



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS INFECCIOSAS**

MANUELA TEDESCO ARAUJO

**ESTUDO DE PORTADORES NASAIS DE *STAPHYLOCOCCUS
AUREUS* E DO RISCO DE INFECÇÃO SISTÊMICA EM PACIENTES
SOB REGIME DE HEMODIÁLISE EM DOIS CENTROS DE DIÁLISE
DA GRANDE VITÓRIA, ES.**

**Vitória
2011**

MANUELA TEDESCO ARAUJO

ESTUDO DE PORTADORES NASAIS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* E DO RISCO DE INFECÇÃO SISTÊMICA EM PACIENTES SOB REGIME DE HEMODIÁLISE EM DOIS CENTROS DE DIÁLISE DA GRANDE VITÓRIA, ES.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Doenças Infecciosas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Doenças Infecciosas.

Orientadora: Prof. Dr^a. Ana Paula Ferreira Nunes

Co-Orientadora: Prof. Dr^a. Ethel Leonor Noia Maciel

Vitória
2011

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

Araujo, Manuela Tedesco, 1986-

A663e Estudo de portadores nasais de *Staphylococcus aureus* e do risco de infecção sistêmica em pacientes sob regime de hemodiálise em dois centros de diálise da Grande Vitória, ES / Manuela Tedesco Araujo. – 2011.

130 f. : il.

Orientadora: Ana Paula Ferreira Nunes.

Coorientadora: Ethel Leonor Noia Maciel.

Dissertação (Mestrado em Doenças Infecciosas) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde.

1. Staphylococcus aureus. 2. Hemodialise. 3. Vancomicina. I. Nunes, Ana Paula Ferreira. II. Maciel, Ethel Leonor Nóia. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências da Saúde. IV. Título.

CDU: 61

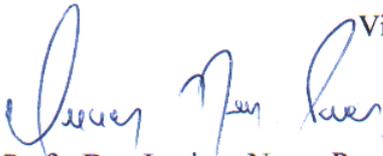


UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS INFECCIOSAS

PARECER ÚNICO DA COMISSÃO JULGADORA DE
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

A mestranda MANUELA TEDESCO ARAUJO apresentou dissertação intitulada: “ESTUDO DE PORTADORES NASAIS DE *Staphylococcus aureus* E DO RISCO DE INFECÇÃO SISTÊMICA EM PACIENTES SOB REGIME DE HEMODIÁLISE EM DOIS CENTROS DE DIÁLISE DA GRANDE VITÓRIA, ES” em sessão pública, no dia 29 de agosto de 2011, como requisito final para obtenção do título de **Mestre em Doenças Infecciosas**, do Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo.

Considerando a apresentação oral dos resultados, a qualidade e relevância dos mesmos, a Comissão Examinadora da Dissertação decidiu (X) **aprovar** () **reprovar** a dissertação para habilitar a farmacêutica MANUELA TEDESCO ARAUJO a obter o Grau de MESTRE EM DOENÇAS INFECCIOSAS.

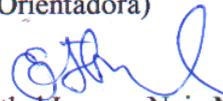

Prof. Dra. Luciana Neves Passos
(Membro Externo)

Vitória-ES, 29 de agosto de 2011


Prof. Dr. Ricardo Pinto Schuenck
(Membro Externo)


Prof. Dr. Moises Palaci
(Membro Interno)


Prof. Dra. Ana Paula Ferreira Nunes
(Orientadora)


Prof. Dra. Ethel Leonor Noia Maciel
(Co-Orientadora)

DEDICATÓRIA

Dedico essa conquista a minha querida mãe, que me deu força quando eu fraquejei, me confortou quando estive cansada, entendeu quando estive ausente, me amparou quando precisei, me apoiou em todas as decisões e me amou sempre. A você, mãe, ofereço cada página, cada frase e palavra aqui escrita. Sem você nada disso seria possível.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, por mais essa conquista, por estar presente em todos os momentos da minha vida, sempre me guiando diante de decisões, me confortando frente às dificuldades e colocando pessoas maravilhosas em minha vida.

Aos meus pais, meus primeiros e eternos grandes mestres, por todo amor incondicional, incentivo, compreensão, paciência, conselhos, suporte emocional e lições de respeito e humildade. Amo vocês!

À minha orientadora Prof^a. Dr^a Ana Paula por quem tenho imensa admiração, gratidão e respeito. Muito obrigada por toda dedicação, paciência, incentivo e por confiar em mim e no meu trabalho desde o tempo de iniciação científica.

À Prof^a Ethel Maciel pela co-orientação e por sua disponibilidade, em especial nessa reta final. Sua ajuda e ensinamentos foram essenciais para a conclusão desse estudo.

Aos professores convidados Dr^a Luciana e Dr. Ricardo Schuenck por disporem tempo para participação dessa banca, e por contribuírem para o meu crescimento com suas sugestões e críticas.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Doenças infecciosas pelos valiosos ensinamentos.

A todos os meus tios, tias, primos, primas e cunhada pelo carinho e incentivo para superar as dificuldades. Obrigada por acreditarem em mim, torcerem pelo meu sucesso e entenderem a minha ausência. Agradeço principalmente a minha avó “Dindinha”, cujo coração e humildade não cabem neste mundo.

Ao meu irmão Mateus que amo tanto. Ser sua irmã e ter sua amizade é motivo de muito orgulho. Obrigada por toda força, companheirismo e sábios conselhos.

Às minhas “irmãs” Nathi e Tata (M.A tbm) pelos longos anos de amizade e amor incondicional. Muito obrigada por sempre estarem ao meu lado, me

aconselhando, instruindo, me ajudando a ser uma pessoa melhor e por compreenderem a minha ausência em momentos importantes. Amo vocês!!

Ao Arthur pelo carinho e compreensão e ajuda nesta etapa final. Obrigada por estar ao meu lado e me fazer mais feliz.

Agradeço ao Jab (*in memoriam*) por proporcionar momentos de imensa felicidade.

Por não acreditar que a vitória seja um mérito individual, agradeço a minha segunda família “RESBAC”, principalmente Andressa, Aline, Thais, Liliane, Flavinha, Victor e Gabi por todos os momentos de descontração que fizeram dessa jornada um processo muito mais divertido. Não tenho palavras para agradecer tudo o aprendi e passei com vocês. A cada um, meu muito obrigado! Essa vitória também é de vocês.

As amigas Cris (minha dupla), Thais (pança), Adrielle, Bruna, Simone, Andressa e Ivia por acreditarem em mim e estarem sempre ao meu lado, me dando força. Obrigada por todas as viagens, festinhas, conselhos e momentos inesquecíveis.

A todos do LabVir/ LabGin, em especial a Marianne, Yohanna e Prof. Liliana, que me auxiliaram no aprendizado de biologia Molecular e que torceram comigo pelo sucesso do “rep”.

As “meninas da Microbiologia”, pelo apoio técnico dado desde o início, em especial a minha querida amiga Lia Mara, que presenciou as minhas dificuldades e sempre forneceu um conselho sábio e um ombro amigo.

Aos pacientes e voluntários, que se doaram e acreditaram no objetivo do estudo. Espero com esse trabalho, melhorar de alguma forma, a árdua trajetória de vocês. Trabalhar com vocês me permitiu crescer como pessoa, ser mais humilde e olhar a vida de outro jeito. Muito Obrigada!!

Ao pessoal do Laboratório TOMMASI e Flavinha que forneceram suporte para a coleta das amostras e auxiliou no levantamento dos dados.

A equipe do laboratório de análises clínicas HUCAM, em especial, ao Fernando, que sempre me aconselhou e forneceu ajuda nos momentos mais difíceis.

Aos funcionários da CCR e HSRC que ajudaram no desenvolvimento deste estudo e tornaram todo o processo muito mais agradável.

Aos meus amigos de turma pela amizade e carinho.

À CAPES e FAPES, pelo apoio financeiro.

**Agradeço todas as dificuldades que enfrentei se não fosse por
elas, eu não teria saído do lugar.”**

Chico Xavier

RESUMO

O *Staphylococcus aureus* é um patógeno capaz de colonizar aproximadamente metade dos pacientes submetidos à hemodiálise, e é também o principal micro-organismo isolado de bacteriemias nesse grupo de pacientes. A colonização nasal por *S. aureus* é fator de risco para o desenvolvimento de bacteriemias e, apesar da grande importância em se determinar o status de colonização dos pacientes submetidos à hemodiálise, não existe atualmente uma metodologia padronizada para classificar tais pacientes. O presente estudo foi delineado com o objetivo de: determinar o status de colonização nasal dos pacientes submetidos à hemodiálise em dois centros de diálise, otimizar o protocolo de referência para classificação do status de colonização e avaliar o risco conferido pela colonização nasal no desenvolvimento de bacteriemias. Foram incluídos no estudo 219 pacientes destes, 22,8% eram portadores nasais de *S. aureus*. Todas as 182 amostras de *S. aureus* isoladas foram sensíveis a oxacilina e vancomicina e dessas, 2,7% (5/182) das amostras apresentaram heterorresistência a vancomicina. A classificação do status de colonização foi realizada para 178 pacientes sendo que 22,5% eram portadores nasais de *S. aureus* [20% (8/40) portadores persistentes e 80% (32/40) portadores intermitentes] e 77,5%(138/178) não portadores. Dentre os tipos de colonização, apenas a colonização nasal persistente foi fortemente associada ao desenvolvimento de bacteriemias por *S. aureus* conferindo um risco de 17,6% ($p=0,05$) para tal. O uso de fístula demonstrou um efeito protetor apresentando 7% ($p=0,00$) e 11% ($p=0,01$) do risco conferido pelo uso do cateter para o desenvolvimento de bacteriemias por *S. aureus* e outros micro-organismos, respectivamente. Além disso, verificamos que o uso de um protocolo com sete coletas de periodicidade semanal exibiu uma correlação excelente com a metodologia de referência ($k=0,834$) para distinguir os tipos de portadores nasais e apresentou um VPP e VPN equivalentes a 100% para diferenciar os portadores persistentes dos intermitentes, podendo ser utilizada como alternativa ao protocolo de referência para a triagem de portadores nasais de *S. aureus* e empregado como medida de vigilância epidemiológica. Em vista do alto risco conferido pela colonização persistente, nossos resultados sugerem que a classificação dos portadores nasais é uma medida de extrema importância para monitorar risco para o desenvolvimento de bacteriemias em pacientes submetidos à hemodiálise.

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus*, hemodiálise, colonização nasal e vancomicina.

ABSTRACT

Staphylococcus aureus is a pathogen that has the ability to colonize approximately half of the patients undergoing hemodialysis and also is the main cause of infections in these patients. The nasal colonization by *S. aureus* is a risk factor for developing bacteremia and, despite the great importance in determining the colonization status of patients undergoing hemodialysis, there is no currently a standardized methodology to classify such patients. This study was designed in order to: determine the status of nasal colonization of patients undergoing hemodialysis in two dialysis centers; to improve the reference methodology to classify the status of nasal colonization and assess the risk conferred by nasal colonization in the development of bacteriemia. The study included 219 patients of which 22.8% were nasal carriers of *S. aureus*. All 182 samples of *S. aureus* isolates were sensitive to oxacillin and vancomycin but 2.7% (5 / 182) samples were heteroresistant to vancomycin. The classification of the nasal carriage status was performed in 178 patients of which 22.5% were nasal carriers of *S. aureus* [20% (8 / 40) with persistent and 80% (32/40) intermittent carriers] and 77.5% (138/178) non-carriers. Among the types of colonization, only persistent nasal colonization was substantially associated with the development of bacteremia caused by *S. aureus* conferring a risk of 17.6% ($p = 0.05$). The use of fistula demonstrated a protective effect featuring 7% ($p = 0.00$) and 11% ($p = 0.01$) the risk conferred by the use of the catheter on the development of bacteremia caused by *S. aureus* or other microorganisms, respectively. Also, the use of a protocol with seven weekly collections showed an excellent correlation with the reference method ($k = 0.834$) to distinguish the types of nasal carriers and had a PPV and PNV equal to 100% to differentiate patients with persistent and intermittent colonization, therefore it can be used as an alternative to the reference protocol for screening *S. aureus* nasal carriers and be used as a surveillance measure. Given the high risk conferred by persistent colonization, our results suggest that classification of nasal carriers is a very important measure to minimize the risk for development of bacteraemia in patients undergoing hemodialysis.

Key words: *Staphylococcus aureus*, hemodialysis, nasal carriage, vancomycin.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Protocolos adotados para classificação do tipo de portador nasal de <i>S. aureus</i>	39
Tabela 2- Critério de interpretação dos valores obtidos pelo teste <i>Kappa</i> (<i>k</i>) segundo Landis e Koch (1977).....	57
Tabela 3- Períodos da primeira e segunda etapa do estudo.....	59
Tabela 4 – Perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos das 182 amostras de <i>S. aureus</i> através do teste de difusão do disco.....	61
Tabela 5- Triagem em Ágar contendo oxacilina ou vancomicina nas concentrações de 4 e 6 µg/mL para as 182 amostras de <i>S. aureus</i> isoladas de secreção nasal.....	62
Tabela 6- Valores da CMI para as 182 amostras de <i>S. aureus</i> , determinado por meio do método de diluição em Ágar.....	63
Tabela 7- Análise do nível de concordância entre o número de NP e portadores, detectados pelo o protocolo de referência e as demais semanas de coleta (N=178).....	65
Tabela 8- Análise do nível de concordância entre o número de NP,PI e PP detectados pelo protocolo de referência e as demais semanas de coleta (N=178).....	66
Tabela 9- Valores de sensibilidade, especificidade e probabilidade pós-teste dos diferentes períodos em relação ao protocolo de referência apenas entre os portadores (PI+PP) e NP (N=178).....	67
Tabela 10- Valores de sensibilidade, especificidade e probabilidade pós-teste dos diferentes períodos em relação ao protocolo padrão, considerando apenas os tipos de portadores nasais de <i>S. aureus</i> (PI e PP) (N=23).....	68

Tabela 11- Valores de sensibilidade, especificidade e probabilidade pós-teste dos diferentes períodos em relação ao protocolo de referência , considerando apenas os NP e PI (N=155).....	69
Tabela 12- Características dos pacientes submetidos à hemodiálise que completaram a segunda etapa do estudo (N= 166).....	70
Tabela 13- Análise univariada dos fatores de risco associados ao desenvolvimento de bacteriemias em 147 pacientes submetidos à hemodiálise. E.S, 2011.....	73
Tabela 14- Resultados da regressão logística para as variáveis que demonstraram potencial de risco no desenvolvimento de bacteriemias entre PP e NP+PI (N=147).....	74
Tabela 15- Compilação dos resultados da influência do status de colonização para o desenvolvimento de bacteriemias obtidos através da análise univariada.....	75
Tabela 16- Compilação dos resultados obtidos a partir da regressão logística referentes à influência de cada status de colonização para o desenvolvimento de bacteriemias.....	76
Tabela 17- Análise univariada dos fatores de risco associados ao desenvolvimento de bacteriemias entre os não portadores e portadores persistentes (N= 121).....	123
Tabela 18- Resultados da regressão logística para as variáveis que demonstraram potencial de risco no desenvolvimento de bacteriemias entre portadores persistentes e não portadores (N=121).....	124
Tabela 19- Análise univariada dos fatores de risco associados ao desenvolvimento de bacteriemias entre os portadores intermitentes e os não portadores (N= 143).....	125

Tabela 20- Resultados da regressão logística para as variáveis que demonstraram potencial de risco no desenvolvimento de bacteriemias entre portadores intermitentes e não portadores (N=143).....126

Tabela 21- Análise univariada dos fatores de risco associados ao desenvolvimento de bacteriemias entre os portadores intermitentes e os portadores persistentes (N= 30).....127

Tabela 22- Resultados da regressão logística para as variáveis que demonstraram potencial de risco no desenvolvimento de bacteriemias entre portadores intermitentes e portadores persistentes (N=30).....128

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Delineamento longitudinal do estudo.....	47
Figura 2- Fluxograma de identificação das amostras coletadas a partir de swab nasal.....	53
Figura 3- Prevalência de portadores nasais de <i>S. aureus</i> entre os 219 voluntários.....	60
A figura 4- Resultados das provas de identificação de <i>S. aureus</i>	60
Figura 5- Distribuição dos 178 pacientes com o ciclo completo (10-12semanas) segundo o status de colonização nasal por <i>S. aureus</i>	64
Figura 6 - Micro-organismos mais isolados durante episódios de bacteriemias que ocorreram entre 166 pacientes no período de Julho de 2009 a março de 2011.....	71
Figura 7- Diferenças nos padrões microbiológicos de isolamento entre os diferentes tipos de portadores nasais.....	83

