

Universidade Federal de Pernambuco  
Centro de Ciências da Saúde  
Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical

Cynthia Regina Pedrosa Soares

**PREVALÊNCIA DA COLONIZAÇÃO NASAL POR *Staphylococcus aureus*  
RESISTENTE À METICILINA EM PACIENTES AMBULATORIAIS VIVENDO  
COM HIV/aids DE HOSPITAL TERCIÁRIO NO ESTADO DE PERNAMBUCO-  
BRASIL**

Recife,  
2016

Cynthia Regina Pedrosa Soares

**PREVALÊNCIA DA COLONIZAÇÃO NASAL POR *Staphylococcus aureus*  
RESISTENTE À METICILINA EM PACIENTES AMBULATORIAIS VIVENDO  
COM HIV/aids DE HOSPITAL TERCIÁRIO NO ESTADO DE PERNAMBUCO-  
BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Medicina Tropical

**Orientador(a):** Dr<sup>a</sup>. Maria Amélia Vieira Maciel

**Co-orientador:** Dr. Paulo Sergio Ramos de Araújo

Recife,  
2016

Ficha catalográfica elaborada pela  
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

S676p Soares, Cynthia Regina Pedrosa.  
Prevalência da colonização nasal por *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina em pacientes ambulatoriais vivendo com HIV/aids de hospital terciário no estado de Pernambuco- Brasil / Cynthia Regina Pedrosa Soares. – 2016.  
91 f.: il. tab.; 30 cm.

Orientadora: Maria Amélia Vieira Maciel.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical. Recife, 2016.  
Inclui referências, apêndices e anexos.

1. *Staphylococcus aureus*. 2. MRSA. 3. CA-MRSA. 4. HIV. 5. PVHA. I. Maciel, Maria Amélia Vieira (Orientadora). II. Título.

618.9883

CDD (23.ed.)

UFPE (CCS2016-055)

## Ata da Defesa de Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, no dia 29 de fevereiro de 2016.

Aos 29 (vinte e nove) dias do mês de fevereiro de dois mil e dezesseis, às 14 horas, na Sala do PPGMEDTROP – Bl. A, Térreo do Hospital das Clínicas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (CCS/UFPE), em sessão pública, teve início a defesa da Dissertação intitulada “PREVALÊNCIA DA COLONIZAÇÃO NASAL POR *Staphylococcus aureus* RESISTENTE À METICILINA EM PACIENTES AMBULATORIAIS VIVENDO COM HIV/aids DE HOSPITAL TERCIÁRIO NO ESTADO DE PERNAMBUCO-BRASIL” da aluna Cynthia Regina Pedrosa Soares na área de concentração Medicina Tropical, sob a orientação da Profa. Dra. Maria Amélia Vieira Maciel e sob coorientação do Prof. Dr. Paulo Sérgio Ramos de Araújo. A mestranda cumpriu todos os demais requisitos regimentais para a obtenção do grau de MESTRA em Medicina Tropical. A Banca Examinadora foi indicada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical, na sua Reunião ordinária e homologada pela Diretoria de Pós-Graduação, através do Processo Nº 23076.010178/2016-56 em 24/02/2016, composta pelos Professores: Maria Rosângela Cunha Duarte Coêlho (Presidente da Banca), do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFPE; Nilma Cintra Leal, do Departamento de Microbiologia do CPqAM/FIOCRUZ; Líbia Cristina Rocha Vilela Moura, do Departamento de Medicina Tropical da UFPE. Após cumpridas as formalidades, a candidata foi convidada a discorrer sobre o conteúdo da Dissertação. Concluída a explanação, a candidata foi arguida pela Banca Examinadora que, em seguida, reuniu-se para deliberar e conceder à mesma a menção (Aprovada/Reprovada/Em exigência) Aprovada da referida Dissertação. E, para constar, lavrei a presente Ata que vai por mim assinada, Secretário de Pós-Graduação, e pelos membros da Banca Examinadora.

Recife, 29/02/2016.

### BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Maria Rosângela Cunha Duarte Coêlho

---

Profa. Dra. Nilma Cintra Leal

---

Profa. Dra. Líbia Cristina Rocha Vilela Moura

---



**Universidade Federal de Pernambuco**  
**Centro de Ciências da Saúde**  
**Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical**

**REITOR**

Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

**PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**

Francisco de Souza Ramos

**DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

Nicodemos Teles Pontes Filho

**COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
EM MEDICINA TROPICAL**

Valdênia Maria Oliveira de Souza

**VICE-COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
EM MEDICINA TROPICAL**

Vera Magalhães de Silveira

**CORPO DOCENTE**

Ana Catarina de Souza Lopes

Ana Lúcia Coutinho Domingues

Célia Maria Machado Barbosa de Castro

Edmundo Pessoa de Almeida Lopes Neto

Fábio André Brayner dos Santos

Heloísa Ramos Lacerda de Melo

Maria Amélia Vieira Maciel

Líbia Cristina Rocha Vilela Moura

Maria Rosângela Cunha Duarte Coelho

Marli Tenório Cordeiro

Rejane Pereira Neves

Ricardo Arraes de Alencar Ximenes

Valdênia Maria Oliveira de Souza

Vera Magalhães de Silveira

Vláudia Maria Assis Costa

Dedico,

Aos meus Pais, Zuleide e Otoniel pelo inesgotável amor.

Ao meu irmão Gustavo, por seu amor incondicional.

“ Há dois tipos de sabedoria: a inferior e a superior. A sabedoria inferior é dada pelo quanto uma pessoa sabe e a superior é dada pelo quanto ela tem consciência de que não sabe nada. Tenha sempre a sabedoria superior. Seja um eterno aprendiz na escola da vida. A sabedoria superior tolera, a inferior julga; a superior alivia, a inferior culpa; a superior perdoa, a inferior condena. Tem coisas que o coração só fala para quem sabe escutar.”

*Chico Xavier*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por tudo, sem Ele nada seria feito.

Á minha querida Orientadora e amiga Prof<sup>a</sup> Amélia pela força, pelos momentos de dedicação, pelos ensinamentos na construção deste trabalho, pela paciência e pela grande amizade.

Ao meu Co-orientador e grande amigo Paulo, pelos ensinamentos e dedicação durante essa trajetória, por sempre me incentivar, por suas palavras de apoio e por sempre confiar em mim.

Aos amigos “dos” laboratórios, sim.... pois, fiz parte de dois laboratórios maravilhosos. Agradeço a todos do Laboratório de Doenças Transmissíveis e todo o Departamento de Parasitologia do CPqAM, pela força, incentivos, pelo carinho e amizade de Elis, Walter, Patrícia, Leandro, Gabi, Mariana, Raissa, André, Almerice, Zulma, Luiz e a toda equipe do LDT- CPqAM.

E ao Laboratório de Microbiologia do Centro de Ciências da Saúde – CCS da UFPE, pela grande amizade que foi construída e pelo apoio de todos em me receber com tanto carinho, doando um pouco do seu tempo a fornecer um pouquinho de conhecimento a “novata” do lab. Agradeço a todos, que abriram as portas para mim, a Prof<sup>a</sup> Ana que me acolheu com muito carinho, principalmente no estágio docência (ahh... o que falar daquelas aulas maravilhosas.... adorei poder sentir um pouquinho do que é lecionar....), a toda a equipe dos curicas, Jussy, Marcelle, Stephanie, Lilian, Armando, Jailton, Valdemir. A Jussara pela sua agradável companhia, nos dando sempre o prazer do seu admirável tempero e das suas conversas na copa. E a minha querida amiga Elza... amiga de sala de aula, de laboratório e para vida inteira.... E ao aluno Celso, pelo seu grande desempenho e dedicação nesse projeto, pessoa admirável.

A minha amiga Prof<sup>a</sup> Janaina do Departamento de Parasitologia do CCS, pessoa maravilhosa.

Ao meu amigo Maximiliano por ter contribuído com o desenvolvimento desse estudo, e pelo enorme carinho e apoio retribuído.

Aos grandes amigos que fiz no DIP no Hospital das Clínicas, a Roque que me ajudou muito... agradeço infinitamente, e por ser essa pessoa maravilhosa que és. A Rosangela pelo apoio,

carinho e amizade, com esse sorriso sempre no rosto encantando a todos. A Cleuma, pela enorme ajuda e pelo carinho, pessoa tão generosa com todos. Ao seu Edgar... sempre com uma balinha para me oferecer, aquelas coletas seriam tão enfadonhas se não fosse a sua companhia... uma pessoa admirável. Agradeço ao DIP pelo acolhimento, pela confiança e pela amizade que levo para sempre.

Aos pacientes do serviço de Doenças Infecciosas e Parasitárias do hospital das clínicas que participaram desse estudo, deixo minha gratidão.

Á Geyson, pelo apoio, força e seu carinho ....

Á minha família sempre presente não só nesta jornada como em todos os momentos da minha caminhada, mostrando o melhor caminho a seguir.

Á meus pais que são exemplos de coragem, determinação que me inspira e pela confiança que depositam em mim, pela motivação nos momentos mais difíceis, pelo apoio e força para que eu continue sempre. A minha tia Consuelo e minha vó pela grande força e incentivo para que eu sempre lute pelos meus objetivos. Ao meu grande irmão que por acreditar que posso ir sempre mais além.

Agradeço a todos que de alguma forma, contribuíram não só para a realização deste trabalho, como também para a minha formação pessoal e profissional. Muito obrigada a todos.

## RESUMO

**SOARES, C.R.P.** Prevalência da colonização nasal por *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina em pacientes ambulatoriais vivendo com HIV/aids de hospital terciário no estado de Pernambuco-Brasil. 91 f. Dissertação de Mestrado Universidade Federal de Pernambuco – Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós Graduação em Medicina Tropical, Recife, Pernambuco.

*Staphylococcus aureus* é um dos microrganismos mais comuns em infecções patogênicas no mundo, tornando-se de grande importância hospitalar e comunitária. Pessoas vivendo com HIV/aids (PVHA) são mais susceptíveis de serem colonizados por *Staphylococcus aureus* resistente á meticilina (MRSA). *S. aureus* pode adquirir resistência a antimicrobianos, devido à presença de genes de vários tipos contidos no cassete cromossômico estafilocócico - *mec* (SCCmec) conferindo resistência a diversos antibióticos. A investigação da colonização por MRSA foi realizada através do isolamento de amostras oriundas de secreção nasal e posteriormente screening de oxacilina combinado a reação de PCR convencional para investigação do gene *mecA*. Foram entrevistados no estudo 500 PVHA ambulatoriais do hospital terciário. Aproximadamente 95% fazia uso de terapia antirretroviral, sendo que 89,3% destes apresentavam contagem de células CD4 >200 e 73,4% com carga viral ≤100 cópias. A maioria foi do sexo masculino (64,4%), com média etária de 41,5 anos e se declararam de cor parda (54,7%). Exposição a antimicrobianos nos últimos 12 meses foi encontrado em 27,4% dos indivíduos e 25,1% relataram uso de drogas ilícitas ao menos uma vez na vida. Colonização nasal por *S. aureus* foi encontrada em 31,4% (157/500) da totalidade dos indivíduos estudados, nos quais, 14% (22/157) foram MRSA. A colonização foi maior nos indivíduos acima de 40 anos, entre os que relataram uso de drogas ilícitas ao menos uma vez na vida, nos que não havia registro de exposição prévia a antimicrobianos nos últimos 12 meses, porém, não foi encontrada nenhuma associação de MRSA com as variáveis estudadas. A colonização de MRSA, embora alta, não foi associado com as variáveis estudadas para fator de risco em PVHA. O perfil antimicrobiano mostra alta resistência aos antibióticos mais utilizados para profilaxia e tratamento por infecções bacterianas. Esse estudo pode contribuir para orientar na vigilância e conduta terapêutica entre as PVHA.

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus*, MRSA, CA-MRSA, HIV, PVHA, *mecA*.

## ABSTRACT

**SOARES, C.R.P.** Prevalence of nasal colonization by methicillin-resistant staphylococcus aureus in outpatients living with HIV/aids tertiary hospital in the state of Pernambuco, Brazil. 91 f. Dissertation, Federal University of Pernambuco Center of Medical Sciences Saude. Postgraduate Program in Tropical Medicine. Recife. Pernambuco.

*Staphylococcus aureus* is one of the most common pathogenic microorganisms in infections in the world, making it of great importance hospital and community. People living with HIV/aids (PVHA) are more likely to be colonized with *Staphylococcus aureus* resistant to methicillin (MRSA). *S. aureus* may acquire resistance to antibiotics due to the presence of various types of genes contained in the chromosomal staphylococcal cassette - *mec* (SCC*mec*) conferring resistance to various antibiotics. The investigation of MRSA colonization was carried out by isolating samples from nasal discharge and subsequently screening oxacillin combined with conventional PCR to investigate the *mecA* gene. They were interviewed in the study 500 outpatient PVHA tertiary hospital. Approximately 95% made use of antiretroviral therapy, and 89.3% of them had CD4 cell counts > 200 and 73.4% with viral load ≤100 copies. Most were male (64.4%) with a mean age of 41.5 years and declared mulatto (54.7%). antimicrobial exposure in the last 12 months was found in 27.4% of patients and 25.1% reported using illicit drugs at least once in life. nasal colonization by *S. aureus* was found in 31.4% (157/500) of all subjects studied, in which, 14% (22/157) were MRSA. The colonization was higher in individuals over 40 years among those who reported using illicit drugs at least once in life, in which there was no antimicrobial previous exposure record in the last 12 months, however, it found no MRSA association with the variables studied. Colonization of MRSA, although high, was not associated with the variables for risk factor for PVHA. The antimicrobial profile shows high resistance to antibiotics most commonly used for treatment and prevention of bacterial infections. This study may help guide surveillance and therapeutic management among PVHA.

**Keywords:** *Staphylococcus aureus*, MRSA, CA-MRSA, HIV, PVHA, *mecA*.

## LISTA DE FIGURAS

---

Figura 1. Cocos agrupados em cachos - <i>Staphylococcus aureus</i> .....	20
Figura 2: Estrutura do <i>Staphylococcus aureus</i> . .....	22
Figura 3: Distribuição de Pessoas vivendo com HIV/aids no Brasil, 2012.....	26
Figura 4: Taxa de incidência de AIDS/100.000 habitantes no Brasil (2003-2012).....	27
Figura 5: Fluxograma de procedimentos para isolamento e identificação de <i>S. aureus</i> .....	40
Figura 1: Produto de amplificação de PCR do gene <i>mecA</i> isolados de PVHA ambulatoriais migrado em gel de agarose 1%.....	61

## LISTA DE TABELAS

---

Tabela 1. Variável relacionada à frequência dos isolados <i>Staphylococcus aureus</i> .....	36
Tabela 2. Variáveis Biológicas .....	37
Tabela 3. Variáveis socioeconômicas .....	37
Tabela 4. Variáveis relacionadas ao HIV .....	38
Tabela 5. Variáveis relacionadas ao uso de antimicrobianos .....	38
Tabela 6: Variáveis de Hábitos .....	39
Tabela 7: Variáveis de Comorbidades .....	39
Tabela 1. Perfil de susceptibilidade antimicrobiana dos isolados de MRSA segundo classes antimicrobianas em PVHA atendidos no Serviço de DIP do HC/UFPE.....	61
Tabela 2. Prevalência da colonização nasal por <i>Staphylococcus aureus</i> e MRSA de PVHA atendidas no Serviço de DIP do HC/UFPE .....	62
Tabela 3. Associação da positividade de MRSA e MSSA segundo fatores biológicos e socioeconômicos das PVHA atendidas no Serviço de DIP do HC/UFPE.....	63
Tabela 4. Associação da positividade de MRSA E MSSA segundo fatores relacionados a hábitos e relacionados ao HIV das PVHA atendidas no Serviço de DIP do HC/UFPE.....	64
Tabela 5. Associação da positividade por <i>Staphylococcus aureus</i> segundo fatores relacionados a Comorbidades e co-infecções das PVHA atendidos em regime ambulatorial no Serviço de DIP do HC/UFPE .....	66

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

---

AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
AN	Ágar nutriente
AMH	Ágar Mueller-Hinton
ATB	Antimicrobiano
BHI	Brain Heart Infusion
CA-MRSA	Community-acquired Methicillin-Resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
CCS	Centro de Ciências da Saúde
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CPqAM	Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães
DIP	Doenças Infecciosas e Parasitárias
DNA	Ácido desoxirribonucleico
dNTP	Desoxirribonucleotídeos Fosfatados
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
ET	Toxinas esfoliativas
FDA	Food and Drug Administration
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
HC-UFPE	Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HSH	Homens que fazem Sexo com Homens
IPTMs	Infecções de pele e tecidos moles
MDR	Multidroga resistente
MgCl	Cloreto de Magnésio
MIC	Concentração Inibitória Mínima
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> Meticilina-Resistente
NaCl	Cloreto de sódio
NPT	Núcleo de Plataforma Tecnológica
Pb	Pares de bases
PBP	<i>Penicilin Binding Protein</i>
PBP2a	Penicilin Binding Protein 2a
PVHA	Pacientes vivendo com HIV/aids

MSSA	<i>Staphylococcus aureus</i> Meticilina-Sensível
PCR	Polymerase Chain Reaction
PVL	Leucocidina de Panton Valentine
RNA	Ácido ribonucleico
SDS	Dodecilsulfato de Sódio
SNC	Sistema Nervoso Central
SSCmec	<i>Staphylococcal cassette chromosome MEC</i>
TAE	Tampão Tris-Acetato-EDTA
TARV	Terapia Antirretroviral
TCLE	Termo de Consentimento Livre Esclarecido
UDI	Uso de drogas injetáveis
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
UV	Ultravioleta

## SUMÁRIO

---

1. Introdução .....	17
2. Revisão de literatura.....	20
2.1 Morfologia e estrutura dos <i>Staphylococcus aureus</i> .....	20
2.2 Fatores de virulência do <i>Staphylococcus aureus</i> .....	21
2.3 Patogenicidade e manifestações clínicas das infecções estafilocócicas.....	23
2.4 <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à metilina (MRSA) .....	23
2.5 HIV/aids .....	25
2.6 MRSA em pacientes HIV-positivo.....	27
2.7 Aspectos epidemiológicos de <i>S. aureus</i> .....	28
2.8 Detecção de MRSA .....	29
2.9 Tratamento e controle de infecções estafilocócicas .....	30
3. Objetivos .....	33
3.1 Objetivo geral .....	33
3.2 Objetivos específicos .....	33
4. Materiais e método .....	35
4.1 Desenho de estudo .....	35
4.2 Local de estudo .....	35
4.3 Período do estudo e caracterização do local do estudo .....	35
4.4 População de estudo .....	36
4.5 Tipo de amostragem e definição do tamanho da amostra .....	36
4.6 Critérios de inclusão e exclusão .....	36
5. Variáveis do estudo .....	36
5.1 Categorização e definição das variáveis de estudo .....	36
5.2 Técnicas empregadas para identificação do <i>S. aureus</i> .....	39
5.2.1 Isolamento e identificação do <i>Staphylococcus</i> .....	39
5.2.2 Suscetibilidade aos antimicrobianos .....	40

5.2.3 Teste de suscetibilidade a $\beta$ -lactamicos.....	41
5.2.4 Screening de Oxacilina .....	41
5.2.5 Screening de Vancomicina .....	42
5.2.6 Extração de DNA .....	42
5.2.7 Identificação de <i>mecA</i> através da PCR .....	43
5.2.8 Procedimento de Sequenciamento de DNA .....	43
5.2.9 Reação de sequenciamento e precipitação das amostras.....	44
6. Considerações éticas .....	44
7. Análise estatística .....	44
Resultados	
ARTIGO - Prevalência da colonização nasal por <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina em pacientes ambulatoriais vivendo com HIV/aids de hospital terciário no estado de Pernambuco-Brasil .....	46
8. Conclusões .....	68
9. Considerações Finais .....	69
10. Perspectivas .....	71
Referências .....	73
Apêndices .....	82
Apêndice 1 – Aprovação do Comitê de Ética .....	82
Apêndice 2 – Carta de Anuência .....	84
Apêndice 3 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido .....	85
Anexos .....	87
Questionário de Pesquisa .....	87



## 1. INTRODUÇÃO

*Staphylococcus aureus* é um patógeno responsável por uma grande variedade de infecções, desde as mais leves, como as superficiais de pele e partes moles, até as mais graves envolvendo elevada morbidade e mortalidade, como a infecção de corrente sanguínea, endocardite, osteomielite, meningite e pneumonia (CAVALCANTI, 2005; GELATTI et al, 2009).

A epidemiologia do *S. aureus* resistente à meticilina tem sofrido mudanças nas últimas décadas em várias regiões do mundo (MEIJÁ et al, 2010). *Staphylococcus aureus* Meticilina-Resistente (MRSA) foi por muito tempo considerado um patógeno restrito a ambiente hospitalar e emergiu como importante causa de infecções entre indivíduos fora do hospital. A prevalência da colonização por *S. aureus* varia de acordo com a população estudada. Pessoas vivendo com HIV/AIDS (PVHA) apresentam altas taxas de colonização por *S. aureus*. A colonização de MRSA pode variar de zero a 17% em pacientes portadores de infecção por HIV ambulatoriais e de 17% a 31% em pacientes internados (Hidron et al, 2010). A infecção por HIV tem sido identificada como um fator de risco independente para a determinação da colonização de MRSA (Hidron et al, 2005; Miller et al, 2007).

