática clínica, uma vez que a combinação de sinais é melhor que a utilização de apenas um na avaliação do quadro infeccioso (GARDNER *et al.*, 2009).

As úlceras venosas com e sem complicações arteriais (EWMA, 2003) são classificadas como feridas crônicas e complexas. Essas feridas representam o grupo prevalente entre as úlceras de perna (FERREIRA *et al.*, 2006; DEALEY, 2008). Acomete pessoas de diferentes faixas etárias, gerando problemas socioeconômicos (MALAQUIAS, 2010; SANT'ANA, 2011).

Em geral, as feridas apresentam fases de cicatrização: inflamatória ou exsudativa, proliferativa e de remodelação. Nas lesões crônicas, fatores que prejudicam a cicatrização estendem a fase inflamatória, alterando o curso da doença e transformando os eventos que desencadeiam a reconstrução do tecido em um processo muito longo de abertura do tecido (PERCIVAL; CUTTING, 2010).

O cuidado na avaliação e no manejo de pessoas com úlceras venosas requer habilidades e conhecimentos que exigem do profissional permanente atualização, no sentido de buscar contribuições para o cuidado no tratamento do tecido lesado. A melhoria na qualidade dos serviços prestados é condição necessária para a efetividade do tratamento. No conjunto de ações necessárias ao cuidar destes pacientes, está incluída a análise da ocorrência de infecções por micro-organismos prevalentes nas lesões, sendo que, do ponto de vista epidemiológico, os cocos Gram-positivos têm emergido como patógenos de relevância clínica. Dentre eles, podemos citar o gênero *Staphylococcus* como um dos mais isolados em feridas (BOWLER *et al.*, 2001; GARDNER *et al.*, 2004; PERCIVAL; CUTTING, 2010).

O gênero *Staphylococcus* é constituído por um grupo heterogêneo de bactérias que, apesar de fazer parte da microbiota humana, podem desencadear processos infecciosos importantes na pele, tecidos moles e nas feridas (PERCIVAL; CUTTING, 2010). Nos últimos anos, tem sido observado o surgimento de cepas multirresistentes isoladas de pacientes atendidos nos serviços de saúde e com feridas (FERREIRA *et al.*, 2009; ZURITA; MEDJÍA; GUZMÁN-BLANCO, 2010). Tal fato é de grande preocupação, visto que o fenômeno da resistência bacteriana diminui opções terapêuticas e aumenta os custos com o tratamento, além de apresentar sérias implicações para a saúde pública. Esse micro-organismo pode ser agente de infecção em úlceras de perna, e isso representa um problema adicional no decorrer do tratamento das pessoas com esses agravos. Estudos mostram que essas pessoas apresentam

comorbidades que também agravam o prognóstico de cura (MALAQUIAS, 2010; SANT'ANA, 2011).

A presença de *Staphylococcus* spp. resistentes à meticilina em úlceras venosas é uma condição importante, pois compromete o processo de cicatrização, além de contribuir para o surgimento de complicações infecciosas graves, tais como osteomielites, septicemias e aumento do risco para amputações (GARDNER *et al.*, 2004; PERCIVAL; CUTTING, 2010).

Nos últimos anos, tem-se observado um aumento no isolamento de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus* coagulase-negativos (CoNS) resistentes em infecções adquiridas na comunidade. Além da resistência à meticilina, outros fenótipos têm sido documentados, como a resistência ao grupo MLS_B (macrolídeos, lincosamidas, estreptograminas B). Esse grupo é constituído por importantes opções terapêuticas para as infecções por *Staphylococcus* sp., especialmente de pele e de feridas (ROSSI; ANDREAZZI, 2005).

O monitoramento dos patógenos prevalentes na população local representa uma medida importante para mudanças nos protocolos de tratamento dessa clientela (ZURITA; MEDJÍA; GUZMÁN-BLANCO, 2010).

Estima-se que 87 milhões de pessoas sejam colonizadas por *Staphylococcus* sp., porém essa condição não é representativa de infecção. Essa bactéria é o principal agente de infecções de pele, como impetigo, foliculite, abscesso subcutâneo e furúnculo (PERCIVAL; CUTTING, 2010). É um dos micro-organismos mais frequentes em úlceras de perna e apresenta uma

variedade de fatores de virulência que favorecem o surgimento de agravos (GARDNER *et al.*, 2004; KIRKETERP-MOLLER, 2008; MILLER, 2010).

A avaliação criteriosa de sinais e sintomas clínicos de infecção em úlceras venosas é de suma importância para a detecção precoce dessa complicação. No contexto do atendimento de usuários nos serviços, compete ao profissional de saúde o reconhecimento o mais precoce possível de sinais e sintomas sugestivos de infecção, a fim de se estabelecer a terapêutica adequada e evitar outros agravos (EWMA, 2005).

A infecção prejudica a atividade dos fibroblastos na produção de colágeno e ocasiona um desequilíbrio das etapas de cicatrização (DEALEY, 2008). Em geral, as pessoas que apresentam essas lesões são idosas, e a idade é fator de risco para quadros sistêmicos que podem dificultar o processo cicatricial (PERCIVAL; CUTTING, 2010).

Estudos realizados no Brasil identificaram pacientes com feridas nos membros inferiores, porém esses sujeitos também apresentavam outros tipos de úlceras, além das alterações clínicas de origem venosa, como, por exemplo, úlcera diabética, arterial ou ambas (FERNANDES; PIMENTA; FERNANDES, 2007; MARTINS, 2008; QUEGE *et al.*, 2008). As espécies isoladas foram *S. aureus*, especialmente cepas MRSA, além de *Pseudomonas aeruginosa* e *Proteus* sp. Semelhantes resultados também foram observados em outros países, tais como Reino Unido (BOWLER; DAVIES, 1999; DAVIES *et al.*, 2001; HILL *et al.*, 2003; DAVIES *et al.*, 2007) e Estados Unidos (GARDNER *et al.*, 2001).

O uso indiscriminado de antimicrobianos para o tratamento de lesões crônicas é um problema de repercussão mundial, vivenciado tanto no ambiente hospitalar quanto na atenção primária. Como consequência dessa prática, tem-se a emergência de micro-organismos multidrogarresistentes. A presença de MRSA em feridas constitui fator agravante, pois pode desencadear processos inflamatórios e estagnamento do processo cicatricial. Essa bactéria, além da resistência aos β -lactâmicos, também se apresenta resistente a vários outros antimicrobianos usualmente empregados na rotina clínica, o que limita as opções terapêuticas e prejudica o tratamento (KIM *et al.*, 2004; KOBAYASHI; SADOYAMA; VIEIRA, 2009).

A diversidade microbiana nessas lesões representa desafio para os profissionais de saúde que cuidam desses pacientes. Assim, o monitoramento dos agentes infecciosos e de sua suscetibilidade deve ser um processo contínuo, para, inclusive, se for o caso, redirecionar a abordagem terapêutica (MARTINS *et al.*, 2010). Por outro lado, o aumento da resistência bacteriana na população idosa, grupo em que há uma maior prevalência dessas lesões, acarreta dificuldades no controle das infecções comunitárias. Neste caso, é necessário o uso de antimicrobianos de forma mais racional (HOWELL, JONES *et al.*, 2005).

Para Zurita, Medjía e Guzmán-Blanco (2010), o monitoramento da prevalência e do perfil de suscetibilidade de isolados MRSA é essencial para que medidas preventivas e terapêuticas sejam direcionadas com sucesso. Além disso, a vigilância epidemiológica em regiões e grupos populacionais específicos fornece informações sobre a ocorrência de infecções por MRSA,

perfis de resistência aos antibacterianos e fatores de risco associados à infecção.

Em serviços de saúde, onde os recursos são escassos, o conhecimento local sobre os micro-organismos que prevalecem e dados epidemiológicos são medidas importantes no contexto da prevenção e controle da saúde.

Uma questão importante é que o perfil de suscetibilidade antimicrobiana das cepas identificadas em uma lesão pode ser alterado ao longo do tempo (ZURITA; MEDJÍA E GUZMÁN-BLANCO, 2010). O caráter polimicrobiano das lesões facilita a troca de informações genéticas (recombinação genética) entre os micro-organismos com a consequente aquisição de novas características. Diferentes mecanismos de transferência genética entre espécies de *Staphylococcus* podem ocorrer (LYON; SKURRAY, 1987). O conhecimento desse perfil em *Staphylococcus* sp. isolados em úlceras venosas de pacientes atendidos na rede de atenção primária representa, portanto, uma importante etapa na elaboração de políticas públicas de saúde direcionadas à atenção dessa clientela.

Além do isolamento dos micro-organismos nas úlceras venosas, é importante a detecção de infecção o mais precoce possível pela evidência dos sinais e sintomas clínicos. Embora não haja consenso nos estudos quanto à detecção de infecção em úlceras venosas, há uma tendência em utilizar sinais e sintomas clínicos específicos para cada tipo de ferida (EWMA, 2005).

Os sinais clássicos de infecção são referidos como importantes para avaliar infecção de ferida aguda, mas há controvérsias sobre sua utilização em feridas crônicas. Além disso, evidências pouco aplicáveis às feridas crônicas

são referidas como importantes em feridas agudas (CUTTING; HANDING, 1994; GARDNER *et al.*, 2001; EWMA, 2005).

Nesse sentido, a *European Wound Management Association* - EWMA (2005) propõe a utilização de sinais e sintomas clínicos específicos para úlcera venosa. O documento *Identifying criteria for wound infection* foi elaborado por 54 *experts* e propõe os itens a serem investigados quando há suspeita de infecção em diferentes tipos de feridas, incluindo as úlceras venosas.

Propomos o estudo da ocorrência de *Staphylococcus* sp. em úlceras venosas com sinais clínicos de infecção, de modo a produzir informações que possam contribuir no manejo adequado da terapia antimicrobiana. O fato é que as infecções causadas por *Staphylococcus* sp. são passíveis de controle; por conseguinte, medidas preventivas podem ser instituídas com o propósito de evitar a sua disseminação nos serviços de saúde, bem como na comunidade.

1.2 REVISÃO DA LITERATURA

1.2.1 Úlceras venosas com e sem complicações arteriais

A insuficiência venosa crônica consiste no mau funcionamento do sistema venoso, causado por uma incompetência valvular associada ou não à obstrução do fluxo venoso. Pode afetar o sistema venoso superficial, profundo ou ambos. Instala-se um quadro de hipertensão venosa, no qual o fluxo

sanguíneo retrógrado acumula-se, manifestando o edema, usualmente na região maleolar, podendo atingir a perna e o pé (ABBADE; LASTÓRIA, 2005; MAFFEI, 2008). Essa alteração ocasiona o extravasamento de fluidos e a consequente liberação de fibrina para os espaços intersticiais que lesam os tecidos adjacentes. A falta de oxigênio e nutrientes contribui para a instalação do quadro infeccioso (DEALEY, 2008; MAFFEI, 2008).

O termo “úlceras venosas” refere-se às características das feridas, considerando aspectos clínicos e etiológicos. A etiologia desse tipo de ferida requer a avaliação criteriosa de sinais e sintomas clínicos que evidenciam o problema venoso. Nos casos de classificação como úlcera mista, a presença de leve a moderado comprometimento arterial concomitante ao problema venoso (EWMA, 2006; CONUEI, 2009). São também denominadas de “feridas complexas”, termo mais apropriado para designar as feridas crônicas, por apresentarem múltiplos fatores desencadeantes, que desafiam equipes médicas e de enfermagem. São difíceis de serem cicatrizadas com o uso de tratamentos convencionais e simples curativos (FERREIRA *et al.*, 2006).

Em úlceras venosas, os seguintes sinais e sintomas podem indicar a etiologia venosa: formato irregular, bordas arredondadas, comprometimento do tecido superficial e potencial para o dano tecidual de estruturas mais profundas da pele, eritema, hiperpigmentação, induração, lipodermatosclerose, exsudato aumentado, variação de tamanho e localização (região do maléolo mais acometida), veias varicosas, telangiectasias, edema mais evidente na região do tornozelo (ABBADE, LASTÓRIA, 2005; MALAQUIAS, 2010). As pessoas mostram a presença de alterações da pele, como dermatite ocre, atrofia branca

e hiperqueratose. Nessas lesões, é comum dor na presença de infecção, início de forma espontânea ou traumática. Exames complementares auxiliam na identificação das alterações vasculares.

Dentre os exames que podem auxiliar na diferenciação entre úlcera arterial e venosa ou ambos, temos o ITB (Índice Tornozelo/Braço). O ITB é um método não invasivo para detecção da insuficiência arterial pela razão entre valores da pressão arterial do braço e do membro inferior, utilizando um aparelho de ultrassom Doppler manual (EAGLE, 2006).

A avaliação do ITB, além de exames hemodinâmicos que detectam o som a partir do movimento do sangue dentro dos vasos, conhecido como ultrassonografia pulsátil ou Doppler, também denominado de *Dupplex Scan*, são avaliações necessárias na identificação desse tipo de úlcera (CONUEI, 2009).

Esse exame utilizado na investigação da insuficiência arterial também pode ser utilizado para verificar a associação entre o ITB e a aplicação de terapia compressiva, tratamento importante para os casos de insuficiência venosa (NEWMAN, 2000; BERGONSE; RIVITTI, 2006).

Com relação ao ITB, não há consenso na literatura quanto aos valores desse índice nos casos de comprometimento arterial. De acordo com Conuei (2009), feridas com ITB acima de 0,75 podem ser classificadas como úlcera venosa em associação com os sinais e sintomas clínicos. Para a EWMA (2003), um ITB acima de 0,8 caracteriza a úlcera venosa não complicada. Esse órgão, na verdade, delimita uma faixa de 0,5 a 0,8 para a detecção de úlcera venosa com moderado comprometimento arterial concomitante ao problema venoso.

Nessa faixa de ITB, as feridas são denominadas de úlceras mistas. Ainda explicam que as úlceras mistas são lesões que apresentam um ITB entre 0,5 a 0,8, com predomínio das características clínicas de insuficiência venosa em detrimento do moderado comprometimento da circulação arterial.

A evidência mais comum como causa de úlcera de etiologia venosa é a insuficiência venosa, com incidência de 37% a 81% (ABBADE; LASTÓRIA, 2005). No entanto, esse percentual depende dos métodos usados para a identificação dessas feridas. A decisão de incluir a lesão nos pés pode afetar as estimativas em cada estudo. Pacientes podem ser portadores de úlceras nos membros inferiores com uma única etiologia ou com múltiplas causas, e em 3,5% dos pacientes a causa não é identificada.

Os estudos indicam uma prevalência de 0,11% a 0,18% de feridas abertas nos membros inferiores em 1% a 2% da população, incluindo os casos de recorrência, cujos índices são altos, ou seja, de 59% a 76% (BRIGGS; CLOSS, 2003).

Do ponto de vista epidemiológico, as úlceras venosas são as mais prevalentes. Em um estudo realizado por Frade *et al.* (2005), em Juiz de Fora (MG), foi encontrada uma prevalência de 90,3% de úlceras de etiologia venosa e uma incidência de 65,3% no sexo feminino. As úlceras venosas são as mais comuns na população adulta, gerando consideráveis impactos na qualidade de vida dos pacientes.

Em Goiânia (GO), Malaquias (2010) encontrou uma prevalência de 90,5% de casos de pessoas com úlcera venosa e 2,4% de feridas mistas. Nessa mesma metrópole, com a avaliação de pessoas com úlceras venosas,

chegou-se à conclusão de que 67,2% era de pessoas do sexo masculino, quase na classe econômica “D” (SANT`ANA, 2011).

1.2.2 Parâmetros para avaliação clínica em úlcera venosa

Cuidar de pessoas com úlceras venosas representa atividade complexa, uma vez que as variáveis que podem interferir no processo de reparo tecidual exigem um corpo de conhecimentos refinados e uma equipe multiprofissional ao assistir esses sujeitos.

A avaliação de infecção de ferida é baseada em um julgamento clínico, que leva em conta um conjunto de sinais e sintomas (EWMA, 2005). Neste contexto, a análise microbiológica com antibiograma complementa as informações e tem um papel importante para direcionar o tratamento (PERCIVAL; CUTTING, 2010).

Avaliar úlceras venosas com ou sem complicações arteriais e considerar o *status* de infecção são atos que envolvem múltiplas variáveis. Os sinais e sintomas mais conhecidos e utilizados na prática são os clássicos: eritema, edema, dor, exsudato purulento e calor, melhor evidenciados em feridas agudas, cujas etapas cicatriciais são bem definidas (HORAN *et al.*, 1992).

No entanto, em úlceras venosas, outros sinais e sintomas podem ser verificados na vigência do quadro infeccioso (CUTTING; HANDING, 1994).

A identificação de sinais e sintomas característicos de infecção representa um desafio para os profissionais de saúde. Na prática clínica, em lesões complexas que incluem úlceras venosas sem evolução do processo de cicatrização, nem sempre a presença de pus é evidenciada. Todavia, quando isso ocorre, esse agravo clínico representa invasão da infecção no tecido subcutâneo (PERCIVAL; CUTTING, 2010). Outros sinais e sintomas clínicos característicos de quadro infeccioso em ferida crônica podem ser identificados, e isso tem sido objeto de estudo desde 1994 (CUTTING; HANDING, 1994).

Cutting e Handing (1994) definiram os critérios para a identificação de infecção em ferida crônica caracterizando, além dos sinais e sintomas clássicos descritos anteriormente, os critérios adicionais, a saber: abscesso, celulite, exsudato seroso com inflamação, serosanguinolento, purulento, cicatrização sem evolução, descoloração, granulação friável que sangra facilmente, dor súbita, aumento da extensão da borda da ferida, túnel para os tecidos moles, odor fétido e rompimento da ferida.

Esses sinais e sintomas foram utilizados por dois estudos subsequentes. Em 1998, um estudo observacional comparou os registros de um grupo de enfermeiras quanto ao *status* de infecção de feridas com tecido de granulação e resultado da análise microbiológica. Assim, comprovou correlação entre os critérios clínicos utilizados e os resultados da análise microbiológica. Das 40 decisões sobre o *status* de infecção apontado pelas enfermeiras, 39 foram correlacionadas com os resultados da cultura (CUTTING, 1998).

O outro estudo de validação de sinais e sintomas clínicos foi publicado por Gardner *et al.* (2001). Nessa pesquisa, testaram a validade dos sinais

clássicos de infecção: dor, eritema, edema, calor e exsudato purulento e os sinais adicionais em feridas com cicatrização por segunda intenção – exsudato seroso, cicatrização sem avanço, descoloração ou granulação friável, tunelização, odor fétido e rompimento da ferida, por meio de um *checklist* denominado: *Clinical Signs and Symptoms Checklist* (CSSC). Dentre as 36 feridas analisadas, os sinais com melhor predição de infecção foram: aumento da dor, presença de granulação friável, odor fétido e tunelização.

Para um melhor entendimento do quadro infeccioso, os sinais e sintomas têm sido definidos para os diferentes tipos de feridas. Atualmente, os critérios para identificação de infecção são descritos para os seguintes tipos de feridas: úlcera de pé diabético, úlcera por pressão, feridas aguda e cirúrgica, úlceras venosas e arteriais (CUTTING; WHITE, 2005).

A *European Wound Management Association* - EWMA (2005), utilizando-se da metodologia *Delphi*, reuniu 54 estudiosos na área de avaliação de feridas e definiu critérios para a identificação de infecção em seis tipos de feridas, a saber: ferida aguda (primária e secundária), úlcera de pé diabético, úlcera arterial, úlcera venosa, úlcera por pressão, queimadura (espessura parcial e espessura total).

A *European Wound Management Association* está baseada em uma lista de 15 critérios clínicos distribuídos em três faixas de pontuação. Os sinais e sintomas específicos para infecção de úlceras venosas são categorizados em três grupos com base em uma pontuação de *score* correspondente a indicador baixo, médio e forte (EWMA, 2005).

A celulite, classificada como forte indicador nesse tipo de ferida, é uma infecção da hipoderme, com importante comprometimento linfático, presença de eritema e bordas mal delimitadas (AZULAY; AZULAY, 2006). Geralmente, está associada à vermelhidão, inflamação, calor e queixa de dor. A avaliação microbiológica de 85 pacientes com celulite, admitidos em uma unidade hospitalar, identificou 28% de MRSA, 16% *S. epidermidis* e apenas 8% de *Streptococcus* β -hemolítico. Todos os pacientes apresentaram edema e lesão pré-existente ao quadro clínico de celulite, caracterizados em diferentes tipos de feridas (BUTCHER *et al.*, 2003).

Os sinais e sintomas considerados indicadores moderados de infecção em úlcera venosa são: cicatrização sem evolução, apesar da adequada compressão terapêutica; aumento de temperatura local da pele; aumento da dor da úlcera /mudança na natureza da dor; úlceras recém-formadas dentro das margens inflamadas de úlceras pré-existent; ampliação da ferida nas margens inflamadas (EWMA, 2005). Observa-se que o sinal “aumento da temperatura da pele” e o sintoma “dor” também estão incluídos no grupo de indicadores clássicos, sendo empregados na prática clínica há algum tempo (GARDNER *et al.*, 2001).

No estudo de Gardner e colaboradores realizados por meio da observação de duas enfermeiras resultou em 12 sinais e sintomas clínicos, em 64 úlceras infectadas (pé diabético). Nesse estudo, o *checklist* incluía os sinais clássicos: dor, eritema, calor, edema e exsudato purulento, e os sinais adicionais: exsudato serossanguinolento, cicatrização sem evolução, descoloração do tecido de granulação, tecido de granulação friável, odor fétido,

túnel para os tecidos moles e rompimento da ferida. Para verificação da confiabilidade desses sinais na caracterização do quadro infeccioso, constataram uma maior segurança na utilização dos referidos critérios nesse tipo de lesão. A análise estatística por meio do teste de confiabilidade (Kappa) apresentou uma concordância que variou de 76% a 100% (Kappa – 0,35 a 1,00) (GARDNER *et al.*, 2007).

Além da avaliação de infecção em úlceras venosas, os enfermeiros também precisam caracterizar o estágio clínico de infecção das lesões para então, poder realizar o manejo adequado do tratamento.

Neste sentido, em 2006, a *European Wound Management Association* apresentou outro documento, no qual especifica como os profissionais podem realizar o manejo de infecção de ferida. São descritos quatro estágios clínicos para infecção nas lesões. Assim, no estágio 1, os sinais são sutis; há evidência de dor ou exsudato, mas a cicatrização progride normalmente. No estágio 2 de infecção, os sinais e sintomas são intensificados e há evidência de aumento da dor e exsudato (EWMA, 2006). No estágio 3, os sinais e sintomas se convertem para o quadro clássico de infecção local e há evidência de exsudato purulento, edema, dor, eritema e aumento da temperatura de pele. Observa-se também nesse estágio que o tecido da pele perilesional pode estar alterado, da mesma forma que pode ser evidenciado tecido do leito da ferida com aparência não saudável, celulite, linfangite ou gangrena. No estágio 4, os sinais e sintomas convertem de infecção local para sistêmica, com evidência de febre, aumento de leucócitos, agravo dos critérios evidenciados no estágio 3, podendo

encaminhar ao desenvolvimento de quadro clínico de sepse. Nos estágios 2, 3 e 4, há a necessidade de intervenção pelo profissional de saúde (EWMA, 2006).

Utilizando o conjunto de indicadores clínicos de infecção específicos para vários tipos de feridas, um estudo (RONDAS *et al.*, 2009) identificou que, entre os cinco sinais e sintomas considerados mais indicativos para infecção em úlceras venosas, predominou, na opinião de médicos, o pus/abscesso (32,4%) como sinal mais específico, o aumento repentino do tamanho da lesão (11,6%) e aumento da temperatura local da pele (9,9%). Os pesquisadores concluíram que a identificação de infecção nos diferentes tipos de ferida é tarefa difícil. Evidenciaram também que os médicos tendem a utilizar com mais frequência os sinais tradicionais de infecção de ferida crônica como pus/abscesso e odor fétido.

A avaliação dos sinais e sintomas clínicos com base nos estágios clínicos de infecção é uma das possibilidades de utilização na prática pelos profissionais de saúde, como proposta por órgão internacional (EWMA, 2006). Analisar a ocorrência desses indicadores na população brasileira nos diferentes serviços de saúde também representa uma etapa importante na avaliação de infecções de úlceras venosas.

Além desses estudos sobre sinais e sintomas de infecção de feridas crônicas, existem vários instrumentos de avaliação para os diferentes tipos de feridas, alguns mais conhecidos do que outros, e aplicados em determinados serviços.

Dentre os instrumentos, o *Pressure Ulcer Scale for Healing* (PUSH), desenvolvido pela *National Pressure Ulcer Advisory Panel* (NPUAP), já teve sua

adaptação transcultural para a Língua Portuguesa realizada por Santos *et al.* (2005). Esse instrumento é muito utilizado no atendimento a pacientes com úlcera por pressão.

Acresce-se um estudo em que os autores propõem a identificação da especificidade e sensibilidade de variáveis clínicas relacionadas à colonização crítica ou infecção em comparação com os resultados de cultura semiquantitativa por meio de *swab*. Os critérios de colonização crítica foram propostos por palavras que formaram acrônimos: NERDS (*nonhealing, exsudate, red and bleeding, debris e smell from the wound*) e infecção STONEES (*size is bigger, temperature increased, os – probes to or exposed bone –, new areas of breakdown, erythema/edema, exsudate, smell*) e comparados em relação à presença e quantidade de bactérias na ferida (WOO; SIBBALD, 2009).

No estudo, ferida com tecido necrótico o aumento de exsudato e tecido friável apresentou um risco quatro vezes mais provável de ter pouco *bioburden* comparado ao resultado da cultura. Porém, quando esses sinais foram somados ao sinal aumento da temperatura da pele, o risco foi oito vezes maior de apresentar quando há carga microbiana aumentada de bactérias. Na análise, a associação de três sinais ou sintomas apresentou sensibilidade de 73,3% e especificidade de 80,5% para *bioburden* leve e 90% e 69,4% para um *bioburden* aumentado (WOO; SIBBALD, 2009).