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ATCC** – “American Type Culture Collection”
- BHI** – “Brain Heart Infusion”
- CCR** - Clínica Capixaba do Rim
- CDC** - Centers for Disease Control
- CEP**- comitê de ética em pesquisa
- CIM** - Concentração mínima Inibitória
- ClfB** – “Clumping factor B” (Fator “Clumping” B)
- CLSI** – “Clinical and Laboratory Standart Institute”
- DNA** – “Deoxyribonucleic acid” (Ácido Dexoribonucléico)
- DNase** - Desoxirribonuclease
- DSN** – “Dialysis Surveillance Network”
- ES** – Espírito Santo
- EUA** - Estados Unidos da América
- fnbA** - Fibronecting Binding Protein (Proteína ligadora de fibronectina)
- HBD-3** – “Human β -defensin 3” (β - defensina 3 humana)
- HCV**- Vírus da Hepatite C
- HIV** – “Human Immunodeficiency Virus” (Vírus da Imunodeficiência humana)
- HSRC** - Hospital Santa Rita de Cássia
- hVISA**- “Heteroresistant Vancomycin-Intermediate *S. aureus*” (*S. aureus* heteroresistente a Vancomicina)
- IRC** - Insuficiência Renal Crônica
- IsdA** – “Iron regulated surface determinant protein A”
- MRSA** - Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (*S. aureus* resistente a meticilina)
- MSCRAMM** – “Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules” (Componentes microbianos de superfície que reconhecem moléculas da matriz extracelular)
- NaCl** – Cloreto de sódio
- OR**- Odds ratio (razão de chances)
- PCR** – “Polymerase Chain Reaction” (Reação em cadeia da polimerase)
- PBP** – “Penicillin-binding proteins” (Proteína ligadora de penicilina)
- pH** – Potencial hidrogeniônico

RESBAC – Laboratório de Resistência Bacteriana

SCCmec – “Staphylococcal cassette chromosome mec” (cassete cromossômico mec)

Sdr - serine-aspartate repeat proteins

TDD- Teste de Difusão do Disco

TSB – “Trypticase Soy Broth”

UFC – Unidades formadoras de colônias

UFES - Universidade Federal do Espírito Santo

USRDS – “United States Renal Data Service”

UTI - Unidade de Tratamento Intensivo

VISA- Vancomycin-Intermediate *S. aureus* (*S. aureus* com resistência intermediária a Vancomicina)

VPN - Valor Preditivo Negativo

VPP- valor preditivo positivo

VRSA – “Vancomycin-Resistant *S. aureus*” (*S. aureus* resistente a Vancomicina)

SCN- *Staphylococcus* spp. coagulase negativos

PP- Portador Persistente

PI- Portador Intermitente

NP- Não Portador

TCLE- Termo de consentimento livre e esclarecido

LISTA DE SÍMBOLOS

% - porcentagem
°C – Graus Celsius
&- e
μL- Microlitros
μg - microgramas
mL - Mililitros
≥- maior ou igual
≤ - menor ou igual
= - igual
α-Alfa
β- Beta
γ-Gama
δ- Delta

SUMÁRIO

RESUMO	
ABSTRACT	
LISTA DE TABELAS	
LISTA DE FIGURAS	
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	
LISTA DE SÍMBOLOS	
1. INTRODUÇÃO	24
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	26
2.1. <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i>	27
2.2. COLONIZAÇÃO POR <i>S. AUREUS</i>	30
2.2.1. Aspectos gerais da colonização nasal	31
2.3. STATUS DE COLONIZAÇÃO POR <i>S. AUREUS</i> – O estado portador	34
2.4. IMPACTO CLÍNICO DA COLONIZAÇÃO NASAL POR <i>S. AUREUS</i>	35
2.5. PROTOCOLOS PARA DETECÇÃO DE PORTADORES NASAIS	36
2.6. INFECÇÕES CAUSADAS POR <i>S. AUREUS</i> EM PACIENTES SUBMETIDOS À HEMODIÁLISE.....	40
3. OBJETIVOS	43
3.1. OBJETIVO GERAL.....	44
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	44
4. MATERIAIS E MÉTODOS	45
4.1 ESTRATÉGIA DO ESTUDO	46
4.1.1 Natureza e local do estudo.....	46

4.1.2 Delineamento do estudo.....	46
4.1.2.1 Primeira etapa do estudo.....	47
4.1.2.2 Segunda etapa do estudo.....	48
4.1.3 Critérios de inclusão.....	48
4.1.4 Critérios de exclusão.....	48
4.2 ASPECTOS ÉTICOS.....	49
4.3 PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS	49
4.3.1 Coleta de amostras nasais	49
4.3.2 Amostras padrão	50
4.3.3 Identificação das amostras	50
4.3.3.1 Teste da coagulase em tubo	50
4.3.3.2 Teste da Desoxirribonuclease (DNase)	51
4.3.3.3 Reação de PCR para a detecção do gene espécie-específica (<i>nucA</i>)	51
4.3.3.3.1 Liberação de DNA bacteriano utilizando a lise térmica.....	51
4.3.3.3.2 PCR para a detecção do gene espécie-específica (<i>nucA</i>)	52
4.3.4 Estocagem das amostras	54
4.3.5 Avaliação do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos.....	54
4.3.5.1 Teste de difusão do disco (TDD).....	54
4.3.5.2 Avaliação da suscetibilidade a oxacilina	54
4.3.5.2.1 Teste de triagem com oxacilina	54
4.3.5.2.2 Determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) para oxacilina.....	55
4.3.5.3 Avaliação da suscetibilidade a vancomicina	55

4.3.5.3.1 Teste de triagem com vancomicina	55
4.3.5.3.2 Determinação de CMI para vancomicina	56
4.4 DEFINIÇÃO DO ESTADO PORTADOR	56
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	56
5 RESULTADOS	58
5.1 COLETA DE SWAB NASAL DOS PACIENTES SOB HEMODIÁLISE	59
5.2 ISOLAMENTO DE AMOSTRAS, CULTIVO E IDENTIFICAÇÃO BACTERIANA	59
5.3 AVALIAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS	61
5.4 CLASSIFICAÇÃO DOS PACIENTES DE ACORDO COM O STATUS DE COLONIZAÇÃO NASAL POR <i>S. AUREUS</i>	63
5.5 COMPARAÇÃO ENTRE OS DIFERENTES PERÍODOS DE COLETA COM O PROTOCOLO DE REFERÊNCIA	64
5.6 INFLUÊNCIA DA COLONIZAÇÃO NASAL POR <i>S. AUREUS</i> NO DESENVOLVIMENTO DE BACTERIEMIAS	69
5.6.1 Frequência dos micro-organismos mais isolados de hemoculturas	71
5.6.2 Influência de determinadas características para o desenvolvimento de bacteriemias por <i>S. aureus</i>	71
6 DISCUSSÃO	77
7 CONCLUSÕES	92
8 PERSPECTIVAS FUTURAS.....	94
9 REFERÊNCIAS	96
10 ANEXOS	117

Introdução

1 INTRODUÇÃO

A taxa de colonização nasal por *S. aureus* varia de acordo com a população estudada, e nota-se que em alguns grupos, como em pacientes submetidos à hemodiálise, essa taxa pode ser superior a 50% (Kluytmans, Belkum & Verbrugh, 1997). Episódios de bacteriemias associados ao acesso vascular são frequentes nessa população (Von Eiff *et al.*, 2001; Sesso *et al.*, 2010) em que o principal micro-organismo isolado é o *S. aureus*. Sabe-se que a maioria dessas infecções é de origem endógena e que os vestíbulos nasais atuam como principal reservatório (Cavalcanti *et al.*, 2006; Fournier & Philpott, 2005).

Indivíduos colonizados, chamados de portadores funcionam como reservatórios que podem levar a disseminação desses micro-organismos para outros setores do hospital e para pacientes não colonizados. Os portadores nasais de *S. aureus* podem ser classificados em três grupos (não portadores, portadores intermitentes e portadores persistentes), de acordo com o tempo em que permanecem colonizados (Vandenberg *et al.*, 1999; Nouwen *et al.*, 2004; Nouwen *et al.*, 2005).

A determinação do estado portador de *S. aureus* é de grande importância não apenas para os pacientes submetidos à hemodiálise, mas também para pacientes com infecções de repetição por esta espécie, além dos pacientes internados nas Unidades de Tratamento Intensivo (UTI). Porém, não existe atualmente um protocolo de coleta que seja prático e sensível simultaneamente. Um dos procedimentos de coleta mais adotados nos estudos de coorte longitudinal determina a coleta por períodos de até 12 semanas, o que constitui uma prática extenuante para o paciente, acarretando numa baixa adesão, um custo mais elevado e atraso no estabelecimento das medidas de vigilância (Sivaraman *et al.*, 2009). Por outro lado, alguns protocolos de vigilância epidemiológica se baseiam na triagem dos portadores de *S. aureus* com no máximo duas coletas de secreção nasal com intervalos inferiores a 24 horas (Geert *et al.*, 1998; Saxena *et al.*, 2004; Hacek *et al.*, 2009). Contudo, esses protocolos não são capazes de classificar corretamente os portadores nasais de *S. aureus*, principalmente os portadores intermitentes e aqueles com baixa carga bacteriana. Isto é decorrente das limitações de sensibilidade da

técnica que promove a identificação subestimada dos portadores, e dificulta, automaticamente, a implantação adequada de medidas de controle e prevenção, favorecendo o desenvolvimento de infecções (D'agata *et al.*, 2009 ; Yang *et al.*, 2009; Stevens *et al.*, 2010). A falta de uma metodologia padronizada dificulta a comparação entre as taxas de colonização e o risco inerente a cada grupo de pacientes, além disso, a padronização e a correta determinação do status de colonização de *S. aureus* permitiria o desenvolvimento de estratégias de profilaxia mais efetivas, restritas aqueles com um risco maior de desenvolvimento de infecções, reduzindo assim o consumo de antibióticos.

Infelizmente, não observamos no atual cenário capixaba, uma prática de monitoramento ou estudos que forneçam dados acerca da taxa de colonização entre os pacientes de hemodiálise ou o risco conferido por este evento. Diante disto, torna-se absolutamente necessário uma avaliação deste quadro nos setores de hemodiálise do nosso estado. De acordo com o censo de diálise da Sociedade Brasileira de Nefrologia (SBN) (2009), a região sudeste abriga quase 60% dos pacientes em diálise, e no cenário atual, o estado do Espírito Santo (ES) conta com 15 unidades de hemodiálise. Dentre os centros de nefrologia situados no ES, a Clínica Capixaba do Rim-Unidade de Cariacica (CCR) e Hospital Santa Rita de Cássia (HSRC) foram convidados a participar deste estudo por estarem sediados na região da Grande Vitória e atenderem a um número significativo de pacientes com Insuficiência renal Crônica (IRC) e possuírem uma ótima infra-estrutura.

Por meio dos dados gerados pelo nosso estudo, mensuramos o risco conferido pela colonização nasal por *S. aureus* ao qual os pacientes de hemodiálise estão submetidos e esperamos que tais resultados auxiliem na aplicação de medidas de controle e vigilância a fim de melhorar a qualidade de vida dos pacientes e reduzir os custos conferidos pelos constantes episódios de infecção. Para isso, buscamos também com este trabalho apresentar sugestões de protocolos de triagem de fácil execução e baixo custo passíveis de serem aplicados a rotina clínica.

Revisão Bibliográfica

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 *Staphylococcus aureus*

O gênero *Staphylococcus* compreende células esféricas (cocos) procariotas, pertencente à família Staphylococaceae (Garrity *et al.*, 2001) com diâmetro entre 0,5 e 1,5 μm e coram-se pelo método de gram. Este gênero compreende 45 espécies (DSMZ. DE/ DSMZ, 2011), dessas, 16 podem ser encontradas na pele e mucosas do ser humano (Koneman, 2008) e normalmente dividido em dois grupos de acordo com a presença da enzima coagulase (enzima extracelular com capacidade de coagular o plasma humano ou de coelho): *Staphylococcus* coagulase negativos (SCN) ou *Staphylococcus* coagulase positivo cujo principal representante é o *S. aureus* (Murray, 2006).

A espécie *S. aureus* é considerada a mais patogênica do gênero e se encontra entre os principais agentes causadores de infecções sistêmicas e superficiais de origem hospitalar ou comunitária acometendo pessoas saudáveis e pacientes com alguma comorbidade (Fournier & Philpott, 2005; Hasty *et al.*, 2007). As principais infecções causadas por *S. aureus*, estão relacionadas à pele e tecidos moles, incluindo: celulites, foliculites, impetigo e formação de abscessos. Esse micro-organismo também pode causar doenças como síndrome da pele escaldada, intoxicações alimentares e síndrome do choque tóxico devido à produção de toxinas (Murray, 2006). Em âmbito hospitalar, este micro-organismo é causa predominante de bacteriemias e também é causa frequente de infecções de sítio cirúrgico, infecções de articulações, osteomielites, meningite, pneumonia e endocardites (Casey, Lambert & Elliot, 2007; Van Belkum, 2009b; Frank, 2010). Já foi demonstrado que grande parte dessas infecções acontece em decorrência de procedimentos médicos como a instalação de próteses, o uso de imunossupressores e cateteres (Casey, Lambert & Elliot, 2007).

As taxas de morbidade e mortalidade relacionadas com infecções causadas por *S. aureus* podem ultrapassar 60%, variando com o sítio da infecção e a suscetibilidade do micro-organismo aos agentes antimicrobianos (Casey,

Lambert & Elliot, 2007). A patogenicidade do *S. aureus* é multifatorial e envolve um arsenal diversificado que compreende um grupo de enzimas secretadas que incluem quatro hemolisinas (α , β , γ e δ), nucleases, proteases, lipases, hialuronidase e colagenase, além de outras enzimas como catalase, fibrinolizina e coagulase. Toxinas extracelulares, adesinas, proteína A, cápsula e síntese de biofilme também contribuem para sua capacidade de evasão ao sistema imune do hospedeiro e permitem sua instalação, desenvolvimento e manutenção do tecido hospedeiro (Novick, 2001; Fournier & Philpott, 2005; Murray, 2006). Além disso, esta espécie tem uma capacidade extraordinária de se adaptar a diferentes condições ambientais e de adquirir resistência as mais diversas classes de antibióticos, tornando-se um perigoso agente infeccioso principalmente para o âmbito hospitalar por aumentar as taxas de mortalidade e morbidade e onerar os custos ao sistema de saúde (Henderson, 2006; Koneman, 2008).

Durante os anos 40, a penicilina foi a droga de escolha para o tratamento de infecções causadas por *S. aureus*, no entanto, o isolamento de amostras resistentes a essa droga foi relatada pouco tempo depois. No final da década de 50, iniciou-se o emprego das penicilinas semi-sintéticas como meticilina e oxacilina, resistentes a degradação promovida pelas β -lactamases gerando uma redução das taxas de infecções causadas por *Staphylococcus* (Casey, Lambert & Elliot, 2007). Esse foi um importante passo na terapia antiestafilocócica, entretanto, em 1961 foi relatado o isolamento da primeira amostra de *S. aureus* resistentes à oxacilina (MRSA, acrônimo do inglês para: Methicillin-resistant *S. aureus*) (Lowy, 2003). Durante as décadas seguintes estas amostras tornaram-se prevalentes no âmbito hospitalar em diversos países (Livermore, 2000; Diekema *et al.*, 2001; Martins & Cunha, 2007). No Brasil, a taxa de infecções primárias de corrente sanguínea causadas por MRSA foi superior a 60% no período de 2006-2008 (ANVISA, 2009).

A resistência a oxacilina em *Staphylococcus* spp. é mediada pelo gene *mecA*, responsável pela produção de uma proteína ligadora a penicilina adicional (PBP 2a ou PBP 2'), que apresenta uma baixa afinidade pelos β -lactâmicos (Lowy, 2003). O gene *mecA* está inserido num cassete cromossômico

estafilococcico (SCCmec acrônimo em inglês para: Staphylococcal cassette chromosome mec) que compreende uma estrutura composta por 2 complexos genéticos: complexo *mec*, responsável pela resistência e o complexo *ccr*, responsável pela excisão e integração do cassete no genoma bacteriano (Katayama & Kiramatsu, 2000; Zhang *et al.*, 2005). Apesar da resistência mediada pelo *mecA* ser o mecanismo de resistência mais frequente, outros como a alteração de PBPs e a hiperprodução de β -lactamases também foram descritos (Jarlov, 1997). Elementos genéticos adicionais podem estar presentes nesse cassete cromossômico conferindo resistência a outras classes de antimicrobianos como aos macrolídeos, clindamicina e streptograminas (Tn554) e as tetraciclinas (pT181) e conferindo propriedades adicionais de virulência (Lowy, 2003; Appelbaum, 2007).