Há uma divergência nas prevalências por MRSA encontradas em várias regiões do mundo, havendo escassos estudos sobre essa prevalência no Brasil. Em Taiwan, a prevalência da colonização nasal por MRSA em PVHA foi de 6% (MCDONALD, et al. 2003). Essa prevalência de MRSA foi semelhante no Irã (5,3%) (ASKARIAN et al, 2009). Na Europa a prevalência de MRSA é baixa, alguns estudos mostram que MRSA varia de 1% a 2% na Espanha (IMAZ et al, 2010) e de 2,8% na Itália (Olivia et al, 2013). Em Nova York a prevalência foi de 16% (SHET, et al. 2009). Em contrapartida, em Carolina do sul, nos Estados Unidos, a prevalência foi de 8% (RAMSETTY et al., 2010). No estado de São Paulo, Brasil, a prevalência da colonização nasal por MRSA foi de 21,7% em PVHA (REINATO, et al., 2013). Essa discrepância na prevalência no Brasil pode ter ocorrido pelo baixo tamanho da amostra no estudo em relação aos demais. Essa diferença nas prevalências entre as regiões pode estar relacionada à variabilidade dos fatores de risco em diferentes populações.

Shet e colaboradores (2009) demonstraram que o uso prévio de antibióticos está associado com colonização por MRSA em PVHA, por outro lado, a contagem de células T CD4<sup>+</sup>, a carga viral do HIV ou tratamento com antirretrovirais não tiveram associação. Cenizal e colaboradores (2008) encontraram associação da contagem de células CD4 com

MRSA em PVHA, porém, não encontraram entre o uso prévio de antimicrobianos. Em contrapartida, o uso prévio de antibióticos e a contagem de CD4 foram fatores de risco significativos para a colonização ou infecção por MRSA, enquanto que o uso de antirretrovirais atuou como fator de proteção (RAMSETTY, et al. 2010). Portanto, alguns estudos demonstraram divergências para a associação dos fatores de risco relacionados à colonização nasal por MRSA em PVHA, esse fator pode variar dependendo das drogas envolvidas e da resistência encontrada.

Cenizal e colaboradores (2008) demonstraram que apenas um isolado foi resistente ao sulfametoxazol-trimetoprim. Ao contrário do padrão de resistência encontrado por Gus e colaboradores (2009) no qual a maioria dos isolados apresentou resistência tanto aos  $\beta$ -lactâmicos como a outras classes de antibióticos. Essa heterogeneidade na resistência aos antibióticos pode estar relacionada à presença de genes de resistência, podendo também estar relacionada aos diversos tipos de elementos genéticos de cassetes cromossômicos (*SCCmec*) (GARCIA-ALVAREZ et al, 2011). O gene *mecA* é o mais encontrado em cepas de MRSA, sua presença foi detectada em todos os isolados de um estudo realizado no Iran (ASKARIAN, 2009). Cenizal e colaboradores, (2008), observaram que 12 dos 15 isolados de MRSA testados eram do tipo *SCCmec* IV enquanto 1 isolado era tipo I e 2 eram do tipo II, em um estudo realizado em Dallas no Texas.

Diante disto, o presente estudo objetivou descrever a prevalência da colonização por *Staphylococcus aureus* resistente à metilina em PVHA e a associação entre variáveis relacionadas ao HIV (contagem de CD4, carga viral e uso de antirretrovirais) e o uso de antimicrobianos. Além disso, analisou o perfil de suscetibilidade antimicrobiana e a presença do gene de resistência *mecA*. O estudo poderá motivar a busca pela identificação das PVHA, colonizadas por MRSA, promovendo a vigilância destes patógenos, visando o tratamento correto naqueles que venham a apresentar síndromes infecciosas.

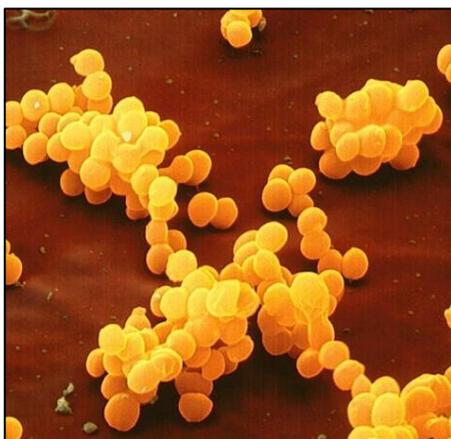


## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Morfologia e estruturas dos *S. aureus*

*Staphylococcus* são membros da família Micrococcaceae, gram-positivos não esporulantes, láticos pela sua capacidade de fermentar muitos carboidratos produzindo assim ácido láctico. São organismos aeróbios facultativos, produzem ácidos a partir da fermentação da glicose aeróbica ou anaerobicamente. Todos são catalase positivos, permitindo sua diferenciação dos outros gêneros de cocos gram-positivos e dos *Streptococcus*. Apresentam uma alta capacidade de crescer em meios com alto teor de sal e são tolerantes ao dessecação (MADIGAN et al, 2010). São bactérias esféricas, suas colônias são chamadas de cocos, apresentam uma cor amarelo-dourado e se arranjam em agrupamento de cachos (Figura 1). O gênero *Staphylococcus* possui cerca de 41 espécies, das quais as mais frequentes *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus saprophyticus* são encontrados em seres humanos (MADIGAN, et al, 2010). O genoma estafilocócico consiste de um cromossomo circular podendo apresentar 2800pb, com prófases, plasmídeos, transposons, genes de virulência e de resistência aos antibióticos. Estes genes são transferidos entre as linhagens intra e interespecíes de *Staphylococcus* através de elementos extracromossômicos (FRANKLIN, et al. 1998).

Figura 1. Cocos agrupados em cachos - *Staphylococcus aureus*.



Disponível em [www.siddharthajoshi.com201103staphylococcus-aureus.html](http://www.siddharthajoshi.com201103staphylococcus-aureus.html), acesso 27/11/2014.

## 2.2 Fatores de Virulência do *Staphylococcus aureus*

Os componentes da célula bacteriana como as cápsulas, as membranas extracelulares e os componentes da parede celular juntamente com suas toxinas atuam como fatores de virulência (Figura 2). As exotoxinas (toxinas esfoliativas - ETs), toxinas da síndrome do choque tóxico, as enterotoxinas, Leucocidinas e hemolisinas ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ) são responsáveis pelo alto grau de patogenicidade (DINGES, et al. 2000).

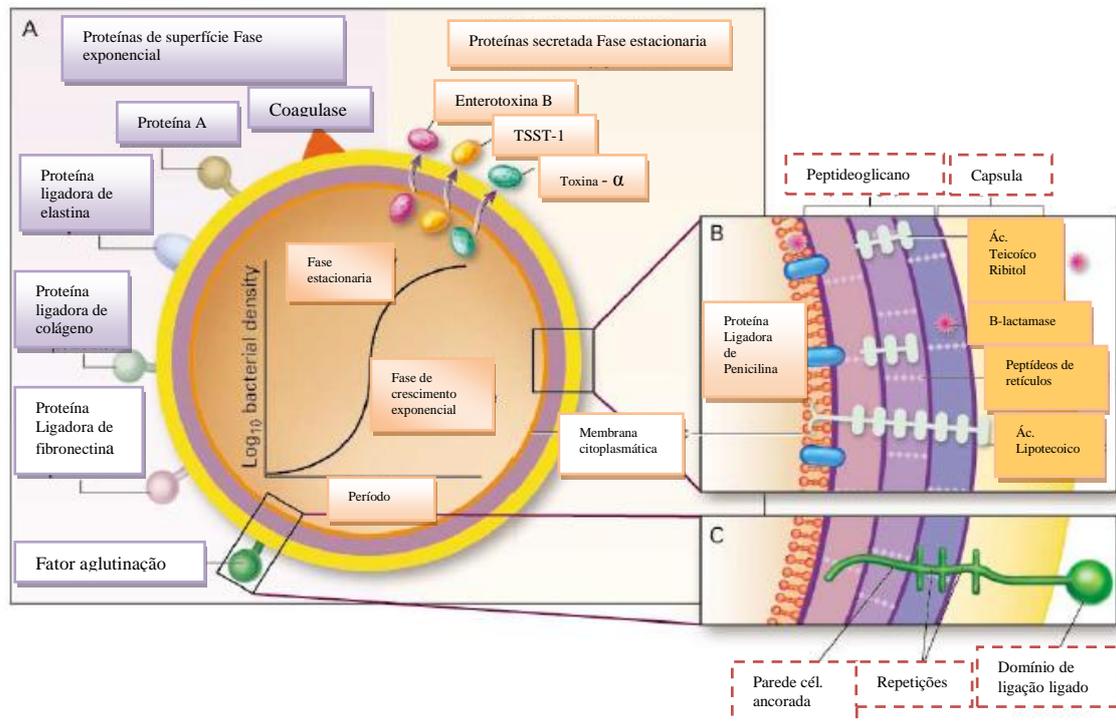
Entre as leucocidinas a Leucocidina de Pantón Valentine (PVL) é uma proteína extracelular constituída de duas subunidades, "Luk F" e "Luk S" com ação de acordo com a função leucocidal e dermonecrótica. A toxina PVL atua na membrana externa da célula polimorfonuclear, nos monócitos e macrófagos. A leucocidina promove a destruição das células do hospedeiro, sendo um dos fatores principais para a formação de pus (Koneman et al, 2008).

As exotoxinas são proteínas tóxicas liberadas pela célula. Dentre elas, as toxinas citolíticas, que são hemolisinas, Essa substância é liberada durante o crescimento da bactéria, desencadeando lise das hemácias e liberando hemoglobina (Figura 2). Esse efeito é facilmente demonstrado numa placa de meio Ágar sangue, com sangue de carneiro desfibrinado estéril, formando assim um halo, uma zona de clareamento que evidencia a hemólise (Koneman et al, 2008).

E as  $\alpha$ -toxinas que desencadeiam um processo que causa a morte das células nucleadas e a lise de eritrócitos. As subunidades da  $\alpha$ -toxina ligam-se na bicamada lipídica, cada subunidade se liga formando um oligômero, um poro da  $\alpha$ -toxina, e através deste poro a célula libera todo o conteúdo para o meio extracelular e permite o efluxo de substâncias extracelulares para dentro da célula, isso acarreta lise celular ou hemólise dos eritrócitos (MADIGAN et al, 2010).

As enterotoxinas estafilocócicas, a proteína A, a toxina da síndrome do choque tóxico e a toxina esfoliativa estão relacionadas com a evasão na resposta imunológica do hospedeiro. A proteína A tem capacidade para se ligar à porção Fc da imunoglobulina G, contribuindo para a liberação de histamina, reação de hipersensibilidade e lesão plaquetária. As enterotoxinas (A, B, C, D, E) são responsáveis pela intoxicação alimentar provocando uma reação nas células T e liberação de citocinas. A toxina da síndrome do choque tóxico corresponde ao antígeno liberado pelos estafilococos durante a fase de crescimento, sendo causa de erupção cutânea descamativa e a toxina esfoliativa causa eritema cutâneo como a síndrome da pele escaldada (VELÁZQUEZ-MEZA, 2005).

Figura 2: Estrutura celular do *Staphylococcus aureus*.



Fonte: Franklin, et al. 1998, The New England Journal of Medicine, Adaptado.

As infecções podem ser decorrentes da bacteremia ou devido às toxinas produzidas pelo *S. aureus*. Porém, a produção de toxinas não quer dizer que está relacionada com a resistência. Sina e colaboradores (2013) afirmam que a produção de toxinas foi duas vezes maior em MSSA do que nas cepas MRSA.

As enzimas como as  $\beta$ -lactamases e hialuronidase estão agregadas ao mecanismo de patogenicidade (BRAUNWALD et al, 2002). As  $\beta$ -lactamases são enzimas que inativam as penicilinas, através da abertura do anel  $\beta$ -lactâmico, hidrolizando e tornando-o inativo. A hialuronidase, uma enzima que dissolve o ácido hialurônico em tecidos conectivos, contribui para a propagação do microorganismo (MADIGAN et al, 2010).

A coagulase pode ser liberada por dois mecanismos, pela ação de uma adesina, a coagulase ligada, quando a proteína de ligação se liga ao fibrinogênio na superfície podendo converter diretamente fibrinogênio em fibrina insolúvel, sem ação enzimática, causando os grumos. E outro mecanismo se dá pela coagulase livre, ocorre pela ação da exoenzima livre que causa ativação específica da trombina plasmática, convertendo fibrinogênio em fibrina. (Koneman et al, 2008)

Esse processo resulta no acúmulo de fibrina ao redor das células bacterianas, dificultando a passagem dos agentes de defesa do hospedeiro contra esses patógenos, impedindo sua fagocitose.

### 2.3 Patogenicidade e manifestações clínicas das infecções estafilocócicas

*S. aureus* é uma das bactérias patogênicas mais importantes gram-positivas, devido à ampla gama de infecções que ela pode causar, variando desde infecções localizadas até as disseminadas com elevada gravidade. São comumente encontrados na pele, garganta, nas fossas nasais, na vagina e intestino de indivíduos saudáveis, pois fazem parte da nossa microbiota (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008). As fossas nasais possuem maior índice de colonização cuja frequência é cerca de 80% na população adulta (KLUYTMANS, et. al. 1997).

As infecções causadas pelo *S. aureus* podem ser cutâneas e subcutâneas como foliculite, impetigo e celulite até infecções mais graves incluindo pneumonia, meningite, endocardite, osteomielite e formação de abscessos metastáticos em particular nos pulmões, fígado, rins e cérebro (GELATTI, et al, 2009). Além de causar infecções na pele e em tecidos moles, *S. aureus* é um dos principais causadores de peritonite em pacientes submetidos à diálise peritoneal contínua. A meningite por *S. aureus* também pode se manifestar em pacientes com alterações no sistema nervoso central (SNC), traumatismo craniano e hidrocefalia. *S. aureus* é um importante agente causador de pneumonias no ambiente hospitalar, sendo frequente em portadores de doença pulmonar obstrutiva crônica e indivíduos em assistência ventilatória mecânica (CAVALCANTI, et. al. 2005).

### 2.4 *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA)

Infecções causadas por *S. aureus* foram por muito tempo controladas com o advento dos antimicrobianos, mas a capacidade de adaptação e o mecanismo de resistência causa grande preocupação em infecções relacionadas a ambiente hospitalar e de comunidade. No início da década de 1930 surgiu a sulfanilamida e logo surgiram cepas de *S. aureus* que adquiriram resistência. Com a entrada da penicilina, as cepas passaram a desenvolver resistência aos β-lactâmicos pela produção de betalactamase, uma enzima capaz de hidrolisar o anel β-lactâmico. Em 1960 surge a penicilina semi-sintética denominada meticilina, em seguida, na década de 1970 surgiram as cefalosporinas, porém, logo começaram a surgir cepas resistentes à meticilina identificadas como MRSA (MOELLERING, 2012).

O mecanismo de resistência à meticilina se deve a uma mutação genética, gerando assim uma alteração no sítio de ação do antibiótico ou pela transferência de genes resistentes através de plasmídeos e transposons (LIMA, et al. 2005). O grau de resistência é devido a presença de gene cromossômico *mecA*, responsável pela síntese de proteínas de ligação a penicilina (PBP), dentre as PBP1, PBP2, PBP3, PBP4, estão a transpeptidase e a carboxipeptidase responsáveis pela síntese da parede celular bacteriana, sendo alvo para todos os  $\beta$ -lactâmicos, desta forma, o mecanismo de resistência a meticilina e a outros  $\beta$ -lactâmicos está relacionado com a síntese da proteína de ligação alterada, chamada PBP2a (CAVALCANTI, et al. 2005).

As PBPs2a são codificadas pelo gene *mecA*, que pertence a uma ilha genômica de resistência chamada SCCmec (cassete cromossômico estafilococal mec). Atualmente, 11 tipos de SCCmec (I-XI) e numerosos subtipos foram reconhecidos em MRSA (IWG-SCC, 2009; GARCIA-ALVAREZ et al, 2011), os tipos IV e V podem ser encontrados em cepas *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina adquirido na comunidade (CA-MRSA), embora já tenha sido encontrado esse tipo IV em isolados de ambiente nosocomial principalmente na Europa. O SCCmec tipo IV confere resistência apenas a antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, enquanto que o SCCmec tipo I, II, e III possuem genes de resistência a mais de um tipo de antibiótico (LOPES, et al. 2005).

Outros genes podem estar contidos nessas ilhas. Além do gene *mecA*, também pode ser encontrado o gene *mecC* (um novo homólogo *mecA* divergente). O gene *mecC* localizado na SCCmec tipo XI descrito em *S. aureus* foi identificado em cepas de MRSA de seres humanos e de gado (GARCIA-ALVAREZ et al, 2011; GÓMEZ et al, 2014). Alguns elementos reguladores controlam a transcrição do *mecA*, são eles: *mecI* e *mecRI*. O gene *mecRI* codifica um indutor transmembrana do *mecA* constituído de um domínio transmembrana. O gene *mecI* codifica um forte repressor do *mecA*. Os genes *mecRI* e *mecI* possuem alto grau de homologia com os genes *blaR1* e *blaI*, que regulam a produção de  $\beta$ -lactamases (HIRAMATSU et al, 1996).

Outros genes estafilocócicos incluindo o *fem* e o *bla* afetam a expressão de resistência (FRANKLIN, 1998), os genes *femA* e *femB* codificam proteínas que afetam consideravelmente o nível de resistência à meticilina em *S. aureus* e estão contidos no operon cromossômico *femAB* encontrado em todas as cepas de *Staphylococcus*, codificando proteínas citoplasmáticas, cujo genes estão envolvidos na formação da cadeia da pentaglicina ligada a L-lisina da haste peptídica do peptideoglicano, observada na parede celular de *Staphylococcus aureus* (MOUSSALLEM, et al. 2007).

Quase todos os isolados CA-MRSA contêm genes compostos por duas subunidades LukF-PV e LukS-PV que codificam Leucocidina de Panton Valentine (PVL), uma toxina capaz de induzir a necrose dos tecidos e a destruição dos leucócitos, causando desta forma lesões graves na pele ou nas mucosas. Os MRSA, assim como os MSSA são organismos heterogêneos capazes de produzir toxinas extracelulares, aumentando sua habilidade de invadir o corpo e danificar os tecidos, podendo causar infecções graves (IMAZ et al. 2010).

## 2.5 HIV/aids

Em 2014, havia 36,9 milhões de pessoas vivendo com HIV. Dois milhões de pessoas que foram infectadas por HIV e 1,2 milhões de pessoas morreram de doenças relacionadas à aids em todo o mundo em comparação com 2 milhões em 2005. Cerca de aproximadamente 15,8 milhões de pessoas têm acesso a terapia antirretroviral. A África Subsaariana é a mais afetada, com quase 1 em cada 20 adultos (4,9%) que vivem com HIV, correspondente a 66% das pessoas que vivem com HIV em todo o mundo. Em 2014, havia 25,8 milhões de pessoas vivendo com HIV na África Subsaariana, no qual, as mulheres representam mais de metade do número total de pessoas vivendo com HIV. A incidência de infecção pelo HIV entre adultos caiu mais de 30% no mundo. Cerca de 19 milhões dos 35 milhões de pessoas que vivem com o HIV não sabem que têm o vírus. Em todas as regiões do mundo, três ou quatro países carregam o fardo da epidemia (Figura 3). Na África Subsaariana, apenas três países Nigéria, África do Sul e Uganda são responsáveis por 48% de todas as novas infecções pelo HIV (UNAIDS, 2014).

No Oriente Médio e Norte da África havia cerca de 240.000 pessoas vivendo com o HIV, com estimativa de 22.000 novos casos. Novas infecções por HIV aumentaram 26% na região entre 2000 e 2014.

Em 2014, houve 5.000.000 de pessoas vivendo com HIV na Ásia e no Pacífico. Em 2014, havia uma estimativa de 340 000 novas infecções por HIV na região. Na Europa Oriental e Ásia Central, havia 1,5 milhões de pessoas vivendo com HIV, com uma estimativa de 140.000 novas infecções por HIV. Já na Europa Ocidental e Central e América do Norte haviam cerca de 2,4 milhões de pessoas que vivem com o HIV, com uma estimativa de 85.000 novos casos, sendo os Estados Unidos o responsável por mais de metade das novas infecções por HIV na região (UNAIDS, 2014).

Na América Latina havia 1,7 milhões de pessoas vivendo com HIV aids, sendo estimado 87.000 novas infecções por HIV, embora novas infecções por HIV tenha diminuído

17% entre 2000 e 2014. O número de mortes relacionadas com a aids nessa região caiu em 29% entre 2005 e 2014 (UNAIDS, 2014).