De acordo com a WUWHS (2008), os sinais e sintomas locais sugeridos de infecção são: ruptura da ferida, aumento da extensão do eritema, calor, descoloração, linfangite, deteriorização da ferida não específica. Dentre os

sinais sistêmicos, identificam-se dor, diminuição ou estagnamento do processo de cicatrização, edema, tecido de granulação que sangra facilmente, odor fétido, descoloração do leito da ferida, aumento ou alteração do exsudato, enduração, bolsas ou pontes na base da ferida.

São descritas seis fases ou estágios de carga microbiana em uma ferida: contaminação, colonização 1 (adesão reversível), colonização 2 (adesão irreversível), colonização ao nível crítico (“clímax” – organização do biofilme), infecção local e infecção sistêmica (PERCIVAL; CUTTING, 2010) conforme mostra a figura 1.

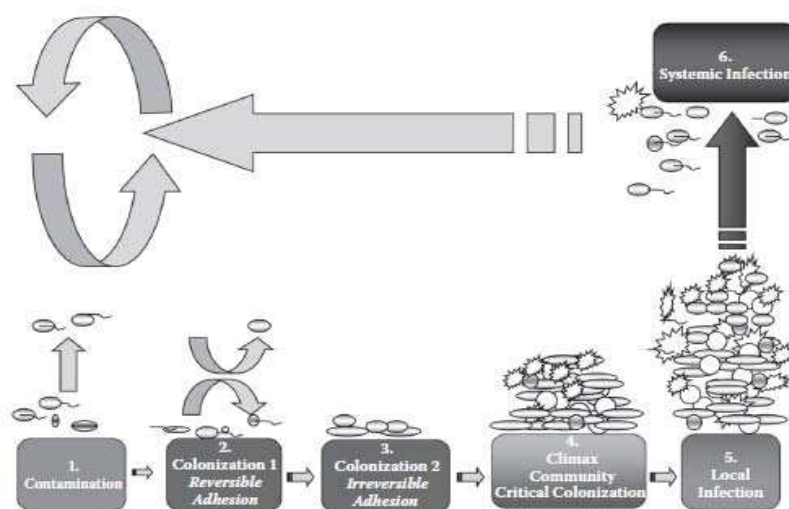


Figura 1 – Fases da carga microbiana das feridas¹

Existem muitas variáveis e co-morbidades que podem interferir na manifestação de sinais e sintomas clínicos. Além disso, há formas de delimitar a

¹ Fonte: PERCIVAL; CUTTING, 2010.

infecção em estágios (quatro estágios), conforme é apresentado pela EWMA (2006).

Especificar a gravidade de infecção em ferida tem sido objeto de estudos especialmente para úlceras diabéticas (LIMA; OLIVEIRA., 2010).

De maneira geral, encontramos nos estudos de feridas com enfoque microbiológico, um limiar de 10^5 UFC/g (unidades formadoras de colônias/grama de tecido), para inferir se uma lesão está infectada ou não. Nota-se que espécies altamente virulentas, como, por exemplo, *Streptococcus β - hemolítico* numa carga microbiana menor já pode causar dano tissular (BOWLER *et al.*, 2001; BOWLER, 2003). Assim, é consenso nos estudos que a detecção de infecção de ferida é essencialmente clínica (WOO; SIBBALD, 2009; RONDAS *et al.*, 2009).

No entanto, considerando o resultado microbiológico, o padrão ouro para a detecção de infecção de ferida é a análise quantitativa (contagem de colônias) com técnica de coleta por meio da biópsia (BOWLER, et al. 2001).

Apesar de ser considerado “*gold standard*”, diversos fatores também podem interferir no emprego dessa técnica na prática clínica, como por exemplo, risco de sangramento em pessoas com co-morbidades, aumento da dor, aumento dos custos com o procedimento e risco de infecção (GARDNER *et al.*, 2001; BOWLER *et al.*, 2001; BOWLER, 2003). No Brasil, os enfermeiros não estão habilitados para a realização desse procedimento e, de acordo com atribuições editadas pelo regulamento do conselho, não se identifica tal procedimento (BRASIL, 1986).

Estudos têm apresentado boa correlação entre a análise microbiológica com amostras coletadas por meio de *swab*, especialmente mediante técnica semiquantitativa. Os resultados de cultura por meio dessa técnica, em comparação com resultados com amostras coletadas por meio da biópsia, tiveram boa correlação (BOWLER *et al.*, 2001; BOWLER, 2003; DOW, 2003; GARDNER *et al.*, 2006; WOO; SIBBALD, 2009; MILLER *et al.*, 2010; ANGEL *et al.*, 2011). Muitas questões de pesquisa nesta temática ainda não estão totalmente elucidadas e outros estudos são necessários.

Avaliar os sinais e sintomas clínicos de infecção é tarefa essencial para a detecção de infecção em úlceras de perna. Cabe mencionair que no Brasil, não foram identificados, em literatura específica na área, diretrizes que estabeleçam o tratamento de úlceras venosas com base em critérios clínicos de infecção.

Há diretrizes para o tratamento de úlceras neuropáticas (LIMA; OLIVEIRA, 2011) e o manual de condutas para tratamento de úlceras em hanseníase e diabetes (BRASIL, 2008). O manual do Ministério da Saúde especifica apenas o tratamento tópico com apresentação das coberturas, mas não há menção de tratamento sistêmico das infecções.

Em 2010, foram editadas as diretrizes brasileiras para o tratamento das infecções em úlceras neuropáticas dos membros inferiores. Muitas das úlceras de perna com alteração de natureza neuropática (diabetes) podem, concomitantemente, apresentar problemas na circulação venosa no membro afetado (LIMA; OLIVEIRA, 2011).

Nas diretrizes estipuladas, encontra-se um capítulo sobre o tratamento das úlceras neuropáticas. A infecção é classificada em leve, moderada e grave.

Em cada categoria, especifica-se a origem do paciente, se é comunitário ou se ele está relacionado a um serviço de saúde. Para o tratamento de infecções leves da comunidade, recomenda-se o uso de cefalosporina de primeira geração, amoxicilina + ácido clavulânico ou clindamicina. Se o paciente estiver em um serviço de saúde, a indicação seria fluoroquinolonas ou clindamicina + fluoroquinolonas. Nos casos de infecções moderadas da comunidade, há indicação de moxifloxacino, clindamicina + fluoroquinolonas, clindamicina + cefalosporina de 3.^a geração. Se o paciente não for comunitário, mas estiver em tratamento em um serviço de saúde, a indicação é ertapenem + clindamicina, piperacilina/tazobactam + clindamicina ou ainda glicopeptídeos (LIMA; OLIVEIRA, 2011). Para as infecções consideradas graves na comunidade, a indicação seria ertapenem + glicopeptídeos ou piperacilina/tazobactam + glicopeptídeos. Nos casos de pacientes relacionados a serviços de saúde, a indicação é glicopeptídeos + carbapenêmicos ou glicopeptídeos + aminoglicosídeos (LIMA; OLIVEIRA, 2011).

1.2.3 *Staphylococcus* spp. na perspectiva clínica e microbiológica

De acordo com Percival e Cutting (2010), a evolução da microbiologia permite identificar a microbiota que habita no corpo humano (residente), assim como aquela denominada transitória.

As bactérias mais frequentemente isoladas na pele humana são cocos Gram-positivos, como os pertencentes à família *Micrococcaceae*. O gênero

Staphylococcus pertence a essa família e pode ser dividido em dois grupos com base na produção ou não da enzima coagulase, estafilococos coagulase-positivos e coagulase-negativos. Essa enzima representa um importante fator de virulência e pode ser detectada por um teste laboratorial. A partir do teste, a coagulase secretada extracelularmente pela bactéria reage com uma substância presente no plasma (fator de reação da coagulase), formando um complexo que, por sua vez, reage com o fibrinogênio presente no plasma, promovendo a formação do coágulo de fibrina e a rápida aglutinação das células bacterianas. O gênero é composto por 33 espécies, sendo que 17 delas são isoladas de amostras biológicas humanas. Nestas, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus* coagulase-negativos (CoNS) , como *S. epidermidis* e *S. saprophyticus*, são os mais comuns. A espécie *S. epidermidis* representa 50% dos isolados (KONEMAN *et al.*, 2008; PERCIVAL; CUTTING, 2010).

No cenário ambulatorial da região metropolitana de Goiânia, Martins e outros pesquisadores (2010) verificaram que 75% das úlceras estavam infectadas. Nesse estudo, não foram avaliados fenótipos de resistência de relevância para o gênero *Staphylococcus* sp. Para alcançar uma abordagem com mais qualidade e resolutividade, seria necessário estabelecer um protocolo de manejo das úlceras venosas, que, seguindo a literatura especializada na área, inclui a identificação de micror-organismos, os fenótipos de resistência, antibiograma, da mesma forma que os sinais clínicos de infecção.

S. aureus foi isolado de pessoas que apresentaram celulite com ou sem lesão evidente e com ou sem o uso de antimicrobianos, encontrando-se entre

os agentes mais prevalentes, além de *Streptococcus* β hemolítico e enterobactérias (LIPSKY *et al.*, 2004).

1.2.4 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus é capaz de colonizar transitoriamente diferentes áreas da epiderme, mucosas da orofaringe e narinas, incluindo as dos profissionais de saúde (PRADO-PALOS, 2006). A colonização de *S. aureus* pode aumentar os riscos de desenvolvimento de um quadro infeccioso. Em úlceras venosas, há um longo período de exposição dos tecidos ao ambiente externo, e isso pode favorecer a infecção por bactérias existentes na pele destas pessoas (GORDON; LOWY, 2008; PERCIVAL; CUTTING, 2010).

No Brasil não se tem um panorama nacional sobre a ocorrência destas cepas o que se observa são estudos isolados. Neste sentido Winstead e colaboradores (2010) mostraram que esses patógenos são as principais bactérias responsáveis por infecções de pele e partes moles, tais como furunculose, celulite, foliculite e impetigo. São também agentes causais de 20% das bacteremias nosocomiais, maior causa de infecção de ferida de sítio cirúrgico e segunda causa de infecções do trato respiratório inferior (ROSSI, 2011).

Há evidências claras nas pesquisas quanto à presença de *S. aureus* nas lesões crônicas (GARDNER *et al.*, 2004), bem como a coexistência dessa

espécie com múltiplos micro-organismos na superfície das feridas, formando biofilme, também denominado de “comunidade microbiana” (THOMSON, 2011).

Oitenta por cento das infecções crônicas no ser humano são resultado da formação de biofilme, uma estratégia de interação e sinergismo formado por inúmeros micro-organismos que buscam sua sobrevivência (PERCIVAL; CUTTING, 2010).

Apesar desse conhecimento, na prática clínica torna-se difícil distinguir micro-organismos patogênicos de simples colonizadores e outros com características virulentas, mas habitantes acidentais e que são rapidamente eliminados pelas defesas do hospedeiro ou germes preexistentes (MARTINS *et al.*, 2010).

As bactérias apresentam papel importante na cicatrização de feridas, conforme é apresentado na figura 2. Tanto contribuem para o reparo tecidual quanto podem desencadear alterações que dificultam a cicatrização (PERCIVAL; CUTTING, 2010).

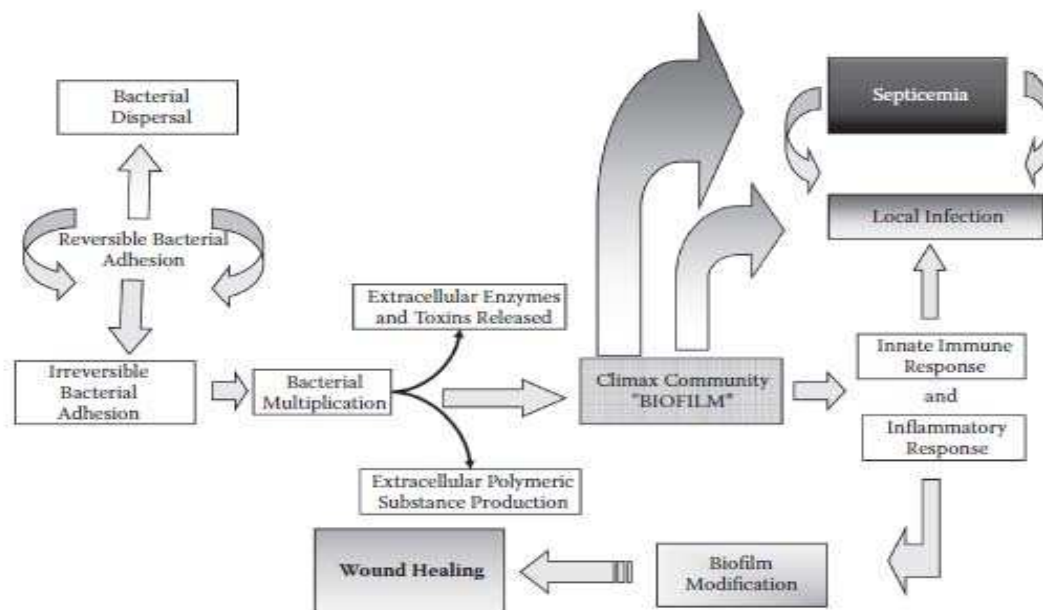


Figura 2 – Papel da bactéria na cicatrização de ferida (biofilme).²

Em úlceras venosas, foi identificado elevado *bioburden* ou carga microbiana tanto em feridas infectadas quanto em não infectadas (GARDNER *et al.*, 2004).

É evidente que *S. aureus* apresenta vários fatores de virulência, mas o papel que representa cada fator na infecção ainda não está totalmente elucidado. Isolados MRSA não são necessariamente mais virulentos que espécies de *S. aureus* metilicina sensível (MSSA). No entanto, algumas bactérias caracterizadas como MRSA contêm fatores ou “padrões” genéticos que podem aumentar sua virulência ou podem causar síndromes clínicas importantes (GORDON; LOWY, 2008).

Um dos fatores que favorecem a aderência de *S. aureus* ao tecido são as proteínas denominadas de *Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules* - MSCRAMMs. A aderência ao tecido é mediada por

² Fonte: PERCIVAL; CUTTING, 2010.

essas proteínas que se ligam a moléculas, como colágeno, fibronectina e fibrinogênio. A participação desses fatores na adesão ao tecido ou próteses médicas parece ser o fator precursor para o início de infecção por *S. aureus*, como, por exemplo, infecção cardiovascular e de articulações, além de osteomielites (GORDON; LOWY, 2008).

Os demais fatores de virulência estão resumidamente apresentados no quadro 1, adaptado do estudo de Gordon e Lowy (2008).

Quadro 1 – Fatores de virulência de *Staphylococcus aureus*³

Fatores de virulência	
- MSCRAMMs (microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules) clumping factors, fibronectin-binding, proteins, collagen, bone sialoprotein-binding proteins	- Biofilm accumulation (polysaccharide intercellular adhesion small-colony variants, and intracellular persistence)
- ACME (arginine catabolic mobile element)	- Enterotoxinas (A, B, C, D e E)
- Formação de biofilme	- Síndrome do choque tóxico 1 (TSST-1)
- Proteases	-Toxina esfoliativa A e B
- Lipases, Elastases, β -lactamases	- α -toxina
- Hialuronidases	- Peptidoglicano
- Fosfolipase C	- Ácido lipoteicoico
- Nucleases	- Coagulase
- Metaloproteinases (elastase)	- CHIPS (Chemotaxis inhibitory protein of <i>Staphylococci</i>)
- Leucocidinas (PVL – Pantón-Valentine leukocidin e γ -toxina)	- Cápsula polissacarídeo (5 e 8)
- Proteína A	- Eap (Proteína de aderência extracelular)

Nas infecções de pele, alguns fatores de virulência podem favorecer o quadro infeccioso e a agressão ao tecido exposto. Muitas enzimas produzidas

³ Fonte: Adaptado de GORDON; LOWY, 2008.

por *S. aureus* contribuem para a manutenção do quadro infeccioso (GORDON; LOWY, 2008). A coagulase, por exemplo, converte o fibrinogênio em fibrina, e esta é depositada em torno do micro-organismo, dificultando a fagocitose pelas células de defesa. A hialuronidase é uma enzima que despolimeriza o ácido hialurônico, reduz a viscosidade do meio intercelular, constituindo um fator de propagação, pois facilita a dispersão da bactéria nos tecidos (SANTOS *et al.*, 2007).

A catalase converte o peróxido de hidrogênio presente no interior das células fagocíticas em água e oxigênio, inibindo a ação tóxica dessa substância sobre a bactéria. Lipases e fosfolipases de *Staphylococcus* sp. podem favorecer a colonização e a permanência desse micro-organismo na pele, além de contribuir para o quadro infeccioso ao impedir a atividade de macrófagos (JAEGER *et al.*, 1994). Além desses fatores, têm-se as adesinas, que são moléculas que podem se ligar aos receptores químicos encontrados na superfície das células epiteliais, facilitando sua aderência ao tecido epitelial. A cápsula, por sua vez, é uma estrutura polissacarídica que envolve a parede celular, apresenta potencial para aumentar a virulência, pois protege o micro-organismo da fagocitose e aumenta a capacidade de invasão nos tecidos (SANTOS *et al.*, 2007).

Os estudos atuais apresentam forte associação entre um tipo de leucocidina denominada PVL (*Panton-Valentine Leukocidin*) e bactérias caracterizadas como CA-MRSA ou *S. aureus* resistente à meticilina adquirida na comunidade. Porém, essa citotoxina também pode ser encontrada em cepas

HA-MRSA (*S. aureus* resistente à meticilina adquirida em ambiente hospitalar) e em MSSA (LINA *et al.*, 1999; GORDON; LOWY, 2008).

É importante destacar que *S. aureus* apresenta vários fatores de virulência, mas nem todos os isolados são iguais. Entretanto, dadas as diferenças entre cepas, a capacidade de produzir as moléculas, como adesinas, toxinas e demais fatores, também será diferenciada (GORDON; LOWY, 2008).

O fator de virulência EAP (*Extracellular Adherence Protein*) de *S. aureus* foi avaliado em ferida. Na presença de EAP, ocorre inibição de células de defesa e mecanismos de reparo tecidual, prejudicando a cicatrização de ferida (ATHANASOPOULOS *et al.*, 2006).

1.2.5 *Staphylococcus* coagulase-negativos (CoNS)

Os isolados que não produzem a enzima coagulase são chamados de *Staphylococcus* coagulase-negativos. CoNS foram considerados, por muito tempo, contaminantes de pouca importância clínica. No entanto, nas últimas décadas ocorreram mudanças significativas no perfil desses isolados (KONEMAN *et al.*, 2008). No estudo de Rosa e colaboradores (2009) foram avaliados 100 CoNS isolados e as espécies mais frequentes foram *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* e *S. haemolyticus*. Entre os 100 CoNS identificados nesse estudo, 32% apresentaram resistência à oxacilina, 84,4% à

mupirocina e 32% à cefoxitina. Entre os resistentes à oxacilina, 75% apresentavam o gene *mecA*.

CoNS produzem fatores de virulência que contribuem para o quadro infeccioso. Evidências de sua potogenicidade podem ser apresentadas, por exemplo, pela capacidade de produção de um polissacarídeo extracelular denominado *slime* e de enzimas β -lactamases. Esse polissacarídeo permite a aderência a superfícies de cateteres, próteses, válvulas ou outros dispositivos, além da formação de biofilme.

Uma análise dos fatores de virulência identificou 17,1% de cepas CoNS produtoras de *slime*. Identificaram-se, ainda, outros fatores de virulência, como hemolisinas, lipases, lecitinase, DNases e termonucleases, além das enterotoxinas A, B, e C (CUNHA; RUGOLO; LOPES, 2006).

Em estudo com amostras provenientes de pacientes de um hospital de ensino no país, 27% das infecções estavam associadas com CoNS, sendo que 85% delas foram adquiridas no ambiente hospitalar. Esses micro-organismos é causa de infecção de corrente sanguínea em 25% dos pacientes. Verificou-se, ainda, que 38% dos CoNS eram resistentes à meticilina (KEIM *et al.*, 2011).

Entre os cocos Gram-positivos isolados de hemoculturas de pacientes internados em um hospital universitário na cidade de Goiânia, *S. aureus* foi a bactéria mais frequente (13,6%), com perfil de resistência à oxacilina de 66,7% (LEÃO *et al.*, 2007).

Staphylococcus coagulase negativo podem causar infecções urinárias, nosocomiais ou adquiridas na comunidade, associadas a dispositivos permanentes, como, por exemplo, válvulas cardíacas, dispositivos de

hemodiálise, bacteremias, endocardite, osteomielite e endoftalmite (KONEMAN *et al.*, 2008).

Não identificamos estudos que abordem a prevalência de CoNS em úlceras venosas de pessoas atendidas em serviços ambulatoriais.

1.2.6 Mecanismos de resistência dos *Staphylococcus* sp.

A resistência natural ou intrínseca caracteriza a herança genética cromossômica, que pode ser transmitida entre as espécies. A resistência adquirida pode estar relacionada a um ou a vários fármacos e resultar de modificações na estrutura ou no funcionamento da bactéria (TAVARES, 2009).

Os mecanismos de ação dos antimicrobianos podem ocorrer por interferência na síntese da parede celular, alterações na permeabilidade da membrana citoplasmática, interferência na replicação do cromossomo, alterações na síntese protéica, inibição da síntese de ácidos nucleicos e interferência em processos metabólicos (TAVARES, 2009). *Staphylococcus* sp. podem apresentar diferentes mecanismos de resistência frente aos antibacterianos (LYON; SKURRAY, 1987).

Alguns aspectos da resistência dos *Staphylococcus* sp. aos agentes antibacterianos merecem destaque por serem de maior importância clínica, especialmente para infecções de feridas, como, por exemplo, a produção de β -lactamases, que inativa penicilinas quanto à resistência à vancomicina, ao

grupo MLS_B (macrolídeos, lincosaminas e estreptograminas), especialmente à clindamicina, a oxazolidinonas (linezolida) e à rifampicina.

A resistência de *Staphylococcus* à penicilina ocorre pela reação enzimática de hidrólise do anel β -lactâmico (β -lactamases), mediada pelo gene *blaZ* (LOWY, 2003). Destaca-se, também, a resistência aos glicopeptídeos. Os isolados foram denominados de VISA (estafilococos com resistência intermediária à vancomicina), GISA (estafilococos com resistência intermediária aos glicopeptídeos) e VRSA (estafilococos com resistência à vancomicina) (TAVARES, 2009).

De acordo com CLSI (2011), para a identificação da resistência da bactéria à vancomicina, recomenda-se a realização da MIC (Concentração Inibitória Mínima) que apresenta custo elevado. Porém, os glicopeptídeos representam opção terapêutica importante em unidades hospitalares. Outros serviços extra-hospitalares, caso da atenção primária em saúde, os micro-organismos, em geral, apresentam alta sensibilidade frente a esse fármaco. Esse antimicrobiano é disponibilizado para uso intravenoso, e, a partir de seu uso, podem ocorrer efeitos adversos, como flebite e dor, além de complicações sistêmicas, como ototoxicidade e nefrotoxicidade (TAVARES, 2009). Além desses fatores, seu custo é elevado e, para o tratamento de pessoas com úlceras, é recomendado o uso de antimicrobianos de administração por via oral, desde que os isolados sejam suscetíveis (LIMA; OLIVEIRA, 2011).

O surgimento de cepas resistentes aos agentes antibacterianos tornou-se problema de saúde pública. O abuso da terapia antimicrobiana em humanos, especialmente em países em desenvolvimento, segue em paralelo com o

aumento da resistência bacteriana. O conhecimento do perfil de resistência em cada local é ação importante neste contexto (BORGES *et al.*, 2011).

Outros aspectos do tratamento na escolha do antibacteriano são importantes, como, por exemplo, a capacidade de disponibilização do agente em tecido epitelial (biodisponibilidade/farmacocinética). Esses grupos de antimicrobianos, além da atividade para cocos Gram-positivos, apresentam ação no sítio local da infecção (pele), e esses aspectos são importantes no momento da indicação da terapia antimicrobiana (TAVARES, 2009).

A resistência às rifamicinas, representada pela rifampicina, geralmente pode ocorrer de forma rápida. Dessa forma, é recomendado que esse fármaco seja associado a outro antimicrobiano, a fim de impedir o surgimento de subpopulações de isolados resistentes (mutantes contendo genes de resistência). O mecanismo bioquímico se dá, principalmente, pela presença de RNA – polimerase que se mostra refratária à inibição pela rifampicina. Pode ocorrer também a impermeabilidade das membranas à penetração do fármaco, o que impede a droga de agir em seu alvo, ou seja, a enzima RNA – polimerase (CHAMBERS, 1997).

Recentemente, foram avaliadas em 16,348 cepas de *S. aureus* provenientes de hospitais na Espanha e, destas, 96 (0,59%) foram resistentes à rifampicina. Dentre os isolados, a maior resistência foi verificada em MRSA (3,26%) do que em MSSA (0,26%). Nesse estudo, detectaram-se doze diferentes mutações no gene *rpoB* responsável pelo mecanismo de resistência (VILLAR *et al.*, 2011).

A resistência de isolados CoNS de amostras de hospital à linezolida tem sido verificada (MULANOVICH *et al.*, 2010). É pertinente que, nos demais serviços de saúde com atendimento ambulatorial, pesquisas também sejam realizadas. Esse agente antibacteriano é importante opção terapêutica no tratamento de pessoas com úlceras venosas e diabéticas em ambulatórios de saúde, pela administração por via oral (TAVARES, 2009; LIMA; OLIVEIRA, 2011).

A linezolida constitui opção terapêutica para infecções de pele em serviços de saúde causadas por *Staphylococcus*. Alta sensibilidade em isolados de pessoas atendidas na atenção primária tem sido verificada a este fármaco. Apesar desse fato, é importante o monitoramento dos isolados que circulam em determinado local ou população (LIMA; OLIVEIRA, 2011).

A utilização da linezolida no tratamento de pacientes com câncer com infecção ou colonização por CoNS em vários eventos clínicos infecciosos foi investigada. Nesse estudo, o aumento da utilização dessa droga em um hospital nos Estados Unidos foi precedido pelo aumento de clones de resistência. O tempo de hospitalização pode ter favorecido a seleção de cepas resistentes a esse fármaco (MULANOVICH *et al.*, 2010).

1.2.7 *Staphylococcus* sp. resistentes à meticilina

Historicamente, a descoberta da penicilina por Fleming foi um marco no tratamento das infecções bacterianas. Atualmente, apesar da disponibilização

de novos fármacos, o desenvolvimento de resistência bacteriana representa um desafio terapêutico e configura-se em um problema mundial de difícil controle (ROSSI; ANDREAZZI, 2005; ROSSI, 2011).