A existência de amostras MRSA limita a escolha dos antimicrobianos a serem usados para o tratamento de infecções causadas por este agente e por isso tornou-se um problema prevalente no setor de saúde (Shorr, 2007). Embora atualmente existam novos antimicrobianos como: lipopeptídeos cíclicos (Daptomicina), oxazololidinonas (Linezulida), glicilciclinas (Tigeciclina) e estreptograminas (Quinopristina-Dalfopristin), os glicopeptídeos, com destaque para a vancomicina, ainda continuam sendo os agentes antimicrobianos mais comumente utilizados no tratamento empírico das bacteriemias hospitalares (Pallotta & Manley, 2008).

A vancomicina inibe a síntese da parede bacteriana por bloquear a incorporação no peptidoglicano das subunidades N-ácido acetilmuramico e N-acetilglucosamina, ao se ligar reversivelmente a estas moléculas (Watanakunakorn, 1984). Não é absorvida pelo intestino, tendo que ser administrada por via intravenosa. O uso indiscriminado dos glicopeptídios, principalmente da vancomicina, foi relacionado com o desenvolvimento do fenótipo de suscetibilidade intermediária a vancomicina (amostra VISA: acrônimo em inglês para: Vancomycin-Intermediate *S. aureus*) e favoreceu a troca de plasmídeo contendo os genes *van* entre enterococos e *S. aureus* dando origem a amostra VRSA (acrônimo em inglês para: Vancomycin-

Resistant *S. aureus*) por selecionar amostras de enterococos resistentes a vancomicina (Tenover, Weigel & Appelbaum, 2004).

2.2 Colonização por *S. aureus*

O processo de colonização é normalmente definido como o crescimento e a multiplicação de micro-organismos em superfícies epiteliais dos hospedeiros sem expressão clínica ou resposta imunológica (Souza *et al.*, 2004). A pele humana constitui um ambiente diverso e habitado por um grande número de micro-organismos, entre elas espécies do gênero *Staphylococcus* e outras bactérias ubiqüitárias que evoluíram para sobreviver nos vários micro ambientes encontrados nesse órgão (Naimi *et al.*, 2003). A espécie *S. aureus* faz parte da microbiota da pele em até um terço da população em geral, sendo as narinas (35%) e a região perineal (20%) os principais sítios de colonização, além das regiões umbilical, axilar e interpododáctila (5% a 10%) (Cavalcanti *et al.*, 2006).

Tanto o epitélio queratinizado, os pêlos, as glândulas sebáceas e a reduzida ação do sistema imune fazem das narinas anteriores o ambiente ideal para a colonização e disseminação dos micro-organismos, principalmente *S. aureus* (Wertheim *et al.*, 2005). Para que ocorra a colonização nasal, é necessária a interação desta espécie com as células da mucosa nasal, por meio de interações não específicas (interações hidrofóbicas) e interações específicas, mediadas por adesinas (Peacock *et al.*, 2001; Wertheim *et al.*, 2005; Corrigan *et al.*, 2009).

A capacidade de colonização inerente a cada micro-organismo é determinada por inúmeros fatores ecológicos, como a resposta imunológica, presença de metabólitos e substâncias tóxicas e disponibilidade de espaço e nutrientes. A presença de uma microbiota residente pode influenciar em todos esses fatores, modulando o estabelecimento e desenvolvimento de outras espécies. Apesar de ser um espaço limitado, a cavidade nasal consegue albergar uma enorme diversidade de micro-organismos que podem co-colonizar o espaço ou impedir o estabelecimento de outras espécies. Dentre os principais micro-organismos encontrados nas narinas, temos: *S. aureus* (30%), SCN (97%),

Corynebacterium spp. (69%), *Propionibacterium acnes* (3,4%), bacilos gram-negativos (8%), *Streptococcus* spp. (1%) e *Micrococcus* spp.(1%) (Lina *et al.*, 2003; Frank *et al.*, 2010). Essa biodiversidade é maior em adultos saudáveis do que em pacientes hospitalizados, os quais albergam em sua maioria bactérias do gênero *Staphylococcus* (Frank *et al.*, 2010). Apesar de diversa e distinta dos outros sítios de colonização como axília e virilha, a microbiota nasal se mantém estável ao longo do tempo (na ausência de fatores atenuantes) com pequenas variações populacionais em relação a comunidade previamente estabelecida (Cavalcanti *et al.*, 2006; Frank *et al.*, 2010). O próprio fluido nasal é composto por uma grande variedade de proteínas e substâncias antimicrobianas como lisozima, lactoferrina, catelicidinas e alfa e β - defensinas (Cole, *et al.*, 1999; Laube, *et al.*, 2006). No entanto, muitos desses peptídeos antimicrobianos demonstraram pouca ou nenhuma atividade contra amostras de *S. aureus* (Cole *et al.*, 2001). Entre as β -defensinas, a HBD-3 (acrônimo em inglês para: human β -defensin 3) é a mais efetiva na prevenção da colonização do *S. aureus* (Schutte & McCray, 2002; Quinn & Cole, 2007). Acredita-se que essas substâncias antimicrobianas atuem de forma sinérgica para dificultar a adesão e o consequente estabelecimento do *S. aureus* como colonizador de mucosa nasal e alterações na expressão desses fatores antimicrobianos presentes no fluido nasal podem influenciar diretamente na maior ou menor capacidade de um indivíduo ser colonizado por esta espécie (Quinn & Cole, 2007).

2.2.1 Aspectos gerais da colonização nasal

A colonização nasal por *S. aureus* é um fenômeno global influenciado por diversos fatores, como idade, status imunológico, status econômico e país de residência. A frequência deste tipo de colonização é distinta de acordo com o local estudado e a população em análise, sendo que nos Estados Unidos da América (EUA) a taxa de colonização varia de 26 (Cole *et al.*, 2001) a 32% (Mainous *et al.*, 2006), enquanto que em outros países, como na Turquia, essa taxa é inferior a 7%(Erdenizmenli *et al.*, 2004). Os mecanismos que levam a colonização nasal por *S. aureus* são multifatoriais e podem ser classificados em: fatores abióticos (ecológicos), propriedades microbiológicas (fatores de

virulência) e características intrínsecas ao hospedeiro (Peacock, Silva & Lowy, 2001; Van Belkun *et al.*, 2008; Sivaraman *et al.*, 2009).

Segundo Morgolis, Yates & Levin (2010) apesar de existir uma competição intra e inter-espécie pelo estabelecimento da colonização, alguns micro-organismos conseguem co-colonizar o mesmo espaço, como é o caso do *S. aureus*, *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae*. O estabelecimento de uma microbiota composta por *Corynebacterium* spp. ou *Staphylococcus epidermidis* pode proteger uma pessoa de ser colonizada por *S. aureus* e assim prevenir o desenvolvimento de infecções. Vários estudos também demonstraram que *S. epidermidis* tem a capacidade de modular negativamente o estabelecimento do *S. aureus* nas narinas (Frank *et al.*, 2010) e a produção de biofilme *in vitro* e *in vivo* (Mack *et al.*, 2004; Iwase *et al.*, 2010). O estabelecimento da colonização nasal por micro-organismos diferentes do *S. aureus* pode atuar como um fator protetor visto que cerca de 80% (Boleart *et al.*, 1995; Von Eiff *et al.*, 2001) das infecções causadas por *S. aureus* são de origem endógena, causadas pelo deslocamento da bactéria do reservatório nasal para as mãos, cateteres ou outros tipos de acesso vascular) bem como para outras áreas com fissuras. Ainda, a colonização prévia das narinas anteriores por um micro-organismo, pode inibir o estabelecimento de outro da mesma espécie com similar capacidade adesiva em decorrência da escassez de recursos ou pela utilização dos ligantes disponíveis. Essa competição intra-espécie foi observada entre amostras de *S. aureus*, na qual a cepa residente inibiu o estabelecimento subsequente de uma outra com a mesma capacidade de colonização (Morgolis, Yates & Levin, 2010).

S. aureus pode expressar uma grande variedade de adesinas e fatores de virulência, tendo estes uma grande influência em sua capacidade de colonização e subsequente infecção e evasão do sistema imune. Grande parte das estruturas de superfície corresponde a proteínas de adesão que medeiam a ligação inicial e a perpetuação da colonização desta espécie ao tecido hospedeiro. Muitas dessas proteínas ficam ancoradas na parede celular e

pertencem a uma grande família denominada MSCRAMM (acrônimo em inglês para: Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules, que significa: componentes microbianos de superfície que reconhecem moléculas da matriz extracelular) que amplia a interação do patógeno com o tecido hospedeiro (Nashev *et al.*, 2004; Clarke & Foster, 2006). Esse grupo se tornou o foco de vários estudos que visam elucidar a participação dessas moléculas na capacidade de colonização nasal por *S. aureus*. Entre os membros da família MSCRAMM, os genes mais estudados são: o *sdr* (serine-aspartate repeat proteins) composto por *SdrC*, *SdrD* e *SdrE* (Sabat *et al.*, 2006; Corrigan, Miajlovic & Foster 2009; Burian, Wolz & Goerk, 2010a; Burian *et al.*, 2010b); *CfB* (clumping factor B) (O'Brien *et al.*, 2002; Wertheim *et al.*, 2008; Burian *et al.*, 2010b) e *fnbA* (fibronecting binding protein) (Mongodin *et al.*, 2002; Pragman & Schlievert, 2004). A participação de outros fatores de virulência como biofilme (Mack *et al.*, 2004; Schroeder *et al.*, 2009; Iwase *et al.*, 2010), *IsdA* (Iron regulated surface determinant protein A) (Corrigan, Miajlovic & Foster, 2009) e ácido teicóico (Weidenmaier *et al.*, 2008) na interação inicial e persistência da colonização nasal também já foi demonstrada. No entanto, apesar dessas moléculas serem importantes para o estabelecimento da adesão as narinas, nenhuma delas é exclusiva de amostras provenientes de colonização nasal, já que estão presentes também em amostras isoladas de episódios de infecção (Sivaraman *et al.*, 2010; Burian, Wolz & Goerk, 2010a; Lamers *et al.*, 2011). É válido notar também que a maioria dos estudos foram realizados *in vitro* ou em modelos animais e que a falta de estudos *in vivo* dificulta a elucidação de fatores bacterianos e genéticos (do hospedeiro) que influenciam o sucesso de uma colonização duradoura e sua possível evolução para processos infecciosos (Van Belkum *et al.*, 2009a).

Acredita-se que alguns fatores imunes e genéticos inerentes ao hospedeiro poderiam favorecer a colonização pelos *S. aureus* (Foster *et al.*, 2004). O primeiro estudo que tentou correlacionar um determinado genótipo com a colonização nasal foi desenvolvido por Kinsman, Mc Kenna & Noble (1983), o qual verificou a influência da presença do antígeno leucocitário humano (HLA-DR3) com a colonização nasal. Outros polimorfismos gênicos como os

correspondentes a porção Fc da Imunoglobulina G (Nouwen *et al.*, 2004), Interleucina 4 (alelo:IL4 C524T) (Emonts *et al.*, 2008 Ruimy *et al.*, 2010), proteína C reativa (alelo: C2042T) (Ruimy *et al.*, 2010) e subtipos de receptor humano de glicocorticóide mais responsivos (Van Den Akker *et al.*, 2006) e receptor de vitamina D (Claassen *et al.*, 2005; Van Den Akker *et al.*, 2006; Panierakis *et al.*, 2009) se mostraram peças importantes no estabelecimento da colonização nasal.

2.3 Status de colonização por *S. aureus* – O estado portador

A colonização por *S. aureus* no corpo humano não é constante, já que existem padrões diferentes, nos quais os indivíduos podem albergar (por períodos variáveis de tempo) ou não micro-organismos desta espécie (Chapaval *et al.*, 2006). Os diferentes padrões de colonização são denominados de “status de colonização” por *S. aureus*, também conhecido como estado portador.

Apesar da distinção entre os padrões de colonização de *S. aureus* ser de extrema importância para aplicação de medidas de vigilância epidemiológica, não existe atualmente um consenso a respeito do critério a ser adotado para diferenciar esses padrões de colonização. A forma de classificação mais aceita e utilizada foi determinada em estudos longitudinais que classificaram de acordo com o tempo que os indivíduos permaneceram colonizados: os indivíduos que estão sempre colonizados pela mesma amostra de *S. aureus* e assim chamados de Portadores Persistentes (PP) ou permanentes (10-35%); os que apresentam colonização de forma transitória e são chamados de Portadores Intermitentes (PI) ou transitório e equivalem a uma grande porção da população de colonizados (20-75%) e os que nunca apresentam colonização por *S. aureus*, sendo então chamados de Não-Portadores (NP) (5-50%) (Lamikanra & Olusanya, 1988; Vandenberg *et al.*, 1999; Nouwen *et al.*, 2004; Nouwen *et al.*, 2005).

2.4 Impacto clínico da colonização nasal por *S. aureus*

O portador de *S. aureus* tem um papel crucial na epidemiologia, transmissão e patogênese desse micro-organismo tanto em âmbito hospitalar como na comunidade, pois comumente, esta bactéria pode se deslocar do reservatório (nasal ou extra-nasal) para mãos e pele e assim colonizar e infectar áreas como cateteres, fístulas e conseqüentemente atingir a corrente sanguínea e outros sítios estéreis após quebra de barreira cutânea (Fournier & Philpott, 2005).

A distinção entre padrões de colonização nasal é de extrema importância em decorrência do elevado risco que os portadores nasais de *S. aureus* têm no desenvolvimento dos processos infecciosos. Grande parte dos processos infecciosos que ocorrem tanto em âmbito comunitário como hospitalar são de origem endógena (Ena *et al.*, 1994; Dupeyron *et al.*, 2002). Von Eieff e colaboradores (2001) demonstraram que cerca de 80% das amostras de *S. aureus* isoladas do sangue periférico de pacientes sépticos apresentaram o mesmo perfil clonal das que estavam presentes nas narinas anteriores desses pacientes. Foi verificado também, que a duração do período de hospitalização e a taxa de infecção foram significativamente maiores entre os portadores nasais de *S. aureus* do que os NP (Nouwen *et al.*, 2005).

O risco para o desenvolvimento de infecções entre os próprios portadores é diferente sendo que os PP podem exibir um risco maior do que os PI, que por sua vez apresenta um risco semelhante aos NP. Já foi demonstrado que portadores nasais de *S. aureus* tem um risco maior de desenvolver infecções do que NP (Cavalcanti, 2006; Kluytmans & Wertheim, 2004; Fournier & Philpott, 2005), sendo que os pacientes submetidos à hemodiálise colonizados por *S. aureus* tem um risco superior a 4 no desenvolvimento de infecções associadas ao acesso vascular e bacteriemias. Outros estudos também demonstraram a participação dos portadores nasais no desenvolvimento de bacteriemias, entre os pacientes sob diálise (Chow *et al.*, 1989; Koziol-Montewka *et al.*, 2001; Nouwen *et al.*, 2005; Akatas *et al.*, 2011; Fitgibbons *et al.*, 2011) e a

importância na elucidação de medidas que reduzam o índice de colonização e infecções subseqüentes (Henderson, 2006; Anderson & Kaye, 2009).

A colonização nasal por *S. aureus* (inclusive MRSA) é um fator de risco para o desenvolvimento de infecções de pele, de tecidos moles e bacteriemias, em vários grupos populacionais (pacientes hospitalizados, pacientes submetidos a cirurgias gerais, torácicas, pacientes em UTI, pacientes submetidos à diálise e HIV-positivos (Coates, Bax & Coates, 2009). Uma das estratégias utilizadas para conter e prevenir surtos e infecções causadas por *S. aureus* (inclusive pelo MRSA) nesses e em outros grupos de pacientes, é a descolonização. No entanto, alguns estudos demonstraram que a eliminação da colonização de *S. aureus* das narinas anteriores reduziu, de forma significativa, a incidência de infecções (Yu *et al.*, 1986; Chow *et al.*, 1989; Wenzel *et al.*, 1995; Kluytmans *et al.*, 1996; Safdar *et al.*, 2008) com conseqüente redução do índice de mortalidade associada (Bloom *et al.*, 1996). No entanto, apesar de alguns estudos indicarem que a descolonização nasal com mupirocina é benéfica, poucos desses estudos conseguiram arrolar um número suficiente de participantes para comprovar sua eficácia. Dentre os grupos em que a descolonização nasal com mupirocina foi comprovada, estão apenas os pacientes pré cirúrgicos, pacientes em UTI, pacientes submetidos à hemodiálise e pacientes com infecções recorrentes de pele e tecidos moles (Coates, Bax & Coates, 2009; Simor & Daneman, 2009). Ainda, já foi demonstrado também que a descolonização tópica é um procedimento que não garante um efeito residual duradouro, permitindo a re-colonização em algumas semanas, com amostras genotipicamente idênticas as que estavam presentes antes da descolonização (Wertheim *et al.*, 2004; Coates, Bax & Coates, 2009).