No Brasil a epidemia de HIV é considerada estável, baseada na taxa de detecção constante de cerca de 20 pessoas recentemente infectadas por 100 000 habitantes durante os últimos cinco anos. No entanto, a incidência varia entre os estados (UNAIDS, 2014). Estima-se que aproximadamente 718 mil indivíduos vivam com o HIV/aids no Brasil, o que representa uma taxa de prevalência de 0,4% na população em geral, dos quais em torno de 80% (574 mil) tenham sido diagnosticados. Aproximadamente 74% (531 mil) dos indivíduos infectados foram vinculados aos serviços de saúde e estão monitorando sua infecção por meio de exames laboratoriais (CD4 e carga viral), ou estão em terapia antirretroviral (TARV). De acordo com a Figura 3, 130 municípios de grande porte concentram 70% das PVHA vinculadas aos serviços públicos de saúde, em 2012 (BRASIL, 2013).

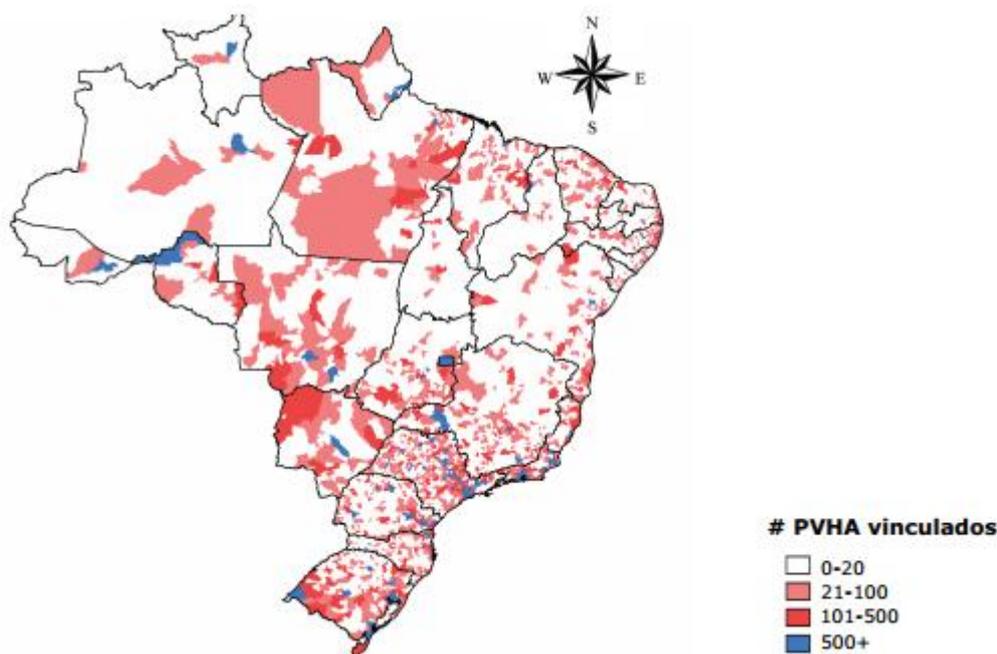


Figura 3: Distribuição de Pessoas vivendo com HIV/aids no Brasil, 2012

Em 2012, 313 mil indivíduos estavam em TARV, representando 44% das PVHA. O número de pessoas em TARV mais do que dobrou nos últimos 10 anos, passando de 125 mil em 2002 para 313 mil em 2012 (BRASIL, 2013).

Segundo estimativas realizadas pelo Departamento de DST, Aids e hepatites virais aproximadamente 718 mil pessoas vivem com HIV/aids no Brasil. Na população jovem, a taxa de prevalência da infecção pelo HIV apresenta tendência de aumento, sendo que o aumento mais significativo ocorreu na população de homens que fazem sexo com homens

(HSH) jovens, cuja prevalência subiu de 0,56% em 2002 para 1,2% em 2007. Com relação aos grupos populacionais maiores de 18 anos em situação de maior vulnerabilidade, estudos realizados em 10 municípios brasileiros entre 2008 e 2009 estimaram taxas de prevalência de HIV de 5,9% entre usuários de drogas, de 10,5% entre HSH e de 4,9% entre mulheres profissionais do sexo. Com base nesses resultados, verifica-se que a epidemia do HIV no Brasil está concentrada em populações em situação de maior risco e vulnerabilidade, pois estas apresentam maiores prevalências de infecção pelo HIV quando comparadas à população geral (UNAIDS, 2014).

No ano de 2012, foram notificados 39.185 casos de Aids no Brasil. Este valor vem mantendo-se estável nos últimos 5 anos. A taxa de detecção nacional foi de 20,2 casos para cada 100.000 habitantes. A maior taxa de detecção foi observada na Região Sul, 30,9/100.000 habitantes, seguida pela Região Norte (21,0), Região Sudeste (20,1), Região Centro-Oeste (19,5), e Região Nordeste (Figura 4) (Brasil, 2013).

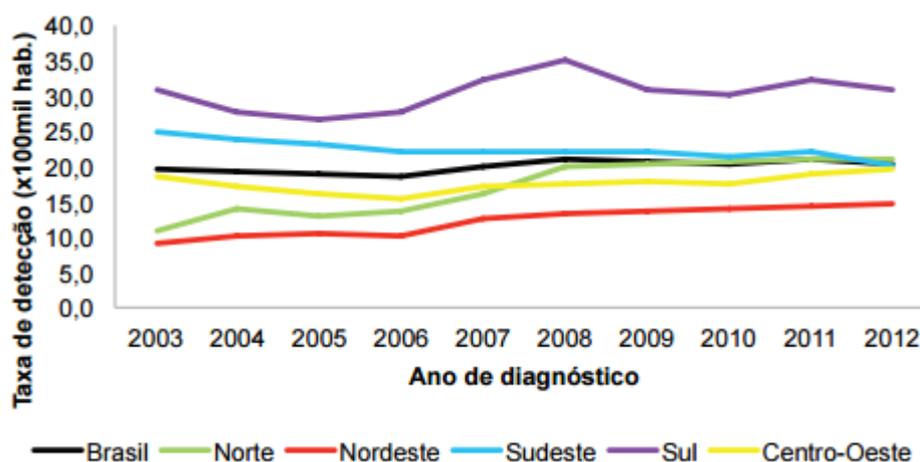


Figura 4: Taxa de incidência de Aids/100.000 habitantes no Brasil (2003-2012). Fonte: MS/SVS/Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. \*Casos notificados no SINAN e registrados no SISCEL/SICLOM e declarados no SIM de 2003 a 2012.

## 2.6 MRSA em Pessoas Vivendo com HIV/aids

A colonização por MRSA apresenta um risco considerável para infecção entre pacientes imunocomprometidos. Indivíduos com HIV/aids são mais susceptíveis de ser colonizados pelo MRSA comparado à população de HIV-negativo (LEE, et al. 2013 e POPOVICH et al. 2010). Indivíduos infectados com HIV têm maior risco de adquirir infecções por MRSA, por apresentar o sistema imunológico debilitado, apresentando baixa

contagem de células T CD4<sup>+</sup> (POPOVICH, 2010), com isso aumenta a probabilidade de adquirir infecções causadas por microrganismos que poderia ser incapaz de causar doenças em indivíduos saudáveis.

A taxa de colonização nasal por MRSA e MSSA em pacientes HIV positivos foi de 30% em Taiwan (MCDONALD et al. 2003). Em Dallas no Texas a prevalência foi de 10,3% (CENIZAL et al. 2008). No Brasil, a prevalência de MRSA foi maior (21,7%) (REINATO, et al. 2013) em comparação com outros estudos.

## 2.7 Aspectos epidemiológicos de *S. aureus*

Infecções por *S. aureus* está aumentando mundialmente. Essas infecções se tornam mais graves quando relacionadas a fatores de risco, principalmente em ambientes hospitalares que apresentem vários dispositivos endovenosos ou que estejam associados à internação em Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Nesses casos a maioria dos isolados de *S. aureus* são resistentes à meticilina, o que favorece o aumento da morbidade e da mortalidade (BOUCHER et al, 2008).

A epidemiologia do MRSA está em constante mudança, uma vez que os clones circulantes e o perfil de resistência a antibióticos variam dependendo da região. Nos EUA e na Europa mais de 50% dos isolados demonstram resistência à meticilina, já na América Latina, ainda não há informações concretas sobre MRSA, muitas infecções adquiridas em hospitais podem ser derivadas de cepas CA-MRSA adquiridas na comunidade podem trazer fatores de risco associados aos serviços de saúde. O primeiro relato de MRSA adquirido em uma comunidade na América Latina teve origem no Uruguai, em 2001 (GALIANA, 2003).

A prevalência de CA-MRSA vem aumentando. Um estudo de coorte nos Estados Unidos em pacientes com HIV de 1993 a 2005 mostra que 7% desenvolveram infecções por CA-MRSA (CLUM-CIANFLONE et al, 2009). Outros estudos relatam que a incidência de infecções por CA-MRSA em pacientes com HIV é significativamente maior do que na população geral (IMAZ, et al, 2010) apresentando seis vezes maior colonização do que em pacientes HIV-negativo (POPOVICH, et al. 2010). E 7% dos indivíduos com infecções por MRSA desenvolveram infecções de pele e tecido mole (CRUM-CIAFLONE et al, 2009).

A incidência e os riscos para a colonização de *S. aureus* está relacionado a vários fatores como a imunossupressão, comorbidades e hábitos comportamentais de vida, tais como o uso de drogas ilícitas, comportamento sexual de alto risco (CRUM-CIANFLONE et al, 2015). Fatores associados à colonização de CA-MRSA podem incluir, a localização

residência, comportamento sexual e encarceração (POPOVICH et al 2010, DIEP et al, 2008 e MILLER et al, 2007).

## 2.8 Detecção de MRSA

A identificação de MRSA ou MSSA pode ser feita pelo isolamento e a identificação da bactéria em amostras biológicas, através de métodos fenotípicos e genéticos. Os testes mais utilizados para identificação de *Staphylococcus* são a catalase, DNase, coagulase e Staphclin. O perfil de suscetibilidade antimicrobiana é analisado para verificar o grau de resistência da bactéria de acordo com os antibióticos testados. Os métodos mais frequentes são: difusão de disco e método E-test (OPLUSTIL, 2004).

O método disco de difusão utiliza discos de papel de filtro impregnados com concentração padronizada do antibiótico que são colocadas sobre uma placa de Ágar Muller-Hinton, previamente semeada com o inóculo microbiano.

O E-test é um teste de gradiente de difusão no qual utiliza uma tira de plástico não-poroso calibrada com valores de concentração inibitória mínima (MIC) que cobrem 15 diluições dobradas. Um gradiente antibiótico previamente definido é imobilizado na superfície da tira que é oposta à escala de MIC quando transferido para a placa e o antibiótico se difunde a partir da tira (OPLUSTIL, 2004).

Métodos mais sensíveis e específicos podem ser explorados, para a detecção da resistência à metilina através da presença do gene *mecA* a partir de sequências do DNA, para isso é recomendada a Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) que permite sintetizar em poucas horas *in vitro* grandes quantidades de um determinado fragmento de DNA, tendo trazido um enorme progresso ao diagnóstico de doenças e outras áreas afins (RODRIGUES et al., 2006).

Esta técnica permite a amplificação de sequências de DNA através de sucessivos ciclos, podendo variar de 30 a 40 ciclos, cada ciclo envolve as etapas de desnaturação, anelamento e extensão. A desnaturação consiste na separação da dupla fita de DNA através de elevadas temperaturas que pode variar entre 90/95°C para quebrar as ligações de pontes de hidrogênio que unem as bases nitrogenadas. A partir desta etapa o par de iniciadores poderá se anelar em cada uma das fitas de DNA, dando início a etapa de anelamento que se resume na união dos iniciadores as fitas simples, a uma temperatura que varia de 40/60°C dependendo do tamanho e da sequência dos iniciadores utilizados. A extensão é realizada usualmente na

temperatura de 72°C sendo essencial para o funcionamento da enzima polimerase termoestável, para sintetizar novas fitas de DNA (RODRIGUES et al, 2006).

## 2.9 Tratamento e controle de infecções estafilocócicas

O uso de agentes tópicos para eliminar a colonização estafilocócica em grupos de alto risco, tais como pacientes submetidos à hemodiálise ou cirurgia, tem sido bastante eficiente para reduzir a incidência de infecções subsequentes. A mupirocina, um agente tópico antimicrobiano antes muito utilizado, inibe a síntese de RNA e proteínas, eliminando colonização e reduzindo a incidência de infecções em feridas. Embora o desenvolvimento de resistência a mupirocina já tem sido relatado pelo uso prolongado do medicamento. A resistência a mupirocina é mediada pelo gene *mupA* (Hetem et al, 2016).

Os MRSA são resistentes não só à meticilina como também aos demais  $\beta$ -lactâmicos disponíveis, o uso excessivo e/ou o mau uso de antimicrobianos contribuem para aumentar a resistência. Tratar infecções nesses pacientes é um desafio, pelo fato deles já terem sido expostos a uma série de antibióticos e com isso podem adquirir resistência aos demais prescritos.

De acordo com o Centers for Disease Control and Prevention (CDC) as opções de tratamento mais comum para infecções de pele e tecidos moles (IPTMs) de MRSA são: clindamicina, tetraciclina (doxiciclina e minociclina), foram aprovados pela Food and Drug Administration (FDA) para o tratamento de infecções graves causadas por *S. aureus*. Tetraciclina (doxiciclina e minociclina), assim como a linezolida é uma opção para o tratamento de infecções mais complicadas causadas por MRSA. A rifampicina deve ser usada apenas em combinação com outros agentes antimicrobianos. As fluoroquinolonas e macrolídeos não são ideais para o tratamento de MRSA, devido à resistência ser muito comum ou desenvolver muito rápido. O CDC não recomenda o uso de Sulfametoxazol-trimetropim para tratar infecções estafilocócicas (CDC, 2007) embora continue sendo uma das drogas mais comuns para o tratamento de infecções de pele e partes moles devido ao MRSA, apesar da escassez de estudos sobre a eficácia deste fármaco. É importante manter um sistema de vigilância com relação a resistência deste antimicrobiano, pois o uso profilático pode selecionar cepas resistentes (KAKA et al, 2006).

Apenas para *S. aureus* resistente à meticilina. *S. aureus* sensíveis à penicilina também são suscetíveis a outros agentes  $\beta$ -lactâmicos. *Staphylococcus* resistentes à Oxacilina são resistentes a todos os  $\beta$ -lactâmicos agentes antimicrobianos disponíveis atualmente, com a

exceção das cefalosporinas mais recentes com atividade anti-MRSA. A daptomicina não deve ser aplicado para terapia em isolados do trato respiratório (CDC, 2007).

A colonização do *S. aureus* em pacientes HIV infectados causa grande preocupação à saúde pública, pois infecções causadas por essas bactérias têm sido causa de morbidade e mortalidade em PVHA. Embora a *S. aureus* resistente à meticilina seja encontrada em todo o mundo, principalmente em áreas de assistência médica, ainda é extremamente escasso estudos sobre colonização por MRSA, empregando metodologia molecular para identificação de genes de resistência, associados à pacientes com HIV no Brasil. Portanto, é imprescindível identificar os casos de colonização por MRSA, para que possa encaminhar a uma conduta profilática, reduzindo assim os riscos de infecções por *S. aureus* ou por MRSA, uma vez que o índice de colonização/infecção por HA-MRSA e CA-MRSA tem aumentado progressivamente, principalmente em PVHA.



### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo Geral

Descrever a prevalência da colonização nasal por *Staphylococcus aureus* resistente á meticilina e os fatores associados a variáveis biológicas, demográficas, variáveis relacionadas ao HIV, presença de comorbidade e o uso de antimicrobianos em pacientes ambulatoriais vivendo com HIV/aids atendidos em Hospital Universitário de Pernambuco e determinar a frequência do gene de resistência *mecA* e o perfil de susceptibilidade antimicrobiano dos isolados de MRSA.

#### 3.2 Objetivos Específicos

- Descrever a prevalência da colonização nasal por *Staphylococcus aureus* e de MRSA;
- Descrever o perfil de susceptibilidade dos isolados de MRSA frente a diversas classes antimicrobianos;
- Verificar a associação entre a colonização nasal por MRSA e as variáveis demográficas (sexo, idade, raça), variáveis relacionadas ao HIV (carga viral, células CD4<sup>+</sup>, uso de antirretrovirais e duração), variáveis de comorbidade e a exposição previa aos antimicrobianos.
- Detectar a presença do gene de resistência *mecA*



## 4. MATERIAIS E MÉTODO

### 4.1 Desenho do estudo

Estudo transversal, de caráter analítico, no qual se investiga a relação exposição-efeito de uma população em um determinado período de tempo, permitindo detectar a prevalência da colonização de *S. aureus* e a associação entre as variáveis relacionadas ao HIV, o uso de antimicrobianos e de comorbidade em pacientes vivendo com HIV-aids atendidos nas unidades do ambulatório e enfermaria do Hospital das Clínicas – Universidade Federal de Pernambuco (HC-UFPE).

### 4.2 Local de Estudo

O estudo foi realizado no ambulatório do Serviço de Doenças Infecciosas e Parasitárias (DIP) do HC-UFPE, para a coleta da secreção nasal de PVHA, juntamente com a aplicação de um questionário para avaliar os possíveis fatores relacionados com a colonização por *S. aureus* (Anexo). O estudo fenotípico e molecular foi realizado no Laboratório de Bacteriologia e Biologia Molecular do Departamento de Medicina Tropical do Centro de Ciências da Saúde (CCS) da UFPE e no Laboratório de Doenças Transmissíveis de Departamento de Parasitologia do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães – (CPqAM), Fiocruz.

### 4.3 Período do estudo e caracterização do local do estudo

O estudo foi conduzido entre agosto/2014 e novembro/2015. O Serviço de DIP do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco dispõe de 15 leitos de enfermaria e 5 leitos-dia para infusão de medicamentos. Na unidade ambulatorial existe aproximadamente 1600 pacientes portadores de HIV/aids onde aproximadamente 90% estão em regime de terapia antirretroviral. Na unidade de internamento são internados aproximadamente vinte pacientes/mês, no ambulatório são atendimentos aproximadamente 12 casos novos de infecção por HIV/mês e registro de aproximadamente 300 consultas/mês. Os prontuários dos pacientes do ambulatório foram disponibilizados pelo Serviço de Arquivo Médico e Estatística – (SAME), para a coleta de informações clínicas epidemiológicas dos pacientes.

#### 4.4 População de Estudo

A população do estudo foi de PVHA em atendimento ambulatorial no Serviço de Doenças Infecciosas e Parasitárias do HC/UFPE acima de 18 anos.

#### 4.5 Tipo de amostragem e definição do tamanho da amostra

O tipo de amostragem foi de conveniência, cujo tamanho da amostra foi obtido através do programa Statcalc do Epiinfo versão 6.04. Com nível de confiabilidade de 95%, e uma prevalência estimada de 15% para indivíduos HIV colonizados com MRSA com uma margem de erro de 3%. Sendo assim o tamanho mínimo amostral determinado foi de 480 indivíduos.

#### 4.6 Critérios de inclusão e exclusão

Foram incluídos no estudo PVHA atendidas no Serviço ambulatorial do serviço de Doenças Infecciosas e Parasitárias (DIP) do HC/UFPE, maiores de 18 anos. Foram excluídos do estudo os indivíduos que no momento da inclusão estivessem com diagnóstico microbiológico já estabelecido de colonização/infecção por *S. aureus* nos últimos seis meses.

### 5. VARIÁVEIS DO ESTUDO

Para verificar a associação da colonização e os fatores de risco em PVHA foi necessária a descrição de algumas variáveis demográficas como idade, sexo, raça e variáveis relacionadas ao HIV como contagem de CD4 e carga viral, uso de terapia antirretroviral e duração do tempo de infecção pelo HIV e o uso de antimicrobianos.