Um avanço terapêutico no tratamento das infecções por *Staphylococcus* sp. ocorreu na década de 60, com o lançamento da primeira penicilina semissintética resistente à ação das penicilinasas (enzimas β -lactamases), a meticilina. No entanto, em 1961, surgiram os primeiros isolados resistentes a esse fármaco, então denominados de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) (JEVONS, 1961).

No estudo realizado em um hospital de ensino no Brasil, a ocorrência de casos de infecção nosocomial de corrente sanguínea por *S. aureus* foi de 60,2%. Com índice de isolados MRSA em bacteremias de 35,1%. A infecção por esses micro-organismos e a associação como causa de mortalidade revela seu *status* clínico de virulência (GUILARDE *et al.*, 2007).

A emergência de micro-organismos multidroga-resistentes é problemática em diferentes países. O Brasil é um país com extensa área geográfica e, nos diversos Estados, podemos encontrar condições físicas e estruturais diversificadas nas unidades de saúde. Por um lado, temos a existência de centros especializados na identificação de patógenos resistentes. Contudo, também são perceptíveis, da mesma forma, serviços de saúde funcionando em condições precárias. A vigilância da ocorrência de bactérias resistentes torna-se difícil, e a falta de recursos para diagnóstico impossibilita o real conhecimento dos isolados que circulam nos Estados da Federação (ROSSI, 2011).

Na avaliação das taxas de resistência antimicrobiana na América Latina com isolados de 33 serviços de saúde do programa de vigilância da tigeciclina T.E.S.T., foram identificados 48,3% de *S. aureus* resistentes à meticilina (ROSSI *et al.*, 2008).

No Brasil, as taxas de infecção por *S. aureus* foram avaliadas com cepas de hospitais participantes do programa de vigilância SENTRY. Verificou-se elevada prevalência (31%) de MRSA, os quais também foram resistentes a outros agentes antibacterianos. Esses isolados foram responsáveis por 20% das infecções da corrente sanguínea, representaram o principal agente de infecções de pele e partes moles (28,1% dos casos) e o segundo micro-organismo mais frequente (24,9%) em infecções do trato respiratório inferior (GALES *et al.*, 2009).

Há poucos estudos sobre *Staphylococcus* sp. resistentes à meticilina na comunidade e em serviços de saúde fora do ambiente hospitalar. No Brasil, a prevalência é diversificada dependendo da região. Em Goiânia, a frequência de MRSA em úlceras crônicas foi de 20,5% (MARTINS *et al.*, 2010). No ambulatório na cidade de Manaus, a prevalência de MRSA foi de 15,5% (FERREIRA *et al.*, 2009).

Vários estudos mostram aumento de isolados MRCoNS (*Staphylococcus* coagulase-negativos resistentes à meticilina). Na Espanha, no estudo de Cuevas *et al.* (2004), verificou-se a prevalência de 61%. Elevadas taxas de resistência à meticilina também têm sido descritas entre CoNS. Outro estudo salienta 80% de cepas CoNS resistentes à meticilina (MICHELIM, 2005).

Quanto à prevalência de CoNS em amostras de feridas, não foram identificados estudos em ambulatorios e na comunidade, no entanto, em ferida de sítio cirúrgico, estima-se uma prevalência de 14%. Verifica-se um aumento da resistência à meticilina de isolados nosocomiais (55-75%). Trata-se do primeiro micro-organismo a apresentar resistência aos glicopeptídeos. Afeta, principalmente, pacientes imunodeprimidos, e são agentes causais de infecções do trato urinário e endocardite (PIETTE; VERSCHRAEGEN, 2009).

A resistência aos agentes antimicrobianos em *Staphylococcus* sp. pode ser codificada cromossomicamente ou mediada por plasmídeos (ROSSI; ANDREAZZI, 2005; TAVARES, 2009). Muitos CoNS possuem plasmídeos que podem ser transferidos por conjugação entre espécies diferentes de CoNS ou até mesmo entre CoNS e *S. aureus*. Esse mecanismo representa uma importante via de disseminação de resistência antimicrobiana, especialmente para aminoglicosídeos e β -lactâmicos (HUEBNER; GOLDMANN, 1999).

No caso dos β -lactâmicos, *Staphylococcus* sp., eles podem se tornar resistentes por hiperprodução de β -lactamases e presença de PBPs alteradas (TOMASZ *et al.*, 1989). Na verdade, os β -lactâmicos atuam na inibição da síntese da parede celular, tendo como sítio alvo de ligação as denominadas proteínas ligadoras de penicilina ou *protein binding penicilin* (PBPs). Essas proteínas são enzimas reguladoras (transpeptidases, carboxipeptidases, endopeptidases) que auxiliam na construção do peptídeoglicano, um importante componente estrutural da parede celular (CHAMBERS, 1997).

Cinco tipos principais de PBPs (1, 2, 3, 3' e 4) são produzidas. A resistência clássica à meticilina se dá pela produção de uma PBP de baixa

afinidade pelo antimicrobiano, denominada PBP2a ou PBP2'. Essa proteína alterada é codificada por um determinante genético denominado de gene *mecA*, que é encontrado em isolados resistentes à meticilina (CHAMBERS, 1997).

O gene *mecA* é transportado por um elemento genético móvel, denominado cassete cromossômico estafilocócico *mec* (*SCCmec*). Atualmente, foram identificados sete tipos de *SCCmec* (I, II, III, IV, V, VI e VII) e todos conferem resistência aos β -lactâmicos, sendo que os tipos II e III codificam resistência a outros antimicrobianos (DEURENBERG; STOBBERINGH, 2008).

O gene *mecA* apresenta alto nível de homologia nos isolados MRSA e nos CoNS resistentes à meticilina. Esse é um dos dados que sustentam a hipótese de que o gene *mecA* possa ser originário de espécies de CoNS, possivelmente uma espécie evolucionariamente próxima do *S. sciuri* (CHAMBERS, 1997).

A presença de PBP2a leva à resistência tanto à meticilina como também à todos os β -lactâmicos (TOMASZ, 1989), incluindo as demais penicilinas. Cepas com resistência clássica também apresentam resistência a múltiplos agentes antimicrobianos, como clindamicina, eritromicina, tetraciclina, gentamicina e sulfametoxazol-trimetoprim (CHAMBERS, 1997). Esse fato tem impacto substancial nos cuidados com a saúde, afetando desfavoravelmente a morbidade e a mortalidade dos pacientes e aumentando o uso de glicopeptídeos (vancomicina e teicoplanina) na terapia empírica e até mesmo na profilaxia. É importante lembrar que esse grupo de fármacos, apesar da administração intravenosa, é amplamente empregado no tratamento de infecções por estafilococos resistentes à meticilina (TAVARES, 2009).

Além da resistência clássica, mediada por *gene mecA*, a resistência à meticilina pode ser observada pela modificação de outras PBPs (1, 2 e 4) ou pela hiperprodução de β -lactamases tipo A. Esses fenótipos de resistência são menos comuns e denominados de *Borderline* (ROSSI; ANDREAZZI, 2005).

As infecções causadas por MRSA limitavam-se ao ambiente hospitalar, e os patógenos nosocomiais foram denominados de HA-MRSA. Estes carregam o elemento genético móvel *SCCmec* tipos I, II e III. No entanto, foi descrito, nos anos 90, outro tipo de MRSA, os CA-MRSA, que carregam principalmente *SCCmec* tipo IV, V, e VII e são responsáveis por infecções associadas ou adquiridas na comunidade. Além dessa característica genética, alguns CA-MRSA possuem os genes da citotoxina Panton-Valentine leucocidina (PVL), que é codificada pelos genes *lukF* e *lukS*, uma exotoxina responsável por infecções de pele e partes moles, que pode levar a quadros graves de septicemia e pneumonias (DAVID *et al.*, 2008; PANTOSTI; VENDITTI, 2009; GELATTI *et al.*, 2009).

Atualmente, a distinção entre HA-MRSA e CA-MRSA começou a desaparecer, e cepas CA-MRSA já são endêmicas em muitos hospitais dos Estados Unidos. Acredita-se que, provavelmente, os MRSA transferem *SCCmec* para isolados *S. aureus* sensíveis à meticilina (MSSA) (DEURENBERG; STOBBERINGH, 2008).

Para Chua *et al.* (2011), não há definição plausível para distinguir um isolado como “CA-MRSA” de “HA-MRSA”. O termo CA-MRSA tem sido utilizado como alternativa para descrever a fonte de infecção, o fenótipo frente ao antimicrobiano e o genótipo do micro-organismo, gerando uma confusão global.

Para esses autores, clones MRSA comunitários descrevem infecções que iniciam na comunidade e, usualmente, são cepas suscetíveis a vários antimicrobianos.

Modificações de MSSA e MRSA, CA-MRSA e HA-MRSA podem ocorrer em decorrência de mecanismos genéticos, por meio de recombinação, podendo também surgir clones de isolados multirresistentes.

Clones bacterianos são células geneticamente idênticas que descendem de um mesmo ancestral, e, ao longo dos anos, os isolados de um mesmo clone podem diferenciar-se por meio de mutações, recombinações, aquisição ou deleção de elementos genéticos móveis. Tal diferenciação resulta na aquisição da resistência aos antimicrobianos, com diversidade genética e fenotípica (RODRÍGUEZ-NORIEGA; SEAS, 2010; CHUA *et al.*, 2011). Esse fato, aliás, é de grande preocupação, pois no país já ocorre a disseminação de cepas ou clones multidrogarresistentes (RODRÍGUEZ-NORIEGA; SEAS, 2010).

Dos cinco clones globais de MRSA multirresistentes, um é brasileiro (Clone Endêmico Brasileiro – BEC) e apresenta resistência à clindamicina, sulfametoxazol-trimetoprim, ciprofloxacino e gentamicina (OLIVEIRA *et al.*, 2001; RODRÍGUEZ-NORIEGA; SEAS, 2010; ROSSI, 2011).

De acordo com Rodríguez-Noriega e Seas (2010), os complexos clonais de MRSA estão amplamente distribuídos na América Latina, mas os padrões de resistência estão constantemente mudando. Ademais, os clones com maior virulência estão começando a surgir tanto nos hospitais como na comunidade por meio de recombinação. Torna-se necessário, portanto, a vigilância sistemática do perfil de resistência antimicrobiana dos clones de MRSA que

circulam em cada região subsidiado se possível no método molecular. Somente por meio do conhecimento do padrão de suscetibilidade dos isolados que circulam em âmbito local é possível ampliar as possibilidades de tratamento empírico mais preciso.

Para Prado-Palos (2006), a emergência de MRSA nosocomiais e comunitários aponta para a necessidade de controle efetivo de mudanças na antibioticoterapia, bem como na formulação de estratégias de prevenção. O aporte das técnicas de tipagem molecular, nesse contexto, tem sido de elevada importância por contribuir nas diferentes etapas do controle e vigilância dessas infecções, auxiliando na adoção de medidas eficientes para a eliminação da condição de portador e o uso racional de antimicrobianos.

Há vários métodos de tipagem molecular, como, por exemplo, eletroforese em gel de campo pulsado (PFGE), tipagem por sequenciamento “multilocus” (MLST) e tipagem de *SCCmec*, que podem caracterizar clones de *Staphylococcus* sp. (RODRÍGUEZ-NORIEGA; SEAS, 2010). Identificar os padrões de cepas circulantes, do ponto de vista epidemiológico, é um procedimento importante. No entanto, esses métodos apresentam elevados custos, e isso dificulta sua realização nas diferentes regiões do país (ROSSI, 2011).

A identificação de espécies de CoNS metilina resistentes também pode ser verificada. Na detecção de CoNS, o melhor resultado foi verificado com a utilização do disco de cefoxitina 30µg, cuja acurácia do teste foi de 100% em comparação com o padrão ouro, por meio de PCR, na detecção do gene *mecA* (PEREZ, d'AZEVEDO, 2008).

O conhecimento do mecanismo de resistência de *Staphylococcus* à meticilina é importante na prática clínica. Além desses aspectos, considerando a natureza polimicrobiana das úlceras venosas, a formação de biofilme por essas espécies tem sido documentada e representa uma barreira importante a ser considerada no tratamento de pacientes com feridas infectadas. A disponibilidade do antibiótico em biofilme de *S. aureus* e *S. epidermidis* foi verificada no estudo de Singh *et al.* (2010). No estudo, a oxacilina, cefotaxima e vancomicina tiveram baixa concentração no tecido, algo que foi dificultado pela barreira microbiana. A biodisponibilidade da amicacina e ciprofloxacino não foi afetada pelo biofilme.

1.2.8 *Staphylococcus* sp. resistentes ao grupo MLS_B

Outro importante fenótipo de resistência observado entre *Staphylococcus* sp. é a resistência MLS_B. Macrolídeos (eritromicina, claritromicina, azitromicina, telitromicina e outros), lincosaminas (lincomicina e clindamicina) e estreptograminas (quinupristina e dalfopristina) são classes de antimicrobianos quimicamente distintos, mas com mecanismo de ação e espectro antimicrobiano similares (ROSSI, ANDREAZZI, 2005). Devido a essa característica, constituem um único grupo denominado MLS. Esses fármacos penetram na membrana bacteriana pelos canais proteicos, interagem com alvos

específicos localizados na subporção 50S do ribossomo, interferindo diretamente na síntese proteica (ROSSI; ANDREAZZI, 2005).

Esse grupo é frequentemente empregado no tratamento de infecções por *Staphylococcus* sp. Alguns apresentam administração oral, o que facilita seu emprego em serviços de saúde com atendimento ambulatorial (ROSSI; ANDREAZZI, 2005; MENEZES *et al.*, 2007; TAVARES, 2009; ADALETI *et al.*, 2010). Os macrolídeos, como a eritromicina, apresentam amplo espectro de ação para bactérias Gram-positivas e são empregados como alternativa terapêutica para pacientes alérgicos à penicilina (TAVARES, 2009).

Dentre as lincomicinas, a clindamicina tem sido amplamente utilizada no tratamento de infecções de pele, partes moles por estafilococos e, também, como alternativa para pacientes alérgicos às penicilinas (ROSSI; ANDREAZZI, 2005; MENEZES *et al.*, 2007; TAVARES, 2009; ADALETI *et al.*, 2010). Já as estreptograminas são fármacos de uso restrito às infecções por estafilococos resistentes à meticilina e, mais recentemente, aos estafilococos com sensibilidade diminuída ou resistentes à vancomicina. O uso associado de dalfopristina e quinupristina é recomendado para potencializar a atividade antimicrobiana (TAVARES, 2009).

A resistência aos macrolídeos pode ocorrer por meio de três mecanismos. Primeiro, por modificações no alvo de ligação no ribossomo, codificadas pelo gene *ermA* ou *ermC* (*erythromycin ribosomal methylase*). Segundo, por bomba de efluxo ativo, codificada pelo gene *mrsA* (*specific methionine sulfoxide reductase*). O terceiro mecanismo consiste na inativação enzimática da droga (WALSH, 2003).

Codificada pelo gene *ermA* ou *ermC*, a resistência aos macrolídeos também confere resistência cruzada às lincosaminas e à quinupristina (estreptogramina tipo B). O gene *erm* (plasmidial) modifica a porção 50S do ribossomo bacteriano, a qual constitui sítio alvo de ligação para esses fármacos. Esse fenótipo de resistência é, então, denominado de resistência MLS_B e é conhecido entre *S. aureus* desde 1956, após a introdução da eritromicina na prática clínica (WALSH, 2003).

Dependendo da exposição aos macrolídeos, a resistência MLS_B pode ser constitutiva (MLS_{Bc}) ou induzível (MLS_{Bi}) (ROSSI; ANDREAZZI, 2005). Quando a expressão constitutiva ou induzível é confirmada, nenhum antimicrobiano do grupo deve ser indicado para o tratamento (PEREZ *et al.*, 2007).

Na expressão MLS_{Bc}, é observada a resistência à eritromicina e à clindamicina, enquanto que na forma MLS_{Bi} é observada resistência à eritromicina e falsa sensibilidade à clindamicina. Um dos métodos empregados para verificação da resistência MLS_{Bi} é a realização do *D-test* por aproximação.

Nesse método, os discos de eritromicina e clindamicina são aplicados na placa de ágar, de acordo com padronização estabelecida. A distância recomendada pelo CLSI para a colocação dos discos de eritromicina e clindamicina é de 15 a 20mm (CLSI, 2009). Sem a aproximação dos discos, a resistência MLS_{Bi} não é reconhecida, podendo levar a falhas terapêuticas no tratamento com clindamicina ou outro do grupo MLS_B. A identificação do fenótipo MLS_{Bc} e MLS_{Bi} pelo *D-test* é uma opção de baixo custo para a

realização nos diferentes serviços de saúde e apresenta boa correlação com métodos moleculares que apresentam alto custo.

Estudos têm reportado a utilização do método *D-test* para verificação de resistência induzível entre CoNS (FIEBELKORN *et al.*, 2003; DELIALIOGLU *et al.*, 2005; FOKAS *et al.*, 2005; CIRAJ *et al.*, 2009). Pesquisa realizada com 200 CoNS provenientes de hospitais da região sul do Brasil identificou 5 micro-organismos *D-test* positivo. Entre todos os isolados, 66,5% foram resistentes à oxacilina, 63% à eritromicina e 53,5% à clindamicina (PEREZ *et al.*, 2007).

Em outro estudo, dos 114 *S. aureus* eritromicina-resistentes, 39 apresentaram fenótipo MLS_{BC} e 33, o fenótipo MLS_{Bi}. Dos 82 CoNS que continham o gene *ermA* ou *ermC*, 57 demonstraram fenótipo MLS_{BC} e 25, fenótipo MLS_{Bi}. O mecanismo de resistência a macrolídeos e estreptogramina B, *msrA*, foi identificado em 42 *S. aureus* e em 18 CoNS. A correlação entre o método do *D-test* e avaliação por PCR foi de 97% para *S. aureus* e de 100% para espécies CoNS (FIEBELKORN *et al.*, 2003).

No estudo realizado por Amorim *et al.* (2009), 79,0% dos MRSA identificados apresentaram fenótipo MLS_{BC}, enquanto que, entre os MSSA, apenas 2,88%. A resistência ao grupo de fármacos MLS_B também foi evidenciada na Turquia. Maiores taxas do fenótipo MLS_{Bi} (40%) também foram evidenciadas em espécies MSSA. Da mesma forma que o fenótipo MLS_{BC} foi mais prevalente em MRSA (69,6%) (ADALETI *et al.*, 2010).

Ainda na Turquia, foram identificadas taxas de resistência diferenciadas. De 230 *S. aureus*, 24,3% apresentaram resistência constitutiva e apenas 7,8% do fenótipo induzível (ADALETI *et al.*, 2010). No Japão, entre isolados

provenientes de hospitais, 61,3% dos MRSA apresentaram resistência constitutiva, enquanto que os MSSA apenas 1,3%. O fenótipo induzível foi identificado em 94% dos MSSA e, em isolados MRSA, apenas 38,7% (OTSUKA *et al.*, 2006).

Em um estudo realizado por Ciraj *et al.* (2009) na Índia, entre os MRSA isolados, foram reportados resultados diferentes em relação a outros países. Resistência constitutiva foi identificada em apenas 4 (quatro) isolados, enquanto que o fenótipo MLS_Bi foi evidenciado em 10 cepas.

A detecção da resistência constitutiva não constitui um problema no momento da escolha do antimicrobiano, pois esta é detectada pelo método convencional (antibiograma). No entanto, a não realização do teste de indução (*D-test*) representa um agravante, visto que o fenótipo induzível não é detectado pelo método convencional (ROSSI; ANDREAZZI, 2005).

Neste caso, isolados MRSA ou MSSA e ainda espécies de CoNS podem ser resistentes a fármacos do grupo MLS_B, mas no resultado laboratorial isso não é apresentado. Assim, o uso inadequado desses antibacterianos podem contribuir para o aumento das taxas de falha terapêutica da mesma forma que o aumento dos custos com o tratamento. As implicações clínicas decorrentes desse fato precisam ser melhor investigadas nos diferentes países e também nas regiões de cada cidade (ROSSI; ANDREAZZI, 2005).

O isolamento de bactérias multirresistentes provenientes tanto do ambiente hospitalar quanto da comunidade representa um problema de saúde pública. As taxas de resistência variam consideravelmente entre países e entre instituições de saúde. Dessa forma, o monitoramento dos micro-organismos

que circulam em uma dada população constitui uma importante ação para a implementação de medidas de controle.

2 OBJETIVOS

- Determinar a frequência e o perfil de suscetibilidade de *Staphylococcus* spp. isolados de úlceras venosas de pacientes atendidos em salas de curativos de unidades municipais de saúde de Goiânia;
- Verificar a prevalência de *Staphylococcus aureus* metilina resistente (MRSA) e *Staphylococcus coagulase negativos* resistentes à metilina (MRCoNS) e a concentração inibitória mínima (MIC) dos isolados;
- Detectar a resistência MLS_B em *Staphylococcus* spp. de úlceras venosas de pacientes atendidos em salas de curativos em serviços municipais de saúde;
- Verificar a frequência de sinais e sintomas clínicos indicativos de infecção em úlceras venosas; identificar o estágio clínico de infecção e correlacionar com os resultados de culturas para *Staphylococcus* spp.

3 MÉTODOS

3.1 TIPO DE ESTUDO

Trata-se de um estudo observacional analítico de delineamento transversal.

3.2 LOCAL E PERÍODO DA PESQUISA

A coleta de dados foi realizada de outubro/2009 a outubro/2010 em salas de curativos de unidades municipais de saúde de Goiânia.

3.3 CARACTERIZAÇÃO DO CENÁRIO DE ESTUDO

O município contempla sete regiões administrativas ou distritos sanitários: Norte, Sul, Leste, Oeste, Noroeste, Sudoeste e Campinas-Centro. Nestas regiões, existem 104 unidades de saúde que oferecem diversos serviços. Nelas, encontram-se as salas de curativo. Nestes serviços, fomos informados que existiam 60 salas de curativo em funcionamento. Sendo assim, com o parecer favorável do Comitê de Ética em Pesquisa para a realização do estudo, encaminhamos os informes aos diretores das regiões administrativas e, aos diretores das unidades de saúde.

Em visita às 60 salas de curativos, os pesquisadores verificaram junto aos enfermeiros, técnicos ou auxiliares de enfermagem que em 49 das mesmas, eram atendidos pessoas com feridas crônicas. Os serviços de saúde incluídos nesta investigação foram: 19 Unidades de Atenção Básica da Família, 14 Centros de Saúde, 04 Centros Integrals de Assistência Médico-Sanitária, 11 Centros de Atenção Integral à Saúde e 02 Centros de Referências (CRDT e CRASPI). A distribuição das pessoas nos sete distritos sanitários é apresentada na Figura 3.

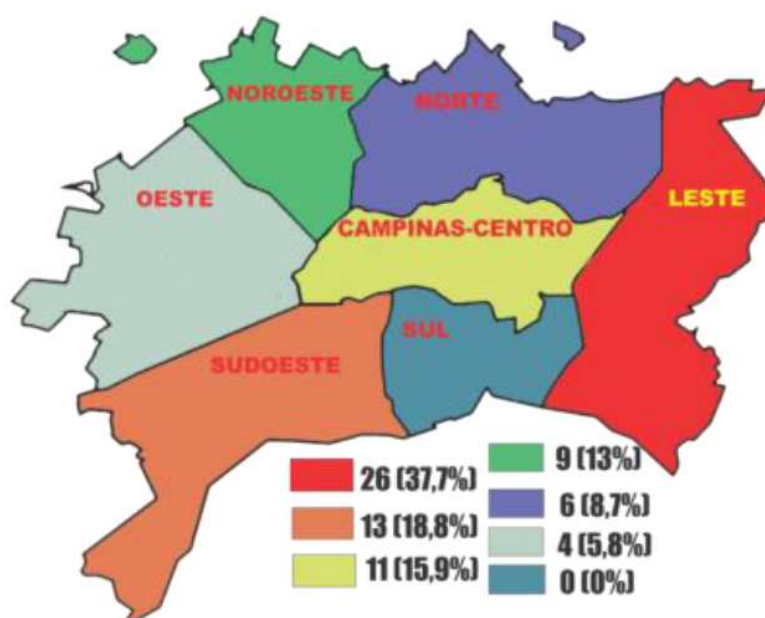


Figura 3 – Mapa de distribuição dos participantes atendidos nas salas de curativos de unidades municipais de saúde incluídos no estudo de acordo com os distritos sanitários de saúde de Goiânia, OUT/2009 a OUT/2010.

3.4 POPULAÇÃO E AMOSTRA

Identificou-se no período de observação 130 pessoas em tratamento para úlceras vasculares nos cenários de estudo. Destes, conseguiu-se abordar

111 sujeitos, treze pessoas recusaram-se a participar, dezoito foram perdidas por motivo de mudança para outro município, óbito, desistência ou descontinuidade no decorrer do período de coleta de dados.

Na população, 80 pacientes foram avaliados quanto aos critérios clínicos, presença de sinais e sintomas de infecção, sendo elegíveis 69 (86,3%) pacientes. Realizou-se a avaliação microbiológica de 98 amostras de úlceras venosas.

3.5 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Em um ano de coleta de dados, totalizou-se 69 pessoas com úlceras venosas em atendimento nas salas de curativos que atenderam aos seguintes critérios de inclusão:

- Ter idade maior ou igual a 18 anos;
- Ter lesão aberta que apresentava-se $\geq$ a 2 cm² de diâmetro;
- Apresentar no momento da avaliação, pelo menos um dos sinais ou sintomas clínicos característicos de infecção em úlcera venosa sugeridos pelo documento: *Identifying wound infection*, da *European Wound Management Association*, (EWMA, 2005);
- Ter o uso de antimicrobiano 30 dias antecedentes à coleta.

Os critérios de exclusão:

- Apresentar Índice Tornozelo Braço (ITB) $< 0,70$;

- Critérios clínicos sugestivos de doença arterial grave com manifestação nos membros inferiores;
- Estar em uso de antimicrobiano nos 30 dias antecedentes à coleta.