2.5 Protocolos para detecção de portadores nasais de *S. aureus*

Apesar da colonização nasal ser extensamente estudada em âmbito hospitalar e comunitário (Boleart *et al.*, 1995; Von Eiff *et al.*, 2001; Henderson, 2006; Aktas *et al.*, 2011), são poucos os trabalhos que visaram elaborar, validar ou otimizar protocolos de coleta e critérios de classificação capazes de distinguir o estado

portador com acurácia (Tabela 1) (Geert *et al.*, 1998; Vandenberg *et al.*, 1999; Nouwen *et al.*, 2006).

A avaliação da colonização nasal pode ser realizada por meio de estudos de corte-transversal ou de estudos longitudinais. O primeiro tipo de estudo apenas determina a taxa de colonização, enquanto o segundo avalia a dinâmica e o padrão de colonização nasal durante um período de tempo e ainda correlaciona essa característica com a ocorrência de determinados eventos como episódios de infecção (Wertheim *et al.*, 2005). No entanto, não existe uma metodologia padronizada para triagem e classificação dos pacientes quanto ao estado portador de *S. aureus*, sendo que cada estudo acaba por estabelecer uma metodologia que difere quanto ao tempo de acompanhamento, intervalo de coleta, processamento da amostra e critério utilizado para se definir o estado portador. Esses fatores dificultam a comparação entre os dados encontrados entre estudos (Vandenberg *et al.*, 1999).

Em 1998, Geert e colaboradores elaboraram um protocolo para a triagem e classificação dos portadores nasais. Para isso, o estudo contou com a participação de 91 pacientes sob o regime de hemodiálise, sendo que o protocolo de triagem utilizado consistiu em cinco coletas e destas, as três primeiras coletas foram realizadas no mesmo dia com um intervalo de 1 hora e entre as outras duas coletas com o intervalo de no mínimo 2 dias. Os autores avaliaram a influência da periodicidade das coletas e do enriquecimento nutricional (caldo BHI (acrônimo em inglês para: Brain Heart Infusion) com 6,5% de NaCl) na taxa de isolamento e identificação dos portadores nasais e constataram que a utilização do caldo aumentou a taxa de isolamento de *S. aureus* por facilitar a detecção dos portadores com baixa carga bacteriana (Geert *et al.*, 1998). Apesar de aumentar a sensibilidade (Schuenck *et al.*, 2006), outros estudos já demonstraram que a utilização do caldo não afeta a detecção de PP como um estudo longitudinal realizado por Vandenberg e colaboradores (1999) que avaliou a colonização nasal de 91 adultos durante um período de 12 semanas e os classificou em 3 grupos de colonização de acordo como o número de amostras de *S. aureus* isoladas de cada participante. Os

pacientes foram classificados em: NP (todas coletas negativas para *S. aureus*), PI (de uma até 80% das coletas positivas para *S. aureus*) e PP (80% ou mais das coletas positivas para *S. aureus*). A persistência da colonização nasal entre os PP foi reexaminada 8 anos após o primeiro contato com este grupo e notou-se que os pacientes com 100% das coletas positivas para *S. aureus* permaneceram colonizados. A metodologia utilizada por Vandenberghe e colaboradores (1999) para classificar os portadores nasais serviu de modelo para outros estudos (Nouwen *et al.*, 2004; Nouwen *et al.*, 2006) que modificaram e aprimoraram o procedimento e interpretação dos dados.

Tabela 1- Protocolos adotados para classificação do tipo de portador nasal de *S. aureus*.

Referência	População analisada	N	Design do Estudo		% de culturas positivas para cada estado de colonização			Frequência de colonização encontrada		
			Nº de Coletas/ Período	Intervalo de coleta	NP	PI	PP	NP	PI	PP
Vandenberg <i>et al.</i> , 1999	Membros da Universidade da Irlanda	91	10-12/10-12 semanas	1 semana	0	1-80%	≥80%	47%	17%	36%
Geert <i>et al.</i> , 1998	Hemodiálise	91	5/5 dias	1ª, 2ª, 3ª 1 h de intervalo ; 4ª e 5ª coleta com 2 dias de intervalo	0	0-40%	≥40%	30%	37%	33%
Nouwen <i>et al.</i> , 2004	Funcionários do EMC	51	12/12 semanas	1 semana	0	1-80%	≥80%	39,2%	31,4%	29,4%
Nouwen, <i>et al.</i> , 2006a	Diálise peritoneal contínua	98	12/12 semanas	1 semana	0	1-80%	≥80%	23%	22%	43%
Nouwen <i>et al.</i> , 2006b	Diálise peritoneal contínua	52	6/6 semanas	1 semana	0	1-50%	≥60%	42%	19%	39%
Van Belkun <i>et al.</i> , 2009b	Adultos/voluntários	51	5-10/6 meses	1 -4 semanas	0	1-80%	≥80%	29%	47%	24%

EMC - Erasmus Medical Center. NP- Não portador; PI- Portador Intermitente; PP- Portador persistente.

2.6 Infecções causadas por *S. aureus* em pacientes submetidos à hemodiálise

A hemodiálise está associada com um alto risco de morbidade e mortalidade (17,1%) (Sesso *et al.*, 2010). Infecções, principalmente as relacionadas ao acesso vascular, contribuem de forma significativa para o aumento desse risco. A taxa de mortalidade em decorrência de infecções associadas ao acesso vascular é superior a 40% (Lafrance *et al.*, 2008). Atualmente, no Brasil, episódios de infecção são a segunda maior causa de morte entre os pacientes submetidos aos procedimentos de hemodiálise com uma taxa de mortalidade anual equivalente a 24% (Sesso *et al.*, 2010). Desses episódios, aproximadamente 60% são devido a infecções relacionadas ao acesso vascular (Tokars, Miller & Stein, 2002; Patel *et al.*, 2008; Chan *et al.*, 2007).

Existem diversos fatores que foram identificados e relacionados com o risco de desenvolvimento de bacteriemias em pacientes com IRC, porém muitos desses fatores têm um baixo poder de correlação. Dentre os principais fatores de risco para o desenvolvimento de bacteriemias nos pacientes em hemodiálise estão: a utilização de cateter como acesso vascular; episódios anteriores de bacteriemias; utilização de terapia imunossupressora, valores altos de hemoglobina corpuscular, diabetes e colonização nasal por *S. aureus* (Hoen *et al.*, 1997; Lafrance *et al.*, 2008). Além desses fatores, pacientes IRC são vulneráveis a infecções devido à imunossupressão urêmica, desnutrição que ocasiona linfopenia, redução da atividade neutrofílica e piora da imunidade celular pela deficiência de aminoácidos, vitamina B6 e zinco, acumulação de metabólitos tóxicos, metabolismo de glicose deficiente e constante hospitalização (Hoen *et al.*, 1997; Lafrance *et al.*, 2008; Vandecasteele, Boelaert & Vriese, 2009;).

Além dos fatores inerentes ao paciente que necessita de hemodiálise, o próprio procedimento abriga riscos para aquisição de infecções, como: utilização de água com tratamento inadequado, falta de técnica asséptica na manipulação do acesso vascular, punção constante do acesso vascular, tipo e tempo de permanência do acesso vascular e número de sessões de hemodiálise (Hoen

et al., 1998; Klevens ,Tokars & Andrus ,2005; Lafrance *et al.*, 2008). O tipo de acesso vascular, episódios anteriores de bacteriemia e colonização nasal por *S. aureus* foram as variáveis que apresentaram maior correlação com o desenvolvimento de bacteriemias (Lafrance *et al.*, 2008).

Os pacientes que fazem uso constante de cateter ou outro acesso a vascular (ex.: fístulas), como os pacientes de hemodiálise, estão muito suscetíveis a infecções, devido ao status imunológico debilitado e a presença de um acesso vascular que atua como porta de entrada. O United States Renal Data Service (USRDS) mostrou que de 15 a 17% das hospitalizações entre pacientes sob hemodiálise estavam relacionadas a infecções (Chan *et al.*, 2007), sendo *S. aureus* a bactéria mais isolada em casos de bacteriemia (Reed *et al.*, 2005). O custo médio de cada episódio de bacteriemia por *S. aureus* foi superior a US\$20.000 (Vandecasteele, Boelaert & Vriese, 2009). Klevens e colaboradores (2005) analisaram os dados coletados no período de 1999 a 2005 (321.519 pacientes/mês) pelo Dialysis Surveillance Network (DSN), e mostraram que dos 8.359 episódios de bacteriemias ocorridos nesse período, 19% foram secundárias, 4% eram apenas contaminações e 77% foram bacteriemias primárias, onde o segundo micro-organismo mais isolado foi *S. aureus*. Bacteriemias causadas por bactérias gram-negativas ocorrem em menor frequência e estão geralmente relacionadas a surtos provenientes de contaminação da água (Lafrance *et al.*, 2008)

Uma grande proporção (31%) dos pacientes com IRC submetidos à hemodiálise sofrem complicações decorrentes das bacteriemias causadas por *S. aureus* (Marr *et al.*, 1998; Mesiano & Merchan-Hamann, 2007;Li *et al.*, 2008;). Dentre as complicações mais frequentes estão: endocardite infecciosa (17%), formação de abscesso (6%) e sepse (5%). Eventos mais raros como osteomielite, meningite, artrite séptica equivalem a 3% (Mesiano & Merchan-Hamann, 2007). Cerca de 15% das infecções causadas por MRSA ocorrem em pacientes em diálise. Este fato, associado às propriedades farmacocinéticas, cobertura contra os micro-organismos gram-positivos, especialmente SCN e a possibilidade de administração após as sessões de diálise, fizeram da Vancomicina a primeira escolha terapêutica no tratamento de bacteriemias em

pacientes submetidos a diálise (Pallotta & Manley, 2008; Vandecasteele, Boelaert & Vriese, 2009).

O conhecimento prévio dos principais micro-organismos que contribuem para os episódios de bacteriemia permite um melhor direcionamento da terapia empírica, reduzindo o uso dos antibióticos e dificultando o desenvolvimento de resistência aos antimicrobianos como a vancomicina (Henderson, 2006). A investigação dos principais fatores de risco (como determinação do status de colonização nasal e tipo do acesso vascular) e a avaliação da sua influência para o desenvolvimento de episódios de bacteremias facilitam o estabelecimento de medidas profiláticas eficientes com intuito de reduzir a incidência de infecções, reduzindo o risco de morte e melhorando a qualidade de vida dos pacientes (Vandecasteele, Boelaert & Vriese, 2009; Grothe *et al.*, 2010).

Objetivos

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Determinar a frequência e o perfil de colonização nasal por *S. aureus* entre os pacientes de dois centros de hemodiálise da Grande Vitória, ES.

3.2 Objetivos específicos

1-Determinar a frequência de colonização nasal e classificar os pacientes segundo o status de colonização por *S. aureus* em não portador, portador intermitente e portador persistente.

2- Comparar diferentes protocolos de coleta para classificação de portadores nasais de *S. aureus* aplicável à rotina clínica.

3- Verificar o perfil de suscetibilidade das amostras de *S. aureus* provenientes de colonização nasal aos antimicrobianos em geral através de teste de difusão de disco.

4- Verificar a suscetibilidade das amostras a vancomicina e oxacilina por meio da triagem e diluição em Agar.

5- Estimar o risco por meio da razão de chances (OR-odds ratio) para o desenvolvimento de bacteriemias entre as diferentes classes de portadores nasais.

Materiais e Métodos

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Estratégia do Estudo

4.1.1 Natureza e local do estudo

Estudo longitudinal prospectivo para avaliação do risco (por meio da razão de chances) conferido pela colonização nasal por *S. aureus* (exposição) no desenvolvimento de bacteriemias (desfecho) em pacientes com IRC sob o regime de hemodiálise na CCR e no HSRC, ambos localizados na Grande Vitória, ES. Este desenho de estudo também possibilitou mensurar a frequência e o status de colonização nasal presente nesse grupo de pacientes.

Foram convidados a participar do estudo todos pacientes cadastrados nas unidades de hemodiálise. A coleta das amostras foi realizada nas unidades de hemodiálise e o processamento ocorreu no laboratório de Resistência Bacteriana (RESBAC) - Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Em virtude da distância entre o laboratório RESBAC e a CCR, as amostras coletadas dos pacientes dessa unidade foram semeadas no setor de microbiologia do Laboratório Tommasi e posteriormente acondicionadas adequadamente e transportadas ao laboratório RESBAC. Dessa forma, a conservação e processamento das amostras não constituíram fatores interferentes para o resultado final.

4.1.2 Delineamento do estudo

O presente estudo consistiu em duas etapas que ocorreram simultaneamente: a primeira etapa deste estudo foi caracterizada pela coleta periódica das amostras nasais para a posterior classificação do tipo de portador nasal, enquanto a segunda etapa consistiu na coleta de dados provenientes de fontes secundárias como relatórios epidemiológicos/microbiológicos e prontuários médicos (Figura 1).

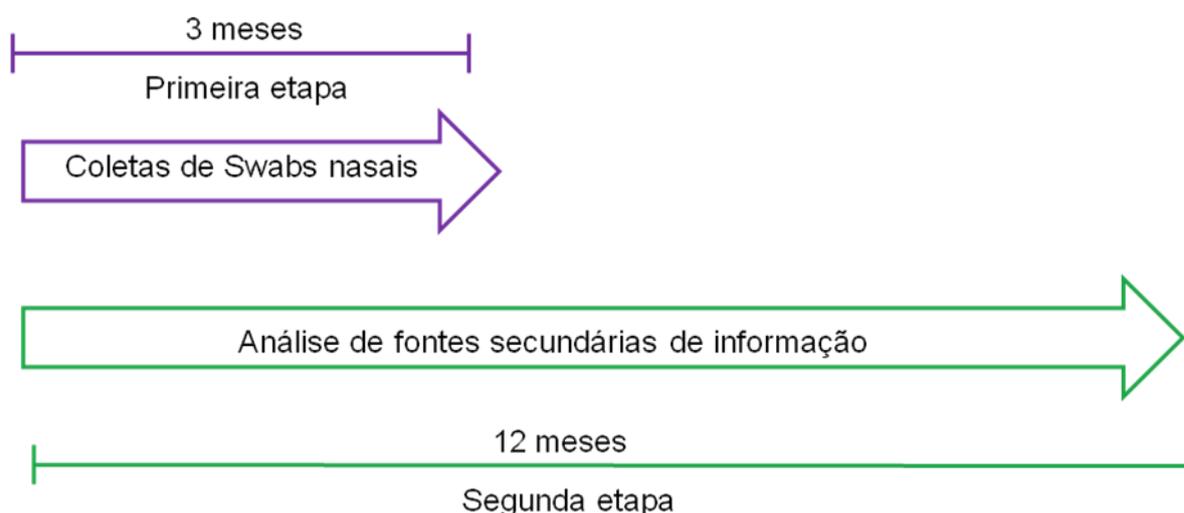


Figura 1- Delineamento longitudinal do estudo.

4.1.2.1 Primeira etapa do estudo

Na primeira etapa, foram coletados swabs nasais semanalmente durante um período de 3 meses (12 semanas) a fim de determinar o estado de colonização nasal de *S. aureus* dos pacientes com IRC sob regime de hemodiálise, seguindo os critérios descritos no item 4.4. Em associação a coleta das amostras nasais foi aplicado um questionário (anexo 3) contendo algumas das variáveis sociais e demográficas a serem investigadas e posteriormente correlacionadas com o status de colonização por *S. aureus*. Durante esta etapa, as amostras de *S. aureus* foram isoladas, identificadas e tiveram seu padrão de suscetibilidade a oxacilina e vancomicina definidos seguindo a metodologia descrita nos itens 4.3.5.2 e 4.3.5.3, respectivamente.

4.1.2.2 Segunda etapa do estudo

Durante esta etapa, os pacientes foram acompanhados por um período de 12 meses, no qual foram coletados dados provenientes da análise minuciosa dos prontuários médicos, relatórios epidemiológicos e microbiológicos com a finalidade de coletar dados como episódios de bacteriemias, uso de antimicrobianos, possíveis hospitalizações e outras intervenções médicas. As informações obtidas por meio dos prontuários e relatórios foram utilizadas para descrever as características gerais dessa população bem como determinar o risco conferido pela colonização nasal no desenvolvimento de bacteriemias.

4.1.3 Critérios de inclusão

Para a inclusão dos pacientes no estudo foram considerados os seguintes itens:

- Pacientes com IRC atendidos no setor ambulatorial da CCR e do HSRC;
- Soro não reativo contra o vírus da imunodeficiência humana e da hepatite C
- Pacientes que concordaram e assinaram o termo de consentimento livre esclarecido.