#### 5.1 Categorização e definição das variáveis de estudo

As variáveis do presente estudo estão descritas e caracterizadas nas tabelas abaixo:

#### Variável Dependente

Tabela 1: Variável relacionada à frequência de *S aureus* resistente à meticilina

Variável	Definição	Categorização
<b><i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina</b>	Isolado de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente às penicilinas anti-estafilocólicas estáveis à hidrólise causada pelas $\beta$ -lactamases	1. Presente (%) 2. Ausente

## Variável Independente

Tabela 2: Variáveis Biológicas

Variáveis	Definição	Escala de Medidas
<b>Sexo</b> Masculino Feminino	Sexo biológico	Variável qualitativa nominal
<b>Faixa etária</b> 18 a 28 29 a 39 40 a 50 51 a 61 62 a 72 ≥ 73	Data de nascimento	Variável qualitativa ordinal
<b>Raça</b> Branca Parda Amarela Preta Indígena Não sabe	Definida pela resposta informada pelo paciente	Variável qualitativa nominal

Tabela 3: Variáveis socioeconômico

Variáveis	Definição	Escala de Medidas
<b>Renda Familiar</b> ≤ um salário mínimo ≥ um salário mínimo ≤ 2 ≥ 2 salário mínimo ≤ 3 ≥ 3 salário mínimo ≤ 4 ≥ 4 salários mínimos Não sabe Recusou-se	Somatório dos rendimentos mensais dos componentes da família, inclusive os das pessoas cuja condição na família fosse pensionista segundo o IBGE (Censo demográfico 2000).	Variável quantitativa ordinal
<b>Escolaridade</b> Sem educação formal Menor que ensino primário Ensino primário completo Ensino secundário completo Ensino médio completo Ensino superior incompleto Ensino superior completo Recusou-se	Grau de escolaridade	Variável qualitativa ordinal

Tabela 4: Variáveis relacionadas ao HIV

Variáveis	Definição	Escala de Medidas
<b>Carga viral (cópias/mL)</b> ≤100 101 a 100.000 100.001	Número de cópias virais por mL de sangue	Variável quantitativa contínua
<b>T CD4 (células/mm<sup>3</sup>)</b> >300 200 a 350 <200	Número de linfócitos T CD4 por mL de sangue	Variável quantitativa contínua
<b>Uso de TARV</b> Sim Não	Uso de Antirretroviral (tratamento para pessoas com HIV/aids)	Variável quantitativa nominal 1 – sim 2 - não
<b>Uso Prévio de ATB</b> Sim Não	Uso de Antibiótico (profilaxia ou tratamento para infecções por bactérias nos últimos 12 meses)	Variável quantitativa nominal 1 – sim 2 - não

Tabela 5: Variáveis relacionadas ao uso de antimicrobianos

Variáveis	Definição	Escala de Medidas
<b>β-lactâmicos</b> Penicilina 10 U Oxacilina 1 µg Cefoxitina 30 µg	Os agentes antimicrobianos β-lactâmicos que compartilham o anel central que possui quatro elementos, sendo o seu principal modo de ação a inibição da síntese da parede celular.	Variável quantitativa contínua
<b>Glicopeptídeos</b> Vancomicina 30 µg Teicoplanina 30 µg		
<b>Sulfonamidas</b> Sulfametoxazol- Trimetropim 1,25/23,75 µg		
<b>Quinolonas</b> Ciprofloxacina 5 µg		
<b>Anfenicóis</b> Cloranfenicol 30 µg		
<b>Macrolídeos</b> Eritromicina 15 µg		
<b>Aminoglicosídeos</b> Gentamicina 10 µg		
<b>Oxazolidonas</b> Linezolid 30 µg		

Tabela 6: Variáveis de Hábitos

Variáveis	Definição	Escala de Medidas
<b>Atividade Física</b>		
Natação Taikodom Jiu jitsu	Esportes	Variável quantitativa ordinal
<b>Uso de Drogas</b>		
Uso de Álcool Uso de Cigarro Uso de Maconha Uso de Cocaina Uso de Crack Uso de Cola	Uso de drogas lícitas e ilícitas	Variável qualitativa ordinal

Tabela 7: Variáveis de Comorbidades

Variáveis	Definição	Escala de Medidas
<b>Doenças Sexualmente Transmissíveis</b>		
Sífilis Herpes genital Gonorreia Tricomoníase Clamídia Cancro mole Verrugas genitais (HPV)	Doenças transmitidas pelo contato sexual	Variável quantitativa ordinal
<b>Doenças de Base</b>		
Pneumonia Endocardite Meningite Osteomielite Insuficiência renal Diabetes de melitus Câncer	Classificado segundo o CID 10	Variável qualitativa ordinal
<b>Infecções de pele/partes moles</b>		
Acne ou espinha erisipela Furúnculo ou abscesso Foliculite ou pé de cabelo Impetigo ou ferida	Infecções cutâneas por <i>S. aureus</i> que levam a formação ou não de pus e infecção de tecidos moles	Variável qualitativa ordinal

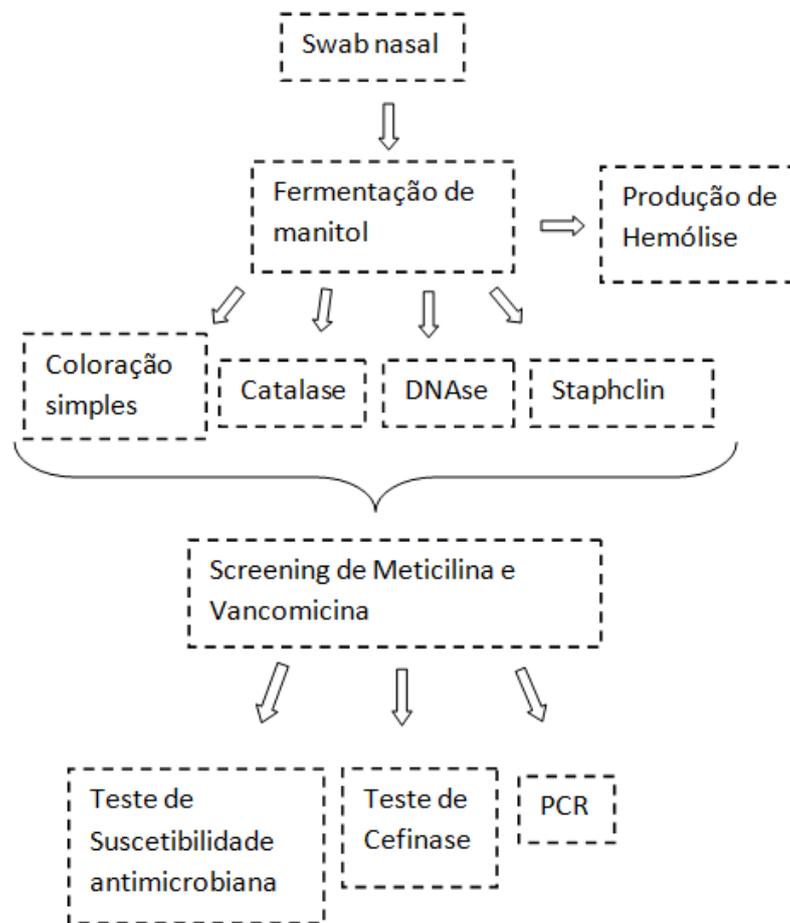
## 5.2 Técnicas Empregadas Para Identificação do *S. aureus*

### 5.2.1 Isolamento e identificação do *Staphylococcus aureus*

As amostras de secreção nasal foram coletadas através do swab em meio de transporte Cary Blair ou Stuart. Após a coleta, as amostras foram inoculadas em Ágar Manitol incubadas a 37° C por 24 horas e em seguida uma colônia de *S. aureus* foi transferida para Ágar Sangue de carneiro 5% e incubada por 24-48 horas, a 37°C. (KONEMAN, et al. 2008) As colônias

com características macroscópicas de pertencerem ao gênero *Staphylococcus* foram coradas pelo método de Gram ou Azul de metileno, e quando confirmadas pela morfologia e/ou coloração, foram então identificadas de acordo com os procedimentos padrões pelos testes de Catalase, Manitol, DNase e Staphclin®, e posteriormente realizado testes de suscetibilidade e teste molecular como observado no fluxograma na figura 5.

Figura 5: Fluxograma de procedimentos para isolamento e identificação de *S. aureus*.



### 5.2.2 Susceptibilidade aos antimicrobianos

Após o sub-cultivo em Ágar sangue a 35 ° C por 24 h as colônias já identificadas foram suspensas em caldo BHI até obter uma turbidez equivalente a uma solução padrão 0,5 da escala de McFarland ( $10^8$  UFC/mL). A suspensão bacteriana foi semeada de forma homogênea com o auxílio de um swab estéril sobre a superfície da placa contendo ágar Muller-Hinton, e com o auxílio de uma pinça flambada e os discos de antibióticos devem ser dispostos sobre a superfície semeada. Em seguida as placas foram incubadas a 35° C por 24 horas, e após este período o halo de inibição é medido e interpretado como, sensível,

intermediário e resistente, de acordo com os critérios estabelecidos no documento do CLSI (OPUSTIL, et al. 2004 e CLSI, 2014).

Desta forma os isolados de *Staphylococcus* foram submetidos à técnica de disco-difusão em Ágar Mueller-Hinton (CLSI, 2014) utilizando os seguintes antimicrobianos: penicilina 10U, oxacilina 1µg, vancomicina 30µg, gentamicina 10µg, clindamicina 2µg, sulfametaxazol-trimetropim 1,25/23,75µg ciprofloxacina 5µg, cloranfenicol 30µg, cefoxitina 30µg, teicoplanina 30µg, eritromicina 15µg e linezolid 30µg. A leitura dos halos de inibição formados utilizando paquímetro, sendo os resultados expressos em milímetros com os padrões descritos no CLSI, 2014.

### 5.2.3 Teste de suscetibilidade a β-lactâmicos

Todos os isolados de *S. aureus* foram testados quanto à suscetibilidade aos β-lactâmicos pela técnica do disco de cefinase<sup>TM</sup>. As colônias de *S. aureus* cultivados em meio de Ágar Nutriente (AN) foram transferidas para a superfície da lâmina de microscopia contendo discos Cefinase (Becton Dickinson & Company EUA) embebido com água destilada estéril. Os discos contêm Cefinase cefalosporina cromogénico (nitrocefina) de cor amarela. Na presença da enzima β-lactamase, o amido faz ligação no anel de β-lactâmico hidrolisando assim a enzima, o disco então muda de cor amarela para vermelha nos isolados resistentes a cefinase. Assim, a interpretação dos resultados foi feita de acordo com as instruções do fabricante. Foram utilizados cepas de *S. aureus* ATCC<sup>®</sup> 25923 e *S. aureus* ATCC<sup>®</sup> 43300 como controle positivo e controle negativo respectivamente.

### 5.2.4 Screening de Oxacilina

Após a realização do antibiograma, os isolados que apresentaram resistência à Meticilina e/ou Cefoxitina foram selecionados. E em seguida, foi feita suspensão direta das colônias que estavam em Ágar Sangue de carneiro 5%, para o caldo BHI, para assim obter uma turbidez equivalente a uma solução padrão 0,5 da escala de McFarland. Feita a suspensão com uma alça de platina de 1µL desse caldo e semeando-a em uma área com diâmetro de 10 a 15 mm em placas contendo o meio Ágar Mueller-Hinton com NaCl (4% v/v; 0,68 mol/L) acrescido de 6 µg/mL de Meticilina. Estas placas foram incubadas a 35°C por 24 horas sendo considerados, após leitura dos resultados como: >1 colônia = resistente (CLSI, 2014). Foram utilizados como controles de qualidade as cepas padrão para MRSA e MSSA: *Staphylococcus*

*aureus* ATCC 29213 – Sensível e *Staphylococcus aureus* ATCC 33591 – Resistente (CLSI, 2014).

#### 5.2.5 Screening de Vancomicina

Para a análise do perfil de resistência à vancomicina, os isolados foram submetidos ao *screening* de vancomicina. Desta forma, os mesmos foram inoculados em caldo BHI e incubadas por 48 horas a 35°C a fim de se obter uma turbidez equivalente a uma solução padrão 2 da escala de McFarland. Mergulhou-se uma alça de platina de 1µL nessa suspensão e procedendo com o inóculo em uma área com diâmetro de 10 a 15mm em placas contendo o meio Ágar BHI suplementado com 6 µg/mL de vancomicina (OXOID). Estas placas foram incubadas a 35°C por 24 e 48 horas sendo considerados, após leitura dos resultados como: >1 colônia = resistente. Foi utilizado como controle de qualidade as cepas padrão: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 – Sensível e *Enterococcus faecalis* ATCC 51299 – Resistente (CLSI, 2014).

#### 5.2.6 Extração de DNA

Para a extração do DNA das amostras de MRSA foi utilizada a técnica de FREITAS et al, (2008) com algumas modificações. O DNA foi extraído a partir de 1mL de cultura bacteriana previamente crescida em caldo BHI a 37°C por 24h, centrifugada a 14,000 rpm/4°C. Ao sedimento foi adicionado 10µL de proteinase K (5mg/mL) e 200µL de solução de lise (NaCl 100mM; TrisCl 10mM, pH 8; SDS 0,5%). A suspensão foi incubada a 60°C por 1 hora, em seguida a amostra foi extraída uma vez com fenol, duas vezes com fenol/clorofórmio (1:1) e uma vez com clorofórmio/álcool isoamílico (24:1). A cada etapa de extração o homogenato era centrifugado a 14.000 rpm por 1 min. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo e o sedimento foi ressuspenso em álcool isopropílico absoluto gelado e centrifugado a 14.000 rpm por 5 min. Após centrifugação, o sobrenadante foi descartado, o “pellet” foi seco ao ar, durante 30 min. Esse precipitado foi ressuspenso em 200µL de água Mili-q esterilizada e estocado a -20°C.

O DNA de todos os isolados após a extração foi quantificado pelo espectrofotômetro, utilizando o aparelho Ultrospec 3000 UV/Visible spectrophotometer, Pharmacia Biotech ou utilizando o equipamento Nanodrop 2000 (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, EUA). Uma alíquota de 1 ou 2 µL do DNA extraído foi submetido à eletroforese em gel de agarose 1% em tampão TAE (Tris-acetato (Tris-acetato 40mM; EDTA 2mM) à temperatura ambiente sob corrente constante. Após migração, o DNA foi corado e observado em transiluminador de

luz ultravioleta (UV) e registrado em um sistema de foto documentação Kodak 1D versão 3.5.2 (Scientific Imaging Systems, USA).

#### 5.2.7 Identificação de *mecA* através da PCR

Para a amplificação foram utilizados os *primers* P1, 5'-GGTCCCATTA ACTCTGAAG-3' e P3, 5'-AGTTCTGCAGTACCGGATTTGC-3' descritos por Petinaki, et al. (2001a) que resultam em fragmentos de 1.046bp. As reações de PCR foram preparadas individualmente em um volume final de 25µL em cada tubo contendo: 20ng de DNA genômico, 20 pmol de cada primer, MgCl<sub>2</sub> 1,5 mM, dNTP 200 µM, 1U de Go Taq DNA polimerase (Promega, Brasil) e 5µL do tampão Green Go Taq DNA polimerase (Promega, Brasil). As reações foram realizadas em termociclador (Biometra), programado inicialmente para 35 ciclos térmicos, com desnaturação de um minuto a 94°C, anelamento de um minuto a 55°C e uma extensão de dois minutos a 72°C seguido de uma etapa de alongamento final de 15 minutos a 72°C. Foi utilizado como controle negativo, um tubo contendo todos os componentes da mistura e ausência de DNA molde. Para controle positivo foi utilizado a cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 33591 – Resistente.

O produto da amplificação foi submetido à eletroforese em gel de agarose 1% e corado com brometo de etídio (2µg/mL), visualizado em transluminador UV e digitalizado através do software Kodak 1D versão 3.5.2 (Scientific Imaging Systems, USA). O marcador de peso molecular é de 100bp (Invitrogen).

#### 5.2.8 Procedimento de Sequenciamento de DNA

As reações de sequenciamento de DNA foram realizadas no Núcleo de Plataformas Tecnológicas (NPT), do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães – Fiocruz – PE, utilizando o equipamento ABI 3500xL Genetic Analyser (Applied Biosystems).

Foi utilizado o Kit comercial ABI PRISM BigDye Terminator Cycle Sequencing v 3.1 Ready Reaction (Applied Biosystems®), de acordo com as recomendações do fabricante. A reação de sequenciamento utilizada baseia-se no método de Sanger (SANGER et al., 1977) que utiliza didesoxirribonucleotídeos acoplados a cromóforos fluorescentes. Os produtos das reações foram analisados em sequenciador ABI 3500xL Genetic Analyzer, desenvolvido pela Applied Biosystems.

### 5.2.9 Reação de sequenciamento e precipitação das amostras

Para a reação foram utilizados: 1 µl de primer (3.2 pmol/µl), 0,5 µl de Bigdye® Terminator v3.1, 1 µl de Tampão de sequenciamento 5x (Tris-HCl, pH 9.0 200mM, MgCl<sub>2</sub> 5mM), 1 µl do produto de PCR purificado (10 ng/µL) e água MilliQ 10 µl q.s.p. O programa de amplificação seguiu a seguinte ciclagem: 1 ciclo a 94 °C por 2 min, seguidos de 40 ciclos de 94 °C por 15 seg, 50 °C por 10 seg e 60 °C por 4 min. Para cada amostra serão realizadas 2 reações, sendo uma para o primer forward e outra para o reverso. Após amplificação, foi realizada a purificação/precipitação de DNA: ao volume total da reação de sequenciamento (10 µL) foram adicionados 2,5µL de EDTA (125mM, pH 8,0) e 25µL de etanol 100%. Após mistura em vórtex, a reação foi centrifugada a 3700 rpm por 45 minutos. O precipitado da reação foi lavado com 70 µL de etanol 70%, seguido de centrifugação a 3700 rpm por 10 minutos. Após descartar o sobrenadante, o precipitado foi solubilizado em 10 µL de Formamida Hi-Di (Applied Biosystems) e aplicado no sequenciador automático.

## 6. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Este projeto de pesquisa foi submetido à apreciação e aprovado pelo Comitê de Ética do Centro de Ciências da Saúde, sob o CAAE 27567014.6.0000.5208, (apêndice 3). Todos os indivíduos envolvidos no estudo tomaram ciência da pesquisa e, após leitura do Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE) foi solicitado a autorização por escrito a sua participação. Foi salientado que a recusa em participar não acarretaria nenhuma implicação negativa para seu tratamento e acompanhamento clínico.

## 7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados clínicos e epidemiológicos foram analisados estatisticamente através do programa Epi-info versão 6.04, pela distribuição de frequências. As comparações estatísticas foram feitas com odds ratio, sempre que adequado. Um valor de  $p < 0,05$  foi considerado indicativo de uma diferença estatisticamente significativa.



Artigo a ser submetido à revista Journal of Clinical Microbiology – American Society for Microbiology

**Prevalência da colonização nasal por *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina em pacientes ambulatoriais vivendo com HIV/aids de hospital terciário no Estado de Pernambuco-Brasil**

Cynthia Regina Pedrosa Soares, Celso Rodrigues de Lira, Maximiliano Alexandre H. Cunha, Fábio Lopes de Melo, Paulo Sergio Ramos de Araújo, Maria Amélia Vieira Maciel.

1Departamento de Medicina Tropical, Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, Brasil.

2Departamento de Parasitologia, Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães – FIOCRUZ, Pernambuco, Brasil.

Correspondência: Cynthia Soares do Deptº Medicina Tropical/ Universidade Federal de Pernambuco. Pernambuco, Brasil.

Fone: 55 81 21012689

E-mail: soares.cynthia8@gmail.com

**Resumo**

*Staphylococcus aureus* é um dos patógenos mais comuns de infecções de pele e tecidos moles tanto na comunidade quanto em ambiente hospitalar. Colonização por *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA) tem emergido e despertado grande preocupação. Este estudo visa investigar a prevalência de MRSA em pessoas vivendo com HIV/aids (PVHA) em seguimento ambulatorial de hospital terciário do estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil.

**Métodos:** Foram coletados swabs nasais de 500 PVHA e realizados testes fenotípicos e moleculares para detecção de linhagens de MRSA através da técnica de Screening de oxacilina e técnica de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR). **Resultados:** *S aureus* foi isolado de swab nasal em 31,4% (IC 95%: 27,3 a 35,5) dos indivíduos, sendo 14% (IC 95%: 8,5 a 19,5) MRSA, confirmado pela presença do gene *mecA*. A maioria dos indivíduos onde houve resgate de *S aureus*, com média de idade de 41,5 anos. 93,6% estavam em tratamento com antirretroviral e a maioria apresentava contagem de células CD4 >200 (92%) e carga viral ≤100 cópias (79,1%). O uso de antimicrobianos nos últimos 12 meses foi encontrado em 21% dos indivíduos e 24,2% relataram uso de drogas ilícitas ao menos uma vez na vida. Os dados relacionados à infecção pelo HIV e outras variáveis relacionadas a colonização por MRSA foram coletados de prontuários e de um questionário aplicado a cada paciente. Apesar de não significativas as associações com HIV/aids e não uso de TARV apontam para uma

maior chance de resistência a meticilina. **Conclusões:** A prevalência de colonização nasal por MSSA (86%) e MRSA (14%) em PVHA foi mais elevada quando comparada com outros estudos nesta população, no entanto, não conseguimos estabelecer fatores associados ao risco.

**Palavras-Chave:** *Staphylococcus aureus*, MRSA, CA-MRSA, HIV, PVHA, *mecA*.

## **Introdução**

*Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) é considerado um patógeno de grande relevância devido a sua distribuição na epidemiologia hospitalar, estando relacionado com exposição e tempo de internação, assim como o uso de dispositivos invasivos (LEE et al, 2013). A frequência de colonização/infecção por MRSA em indivíduos fora do ambiente hospitalar, classificados como *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina adquiridos na comunidade (CA-MRSA), tem aumentado progressivamente nas últimas décadas e esta tendência tem sido também observada em pessoas vivendo com HIV/aids (PVHA), parecendo inclusive ser maior do que a encontrada na população geral (IMAZ, et al, 2010 e LARSEN, et. al. 2012).