3.6 PROCEDIMENTOS PARA A COLETA DE DADOS

3.6.1 Treinamento dos integrantes de pesquisa

Para a realização da avaliação das úlceras venosas, realizou-se um treinamento para a equipe de pesquisadores envolvidos nesta etapa do projeto.

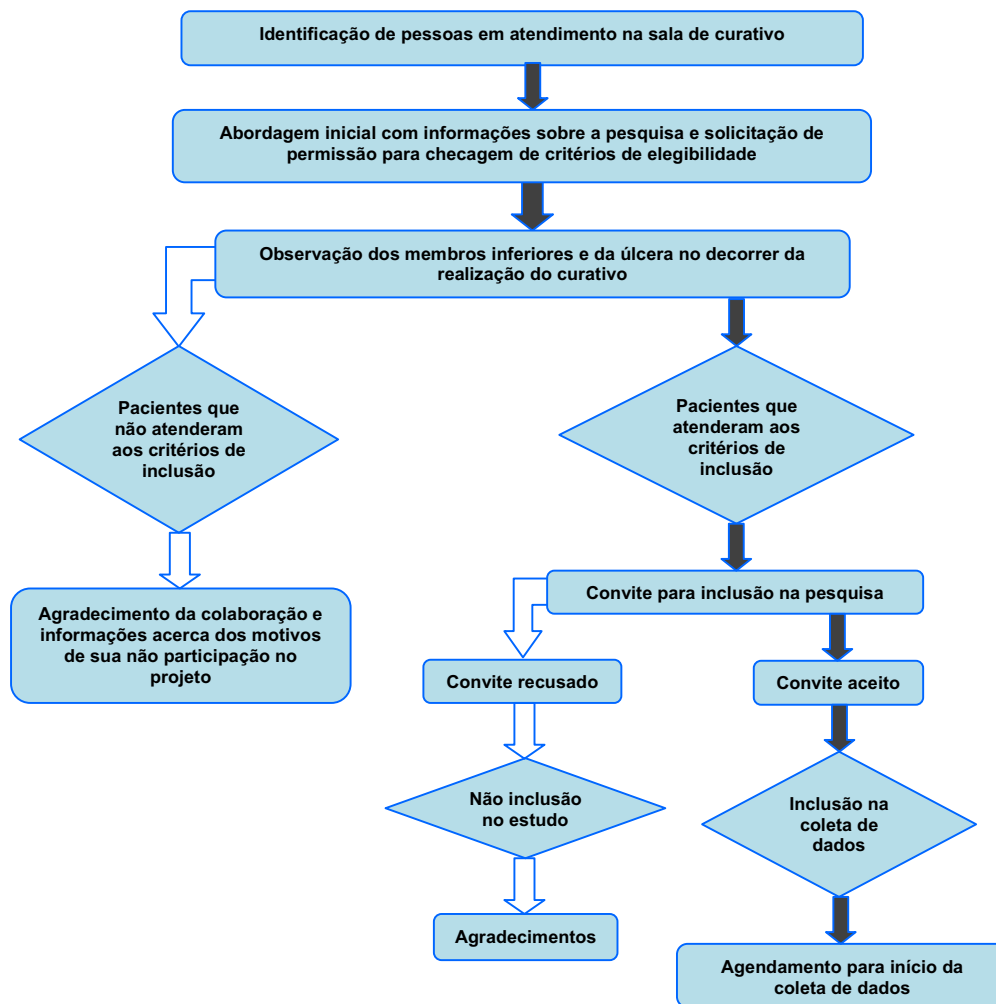
Os seguintes aspectos foram abordados:

- forma de abordagem das pessoas com feridas em atendimento das unidades de saúde;
- avaliação macroscópica das úlceras;
- manejo com o registro fotográfico;
- sinais e sintomas clínicos característicos de úlceras venosas;
- sinais e sintomas clínicos de infecção em úlceras venosas, de acordo com critérios sugeridos pela EWMA (2005);
- técnica de limpeza das lesões;
- coleta dos espécimes clínicos (técnica de Levine);
- armazenamento temporário dos espécimes clínicos, encaminhamento ao laboratório de microbiologia.

3.6.2 Aplicação do instrumento para caracterização dos sujeitos

Os dados referentes a este recorte foram obtidos dos Anexos (1 e 2) utilizado para atender aos objetivos do projeto maior. Utilizou-se para a obtenção dos dados gerais os seguintes recursos na execução das ações de pesquisa: entrevista, exame físico, utilização de escalas, busca de exames diagnósticos complementares (estudo hemodinâmico – eco-doppler, ultrassonografia), registro fotográfico, planimetria e registros em prontuários. A seleção dos participantes da pesquisa foi realizada de acordo com fluxograma 1.

Fluxograma 1- Seleção dos usuários em atendimento em salas de curativos



Outros sinais e sintomas podem estar associados (EWMA, 2003; CONUEI, 2009) e foram avaliados no momento da abordagem dos pacientes:

- Índice de tornozelo braço (ITB) $\geq 0,70$ (com associação de sinais e sintomas clínicos característicos de úlcera venosa listados a seguir;
- Localização em região perimaleolar interna ou em zona 2
- Bordas não circunscritas, regulares
- Telangiectasias e/ou varizes

- Edema de MMII
- Pigmentação de cor acastanhada (ocre), amarronzada, hiperemia
- Lipodermatosclerose
- Verbalização de dor que melhora com elevação do membro afetado e piora com posição ortostática prolongada
- Eczema, dermatite

3.6.3 Parâmetros clínicos para detecção de infecção em úlcera venosa de acordo com EWMA (2005)

Os sinais e sintomas clínicos indicativos de infecção das úlceras venosas foram avaliados de acordo com critérios estabelecidos pelo documento *Identifying criteria for wound infection, da European Wound Management Association* (EWMA, 2005) (Anexo 3).

Os critérios clínicos foram encaminhados para um tradutor, *expert* em tradução em terminologia na área de saúde, resultando no quadro 2. Em seguida, elaborou-se a definição de cada sinal e sintoma e a semiotécnica de investigação (Quadro 2).

Quadro 2 –Parâmetros clínicos para detecção de infecção em úlcera venosa de acordo com documento: *Identifying criteria for wound infection (EWMA, 2005)*.

Método para avaliação de cada sinal ou sintoma	
Sinal ou sintoma	Descrição e método
Celulite	Celulite é uma infecção da hipoderme, com importante comprometimento linfático, presença de eritema e bordas mal delimitadas. (AZULAY & AZULAY, 2006). Registrava-se a presença de celulite na evidência dos sinais e sintomas (calor, dor, rubor e edema e bordas mal delimitadas) no exame físico.
Cicatrização sem evolução apesar da adequada compressão terapêutica	Os profissionais não registram mudanças como, por exemplo, aumento da área da ferida ou de sua superfície nas últimas quatro semanas (GARDNER et al. 2001). Registrava-se o sinal como evidente quando o paciente estivesse em uso de tratamento compressivo, perguntando ao paciente ou profissional, se o tecido da ferida aumentou de forma a preencher sua superfície ou se esta menor, comparando-se com o tamanho anterior ou se nada alterou nesse período. Se a área da úlcera não foi reduzida ou nada se modificou, era registrado como sinal de infecção.
Aumento de temperatura local da pele	Aumento da temperatura detectável na pele adjacente da ferida, cerca de 4 cm da margem da ferida quando comparado a 10 cm da região da lesão (GARDNER et al. 2001). A observação de aumento de calor, com a face dorsal da mão ou dos dedos enluvada a 4 cm da ferida comparando-se com área proximal em cerca de 10 cm registrava-se como sinal evidente.
Aumento da dor da úlcera /mudança na natureza da dor	Registro conforme a verbalização do paciente se houve aumento da dor ao redor da lesão desde o desenvolvimento da úlcera (GARDNER et al. 2001). Para a avaliação deste sintoma, solicitava do paciente sua verbalização em selecionar dentre as seguintes opções, aquela que melhor caracterizava sua dor: 1) eu não sou capaz de detectar a dor na área da ferida; 2) estou com menos dor agora do que no início; 3) A intensidade da dor é a mesma desde que iniciou a úlcera; 4) a dor na ferida é maior agora do que quando iniciou. Se ele decidia pela opção 4, anotava-se este sintoma como indicador.
Úlceras recém-formadas dentro das margens inflamadas de úlceras pré-existentes	As bordas estão em rompimento, aumentando a área de delimitação da ferida (GARDNER et al. 2001; GARDNER et al. 2007). A evidência de lesões recentemente abertas em áreas inflamadas da lesão, acompanhada de hiperemia, túnel para os tecidos moles, abaulamento, rompimento, surgimento de lesões satélites, registrava-se como sinal de infecção.
Ampliação da ferida nas margens inflamadas	Bordas hiperemiadas com características de inflamação e abauladas, tipos bolsões, acompanhadas de maceração (EWMA, 2005). Registrava-se como sinal evidente este sinal, ao observar aumento das bordas da ferida na área inflamada.
Descoloração do tipo opaca, tijolo vermelho escuro	Relacionado ao leito da ferida. Tecido de granulação pálido, descolorado ou escurecido (GARDNER et al. 2001). Registrava-se o sinal como evidente ao avaliar descoloração do leito em tecido de granulação, com apresentação pálida, descolorado ou escurecido.
Tecido de granulação friável que sangra facilmente	Tecido de granulação que sangra facilmente ao ser manipulado com gaze ou swab no leito da ferida (GARDNER et al. 2001). Registrava-se o sinal como evidente, na evidência deste tipo de tecido na avaliação (tecido de granulação com sangramento fácil ao ser manipulado com gaze ou swab no leito da ferida).
Aumento da viscosidade do exsudato	Aumento da quantidade de exsudato com características espessas, denso, viscoso, avaliado mediante observação da retirada do curativo prévio, no momento do atendimento em sala de curativo da

	unidade.
Aumento do volume do exsudato	Aumento da quantidade do exsudato. Avaliação realizada no momento da retirada do curativo anterior e confirmação do relato verbal do paciente ou do profissional no período entre a troca da cobertura. Perguntava-se ao paciente ou profissional, se foi observado aumento da quantidade de exsudato, após a aplicação do curativo.
Odor fétido	Odor distintamente desagradável e representativo de mau cheiro (GARDNER et al, 2001). A percepção de odor fétido no momento da retirada da cobertura, caracterizava-se o sinal como evidente e registrava-se como indicador clínico de infecção.
Nova manifestação de ferida de coloração amarronzada	Aparecimento de tecido de coloração amarronzada, característico de tecido necrótico de cor marrom.
Aparecimento súbito /aumento da quantidade de esfacelos	Observação da presença de esfacelos na borda ou no leito da ferida, com aparecimento recente ou aumento da quantidade (EWMA, 2005). Esfacelos referem-se ao tecido necrótico, de coloração amarelo a esverdeado.
Repentino aparecimento de manchas necróticas negras	Presença de tecido necrótico de cor escura (EWMA, 2005). A evidência de pontos necróticos no leito da úlcera registrava-se como evidência do sinal.
Aumento do tamanho da úlcera	Aumento do tamanho da úlcera, verificada após observação dos registros do atendimento ou relato do paciente se houve aumento no tamanho da úlcera, nas últimas duas semanas.
Chave da classificação	
Indicador: Alto = forte Celulite	Score 8 ou 9
Médio = moderado Cicatrização sem evolução apesar da adequada compressão terapêutica Aumento de temperatura local da pele Aumento da dor da úlcera /mudança na natureza da dor Úlceras recém-formadas dentro das margens inflamadas de úlceras pré-existentes Ampliação da ferida nas margens inflamadas	Score 6 ou 7
Baixo = fraco Descoloração do tipo opaca, tijolo vermelho escuro Tecido de granulação friável que sangra facilmente Aumento da viscosidade do exsudato Aumento do volume do exsudato Odor fétido Nova manifestação de ferida de coloração amarronzada Aparecimento súbito /aumento da quantidade de esfacelos Repentino aparecimento de manchas necróticas negras Aumento do tamanho da úlcera	Score 4 ou 5

3.6.4 Avaliação do estágio clínico de infecção de ferida de acordo com EWMA (2006)

Para a detecção do estágio clínico de infecção das úlceras utilizou os critérios clínicos estabelecidos EWMA (2006), e o documento - *Management of wound infection*:

- Estágio I - Sinais e sintomas de infecção são pouco sutis: algum odor, dor ou exsudato. A cicatrização progride normalmente.
- Estágio II - Aumento de sinais de infecção – odor, exsudato e dor. A cicatrização não segue um curso normal.
- Estágio III - Sinais de infecção local evidente – exsudato purulento, edema, dor, eritema e calor local. Indício de envolvimento de pele perilesional; observação de tecido não saudável ou deteriorando (celulite, limfagite ou gangrena).
- Estágio IV – Sinais de infecção local e sistêmica – hipertermia, aumento de glóbulos brancos – possível envolvimento do tecido adjacente, podendo levar a sepse, falência de órgãos e óbito.

3.7 ASPECTOS ÉTICOS/LEGAIS

O estudo está inserido em um projeto maior intitulado: “Avaliação de úlceras venosas de estase no contexto do atendimento ambulatorial na rede municipal de saúde de Goiânia: ampliando as perspectivas”, aprovado pela Secretaria Municipal de Saúde de Goiânia e pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás (protocolo 041/2009). Está integrado à Rede

Goiana de Pesquisa em Avaliação e Tratamento de Feridas, tendo como parceiros: a Faculdade de Enfermagem da Universidade Federal de Goiás, a Secretaria Municipal de Saúde de Goiânia e a Associação de Combate ao Câncer em Goiás, tendo como objetivos produzir conhecimento e tecnologia que possam fornecer subsídios para a formulação de políticas públicas e prática baseada em evidência.

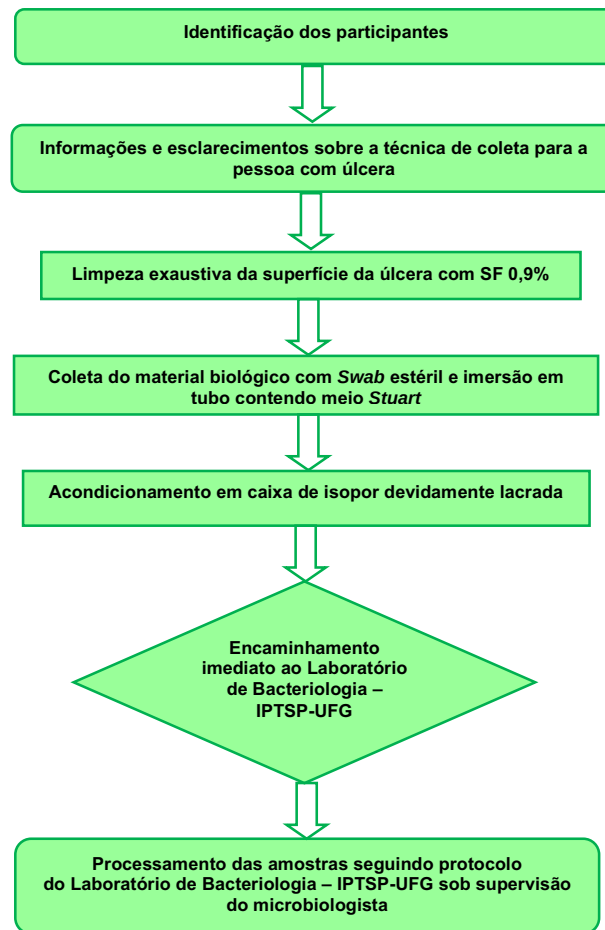
O projeto mais amplo foi contemplado com apoio financeiro junto à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG), pela Rede Goiana de Pesquisa em Avaliação e Tratamento de Feridas. Tivemos como parceiro o laboratório de bacteriologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás.

Todos os participantes foram esclarecidos sobre os objetivos da pesquisa e assinaram o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE) e sua participação foi voluntária. Em quaisquer momentos da pesquisa, o mesmo poderia retirar o seu consentimento.

3.8 Procedimentos para a coleta dos espécimes clínicos

Realizou-se a coleta dos espécimes clínicos e posterior encaminhamento ao laboratório do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP-UFG) (Fluxograma 2).

Fluxograma 2 – Coleta dos espécimes clínicos e encaminhamento ao laboratório de bacteriologia médica do IPTSP-UFG



A coleta do material biológico foi realizada durante a realização do curativo, após limpeza exhaustiva da superfície da lesão com solução fisiológica 0,9% estéril. Para isso foi realizada técnica a jato ou fricção superficial com gaze estéril no leito da úlcera.

Em seguida, os tecidos expostos da ferida foram criteriosamente avaliados e a partir da avaliação identificava-se o local propício para a coleta (tecido de granulação com aparência viável).

A coleta foi realizada com *swab* estéril alginatado (COPAN®), de acordo com técnica de *Levine* que preconiza girar o *swab* com área de aproximadamente 1cm² com suficiente pressão no tecido, de forma a emergir o líquido dos tecidos da ferida, durante 5 segundos em seu próprio eixo em um único ponto do leito da ferida (LEVINE *et al.*, (1976).

3.9.1 Procedimentos laboratoriais

Na análise bacteriológica seguiu-se as técnicas recomendadas por Oplustil *et al.* (2004) e Koneman *et al.* (2008), sob a supervisão direta de um microbiologista. No controle de qualidade dos procedimentos empregou-se cepas padrão da *American Type Culture Collection* (*Staphylococcus aureus* ATCC® 25923).

3.9.2 Transporte e processamento das amostras

O *swab* contendo material coletado do leito da úlcera era imerso imediatamente em tubo com meio estéril para transporte, *Stuart* (COPAN®). Eram acondicionados em caixas de isopor e encaminhados à temperatura ambiente para o Laboratório de Bacteriologia Médica do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás (IPTSP/UFG), para processamento em até 12 horas.

No laboratório, as amostras foram processadas pela técnica de esgotamento de alça em meio de cultura seletivo para *Staphylococcus* sp., ágar manitol salgado Himedia®. Para aumentar a probabilidade de isolamento de estafilococos resistentes à meticilina (*screening* para detecção de resistência à oxacilina) (ROSSI, ANDREAZZI 2005; CLSI, 2009), as amostras também foram cultivadas em ágar *tryptic soy* (TSA) Himedia® e caldo *tryptic soy* (TSB) Himedia® suplementados com 4% de NaCl e 6mcg/mL de oxacilina. Todos os meios de cultura foram incubados a 35°C por 24 a 48 horas.

3.9.3 Isolamento e identificação presuntiva de *Staphylococcus* spp.

Realizava-se observação diária dos meios de cultura e as colônias isoladas eram caracterizadas macroscopicamente, segundo: aspecto, forma, tamanho, cor, odor, produção de pigmento e capacidade de fermentação do manitol. Aquelas que apresentavam características sugestivas do gênero *Staphylococcus* eram submetidas à coloração de Gram para observação microscópica e classificação quanto aos aspectos morfotintoriais (cocos Gram-positivos agrupados em cacho).

Para o isolamento de colônias puras, estas foram reisoladas em ágar manitol salgado e ágar nutriente Himedia® pela técnica de esgotamento de alça, e confirmadas quanto à coloração de Gram de acordo com protocolo laboratorial de pesquisa estabelecido pela equipe de pesquisadores.

3.9.4 Provas de identificação de *Staphylococcus* sp.

A identificação dos isolados foi realizada por meio das seguintes provas: capacidade de fermentação do manitol, detecção da enzima catalase, coagulase e DNase. Os micro-organismos também foram caracterizados quanto à produção da enzima lecitinase como fator de virulência.

3.9.5 Prova de fermentação do manitol

Para esta prova, utiliza-se o ágar manitol salgado Himedia®, o qual apresenta em sua constituição NaCl (7,5%), manitol (1%) e vermelho de fenol (0,025%) como indicador de pH. Os *Staphylococcus* são identificados quanto a sua capacidade de fermentação do manitol através da mudança de coloração do meio ao redor das colônias.

A presença de halo amarelo indica a produção de ácido a partir da fermentação do manitol, enquanto que a presença de coloração vermelha indica a não fermentação do açúcar. Esta prova teve sua leitura realizada após 24 horas de incubação a 35°C, juntamente com os cultivos primários das amostras, conforme mostra a figura 4.



Figura 4 - Prova de fermentação do manitol

3.9.6 Prova de detecção da catalase

A catalase é uma enzima que decompõe o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em água e oxigênio. O teste é empregado para a diferenciação dos gêneros *Staphylococcus* e *Streptococcus*. Para a realização desta prova o micro-organismo em estudo é cultivado em ágar nutriente e incubado a 35°C por 24 horas. Parte da colônia é misturada a uma gota de peróxido de hidrogênio 3% New Prov® sob uma lâmina.

A observação imediata da produção de efervescência (formação de bolhas) indica a presença da enzima e a conversão do H_2O_2 em água e oxigênio gasoso, o que caracteriza o gênero *Staphylococcus*.

3.9.7 Prova de detecção da coagulase em tubo

A coagulase detectada por esta técnica é uma enzima secretada extracelularmente e que reage com uma substância presente no plasma

denominada fator de reação da coagulase (CRF). Como resultado tem-se a formação de um complexo que age, por sua vez, com o fibrinogênio, formando o coágulo de fibrina. A aplicação desta prova permite a diferenciação dos *Staphylococcus* sp. em dois grupos distintos: *Staphylococcus* coagulase-positivos (ECP) e *Staphylococcus* coagulase-negativos (CoNS).

Para a realização do teste as bactérias foram repicadas em ágar nutriente e, após incubação por 24 horas a 35°C, parte da colônia bacteriana foi misturada a 0,5 mL de plasma de coelho hidratado New Prov®. O material foi incubado a 35°C e a leitura realizada com 2 ou 4 horas de incubação sob luz refletida, para melhor visualização da formação do coágulo de fibrina.

A formação de coágulo indica a presença da enzima coagulase e classifica o micro-organismo como pertencente ao grupo ECP. No caso de reação negativa posterior a leitura com 4 horas, a bactéria em estudo era mantida à temperatura ambiente e repetia-se a leitura com 18 horas. Caso a não formação de coágulo fosse mantida, considerava-se o teste negativo (Figura 5).

Este procedimento é necessário já que alguns isolados de estafilococos podem produzir fibrinolisinases por incubação prolongada a 35°C, o que causa dissolução do coágulo durante o período de incubação.

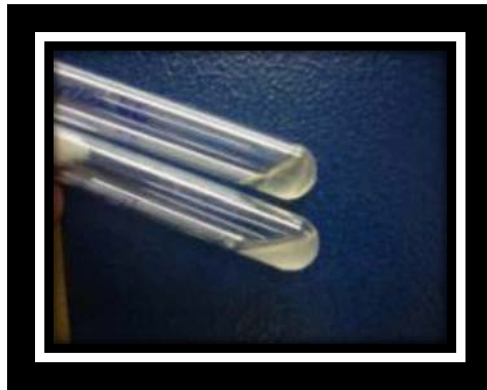


Figura 5 - Prova de detecção da coagulase em tubo

3.9.8 Prova de detecção da DNase

Staphylococcus aureus produz DNase. Esta enzima é capaz de hidrolisar ácido desoxirribonucleico (DNA) e sua detecção é empregada para diferenciar *S. aureus* de outros CoNS. Este teste apresenta elevada correlação com a produção de coagulase.

Para realização da prova, a bactéria foi cultivada em ágar nutriente a 35°C por 24 horas. Posteriormente, parte da colônia foi semeada em ágar DNase na forma de mancha densa e incubada a 35°C por 24 horas. O meio de cultura contém metacromático azul-de-toluidina como indicador de pH e a formação de halo rosa ao redor da mancha indica hidrólise do DNA e, portanto, prova positiva (Figura 6).



Figura 6 – Prova de detecção da DNase

3.9.9 Prova de detecção da lecitinase

Alguns estafilococos podem ser produtores de um fator de virulência denominado lecitinase. Esta enzima degrada lecitina, um fosfolípido presente nas membranas celulares, causando lise de células teciduais.

Para a realização da prova os isolados foram repicados em ágar nutriente e incubados por 24 horas a 35°C. Em seguida, as colônias bacterianas foram semeadas em ágar Naito contendo gema de ovo. A presença de precipitado (zona opaca) ao redor do cultivo indica degradação da lecitina presente no meio, caracterizando a prova como positiva (Figura 7).



Figura 7 - Prova de detecção da lecitinase

3.9.10 Armazenamento

Após isolamento e identificação, os micro-organismos foram cultivados em ágar nutriente e incubados a 35°C por 24 horas para posterior armazenamento. As colônias bacterianas foram inoculadas em quatro tubos tipo *eppendorfs* contendo caldo *tryptic soy* acrescido de 20% de glicerol. Os tubos foram armazenados a -20°C e -80°C na bacterioteca do laboratório (Figura 8).



Figura 8 - Armazenamento isolados em *eppendorfs*

3.9.11 Teste de suscetibilidade aos antimicrobianos pelo método de disco difusão

Os micro-organismos identificados foram investigados frente a diferentes antimicrobianos pelo teste de disco difusão (antibiograma), descrito por Kirby e Bauer e padronizado pelo *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS, 2003), atualmente denominado de *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). O controle de qualidade do teste foi realizado com cepas da *American Type Culture Collection* (ATCC) *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923.

Para a realização do teste, o micro-organismo em estudo foi cultivado em ágar nutriente a 35°C por 24 horas. Em seguida, uma suspensão bacteriana padrão (inóculo) de aproximadamente $1 \text{ a } 2 \times 10^8$ UFC/mL e correspondente à escala 0,5 de McFarland foi preparada e semeada em ágar Müller-Hinton (Himedia®), com auxílio de *swab* estéril. Sobre a superfície do meio de cultura inoculado eram depositados discos de papel de filtro impregnados com antimicrobianos. Após este procedimento, o micro-organismo era incubado a 35°C por 24 horas.

Os seguintes antimicrobianos (Bio-Rad® e Oxoid®) foram empregados: eritromicina 15µg, clindamicina 2µg, ciprofloxacina 5µg, linezolida 30µg, mupirocina 5µg, oxacilina 1µg, cefoxitina 30µg, tetraciclina 30µg, trimetoprim-sulfametoxazol 1.25/23.75µg, rifampicina 5µg, gentamicina 10µg e quinupristina-dalfopristina 15µg. Os antimicrobianos avaliados neste estudo

foram selecionados conforme atividade para *Staphylococcus* sp. e ação em infecções de pele e partes moles, como feridas (Tavares, 2009).