4.1.4 Critérios de exclusão

Para a exclusão dos pacientes previamente incluídos no estudo foram considerados os seguintes itens:

- Para a classificação do status de colonização nasal (obtido na primeira etapa do estudo), foram excluídos os pacientes com menos de 10 coletas durante o período de 12 semanas de triagem (Vandenberg *et al.*, 1999).
- Foram considerados excluídos da segunda etapa do projeto os pacientes que não permaneceram no estudo durante o período de 12 meses pelos seguintes

motivos: óbito; transferência para outras unidades de hemodiálise; paciente submetido a transplante renal; solicitação do desligamento do projeto.

4.2 Aspectos éticos

A coleta das amostras foi realizada de forma não invasiva, sem gerar nenhum tipo de risco ou dor ou prejuízo para o paciente.

Todos os pacientes foram informados a respeito dos procedimentos e objetivos do estudo. A coleta das amostras foi realizada após conscientização e autorização do paciente via assinatura de um termo de consentimento (anexo 4).

Este trabalho corresponde a um subprojeto de um projeto que está inscrito no Comitê de Ética em pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo sob o registro nº 075/07 aprovado no dia 26/09/2007 conforme anexos anexo 1 e 2. O anexo 1 compreende a aprovação inicial do projeto e o anexo 2 cobre as modificações aplicadas ao projeto antes do seu início.

4.3 Procedimentos laboratoriais

4.3.1 Coleta de amostras nasais

As amostras de secreção foram coletadas da parte anterior das duas narinas com o auxílio de um swab estéril de algodão (Absorve, SP) umedecido em salina que foi friccionado quatro vezes na porção interna das narinas anteriores, aplicando-se uma pressão constante e girando o swab sem interrupção (Vandenberg *et al.*, 1999).

As amostras foram semeadas em agar manitol salgado (“Mannitol Salt Agar” HIMEDIA, Índia) num tempo máximo de 30 minutos após a coleta. As placas foram incubadas a 37°C por 48h. Em seguida, as amostras que apresentaram crescimento e mudança cromática para amarelo ao redor das colônias foram

transferidas para agar Sangue (“Blood Agar Base”, HIMEDIA, com 5% de sangue humano) para posterior análise morfológica e caracterização fenotípica.

4.3.2 Amostras padrão

Para os testes de identificação foram utilizadas as amostras *S. epidermidis* ATCC 12228 e a amostra *S. aureus* ATCC 25923. Para os testes de avaliação da suscetibilidade aos antimicrobianos foram utilizadas as amostras padrão *S. aureus* ATCC 29213 e ATCC 25923, sensíveis a oxacilina, *mecA* negativas, *S. aureus* ATCC 33591 resistente a oxacilina, *mecA* positiva e *Enterococcus faecalis* ATCC 51299, resistente a Vancomicina.

4.3.3 Identificação das amostras

Somente foram identificadas as amostras de estafilococos capazes de fermentar o manitol presente no meio agar Manitol Salgado. As amostras foram cultivadas em agar sangue (“Blood Agar Base”, HIMEDIA, com 5% de sangue humano) e incubadas a 37 °C por 24 h para posterior caracterização fenotípica através das características morfológicas e produção das enzimas coagulase e desoxiribonuclease (Figura 2).

4.3.3.1 Teste da coagulase em tubo

A verificação da produção da enzima coagulase foi realizada a partir de colônias isoladas, crescidas em agar sangue (“Blood Agar Base”, Becton Dickinson and Company, com 5% de sangue humano), transferidas para um tubo contendo plasma humano diluído a 1:5 em solução salina a 0,85%. Os tubos contendo as amostras foram incubados a 37°C, em banho-maria. A leitura foi realizada em diferentes tempos (1; 2; 4; 6 e 24 horas após a incubação) e o aparecimento do coágulo indicou reação positiva. A amostra *S. aureus* ATCC 25923 foi utilizada como controle positivo da reação, enquanto a

amostra de *S. epidermidis* ATCC 12228 foi utilizada como controle negativo (Koneman, 2008).

4.3.3.2 Teste da Desoxirribonuclease (DNase)

A verificação da produção da enzima DNase foi realizada segundo os critérios do fornecedor (HIMEDIA, Índia) por intermédio do cultivo das amostras em agar DNase teste com azul de toluidina. As amostras foram inoculadas em “spots” (semeadura em pontos) a partir de 4µL de uma suspensão bacteriana preparada em salina na turvação correspondente a 0,5 na escala de Mc Farland (10^8 UFC/mL) e incubadas a 37°C por 24h. Os isolados foram considerados produtores de DNase quando observado mudança de cor do azul púrpura para púrpura rosado ao redor do crescimento.

4.3.3.3 Reação de PCR para a detecção do gene espécie-específica(*nuc A*)

4.3.3.3.1 Liberação de DNA bacteriano utilizando a lise térmica

A liberação do DNA bacteriano foi realizada de acordo com Schuenck e colaboradores (2009) com modificações. Três a cinco colônias de cada amostra cultivada em agar sangue (“Blood Agar Base”, HIMEDIA- Índia com 5% de sangue humano) foram transferidas para 100 µL de água estéril deionizada. Esta suspensão foi mantida à temperatura de ebulição, em torno de 100°C, por 10 min e, em seguida centrifugada por 30s, a 10.000 x *g*. Os sobrenadantes com DNA liberado foram coletados e usados para a reação de PCR.

4.3.3.3.2 PCR para a detecção do gene espécie-específica (*nucA*)

A confirmação em nível de espécie das amostras de *S. aureus* isoladas a partir dos swabs nasais foi realizada pela detecção de segmentos específicos do gene *nucA*. A amplificação foi realizada em uma termocicladora (Veriti- Applied Biosystems), utilizando-se um volume total de 50 µL para a reação composta de 5 µL de DNA liberado por lise térmica, 400 µM de cada desoxinucleotídeo trifosfatado (dATP, dGTP, dCTP e dTTP) (Life Technologies, São Paulo, Brasil), 5 µL do tampão da enzima 10x (10 mM Tris HCl, 25mM KCl), 2 mM de MgCl₂, 1,5U de *Taq* DNA polimerase (Biotools -Madri, Espanha) e acrescido de 1 µM dos oligonucleotídeos *nuc1* (*nuc1*- GCGATTGATGGTGATACGGTT) e *nuc2* (*nuc 2*- AGCCAAGCCTTGACGAACTAAAGC) para detecção de um fragmento do gene *nuc* de 218 pb de *S. aureus* e (Brakstad, Aasbakk & Maeland, 1992). Após realização de uma etapa de desnaturação inicial de 94°C por 3 min, foram realizados 30 ciclos de amplificação: desnaturação a 94°C por 1 min, anelamento a 55°C por 1min e extensão a 72°C por 2min, seguido de uma etapa final de extensão, realizada a 72°C por 5min. Os produtos amplificados foram analisados por eletroforese em gel de Agarose a 2,0% em TBE (0,89 M Tris [Hexapur], 0,89 M ácido bórico [Hexapur], 2,5 mM EDTA [Hexapur], pH 8,2), a 90V por 1,5 h. A coloração do gel foi realizada posteriormente, com a imersão deste em uma solução de brometo de etídio 0,005µL/ml (Hexapur, Amsterdam-Holanda) por 5 minutos, sendo o gel fotografado sob luz ultravioleta. Como padrão de DNA para a corrida eletroforética foi utilizado o padrão 100 pb DNA ladder (Invitrogen). Foram consideradas *S. aureus*, as amostras que apresentaram uma banda na altura equivalente a 270pb.

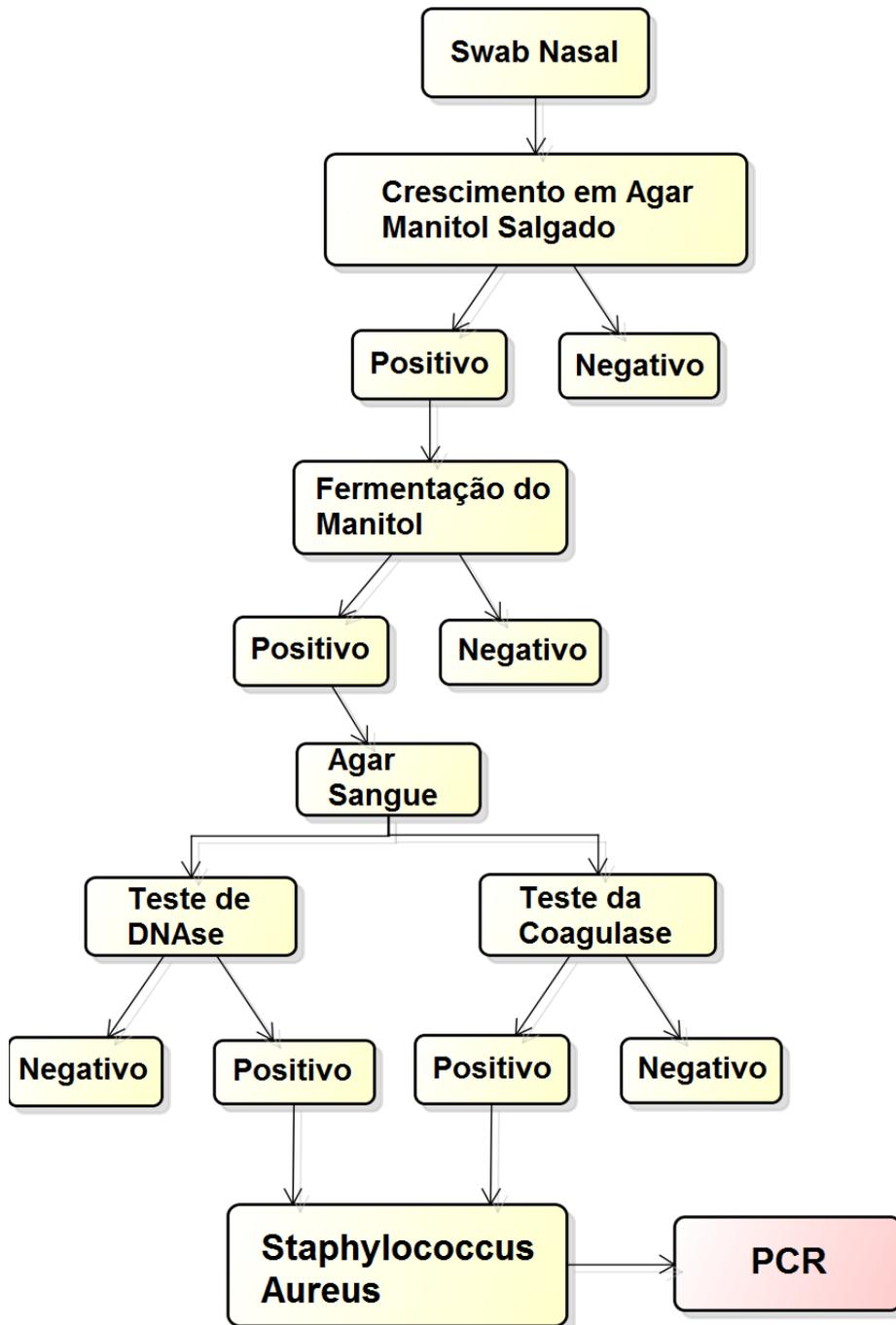


Figura 2-Fluxograma de Identificação das amostras coletadas a partir de swab nasal.

4.3.4 Estocagem das amostras

Todas as amostras identificadas como *S. aureus* foram estocadas em caldo TSB (“Trypticase soy broth” Becton, Dickinson and Company - BD) com 20% de glicerol e conservadas a – 20°C.

4.3.5 Avaliação do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos

4.3.5.1 Teste de difusão do disco (TDD)

Três a cinco colônias selecionadas a partir de uma cultura em agar sangue com 24h de incubação a 37°C foram suspensas em solução de NaCl 0,85% para a obtenção de uma turbidez correspondente a 0,5 na escala de McFarland que corresponde a aproximadamente 10^8 UFC/mL. A partir dessa suspensão, as amostras foram semeadas com swab em placa de petri contendo agar Mueller Hinton (HIMEDIA - Índia), de modo a assegurar uma distribuição homogênea do inóculo. Para este teste foram utilizados discos de teicoplanina 30µg, cefoxetina 30 µg, oxacilina 1 µg, sulfametoxazol/trimetropima 25µg, clindamicina 2 µg, rifampicina 5 µg, penicilina 10 UI, eritromicina 15 µg, cloranfenicol 30 µg, ciprofloxacina 5 µg, gentamicina 10 µg, tetraciclina 30 µg, linezulida 30 µg e mupirocina 5 µg (Fuchs *et al*,1990) (Cefar Diagnóstica, LTDA – SP). A leitura foi realizada após incubação por 24 h a 37°C. A interpretação dos halos seguiu os critérios estabelecidos pelo CLSI (2010), exceto o halo referente a mupirocina que foi avaliado de acordo com os critérios estabelecidos por Fuchs e colaboradores (1990). Como controle foi utilizado a amostra de *S. aureus* ATCC 25923 .

4.3.5.2 Avaliação da suscetibilidade a oxacilina

4.3.5.2.1 Teste de triagem com oxacilina

As amostras foram submetidas ao subcultivo em agar Mueller-Hinton contendo 6 µg/mL de oxacilina (Sigma Aldrich, St Louis, MO - USA) e suplementado com 4

% de NaCl. O inóculo foi preparado de acordo com a escala de 0,5 McFarland semeado com um swab em ¼ da placa. A resistência a oxacilina foi confirmada quando observada a presença de mais de uma colônia após de 24h e 48h de incubação à 37°C. Como controles foram utilizados as amostras de *S. aureus* ATCC 29213, sensível a oxacilina e ATCC 33591, resistente a oxacilina (CLSI, 2010).

4.3.5.2.2 Determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) para oxacilina

A CMI foi determinada para oxacilina pelo método de diluição em agar . As amostras na concentração de 10^4 UFC/mL foram submetidas a diluições seriadas em agar Mueller-Hinton suplementado com 2 % de NaCl contendo oxacilina (Sigma Aldrich, MO, USA) variando de 0,0625 µg/mL a 8µg/mL. Foram consideradas resistentes a oxacilina as amostras de *S. aureus* que apresentarem $CMI \geq 4 \mu\text{g/mL}$ e sensíveis as amostras com $CMI \leq 2\mu\text{g/mL}$. Como controle para os testes de suscetibilidade foi utilizada a amostra padrão *S. aureus* ATCC 29213 (CLSI, 2010).

4.3.5.3 Avaliação da suscetibilidade a vancomicina

4.3.5.3.1 Teste de triagem com vancomicina

As amostras foram submetidas ao subcultivo em BHI (“Brain Heart Infusion”, HIMEDIA- Índia) contendo 4 µg/mL e 6 µg/mL de vancomicina (Sigma Aldrich, MO, USA). O inóculo foi preparado de acordo com a escala de 0,5 McFarland semeado com um swab em ¼ da placa. A resistência a vancomicina foi confirmada quando observada a presença do crescimento de mais de uma colônia após de 24h e 48h de incubação à 37°C. Como controle, foram utilizadas as amostras de *S. aureus* ATCC 29213, sensível a vancomicina e *Enterococcus faecalis* 51299 resistente a vancomicina (CLSI, 2010).

4.3.5.3.2 Determinação de CMI para vancomicina

A CMI foi determinada para vancomicina pelo método de diluição em agar. As amostras de *S. aureus* na concentração de 10^4 UFC/mL inoculadas em agar Mueller-Hinton contendo concentrações de vancomicina variando de 0,0625 µg/mL a 16 µg/mL. Foram consideradas resistentes a vancomicina as amostras que apresentaram CMI ≥ 16 µg/MI, de resistência intermediária as amostras que apresentaram uma CMI 4-8 µg/mL e sensíveis CMI ≤ 2 µg/mL. Como controle para os testes de susceptibilidade foi utilizada a amostra padrão *S. aureus* ATCC 2921 (CLSI, 2010).

4.4 Definição do estado portador

De acordo com os resultados obtidos das culturas seqüenciais de secreção nasal, os portadores foram classificados em três categorias segundo o critério proposto por Vandenberg e colaboradores (1999) com algumas modificações:

- NP - pacientes sem cultura positiva para *S. aureus*;
- PI - No mínimo uma e até 80% das culturas positivas para *S. aureus*;
- PP - 80% ou mais das culturas positivas para *S. aureus*.

4.5 Análise estatística

As análises estatísticas utilizadas para se testar às hipóteses formuladas foram: o Teste de Kappa para análise do nível de concordância aos pares entre o protocolo de referência de 12 semanas e as coletas semanais realizadas durante esse período para assim estimar o número mínimo de coletas necessárias para classificar os pacientes em relação ao estado de portador nasal de *S. aureus*. Para a avaliação da concordância utilizando o Kappa foram adotados os critérios propostos por Landis & Koch, (1977) (Tabela 2). Tais testes foram calculados com o auxílio do programa STATA 9.2 (Stata

Corporation, College Station, Estados Unidos). Os resultados foram considerados significativos estatisticamente quando apresentaram valor de $p \leq 0,05$.