Em Taiwan, MCDONALD, e col. (2003) descreveram taxas de colonização nasal em PVHA de 6%, no Irã foi de 5,3% (ASKARIAN et al, 2009), na Índia, 16,6% (GOUD et al, 2011) e 10,8% em Dalas, EUA (CENIZAL et al, 2008). No Brasil, existem poucas publicações sobre prevalência de MRSA nessa população, em São Paulo, REINATO, e col, (2013) descreveram prevalência de 21,7%.

Indivíduos com HIV representa uma população vulnerável a infecções por MRSA. Visitas frequentes em hospitais e alguns fatores que podem predispor a infecções por MRSA ou outras infecções, como a alta carga viral, a baixa contagem de células CD4, a presença de dispositivos intravenosos, doenças dermatológicas, o uso de drogas intravenosas e múltiplos parceiros sexuais, tem sido identificado como fatores de risco para colonização e infecção de MRSA em pacientes com HIV (HIDRON et al, 2010).

O objetivo desse estudo foi investigar a prevalência de colonização nasal por *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) e os fatores de risco associados em PVHA atendidos em unidade ambulatorial em Hospital Universitário de Pernambuco.

## **Materiais e Métodos**

Estudo transversal, de caráter analítico, para detectar a prevalência da colonização por *S. aureus* sensível e resistente a Meticilina e estabelecer associações como status

imunológicos e viral, o uso prévio de antimicrobianos de pessoas vivendo com HIV-aids atendidos na unidade ambulatorial do Hospital das Clínicas de Pernambuco da Universidade Federal de Pernambuco (HC-UFPE).

### **Coleta das amostras de *swab* nasal**

As amostras de secreção nasal foram coletadas de pacientes ambulatoriais do Serviço de Doenças Infecciosas e Parasitárias (DIP) do Hospital das Clínicas de agosto/2014 a novembro/2015, através de *swab* em meio de transporte Stuart. Após a coleta, as amostras foram inoculadas em Ágar Manitol incubadas a 37° C por 24 horas e em seguida transferidas para Ágar Sangue de carneiro 5% e incubadas 24-48 horas, a 35°C para posteriores testes de identificação de *S. aureus*.

### **Isolamento e Identificação de *Staphylococcus***

As colônias com características morfológicas do gênero *Staphylococcus aureus* foram submetidas aos testes de identificação usando catalase, DNase e Staphclin®. Apenas as amostras com características de *S. aureus* foram encaminhadas a teste presuntivo e molecular para detecção de resistência à meticilina.

### **Suscetibilidade antimicrobiana**

Todos os isolados de *S. aureus* foram submetidos ao perfil de suscetibilidade antimicrobiana usando o método disco difusão. Após o sub-cultivo em Ágar sangue a 35 °C por 24 horas as colônias já identificadas foram suspensas em caldo BHI (Brain Heart Infusion) até obter uma turbidez equivalente a uma solução padrão 0,5 da escala de McFarland ( $10^8$  UFC/mL). A suspensão bacteriana foi semeada de forma homogênea com o auxílio de um *swab* estéril sobre a superfície da placa contendo Ágar Mueller-Hinton, e com o auxílio de uma pinça flambada os discos de antibióticos foram dispostos sobre a superfície semeada. Em seguida as placas foram incubadas a 35° C por 24 horas, e após este período o halo de inibição foi medido e interpretado como, sensível, intermediário e resistente, de acordo com os critérios estabelecidos no documento do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Considerando >1colônia = resistência (CLSI, 2014).

### **Screening de Oxacilina**

Após a realização do antibiograma, os isolados que apresentam resistência à Meticilina e/ou Cefoxitina foram selecionados. E em seguida, foi feita suspensão direta das colônias que

estavam em Ágar Sangue de carneiro 5%, para o caldo BHI, para assim obter uma turbidez equivalente a uma solução padrão 0,5 da escala de McFarland. Feita a suspensão com uma alça de platina de 1µL desse caldo e semeando-a em uma área com diâmetro de 10 a 15 mm em placas contendo o meio Ágar Mueller-Hinton com NaCl (4% v/v; 0,68 mol/L) acrescido de 6 µg/mL de Meticilina. Estas placas foram incubadas a 35°C por 24 horas sendo considerados, após leitura dos resultados como: >1 colônia = resistente (CLSI, 2010). Foram utilizados como controles de qualidade as cepas padrão para MRSA e MSSA: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 – Sensível e *Staphylococcus aureus* ATCC 33591 – Resistente (CLSI, 2014).

### **Screening de Vancomicina**

Para a análise do perfil de resistência à Vancomicina, os isolados foram submetidos ao *screening* de Vancomicina. Desta forma, os mesmos foram inoculados em caldo BHI e incubadas por 48 horas a 35°C a fim de se obter uma turbidez equivalente a uma solução padrão 2 da escala de McFarland. Mergulhou-se uma alça de platina de 1µL nessa suspensão e procedendo com o inóculo em uma área com diâmetro de 10 a 15mm em placas contendo o meio Ágar BHI suplementado com 6 µg/mL de Vancomicina (OXOID). Estas placas foram incubadas a 35 °C por 24 e 48 horas sendo considerados, após leitura dos resultados como: >1 colônia = resistente. Foi utilizado como controle de qualidade as cepas padrão: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 – Sensível e *Enterococcus faecalis* ATCC 51299 – Resistente (CLSI, 2014).

### **Extração de DNA dos isolados de *S. aureus* pela reação em cadeia da polimerase (PCR)**

Para a extração do Ácido Desoxirribonucleico (DNA) das amostras de MRSA foi utilizada a técnica de FREITAS et al. (2008) com algumas modificações, no qual uma alíquota de 1mL de cultura bacteriana previamente crescida em caldo BHI a 37°C por 24 horas, foi centrifugada a 14,000 rpm/4°C, cujo pellet foi submetido a extração de DNA pelo método fenol-clorofórmio.

### **Identificação do gene *mecA* pela PCR**

Para a amplificação foram utilizados os *primers* P1, 5'-GGTCCCATTA ACTCTGAAG-3' e P3, 5'-AGTTCTGCAGTACCGGATTTGC-3' descritos por Petinaki, et al. (2001a) que resultam em fragmentos de 1.046bp. As reações de PCR foram preparadas individualmente em um volume final de 25µL em cada tubo contendo: 20ng de DNA genômico, 20 pmol de cada primer, MgCl<sub>2</sub> 1,5 mM, dNTP 200 µM, 1U de Go Taq

DNA polimerase (Promega, Brasil) e 5µL do tampão Green Go Taq DNA polimerase (Promega, Brasil). As reações foram realizadas em termociclador (Biometra), programado inicialmente para 35 ciclos térmicos, com desnaturação de um minuto a 94°C, anelamento de um minuto a 55°C e uma extensão de dois minutos a 72°C seguido de uma etapa de alongamento final de 15 minutos a 72°C. Foi utilizado como controle negativo, um tubo contendo todos os componentes da mistura e ausência de DNA molde. Para controle positivo foi utilizado a cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 33591 – Resistente.

O produto da amplificação foi submetido à eletroforese em gel de agarose 1% e corado com brometo de etídio (2µg/mL), visualizado em transluminador UV e digitalizado através do software Kodak 1D versão 3.5.2 (Scientific Imaging Systems, USA). O marcador de peso molecular foi de 100bp (Invitrogen).

### **Sequenciamento de DNA**

As reações de sequenciamento de DNA foram realizadas no Núcleo de Plataformas Tecnológicas (NPT), do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães – Fiocruz – PE, utilizando o equipamento ABI 3500xL Genetic Analyser (Applied Biosystems).

Foi utilizado o Kit comercial ABI PRISM BigDye Terminator Cycle Sequencing v 3.1 Ready Reaction (Applied Biosystems®), de acordo com as recomendações do fabricante. Os produtos das reações foram analisados em sequenciador ABI 3500xL Genetic Analyzer, desenvolvido pela Applied Biosystems.

Para a reação foram utilizados: 1 µl de primer (3.2 pmol/µl), 0,5 µl de Bigdye® Terminator v3.1, 1 µl de tampão de sequenciamento 5x (Tris-HCl, pH 9.0 200mM, MgCl<sub>2</sub> 5mM), 1 µl do produto de PCR purificado (10 ng/µL) e água MilliQ 10 µl q.s.p. O programa de amplificação seguiu a seguinte ciclagem: 1 ciclo a 94 °C por 2 minutos, seguidos de 40 ciclos de 94 °C por 15 segundos, 50 °C por 10 segundos e 60 °C por 4 minutos. Para cada amostra foram realizadas 2 reações, sendo uma para o primer forward e outra para o reverso. Após amplificação, foi realizada a purificação/precipitação de DNA: ao volume total da reação de sequenciamento (10 µL) foram adicionados 2,5µL de EDTA (125mM, pH 8,0) e 25µL de etanol 100%. Após mistura em vórtex, a reação foi centrifugada a 3700 rpm por 45 minutos. O precipitado da reação foi lavado com 70 µL de etanol 70%, seguido de centrifugação a 3700 rpm por 10 minutos. Após descartar o sobrenadante, o precipitado foi solubilizado em 10 µL de Formamida Hi-Di (Applied Biosystems) e aplicado no sequenciador automático.

## **Análise Estatística**

Os dados coletados foram armazenados e analisados usando versão 6.04 do software Epi Info. As comparações estatísticas foram realizadas através de odds ratio, sempre que adequado. Um valor de  $p < 0,05$  foi considerado indicativo de uma diferença estatisticamente significativa.

## **Considerações Éticas**

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFPE (CEP / CCS / UFPE - Comitê de Ética em Pesquisa / Centro de Ciências da Saúde /UFPE), número CAAE 27567014.6.0000.5208.

## **Resultados**

Participaram do estudo 500 PVHA dos quais 157 foram positivos para *S. aureus* em secreção nasal, o que corresponde a uma prevalência de 31,4% (IC 95%: 27,3 a 35,5). Dentre os positivos por *S. aureus* a positividade do MRSA foi de 14% (IC 95%: 8,5 a 19,5) (tabela 1). Apenas as amostras que apresentaram resistência pelo screening de Meticilina foram submetidas a detecção do gene de resistência pela técnica de PCR, confirmando resistência apresentando o gene *mecA* (Figura 1).

## **Análise dos dados de Sequenciamento de DNA dos isolados de *S aureus*:**

O sequenciamento do DNA da região *mecA* foi realizado e comparado com a sequência de Locus KR936061 e KR9360059 do BLAST. E foi comprovado 100% de similaridade. Foi realizado um alinhamento online pelo Mafft de acordo com o algoritmo do “Mafft”.

Os dados do sequenciamento foram gerados pelo Standn Package (Console, Gap 4, Pregap 4, Spin e Trev), e posteriormente foi analisado no BLAST e foram selecionados duas sequências da região *mecA* do *S. aureus* para comparar a identidade do consenso com o banco de dados.

### **Perfil de suscetibilidade dos isolados de MRSA:**

A maioria dos isolados de MRSA foram classificados como multirresistentes, apresentando resistência a mais de duas classes de antibióticos. Determinamos pelo método de disco de fusão o perfil de suscetibilidade antimicrobiana dos isolados de *S. aureus*.

Considerando o perfil de susceptibilidade antimicrobiana dos pacientes colonizados por MRSA entre as classes antimicrobianas testadas, observou-se maior resistência a Cefoxitina (73%), Eritromicina (68,2%) e Sulfametoxazol-Trimetoprim (68,2%), e em relação a Penicilina a totalidade dos pacientes (100%) apresentaram resistência (Tabela 1). A resistência induzida a Clindamicina pelo teste D, foi observada em 31% de MRSA. Os isolados resistentes a Cefoxitina foram submetidos a PCR para detecção do gene de resistência *mecA*. Todos os isolados Cefoxitina resistentes apresentaram o gene *mecA*.

### **Teste de Cefinase – $\beta$ -lactamase:**

Todos os isolados identificados como *S. aureus* foram submetidos ao teste de cefinase. De um total de 157, 138 (88%) foram positivos, portadores de enzimas  $\beta$ -lactamases.

### **Fatores associados à colonização nasal por MRSA**

As amostras de secreção nasal das PVHA em regime ambulatorial foram coletadas de agosto de 2014 a novembro de 2015. Um total de 500 *swabs* nasais de PVHA foram coletados e estudados para avaliar fatores associados à colonização por MRSA.

Foram positivos para *Staphylococcus aureus* 157 de um total de 500 (31,4%), dos quais 22 eram resistentes a Meticilina, correspondendo a uma prevalência de 14% (IC 95%: 8,5 a 19,5) (tabela 2).

Nesta população de PVHA a maioria foi de homens, pardos, com média de idade de 41,5 anos e com renda familiar menor de um salário mínimo. Não houve associação significativa entre estas variáveis estudadas com colonização nasal por MRSA assim também com hábitos como prática de atividade física, histórico de uso de cigarros, uso de bebidas alcoólicas ou mesmo uso de drogas ilícitas ao menos uma vez na vida (tabela 3).

Quase todos os indivíduos deste estudo (93,6%) estavam sob regime de terapia antirretroviral (TARV) e 66% deles eram aidéticos. A maioria (92%) no momento da pesquisa apresentava contagem de CD4 maior que 200 células/mm<sup>3</sup> e carga viral para o HIV menor que 100 cópias/mL, não apresentando associação estatisticamente significante entre

colonização nasal por MRSA e estas variáveis relacionadas ao estado imunológico e controle viral. Apesar de não significativas as associações entre diagnóstico de aids e ausência de TARV, houve uma maior chance de colonização nasal por MRSA nestes indivíduos (tabela 4).

Uso de antibióticos até um ano antes da coleta do *swab* nasal foi relatado por 21% dos indivíduos estudados, mas não esteve associado com a MRSA nasal (tabela 4). A grande maioria (83,1%) havia recebido algum derivado sulfonamidico. Dois indivíduos haviam usado penicilina, cinco clindamicina, seis rifampicina, um usou terapia sequencial com cefalosporinas de 1ª geração, vancomicina e teicoplanina. Nenhum havia recebido linezolida, daptomicina, aminoglicosídeos ou quinolonicos.

História de diagnóstico prévio de diabetes (8,5%), doença hepática crônica (7,1%), doença renal crônica em terapia substitutiva renal (1,9%) e neoplasias malignas (2,6%) não apresentaram associação com MRSA nasal. Herpes genital (20,4%) foi a doença sexualmente transmissível mais relatada, mas também não demonstrou associação com MRSA nasal (tabela 5).

## **Discussão**

*S. aureus* é habitualmente frequente na mucosa nasal de indivíduos saudáveis, e esse microrganismo pode acometer infecções hospitalares e de comunidade. Apesar de este patógeno ser encontrado na população geral, sua incidência tem sido maior em indivíduos com HIV e poucos estudos foram desenvolvidos no Brasil a este respeito. A prevalência de *S. aureus* foi de 31,4% e de MRSA foi de 14% na população estudada. Dentre essas amostras coletadas de PVHA, a prevalência de *S. aureus* foi considerada baixa em PVHA, tendo em vista que a prevalência da colonização de *S. aureus* varia de 30 a 80% em várias regiões do mundo (KLUYTMANS et al, 1997; MEJÍA et al, 2010). Tal fato pode ser explicado por se tratar de colonização fora do âmbito hospitalar, no qual a incidência dessa colonização na comunidade tem revelado ser mais baixa em relação à colonização nosocomial. A prevalência de *S. aureus* encontrada nesse estudo corrobora com alguns estudos que mostram que aproximadamente 22% - 38% da população são colonizados com *S. aureus* (KLUYTMANS et al, 1997; KUEHNERT, et al, 2006).

A prevalência de MRSA encontrada no nosso estudo condiz com alguns estudos em várias regiões do mundo. A prevalência de MRSA em indivíduos com HIV é maior do que indivíduos sem HIV (POPOVICH, et al, 2010). Em Taiwan, a prevalência da colonização nasal de MSSA foi de 24% e a de MRSA foi de 6% em pacientes ambulatoriais HIV-positivos

(MCDONALD, et al. 2003). Em Nova York a prevalência de MRSA foi 16% (SHET, et al. 2009), já em Carolina do Sul, nos Estados Unidos, essa prevalência foi de 8% (RAMSETTY et al., 2010). Na Espanha, a prevalência de *S. aureus* em HIV foi de 34%, resultado semelhante ao que encontramos em nosso estudo. Em contrapartida a prevalência de MRSA foi apenas de 1% e 2% de amostras swab nasal e da faringe respectivamente. A colonização de CA-MRSA não é uma ameaça entre a população de HIV na Espanha atualmente (IMAZ, et al, 2015).

Estudos apontam que a prevalência de MRSA na Europa é baixa, podendo chegar até 26% (CARVALHO, et al, 2009). Na Índia, a colonização de *S. aureus* foi de 22,5% e para MRSA foi de 16,6% numa população de indivíduos sem HIV (GOUD, et al, 2011). Em São Paulo, Brasil, a prevalência da colonização nasal por MRSA foi de 21,7% em pacientes HIV-positivo (REINATO, et al., 2013), essa alta prevalência pode se justificar pelo tamanho da amostra ser pequena.

Dentre a população estudada a colonização de *S. aureus* e de MRSA foi mais frequente no sexo masculino. Resultado semelhante foi encontrado em Carolina do Sul, EUA, no qual 63% eram do sexo masculino, cuja média de idade da população foi de 43,2 anos, cuja prevalência de MRSA foi de 8% (RAMSETTY et al. 2010). Esse resultado corrobora com nosso estudo, em relação ao sexo e a idade, a média de idade predominante em nosso estudo colonizada por *S.aureus* foi 41,5 e a raça parda foi em 50,3%. Shet e col. (2009) apresentaram resultados semelhantes, onde não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas em relação à idade, raça ou etnia, escolaridade, situação de emprego, a exposição uso de drogas, entre os grupos estudados com ou sem HIV. Assim como, Farley e col. (2015) analisaram uma prevalência de MRSA de 15,4%, com predominância de MRSA nas narinas, a maioria dos indivíduos com HIV colonizados eram negros e com predominância do sexo masculino, porém, não houve associação significativa da colonização por MRSA com a raça e o sexo. O sexo e a idade também não foram fatores de risco para a colonização de MRSA numa população de pacientes com HIV no Iran (ASKARIAN et al, 2009). Esses dados apresentam similaridade com nosso estudo, não havendo nenhuma associação com a colonização entre essas variáveis supracitadas.

Nosso estudo avaliou a associação das variáveis relacionadas a comorbidades, como, diabetes, doença no fígado, câncer e doenças sexualmente transmissíveis, com isso foi observado que não houve associação destas comorbidades com a colonização de MRSA. Esse resultado corrobora com Hemmige e col. (2015), no qual, nenhuma dessas variáveis foi associada à colonização por MRSA. Outro estudo semelhante realizado no Iran destacou não

haver associação de MRSA entre hábitos de tabagismo, doenças de base e uso prévio de ATB (ASKARIAN et al, 2009).

Na população estudada não foram observadas associações significativas sobre a colonização de MRSA segundo as variáveis relacionadas ao HIV, que pode ser justificado pelo estado imunológico dos pacientes que se mostrou bem controlado na contagem de CD4 e a carga viral. Alguns estudos mostram que a baixa contagem de células CD4 atua como fator de risco para a colonização (TUMBARELLO et al, 2002; KYAW et al, 2012). Em alguns estudos a colonização por CA-MRSA foi associada com a imunossupressão, uso de drogas intravenosas, homens que fazem sexo com homens, doença dermatológica e uso de cateteres intravenoso. A infecção pelo HIV foi previamente associada com alta taxa de colonização e infecção por *S. aureus* sensível à meticilina (MATHEWS et al, 2005 e LEUNG et al, 2015).

A contagem de CD4 nadir <200 células/mL, a duração do tempo do HIV e a exposição a antibióticos foram fatores de riscos significativos para MRSA entre os pacientes HIV-positivos em um estudo de caso e controle em Carolina do Sul, EUA (Ramsetty et al. 2010). Outro estudo demonstrou que a contagem de CD4 está associada a colonização por MRSA, e a prevalência dessa colonização foi equivalente a 10,3% (CENIZAL, et al, 2008).

Nossos dados mostram semelhanças com os estudos de Shet e col. (2009) e Miller e col. (2007), onde colonização de MRSA foi maior em indivíduos que apresentaram altas taxas de células CD4 e com número de cópias indetectáveis, porém não identificaram quaisquer tipos de associação relacionados ao HIV com a colonização de *S. aureus*.

A colonização nasal por MRSA em pacientes com HIV foi menor entre os indivíduos que apresentavam baixa carga viral ( $\leq 100$  cópias/ml), alta contagem de CD4 ( $> 200$  células/mL) e que faziam uso de TARV, apresentando níveis de CD4 acima de 350 células (74,4%) e carga viral  $< 100$  cópias/ml (73,4%) no momento da pesquisa. Isso nos revela bons status imunológico dos pacientes, não havendo associação estatisticamente significativa com a infecção por MRSA e as variáveis relacionadas a infecção pelo HIV.