Estes fármacos estão entre os mais empregados na prática médica e foram aprovados para testes de suscetibilidade em Laboratórios de Microbiologia Clínica. O disco de cefoxitina foi empregado apenas como marcador de fenótipo de resistência à meticilina (BSAC, 2009; CLSI, 2009).

Posteriormente ao período de incubação, a leitura do antibiograma foi realizada medindo-se o diâmetro (em milímetros) do halo de inibição do crescimento bacteriano formado ao redor do disco. O micro-organismo foi então classificado como sensível, intermediário ou resistente ao agente testado (Figura 9).

A interpretação dos resultados foi realizada, no momento das análises, segundo critérios estabelecidos pelo CLSI (2009). Para o disco de oxacilina (somente CoNS) e mupirocina foi empregado critérios interpretativos recomendados por BSAC (2009).



Figura 9 - Placa de antibiograma

3.9.12 Teste de detecção fenotípica de resistência à meticilina

A detecção fenotípica de resistência à meticilina foi realizada em duas etapas, teste de *screening* (triagem) e teste confirmatório, segundo critérios técnicos e interpretativos recomendados (ROSSI; ANDREAZZI, 2005; BSAC, 2009; CLSI 2009). Cepa *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923 foi utilizada como controle de qualidade.

3.9.13 Teste de *screening* para oxacilina

O teste de *screening* foi realizado juntamente com o antibiograma anteriormente descrito. Os discos de oxacilina 1µg e cefoxitina 30µg foram empregados como marcadores do fenótipo de resistência à meticilina, tanto para *S. aureus* quanto para os *S. coagulase-negativos*. A escolha do uso dos dois antimicrobianos foi feita com base nas recomendações de documentos especializados e com o objetivo de aumentar a possibilidade de detecção do fenótipo de resistência.

A oxacilina foi utilizada como representante da classe das penicilinas penicilinase-estáveis por ser mais resistente a degradação durante o armazenamento, além de detectar mais facilmente heterorresistência entre as cepas de estafilococos. Já o teste com cefoxitina é o método de preferência

para prever a resistência à oxacilina mediada por gene *mecA*, além de possuir especificidade maior e sensibilidade equivalente ao teste com oxacilina.

S. aureus com halo de inibição $\leq 13\text{mm}$ para oxacilina e $\leq 22\text{mm}$ para cefoxitina, bem como estafilococos coagulase-negativos com halo $\leq 14\text{mm}$ para oxacilina (BSAC, 2009) e $\leq 25\text{ mm}$ para cefoxitina foram reportados como resistentes e, conseqüentemente, submetidos ao teste confirmatório (Figura 10).

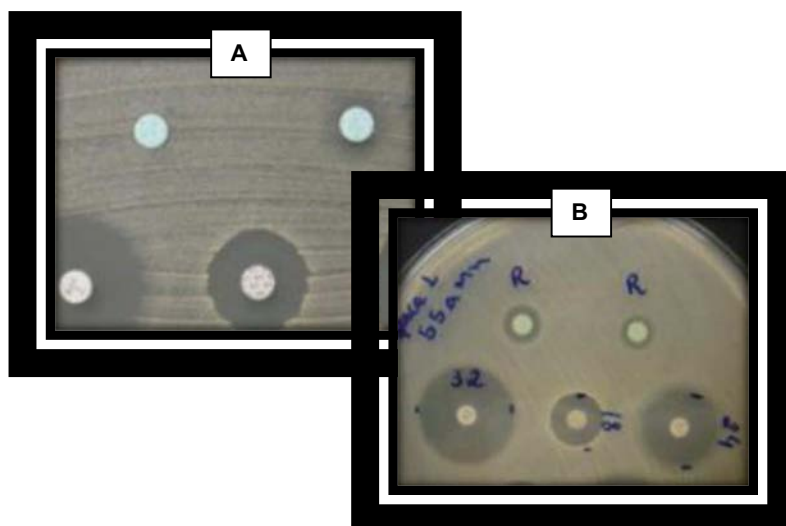


Figura 10 - Teste de *screening* isolados resistente a metilina (A e B)

3.9.14 Teste confirmatório (*E-test*)

Staphylococcus sp. que apresentaram resistência a oxacilina e/ou cefoxitina no teste de triagem foram submetidos ao teste confirmatório de resistência à metilina. Este teve como base a detecção da concentração inibitória mínima (MIC) através da técnica do *E-test*®.

O micro-organismo foi cultivado em ágar nutriente a 35°C por 24 horas. Uma suspensão bacteriana padrão correspondente à escala 0,5 de McFarland foi preparada e semeada em ágar Mueller-Hinton Himedia®, com auxílio de *swab* estéril. Em seguida uma fita de plástico impregnada com oxacilina em diferentes concentrações (0,016 - 256µg/mL) foi aplicada sobre a superfície do meio de cultura inoculado, segundo recomendações do fabricante.

Após incubação a 35°C por 24 horas foi realizada a leitura e interpretação do teste. A MIC foi detectada a partir do início da formação da elipse de inibição. *S. aureus* com MIC $\geq 4\mu\text{g/mL}$ e estafilococos coagulase-negativos com MIC $\geq 0,5\mu\text{g/mL}$ foram confirmados quanto à resistência à metilicina (Figura 11).



Figura 11 - Teste confirmatório (*E-test*) (A e B)

3.9.15 Teste de detecção fenotípica de resistência induzível ao grupo MLS_B

O *D-test* é realizado por disco aproximação juntamente com o antibiograma anteriormente descrito. Nesse teste, o disco de clindamicina 2µg foi colocado a uma distância de 15 mm do disco de eritromicina 15µg. O achatamento do halo de inibição ao redor da clindamicina (halo D) reporta o resultado como positivo para o fenótipo induzível e, portanto, resistência à clindamicina (Figura 12).

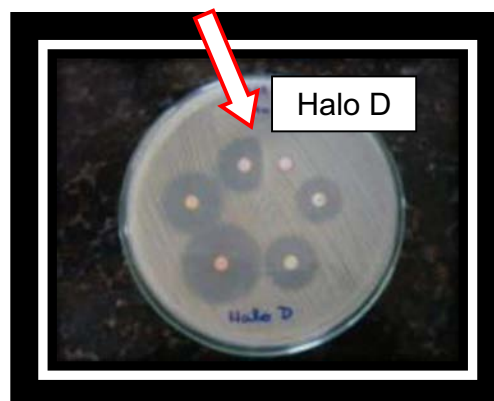


Figura 12 - Detecção do fenótipo MLS_B (D-test positivo)

3.10 ORGANIZAÇÃO E ANÁLISE DOS DADOS

Foi realizada estatística descritiva dos dados individuais dos pacientes da pesquisa, por meio de medidas de frequência para as variáveis qualitativas e medidas de posição e de variabilidade para as variáveis quantitativas.

Os dados foram submetidos à codificação e digitados em um banco de dados no software *Statistical Package for the Social Sciences for Windows®* (SPSS 17.0), e realizado a estatística inferencial univariada mediante os testes de associação, para as variáveis qualitativas, nominais, com dois grupos não pareados: X^2 - Qui-quadrado ou Exato de *Fisher's* considerando o nível de significância adotado de 5% ($\alpha=0,05$).

Os resultados e discussões deste estudo encontram-se na forma de dois artigos científicos e respectivas normas dos periódicos em anexo.

4 PUBLICAÇÕES

4. 1 Artigo 1 – Prevalence of resistance phenotypes in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative isolates of venous ulcers of primary healthcare patients

Marlene Andrade Martins¹, Silvana de Lima Vieira dos Santos¹, Lara Stefânia Netto de Oliveira Leão², Maria Márcia Bachion¹, Nayara Portilho Araújo³

Revista: Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical (submetido)

4.2 Artigo 2 - *Staphylococcus* spp. em úlceras venosas: perspectiva clínica e implicações para a enfermagem

Marlene Andrade Martins¹, Silvana de Lima Vieira dos Santos², Lara Stefânia Netto de Oliveira Leão³, Lilian Varanda Pereira⁴, Denise de Andrade⁵, Maria Márcia Bachion⁶

Revista: Revista Latino-Americana de Enfermagem

4. 1 Artigo 1

Prevalence of resistance phenotypes in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative isolates of venous ulcers of primary healthcare patients

Marlene Andrade Martins¹, Silvana de Lima Vieira dos Santos¹, Lara Stefânia Netto de Oliveira Leão², Maria Márcia Bachion¹, Nayara Portilho Araújo³

1. Health Sciences Graduate Program, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO.

2. Tropical Pathology and Public Health Institute, Medical Bacteriology Laboratory, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO.

3. Physician of the Goiânia Municipal Health Department.

Address: Doctoral Student Marlene Andrade Martins, Universidade Federal de Goiás. Rua 37 A Q4 LT 6/11 Residencial Park Bela Vista, 74912-105, Aparecida de Goiânia, Goiás, Brazil.

Telephone: 55 62 99669965

e-mail: marlenianapower@hotmail.com

ABSTRACT:

Introduction: In venous ulcers, the presence of *staphylococcus aureus* and *coagulase-negative staphylococcus* resistance phenotypes can aggravate and limit the choices for treatment. **Methods:** Evaluations were conducted on 69 patients and 98 ulcers between October of 2009 and October of 2010. The detection of resistance phenotype to the MLS_B group was performed using the *D-test*. Isolates resistant to cefoxitin and/or oxacillin (disk-diffusion) were subjected to the confirmatory test to detect MIC (minimum inhibitory concentration), using oxacillins strips (*E-test*®). **Results:** The prevalence of *S. aureus* was 83%, and 15% of *coagulase-negative staphylococcus* (CoNS). In addition 28% of *Methicillin-resistant S. aureus* (MRSA) and 47% of *methicillin-resistant coagulase-negative staphylococcus* (MRCoNS) were also identified. Among the *S. aureus*, 69.6% were resistant to erythromycin, 69.6% to clindamycin, 69.6% to gentamicin, and 100% to ciprofloxacin. Considering the MRSA, 74% were highly resistant to oxacillin, MIC ≥ 256 $\mu\text{g/mL}$, and the MLS_{Bc} constitutive resistance predominated in 65.2%. Among the 20 isolates sensitive to clindamycin, 12 presented an inducible MLS_B phenotype. Of the MRCoNS, 71.4% were resistant to erythromycin, ciprofloxacin and gentamicin. Considering the isolates positive for β -lactamases, the MIC breakpoint was between 0.5 and 2 $\mu\text{g/mL}$. **Conclusions:** The results point to a high occurrence of multi-drug resistant bacteria in venous ulcers of primary healthcare patients, thus evidencing the need for preventive measures to avoid infection outbreaks caused by multi-drug resistant pathogens, and the importance of healthcare professionals being capable of identifying colonization from infections in venous ulcers, an essential criteria to implementing systemic antibacterial therapy.

Keywords: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Drug Resistance, Bacterial. Varicose Ulcer. Primary Health Care.

RESUMO:

Introdução: Em úlceras venosas a presença de *Staphylococcus aureus* e *coagulase negativo* com fenótipos de resistência pode constituir fator agravante e limita as opções terapêuticas. **Métodos:** Foram avaliadas 69 pessoas e 98 úlceras no período de outubro/09 a outubro/2010. A detecção fenotípica da resistência ao grupo MLS_B foi realizada pelo *D-test*. Isolados resistentes a cefoxitina e/ou oxacilina (disco-difusão) foram submetidos ao teste confirmatório para detecção da MIC, empregando fitas de oxacilina (*E-test*®). **Resultados:** A prevalência de *S. aureus* foi de 83% e CoNS de 15%. Identificou-se 28% de MRSA e 47% de MRCoNS. Entre o *S. aureus*, 69,6% apresentaram resistência a eritromicina, 69,6% a clindamicina, 69,6% a gentamicina e 100% a ciprofloxacina. 74% dos MRSA apresentaram elevado nível de resistência a oxacilina, MIC ≥ 256 µg/mL, e em 65,2% predominou a resistência constitutiva MLS_{BC}. Dos 20 isolados sensíveis a clindamicina, 12 apresentaram fenótipo MLS_B induzível. 71,4% dos MRCoNS apresentaram resistência a eritromicina, ciprofloxacina e gentamicina. Dos isolados positivos para a enzima β -lactamases, as MIC tiveram *breakpoint* entre 0,5 a 2 µg/mL. **Conclusões:** Os resultados sinalizam elevada ocorrência de bactérias multirresistentes em úlceras venosas de pessoas atendidas na atenção primária, evidenciando a necessidade de medidas preventivas que evitem surtos de infecções por patógenos resistentes a múltiplas drogas e a importância dos profissionais em discernir infecção de colonização em úlcera venosa, critério fundamental na indicação antibioticoterapia sistêmica.

Palavras-Chave: *Staphylococcus aureus* Resistente à Meticilina. Resistência Bacteriana a fármacos. Úlcera Varicosa. Atenção primária à saúde.

Introduction

Venous ulcers are the most common type of wound affecting the lower limbs. These ulcers have multi-factor causes, are recurrent, and do not heal easily¹. The chronic exposure of these ulcers to the environment, associated with the intrinsic factors of the patient, predisposes the onset of infectious processes that worsen the prognosis for cure². Within this context, the healthcare professionals treating these wounds must have the necessary clinical judgment to evaluate the possibility of infection.

Among the many potential infectious agents present in these wounds, from an epidemiological perspective, *S. aureus* and *coagulase-negative S.*, are of great clinical interest as these pathogens are commonly found in skin and soft tissue infections³. The

existence of resistance phenotypes in these microorganisms, when present in venous ulcers, is an important health condition due to the pathogenicity involved and also the many virulence factors affecting the healing process⁴.

The possibility of multi-drug resistant agents (MDROs) is also a problem. Studies in different countries or regions, point to a growing prevalence of these pathogens⁵⁻⁸.

Within this context, particular emphasis is given to *Methicillin-resistant S. aureus* (MRSA) and *methicillin-resistant coagulase-negative Staphylococcus* (MRCoNS), as well as those susceptible to methicillin (MSSA and MSCoNS). These microorganisms can present other resistance phenotypes of clinical interest, such as constitutive or inducible resistance to the MLS_B group (macrolide, lincosamide and streptogramin B)⁹⁻¹¹.

In vascular ulcers, these microorganisms integrate the lesion environment with a significant bioburden^{12,13}. Therefore, continuous monitoring of the infectious agents and their susceptibility to antimicrobials is recommended as an important infection control strategy¹⁴, besides contributing to an effective therapy approach in primary healthcare.

The objectives of the present study were: to verify the prevalence and minimum inhibitory concentration (MIC) of the isolated (MRSA, MSSA, MRCoNS and MSCoNS) of venous ulcers of primary healthcare patients; evaluate the susceptibility profile of these isolates to antimicrobials; and detect constitutive and inducible MLS_B resistance phenotypes.

Methods

Setting and ethical considerations

This sectional, clinical and observational study was performed using a quantitative approach and is part of a broader project named: “Avaliação de úlceras venosas de estase no contexto do atendimento ambulatorial na rede municipal de saúde de Goiânia: ampliando as perspectivas” (*The evaluation of venous stasis ulcers in the context of outpatient care in the municipal health network of Goiânia: improving the perspectives*), integrated to Rede Goiana de Pesquisa em Avaliação e Tratamento de Feridas (*Goiânia Network for Research in Wound Evaluation and Treatment*), approved by the Research Ethics Committee of Universidade Federal de Goiás (protocol 041/2009). In this metropolis, primary healthcare comprises a low- and medium-complexity service network, distributed into seven health districts or administrative regions, which include outpatient clinics and health centers, which provide treatment to individuals with leg ulcers.

The data were obtained between October of 2009 and October of 2010. The following inclusion criteria were established: age equal to or more than 18 years; have at least one venous ulcer for at least six weeks; present at least three clinical signs of infection on the lesion, according to the suggestions of the European Wound Management Association². The exclusion criteria were: having used antimicrobials within 30 days before the specimens were collected.

The data were obtained by administering a standardized instrument that includes the list of clinical signs and symptoms for infection proposed by the European Wound Management Association², in addition to a clinical exam and collection of a specimen from the ulcer for microbiological analysis.

Collection of the clinical specimens

After fully cleaning the ulcers using sodium chloride at 0.9%, the clinical specimens of the lesions were collected using a sterile swab (*COPAN*[®]), following the technique proposed by Levine et al¹⁵, referenced by Angel et al¹⁶.

The microbiological analyses were performed following the recommended techniques¹⁷⁻¹⁸. The quality of the procedures was controlled using standard strains of the American Type Culture Collection (*Staphylococcus aureus* ATCC[®] 25923).

Bacterial strains and screening to detect MRSA and MRCoNS isolates

The samples were processed in a selective culture medium for *Staphylococcus* sp., Mannitol salt agar (Himedia[®]). To increase the probability of isolating MRSA and/or MRCoNS, the samples were also cultivated on tryptic soy agar (TSA) Himedia[®] and tryptic soy broth (TSB) Himedia[®] supplemented with 4% NaCl and 6mcg/mL oxacillin¹⁹⁻²⁰. The culture media were incubated at 35°C for 24 to 48 hours.

The identified microorganisms were tested for 12 antimicrobials using the disk-diffusion technique²¹. The results were interpreted simultaneously to the analysis, according to the criteria established by the Clinical and Laboratory Standards Institute²⁰ and the British Society for Antimicrobial Chemotherapy²².

Determining the resistance phenotypes

Specimens that presented resistance to oxacillin or ceftiofur were subjected to the confirmatory test to detect the minimal inhibitory concentration (MIC), E-test[®].

The detection of the inducible MLS_B phenotype was performed using disk approximation, D-test²⁰. In this test, the 2µg-clindamycin disk was placed 15mm apart from the 15µg-erythromycin disk. The flattened inhibition halo around the clindamycin (halo D) classified the result as positive for the inducible phenotype, and, therefore, resistance to clindamycin.

The databank was created using *SPSS 17.0 (Statistical Package for the Social Sciences for Windows®)*, and descriptive statistics was performed.

Results

Characteristics of the population

Of the 69 evaluated patients, 40 (58%) were male, and 29 (42%) were female. Of these, 35 (50.7%) were ≤ 60 years old. Regarding their social class, 32 (46.4%) were in social class D. Fifty-two (75.4%) patients has only one lesion, while 17 (24.6%) had multiple lesions.

Prevalence and susceptibility of the isolated specimens

Considering the total 98 investigated lesions, 80 (81.7%) tested positive for *Staphylococcus* spp. Among these, 83% *S. aureus* isolates were obtained, 23 (28%) of which were MRSA and 60 (72%) MSSA. Regarding the CoNS, 15% isolates were identified, 7 (47%) of which were resistant (MRCoNS) and 8 (53%) were sensitive (MScONS) to methicillin.

Regarding the MRSA, the analysis of the susceptibility profile revealed greater resistance to erythromycin (69.6%), clindamycin (69.6%), gentamicin (69.6%), and ciprofloxacin (100%) compared to the MSSA. The latter presented the following values: erythromycin (38%), clindamycin (18%), tetracycline (28%), and rifampicin (15%). MRCoNS showed greater resistance to erythromycin, ciprofloxacin and gentamicin, with 71.4% (Table 1).

The drugs with better activity for both isolates, MRSA and MSSA, were mupirocin, linezolid, sulfamethoxazole-trimethoprim, tetracycline and quinupristin/dalfopristin, with sensitivity above 98%. The antimicrobials with the best

activity for MRCoNS and MSCoNS were linezolid, mupirocin, quinupristin/dalfopristin and sulfamethoxazole-trimethoprim, with sensitivity above 87.5%.

MRCoNS and MSCoNS isolates with intermediate sensitivity were not identified. On the other hand, among the MRSA, it was found that 4.3% were sensitive to erythromycin and 17.4% to oxacillin. Among the MSSA, 25% were sensitive to erythromycin and ciprofloxacin, 2% to rifampicin and 4% to gentamicin.

Characterization of the resistance phenotypes

All the MRSA and MRCoNS were resistant to ceftiofur (marker), while 95.6% showed reduced sensitivity to oxacillin. The E-test results evidenced that 17/23 (74%) MRSA has a high level of resistance to oxacillin ($\geq 256 \mu\text{g/mL}$). The MIC for the remaining specimens was between 32 and 96 $\mu\text{g/mL}$. It was found that 3/7 (43%) of MRCoNS had a MIC of 1.5 $\mu\text{g/mL}$ (Table 2).

Regarding the MLS_B phenotype, the MRSA were highlighted because of their constitutive resistance, in which 15 (65.2%) isolates presented natural resistance to clindamycin. Between the two clindamycin-sensitive MRSA, only one tested positive in the D-test, and, therefore, also for the inducible phenotype. Among the MRCoNS, only one isolate was positive for the MLS_{Bi} phenotype and another for the MLS_{Bc} phenotype (Table 3).

The highlight regarding the MSSA was their inducible resistance. Considering the 20 clindamycin-sensitive isolates, 12 (20%) presented inducible MLS_B phenotype.

Constitutive resistance was found in only one MSSA and one MSCoNS isolate. No inducible resistance was observed among the MSCoNS, and 75% of these bacteria were sensitive to both erythromycin and clindamycin.

Discussion

This is the first study that analyzes the resistance phenotypes of microorganisms isolated from venous ulcers of individuals treated at primary healthcare services in Goiânia, Goiás state, Brazil.

The present study results show high prevalence of *S. aureus* (83%) in venous ulcers. In a study performed in Goiânia, Goiás state, Brazil, involving people with leg ulcers (including venous, diabetic and traumatic ulcers) treated in dressing rooms, *S. aureus* was the most frequent bacteria (65%)²³. A high bioburden of this pathogen has been reported for chronic lesions, and this is consensual in literature. *S. aureus* are part of the normal skin microbiota, and, therefore, they are frequently found in wounds^{12,23}. However, the association of the patient's intrinsic factors and the increase in the microbial load predispose infection¹.

Among the isolated *S. aureus*, there was a 28% prevalence of MRSA, whereas for MSSA the prevalence was 72%. We found several studies regarding the occurrence of microorganisms on chronic wounds or samples from skin and soft tissue lesions; however, the frequency of pathogens on venous ulcers is not specified, which makes any comparison impossible^{13,23-24}.

In a reference outpatient clinic in Manaus and in reference dressing rooms in Goiânia, Brazil, the MRSA prevalence is of, respectively, 15.5% and 20.5%²³⁻²⁴. Some factors that may contribute to increasing bacterial resistance are the common use of antimicrobial therapy among patients with chronic wounds and the possibility of environmentcontamination⁷. Further studies are called for.

Bacteria producing this multi-drug resistance phenotype can spread rapidly in the environment. A continuous monitoring and preventive measures should be implemented^{14,25}.

Monitoring with specimens from hospitals is more common. A study in the United States²⁶ found that the MIC of 439 hospital MRSA ranged between 4 and 256 µg/mL, and only 18 isolates presented MIC ≤ 64 µg/mL.

MRSA is known to be a pathogen of healthcare-associated infections (HCAIs) and has been associated with the resistance to methicillin and other drugs. The multi-drug resistance of the hospital MRSA isolates has also been verified in other studies, however in strains obtained from hospitals²⁵⁻²⁷.

All the MRSA isolated in this study were resistant to cefoxitin on the antibiogram (marker) and confirmed by the E- test®. Most isolates (74%) showed a high resistance level to methicillin, with an MIC ≥ 256 µg/mL. The MIC of the remaining isolated ranged between 32 and 96 µg/mL.

Methicillin is a penicillin resistant to the action of penicillinases and the resistance mechanism of *S. aureus* to this drug can be verified by the production of low-affinity penicillin binding proteins (PBP) or by the hyperproduction of β-lactamases. Classic MRSA strains are associated with the production of PBP2a or mecA gene mediated PBP2^{20,28}.

There is a scarcity of studies on *Staphylococcus* sp. isolated from venous ulcers of patients treated in outpatient clinics in Brazil as well as in other countries. On the other hand, the prevalence of the identified pathogens ranges significantly in the health centers of different countries and in the same region região²⁶⁻³¹. Different services have different conditions, and, for this reason, comparisons are not pertinent. In addition to this difficulty, a variety of methods used are used in the studies¹²⁻¹³. However, it should be observed that most studies regarding these microorganisms are performed in a hospital setting²⁶⁻²⁷.

Few studies investigate the presence of CoNS in the venous ulcers of primary healthcare patients. The approach to this group of microorganisms is another original contribution made by the present study. A survey in the databases found many studies with CoNS from blood samples and many oxacillin-resistance strains could present the *mecA* gene³¹.

Despite the identification of a lesser frequency of *coagulase-negative Staphylococcus* among these microorganisms, it was observed there was an increased in MRCoNS isolates. MDROs microorganisms were identified in the study. The co-existence of β -lactams-resistant strains as well as the MLS_B group is evidence of this result. This fact is of great concern, and requires rigor from healthcare professionals in the implementation of contact precaution measures, with the purpose to avoid the dissemination of pathogens with multiple resistance phenotypes.

MSSA and MSCoNS were both 100% sensitive to this marker. Cefoxitin is recommended as a phenotypic marker because it predicts *mecA* gene mediated methicillin resistance^{20,32}.

Multi-drug resistant microorganisms have been identified in people with skin and soft tissue infections, in the hospital and other health care service environments¹⁴. MRSA is referred to as an endemic nosocomial pathogen, with an observed increasing prevalence rate^{5,27}. A study conducted in outpatient clinics in the United States indicated an increase in MRSA isolates obtained from the community for this type of infection³.

In strains obtained in hospitals, it is verified there is an increase in MRCoNS³³. The present study found high prevalence rates for MRCoNS (47%) in people with venous ulcers treated in the community. This finding, in addition to being pioneer,

suggests that the phenomenon of resistance to β -lactams is not restricted to the hospital setting.

Regarding the susceptibility profile of the MRSA isolated in this study, the results confirmed the resistance to the group of β -lactams, in addition to the crossed resistance to clindamycin, erythromycin, ciprofloxacin, rifampicin and gentamicin. These results agree with those reported in other countries, however, in studies performed with patients treated at the hospital^{28,34}.

It was observed that oxacillin-resistant *S. aureus* has an associated resistance to ciprofloxacin (53.1%), sulfamethoxazole-trimethoprim (53.5%) and rifampicin (24.8%)²⁵. Clindamycin, sulfamethoxazole-trimethoprim, tetracycline and linezolid are choices of oral therapy in cases of mild to moderate infections, due to community MRSA³⁵.