Tabela 2- Critério de interpretação dos valores obtidos pelo teste Kappa (k) segundo Landis e Koch (1977)

Valores de Kappa	Concordância
<0,2	Fraca
0,21 - 0,4	Considerável
0,41 - 0,6	Moderada
0,61 - 0,8	Boa
0,81 - 1,0	Excelente

Para determinar o risco para o desenvolvimento de bacteremia, utilizamos o teste estatístico qui-quadrado e teste exato de Fisher (quando algum valor inferior a 5 estava presente), no qual as variáveis com valores de p inferiores a 0,1 foram submetidas à regressão logística. Em todas as análises de regressão, a variável estado de colonização foi incluída independente do valor de p por ser a variável de interesse.

Resultados

5 RESULTADOS

5.1 Coleta de swab nasal dos pacientes sob hemodiálise

Foram realizadas coletas semanais de swabs nasais dos pacientes de hemodiálise do HSRC e da CCR durante o período de 28 de julho de 2009 até 20 de abril de 2010, totalizando 12 coletas. A Tabela 3 mostra os períodos em que ocorreram as etapas do estudo.

Tabela 3- Períodos da primeira e segunda etapa do estudo.

Centro de hemodiálise	Primeira etapa		Segunda etapa
	Início das coletas	Término das coletas	Período de acompanhamento
CCR ¹	27/07/09	2/10/09	27/07/09 - 27/07/10
CCR ²	19/10/09	6/01/10	19/10/09 - 19/10/10
HSRC	3/02/10	20/04/10	03/02/10 - 03/02/11

¹Coleta de swab nasal dos pacientes inscritos no segundo e terceiro turno da CCR. ²Coleta de swab nasal dos pacientes inscritos no primeiro turno

5.2 Isolamento de amostras, cultivo e identificação bacteriana

Dentre os 229 pacientes com IRC cadastrados no HSRC e CCR e convidados a participar do estudo, somente 10 (4,4%) se recusaram a participar. Dos 219 participantes, foi isolado *S. aureus* da secreção nasal de 50 (22,8%) voluntários (Figura 3). Ao todo foram isoladas 182 amostras de *S. aureus* identificadas por provas bioquímicas e biologia molecular (figura 4).

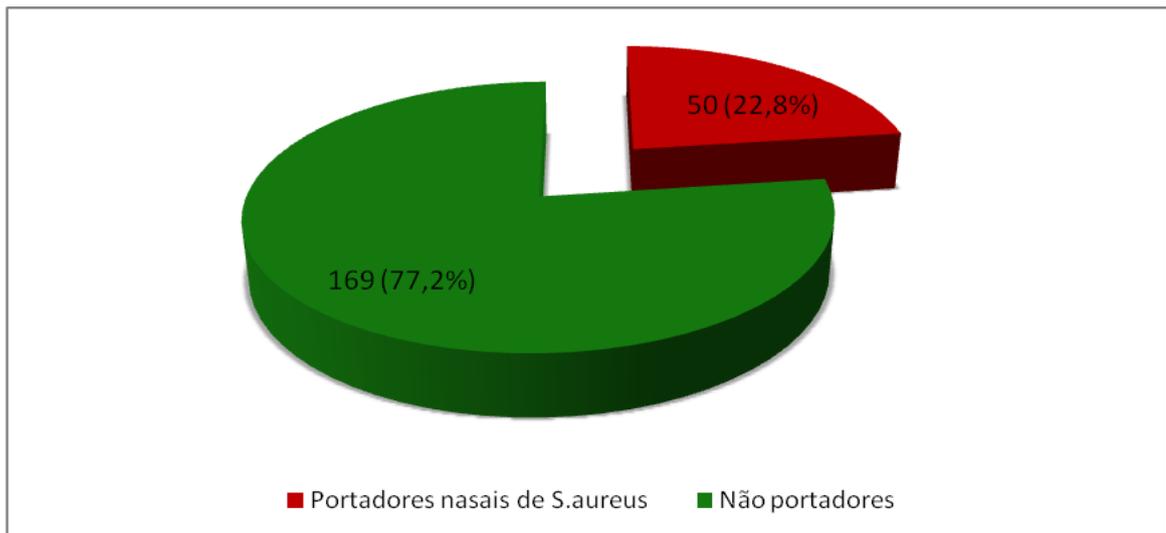


Figura 3- Prevalência de portadores nasais de *S. aureus* entre os 219 voluntários .

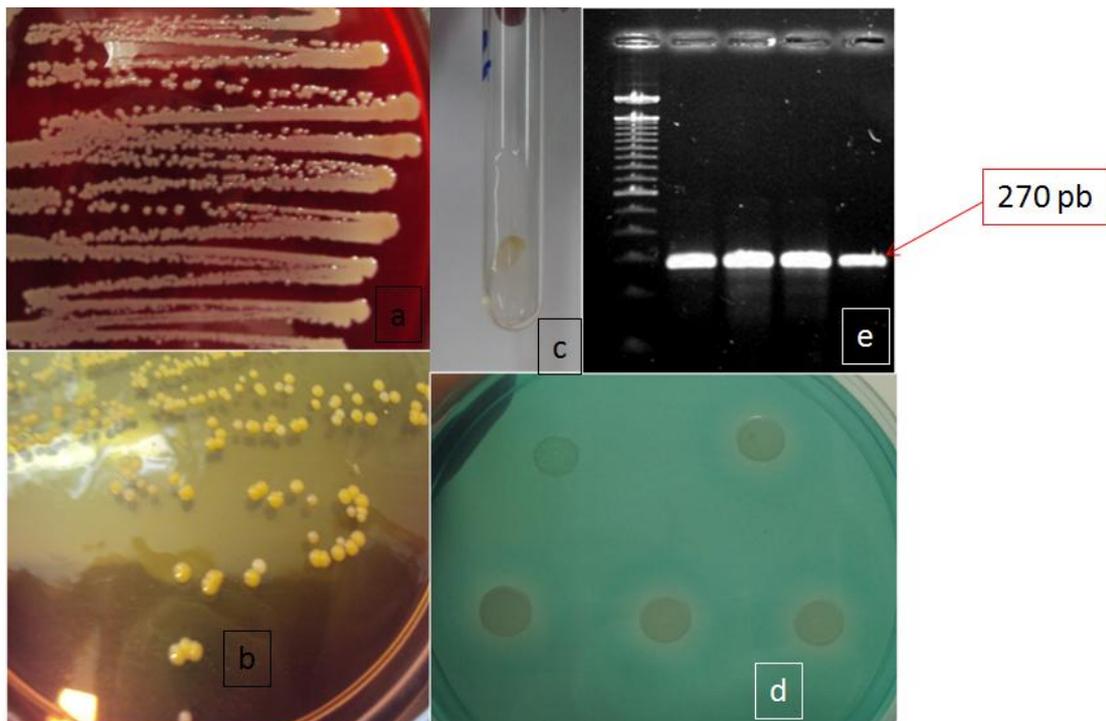


Figura 4- Resultados das provas de identificação de *S. aureus*. 4a) *S. aureus* em agar sangue; 4b) Crescimento e fermentação do agar manitol salgado; 4c) Reação positiva para o teste da coagulase em tubo; 4d) Reação positiva em agar DNase; 4e) Reação de PCR espécie-específica (*nuc A*- 270 pb).

5.3 Avaliação da suscetibilidade aos antimicrobianos

Todas as 182 amostras tiveram seu perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos determinada pelos testes de difusão do disco, triagem em agar oxacilina e vancomicina e diluição em agar oxacilina e vancomicina.

O perfil de suscetibilidade foi avaliado para 14 antimicrobianos por meio do teste de difusão do disco, sendo que as maiores taxas de resistência foram encontradas para a Penicilina (89,6%), Tetraciclina (30,8%) e Eritromicina (9,3%) (Tabela 4). Não foi observada resistência a cefoxitina ou oxacilina entre as amostras. Apenas uma amostra apresentou o padrão de multirresistência sendo esta resistente a eritromicina, penicilina, mupirocina, tetraciclina e cloranfenicol.

Tabela 4 - Perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos das 182 amostras de *S. aureus* por meio do teste de difusão do disco.

Antimicrobiano	% de Amostras Resistentes
Penicilina	(163) 89,6%
Tetraciclina	(56) 30,8%
Eritromicina	(17) 9,3%
Ciprofloxacina	(1) 0,6%
Clindamicina	(1) 0,6%
Cloranfenicol	(1) 0,6%
Mupirocina	(1) 0,6%
Sulfametoxazol/Trimetropima	(1) 0,6%
Cefoxitina	(0)0%
Linezolida	(0)0%
Oxacilina	(0)0%
Rifampicina	(0)0%
Teicoplanina	(0)0%

A tabela 5 mostra os resultados da triagem em agar com oxacilina e vancomicina. Nenhuma das 182 amostras cresceram no agar triagem contendo 6µg/mL de Oxacilina. Vinte e nove (15,9%) amostras apresentaram crescimento em agar triagem contendo 4µg/ml de vancomicina em 24 horas de incubação. Todas as amostras foram consideradas sensíveis a Vancomicina, visto que nenhuma amostra apresentou crescimento agar triagem contendo 6µg/mL de vancomicina em 24 horas de incubação.

Tabela 5- Triagem em agar contendo oxacilina ou vancomicina nas concentrações de 4 e 6 µg/mL para as 182 amostras de *S. aureus* isoladas de secreção nasal.

Crescimento	Oxacilina 6 µg/ml		Vancomicina 4 µg/ml		Vancomicina 6 µg/ml	
	<i>S. aureus</i> n (%)		<i>S. aureus</i> n (%)		<i>S. aureus</i> n (%)	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
Ausente	182 (100%)	182 (100%)	153 (84,1%)	145 (79,7%)	182 (100%)	177 (97,3%)
Presente	0	0	29 (15,9%)	37 (20,3%)	0	5 (2,7%)

h- horas

Em relação à determinação da CMI, todas as amostras foram classificadas como sensíveis a Oxacilina, sendo que 99 (54,4%) amostras exibiram uma CMI de 0,25 µg/ml e apenas 2 (1,1%) amostras apresentaram uma CMI de 2 µg/ml. Todas as amostras foram sensíveis a Vancomicina sendo que 65 (35,7%) exibiram uma CMI igual a 1,0 µg/ml em 24 horas (Tabela 6).

Tabela 6- Valores da CMI para as 182 amostras de *S. aureus*, determinado por meio do método de diluição em agar.

CMI	Oxacilina		Vancomicina	
	<i>S. aureus</i> n (%)		<i>S. aureus</i> n (%)	
	24 h	48 h	24 h	48 h
0,12 µg/mL	47 (25,8%)	24 (13,2)	0	0
0,25 µg/mL	99 (54,4%)	106 (58,2%)	0	0
0,50 µg/mL	31 (17,0%)	38 (20,9%)	117 (64,3%)	110 (60,4%)
1,00 µg/mL	3 (1,7%)	11 (6,0%)	65 (35,7%)	71 (39,0%)
2,00 µg/mL	2 (1,1%)	3 (1,7%)	0	1(0,6%)

h- horas

5.4 Classificação dos pacientes de acordo com o status de colonização nasal por *S. aureus*

Dentre os 219 pacientes, foi possível obter o mínimo de 10 coletas de 178 (81,3%). Seguindo o critério definido por Vandenberg e colaboradores (1999), esses 178 pacientes foram classificados em NP, PI e PP. Dos 178 pacientes, 40 (22,5%) apresentaram *S. aureus* na secreção nasal, enquanto os demais 138 pacientes não (77,5%). Dentre os portadores nasais de *S. aureus*, notou-se uma maior prevalência de PI (32/80%) em relação aos PP (8/20%) (Figura 5).

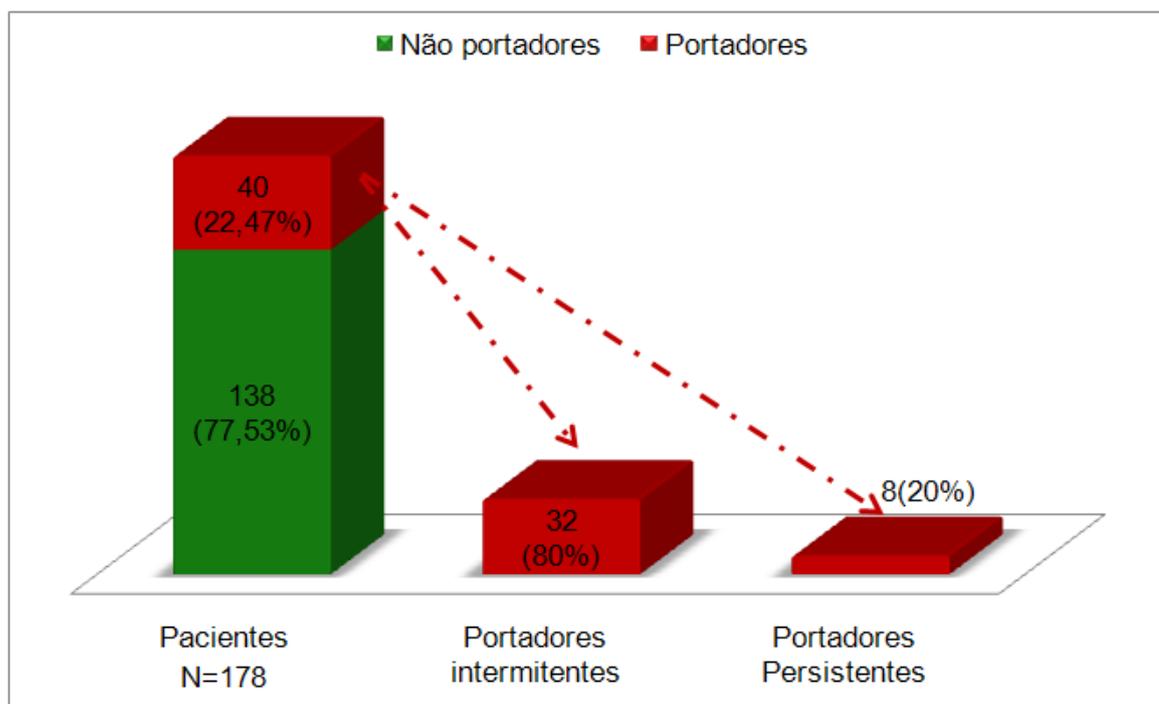


Figura 5- Distribuição dos 178 pacientes com o ciclo completo (10-12 semanas) segundo o status de colonização nasal por *S. aureus*.

5.5 Comparação entre os diferentes períodos de coleta com o protocolo de referência

A Tabela 7 mostra os resultados obtidos a partir da análise de concordância Kappa entre cada período de coleta com o protocolo de referência (Vandenberg *et al.*, 1999). Foram analisados os 178 pacientes classificados apenas em NP e portadores nasais de *S. aureus* (PI e PP). Apenas a partir da sétima semana de coleta que foi observado uma correlação excelente com o protocolo de referência ($k=0,844$).

Tabela 7- Análise do nível de concordância entre o número de NP e portadores detectados pelo o protocolo de referência e as demais semanas de coleta (N=178).

Período de coleta	Kappa	Interpretação	Intervalo de 95% de confiança
2 semanas	0, 660	Boa	0, 521-0, 800
3 semanas	0, 745	Boa	0, 621-0, 869
4 semanas	0, 746	Boa	0, 622-0, 869
5 semanas	0, 786	Boa	0, 672-0, 900
6 semanas	0, 782	Boa	0, 672-0, 900
7 semanas	0, 844	Excelente	0, 746-0, 942
8 semanas	0, 862	Excelente	0, 770-0, 955
9 semanas	0, 916	Excelente	0, 844-0, 988
10 semanas	0, 951	Excelente	0, 895-1, 000
11 semanas	0, 967	Excelente	0, 922-1, 000

A tabela 8 mostra os resultados obtidos a partir da análise de concordância Kappa entre cada período de coleta com o protocolo de referência (Vandenberg *et al.*, 1999), na qual os 178 pacientes foram classificados de acordo com o status de colonização: NP, PI e PP. O protocolo de 3 semanas ($k=0,704$), exibiu uma boa correlação com o protocolo de referência. Porém, apenas a partir da sétima semana encontramos uma correlação excelente com o protocolo de referência ($k=0,834$) para distinguir os três perfis de colonização.

Tabela 8- Análise do nível de concordância entre o número de NP,PI e PP detectados pelo protocolo de referência e as demais semanas de coleta (N=178).