O uso prévio de ATB foi associado como único fator de colonização para MRSA em indivíduos com HIV em Taiwan, 53% da população faziam uso prévio de Sulfametoxazol-Trimetoprim que atuou como fator de proteção (OR-0.4, IC 95%  $0.2 \pm 0.78$ ,  $P 0.006$ ) (MCDONALD, et al, 2003). Estudo realizado nos EUA aponta que sexo, raça, tempo de duração do HIV, o uso de TARV, a contagem de CD4, história de sífilis ou outras comorbidades e uso de ATB não foram associados com MRSA, na análise univariada (VYAS et al, 2013), já na análise multivariada os valores de CD4 e carga viral combinados teve associação com a colonização. Em outro estudo foi observado que o uso de TARV, a

contagem de CD4 e o uso de ATB não foram associados com a colonização/infecção (HEMMIGE et al, 2015).

Shet e col. (2009) demonstraram que o uso prévio de antibióticos está associado com colonização por MRSA em indivíduos HIV-positivos. Por outro lado, alguns estudos mostram a associação de MRSA com algumas variáveis como, a contagem de células CD4, e o não recebimento de antibiótico atuaram como fator de risco para a colonização de MRSA em pacientes com HIV (CENIZAL, et al, 2008).

Uma meta-análise realizada com 32 estudos na América do Norte em indivíduos infectados pelo HIV foi observado uma prevalência de 8,8%, em que o uso de SMX-TMP não impactou como fator de risco para MRSA (ZERVOU, et al, 2014). Esse resultado corrobora com o nosso estudo, onde o uso prévio de antimicrobianos não foi fator de risco para colonização de MRSA. Apesar de ter encontrado uma alta resistência ao TMP-SMX devido ao seu uso constante como profilaxia de acordo com o estado imunológico e clínico do paciente.

A despeito da prevalência mais elevada de colonização nasal por MRSA em PVHA atendidos em regime ambulatorial, quando comparada a população geral, nosso estudo não foi capaz de estabelecer associação com nenhuma das variáveis analisadas. Pode sugerir que o controle dos níveis de células CD4 e de carga viral através do uso adequado da TARV talvez possa reduzir os riscos de colonização nasal por MRSA e que sistemas de vigilância possam ser focados nesta população de alto risco.

### **Agradecimentos**

Agradecemos a toda equipe do laboratório de Bacteriologia e Biologia Molecular do Departamento de Medicina Tropical da UFPE e ao Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães – FIOCRUZ pela infraestrutura e experiências trocadas durante esse estudo. Agradecemos também ao HC/UFPE por fornecer o acesso aos pacientes do ambulatório de DIP.

### **Referências**

ASKARIAN, M. ZEINALZADEH A, JAPONI A, ALBORZI A, MEMISH Z.A. Prevalence of nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and its antibiotic susceptibility pattern in healthcare workers at Namazi Hospital, Shiraz, Iran. *International Journal of Infectious Diseases*. v.13, p. 241-247, 2009.

CARVALHO, K. S. MAMIZUKA, E. M., FILHO, P. P. G., Methicillin/oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a hospital and public health threat in Brazil. *Braz Infect Dis.* v. 1, p. 71-76, 2009.

CENIZAL, M. J., HARDY, R. D., MARC-ANDERSON, B S. et al. Prevalence of and risk factors for Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) nasal colonization in HIV-infected ambulatory patients, *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, v. 48, N ° 5, 2008.

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, sixteenth informational supplement, document M100-S20. Wayne, PA, USA: V.34, N 01 CLSI, (2014).

FARLEY, J. E., MATTHEW J. H., SACAMANO, P. L. et al. Prevalence and risk factors for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in an HIV-positive cohort. *American Journal of Infection Control.*v. 43, p. 329-335, 2015.

FREITAS, M. F. L., LUZ, I. S., SILVEIRA-FILHO, V. M. et al. Staphylococcal toxin genes in strains isolated from cows with subclinical mastitis. *Pesq Vet Bras* 28(12): 617-621, 2008.

GOUD, R., GUPTA, S., NEOGI, U., AGARWAL, D., NAIDU, K., et al, Community prevalence of methicillin and vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* in and around Bangalore, southern India. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 44 (3), p. 309-312, 2011

HEMMIGE, V., MCNULTY, M., SILVERMAN, E., DAVID, M. Z.. Recurrent skin and soft tissue infections in HIV-infected patients during a 5-year period: incidence and risk factors in a retrospective cohort study. *BMC Infectious Diseases* 15:455, 2015.

HIDRON, A. I., KEMPKER, R., MOANNAM A., RIMLAND, D. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in HIV-infected patients. *Infection and Drug Resistance.* V. 3, p. 73-86, 2010.

IMAZ, A., PUJOL M, BARRAGÁN P, DOMÍNGUEZ MA, TIRABOSCHI JM, PODZAMCZER D. Community associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in HIV-infected patients. *AIDS Rev.* v. 12, p. 153-163, 2010.

IMAZ, A., CAMOEZ M, DI YACOVO S, GASCH O, DOMINGUEZ MA, VILA A, MASO-SERRA M, PUJOL M, PODZAMCZER D. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in HIV-infected patients in Barcelona, Spain: a cross-sectional study. BMC Infectious Diseases.15:243, 2015.

KLUYTMANS, J, VAN BELKUM A, VERBRUGH H.. Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. Clinical Microbiology Reviews, Vol. 10, No. 3, p. 505–520, 1997.

KUEHNERT, M. J., KRUSZON-MORAN, D., HILL, H. A., et al., Prevalence of *Staphylococcus aureus* nasal colonization in the United States. 2001-2002. J. Infect Dis. 193:172-179, 2006.

KYAW, W. M., LEE, L. K., SIONG, W. C., LI PING, A. C., ANG, B. and LEO, Y. S. Prevalence of and risk factors for MRSA colonization in HIV-positive outpatients in Singapore. Aids Reseach and Therapy, 9:33, 2012.

LARSEN, M. V. HARBOE ZB, LADELUND S, SKOV R, GERSTOFT J, PEDERSEN C, LARSEN CS, OBEL N, KRONBORG G, BENFIELD T. Major but differential decline in the incidence of *Staphylococcus aureus* bacteremia in HIV-infected individuals from 1995 to 2007: **a nationwide cohort study**. HIV Medicine, v.13, p.45–53, 2012.

LEE, L. K., WIN, M. K., VEERARAGHAVAN, M. A., WONG, C. S., CHOW, A. L., e LEO, YEE-SIN. Short Communication. Risk factors for Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* colonization among HIV patients at hospital admission. Aids Research and Human Retroviruses. V. 29p. 796-798, 2013.

LEUNG, N. S., PADGETT, P., ROBINSON, D. A. and BROWN, E. L. Prevalence and behavioural risk factors of *Staphylococcus aureus* colonization in community-based injection drugs users. Epidemiol. Infect. V. 143. P. 2430-2439, 2015

MATHEWS, Wm. C., Caperna, J. C., Edward Barber, R., Torriani, F. J., Miller, L. G., May, S., McCutchan, J. A. Incidence of and risk factors for clinically significant Methicillin-

Resistant *Staphylococcus aureus* infection in a cohort of HIV-infected adults. Clinical Science. J Acquir Immune Defic Syndr \_ Volume 40, N. 2. P. 155-160, 2005.

MEJÍA C., ZURITA, J., GUZMÁN-BLANCO, M.. Epidemiologia e vigilância de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina na América Latina, Braz J Infect Dis; Vol 14, S79-S86, 2010.

MILLER, M. CESPEDES, C., BHAT, M., VAVAGIAKIS, P. et al. Incidence and Persistence of *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization in a Community Sample of HIV-Infected and Uninfected Drugs Users. Clinical Infectious Diseases. 45, p. 343-346, 2007.

MCDONALD, L. C., LAUDERDALE T. L., LO H. J., TSAI J. J., HUNG C. C. Colonization of HIV-infected outpatients in Taiwan with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* International Journal of STD & AIDS, v.14, p. 473–477, 2003.

PETINAKI E, ARVANITI A, DIMITRACOPOULOS G et al. Detection of *mecA*, *mecR1* and *mecI* genes among clinical isolates of methicillin-resistant staphylococci by combined polymerase chain reactions. J Antimicrob Chemother 47(3): 297-304, 2001.

POPOVICH, K. J., WEINSTEIN R. A., AROUTCHEVA A, RICE T, HOTA B.. Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* and HIV: Intersecting Epidemics. Clinical Infectious Diseases, v. 50, p. 979–987, 2010.

RAMSETTY, S. K. STUART LL, BLAKE R. T., PARSONS C. H., SALGADO C. D.. Risks for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization or infection among patients with HIV infection. HIV Medicine, v. 11, 389–394, 2010.

REINATO, L. A. F. PIO, D. P. M., LOPES, L. P., PEREIRA, F. M. V., LOPES, A. E. R., GIR, E.. Colonização nasal por *Staphylococcus aureus* em indivíduos com HIV/aids atendidos em um hospital-escola brasileiro Rev Latino-Americana de Enfermagem V. 21, p. 1235-1239, 2013.

SHET, A. MATHEMA B, MEDIAVILLA JR, KISHII K, et al. Colonization and Subsequent Skin and Soft Tissue Infection Due to Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in a Cohort of Otherwise Healthy Adults Infected with HIV Type 1. *The Journal of Infectious Diseases*; v. 200:88–93, 2009.

TUMBARELLO, M. DE GAETANO D. K, TACCONELLI E, CITTON R, SPANU T, LEONE F, FADDA G, CAUDA R.. Risk factors and predictors of mortality of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) bacteremia in HIV-infected patients. *J Antimicrob Chemother*, v.50, p. 375-382, 2002.

VYAS J. K. Shadyab, A. H., Lin, C. D., Crum-Cianflone, N. F.. Trends and Factors Associated with Initial and Recurrent Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Skin and Soft-Tissue Infections among HIV-Infected Persons: An 18-Year Study. *Journal of The International Association of Providers of AIDS Care (JIAPAC)*. V.13, P. 206-213, 2014.

ZERVOU, F. N. ZACHARIOUDAKIS, I. M. ZIAKAS, P. D. et al. Prevalence of and risk factors for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in HIV infection: A meta-Analise of studies. *Clinical Infectious Diseases Advance*. 2014.

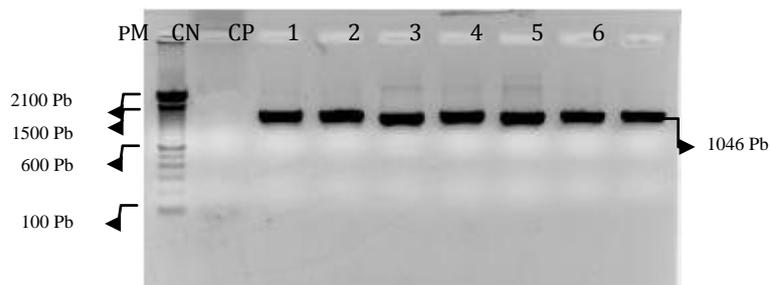


Figura 1: Produto de amplificação de PCR do gene *mecA* isolados de PVHA ambulatoriais migrado em gel de agarose 1%. PM: Marcador de peso molecular DNA Ladder; CN: controle negativo; CP: controle positivo; Poços 1 – 6 produto de DNA amplificado.

Tabela 1. Perfil de susceptibilidade antimicrobiana dos isolados de MRSA segundo classes antimicrobianas em PVHA atendidos no Serviço de DIP do HC/UFPE.

Amostras	Resistência à Antimicrobianos
SN 65	ERI, CLI, PEN
SN 109	CFO, CLO, GEN, ERI, CLI, PEN, SUT
SN 111	ERI, PEN, SUT
SN 133	CFO, CLO, CLI, PEN
SN 170	CFO, CLO, CIP, GEN, ERI, CLIN, PEN, SUT
SN 172	CFO, GEN, ERI, CLI, PEN, SUT
SN 193	CFO, GEN, ERI, CLI, PEN, SUT
SN 211	CFO, PEN
SN 241	CFO, ERI, PEN, SUT
SN 300	CFO, CLO, PEN
SN 333	CFO, CLO, PEN, SUT
SN 334	CFO, CLO, CIP, GEN, CLI, ERI, PEN, SUT
SN 335	CFO, CLI, PEN
SN 338	CFO, CIP, GEN, ERI, CLI, PEN, SUT
SN 407	CFO, CLO, CIP, ERI, PEN, SUT
SN 427	CFO, CLO, CIP, ERI, PEN, SUT
SN 436	CFO, CLO, CIP, GEN, ERI, CLI, PEN, SUT
SN 442	CFO, CIP, GEN, ERI, CLI, PEN, SUT
SN 475	ERI, CLI, PEN, SUT
SN 484	GEN, PEN
SN 487	ERI, CLI, PEN, SUT
SN 500	PEN

\*CFO-cefoxitina, CLO – clorafenicol, CIP-ciprofloxacino, GEN, gentamicina, CLI-clindamicina, ERI, eritromicina, PEN, penicilina, SUT-sulfametoxazol-trimetoprim.

Tabela 2. Prevalência da colonização nasal por *Staphylococcus aureus* e MRSA de PVHA atendidas no Serviço de DIP do HC/UFPE.

<b>Colonização nasal</b>	<b>Número</b>	<b>Prevalência (%)</b>	<b>IC(95%)</b>
<b><i>S aureus</i></b>			
Positivo	157	31,4	27,3 – 35,5
Negativo	343	68,6	-
<b>MRSA</b>			
Positivo	22	14,0	8,5 – 19,5
Negativo	135	86,0	

\*IC – Intervalo do confiança de 95%

Tabela 3. Associação da positividade de MRSA e MSSA segundo fatores biológicos e socioeconômicos das PVHA atendidas no Serviço de DIP do HC/UFPE.

Variáveis	Todos os pesquisados	Colonização por <i>Staphylococcus aureus</i>		OR (IC 95%)	p-valor
		MRSA	MSSA		
<b>Biológicas</b>					
<b>Sexo</b>					
Masculino	106 (67,5%)	12 (11,3%)	94 (88,7%)	1,0	-
Feminino	51 (32,5%)	10 (19,6%)	41 (80,4%)	1,91 (0,76 – 4,77)	0,166
<b>Idade</b>					
Média ± dp	41,5 ± 11,5	42,8 ± 11,4	41,3 ± 11,6	1,01 (0,97 – 1,05)	0,578
<b>Faixa etária</b>					
Menos de 40 anos	66 (42,0%)	7 (10,6%)	59 (89,4%)	1,0	-
40 anos ou mais	91 (58,0%)	15 (16,5%)	76 (83,5%)	1,66 (0,64 – 4,34)	0,298
<b>Cor da pele</b>					
Branca	41 (26,1%)	8 (19,5%)	33 (80,5%)	1,0	-
Parda	79 (50,3%)	11 (13,9%)	68 (86,1%)	0,67 (0,24 – 1,82)	0,428
Negra	37 (23,6%)	37 (8,1%)	34 (91,9%)	0,36 (0,09 – 1,49)	0,160
<b>Socioeconômico</b>					
<b>Sabe ler e escrever</b>					
Sim	147 (93,6%)	19 (12,9%)	128 (87,1%)	1,0	-
Não	10 (6,4%)	3 (30,0%)	7 (70,0%)	2,89 (0,69 – 12,1)	0,148
<b>Escolaridade</b>					
Ensino médio ou superior	82 (52,2%)	12 (14,6%)	70 (85,4%)	1,0	-
Fundamental completo	47 (29,9%)	3 (6,4%)	44 (93,6%)	1,94 (0,68 – 5,56)	0,215
Fundamental incompleto	28 (17,8%)	7 (25,0%)	21 (75,0%)	0,40 (0,11 – 1,49)	0,171
<b>Renda familiar</b>					
Menos de 1 SM	64 (42,4%)	13 (20,3%)	51 (79,7%)	1,0	-
De 1 a 2 SM	45 (29,8%)	5 (11,1%)	40 (88,9%)	0,49 (0,16 – 1,49)	0,209
Mais de 2 SM	42 (27,8%)	4 (9,5%)	38 (90,5%)	0,41 (0,12 – 1,37)	0,148

<sup>a</sup> Associação estatisticamente significativa (p < 0,05)

Tabela 4 Associação da positividade de MRSA E MSSA segundo fatores relacionados a hábitos e relacionados ao HIV das PVHA atendidas no Serviço de DIP do HC/UFPE.

Variáveis	Todos os pesquisados	Colonização por <i>Staphylococcus aureus</i>		OR (IC 95%)	p-valor
		MRSA	MSSA		
<b>Hábitos</b>					
<b>Atividade física</b>					
Sim	54 (34,4%)	6 (11,1%)	48 (88,9%)	1,0	-
Não	103 (65,6%)	16 (15,5%)	87 (84,5%)	1,47 (0,54 – 4,00)	0,450
<b>Etilismo</b>					
Nunca bebeu	10 (6,4%)	2 (20,0%)	8 (80,0%)	1,0	-
Etilista	56 (35,7%)	9 (16,1%)	47 (83,9%)	0,77 (0,14 – 4,21)	0,759
Ex-etilista	91 (57,9%)	11 (12,1%)	80 (87,9%)	0,55 (0,10 – 2,93)	0,484
<b>Tabagismo</b>					
Não	119 (75,8%)	14 (11,8%)	105 (88,2%)	1,0	-
Sim	38 (24,2%)	8 (21,1%)	30 (78,9%)	2,00 (0,78 – 5,21)	0,156
<b>Drogas ilícitas</b>					
Não	108 (69,2%)	16 (24,8%)	92 (75,2%)	1,0	-
Sim	48 (30,8%)	6 (12,5%)	42 (87,5%)	0,82 (0,30 – 2,25)	0,702
<b>Relacionado ao HIV</b>					
<b>Tem AIDS</b>					
Sim	101 (66,4%)	11 (10,9%)	90 (89,1%)	1,0	-
Não	51 (33,6%)	11 (21,6%)	40 (78,4%)	2,25 (0,90 – 5,61)	0,082
<b>Uso de ARV</b>					
Sim	147 (93,6%)	19 (12,9%)	128 (87,1%)	1,0	-
Não	10 (6,4%)	3 (30,0%)	7 (70,0%)	2,89 (0,69 – 12,1)	0,148
<b>Carga viral atual</b>					
≤ 100 cópias	117 (79,1%)	15 (12,8%)	102 (87,2%)	1,0	-
De 101 a 100.000	29 (19,6%)	6 (20,7%)	78 (79,3%)	1,77 (0,62 – 5,06)	0,284
> 100.000 cópias	2 (1,3%)	0 (-)	16 (100%)	Não calculado	-
<b>CD4 atual</b>					
≥ 200	138 (92,0%)	20 (14,5%)	118 (85,5%)	1,0	-
< 200	12 (8,0%)	2 (16,7%)	10 (83,3%)	1,18 (0,24 – 5,78)	0,838
<b>CD4 Nadir</b>					

≥ 200	94 (62,6%)	13 (13,8%)	81 (86,2%)	1,0	-
< 200	57 (37,4%)	9 (15,8%)	48 (84,2%)	1,17 (0,46 – 2,94)	0,741
<b>Uso prévio de antibiótico</b>					
Sim	33 (21,0%)	6 (18,2%)	27 (81,8%)	1,0	-
Não	124 (79,0%)	16 (12,9%)	108 (87,1%)	0,67 (0,24 – 1,86)	0,440

<sup>a</sup> Associação estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ )

Tabela 5. Associação da positividade por *Staphylococcus aureus* segundo fatores relacionados a Comorbidades e co-infecções das PVHA atendidos em regime ambulatorial no Serviço de DIP do HC/UFPE.

