



Universidade Federal Fluminense

ESCOLA DE ENFERMAGEM
AURORA DE AFONSO COSTA



Notas Prévias



Monitoramento molecular de *staphylococcus aureus* em lesões crônicas: estudo descritivo

Bruna Maiara Ferreira Barreto¹; Fernanda Soares Pessanha¹; Beatriz Guitton Renaud Baptista de Oliveira¹; Geraldo Renato de Paula¹; Lenise Arneiro Teixeira¹; Ana Clara Silveira Marques¹.

¹ Universidade Federal Fluminense

Resumo

A presença de infecção em feridas retarda o processo de cicatrização. Os principais microrganismos isolados são *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. **Objetivo:** analisar o perfil fenotípico e genotípico de cepas de *Staphylococcus aureus* em lesões crônicas de pacientes ambulatoriais tratadas com hidrogel a 2% ou poliuretano. Tal análise dará subsídios para a decisão do tratamento adequado e maior rapidez no processo de reparo tecidual. **Método:** Pesquisa descritiva com abordagem quantitativa, por meio da coleta de espécime clínico das lesões por *swab* com cultura bacteriana, identificação e caracterização molecular.

Descritores: Úlcera; Infecção dos Ferimentos; *Staphylococcus Aureus*; Enfermagem.

O *S. aureus* é um dos microrganismos mais prevalentes em lesões⁽¹⁾. Entretanto, a identificação do agente etiológico apenas por sinais e sintomas clínicos é difícil devido à grande quantidade de microrganismos que podem ser isolados em culturas⁽¹⁾. A utilização de métodos fenotípicos e, principalmente, genotípicos para determinar a presença microbiana e avaliar o perfil de suscetibilidade a antimicrobianos e genes de virulência em bactérias presentes em feridas crônicas permite nortear um tratamento adequado.

Hipótese

Os *Staphylococcus aureus* presentes nas feridas crônicas apresentam diferentes perfis de resistência antimicrobiana.

OBJETIVOS

Objetivo geral: analisar o perfil fenotípico e genotípico de cepas de *Staphylococcus aureus* em lesões crônicas de pacientes ambulatoriais tratadas com hidrogel a 2% ou placa de poliuretano. Objetivos específicos: identificar cepas de *S. aureus* nas lesões crônicas utilizando métodos fenotípicos e genotípicos; determinar a suscetibilidade desses microrganismos aos antimicrobianos e biocidas comumente utilizados; detectar a presença dos genes *mecA* e *pyl* utilizando PCR (reação em cadeia da polimerase); verificar a diversidade genética das cepas detectadas por meio do PFGE (Pulsed Field Gel Electrophoresis); avaliar a influência do hidrogel a 2% ou poliuretano nas lesões dos pacientes colonizados, contaminados ou infectados com *S. aureus*.

MÉTODO

Pesquisa descritiva, com abordagem quantitativa, realizada no Ambulatório de Reparo de Feridas do Hospital Universitário Antônio Pedro (HUAP/UFF) e Policlínica Comunitária da Engenhoca. A população atendida no Ambulatório é de 186 pacientes por ano⁽²⁾. A amostra será determinada por conveniência, com 70 pacientes ou quatro meses de coleta (novembro de 2014 a fevereiro de 2015), o que for alcançado primeiro. Critérios de inclusão: idade acima de 18 anos; apresentar lesão tissular crônica; usar hidrogel a 2% ou poliuretano na lesão. Critérios de exclusão: apresentar lesão(ões) crônica(s) com área menor que 3cm² ou com apenas necrose no leito; usar medicamentos imunossupressores. Critério de descontinuidade: mudar de produto durante os 15 dias entre as coletas do primeiro e do segundo *swab*.

A coleta de dados é obtida em duas consultas de enfermagem (D0 e D15), com registro dos dados dos pacientes: identificação, clínicos, descritivos da lesão, cálculo da área da ferida por planimetria e fotografia. A análise microbiológica será realizada no Laboratório de Controle Microbiológico (LCM) da Faculdade de Farmácia e acontecerá por meio da semeadura do *swab* em Manitol Salgado (Difco). Após a incubação, colônias sugestivas de *S. aureus* serão submetidas aos testes de coloração de Gram, catalase, coagulase, testes de disco difusão e da determinação da concentração mínima inibitória conforme Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

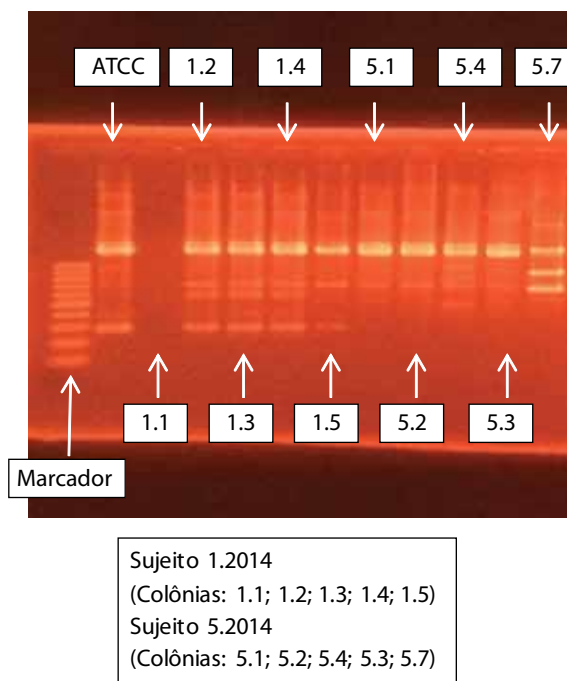
A avaliação de genes ocorrerá por PCR. Os amplicons serão submetidos à eletroforese em gel de agarose 1,5%, corados com brometo de etídio e visualizados sob luz ultravioleta. Para avaliação da diversidade clonal das cepas

encontradas será realizado o PFGE utilizando o sistema CHEF-DR III.