The isolates showed a resistance above 69.6% to the described drugs. In this sense, considering the local population, these agents are not recommended. However, all MRSA isolates (100%) were sensitive to mupirocin, linezolid, sulfamethoxazole-trimethoprim, tetracycline and quinupristin/dalfopristin. These are important alternatives for the treatment of infections by MRSA. However, considering the infection site (skin and soft tissues), it is necessary to evaluate the bioavailability (pharmacokinetic and pharmacodynamics) of the drugs (sulfamethoxazole-trimethoprim and tetracycline), in the treatment for leg ulcers³⁶⁻³⁷.

The oral therapies commonly used to treat community MRSA are tetracycline, rifampicin, clindamycin, linezolid and sulfamethoxazole-trimethoprim. It is recommended that a combined therapy be used when rifampicin is chosen, in order to avoid mutant strains^{28,35}. In this study, 34.8% of the MRSA and 28.6% of the MRCoNS

isolates were resistant to rifampicin. Among the MSSA isolates, the resistance was 15%, whereas MScONS showed a higher resistance rate (37.5%).

This fact is concerning, considering that there is a limited choice of drugs that are administered orally. Similar results were found in strains obtained in hospitals located in the same metropolis, with 40.7% resistance to rifampicin²⁵. It is presumed that the prevalence of rifampicin-resistant strains has increased in the outpatient health service settings.

According to a systematic review, the indication of systemic antimicrobials to treat venous ulcers to promote the healing of these wounds remains inconclusive. However, this study also does not recommend the discontinuity of any ongoing treatment³⁸. Further studies are needed to effectively support the use of antimicrobials at some time during the treatment. However, if necessary, the indication must consider the signs and symptoms of infections, and not only the colonization. This recommendation can avoid the dissemination of multi-drug resistant bacteria^{14,38}.

The MSSA were sensitive to most of the evaluated antimicrobials, except for erythromycin. All isolates (100%) were sensitive to mupirocin, linezolid, and quinupristin/dalfopristin. High sensitivity (98%) to sulfamethoxazole-trimethoprim was also observed.

In Brazil, topic mupirocin is used, in the form of a cream at 2%. It is indicated in the treatment for infected wounds and ulcers, impetigo and to eradicate MRSA in the nostrils³⁶. The topic use of mupirocin for the decontamination of venous ulcers has not been described^{35,39} nor is it recommended according to a systematic review about the topical indication of this antimicrobial³⁸. On the venous ulcer treatment guidelines, the

use of topical antibacterial agents can be necessary to reduce the microbial load, but this document does not indicate the class type of the agent³⁹.

A study conducted in Brazil found 38% of MRCoNS isolates, and multi-drug resistance was detected in 86%; however, the MLS_{Bi} phenotype was not investigated³³.

Erythromycin (macrolides) and clindamycin (lincosamides) are antimicrobials belonging to the MLS_B group, and are widely recommended to treat staphylococcal infections of the skin and soft tissues, in addition to being an alternative for patients allergic to penicillin¹⁹. Some of the drugs on this group are of oral use³⁶, which facilitates their indication in primary healthcare services. The exception is quinupristin (streptogramin), which in association with dalfopristin should be administered intravenously³⁶.

In the present study, 100% of the *S. aureus* and CoNS were sensitive to these two streptogramins. However, their administration can cause arthralgia, nausea, vomiting, diarrhea, and exanthema. This antibiotic is no longer available in Brazil, and, if its use is necessary, it must be imported³⁶.

The resistance to macrolides and derivatives in Brazil, along with the group of lincosamides and streptogramins B comprise the MLS_B phenotype¹⁹. These antimicrobials are chemically different but with a similar action mechanism, affecting the ribosomal binding and inhibiting protein synthesis. For the laboratory point of view, this resistance phenotype can be identified on the antibiogram through disk diffusion.

The MLS_{Bc} constitutive resistance is coded by the *erm* gene and appears on the antibiogram as the resistance to erythromycin and clindamycin. The MLS_{Bi} inducible resistance, on the other hand, appears on the antibiogram as the resistance to erythromycin and sensitivity to clindamycin. To detect the MLS_{Bi} phenotype, it is

necessary to perform a complementary test by disk-approximation (*D-test*), in which the clindamycin halo is flattened by induction. In this case, this drug is not recommended¹⁹.

MRSA isolates in this study presented showed higher prevalence of MLS_{BC} resistance (65.2%) compared to MLS_{Bi}. Two isolates, initially sensitive to clindamycin, tested positive on the D-test, thus, presenting inducible resistance. Among the MRCoNS, the three MLS_B phenotypes were identified, including one isolate with a positive D-test. These data have great clinical relevance, because when the MLS_{Bi} phenotype is not detected the clindamycin treatment can fail¹⁹.

On the other hand, the MSSA isolates were predominantly resistant to MLS_{Bi} (20%), which reinforces the need to investigate the induced resistance to clindamycin in *S. aureus*.

Multi-drug resistant bacteria in venous ulcers limit the options for treatment, and can thus predispose to complications in the clinical outcomes. Skin and soft tissue infections, alone, are risk factors for the transmission of MDROs *S. aureus* and *coagulase-negative S.* in the population⁶. These infections account for most infections by MRSA in the community²⁸, which are usually treated in outpatient clinic settings.

The long treatment period, due to factors that affect on the healing process of the ulcers, could predispose a more frequent use of antimicrobial agents, and, thus, contribute to an increase in resistance rates. There is a strong association between the occurrence of a chronic wound and the duration of the empirical antimicrobial therapy⁷. On the other hand, infection treatment failures within the community have been associated with complication of the infection, as well as the increase in the consumption of antimicrobials in primary healthcare⁴⁰.

The present study findings have clinical and epidemiological relevance, because they evidence the need for contact precaution measures; greater control in cleaning and disinfecting equipment between patients; appropriate hand washing, as well as the use of the recommended individual protection equipment, besides providing a physical appropriate for the procedures, i.e., adequate dressing rooms.

The correct treatment for venous ulcers includes the microbiological testing to identify pathogens³⁸⁻⁴⁰. A careful indication of antimicrobials should be associated to other therapies that, together, could improve the healing process²³.

The existence of MDROs pathogens and failures during the treatment are important factors for the patient¹⁴. The healthcare professional can help prevent infection through specialist healthcare procedures, such as thorough cleaning of the ulcer, applying appropriate coverage, evaluating the ulcer for dressing changes, forwarding to other professionals, and assessing the antimicrobial treatment outcome by evaluating the clinical signs and symptoms.

The identification of multi-drug resistant bacteria, such as *S. aureus* and *coagulase-negative S.* resistant to methicillin and to the MLS_B group in outpatients with venous ulcers reveals a panorama about the susceptibility profile of the pathogens that affect this population with chronic wounds. The epidemiological data can contribute with the surveillance systems, in the sense of reviewing the measures that could avoid outbreaks and severe infections on individuals with venous ulcers, besides providing safe healthcare.

Conflict of interest

The authors affirm there is no conflict of interest.

Funding support

The present study was funded by Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG).

References

1. Percival S, Cutting K. Microbiology of wound. 1nd edition, CRC Press, Taylor & Francis Group. 2010; p.409.
2. European Wound Management Association (EWMA). Position document: Identifying criteria for wound infection. London Medical Education Partnership, Ltd, 2005, 1-19.
3. Hersh A, Chambers HF, Maselli JH, Gonzales R. National trends in ambulatory visits and antibiotic prescribing for skin and soft-tissue infections. Arch Intern Med 2008; 168:1585-1591.
4. Gordon RJ, Lowy FD. Pathogenesis of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infection. Clin Infect Dis 2008; 46:Suppl5, 350-359.
5. Zurita J, Medjía C, Guzmán-Blancos M. Epidemiology and surveillance of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in Latin America. Braz J Infect Dis 2010; 14:Suppl2, 79-86.
6. Alvarez C, Labarca J, Salles M. Prevention strategies for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Latin America. Braz J Infect Dis 2010;14:Suppl2, 107-118.
7. Howell-Jones, RS, Price PE, Howard AJ, Thomas DW. Antibiotic prescribing for chronic skin wounds in primary care. Wound Rep Reg 2006; 14:387-393.
8. Kirketerp-Moller K, Jensen PO, Fazli M, Madsen GK, Pedersen J, Moser C, et al. Distribution, organization, and ecology of bacteria in chronic wounds. J Clin Microbiol 2008; 46:2717-2722.
9. Delialioglu N, Aslan G, Ozturk C, Baki V, Sen S, Emekdas G. Inducible clindamycin resistance in *Staphylococci* isolated from clinical samples. J Infect Dis 2005; 58:104-106.

10. Fokas S, Fokas S, Tsironi M, Kalkami M, Dionysopoulou M. Prevalence of inducible clindamycin resistance in macrolide-resistant *Staphylococcus spp.* Clin Microbiol Infect Dis 2005;11:337-340.
11. Amorim DMR, Person OC, Amaral PJ, Tanaka II. Resistência induzível à clindamicina entre isolados clínicos de *Staphylococcus aureus*. O mundo da Saúde 2009; 33:401-405.
12. Gardner SE, Frantz RA, Saltzman CL, Dodgson KJ. *Staphylococcus aureus* is associated with high microbial load in chronic wounds. Wounds 2004; 16:251-257.
13. Miller CN, Carville K, Newall N, Kapp S, Lewin G, Karimil, Santamaria N. Assessing bacterial burden in wounds: comparing clinical observation and wound swabs. Internat Wound J 2010; 8:45-55.
14. Elaine P, Ferreira E, Marques A, Matos B. Infecções associadas aos cuidados de saúde e segurança do doente. Rev Port Saúde Pública 2010; 10:27-39.
15. Levine NS, Col LT, Lindberg RB, Jr ADM, Jr BAP, Colonel MC. (1976). The quantitative swab culture and smear: a quick, simple method for determining the number of viable aerobic bacteria on open wound. J Trauma 1976;16:89-94.
16. Angel DE, Lloyd P, Carville K, Santamaria N. The clinical efficacy of two semi-quantitative wound-swabbing techniques in identifying the causative organism(s) in infected cutaneous wounds. Internat Wound J 2011; 8:176-185.
17. Oplustil CP, Zoccoli CM, Tobouti NR, Sinto SI. Procedimentos básicos em microbiologia clínica. Sarvier: São Paulo; 2010.
18. Koneman, EW, Woods GL, Procop GW, Schreckenberger PC, Allen SD, Janda WM. Diagnóstico microbiológico – texto e atlas colorido. 7nd edition, Medsi: Rio de Janeiro; 2008.
19. Rossi F, Andreazzi DB. Resistência bacteriana - interpretando o antibiograma. Atheneu: São Paulo; 2005.p.118.

20. Clinical and Laboratory Standards Institute(CLSI). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that grow Aerobically, Approved Standard.18th edition. M7-A8, M100-S21, Wayne, PA: USA, 2009.
21. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, Approved Standard.8nd edition. M2-A8, Wayne, PA: USA, 2003.
22. British Society for Antimicrobial Chemotherapy (BSAC). Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing. 8:2009; p. 91.
23. Martins MA, Tipple AFV, Reis C, Santiago SB, Bachion MM. Úlcera crônica de perna de pacientes em tratamento ambulatorial: análise microbiológica e de suscetibilidade antimicrobiana. Cienc Cuid Saude 2010; 9:464-470.
- 24.Ferreira AW, Vasconcelos WS, Ferreira CM, Silva MFP, Gomes JS, Alecrim MGC. Prevalência de *Staphylococcus aureus* metilicina resistente (MRSA) em pacientes atendidos em ambulatório de dermatologia geral em Manaus-Amazonas. Rev Patol Trop 2009; 38:83-92.
25. Kobayashi CCBA, Sadoyama G, Vieira JDG. Determinação da resistência antimicrobiana associada em isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* em um hospital público de Goiânia, Estado de Goiás. Rev Soc Bras Med Trop 2009; 42:404-410.
26. Kim HB, Jang HC, Nam H, Lee YS, Kim BS, Park WB, et al. In vitro activities of 28 antimicrobial agents against *Staphylococcus aureus* isolates from Tertiary-care hospitals in Korea: a nationwide survey. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48:1124-1127.
27. Rossi F, Garcia P, Ronzon B, Curcio D, Dowzick MJ. Rates of Antimicrobial Resistance in Latin America (2004-2007) and in vitro Activity of the Glycylcycline Tigecycline and of Other Antibiotics. Braz J Infect Dis 2008; 12:405-415.
28. Luna CM, Rodríguez-Noriega E, Bavestrello L, Gotuzzo E. Treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Latin America. Braz J Infec Dis 2010; 14:119-127.

29. Quege GE, Bachion MM, Lino-Junior RSL, Lima ABM, Ferreira OS, Santos QR, et al. Comparação da atividade de ácidos graxos essenciais e biomembrana microbiota de feridas crônicas infectadas. *Rev EletrEnf* 2008; 10:890-905.
30. Graffunder EM, Venezia RA. Risk factors associated with nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection including previous use of antimicrobials. *J Antimicrob Chemother* 2002; 49:999-1005.
31. Rigatti F, Tizotti MK, Horner R, Domingues VO, Martini R, Leticia EM, et al. Bacteremias por *Staphylococcus coagulase negativos* oxacilina resistentes em um hospital escola na cidade de Santa Maria, Estado do Rio Grande do Sul. *Rev Soc Bras Med Trop* 2010; 43:686-690.
32. Sousa-Júnior FC, Néri GS, Silva AK, Araújo BPRC, Guerra MJPD, Fernandes MJBC, et al. Evaluation of different methods for detecting methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* isolates in a university hospital located in the northeast of Brazil. *BMJ* 2010; 41:316-320.
33. Keim LS, Torres-Filho SR, Patricia VS, Lenise AT. Prevalence, Aetiology and Antibiotic Resistance Profiles of coagulase negative *Staphylococci* isolated in a teaching hospital. *Braz J Microbiol* 2011; 42:248-255.
34. Baraboutis I G, Tsagalou EP, Papakonstantinou I, Marangos MN, Gogos C, Skoutelis AT, et al. Length of exposure to the hospital environment is more important than antibiotic exposure in healthcare associated infections by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a comparative study. *Braz J Infect Dis* 2011; 15:426-435.
35. Liu C, Bayer A, Cosgrove, SE, Daum RS, Fridkin SK, Gorwitz RJ, et al. Clinical Practice Guidelines by the infectious diseases society of America for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in adults and children. *CID* 2011; 52:18-55.
36. Tavares, W. *Antibióticos e quimioterápicos para o clínico*. Atheneu: São Paulo; 2009, p.599.
37. LIMA ALLM, Oliveira PRD. Recomendações para o manejo das infecções em úlceras neuropáticas das extremidades inferiores. São Paulo: Bevilacqua editora; 2011, p.14.

38. O'Meara S, Al-Kurdi D, Ologun Y, Ovington LG. Antibiotics and antiseptics for venous leg ulcers. Cochrane Database of Systematic Reviews 2010; 1:1-35.

39. Robson MC, Cooper DM, Aslam R, Gould LJ, Harding KG, Margolis DJ, et al. Guidelines for the treatment of venous ulcers. Wound Rep Reg 2006; 14:649-662.

40. Davies CE, Hill KE, Newcombe RG, Stephens P, Wilson MJ, Harding, KG et al. A prospective study of the microbiology of chronic venous leg ulcers to reevaluate the clinical predictive value of tissue biopsies and swabs. Wound Rep Reg 2007; 15:17-22.

Table 1—Susceptibility of methicillin-resistant (MRSA) and –sensitive *staphylococcus aureus* (MSSA) and methicillin-resistant (MRCoNS) and –sensitive coagulase-negative *staphylococcus* (MSCoNS) (N=98), isolated from venous ulcers of patients treated in dressing rooms of municipal health centers in Goiânia, to the tested antimicrobials. October of 2009 to October of 2010.

Antimicrobials	MRSA		MSSA		MRCoNS		MSCoNS	
	(n= 23/28%)		(n= 60/72%)		(n= 7/47%)		(n= 8/53%)	
	R*	S	R	S	R	S	R	S
	%							
Erythromycin	69.6	26.1	38	37	71.4	28.6	25	75
Clindamycin	69.6	30.4	18	70	42.9	57.1	12.5	87.5
Ciprofloxacin	100.0	-	12	63	71.4	14.3	25	75
Linezolid	-	100	-	100	-	100	-	100
Mupirocin	-	100	-	100	-	100	-	100
Oxacillin	78.3	4.3	-	100	-	100	-	100
Cefoxitin	100	-	-	100	100	-	-	100
Tetracycline	-	100	28	72	28.6	71.4	50	50
Trimethoprim-sulfamethoxazole	-	100	2	98	14.3	85.7	12.5	87.5
Rifampicin	34.8	65.2	15	83	28.6	71.4	37.5	62.5
Gentamicin	69.6	30.4	-	96	71.4	28.6	25	75
Quinupristin-dalfopristin	-	100	-	100	-	100	-	100

*R – resistant; S – sensitive

Table 2 –Distribution of the Minimal Inhibitory Concentration (MIC µg/mL) of MRSA and MRCoNS isolated from the venous ulcers of patients treated in dressing rooms of municipal health centers in Goiânia, October of 2009 to October of 2010.

MRSA*		total= 23 (28%)
MIC µg/mL	n	%
256	17	74
32	3	13,1
96	1	4.3
64	1	4.3
48	1	4.3
MRCoNS*		total= 7 (47%)
1.5	3	43
2	2	28.5
0.5	1	14.2
0.75	1	14.2

* **MRSA**: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, **MRCoNS**: Methicillin-resistant *coagulase-negative Staphylococcus*.

Table 3 –Distribution of the MLS_B phenotype detected for methicillin-sensitive (MSSA) and methicillin-resistant (MRSA) *staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *coagulase-negative* (MSCoNS) and methicillin-resistant *coagulase-negative* (MRCoNS) *staphylococcus aureus* isolated from venous ulcers of patients treated in dressing rooms of municipal health centers in Goiânia, October of 2009 to October of 2010.

MLS_B resistance phenotype	n(%)			
	MSSA	MRSA	MRCoNS	MSCoNS
Erythromycin-resistant and clindamycin-sensitive, D-test (+) MLS _{Bi} inducible resistance	12 (20.0)	1 (4.40)	1 (14.2)	-
Erythromycin- and clindamycin-resistant-MLS _{Bc} constitutive resistance	1 (1.7)	15 (65.2)	2 (28.6)	1(12.5)
Erythromycin-resistant and clindamycin-sensitive, D-test (-) MSB	8 (13.3)	1 (4.40)	2 (28.6)	1 (12.5)
Erythromycin-sensitive and clindamycin-sensitive	39 (65.0)	6 (26.0)	2 (28.6)	6 (75.0)

4.2 Artigo 2

Título:

***Staphylococcus* spp. em úlceras venosas: perspectiva clínica e implicações para a enfermagem**

Marlene Andrade Martins¹

Silvana de Lima Vieira dos Santos²

Lara Stefânia Netto de Oliveira Leão³

Lilian Varanda Pereira⁴

Denise de Andrade⁵

Maria Márcia Bachion⁶

RESUMO:

Os objetivos do estudo foram: identificar os sinais e sintomas e o estágio clínico de infecção em úlceras venosas; a prevalência de *Staphylococcus* spp.; e a relação entre sinais e sintomas clínicos de infecção e o resultado de culturas para *Staphylococcus* spp., e *Staphylococcus* spp. resistentes à meticilina. Participaram 69 indivíduos com 98 úlceras. Os sinais e sintomas de infecção mais frequentes foram: descoloração do leito da lesão (79,6%) e aumento do volume do exsudato (74,5%); 71,4% encontrava-se em estágio III de infecção. A prevalência de *Staphylococcus* spp. foi de 81,7%. Houve associação significativa entre ausência de tecido de granulação friável e culturas positivas para *Staphylococcus* spp. (OR= 0,21; p=0,004), e ausência de aumento da temperatura local da pele e *Staphylococcus* multirresistentes (OR=0,19; p=0,002). Permanece o desafio de identificar parâmetros clínicos de infecção nestas feridas, que possam contribuir no reconhecimento precoce do quadro infeccioso pelo enfermeiro.

Palavras-Chaves: *Staphylococcus*. Úlcera Varicosa. Atenção primária à saúde. Infecção dos ferimentos. Sinais e Sintomas.

¹ RN, MD em Enfermagem, Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Professor Assistente do Campus de Jataí, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO. E-mail: marlenianapower@hotmail.com

² RN, MD em Enfermagem, Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Professor da Faculdade de Enfermagem, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO. E-mail: silvanalvs@hotmail.com

³ RN, Biomédica, MD em Bacteriologia Médica, Professor Assistente, Instituto de Patologia Tropical de Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, Brasil. E-mail: larastefania@yahoo.com.br

⁴ RN, Ph.D em Enfermagem, Professor Adjunto, Faculdade de Enfermagem, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO. E-mail: Lvaranda@terra.com.br

⁵ RN, Ph.D em Enfermagem, Professor Associado, Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, SP. E-mail: dandrade@eerp.usp.br

⁶ RN, Ph.D em Enfermagem, Professor Titular, Faculdade de Enfermagem, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, Brasil. E-mail: mbachion@gmail.com

Autor Correspondente: Marlene Andrade Martins Rua 37 A Q4 LT 6/11 Apto: 101 B Residencial Park Bela Vista Bairro: Jardim Bela Vista CEP: 74912-105 Aparecida de Goiânia Fone: 55 62 99669965 E-mail: marlenianapower@hotmail.com

***Staphylococcus* spp. in venous ulcers: clinical perspective and implications for nursing**

ABSTRACT:

The study objectives were: to identify the signs, symptoms and clinical stage of venous ulcer infections; the prevalence of *Staphylococcus* spp.; and the relationship between clinical signs and symptoms of infection and the outcomes for cultures of *Staphylococcus* spp. and methicillin-resistant *Staphylococcus* spp. The participants were 69 individuals with 98 ulcers. The most frequent signs and symptoms of infection were: discoloration of the wound bed (78 or 79.6%) and increased exudate volume (73 or 74.5%); 71.4% of ulcers were in infection stage III. The prevalence for *Staphylococcus* spp. was 81.7%. A significant association was observed between the lack of friable granulation tissue and positive cultures for *Staphylococcus* spp. (OR= 0.21; p=0.004), as well as the absence of increased local skin temperature and multi-drug resistant *Staphylococcus* (OR=0.19; p=0.002). There remains a challenge to identify clinical parameters of infection in these wounds, which would contribute with the nurses' early identification of infection.

Keywords: *Staphylococcus*. Varicose ulcer. Primary health care. Wound infection. Signs and symptoms.

***Staphylococcus* spp. en úlceras venosas: perspectivas clínicas e implicancias para la enfermería**

RESUMEN:

El estudio objetivó: identificar signos y síntomas y estadio clínico de infección en úlceras venosas; la prevalencia de *Staphylococcus* spp y la relación entre signos y síntomas clínicos de infección y resultado de cultivos para *Staphylococcus* spp. y *Staphylococcus* spp. resistente a meticilina. Participaron 69 individuos con 98 úlceras. Los signos y síntomas de infección más frecuentes fueron: decoloración del lecho de la lesión, 78 (79,6%) y aumento del volumen de la exudación, 73 (74,5%); 71,4% de las úlceras estaba en estadio III de infección. La prevalencia de *Staphylococcus* spp. fue de 81,7%. Existió asociación significativa entre ausencia de tejido de granulación friable y cultivos positivos de *Staphylococcus* spp. (OR=0,21; p=0,004), y ausencia de aumento de temperatura local de la piel y *Staphylococcus* multirresistentes (OR=0,19; p=0,002). Se mantiene el desafío de identificar parámetros clínicos de infección en estas heridas, que contribuyan al reconocimiento precoz del cuadro infeccioso por el enfermero.

DESCRIPTORES: *Staphylococcus*; Úlcera Varicosa; Atención Primaria de Salud; Infección de Heridas; Signos y Síntomas.

Introdução

A presença de patógenos nas lesões crônicas podem contaminá-las, sem interferir no processo de cicatrização, ou colonizá-las Críticamente e infectá-las, estágios que fatalmente prejudicarão a evolução desse processo⁽¹⁾.

Do ponto de vista epidemiológico, entre as úlceras venosas, os *Staphylococcus* spp. estão entre as principais bactérias que colonizam o leito da ferida e quando responsáveis pelos quadros infecciosos, comprometem a evolução do processo cicatricial⁽¹⁻⁴⁾. Isolados MRSA (*Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina) e MRCoNS (*Staphylococcus* coagulase negativos resistentes à meticilina) são identificados nessas lesões⁽⁵⁾.

A manifestação do quadro infeccioso é determinada pelas condições do sistema imunológico, estado nutricional e presença de comorbidades do hospedeiro, virulência do microorganismo e condições do macro e microambiente da ferida⁽⁶⁻⁷⁾. Esse fenômeno é complexo e, muitos questionamentos ainda não foram devidamente elucidados. Os sinais e sintomas de infecção em feridas, considerados no meio clínico, incluem os clássicos, que surgem na presença de inflamação (dor, calor, rubor e edema), e outros como a presença de pus/exsudado purulento, formação de abscesso e presença de celulite⁽⁷⁻⁹⁾.

Desde a década de 1990, estudiosos têm buscado identificar sinais e sintomas mais específicos que possibilitem afirmar que uma ferida crônica está infectada, uma vez que os sinais e sintomas clássicos são considerados mais apropriados para indicar presença de infecção em feridas agudas. Este desafio permanece até nossos dias e se

deve principalmente ao fato dos critérios supostamente mais apropriados necessitarem de validação na prática clínica⁽⁸⁻⁹⁾.

Evidências de processo infeccioso nos distintos tipos de feridas podem contribuir para o reconhecimento precoce dessa condição, caracterização do estágio clínico da infecção e, assim, para direcionamento acurado das condutas a serem implementadas^(6,10), conferindo maior segurança ao enfermeiro na tomada de decisão frente à escolha da terapêutica mais adequada para cada ferida.

O tratamento tópico das úlceras venosas é desenvolvido, usualmente, pela equipe de enfermagem, em âmbito ambulatorial, seja nas salas de curativos de serviços de referência, seja na atenção primária^(2,6) e esses profissionais frequentemente se deparam com lesões crônicas, colonizadas por patógenos, tanto residentes como da flora transitória⁽¹⁻⁴⁾.