Variáveis	Todos os pesquisados	Colonizados por <i>Staphylococcus aureus</i>		OR (IC 95%)	p-valor
		MRSA	MSSA		
<b>Comorbidades</b>					
<b>Diabetes</b>					
Não	140 (91,5%)	18 (12,9%)	122 (87,1%)	1,0	-
Sim	13 (8,5%)	4 (30,8%)	9 (69,2%)	3,01 (0,84 – 10,8)	0,091
<b>Doenças no fígado</b>					
Não	144 (92,9%)	22 (15,3%)	122 (84,7%)	1,0	-
Sim	11 (7,1%)	0 (-)	11 (100%)	Não calculado	0,162
<b>Hemodiálise</b>					
Não	151 (98,1%)	21 (13,9%)	130 (86,1%)	1,0	-
Sim	3 (1,9%)	1 (33,3%)	2 (66,7%)	3,09 (0,27 – 35,6)	0,365
<b>Câncer</b>					
Não	150 (97,4%)	22 (14,0%)	129 (86,0%)	1,0	-
Sim	4 (2,6%)	0 (-)	4(100%)	Não calculado	0,421
<b>Co-infecções</b>					
<b>Sífilis</b>					
Não	129 (82,2%)	21 (16,3%)	108 (83,7%)	1,0	-
Sim	28 (17,8%)	1 (3,6%)	27 (96,4%)	0,19 (0,02 – 1,48)	0,113
<b>Herpes genital</b>					
Não	125 (79,6%)	20 (16,0%)	105 (84,0%)	1,0	-
Sim	32 (20,4%)	2 (6,3%)	67 (93,3%)	0,35 (0,08 – 1,58)	0,173
<b>HPV</b>					
Não	146 (93,0%)	20 (13,7%)	126 (86,3%)	1,0	-
Sim	11 (7,0%)	2 (18,2%)	9 (81,8%)	1,40 (0,28 – 6,95)	0,681
<b>Gonorréia</b>					
Não	137 (87,3%)	18 (13,1%)	119 (86,9%)	1,0	-
Sim	20 (12,7%)	4 (20,0%)	16 (80,0%)	1,65 (0,50 – 5,50)	0,413

<sup>a</sup> Associação estatisticamente significativa (p < 0,05)



## 8. CONCLUSÕES

- A prevalência da colonização nasal por *Staphylococcus aureus* foi relativamente baixa, porém de MRSA foi alta em pessoas vivendo com HIV/aids.
- O perfil de susceptibilidade antimicrobiana dos isolados de *S aureus* mostrou que a maioria dos isolados são considerados multirresistente, sendo resistentes a mais de duas classes de antimicrobianos.
- As variáveis mencionadas no estudo para verificar a associação entre a colonização nasal por MRSA não foram consideradas fator de risco.
- A presença do gene de resistência *mecA*, foi observada em todos isolados que apresentaram resistência presuntiva de MRSA.

## **9. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Apesar de a colonização por MRSA não ter sido associada com as variáveis mencionadas nesse estudo, não atuando como fator de risco nos pacientes vivendo com HIV/aids, o estudo desempenha um papel importante contribuindo para a vigilância e controle de infecções, além de fornecer subsídios para a profilaxia e o tratamento de infecções nessa população.



## 10. PERSPECTIVAS

- Caracterização molecular, incluindo a identificação dos tipos de SCCmec dos isolados de MRSA *mecA* positivos.
- Identificar a relação clonal dos isolados de MRSA *mecA* positivos em indivíduos com HIV.



## REFERÊNCIAS

ASKARIAN, M. ZEINALZADEH A, JAPONI A, ALBORZI A, MEMISH Z.A. Prevalence of nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and its antibiotic susceptibility pattern in healthcare workers at Namazi Hospital, Shiraz, Iran. *International Journal of Infectious Diseases*. V.13, p. 241-247, 2009.

BOUCHER, H. W. e COREY, G. R. Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Clinical Infectious Diseases*; v.46, p.344–349, 2008.

BRASIL, Ministério da Saúde - Secretaria de Vigilância em Saúde - Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Boletim Epidemiológico - Aids e DST Ano II - nº 1, 2013

BRAUNWALD, E. et al., Harrison Medicina Interna. 15. Ed. Rio de Janeiro: Mcgraw-Hill Interamericana do Brasil, 2002.

CAVALCANTI, S. M. M., de França, E. R., CABRAL, C., VILELA, M. A., et al. Prevalence of *Staphylococcus aureus* Introduced into Intensive Care Units of a University Hospital, *The Brazilian Journal of Infectious Diseases* , v. 9, p. 56-63, 2005.

CDC, Outpatient management of skin and soft tissue infections in the era of community-associated MRSA. SDA:07-0827:10/07:df, 2007.  
[www.cdc.gov/mrsa/community//clinicians/index.html](http://www.cdc.gov/mrsa/community//clinicians/index.html)

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, sixteenth informational supplement, document M100-S20. Wayne, PA, USA: V.34, N 01 CLSI, (2014).

CLUM-CIANFLONE, N., WEEKES, J., BAVARO, M.. Recurrent community associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* infections among HIV persons: Incidence and risk factors. *AIDS patient care STDS*. V 23, p 499-502, 2009.

CLUM-CIANFLONE, N. F., WANG, X. WEINTROB, A. et al., Specific Behaviors Predict *Staphylococcus aureus* Colonization and Skin and Soft Tissue Infections Among Human Immunodeficiency Virus- Infected Persons. *Open Forum Infectious Diseases*. Major Article. V. 34 2(2), 2015.

DIEP, B. A., CHAMBERS, H. F., GRABER, C.J., SZUMOWSKI, J. D., MILLER, L.G. Emergence of Multidrug-Resistant, Community-Associated, Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Clone USA300 in Men Who Have Sex with Men. *Annals of Internal Medicine* 148:249-257, 2008.

DINGES M. M., ORWIN P. M., SCHLIEVERT P. M. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbial Rev.* V. 13, p. 16-34, 2000.

FARLEY, J. E., MATTHEW J. H., SACAMANO, P. L. et al. Prevalence and risk factors for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in an HIV-positive cohort. *American Journal of Infection Control.*v. 43, p. 329-335, 2015.

FRANKLIN, et. al. *Staphylococcus aureus* infections. *The New England Journal of Medicine.* V. 339, Nº 8, P. 520-532, 1998.

FREITAS, M. F. L., Luz, I. S., Silveira-Filho, V. M. et al. Staphylococcal toxin genes in strains isolated from cows with subclinical mastitis. *Pesq Vet Bras* 28(12): 617-621, 2008.

GALIANA, A. V. Infección por *Staphylococcus aureus* metilino resistente adquirido en la comunidad. *Arch. Pediatr. Urug.* vol.74 no.1 Montevideo, p. 26-29, 2003.

GARCIA-ALVAREZ L, Holden MTG, Lindsay H et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mecA* homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. *Lancet Infect Dis.* V.11: 595–603, 2011.

GELATTI, L. C., BONAMIGO, R. R., BECKER, A. P., D'AZEVEDO, P. A.. *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina: disseminação, emergente na comunidade, *An Bras Dermatol*, v. 84(5), p. 501-506, 2009.

GUS, W. K. et al. Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*—containing cutaneous abscesses of patients with HIV. *American Journal of Emergency Medicine*, V. 27, p.344–347, 2009.

HEMMIGE, V., MCNULTY, M., SILVERMAN, E., DAVID, M. Z.. Recurrent skin and soft tissue infections in HIV-infected patients during a 5-year period: incidence and risk factors in a retrospective cohort study. *BMC Infectious Diseases* 15:455, 2015.

HETEM, D. J.; Bootsma, M. C. J. e Bonten, M. J. M. Prevention of Surgical Site Infections: Decontamination With Mupirocin Based on Preoperative Screening for *Staphylococcus aureus* Carriers or Universal Decontamination? *Clinical Infectious Diseases*. V. 2, n 5,631-636, 2016.

HIDRON, A. I., KOURBATOVA E.V., HALVOSA J.S., TERRELL B.J., MCDUGAL L.K., TENOVER F.C., BLUMBERG H.M., KING M.D.. Risk Factors for Colonization with Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Patients Admitted to an Urban Hospital: Emergence of Community-Associated MRSA Nasal Carriage. *Clinical Infectious Diseases*, V. 41, P.159–66, 2005.

HIRAMATSU, K., KONDO, N., ITO, T., Genetic Basis for Molecular Epidemiology of MRSA, *J. Infect Chemother*, V. 2, p. 117 – 129, 1996.

IMAZ, A., PUJOL, M.; BARRAGÁN, P. DOMÍNGUEZ, M. A.; TIRABOSCHI, J. M.; PODZAMCZER. D. Community associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in HIV-infected patients. *AIDS*. Rev. v. 12, p. 153-163, 2010.

IMAZ, A., CAMOEZ M, DI YACOVO, S.; GASCH, O.; DOMINGUEZ, M. A.; VILA, A.; MASO-SERRA, M. PUJOL, M.; PODZAMCZER, D. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in HIV-infected patients in Barcelona, Spain: a cross-sectional study. *BMC Infectious Diseases*.15:243, 2015.

INTERNATIONAL WORKING GROUP ON THE CLASSIFICATION OF STAPHYLOCOCCAL CASSETTE CHROMOSOME ELEMENTS (IWG-SCC). Classification of staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec): guidelines for reporting novel SCCmec elements. *Antimicrob Agents Chemother* . v.53: 4961–7, 2009.

KAKA, A. S., RUEDA AM, SHELBURNE S. A. HULTEN K, HAMILL RJ, MUSER DM. Bactericidal activity of orally available agents against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Antimicrob Chemother*. V 58(3):680-683, 2006 .

KLUYTMANS, J, VAN BELKUM A, VERBRUGH H.. Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus*: Epidemiology, Underlying Mechanisms, and Associated Risks. *Clinical Microbiology Reviews*, Vol. 10, No. 3, p. 505–520, 1997.

KUEHNERT, M. J., KRUSZON-MORAN, D., HILL, H. A., et al., Prevalence of *Staphylococcus aureus* nasal colonization in the United States. 2001-2002. *J. Infect Dis.* 193:172-179, 2006.

KYAW, W. M., LEE, L. K., SIONG, W. C., LI PING, A. C., ANG, B. and LEO, Y. S. Prevalence of and risk factors for MRSA colonization in HIV-positive outpatients in Singapore. *Aids Reseach and Therapy*, 9:33, 2012.

KONEMAN E. W, ALLEN, S. D, JANDA, W. M. et al. Diagnóstico microbiológico. Texto e Atlas colorido. 6<sup>a</sup> ed. MEDSI. Rio de Janeiro, p.551-579, 2008.

LARSEN, M. V. HARBOE ZB, LADELUND S, SKOV R, GERSTOFT J, PEDERSEN C, LARSEN CS, OBEL N, KRONBORG G, BENFIELD T. Major but differential decline in the incidence of *Staphylococcus aureus* bacteremia in HIV-infected individuals from 1995 to 2007: **a nationwide cohort study**. *HIV Medicine*, v.13, p.45–53, 2012.

LEE, L. K., WIN, M. K., VEERARAGHAVAN, M. A., WONG, C. S., CHOW, A. L., e LEO, YEE-SIN. Short Communication. Risk Factors for Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Colonization Among HIV Patients at Hospital Admission. *Aids Research and Human Retroviruses*. V. 29p. 796-798, 2013.

LEUNG, N. S., PADGETT, P., ROBINSON, D. A. and BROWN, E. L. Prevalence and behavioural risk factors of *Staphylococcus aureus* colonization in community-based injection drugs users. *Epidemiol. Infect.* V. 143. P. 2430-2439, 2015

LIMA, D. C., ABREU, P.A., FREITAS, C.C., et al. Snake Venom: any clue for antibiotics and cam? *Evid Based Complement Alternat Med*, v. 2, p. 39-47, 2005.

LOPES H. V., CA-MRSA: um novo problema para o infectologista. *Rev Panam Infectol* 2005;7(3):34-36, 2005.

MADIGAN et al. Microbiologia de MADIGAN. 12ª edição, Porto Alegre, Ed. Artmed, 2010.

MATHEWS, Wm. C., Caperna, J. C., Edward Barber, R., Torriani, F. J., Miller, L. G., May, S., McCutchan, J. A. Incidence of and Risk Factors for Clinically Significant Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infection in a Cohort of HIV-Infected Adults. Clinical Science. J Acquir Immune Defic Syndr \_ Volume 40, N. 2. P. 155-160, 2005.

MCDONALD, L. C., et al. Colonization of HIV-infected outpatients in Taiwan with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* International Journal of STD & AIDS, v.14, p. 473–477, 2003.

MEJÍA C. et al. Epidemiologia e vigilância de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina na América Latina, Braz J Infect Dis; Vol 14, S79-S86, 2010.

MILLER, M. CESPEDES, C., BHAT, M., VAVAGIAKIS, P. et al. Incidence and Persistence of *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization in a Community Sample of HIV-Infected and Uninfected Drugs Users. Clinical Infectious Diseases. 45, p. 343-346, 2007.

MOELLERING R. C. Jr. MRSA: the first half century. Journal of Antimicrob Chemother v. 67, p. 4–11, 2012.

MOUSSALLEM, B. C., KURY, C. M. H., MEDINA-ACOSTA, E. Detecção dos genes *mecA* e *femA*, marcadores moleculares de resistência a meticilina, em *Staphylococcus* spp. isolados de pacientes admitidos em uma Unidade Neonatal de Tratamento Inensivo. Revista Científica da FMC. Vol. 2, Nº 2, 2007.

OLIVIA di A.; LICHTNER, M.; MASCELLINO, M. T.; IANNETTA, M. et al., Study of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) carriage in a population of HIV-negative migrants and HIV-infected patients attending an outpatient clinic in Rome. Annali Igiene Medicina preventiva e di comunità. V. 25, n 2, 99-107, 2013.

OPLUSTIL, et al. Procedimentos básicos em microbiologia clínica. 2 ed. Rev. e ampl., Ed. Sarvier, São Paulo, 2004.

GÓMEZ P.; GONZÁLEZ-BARRIO, D.; BENITO, D.; GARCÍA, J. T.; VIÑUELA, J.; ZARAZAGA, M.; RUIZ-FONS. F.; TORRES, C. Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) carrying the *mecC* gene in wild small mammals in Spain. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. v. 69, n 8, p. 2061-2064, 2014

PETINAKI E, ARVANITI A, DIMITRACOPOULOS G., et al. Detection of *mecA*, *mecRI* and *mecI* genes among clinical isolates of methicillin-resistant staphylococci by combined polymerase chain reactions. *J Antimicrob Chemother* 47(3): 297-304, 2001.

POPOVICH, K. J., et al. Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* and HIV: **Intersecting Epidemics**. *Clinical Infectious Diseases*, v. 50, p. 979–987, 2010.

RAMSETTY, S. K. et al. Risks for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization or infection among patients with HIV infection. *HIV Medicine*, v. 11, 389–394, 2010.

REINATO, L. A. F. et al. Colonização nasal por *Staphylococcus aureus* em indivíduos com HIV/Aids atendidos em um hospital-escola brasileiro *Rev. Latino-Americana de Enfermagem* V. 21, p. 1235-1239, 2013.

RODRIGUES, J. J. S.; SILVA, R. C.; SIQUEIRA, M. M.; Técnicas de biologia Molecular Aplicadas ao Diagnóstico. ROSSETTI, M. L.; SILVA, C. M. D.; RODRIGUES, J. J. S. *Doenças Infecciosas: Diagnóstico Molecular*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

SANGER, F., NICKLEN, S. e COULSON, A. R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors (DNA polymerase/nucleotide sequences/bacteriophage 4X174). *Proc. Nati. Acad. Sci. USA* v. 74, N. 12, p. 5463-5467, 1977.

SEYBOLD, U., KOURBATOVA, E. V., JOHNSON, J. G., HALVOSA, S. J., WANG, Y. F., KING, M. et al. Emergence of Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* USA300 Genotype as a Major Cause of Health Care–Associated Blood Stream Infections. *Clinical Infectious Diseases*; v. 42, p. 647–56, 2006.

SINA, H. AHOYO TA, MOUSSAOUI W, KELLER D, et al. Variability of antibiotic susceptibility and toxin production of *Staphylococcus aureus* strains isolated from skin tissue, and bone related infections. *BMC Microbiology*, 13:188, 2013

SHET, A. MATHEMA B, MEDIAVILLA JR, KISHII K, et al. Colonization and Subsequent Skin and Soft Tissue Infection Due to Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in a Cohort of Otherwise Healthy Adults Infected with HIV Type 1. *The Journal of Infectious Diseases*; v. 200:88–93, 2009.

SZUMOWSKI, J. D. et al.. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Colonization, Behavioral Risk Factors, and Skin and Soft-Tissue Infection at an Ambulatory Clinic Serving a Large Population of HIV-Infected Men Who Have Sex with Men, *Clinical Infectious Diseases* v. 49, p. 118–121, 2009.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F.. *Microbiologia* 5º ed. Ed. Atheneu, São Paulo, 2008.

TUMBARELLO, M. DE GAETANO D. K, TACCONELLI E, CITTON R, SPANU T, LEONE F, FADDA G, CAUDA R.. Risk factors and predictors of mortality of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) bacteremia in HIV-infected patients. *J Antimicrob Chemother*, v.50, p. 375-382, 2002.

UNAIDS. Report the global HIV/AIDS epidemic – janeiro – 2016. World Health Organization. UNAIDS/ <http://www.unaids.org.br/> 2015. data de acesso 10/02/2016.

UNAIDS, Report the global HIV/AIDS epidemic – janeiro 2016. <http://www.unaids.org/en/resources/campaigns/HowAIDSchangedeverything/factsheet> Data de acesso 10/02/2016.

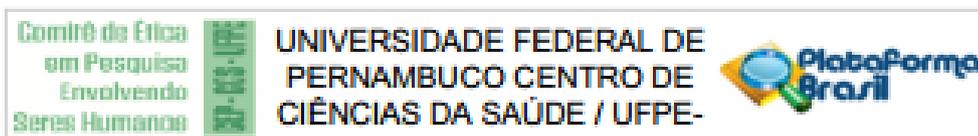
VELÁZQUEZ-MEZA, M. E. *Staphylococcus aureus* methicillin-resistant: emergence and dissemination. *Salud Pública de México*, v. 47, p. 381-7, 2005.

VYAS J. K. Shadyab, A. H., Lin, C. D., Crum-Cianflone, N. F.. Trends and Factors Associated with Initial and Recurrent Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Skin and Soft-Tissue Infections among HIV-Infected Persons: An 18-Year Study. *Journal of The International Association of Providers of AIDS Care (JIAPAC)*. V.13, P. 206-213, 2014.

ZERVOU, F. N. ZACHARIOUDAKIS, I. M. ZIAKAS, P. D. et al. Prevalence of and risk factors for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in HIV infection: A meta-Analysis of studies. Clinical Infectious Diseases Advance. 2014.



## APÊNDICE



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** PREVALÊNCIA E FATORES ASSOCIADOS À COLONIZAÇÃO NASAL POR *Staphylococcus aureus* RESISTENTE À METICILINA EM PACIENTES VIVENDO COM HIV/AIDS EM HOSPITAL DE CUIDADOS TERCIÁRIOS NO ESTADO DE PERNAMBUCO-BRASIL

**Pesquisador:** Cynthia Regina Pedrosa Soares

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 27567014.6.0000.5308

**Instituição Proponente:** CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 648.621

**Data da Relatoria:** 21/05/2014

**Apresentação do Projeto:**

Indicado na relatoria inicial.

**Objetivo da Pesquisa:**

Indicado na relatoria inicial.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Indicado na relatoria inicial.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Indicado na relatoria inicial.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Indicado na relatoria inicial.

**Recomendações:**

Síncrona.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Aprovado.

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do CCS  
 Bairro: Cidade Universitária CEP: 50.740-900  
 UF: PE Município: RECIFE  
 Telefone: (011)2126-8588 Fax: (011)2126-8588 E-mail: cepccc@ufpe.br

<p>Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Serres Humanos</p>	<p>50-033-UFPE</p>	<p>UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE / UFPE-</p>	
--	--------------------	---	--

Continuação do Parecer: 6464/11

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

O Colegiado aprova o parecer do protocolo em questão e o pesquisador está autorizado para iniciar a coleta de dados.

Projeto foi avaliado e sua APROVAÇÃO definitiva será dada, após a entrega do relatório final, na PLATAFORMA BRASIL, através de "Notificação " e, após apreciação, será emitido Parecer Consubstanciado .

RECIFE, 14 de Maio de 2014

---

Assinado por:  
GERALDO BOSCO LINDOSO COUTO  
(Coordenador)

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do CCS			
Bairro: Cidade Universitária		CEP: 50.740-600	
UF: PE	Município: RECIFE		
Telefone: (81)2126-8588	Fax: (81)2126-8588	E-mail: cepcca@ufpe.br	



### CARTA DE ANUÊNCIA

Recife, 11 de Fevereiro de 2014.

Autorizamos a realização do estudo "Prevalência e fatores associados à colonização nasal por *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina em pacientes vivendo com HIV/aids em hospital de cuidados terciários no estado de Pernambuco/Brasil", a ser realizado nas unidades ambulatorial e de internamento do Serviço de Doenças Infecciosas e Parasitárias do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco.