Período de coleta	Kappa	Interpretação	Intervalo de 95% de confiança
2 semanas	0,582	Moderada	0.527 - 0.620
3 semanas	0,704	Boa	0.629 - 0.775
4 semanas	0,707	Boa	0.640 - 0.753
5 semanas	0,795	Boa	0.775 - 0.822
6 semanas	0,795	Boa	0.745 - 0.850
7 semanas	0,834	Excelente	0.813 - 0.869
8 semanas	0,869	Excelente	0.862 - 0.897
9 semanas	0,904	Excelente	0.802 - 0.964
10 semanas	0,953	Excelente	0.919 - 0.973
11 semanas	0,969	Excelente	0.939 - 1.000

A tabela 9 mostra os valores encontrados para a sensibilidade, especificidade e probabilidade pós-teste entre os diferentes períodos de coleta e o protocolo de referência, sendo os 178 pacientes classificados em NP e portadores nasais (PI e PP) de *S. aureus*. Na terceira semana encontramos uma sensibilidade igual a 65,9% e um valor preditivo negativo (VPN) equivalente a 90,3%. Apenas a partir da oitava semana, encontramos valores de sensibilidade superiores a 80% com o valor de VPN calculado para este período de 94,2%.

Tabela 9- Valores de sensibilidade, especificidade e probabilidade pós-teste dos diferentes períodos em relação ao protocolo de referência apenas entre os portadores (PI+PP) e NP (N=178).

Período de coleta	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN
2 semanas	56,1%	100%	100%	87,8%
3 semanas	65,9%	100%	100%	90,3%
4 semanas	65,9%	100%	100%	90,3%
5 semanas	70,7%	100%	100%	91,5%
6 semanas	70,7%	100%	100%	91,5%
7 semanas	78,0%	100%	100%	93,5%
8 semanas	80,5%	100%	100%	94,2%
9 semanas	87,8%	100%	100%	96,3%
10 semanas	92,7%	100%	100%	97,7%
11 semanas	95,1%	100%	100%	98,5%

*VPP: Valor preditivo positivo; VPN: Valor preditivo negativo.

A tabela 10 mostra os valores encontrados para a sensibilidade, especificidade e probabilidade pós-teste entre os diferentes períodos de coleta e o protocolo de referência sendo que esta análise avaliou as diferenças entre os tipos de portadores (PI e PP). Foram considerados somente pacientes que obtiveram a primeira coleta positiva para *S. aureus*, totalizando 23 pacientes (8 PP e 15 PI). Períodos superiores a 5 semanas exibiram uma sensibilidade, especificidade, VPP e VPN de 100% para distinção de PP de PI.

Tabela 10- Valores de sensibilidade, especificidade e probabilidade pós-teste dos diferentes períodos em relação ao protocolo de referência, considerando apenas os tipos de portadores nasais de *S. aureus* (PI e PP) (N=23)

Período de coleta	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN
2 semanas	87,5%	66,7%	58,3%	90,9%
3 semanas	87,5%	86,7%	77,8%	92,9%
4 semanas	100%	80%	72,7%	100%
5 semanas	100%	100%	100%	100%
6 semanas	100%	100%	100%	100%
7 semanas	100%	100%	100%	100%
8 semanas	100%	100%	100%	100%
9 semanas	100%	100%	100%	100%
10 semanas	100%	100%	100%	100%
11 semanas	100%	100%	100%	100%

*VPP: Valor preditivo positivo; VPN: Valor preditivo negativo.

A tabela 11 mostra os valores encontrados para a sensibilidade, especificidade e probabilidade pós-teste entre os diferentes períodos de coleta e o protocolo de referência sendo que esta análise avalia as diferenças entre PI e NP. Foram considerados os 138 pacientes classificados como NP e os outros 17 PI que não haviam sido incluídos na análise anterior representada na Tabela 10. O protocolo de 3 semanas exibiu uma sensibilidade equivalente a 23,5% e o VPP igual a 91,4%. Um protocolo de 7 semanas exibiu uma sensibilidade de 52,9% e um VPP de 94,5% (Tabela 11).

Tabela 11- Valores de sensibilidade, especificidade e probabilidade pós-teste dos diferentes períodos em relação ao protocolo de referência, considerando apenas os NP e PI (N=155).

Período de coleta	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN
2 semanas	0%	100%	-	89,0%
3 semanas	23,5%	100%	100%	91,4%
4 semanas	23,5%	100%	100%	91,4%
5 semanas	35,3%	100%	100%	92,6%
6 semanas	35,3%	100%	100%	92,6%
7 semanas	52,9%	100%	100%	94,5%
8 semanas	58,8%	100%	100%	95,2%
9 semanas	76,5%	100%	100%	97,2%
10 semanas	88,2%	100%	100%	98,6%
11 semanas	94,1%	100%	100%	99,3%

*VPP: Valor preditivo positivo; VPN: Valor preditivo negativo. (-) Não foi possível realizar o cálculo, pois o número de verdadeiros positivos foi igual a zero.

5.6 Influência da Colonização nasal por *S. aureus* no desenvolvimento de bacteriemias

Dos 219 pacientes que aceitaram a participar do estudo, somente 166 (75,8%) completaram o período de 1 ano de acompanhamento. Dos 53 (24,2%) pacientes excluídos do estudo, 24 (45,3%) foram a óbito, 13 (24,5%) transferidos para outros centros de hemodiálise, 13 (24,5%) foram submetidos a cirurgia de transplante renal e 3 (5,7%) foram liberados da hemodiálise pela equipe médica.

A Tabela 12 expõe as características gerais dos 166 pacientes que permaneceram no estudo durante o período de 1 ano. A idade média dos pacientes foi de $50 \pm 16,33$ anos, destes a maioria dos pacientes eram homens (56,6%), não brancos (57,2%), não fumantes (75,9%) e não diabéticos (67,5%). O tipo de acesso vascular mais utilizado na população em estudo foi a fístula (86,7%). Dentre os principais motivos que levaram a falência renal, temos doença vascular (51,2%),

glomerulonefrite (18,7%) e diabetes mellitus (12%). Vinte e seis (15,7%) pacientes relataram o uso de algum tipo de antimicrobiano durante o período de coleta.

Tabela 12- Características dos pacientes submetidos à hemodiálise que completaram a segunda etapa do estudo (1 ano de acompanhamento) (N= 166)

Variável	N	%
Sexo		
Mulheres	72	43,4%
Homens	94	56,6%
Idade (média ± DP)	50 ±16,33	
Etnia		
Branco	71	42,8%
Não brancos	95	57,2%
Sinusite		
Presente	53	31,9%
Ausente	113	68,1%
Uso de antibiótico*	26	15,7%
Transplante renal**	25	15,1%
Tabagismo		
Sim	40	24,1%
Não	126	75,9%
Tempo diálise (meses) (média ± DP)	36 ± 52,99	
Tipo de acesso vascular		
Fístula	144	86,7%
Cateter	22	13,3%
Fonte pagadora		
SUS	119	71,7%
Convênio particular	47	28,3%
Diabetes mellitus		
Não diabéticos	112	67,5%
Diabéticos	54	32,5%
Etiologia da IRC		
Doença vascular	85	51,2%
Diabetes mellitus	20	12%
Glomerulonefrite	31	18,7%
Lúpus	3	1,8%
Infecção no trato urinário	3	1,8%
Outros	24	14,5%

*Uso de antibiótico oral ou tópico 3 meses antes ou durante o período de coleta. ** Pacientes submetidos ao transplante renal antes do início do estudo.

5.6.1 Frequência dos micro-organismos mais isolados de hemoculturas

Dentre os 166 pacientes que permaneceram até o final do estudo, 19 (11,45%) foram excluídos desta análise por terem apresentado um número de coletas inferior a 7. Desses 147 (88,6%) pacientes incluídos, 37 pacientes apresentaram episódios de bacteremia dos quais foram coletas 59 hemoculturas durante o período do estudo. Dessas, 30 (50,9%) foram negativas e 29 (49,2%) positivas. O micro-organismo mais isolado foi a *Stenotrophomonas maltophilia* (37,93%) seguido do *S. aureus* (31%) sendo que apenas 1 amostra foi MRSA (Figura 6).

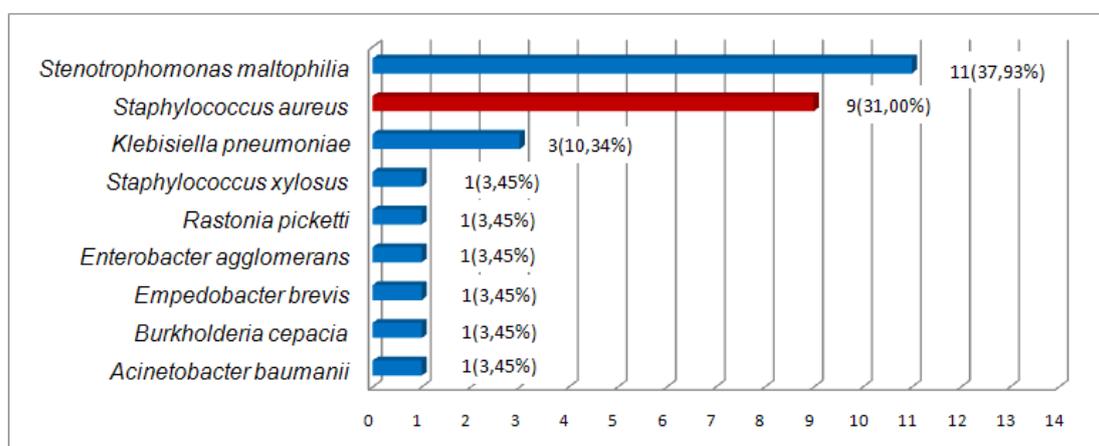


Figura 6 - Micro-organismos mais isolados durante episódios de bacteremias que ocorreram entre 166 pacientes no período de julho de 2009 a março de 2011.

5.6.2 Influência de determinadas características para o desenvolvimento de bacteremias por *S. aureus*

Foram analisadas 7 variáveis (sexo, idade, status de colonização nasal, etnia, tempo em meses de hemodiálise, tipo de acesso vascular e a presença de diabetes mellitus) que poderiam estar atuando como fatores de risco para o desenvolvimento de bacteremias em pacientes sob hemodiálise. Foram avaliados 2 desfechos: desenvolvimento de bacteremia por qualquer micro-organismo e o desenvolvimento de bacteremia apenas por *S. aureus*.

Para aplicar a análise univariada e regressão logística, os 147 pacientes foram subdivididos de acordo com status de colonização (117 NP, 26 PI e 4 PP). As

subdivisões foram comparadas aos pares dando origem a oito tabelas. Com o intuito de facilitar a compreensão, deixamos expostos neste item apenas os resultados obtidos da análise univariada e regressão logística para os 147 pacientes (comparação entre os PP e PI associado aos NP. Os resultados obtidos pelas outras combinações foram compilados e expressados nas tabelas (tabelas 16 e 17). Os resultados não expostos nesse item foram deslocados para o anexo (anexos 5-10).

A Tabela 13 foi obtida pela análise univariada e mostra o risco conferido por 7 variáveis para o desenvolvimento de bacteriemia entre 147 pacientes. Em relação ao desenvolvimento de bacteriemias por qualquer micro-organismo, o uso de fístula correspondeu a 8% ($p < 0,00$) do risco calculado para os pacientes que utilizam cateter como acesso vascular, enquanto que para o desenvolvimento de bacteriemia por *S. aureus*, o uso de fístula correspondeu a 12% ($p < 0,00$) do risco calculado para os pacientes que utilizam cateter.

Tabela 13- Análise univariada dos fatores de risco associados ao desenvolvimento de bacteriemias em 147 pacientes submetidos à hemodiálise. E.S, 2011.

Variáveis	Episódios de Bacteriemia		Odds Ratio (IC)	pvalor	Episódios bacteriemia <i>S. aureus</i>		Odds Ratio (IC)	pvalor
	Sim	Não			Sim	Não		
Sexo								
Masculino	10	70	0,81	0,66	5	75	1,42	0,63
Feminino	10	57	(0,28-2,35)		3	64	(0,26-9,49)	
Idade (anos)								
Acima de 50	11	57	1,5	0,4	4	64	1,71	0,83
Abaixo de 50	9	70	(0,52-4,40)		4	75	(0,21-6,55)	
Status de colonização*								
PP	1	3	2,17	0,5	1	3	6,48	0,08
NP e PI	19	124	(0,039-29,55)		7	136	(0,11-91,40)	
Etnia								
Não brancos	12	73	1,11	0,8	5	80	1,23	0,78
Branco	8	54	(0,39-3,36)		3	59	(0,23-8,21)	
Tempo(m) hemodiálise								
Acima de 36	6	64	0,42	0,09	1	69	0,14	0,04
Abaixo de 36	14	63	(0,13-1,27)		7	70	(0,003-1,19)	
Acesso vascular								
Fístula	10	118	0,08	0,00	4	124	0,12	0,00
Cateter	10	9	(0,021-0,27)		4	15	(0,2-0,74)	
Diabetes mellitus								
Presente	7	40	1,17	0,75	4	4	2,23	0,26
Ausente	13	87	(0,37-3,45)		43	96	(0,39-12,51)	

(IC)-confiança 95%; (m)- meses; PP- Portador persistente; PI- portador Intermitente; NP- Não portador. (*)Para esta análise os pacientes foram divididos em 2 grupos: Grupo 1- portadores persistentes; grupo 2- não portadores e portadores intermitentes.

A Tabela 14 mostra os resultados obtidos a partir da regressão logística para os 147 pacientes. O uso de fístula conferiu um risco de 7% ($p < 0,00$) e 11% ($p = 0,01$) do risco conferido pelo uso de cateter para bacteriemia por qualquer micro-organismo e apenas por *S. aureus*, respectivamente.

Tabela 14- Resultados da regressão logística para as variáveis que demonstraram potencial de risco no desenvolvimento de bacteriemias entre PP e NP+PI (N=147).

Variáveis	Episódios de bacteriemias			Episódios de bacteriemias apenas por <i>S. aureus</i>		
	Odds Ratio	pvalor	IC	Odds Ratio	pvalor	IC
Comparação1- status de colonização	1,92	0,61	0,15-24,46	9,57	0,08	0,72-126,58
Acesso vascular	0,07	0,00	0,02-0,23	0,11	0,01	0,02-0,53
Tempo(m) de hemodiálise	0,39	0,10	0,12-1,21	0,11	0,06	0,01-1,11

IC- Intervalo de confiança 95%.(*) Para esta análise os pacientes foram divididos em 2 grupos: expostos- portadores persistentes; não expostos- não portadores e portadores intermitentes.

Compilamos na tabela 15 os resultados da análise univariada para a influência dos diferentes status de colonização no desenvolvimento de bacteriemias. PP apresentaram um risco superior a 9 vezes ($p=0,03$) e os PI apresentaram um risco superior a 4 vezes ($p=0,08$) em relação aos NP para o desenvolvimento de bacteriemias por *S. aureus*.

Tabela 15- Compilação dos resultados da influência do status de colonização para o desenvolvimento de bacteriemias obtidos através da análise univariada.

Comparação entre os status de colonização	Episódios de Bacteriemia		Odds Ratio(IC)	pvalor	Episódios bacteriemia <i>S. aureus</i>		Odds Ratio(IC)	pvalor	Nº da Tabela de origem	N utilizado para o cálculo
	Sim	Não			Sim	Não				
Comparação 1 PP ^c NP + PI	1 19	3 124	2,17 (0,039-29,55)	0,5	1 7	3 136	6,48 (0,11-91,40)	0,08	13	147
Comparação 2 PP ^a NP	1 14	3 103	2,45 (0,04-32,74)	0,43	1 4	3 113	9,42 (0,14-147,76)	0,03	17	121
Comparação 3 PI ^a NP	5 14	21 103	1,75 (0,44-5,87)	0,32	3 4	23 113	3,68 (0,50-23,12)	0,08	19	143
Comparação 4 PI ^b PP	5 1	21 3	0,71 (0,05- 45,91)	0,79	3 1	23 3	0,39 (0,02-27,31)	0,46	21	30

PP- Portador persistente; PI- portador Intermitente; NP- Não portador. (a)- Para esta análise os NP foram considerados os não expostos; (b)- Para esta análise os PP foram considerados não expostos; (c)- Para esta análise os NP associados aos PI foram considerados não expostos.

Os resultados obtidos a partir da regressão logística realizada para cada combinação do status de colonização estão expressos na Tabela 16. O uso de fístula conferiu um risco de 7% ($p < 0,00$) e 11% ($p = 0,01$) do risco conferido pelo uso de cateter para bacteriemia por qualquer micro-organismo e apenas por *S. aureus*, respectivamente. O risco encontrado para o desenvolvimento de bacteriemias por *S. aureus* entre PP foi de 17,6 vezes ($p = 0,05$) superior ao encontrado para os NP.

Tabela 16- Compilação dos resultados obtidos a partir da regressão logística referentes à influência de cada status de colonização para o desenvolvimento de bacteriemias.