A análise estatística será em etapas. Primeira etapa: tabulação dos dados clínicos das feridas em planilhas no software Microsoft Excel (Número de série KGFVY-7733B-8WCK9-KTG64-BC7D8); avaliação da normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk (amostra menor que 50 sujeitos) ou Kolmogorov-Smirnov (amostra maior que 50 sujeitos) e análise por estatística descritiva no software BioStat 5.3 (licença de uso gratuita). Segunda etapa: correlações da carga microbiana usando Pearson (dados normais) ou Spearman (dados não normais); resistência a antimicrobianos; genes determinantes dessa resistência. Nível de significância de 0,05.

Para analisar se diferentes cepas de *S. aureus* infectam ou colonizam a mesma ferida, realizou-se um pré-teste com ensaios de amplificação polimórfica DNA-PCR (RAPD-PCR) com primer 1254 (5'-CCGCAGCCAA-3') de diferentes colônias a partir do isolamento bacteriano de um mesmo paciente. Os produtos foram analisados por corrida eletroforética em gel de agarose a 1,5% (70V por 2h) para duas amostras determinadas por conveniência (cinco diferentes colônias obtidas a partir do isolamento primário de dois pacientes - Fig 1). Por meio desta análise, observamos que 75% das colônias isoladas do paciente 1 apresentaram o mesmo perfil genético, sugerindo tratar-se de um único clone. Na colônia 1.1 não houve amplificação, provavelmente devido à falha na obtenção do DNA da amostra. No paciente 5, os perfis genéticos são semelhantes em 60% dos casos. Assim, acredita-se que o isolamento e identificação de apenas uma única colônia será representativo da população de *S. aureus* da lesão.

Figura 1: Resultado da corrida eletroforética. Niterói, 2015.



REFERÊNCIAS

1. 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* (Online) [Internet]. 2010 [cited 2015 Jan 19]; 9(3). Available: <http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/CiencCuidSaude/article/viewFile/8178/6635>
2. Oliveira BGRB, Castro JBA, Granjeiro JM. Panorama epidemiológico e clínico de pacientes com feridas crônicas tratados em ambulatório. *Rev enferm UERJ* (Online) [internet]. 2013 [cited 2015 Jan 20] 21(1). Available from: <file:///C:/Users/Win/Downloads/10035-34730-1-PB.pdf>
3. Silva PV, Cruz RS, Keim LS, Paula GS, Carvalho BTF, Coelho LR, Carvalho MCS, Rosa JMC, Figueiredo MAS, Teixeira LA. The antimicrobial susceptibility, biofilm formation and genotypic profiles of *Staphylococcus haemolyticus* from bloodstream infections. *Mem Inst Oswaldo Cruz* (Online) [Internet]. 2013 (Cited 2015 Jan 20) (108)6. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/mioc/v108n6/0074-0276-mioc-108-06-0812.pdf>

Participação dos autores na pesquisa: Todos os autores participaram das fases dessa publicação em uma ou mais etapas a seguir, de acordo com as recomendações do International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE, 2013), ou seja, participação substancial na concepção ou confecção do manuscrito ou da coleta, análise ou interpretação dos dados, elaboração do trabalho ou realização de revisão crítica do conteúdo intelectual, aprovação da versão submetida.

Detalhes do Projeto: Projeto de Dissertação do Mestrado Acadêmico em Ciências do Cuidado em Saúde – UFF

Orientadora: Prof^a Dr^a Beatriz Guitton Renaud Baptista de Oliveira

Co-orientadora: Prof Dr^a Lenise Arneiro Teixeira

Aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa: CAAE 33740214.2.0000.5243. Parecer de aprovação: 815.353, 03/10/2014.

Apoio financeiro: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Todos os autores participaram das fases dessa publicação em uma ou mais etapas a seguir, de acordo com as recomendações do International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE, 2013): (a) participação substancial na concepção ou confecção do manuscrito ou da coleta, análise ou interpretação dos dados; (b) elaboração do trabalho ou realização de revisão crítica do conteúdo intelectual; (c) aprovação da versão submetida. Todos os autores declaram para os devidos fins que são de suas responsabilidades o conteúdo relacionado a todos os aspectos do manuscrito submetido ao OBJN. Garantem que as questões relacionadas com a exatidão ou integridade de qualquer parte do artigo foram devidamente investigadas e resolvidas. Eximindo, portanto o OBJN de qualquer participação solidária em eventuais imbróglis sobre a matéria em apreço. Todos os autores declaram que não possuem conflito de interesses, seja de ordem financeira ou de relacionamento, que influencie a redação e/ou interpretação dos achados. Essa declaração foi assinada digitalmente por todos os autores conforme recomendação do ICMJE, cujo modelo está disponível em http://www.objnursing.uff.br/normas/DUDE_final_13-06-2013.pdf

Recebido: 28-11-2014

Revisado: 26-02-2015

Aprovado: 26-02-2015