Prof.<sup>o</sup> Paulo Sérgio Ramos Araújo  
Chefe Serviço - Doença Infecciosa e Parasitárias  
HC/UFPE - CNPq-11049-3/APE-220989

*Paulo Sérgio Ramos de Araújo*  
Prof. Paulo Sérgio Ramos de Araújo, MD, PhD

Chefe do Serviço de DIP HC/UFPE



Convidamos o (a) Sr. (a) para participar como voluntário (a) da pesquisa PREVALÊNCIA E FATORES ASSOCIADOS À COLONIZAÇÃO NASAL POR *Staphylococcus aureus* RESISTENTE À METICILINA EM PACIENTES VIVENDO COM HIV/Aids EM HOSPITAL DE CUIDADOS TERCIÁRIOS NO ESTADO DE PERNAMBUCO-BRASIL, que está sob a responsabilidade da pesquisadora Cynthia Regina Pedrosa Soares, Campus da UFPE - Av. Moraes Rego, s/n - CEP: 50670-420, Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical, Recife - PE – Brasil. Telefone e e-mail para contato (81) 9214-0838 – cynthiaregina@msn.com e está sob a orientação de Dr<sup>a</sup>. Maria Amélia Vieira Maciel, contato: (81) 2101-2689, e-mail: amelia57@gmail.com. Este Termo de Consentimento pode conter alguns tópicos que o (a) senhor (a) não entenda. Caso haja alguma dúvida, pergunte à pessoa a quem está lhe entrevistando, para que seja bem esclarecido (a) sobre tudo que está respondendo. Após ser esclarecido (a) sobre as informações a seguir, caso aceite em fazer parte do estudo, rubriche as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa o (a) Sr. (a) não será penalizado (a) de forma alguma. Também garantimos que o (a) Senhor (a) tem o direito de retirar o consentimento da sua participação em qualquer fase da pesquisa, sem qualquer penalidade.

- Os seus dados clínicos serão coletados, incluindo informações referentes à residência, sexo, idade, uso de antimicrobianos, uso de drogas e infecções bacterianas recentes.
- Além destes dados, também será realizado a coleta da secreção nasal, através da introdução de cotonetes flexíveis e esterilizados, ou seja, cotonetes sem a presença de micróbios, fazendo leves movimentos circulares. Este é um procedimento rápido, cuja, duração da coleta de dados clínicos e a coleta da secreção nasal é de aproximadamente 5 minutos. E este será realizado apenas pela pesquisadora principal.
- Os riscos causados aos indivíduos durante a coleta da secreção nasal são mínimos, havendo apenas um leve desconforto, semelhante à cosegas nas mucosas interna das narinas, porém, esse desconforto não será prolongado, pois a coleta será rápida e simples. Também poderá ocorrer um possível constrangimento pelo (a) senhor (a) não saber ou não querer responder alguma pergunta sobre os dados clínicos. Esse risco poderá ser minimizado em virtude da pesquisa ser realizada em local reservado ou o questionário ser interrompido em qualquer momento.
- Informamos que esses exames poderão ser importantes para seu tratamento, pois o encontro do micróbio na região interna das narinas poderá desencadear medidas por parte do seu médico que dificultem o surgimento de infecções por esta bactéria.

As informações desta pesquisa serão confidenciais e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre a sua participação. Os dados coletados nesta pesquisa, ficarão armazenados no Laboratório do Departamento de Microbiologia da UFPE, sob a responsabilidade da pesquisadora e Orientadora do estudo no endereço acima informado pelo período de no mínimo 5 anos. O (a) senhor (a) não pagará nada para participar desta pesquisa. Fica garantida indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extra-judicial. Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE no endereço: (Avenida da Engenharia s/n – 1º Andar, sala 4 - Cidade Universitária, Recife-PE, CEP: 50740-600, Tel.: (81) 2126.8588 – e-mail: [cepccs@ufpe.br](mailto:cepccs@ufpe.br)).

\_\_\_\_\_  
(assinatura do pesquisador)

Eu, \_\_\_\_\_, após a leitura deste documento e ter esclarecido as minhas dúvidas com o pesquisador responsável, concordo em participar do estudo como voluntário (a). Fui devidamente informado (a) e esclarecido (a) pela pesquisadora sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade.

\_\_\_\_\_  
(Assinatura do participante)  
Recife, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

Impressão  
digital

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e o aceite do voluntário em participar.

Nome:	Assinatura:
Nome:	Assinatura:



## ANEXO

Avaliação dos fatores associados à colonização/infecção por <i>Staphylococcus aureus</i> em pacientes HIV-positivos em Hospital de cuidados terciários no Estado de Pernambuco - Brasil		
Data da entrevista: ____/____/____		1 - Nº do questionário:
INFORMAÇÕES PESSOAIS		
2 - Nº do Prontuário:	3 - Nome: _____ _____	
4 - Data de Nascimento: ____/____/____	5 - Idade: <input type="checkbox"/>	6 - Sexo: 1 - Masculino <input type="checkbox"/> 2 - Feminino <input type="checkbox"/>
PROCEDENCIA		
7 - Qual a cidade que você mora? _____	8 - Endereço: _____ _____	
9 - Nº <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	10 - Apt:	
11 - Bairro: _____	12 - Estado:	
13 - CEP: <input type="text"/> <input type="text"/>	14 - Tel: ( ) _____	15 - Cel: ( ) _____
CONDIÇÃO SÓCIO-ECONÔMICA		
16 - Qual é sua cor, ou grupo racial/ético?  1 Branca <input type="checkbox"/> 2 Parda <input type="checkbox"/> 3 Amarela <input type="checkbox"/> 4 Negro <input type="checkbox"/> 5 Preta <input type="checkbox"/> 6 Indígena <input type="checkbox"/> 7 Não sabe <input type="checkbox"/>	Qual seu estado Civil:  Solteiro(a) <input type="checkbox"/> Casado(a) <input type="checkbox"/> Separado(a) <input type="checkbox"/> Viúvo(a) <input type="checkbox"/> Divorciado(a) <input type="checkbox"/> Vive Junto <input type="checkbox"/> Recusou-se <input type="checkbox"/>	18 - Qual das seguintes alternativas melhor descreve o seu trabalho principal nos últimos 12 meses:  1 - Funcionário do governo <input type="checkbox"/> 2 - Emprego não governamental <input type="checkbox"/> 3 - Autônomo <input type="checkbox"/> 4 - Estudante <input type="checkbox"/> 5 - Dona de casa <input type="checkbox"/> 6 - Aposentado (a) <input type="checkbox"/> 7 - Desempregado (capaz de trabalhar) <input type="checkbox"/> 8 - Desempregado (incapaz de trabalhar) <input type="checkbox"/>
19 - Qual a sua ocupação? _____ _____	20 - Você sabe ler e escrever?  1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/> 3 - Recusou-se <input type="checkbox"/>	21 - Qual é o nível de educação que você completou?  1 Sem educação formal <input type="checkbox"/> 2 Menor que ensino primário <input type="checkbox"/> 3 Ensino primário completo <input type="checkbox"/> 4 Ensino secundário completo <input type="checkbox"/> 5 Ensino Médio completo <input type="checkbox"/> 6 Ensino superior incompleto <input type="checkbox"/> 7 Ensino superior completo <input type="checkbox"/> 8 Recusou-se <input type="checkbox"/>
22 - Quantas pessoas com idade superior a 18 anos, incluindo o mesmo, vivem em sua casa?  <input type="text"/> <input type="text"/>	23 - Qual a renda familiar somando todos os indivíduos que moram na sua casa? 1 - ≤ um salário mínimo <input type="checkbox"/> 2 - ≥ um salário mínimo ≤ 2 <input type="checkbox"/> 3 - ≥ 2 salários mínimo ≤ 3 <input type="checkbox"/> 4 - ≥ 3 salários mínimos ≤ 4 <input type="checkbox"/> 5 - ≥ 4 salários mínimos <input type="checkbox"/> 6 - Não sei <input type="checkbox"/> 7 - Recusou-se <input type="checkbox"/>	
HÁBITOS DE VIDA		
24 - Você pratica alguma atividade física: 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/> Se sim, qual(is)  1 - Academia de ginástica <input type="checkbox"/> 2 - Piscina <input type="checkbox"/> 3 - Sauna <input type="checkbox"/>	25 - Com que frequência você pratica tais (questão 24) atividades?  1 - Todos os dias da semana <input type="checkbox"/> 2 - 5 a 6 dias por semana <input type="checkbox"/> 3 - 1 a 4 dias por semana <input type="checkbox"/> 4 - 1 a 3 dias por semana <input type="checkbox"/> 5 - Não se aplica <input type="checkbox"/>	

4 - Taikodom (Esporte) 5 - Jiu jitsu (Esporte) 6- Outros - Qual(is) _____	
26 – Quanto tempo você costuma passar fazendo atividade física rigorosa num desses dias (questão 24)?  Horas por dia <input type="text"/> <input type="text"/> Não sabe <input type="checkbox"/>  Minutos por dia <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	27 – Quantos parceiros sexuais você teve nos últimos 12 meses?  <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>  <input type="checkbox"/> Não sabe <input type="checkbox"/> Recusou-se
28 – Você tem relações com:  1 – Só com homens <input type="checkbox"/> 2 – Só com mulheres 3 – Com homens e mulheres 4 – Não se aplica 5 – Recusou-se	29 - Quanto à parceria sexual, você:  1 - Possui múltiplos parceiros <input type="checkbox"/> 2 – Possui único parceiro(a) 3 – Parceiros(as) que usam drogas 4 – Parceiros(as) com HIV/AIDS 5 - Parceiros(as) Hemofílico 6 – Recusou-se 7 – Não sabe 8 - Nenhum
30 – Você possui tatuagem? 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não 3 - Não sabe Há quanto tempo? <input type="text"/> <input type="text"/> Anos  <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> Dias	31 – Você Possui piercing? 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não 3 - Não sabe Há quanto tempo? <input type="text"/> <input type="text"/> Anos  <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> Dias
<b>INFORMAÇÕES CORRELACIONADAS A HIV/AIDS</b>	
32– Há quanto tempo você ficou sabendo que tinha HIV/aids?  <input type="text"/> <input type="text"/> Anos <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> Dias	33 – Você toma algum remédio (coquetel) para tratar o HIV/aids? 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não 3 - Não sabe
34 – Esse é o primeiro esquema de coquetel que você usa?  1 Sim <input type="checkbox"/> 2 Não 3 Não sabe	35 – De duas semanas para cá você deixou de tomar algum dos comprimidos (coquetel) para o HIV? 1 Sim <input type="checkbox"/> 2 Não 3 Não sabe
<b>INFORMAÇÕES RELACIONADAS A OUTRAS DOENÇAS</b>	
36 – Você tem ou já teve alguma destas Doenças Sexualmente Transmissíveis? 1 – Sífilis <input type="checkbox"/> 2 – Herpes simples genital 3 – Gonorreia 4 – Tricomona 5 – Clamídia 6 - Cancro mole 7 – Papiloma vírus 8 - Não sabe 9 – Recusou-se 10 – Não 11 – Outra _____	37 - Você apresenta ou já apresentou alguma doença de pele nesses últimos 12 meses?  1 Sim <input type="checkbox"/> 2 Não 3 Não sabe  Se não, pule para questão 41
38 –A(s) lesão(ões) na pele apresentaram: 1 - Bolha <input type="checkbox"/> 2 -Acumulação de pus 3 - Crosta ou casca 4 - Coceira 5 – Outra Qual(is): _____	39 – Houve tratamento para essa lesão de pele?  1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não 3 - Não sabe

40 – Qual foi o medicamento usado para tratar a lesão na pele? _____ _____ _____ Não sabe <input type="checkbox"/>		41 - Alguém da sua família tem ou já teve nesses últimos 12 meses alguma lesão de pele? <input type="checkbox"/> 1 - Sim 2 - Não 3 - Não sabe Qual(is) _____	
42 – Você apresentou nos últimos 12 meses alguma destas doenças: 1 - Pneumonia 2 - Endocardite ou infecção do coração 3 - Meningite 4 - Osteomielite ou infecção nos ossos 5 - Insuficiência renal 6 - Não 7 – Outra 8 – Não sabe <input type="checkbox"/>		43 - Você é portador de Diabetes de melitus ou açúcar no sangue? 1 – Sim, há mais de 6 meses <input type="checkbox"/> 2 - Sim, há menos de 6 meses 3 - Não 4 – Não sabe	
44 - Você possui doença do fígado ou cirrose? 1 Sim, há mais de 6 meses <input type="checkbox"/> 2 Sim, há menos de 6 meses 3 Não 4 Não sabe		45 – Você faz hemodiálise? 1 Sim, há mais de 6 meses <input type="checkbox"/> 2 Sim, há menos de 6 meses 3 Não 4 Não sabe Se sim, há quanto tempo Anos <input type="text"/> <input type="text"/> Dias <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	
46 - Você tem Câncer ou linfoma nos últimos 12 meses? 1 Sim, há mais de 6 meses <input type="checkbox"/> 2 Sim, há menos de 6 meses 3 Não 4 Não sabe		47 – Você tem algumas dessas infecções na pele ? <input type="checkbox"/> 1 - Acne ou espinha 2 - Celulite ou erisipela 3 – Furúnculo ou abscesso 4 – Foliculite ou pé de cabelo 5 – Impetigo ou ferida 6 - outras Qual(is): 7 - Não	
INFORMAÇÕES			
48 – Nos últimos 12 meses você apresentou algum histórico de hospitalização? 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não		49 - Quantas vezes você foi internado nesses últimos 12 meses? <input type="text"/> <input type="text"/>	
50 - Quanto tempo você ficou internado? <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> Dias <input type="text"/> <input type="text"/> Meses		51 - Onde ficou internado (setor, departamento, hospital)? _____ _____ _____	
53 – Você fez uso de algum antibiótico nos últimos 12 meses? <input type="checkbox"/> 1 - Sim 2 - Não Qual:		54 – Você já interrompeu o tratamento com antibióticos por sua conta nesses últimos 12 meses? <input type="checkbox"/> 1 – Sim 2 - Não	
		55 - Você fez algum procedimento cirúrgico nos últimos 12 meses? <input type="checkbox"/> 1 Sim 2 Não 3 Não sabe Se sim, Qual(is): _____	
INFORMAÇÕES CORRELACIONADAS A DROGAS (álcool/tabaco/drogas ilícitas)			
56 – Você alguma vez consumiu bebida alcoólica?		57 – Você já consumiu bebida alcoólica nos últimos 12 meses?	
		58 - Durante os últimos 3 meses com que frequência você tem consumido bebida alcoólica? 1 – Todos os dias	

1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/> 3 - Recusou-se Se não, vá para 63	1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/> 3 - Recusou-se Se não, vá para 63	2 - Quase todos os dias <input type="checkbox"/> 3 - 3 a 5 dias por semana 4 - 1 a 2 dias por semana 5 - 2 a 3 dias por mês 6 - 1 vez por mês 7 - Menos de 1 vez por mês
59 - Você consumiu bebida alcoólica dentro dos últimos 30 dias  1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/> Se não, vá para a questão 63	60 - Durante os últimos 30 dias em quantas ocasiões você ingeriu bebida alcoólica?  <input type="text"/> <input type="text"/> Não sabe <input type="checkbox"/>	61 - Quais das bebidas você ingere com mais frequência?  1 - Cerveja <input type="checkbox"/> 2 - Cachaça 3 - Licor 4 - Vinho 5 - Whisky 6 - Outra - qual(is)
62 - Você está atualmente em tratamento para um problema com o álcool?  1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não		63 - Você fuma atualmente algum produto do tabaco, tais como cigarro, charuto, cachimbo?  1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não
64 - Em média quantos você fuma por dia?  1 - 1 a 10 cigarros (até meio maço por dia) 2 - 11 a 20 cigarros (meio a um maço) por dia 3 - Mais de 20 cigarros (mais de um maço) 4 - De 1 a 10 cigarros por semana 5 - Não sabe <input type="checkbox"/>	65 - Quantos anos você tinha quando começou a fumar?  <input type="text"/> <input type="text"/> Não sabe <input type="checkbox"/>	66 - Qual dos tipos abaixo você fuma:  1 - Cigarro de palha 2 - Cachimbo <input type="checkbox"/> 3 - Charuto 4 - Rapé 5 - Cigarrilha 6 - Fumo de rolo
67 - Você já experimentou:		
<b>Maconha</b> 1 - Nunca usou 2 - Fumei alguma vez na vida 3 - Fumei no último ano 4 - Não fumei no último ano 5 - Fumo constantemente  <input type="checkbox"/> Por quanto tempo? _____	<b>Cocaína</b> 1 - Nunca usou 2 - Usei alguma vez na vida 3 - Usei no último ano 4 - Não usei no último ano 5 - Uso constantemente  <input type="checkbox"/> Por quanto tempo? _____	<b>Crack</b> 1 - Nunca usou 2 - Fumei alguma vez na vida 3 - Fumei no último ano 4 - Não fumei no último ano 5 - Fumo constantemente  <input type="checkbox"/> Por quanto tempo? _____
<b>Cola</b> 1 - Nunca usou 2 - Usei alguma vez na vida 3 - Usei no último ano 4 - Não usei no último ano 5 - Uso constantemente  <input type="checkbox"/> Por quanto tempo? _____		
<b>Ficha de coleta de dados</b>		
Data da coleta: ____/____/____	Pesquisador:	
<b>DADOS DA INFECÇÃO PELO HIV/AIDS</b>		
1 - O paciente tem Aids?  1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/> 3 - Sem registro	2 - Qual o critério de definição do caso Aids? 1 - Clínico <input type="checkbox"/> 2 - CD4 de 201 a 350 cel/mm 3 - CD4 <200 cel/mm 4 - Sem registro	
3 - Qual a data de diagnóstico da Aids?  1 - ____/____/____ <input type="checkbox"/> 2 - Sem registro	4 - Qual a data que o paciente apresentou CD4 abaixo de 350 pela primeira vez? 1 - ____/____/____ <input type="checkbox"/> 2 - sem registro 3 - Não se aplica	
5 - Qual a data o primeiro teste anti-HIV reagente?  1 - ____/____/____ <input type="checkbox"/> 2 - Sem registro	6 - Existe algum tratamento anti-retroviral?  1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não	

<p>7 – Qual a combinação de classes do esquema atual?</p> <p>1 – 2 ITRN + ITRNN  2 – 2 ITRN + IP  3 – 2 ITRN + IP/r  4 – ITRN + ITRN + IP  5 – ITRN + ITRNN +IP/r  6 – ITRN + IP/r + IF  7 – outras  8 – Sem registro</p>		
<p>Inibidor da Transcriptase Reversa Análogo de Nucleosídeo (ITRN)</p> <p>1 – Abacavir - ABC – Ziagen  2 – Didanosina - ddi – Videx  3 – Estavudina – D4T – Zerit  4 – Emtricitabine – FTC – Emtriva  5 – Lamivudina – 3TC – Epivir  6 – Tenofovir – TDF – Viread  7 – Zalcitabina – DDC – Hivid  8 – Zidovudina + Lamivudina AZT + 3 TC – Biovir  9 – Zidovudina AZT - Retrovir</p>	<p>Inibidor da Transcriptase Reversa Não Análogo de Nucleosídeo (ITRNN)</p> <p>10 – Efavirenz EFZ – Stocrin  11 – Nevirapina – NVP – Viramune</p> <p>Inibidor de protease</p> <p>12 – Amprenavir – APV/r - Agenerase  13 – Atazanavir – ATV – Reyataz  14 – Atazanavir/Ritonavir – ATV/r  15 – Darunavir – DRV – Prezista  16 – Indinavir – IDV – Crixivan  17 – Indinavir/Ritonavir – IDV/r  18 Lopinavir/Ritonavir – LPV/r - Kaletra</p>	<p>20 – Ritonavir – RTV – Norvir  21 – Saquinavir – SQV – Invirase  22 – Saquinavir/Ritonavir – SQV/r  23 – Tipranavir – TPV – Aptivus</p> <p>Inibidor de Integrase</p> <p>24 – Raltegravir – RAL – Isentres</p> <p>Inibidor de Fusão</p> <p>25 – Enfuvirtida – ENF ou T-20 – Fuzeon</p> <p>Inibidor de CCR5</p> <p>26 – Maraviroc – MVC - Celsentri</p>
<p>8 – valor atual do CD4 (nos últimos 4 meses)</p> <p>1 – CD4 _____ cel/mm<sup>3</sup> data: ____/____/____  2 – Sem registro <input type="checkbox"/></p>	<p>9 – Valor atual da Carga viral (nos últimos 4 meses)</p> <p>1 – _____ cópias/mL data ____/____/____  2 – Sem registro <input type="checkbox"/></p>	
<p>10 - Valor de menor nível de CD4 (Nadir)</p> <p>1 – CD4 _____ cel/mm<sup>3</sup> data: ____/____/____ <input type="checkbox"/>  2 – Sem registro</p>		
<p>11 – Uso previo de Antibiótico nos últimos 12 meses</p> <p><input type="checkbox"/> Sim  <input type="checkbox"/> Não  <input type="checkbox"/> Sem registro</p>	<p>12 - Droga antimicrobiana utilizada ns últimos 12 meses.</p> <p>1 – Sulfonamida  2 – Penicilina  3 – Clindamicina  4 – Rifampicina  5 – Cefalosporina  6 – Vanco/Teico  7 – Linesolida  8 – Daptomicina  9 – Aminoglicosídeo  10 – Quinolonas  11 – Meticilina/oxacilina  12 – Outro _____</p> <p>12.1 – O uso de ATBs foi profilático, terapêutico ou ambos e qual o motivo do uso? <input type="checkbox"/></p> <p>1 – Profilático _____  2 – Terapêutico _____  3 – Profilático e terapêutico _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>	
<p>13 – Duração do tratamento antimicrobiano</p> <p><input type="checkbox"/> Dias</p>		
<p><b>Observação:</b></p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>		