Considerando a importância do *Staphylococcus* spp. no contexto das úlceras venosas, elaborou-se a proposta desta pesquisa, que teve como objetivos: identificar os sinais e sintomas e o estágio clínico de infecção em úlceras venosas; descrever a prevalência de *Staphylococcus* spp. nas úlceras; e verificar a relação entre sinais e sintomas clínicos de infecção e o resultado de culturas para *Staphylococcus* spp., e *Staphylococcus* spp. resistentes à meticilina.

Materiais e Métodos

Estudo clínico, tipo corte transversal, desenvolvido em salas de curativos de serviços de saúde da atenção primária, em uma metrópole da região Centro-Oeste do

Brasil, no período de outubro/2009 a outubro/2010. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás (protocolo 041/2009).

Os critérios de inclusão foram: ter idade maior ou igual a 18 anos; ter úlcera venosa com ou sem comprometimento arterial, com diâmetro ≥ 2 cm; apresentar pelo menos um dos sinais ou sintomas clínicos de infecção na lesão, dentre aqueles sugeridos pela *European Wound Management Association* (EWMA)⁽⁷⁾. Foram excluídos os indivíduos que apresentaram índice Tornozelo Braço (ITB) $< 0,70$.

A coleta de dados foi realizada por meio de entrevista, exame físico e registro fotográfico da lesão. As informações foram registradas em roteiro estruturado com itens relacionados à situação sociodemográfica, caracterização das úlceras, classificação do estágio de infecção conforme descrição da *European Wound Management Association*⁽¹⁰⁾ e *check list* com sinais e sintomas de infecção considerados mais específicos para úlceras venosas proposto pela EWMA⁽⁷⁾, que inclui 15 indicadores: celulite, cicatrização sem evolução apesar da adequada compressão terapêutica, aumento de temperatura local da pele, aumento da intensidade da dor na ferida ou mudança na natureza dessa experiência, úlceras recém-formadas dentro das margens inflamadas de úlceras pré-existent, ampliação da ferida nas margens inflamadas, descoloração do tipo opaca, tijolo vermelho escuro, tecido de granulação friável que sangra facilmente, aumento da viscosidade do exsudato, aumento do volume do exsudato, odor fétido, nova manifestação de ferida de coloração amarronzada, aparecimento súbito e/ou aumento da quantidade de esfacelos, repentino aparecimento de manchas necróticas negras, aumento do tamanho da úlcera.

A coleta de material, o transporte e a análise das culturas foram realizados com base em protocolos pré-estabelecidos⁽¹¹⁻¹²⁾. Após os procedimentos de limpeza

exaustiva das úlceras com soro fisiológico 0,9%, os espécimes clínicos das lesões foram coletados por meio de *swab* estéril segundo técnica padronizada⁽¹¹⁾. A seguir, o *swab* foi imediatamente imerso em tubo contendo meio de *Stuart* (COPAN[®]) para transporte. O controle de qualidade dos procedimentos foi realizado com o emprego de cepas padrão da *American Type Culture Collection* (*Staphylococcus aureus* ATCC[®] 25923)⁽¹²⁾.

As amostras foram cultivadas em ágar *tryptic soy* (TSA) Himedia[®] e caldo *tryptic soy* (TSB) Himedia[®] suplementados com 4% de NaCl e 6mcg/mL de oxacilina e manitol. Todos os meios de cultura foram incubados a 35°C por 24 a 48 horas. A identificação dos isolados foi realizada por meio das seguintes provas: capacidade de fermentação do manitol, detecção da enzima catalase, coagulase e DNase. Os microrganismos também foram caracterizados quanto à produção da enzima lecitinase como fator de virulência⁽¹²⁾.

O teste de *screening* foi realizado com discos de oxacilina 1µg e cefoxitina 30µg. *Staphylococcus* spp. que apresentaram resistência a estes antimicrobianos foram submetidos ao teste confirmatório de resistência à meticilina E-test[®], com base na detecção da concentração inibitória mínima (MIC)⁽¹²⁾.

O banco de dados foi organizado no *software SPSS 17.0* (*Statistical Package for the Social Sciences*), e a análise estatística inferencial, bivariada, mediante testes de associação, para as variáveis qualitativas, nominais, com dois grupos não pareados como o χ^2 - Qui-quadrado, Exato de Fisher ou Mantel Haenzel, considerando o nível de significância adotado de 5% ($\alpha=0,05$).

Resultados

Participaram do estudo 69 pessoas, sendo 41 (59,4%) do sexo masculino e 28 (40,6%) do feminino, com idade entre 28 e 93 anos (média 60,0±13,3 anos), com predomínio da classe econômica D (47,8%).

Os participantes apresentavam de uma a oito lesões, em um ou ambos os membros inferiores, totalizando 98 úlceras venosas com ou sem comprometimento arterial. Em 18 (18,3%) lesões, as culturas foram negativas para *Staphylococcus* spp. Das 80 (81,7%) feridas com culturas positivas para esse microrganismo, em 67 (83,8%) foi identificado um patógeno por úlcera; em seis (7,5%) foram isolados dois microrganismos; em sete feridas (8,7%), foram isoladas três bactérias por lesão. Assim, foram isolados 100 *Staphylococcus* spp., sendo que 83% eram *Staphylococcus aureus*, 15% *Staphylococcus coagulase-negativos* (CoNS) e 2% *Staphylococcus coagulase-positivos* (ECP). Dentre esses isolados, identificaram-se 60 (72%) *S. aureus* sensíveis à meticilina (MSSA) e 23 (28%) resistentes a esse antimicrobiano (MRSA). Dentre os CoNS, sete (47%) eram resistentes à meticilina (MRCoNS).

A partir da análise dos sinais e sintomas, o estágio clínico de infecção foi avaliado. O estágio III foi identificado em 70 (71,4%) lesões. Não houve feridas classificadas no estágio I e IV (Figura 1).

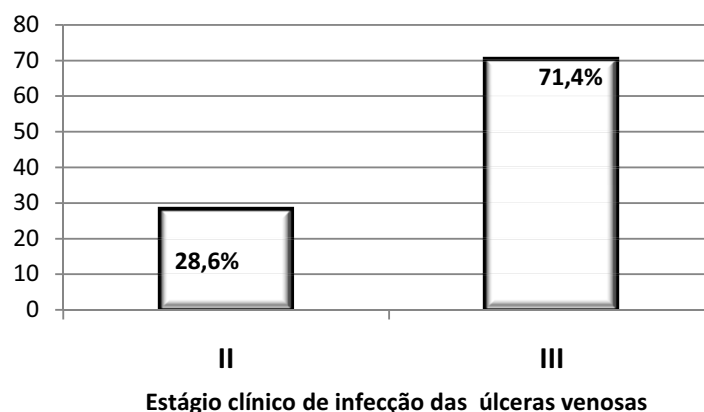


Figura 1 – Estágio clínico da infecção nas úlceras venosas (n=98) de pessoas atendidas em salas de curativos de unidades municipais de saúde, Goiânia, OUT/2009 a OUT/2010

A média do número de sinais e sintomas clínicos de infecção identificados entre as 98 úlceras avaliadas neste estudo foi igual a 5 (cinco) (Mínima=2 e Máxima=8). Conforme amostrado na tabela 1, dentre os sinais e sintomas de infecção prevaleceu a descoloração do tipo opaca, vermelho escuro (79,6%; n=78), aumento do volume do exsudado (74,5%; n=73), aumento da temperatura local da pele (64,3%; n=64), odor fétido (61,2%; n=60) e aumento de dor da úlcera/mudança na natureza da dor (54,1%; n=53).

O parâmetro clínico *cicatrização sem evolução apesar de adequada compressão*, foi retirado da análise, uma vez que a terapia compressiva implementada para tratamento das úlceras dos participantes foi considerada inadequada.

Tabela 1 – Distribuição dos parâmetros clínicos para detecção de infecção em úlceras venosas (F=98) de pacientes atendidos nas salas de curativo de unidades municipais de saúde de Goiânia, segundo resultado de cultura para *Staphylococcus* spp.. Goiânia, GO, OUT/2009 a OUT/2010

Parâmetros clínicos	Presença	Culturas positivas para <i>Staphylococcus</i> spp.							
		f	%	Sim		Não		OR (CI 95%)	P
				f	%	f	%		
Celulite	Sim	21	21,4	15	71,4	6	28,6	1,0	0,173 ^a
	Não	77	78,6	65	84,4	12	15,6	0,46 (0,14-1,42)	
Aumento da temperatura local da pele	Sim	64	65,3	49	76,6	15	23,4	1,0	0,075 ^b
	Não	34	34,7	31	91,2	3	8,8	0,31 (0,08-1,18)	
Aumento de dor da úlcera/mudança na natureza da dor	Sim	53	54,1	40	75,5	13	24,5	1,0	0,087 ^b
	Não	45	45,9	40	88,9	5	11,1	0,38 (0,12-1,18)	
Úlceras recém-formadas dentro das margens inflamadas de úlceras pré-existent	Sim	14	14,3	12	85,7	2	14,3	1,0	0,670 ^b
	Não	84	85,7	68	81,0	16	19,0	1,41 (0,28-6,94)	
Ampliação da ferida nas margens inflamadas	Sim	20	20,4	19	95,0	1	5,0	1,0	0,084 ^b
	Não	78	79,6	61	78,2	17	21,8	5,29 (0,66-42,4)	
Descoloração do tipo opaca, vermelho escuro	Sim	78	79,6	63	80,8	15	19,2	1,0	0,663 ^b
	Não	20	20,4	17	85,0	3	15,0	0,74 (0,19-2,86)	
Tecido de granulação friável que sangra fácil	Sim	36	36,7	24	66,7	12	33,3	1,0	0,004 ^a
	Não	62	63,3	56	90,3	6	9,7	0,21 (0,07-0,63)	
Aumento da viscosidade do exsudato	Sim	42	42,9	35	83,3	7	16,7	1,0	0,707 ^a
	Não	56	57,1	45	80,4	11	19,6	1,22 (0,43-3,47)	
Aumento do volume do exsudato	Sim	73	74,5	62	84,9	11	15,1	1,0	0,150 ^a
	Não	25	25,5	18	72,0	7	28,0	2,19 (0,74-6,47)	
Odor fétido	Sim	60	61,2	49	81,7	11	18,3	1,0	0,991 ^a
	Não	38	38,8	31	81,6	7	18,4	1,00 (0,35-2,87)	
Nova manifestação de ferida de coloração amarronzada/escuro	Sim	3	3,1	3	100	-	-	1,0	0,404 ^c
	Não	95	96,9	77	81,1	18	18,9	1,03 (0,99-1,08)	
Aparecimento súbito/aumento da quantidade de esfácenos	Sim	36	36,7	30	83,3	6	16,7	1,0	0,740 ^a
	Não	62	63,3	50	80,6	12	19,4	1,20 (0,40-3,53)	
Aparecimento repentino de manchas necróticas negras	Sim	10	10,2	10	100	-	-	1,0	0,113 ^c
	Não	88	89,8	70	79,5	18	20,5	1,14 (1,05-1,24)	
Aumento do tamanho da úlcera	Sim	18	18,4	16	88,9	2	11,1	1,0	0,379 ^b
	Não	80	81,6	64	80,0	16	20,0	2,00 (0,41-9,60)	

a=Qui-quadrado; b= Exato de Fisher, c= Mantel Haenzel , p<0,05.

Verificou-se associação estatisticamente significativa entre ausência de tecido de granulação friável e resultado de culturas para *Staphylococcus* spp., (OR= 0,21; p=0,004).

Comparando-se a ocorrência dos parâmetros clínicos de infecção entre as lesões que apresentavam ou não *Staphylococcus* multirresistentes, conforme mostra a tabela 2, encontrou-se associação entre ausência de aumento da temperatura local da pele e *Staphylococcus* multirresistentes (OR=0,19; p=0,002).

Tabela 2 – Distribuição dos parâmetros clínicos de infecção em úlceras venosas (F=80) de pacientes atendidos nas salas de curativo de unidades de municipais de saúde de Goiânia, com o resultado de culturas para *Staphylococcus* spp. resistentes à metilicina, OUT/2009 a OUT/2010.

Culturas para <i>Staphylococcus</i> spp. resistentes a meticilina, OGI/2009 a OGI/2010.									
		Staphylococcus spp. resistentes à							
		Sim				Não			
Parâmetros clínicos*	Presença	f	%	f	%	f	%	OR (CI 95%)	P
Celulite	Sim	15	18,8	13	86,7	2	13,3	1,0	0,293 ^b
	Não	65	81,3	48	73,8	17	26,2	0,43 (0,08-2,12)	
Aumento da temperatura local da pele	Sim	49	61,3	43	87,8	6	12,2	1,0	0,002 ^a
	Não	31	38,8	18	58,1	13	41,9	0,19 (0,58-0,63)	
Aumento da dor na úlcera/mudança na natureza da dor	Sim	40	50,0	31	77,5	9	22,5	1,0	0,793 ^a
	Não	40	50,0	30	75,0	10	25,0	0,87 (0,31-2,44)	
Úlceras recém-formadas dentro das margens inflamadas de úlceras pré-existent	Sim	12	15,0	10	83,3	2	16,7	1,0	0,532 ^b
	Não	68	85,0	51	75,0	17	25,0	0,60 (0,11-3,01)	
Ampliação da ferida nas margens inflamadas	Sim	19	23,8	13	68,4	6	31,6	1,0	0,358 ^a
	Não	61	76,3	48	78,7	13	21,3	1,70 (0,54-5,35)	
Descoloração do tipo opaca, vermelho escuro	Sim	63	78,8	50	79,4	13	20,6	1,0	0,208 ^a
	Não	17	21,3	11	64,7	6	35,3	0,47 (0,48-1,53)	
Tecido de granulação friável que sangra fácil	Sim	24	30,0	19	79,2	5	20,8	1,0	0,781 ^b
	Não	56	70,0	42	75,0	14	25,0	0,78 (0,24-2,50)	
Aumento da viscosidade do exsudato	Sim	35	43,8	28	80,0	7	20,0	1,0	0,487 ^a
	Não	45	53,3	33	73,3	12	26,7	0,68 (1,98-2,38)	
Aumento do volume do exsudato	Sim	62	77,5	50	80,6	12	19,4	1,0	0,086 ^a
	Não	18	22,5	11	61,1	7	38,9	0,37 (0,12-1,17)	
Odor fétido	Sim	49	61,3	38	77,6	11	22,4	1,0	0,731
	Não	31	38,8	23	74,2	8	25,8	0,83 (0,29-2,37)	
Nova manifestação de ferida de coloração amarronzada/escura	Sim	3	3,8	2	66,7	1	33,3	1,0	0,691 ^b
	Não	77	96,3	59	76,6	18	23,4	1,63 (0,14-19,1)	
Aparecimento súbito/aumento da quantidade de esfacelos	Sim	30	37,5	23	76,7	7	23,3	1,0	0,946 ^a
	Não	50	62,5	38	76	12	24,0	0,96 (0,33-2,79)	
Aparecimento repentino de manchas necróticas negras	Sim	10	12,5	6	60	4	40,0	1,0	0,197 ^b
	Não	70	87,5	55	78,6	15	21,5	2,44 (0,61-9,79)	
Aumento do tamanho da úlcera	Sim	16	20,0	12	75	4	25,0	1,0	0,895 ^b
	Não	64	80,0	49	76,6	15	23,4	1,08 (0,30-3,88)	

a=Qui-quadrado; b= Exato de Fisher, p<0,05.

Discussão

Este é um estudo pioneiro na avaliação de sinais e sintomas clínicos de infecção em úlceras venosas, utilizando o painel proposto por *experts* no assunto, em nosso país. Os estudos encontrados no Brasil, com foco na abordagem de pessoas com úlceras venosas, atendidas na atenção primária em saúde ou em ambulatorios de serviços hospitalares,⁽¹³⁻¹⁴⁾ investigaram apenas as características dos sujeitos e os aspectos clínicos da lesão, sem menção à avaliação do *status* da infecção das úlceras.

A associação entre os micro-organismos presentes na ferida e a manifestação de aspectos clínicos que caracterizam o quadro infeccioso ainda não estão elucidados^(5-6,15). Nesta investigação, apenas 18,3% das culturas foram negativas para *Staphylococcus spp.* e mesmo assim, as úlceras apresentavam sinais e sintomas clínicos de infecção. Vale lembrar que úlceras venosas são polimicrobianas, logo, outros microrganismos, como bastonetes Gram-negativos ou anaeróbios, poderiam estar presentes⁽⁶⁾. Por outro lado, a avaliação do *status* de infecção também pode ser prejudicada pela resposta inflamatória existente nas úlceras⁽¹⁶⁾.

Alta ocorrência de *Staphylococcus spp.* em úlceras venosas é achado frequente⁽¹⁻⁵⁾. Embora haja muitos estudos sobre a microbiologia das feridas crônicas, estes não descrevem os microrganismos por tipo de lesão^(2,5). Em análise de 66 feridas crônicas com elevada carga microbiana com *Staphylococcus aureus*, apenas cinco das lesões avaliadas (8%) eram úlceras venosas. Das cinco feridas, três (60%) continham *S. aureus*, e em duas (40%) não foram isoladas bactérias desse grupo⁽⁴⁾.

Em outro estudo, 73,7% das úlceras eram venosas e *Staphylococcus aureus* foi o microrganismo isolado com maior frequência. Diminuição da cicatrização (88%), novas áreas da ferida com esfacelos (69%), aumento de exsudato e odor fétido (45%),

mudanças no tecido de granulação (51%) e aumento da dor (34%) foram os sinais e sintomas de colonização crítica ou infecção mais identificados⁽⁵⁾.

Na presente investigação, a maioria desses sinais e sintomas foi identificada tanto em culturas positivas para *Staphylococcus* spp., quanto em culturas negativas para estes micróbios. A ausência de tecido de granulação friável indica menor chance da presença de culturas positivas para *Staphylococcus* spp., da mesma forma que a ausência de aumento da temperatura local da pele indica menor chance da presença de *Staphylococcus* spp. resistentes à meticilina na lesão. Os demais sinais e sintomas não se mostraram associados à presença desse grupo de microrganismos.

A inflamação crônica pode dificultar a distinção entre sinais e sintomas de colonização crítica ou infecção da ferida. As substâncias liberadas para o microambiente da lesão, inerentes ao processo de estase e insuficiência venosa crônica e presença de patógenos desencadeiam resposta imune prolongada e, dessa forma, os sinais podem ser semelhantes àqueles que também são considerados como clássicos de infecção⁽¹⁶⁾.

Um estudo comparou as observações clínicas de feridas criticamente colonizadas ou infectadas com os resultados de culturas semiquantitativa⁽⁵⁾. Os autores mostraram que a avaliação feita pelas enfermeiras, quanto aos sinais e sintomas de colonização crítica ou infecção de ferida, não esteve relacionada com a carga microbiana.

São poucos os estudos que identificaram a prevalência dos patógenos em lesão de etiologia venosa. O estudo identificado⁽¹⁷⁾ buscou investigar a carga microbiológica das feridas por profissionais que realizavam o processamento de amostras de úlceras venosas. Nessa pesquisa, as bactérias frequentemente isoladas de acordo com os profissionais foram os *Staphylococcus aureus* sensíveis e resistentes à meticilina e o *Streptococcus* hemolítico do grupo A.

A prevalência de MRCoNS em úlceras crônicas é pouco estudada. Não foram identificados estudos realizados com foco nas em úlceras venosas, que especificassem a ocorrência deste patógeno. A presente pesquisa identificou elevada prevalência de MRCoNS em comparação com isolados MRSA. É evidente que os *S. aureus* apresentam vários fatores de virulência, mas o papel que representa cada fator na infecção ainda não está totalmente elucidado. Isolados MRSA não são necessariamente mais virulentos que espécies de *S. aureus* meticilina sensível (MSSA). No entanto, algumas bactérias caracterizadas como MRSA contêm fatores ou “padrões” genéticos que podem aumentar sua virulência ou podem causar síndromes clínicas importantes⁽¹⁸⁾.

O crescente índice de microrganismos multidroga-resistentes é problemático em diferentes países. O Brasil é um país com extensa área geográfica e nos diversos Estados podemos encontrar condições físicas e estruturais diversificadas nas unidades de saúde, existindo centros especializados no diagnóstico de patógenos resistentes, da mesma forma que serviços de saúde funcionando em condições precárias. A vigilância da ocorrência de bactérias resistentes é tarefa difícil, e a falta de recursos diagnósticos impossibilita o real conhecimento dos isolados que circulam em âmbito local nos Estados da Federação⁽¹⁹⁾.

Na presente pesquisa, a maioria das úlceras foi classificada no estágio III de infecção e, neste caso, é necessária a aplicação de coberturas com ação antibacteriana. A classificação do estágio clínico é importante para os profissionais, a fim de facilitar o manejo da ferida no decorrer do tratamento⁽¹⁰⁾.

O uso dessa classificação, neste estudo também se constitui em contribuição original. Na presença de lesões em estágio III, é recomendado tratamento tópico apropriado, com coberturas para controle de microrganismos e análise microbiológica

com antibiograma, ao mesmo tempo em que se considera a possibilidade de uso sistêmico de antibióticos de largo espectro⁽¹⁰⁾.

Ainda é controverso o uso de antissépticos e antimicrobianos para tratar infecções nas úlceras venosas. Diante da problemática da resistência bacteriana, é importante reservar a utilização de preparações antibacterianas apenas para os casos de infecção clínica, e não para feridas apenas com colonização bacteriana. Ainda não há bases seguras para a indicação de um composto em especial, mas coberturas com cadexômero iodine parecem apresentar resultado mais significativo⁽²⁰⁾. A decisão clínica deve considerar os sinais de cada ferida, riscos e benefícios das opções terapêuticas e a avaliação de resultados obtidos.

A técnica de Levine é reconhecida como opção aceitável^(11,21) na identificação de espécies de microrganismos multidrogarresistentes. Neste estudo, identificamos tanto isolados MRSA quanto MRCoNS. Contudo, esta pode ser uma limitação do estudo, uma vez que não foi realizada a contagem de colônias. Para estudos futuros de sensibilidade e especificidade dos sinais e sintomas clínicos de infecção, a contagem de unidades formadoras de colônias é uma variável importante para ser abordada uma vez que em algumas feridas, a manifestação dos parâmetros clínicos de infecção esteja presente apenas de forma sutil.

Apesar do valor da carga microbiana ser um achado importante, a correlação entre aumento do número de bactérias e parâmetros clínicos de infecção pode ser confundida com eventos clínicos de processos inflamatórios prolongados⁽¹⁶⁾.

Utilizando o conjunto de indicadores clínicos de infecção específicos para vários tipos de feridas, um estudo⁽⁶⁾ identificou que, entre os cinco sinais e sintomas considerados mais indicativos de infecção em úlceras venosas, predominou, na opinião

de médicos, o pus/abscesso (32,4%) como sinal mais específico, aumento repentino do tamanho da lesão (11,6%) e aumento da temperatura local da pele (9,9%). Os pesquisadores concluíram que a identificação de infecção nos diferentes tipos de ferida ainda é tarefa difícil. Evidenciaram também que os médicos tendem a identificar com maior frequência sinais tradicionais de infecção de ferida crônica, como pus/abscesso e odor fétido. Estes sinais em geral, são visualizados numa única avaliação. Outros sinais como aumento da viscosidade e do volume do exsudato, ampliação das margens inflamadas e descoloração do tipo opaca, vermelho escuro são difíceis, pois necessitam de acompanhamento pelo profissional para inferir comparações ao longo do tempo. Neste sentido, o enfermeiro contribui como membro da equipe multiprofissional, ao acompanhar o tratamento tópico da ferida.

Para efeito da prática clínica, o uso integrado do exame clínico com o resultado da análise microbiológica e antibiograma deve ser a base do profissional no que tange à decisão sobre a situação de infecção da lesão e uso de produtos indicados para feridas criticamente colonizadas e infectadas^(1,5).

Os resultados deste estudo parecem confirmar que, em geral, não há um parâmetro clínico específico, indicativo de infecção de úlcera venosa, que seja suficiente na detecção do quadro infeccioso por *Staphylococcus* spp..

As pesquisas^(4-9,15) mostram que ainda é inconclusiva a validação de sinais e sintomas clínicos de infecção para úlceras venosas. Nesse sentido, mais estudos precisam ser realizados. De qualquer forma, a utilização de uma gama diversificada de sinais e sintomas é um recurso importante e necessário na prática clínica⁽¹⁵⁾.

A elevada proporção de isolados MRSA e MRCoNS no leito das úlceras é motivo de preocupação e reporta a necessidade de medidas de prevenção e controle,

como, por exemplo, o cumprimento de boas práticas de cuidados nas instituições de saúde e segurança do paciente: precauções padrão, higiene das mãos, uso adequado de equipamentos de proteção individual, controle ambiental, isolamento, uso racional de antimicrobiano, limpeza entre os atendimentos em salas de curativo, limpeza terminal diária do ambiente, e ações de educação continuada, tanto para o paciente quanto para os profissionais da área de saúde, de modo que se busque a adesão dos atores envolvidos na realização do curativo⁽²²⁾. Por outro lado, o conhecimento dos profissionais de enfermagem sobre MRSA ainda é limitado, sendo necessário um melhor suporte e compreensão de medidas na assistência a pessoas com esse tipo de patógeno⁽²³⁾.

Reconhecendo a atuação da enfermagem no atendimento a pessoas com úlceras venosas, cabe ressaltar a importância destes profissionais na redução da carga microbiana frequentemente identificada nas feridas crônicas. Nessa perspectiva, destaca-se o procedimento de limpeza exaustiva da lesão, além de cuidados para prevenir contaminação cruzada.

Referências

1. Percival, S; Keith, C. Microbiology of wound. CRC Press, New York; 2010. 409 p.
2. Martins, MA, Tipple AFV, Reis C, Santiago SB, Bachion MM. Úlcera crônica de perna de pacientes em tratamento ambulatorial: análise microbiológica e de suscetibilidade antimicrobiana. Cienc Cuid Saude. 2010;9(3):464-470.

3. Bowler PG, Duerden BI, Armstrong DG. Wound Microbiology and Associated Approaches to Wound Management. *Clinical Microbiology Reviews*. 2001;14(2):244-269.
4. Gardner, SE, Saltzman CL, Dodgson KJ. *Staphylococcus aureus* is associated with high microbial load in chronic wounds. *Wounds*. 2004;16(8):251-257.
5. Miller, CN, Carville K, Newall N, Kapp S, Lewin G, Karimi L, et al. Assessing bacterial burden in wounds: comparing clinical observation and wound swabs. *International Wound Journal*. 2010;8(1)45-55.
6. Rondas, AALM, Schols JMGA, Stobberingh EE, Price PE. Definition of infection in chronic wounds by Dutch nursing home physicians. *Intern Wound J*. 2009;6(4):267-274.
7. European Wound Management Association (EWMA) Position document: Identifying criteria for wound infection. London Medical Education Partnership; Ltd, 2005.
8. Cutting KF, Harding CKG. Criteria for identifying wound infection. *Journal of Wound Care*. 1994;3(4):198-201.
9. Gardner, SE, Frantz RA, Doebbeling BN. The validity of the clinical signs and symptoms used to identify localized chronic wound infection. *Wound Repair and Regeneration*. 2001;9(3):178-186.
10. European Wound Management Association (EWMA) Position document: Management of wound infection. London Medical Education Partnership; Ltd, 2006.
11. Levine, NS, Col LT, Lindberg RB, Jr ADM, Jr BAP, Colonel MC. The quantitative swab culture and smear: a quick, simple method for determining the number of viable aerobic bacteria on open wound. *The Journal of Trauma*. 1976;16(2):89-94.

12. Clinical And Laboratory Standards Institute (CLSI). Approved Standard M7-A8. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 18.ed. Approved Standard. Wayne (PA):2009.
13. Malaquias SG. Integridade da pele de área perilesional prejudicada relacionada à circulação alterada em pessoas com úlceras vasculogênicas [dissertation]. Goiânia: Faculdade de Enfermagem da Universidade Federal de Goiás; 2010. 222 p.
14. Torres GV, Costa IKF, Dantas DV, Farias TYA, Nunes JP, Deodato OON et al. Idosos com úlceras venosas atendidos nos níveis primário e terciário: caracterização sociodemográfica, de saúde e assistência. Rev enferm UFPE. 2009;3(4):1005-1012.
15. Gardner SE, Hillis SL, Frantz RA. Clinical signs of infection in diabetic foot ulcers with high microbial load. Biol Res Nurs. 2009;11(2):119-128.
16. Sibbald RG, Orsted H, Schultz GS, Coutts P, Kest D. Preparing the wound bed 2003: focus on infection and inflammation. Ostomy Wound Management. 2003;49(11):24-51.
17. Howell-Jones RS, Baker IB. Microbial investigation of venous leg ulcers. Journal of Wound Care. 2008;17(8):353-358.
18. Gordon, RJ, Lowy FD. Pathogenesis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. Clin Infect Dis. 2008;46(5):S350-S359.
19. Rossi F. The challenges of antimicrobial resistance in Brazil. Clinical Infectious Diseases. 2011;52:1138-1143.
20. O'Meara S, Al-Kurdi D, Ologun Y, Ovington LG. Antibiotics and antiseptics for venous leg ulcers. The Cochrane Collaboration 2011. Published by John Wiley & Sons, Ltd. DOI: 10.1002/14651858.CD003557.

21. Angel D, Lloyd P, Carville K, Santamaria N. The clinical efficacy of two semi-quantitative wound-swabbing techniques in identifying the causative organism(s) in infected cutaneous wounds. *International Wound Journal*, 2011; 8(2):176-185.
22. Pina E, Ferreira E, Marques A, Matos B. Infecções associadas aos cuidados de saúde e segurança do doente. *Rev Port Saúde Pública*. 2010;10:27-39.
23. Silva AM, Carvalho MJ, Canini SRMS, Cruz EDA, Simões CLAP, Gir E. *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina: conhecimento e fatores associados à adesão da equipe de enfermagem às medidas preventivas. *Rev. Latino-Am.Enfermagem*. 2010;18(3):07.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo apresenta contribuições relevantes na área clínica e epidemiológica, assim como, informações acerca de bactérias multirresistentes identificadas em pessoas atendidas em vários serviços municipais de saúde em uma metrópole.

Múltiplos fatores podem contribuir para a resistência bacteriana em cepas identificadas de pessoas atendidas nos serviços municipais de saúde. As trocas genéticas entre a população polimicrobiana existente nas lesões, transporte de material microbiológico de um serviço para outro, uso recorrente de antimicrobiano e possibilidades de carreamento de patógenos pelos profissionais que atuam em mais de uma instituição.

A utilização de parâmetros clínicos na detecção de colonização crítica ou infecção em úlcera venosa é um recurso importante para os enfermeiros. Estas feridas apresentam elevada carga microbiana e neste sentido, caracterizar entre a população de micro-organismos qual ou quais são os agentes que contribuem para o aparecimento de sinais e sintomas característicos de infecção é tarefa complexa e outros estudos precisam ser desenvolvidos.

Assim, este estudo traz subsídios para uma melhor compressão sobre a utilização de outros sinais e sintomas indicativos de infecção em úlceras venosas. O monitoramento do estágio clínico de infecção requer a atuação dos enfermeiros buscando um melhor cuidado, buscando a redução da elevada

carga microbiana existente nestas feridas, seja por procedimentos de limpeza exaustiva, associada ao uso de coberturas com ação antimicrobiana, da mesma forma que o encaminhamento para outros profissionais, para avaliar o uso sistêmico de antimicrobiano e a avaliação da resposta frente a estas condutas, utilizando-se dos sinais e sintomas descritos neste estudo.

Da mesma forma que foi possível identificar micro-organismos com fenótipos de resistência (MRSA, MRCoNS, MLS) isolados de úlceras de pessoas atendidas na atenção primária em saúde.

A existência de bactérias com fenótipos multirresistentes evidencia a necessidade de rigorosas medidas de prevenção e controle, que incluam precauções padrão, higiene das mãos antes e após a realização dos procedimentos, desinfecção dos equipamentos utilizados no curativo, limpeza adequada das salas de curativo, uso de equipamentos de proteção individual, necessidade de estrutura física adequada, uso racional de antimicrobiano.

O enfermeiro deve empregar esforços em contribuir na redução da elevada carga microbiana existente nestas lesões e evitar a contaminação cruzada.

Esperamos fomentar reflexões e propiciar informações que possam contribuir na qualidade do cuidado a estes usuários com úlceras venosas com e sem complicações arteriais. Os resultados desta pesquisa poderão ser repassados aos estudantes de maneira a contribuir com a formação dos mesmos. Além do ensino, esperamos continuar com a realização de ações de extensão e pesquisa com esta temática.

REFERÊNCIAS

ABBADE, L. P.; LASTÓRIA, S. Venous ulcer: epidemiology, physiopathology, diagnosis and treatment. **International Journal of Dermatology**, v. 44, p. 449-456, 2005.

ADALETI, R. *et al.* Prevalence of phenotypic resistance of *Staphylococcus aureus* isolates to macrolide, lincosamide, streptogramin B, ketolid and linezolid antibiotics in Turkey. **Braz. J. Infect. Dis.**, v. 14, n. 1, p. 11-14, 2010.

AMORIM, D. M. R. *et al.* Resistência induzível à clindamicina entre isolados clínicos de *Staphylococcus aureus*. **O mundo da Saúde**, v. 33, n. 4, p. 401-405, 2009.

ANGEL, D. E. *et al.* The clinical efficacy of two semi-quantitative wound-swabbing techniques in identifying the causative organism(s) in infected cutaneous wounds. **International Wound Journal**, v. 8, n. 2, p.176-185, 2011.

ATHANASOPOULOS, A. N. *et al.* The extracellular adherence protein (Eap) of *Staphylococcus aureus* inhibits wound healing by interfering with host defense and repair mechanisms. **Blood**, v. 107, n. 7, 2006.

AZULAY, R. D; AZULAY, D. R. **Dermatologia**. 4.^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

BERGONSE, F. N; RIVITTI, E. A. Avaliação da circulação arterial pela medida do índice tornozelo/braço em doentes de úlcera venosa crônica. **An. Bras. Dermatol.**, v. 81, n. 2, p. 131-135, 2006.

BORGES, L. J. *et al.* Microbiological quality and phenotypic characterization of microorganisms isolated from enteral feeding, food handlers and environments of two public brazilian hospital. **Journal of Food Safety**, v. 31, p. 125-131, 2011.

BOWLER, P. G.; DAVIES, B. J. The microbiology of infected and noninfected leg ulcers. **International Journal of Dermatology**, v. 38, p. 573-578, 1999.

BOWLER, P. G. *et al.* Wound Microbiology and Associated Approaches to Wound Management. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 14, n. 2, p. 244-269, abr, 2001.

BOWLER, P. G. Bacterial Growth Guideline: Reassessing its Clinical Relevance in Wound Healing. **Ostomy Wound Management**, v. 49, n. 1, p. 44-53, 2003.

BRASIL, CONSELHO FEDERAL DE ENFERMAGEM. **Lei n.º 7.498**, 25 de junho de 1986. Brasília (Brasil): Lei do Exercício Profissional.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual de condutas para tratamento de úlceras em hanseníase e diabetes**. Brasília, 2008, 92p.

BRIGGS, M.; CLOSS, S. J. The prevalence of leg ulceration: a review of the literature. **EWMA Journal**, v. 3, n. 2, 2003.

BRITISH SOCIETY FOR ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY (BSAC). **Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing**. 8, January, 2011.

BUTCHER, W. B. *et al.* Eighty-five consecutive cases of cellulitis: clinical features, management and implications for hospital care. **Phlebology**, v. 18, n. 2, 2003.

CHAMBERS, H. F. Methicilin resistance in *Staphylococci*: molecular and biochemical basis and clinical implications. **Clin. Microbiol. Rev.**, Washington, v. 10, n. 4, p. 781-91, Oct. 1997.

CHUA, K. *et al.* Not community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA): A clinician's guide to community MRSA – its evolving antimicrobial resistance and implications for therapy. **Clinical Infectious Diseases**, v. 52, p. 99-114, 2011.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. M7-A8, **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard**. 18th edition. Wayne, PA: CLSI, 2009.

CONFERENCIA NACIONAL DE CONSENSO SOBRE ÚLCERAS DE LA EXTREMIDAD INFERIOR (CONUEI). España: EdikaMed S. L.; 2009.

CUEVAS, O. *et al.* Evolution of the antimicrobial resistance of *Staphylococcus* spp., in Spain: five nationwide prevalence studies, 1986 to 2002. **Antimicrob. Agents Chemother**, v. 48, p. 4240-4245, 2004.

CUNHA, M. L. R. S; RUGOLO, L. M. S. S; LOPES, C. A. M. Study of virulence factors in coagulase-negative staphylococci isolated from newborns. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**. V. 101, n. 6, p. 661-668, 2006.

CUTTING, K. F. Identification of infection in granulating wounds by registered nurses. **Journal of Clinical Nursing**, v. 7, p. 539-546, 1998.

CUTTING, K. F.; HARDING, C. K. G. Criteria for identifying wound infection. **Journal of Wound Care**, v. 3, n.4, 1994.

CUTTING, K. F.; WHITE, R. J. Criteria for identifying Wound Infection – Revisited. **Ostomy Wound Management**, v. 51, n. 1, p. 28-34, Janeiro, 2005.

CIRAJ, A. M. *et al.* Inducible clindamycin resistance among clinical isolates of *staphylococci*. **Indian J. Pathol. Microbio.**, v. 52, n. 1, p. 49-51, 2009.

DAVIES, C. E. *et al.*, Use of molecular techniques to study microbial diversity in the skin: chronic wounds reevaluated. **Wound Repair and Regeneration**, v. 9, n. 5, 2001.

DAVID, M. Z. *et al.* What is community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*? **JID**, v. 197, p. 1235-1243, 2008.

DEALEY, C. **Cuidando de feridas: um guia para as enfermeiras**. 3.^a ed. São Paulo: Atheneu; 2008.

DELIALIOGLU, N. *et al.* Inducible clindamycin resistance in *Staphylococci* isolated from clinical samples. **J. Infect. Dis.**, v. 58, p. 104-106, 2005.

DEURENBERG, R. H.; STOBBERINGH, E. E. The evolution of *Staphylococcus aureus*. **Infect. Genet. Evol.**, v. 8, n. 6, p. 747-763, 2008.

DOW, G. Bacterial swabs and the Chronic Wound: When, How, and What do They Mean. **Ostomy Wound Management**, v. 49, n. 5A, p. 8-13, 2003.

EAGLE, M. Doppler ultrasound – basics revisited. **British Journal of Nursing**, v. 15, n. 11, p. 524-530, 2006.

EUROPEAN WOUND MANAGEMENT ASSOCIATION. (EWMA) Position document. **Understanding compression therapy**. London Medical Education Partnership, Ltd., 2003.

_____. **Identifying criteria for wound infection**. London Medical Education Partnership, Ltd., 2005.

_____. **Management of wound infection**. London Medical Education Partnership, Ltd., 2006.

FERNANDES, L. F.; PIMENTA, F. C., FERNANDES, F. F. Isolamento e perfil de suscetibilidade de bactérias de pé diabético e úlcera de estase venosa de pacientes admitidos no pronto-socorro do principal hospital universitário do Estado de Goiás, Brasil. **J. Vasc. Bras.** 2007;6(3):211-7.

FERREIRA, A. W. *et al.* Prevalência de *Staphylococcus aureus* meticilina resistente (MRSA) em pacientes atendidos em ambulatório de dermatologia geral em Manaus-Amazonas. **Revista de Patologia Tropical**, v. 38, n. 21, p. 83-92, 2009.

FERREIRA, M. C. *et al.* Complex wounds. **Clinics**, v. 61, n. 6, p. 571-578, 2006.

FIEBELKORN, K. R. *et al.* Practical disk diffusion method for detection of inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *Staphylococci*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, n. 10, p. 4740-4744, 2003.

FOKAS, S. *et al.* Prevalence of inducible clindamycin resistance in macrolide-resistant *Staphylococcus* spp. **Clin. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 11, n. 4, p. 337-340, 2005.

FRADE, M.A.C. *et al.* Úlcera de perna: um estudo de casos em Juiz de Fora-MG (Brasil) e região. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 80, p. 41-46, 2005.

GALES, A. C. *et al.* Antimicrobial susceptibility of Gram-positive bacteria isolated in Brazilian hospitals participating in the SENTRY program (2005-2008). **Braz. J. Infect. Dis.**, v. 13, n. 2, p. 90-98, 2009.

GARDNER, S. E. *et al.* The validity of the clinical signs and symptoms used to identify localized chronic wound infection. **Wound Repair and Regeneration**, v.9, n. 3, p. 178-186, 2001.

GARDNER, S. E. *et al.* *Staphylococcus aureus* is associated with high microbial load in chronic wounds. **Wounds**, v. 16, n. 8, p. 251-257, 2004.

GARDNER, S. E. *et al.* Diagnostic validity of three swab techniques for identifying chronic wound infection. **Wound Repair and Regeneration**, v. 14, p. 548-557, 2006.

GARDNER, S. E. *et al.* The Inter-rater reliability of the clinical signs and symptoms checklist in diabetic foot ulcers. **Ostomy Wound Management**, v. 53, n.1, p. 46-51, Janeiro, 2007.

GARDNER, S. E. *et al.* Clinical Signs of Infection in Diabetic Foot Ulcers with High Microbial Load. **Biol. Res. Nurs.**, v. 11, n. 2, p. 119-128, 2009.

GELATTI, L. C. *et al.* *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina: disseminação emergente na comunidade. **An. Bras. Dermatol.**, v. 84, n. 5, p. 501-506, 2009.

GORDON, R.J.; LOWY, F. D. Pathogenesis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. **Clin. Infect. Dis.**, v. 46, suppl 5, p. S350-S359, 2008.

GUILARDE, A. O. *et al.* *Staphylococcus aureus* bacteraemia: incidence, risk factors and predictors for death in a Brazilian teaching hospital. **Journal of Hospital Infection**, v. 63, p. 330-336, 2006.

HILL, K. E. *et al.* Molecular analysis of the microflora in chronic venous leg ulceration. **Journal of Medical Microbiology**, v. 52, p. 365-369, 2003.

HORAN, T. C. *et al.* CDC definitions of nosocomial surgical site infections, 1992: a modification of CDC definitions of surgical wound infections. **Infection Control Epidemiology**, n. 13, v. 10, p. 606-608, 1992.

HOWELL-JONES, R.S. A review of the microbiology, antibiotic usage and resistance in chronic skin wounds. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, n. 55, p. 143-149, jan., 2005.

HUEBNER, J; GOLDMANN, D. A. Coagulase-negative *Staphylococci*: role as pathogens. **Annu. Rev. Med.**, n. 50, p. 223- 236, 1999.

JAEGER, K. E. *et al.* Bacterial lipases. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 15, n. 1, p. 29-36, 1994.

JEVONS, M. P. "Celbenin"-resistant *Staphylococci*. **B. M. J.**, v.1, p. 124-5, 1961.

LEVINE, NS, *et al.* The quantitative swab culture and smear: a quick, simple method for determining the number of viable aerobic bacteria on open wound. **The Journal of Trauma**, v. 16, n. 2, p. 89-94, 1976.

KEIM, L. S. *et al.* Prevalence, aetiology and antibiotic resistance profiles of coagulase negative *Staphylococcus* isolated in a teaching hospital. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 42, p. 248-255, 2011.

KIM, H. B. *et al.* In vitro activities of 28 antimicrobial agents against *Staphylococcus aureus* isolates from Tertiary-care hospitals in Korea: a nationwide survey. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 48, n. 4, p. 1124-1127, 2004.

KIRKETERP-MOLLER, K.; *et al.* Distribution, organization, and ecology of bacteria in chronic wounds. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 46, n.8, p. 2717-2722, 2008.

KOBAYASHI, C. C. B. A.; SADOYAMA, G.; VIEIRA, J. D. G. Determinação da resistência antimicrobiana associada em isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* em um hospital público de Goiânia, Estado de Goiás. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 4, p. 404-410, 2009.

KONEMAN, E. W. **Diagnóstico microbiológico – texto e atlas colorido**. Rio de Janeiro: MEDSI, 2008.

LEÃO, S. N. O. *et al.* Fenotipagem de bactérias isoladas em hemoculturas de pacientes críticos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 5, p. 537-540, 2007.

LIMA, A. L. L. M; OLIVEIRA, P.R.D. **Recomendações para o manejo das infecções em úlceras neuropáticas das extremidades inferiores**. São Paulo: Bevilacqua editora; 2011, p.14.

LINA, G., *et al.* Involvement of Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. **Clin. Infect. Dis.**, v. 29, p. 1128-1132, 1999.

LIPSKY, B. A. *et al.* Diagnosis and Treatment of Diabetic Foot Infections. **Clinical Infectious Diseases**, v. 39, p. 885-910, 2004.

LOWY, F. D. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. **J. Clin. Invest.**, v. 111, n. 9, p. 1265-1273, 2003.

LYON, B. R.; SKURRAY, R. Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus*: genetic basis. **Microbiological Reviews**, v. 51, n. 1, 1987.

MAFFEI, F. H. A. *Insuficiência venosa crônica: conceito, prevalência, etiopatogenia e fisiologia*. In: Maffei F. H. A et al. **Doenças vasculares periféricas**. 4.^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p. 1796-1802.

MALAQUIAS, S. G. **Integridade da pele de área perilesional prejudicada relacionada à circulação alterada em pessoas com úlceras vasculogênicas** [dissertação]. Goiânia: Faculdade de Enfermagem/ UFG; 2010. 222 p.

MARTINS, M. A. **Avaliação de feridas crônicas em pacientes atendidos em unidades básicas de saúde de Goiânia** [dissertação]. Goiânia: Faculdade de Enfermagem/ UFG; 2008. 143 p.

MARTINS, M. A. *et al.* Úlcera crônica de perna de pacientes em tratamento ambulatorial: análise microbiológica e de suscetibilidade antimicrobiana. **Cienc. Cuid. Saúde**, v. 9, n. 3, p. 464-470, 2010.

MENEZES, E. A. *et al.* Macrolídeos: uma atualização. **NewsLab**, n. 85, p. 116-126, 2007.

MICHELIM, L. *et al.* Pathogenicity factors and antimicrobial resistance of *Staphylococcus epidermidis* associated with nosocomial infections occurring in intensive care units. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 36, p. 17-23, 2005.

MILLER, C. N. *et al.* Assessing bacterial burden in wounds: comparing clinical observation and wound swabs. **International Wound Journal**, v. 8, n. 1, p. 45-55, 2010.

MULANOVICH, V. E. *et al.* Emergence of linezolid-resistant coagulase-negative *Staphylococcus* in a cancer centre linked to increased linezolid utilization. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 65, p. 2001-2004, 2010.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. **M2-A8, Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests**; approved standard-eighth. Wayne, PA: USA, 2003.

NEWMAN, A. B. Peripheral arterial disease: insights from population studies of older adults. **Journal American Geriatrics Society**, 2000, v. 48, p. 1157-1162.

OLIVEIRA, G. *et al.* Characterization of the Brazilian endemic clone of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from hospitals throughout Brazil. **Braz. J. Infect.**, v. 5, p-163-170, 2001.

OPLUSTIL, C. P. *et al.* **Procedimentos básicos em microbiologia clínica.** São Paulo: Sarvier, 2004.

OTSUKA, T. *et al.* Macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance phenotypes and genotypes among *Staphylococcus aureus* clinical isolates in Japan. **Clin. Microbiol. Infect.**, v. 13, p. 316-346, 2006.

PANTOSTI, A.; VENDITTI, M. What is MRSA? **Eur. Respir. J.**, v. 34, n. 5, p. 1190-1196, 2009.

PERCIVAL, S; CUTTING, H. **Microbiology of wound.** CRC Press, United States of America, NY: 2010.

PEREZ, L. R. R.; d'AZEVEDO, P. A. Evaluation of the accuracy of various phenotypic tests to detect oxacillin resistance in coagulase-negative *Staphylococci*. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 12, n. 3, p. 210-212, 2008.

PEREZ, L. R. R. *et al.* Use of the D test method to detect inducible clindamycin resistance in coagulase negative *Staphylococci* (CoNS). **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 11, n. 2, p. 186-188, 2007.

PIETTE, A.; VERSCHRAEGEN, G. Role of coagulase-negative *staphylococci* in human disease. **Veterinary microbiology**, v. 134, p. 45-54, 2009.

PRADO-PALOS, M. A. ***Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus aureus* meticilina resistentes (MRSA) em profissionais de saúde e as interfaces com as infecções nosocomiais.** 2006. 188 f. Tese. Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, 2006.

QUEGE, G. E. *et al.* Comparação da atividade de ácidos graxos essenciais e biomembrana na microbiota de feridas crônicas infectadas. **Rev. Eletr. Enf.**, v.10 n. 4, p. 890-905, 2008.

RODRÍGUEZ-NORIEGA, E. R.; SEAS, C. The changing pattern of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in Latin America: implications for clinical practice in the region. **Braz. J. Infect. Dis.**, v.14, Suppl 2, p.S87-S96, 2010.

RONDAS, A.A.L.M. *et al.* Definition of infection in chronic wounds by Dutch nursing home physicians. **International Wound Journal**, v.6, n.4, p. 267-274, 2009.

ROSA, J. O. *et al.* Detecção do gene *mecA* em estafilococos coagulase negativa resistentes à oxacilina isolados da saliva de profissionais da enfermagem. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 4, p. 398-403, 2009.

ROSSI, F.; ANDREAZZI, D. B. **Resistência bacteriana - interpretando o antibiograma**. Atheneu, São Paulo, 2005.

ROSSI, F. The challenges of antimicrobial resistance in Brazil. **Clinical Infectious Diseases**, v. 52, p. 1138- 1143, 2011.

ROSSI, F. *et al.* Rates of Antimicrobial Resistance in Latin America (2004-2007) and in vitro Activity of the Glycylcycline Tigecycline and of Other Antibiotics. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 12, n. 5, p. 405-415, 2008.

SANT`ANA, M. S. C. S. **Úlceras venosas: caracterização e tratamento em usuários atendidos nas salas de curativos da rede municipal de saúde de Goiânia-GO**. [dissertação]. Goiânia: Faculdade de Enfermagem/ UFG; 2011. 165 p.

SANTOS, V. L. C. de G. *et al.* Adaptação transcultural do Pressure Ulcer Scale for Healing (PUSH) para a Língua Portuguesa. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 13, n. 3, p. 305-13, 2005.

SANTOS, A. L. *et al.* *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, v. 43, n. 6, p. 413-423, 2007.

SINGH, R. *et al.* Penetration of antibiotics through *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 65, p. 1955-1958, 2010.

TAVARES, W. **Antibióticos e quimioterápicos para o clínico**. São Paulo: ATHENEU, 2009.

TOMASZ, A. I. *et al.* New Mechanism for Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*: Clinical Isolates That Lack the PBP 2a Gene and Contain Normal Penicillin-Binding Proteins with Modified Penicillin-Binding Capacity. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 33, n. 11, 1989.

THOMSON, C. H. Biofilms: do they affect wound healing. **International Wound Journal**, v. 8, n. 1, 2011.

VILLAR, M *et al.* Epidemiological and molecular aspects of rifampicin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from wounds, blood and respiratory samples. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 66, p. 997-1000, 2011.

WALSH, C. **Antibiotics actions, origins, resistance**. Washington, ASM Press: 2003.

WINSTEAD, Y. *et al.* Clinical Management of Skin and Soft Tissue Infections in the Emergency Department of a Suburban Hospital. **Advanced Emergency Nursing Journal**, v. 32, n.2, p. 155–167, 2010.

WOO, K. Y.; SIBBALD, R. G. A Cross-sectional Validation Study of Using NERDS and STONEES to Assess Bacterial Burden. **Ostomy Wound Manage**, v. 55, p. 40-48, 2009.

WORLD UNION OF WOUND HEALING SOCIETIES (WUWHS). **Principles of best practice**: Wound infection in clinical practice. An international consensus. London: MEP Ltd, 2008.

ZURITA, J.; MEDJÍA, C.; GUZMÁN-BLANCO, M. Epidemiology and surveillance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Latin America. **Braz. J. Infect. Dis.** v. 14 , Suppl 2, p. S79-S86, 2010.