Variáveis	Episódios de bacteriemias			Episódios de bacteriemias apenas por <i>S. aureus</i>			Nº da Tabela de origem
	Odds Ratio	<i>p</i> valor	IC	Odds Ratio	<i>p</i> valor	IC	
Comparação 1	1,92	0,614	0,15-24,46	9,57	0,08	0,72-126,58	15
Comparação 2	2,58	0,45	0,22-30,20	17,62	0,05	0,99-314,46	19
Comparação 3	0,88	0,86	0,23-3,47	2,91	0,22	0,52-16,44	21
Comparação 4	0,611	0,73	0,04 - 10,12	0,27	0,41	0,01-5,88	23

IC- Intervalo de confiança 95%. Comparação 1 entre: PP e (NP + PI) ; Comparação 2 entre: PP e NP; Comparação 3 entre: PI e NP; Comparação 4 entre: PI e PP.

Discussão

6 DISCUSSÃO

De acordo com o censo de diálise SBN (2009), a região sudeste abriga quase 60% dos pacientes em diálise, sendo que no cenário atual, o ES apresenta 15 unidades de hemodiálise (Sesso *et al.*, 2010). O nosso estudo contou com a participação de 2 centros de hemodiálise, dos quais conseguimos arrolar 219 pacientes, o que fez deste, o estudo com um maior número de participantes até então. Os demais estudos que também avaliaram a colonização nasal por *S. aureus* em pacientes submetidos à diálise, contaram com a participação de em média de 80 pacientes, sendo que no menor estudo foram incluídos 28 pacientes (Koziol-Montewka *et al.*, 2001) e no maior estudo 205 pacientes (Saxena *et al.*, 2005).

A frequência de colonização nasal por *S. aureus* encontrada em nosso estudo foi de 23% (50/219), número inferior ao relatado por outros estudos, que em sua maioria, varia entre 50%-80% (Ena *et al.*, 1994; Kluytmans, Belkum & Verbrugh 1997; Vandenberg *et al.*, 1999; Koziol-Montewka *et al.*, 2001; Von Eiff *et al.*, 2001; Nouwen *et al.*, 2006). Acreditamos que essa taxa de colonização baixa encontrada em nosso estudo possa estar relacionada a três fatores: o primeiro relativo à questão econômico-geográfica, o segundo relativo à época em que o estudo foi desenvolvido e o terceiro relacionado aos procedimentos técnicos.

As maiores taxas de colonização por *S. aureus* em pacientes submetidos à diálise foram encontradas em países Europeus e EUA (desenvolvidos) onde as maiores taxas reportadas foram de: 76% (74/98) (Nouwen *et al.*, 2006); 58% (30/52) (Nouwen *et al.*, 2005); 55% (39/71) (Peña *et al.*, 2004). A diferença entre a taxa de colonização nos países desenvolvidos e nos países em desenvolvimento também foi notada para a população geral, na qual a taxa de colonização para os países desenvolvidos foi cerca de 30% [EUA 30%; Holanda 35% (Wertheim *et al.*, 2006)] enquanto nos países em desenvolvimento foi cerca de 15% [Nigéria 14% (Adesida *et al.*, 2007); Malásia 26% (Choi *et al.*, 2006); Índia 16% (Vinodhkumaradithyaa *et al.*, 2009), Indonésia < 10% (Severin *et al.*, 2008) e no Brasil 18% (Leite, 2008)]. Uma das explicações para essa diferença pode estar no fato de que os países

desenvolvidos têm uma baixa exposição aos antígenos e patógenos o que pode ter contribuído para a baixa eliminação de *S. aureus* das narinas acarretando uma alta prevalência da colonização nasal nos indivíduos destes países (Sivaraman *et al.*, 2009). Além disso, grande parte dos estudos que exibiram altas taxas de colonização foram desenvolvidos em países localizados em regiões temperadas, onde o clima frio limita o número de banhos por dia e favorece o isolamento da população em ambientes fechados, facilitando a transmissão de amostras de *S. aureus*. Outro fator a ser considerado é temporal, já que grande parte dos estudos que relatam as taxas mais altas de colonização para *S. aureus* foram realizados durante a década de 90 e o início do século XXI. Os estudos mais recentes que avaliaram a colonização nasal em pacientes submetidos à hemodiálise demonstraram uma redução nas taxas de colonização nasal, que em sua maioria foi inferior a 40%. As taxas encontradas nestes estudos foram de 24% na Turquia (Aktas *et al.*, 2011), 16% em Nova Iorque (EUA) (Alexander *et al.*, 2011), 24% (Motamedifar, Hassanzadeh & Ghafari, 2010) e 37% (Ghasemian *et al.*, 2010) no Irã e 38% na Arábia Saudita (Saxena *et al.*, 2004). Outra evidência que corrobora com essa tendência foi a redução de 50% em 5 anos nas taxas de colonização nasal de pacientes submetidos a hemodiálise demonstrando que as taxas de colonização nasal não são constantes ao longo do tempo, devendo seu monitoramento frequentemente realizado. (Koziol-Montewka *et al.*, 2001; Koziol-Montewka *et al.*, 2006). Apesar de não terem sido citadas, acreditamos que algumas medidas implantadas ao longo do tempo possam ter favorecido para a redução nas taxas de colonização, como: treinamentos, atualização e reeducação dos profissionais sobre a importância do controle de transmissão do *S. aureus* nessa população, bem como a adoção de medidas de proteção individual (como uso de luvas) e aplicação de medidas mais adequadas de higiene. Vale ressaltar, que a maioria dos estudos com altas taxas de colonização adotaram espaços amostrais reduzidos, enquanto que estudos mais amplos (como o nosso) apresentaram taxas de colonização menores. Isto demonstra que quanto maior o número de pacientes arrolados para os estudos, mais distribuídos e próximos da realidade os dados estarão. Outro fator que poderia ter influenciado nesta menor taxa de colonização seria

a inoculação direta do swab em meio sólido seletivo (Agar manitol). Entretanto, isto não parece ter muita significância visto que outros estudos que obtiveram altas taxas de isolamento realizaram o procedimento de forma similar ao nosso estudo, realizando apenas a inoculação diretamente em agar seletivo (Nouwen *et al.*, 2005; Leite, 2008). Em nosso estudo, não utilizamos meio de transporte, pois todos os swabs foram semeados em no máximo trinta minutos, e este não influencia na taxa de isolamento das amostras nasais (Oplustil *et al.*, 2010).

No que diz respeito ao padrão de suscetibilidade encontrado para as 182 amostras por meio do teste de difusão do disco, as maiores taxas de resistência encontradas foram para a Penicilina (89,6%), Tetraciclina (30,8%) e Eritromicina (9,3%) e apenas 1 (0,6%) amostra apresentou resistência a mupirocina (Tabela 4). O padrão de suscetibilidade encontrado para essas amostras está de acordo com o relatado por outros estudos envolvendo pacientes submetidos à hemodiálise (Koziol-Montewka *et al.*, 2006; Motamedifar, Hassanzadeh & Ghafari *et al.*, 2010). Ao contrário do esperado, nenhuma amostra foi resistente a Oxacilina ou Cefoxitina. O CLSI (2010) não recomenda mais a avaliação de suscetibilidade a vancomicina pelo teste de difusão em disco, sendo assim, avaliamos essa característica por meio da determinação da CMI e triagem em agar contendo vancomicina. Todas as amostras testadas apresentaram CMI < 2 µg/ml (24 h) para vancomicina, sendo então classificadas como sensíveis. Outros estudos que analisaram a suscetibilidade a vancomicina em amostras de *S. aureus* provenientes de secreções nasais, também não encontraram amostras com CMI > 2 µg/ml (Nouwen *et al.*, 2005; Koziol-Montewka *et al.*, 2006; Motamedifar, Hassanzadeh & Ghafari, 2009), estando em concordância com nossos achados. Apesar da determinação da CMI ser o meio mais adotado para prever sensibilidade a vancomicina, este nem sempre indica eficácia terapêutica, visto que alguns estudos demonstraram a ocorrência de falha terapêutica com amostras que apresentaram CMI entre 1,5-2,0 µg/ml (Deresinski, 2009; Fusco *et al.*, 2009). Além disso, a determinação de CMI pelos métodos de microdiluição em caldo, diluição em agar e E-test falham em detectar a heterorresistência a vancomicina devido à baixa concentração do inóculo utilizado nestes procedimentos, e por isto decidimos avaliar a presença desta característica em

nossas amostras por outra metodologia. Para isso, realizamos triagem em agar com vancomicina, sendo que na concentração de 4 µg/ml, 16% e 20,3% das amostras apresentaram crescimento em 24 e 48 horas, respectivamente. Na concentração de 6 µg/ml, 5 (2,7%) amostras apresentaram crescimento em 48 horas (Tabela 5). Este achado é compatível com um fenótipo de heterorresistência (Nunes *et al.*, 2007; Howden *et al.*, 2010) no qual, apesar das amostras de *S. aureus* exibirem CMI dentro da faixa de sensibilidade, estas apresentam uma subpopulação com resistência intermediária a vancomicina. Apesar da significância terapêutica desse achado ainda não estar muito clara, acredita-se que o uso de vancomicina em infecções causadas por amostras hVISA podem ocasionar subversão do fenótipo para VISA e falha terapêutica (Fusco *et al.*, 2009).

A administração de vancomicina como terapia empírica deve ser realizada de forma consciente, visto que o uso indiscriminado e prolongado, em pacientes submetidos a diálise, fez com que em 1997 surgisse o primeiro caso no EUA de VISA e em 2002 o primeiro nos EUA de VRSA (Chang *et al.*, 2003). Outros estudos demonstraram que 5 dos 7 casos de VISA (McDonald & Hageman, 2004) e 3 dos 7 casos de VRSA (Sievert *et al.*, 2008) foram isolados de pacientes sob tratamento dialítico, sendo que em todos os casos houve administração de vancomicina por longos períodos e nos pacientes com VRSA isolou-se também amostras de *Enterococcus* spp. Resistentes a vancomicina (VRE- acrônimo em inglês para: Vancomycin- resistant *Enterococcus*). Além de promover o desenvolvimento de resistência em amostras de *S. aureus*, o uso impróprio da vancomicina pode também, selecionar amostras de (VRE), possibilitando a sua dispersão no meio hospitalar e comunitário (Appelbaum, 2006). Sendo assim, acreditamos ser de fundamental importância uma reavaliação do uso da vancomicina no que diz respeito as suas características farmacológicas de forma a diminuir a pressão seletiva sobre esses microorganismos.

Todas as amostras foram sensíveis a oxacilina, tanto na leitura de 24 horas (preconizada pelo CLSI, 2010) quanto pela leitura de 48 horas. Mais da metade das amostras (54%) apresentou uma CMI de 0,25 µg/ml para oxacilina e

apenas 2 amostras apresentaram CMI de 2 µg/ml na leitura de 24 horas. Outros estudos que analisaram amostras de *S. aureus* provenientes de swabs nasais em pacientes submetidos à hemodiálise também relataram o isolamento apenas de amostras MSSA (Peña *et al.*, 2004; Nouwen *et al.*, 2005; Aktas *et al.*, 2011). Apesar de não termos isolado amostras MRSA dos pacientes colonizados, existem estudos que apontam a colonização de *S. aureus* como fator de risco para desenvolvimento de infecção sistêmica, principalmente, bacteriemia. Então, a correta classificação do status de colonização nasal de tais pacientes poderá auxiliar melhor na análise da colonização como fator de risco permitindo que posteriormente se avalie a aplicação de algumas medidas preventivas como, por exemplo, até que ponto seria vantajosa a prática de descolonização nasal. Alguns estudos sugerem a adoção da descolonização tópica, geralmente pelo uso de mupirocina, em pacientes de hemodiálise para reduzir o risco que estes estão submetidos (Yu *et al.*, 1986; Chow *et al.*, 1989; Kluytmans *et al.*, 1996; Wenzel *et al.*, 1995; Safdar *et al.*, 2008). Porém, apesar da taxa de resistência a mupirocina encontrada ter sido baixa (0,6%), acreditamos que a descolonização deva ser realizada com cautela, visto que seu efeito dura apenas 5 meses e em 40% dos casos ocorre recolonização em menos de 3 meses com a amostra de origem (Wertheim *et al.*, 2005). Associado a este fator, um paciente submetido à diálise realiza esse procedimento por um longo período, e a administração de mupirocina se tornaria um processo constante podendo levar a falha terapêutica e desenvolvimento de resistência (Wertheim *et al.*, 2004; Gilpin *et al.*, 2010). Entretanto, o impacto do uso da descolonização nasal com outras substâncias não deve ser descartada como uma forma de redução do risco de desenvolvimento de infecções por *S. aureus*.

A distinção entre os tipos de portadores nasais é de extrema importância visto que os PP albergam uma maior carga bacteriana, promovendo uma intensa dispersão dessas amostras no ambiente, inclusive para pacientes e funcionários, aumentando o risco dessas pessoas adquirirem infecções (White *et al.*, 1961; Vandenberg *et al.*, 1999; Nouwen *et al.*, 2004). No entanto, a dificuldade de se realizar múltiplas coletas e acompanhar os pacientes por

longos períodos fez com que poucos estudos realizassem um desenho de estudo que contemplasse a distinção entre as classes de portadores nasais.

Seguindo os critérios de classificação elucidados por Vandenberg e colaboradores (1999), consideramos PP e PI 20% e 80% dos pacientes, respectivamente. Em nosso estudo, também conseguimos identificar algumas diferenças entre os PP e PI no tocante às características microbiológicas. Todas as amostras isoladas de portadores persistentes apresentaram um crescimento abundante, bem característico e sem a presença de SCN, ao contrário das amostras isoladas de PI, cujo crescimento era escasso e muitas vezes com a presença SCN (Figura 7). A análise dessas diferenças microbiológicas auxilia na distinção entre os tipos de colonização, no entanto não pode ser utilizada como critério único.

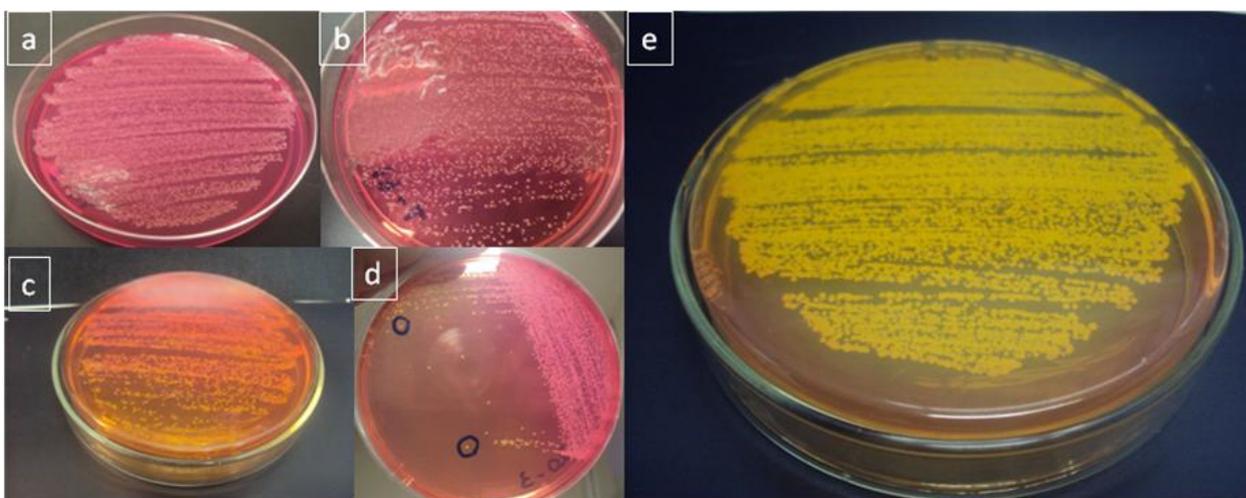


Figura 7- Diferenças nos padrões microbiológicos de isolamento entre os diferentes tipos de portadores nasais. 7a e 7b) swab proveniente de NP. Notar a ausência de *S. aureus*; 7c) amostra proveniente de PI. Notar a presença de amostras de SCN e *S. aureus*. 7d) em destaque amostras de *S. aureus* isoladas de PI. 7e) amostra proveniente de um PP. Notar o crescimento abundante e ausência de SCN.

Foram poucos os estudos que tentaram desenvolver ou otimizar um protocolo de coleta para triagem e classificação dos portadores nasais. O protocolo mais utilizado entre os estudos que avaliaram os tipos de portadores nasais é o proposto por Vandenberg e colaboradores (1999), através do isolamento de

S. aureus da secreção nasal durante 10-12 semanas. Entretanto, este protocolo é extremamente trabalhoso e demanda de um tempo e custo muito elevados até a correta classificação dos pacientes. Sendo assim, nosso estudo buscou avaliar o menor número de semanas capaz de fornecer a correta classificação do estado portador. Por meio da análise Kappa, verificamos que períodos de coletas superiores a sete semanas exibiram concordância excelente com o protocolo de referência (12 semanas). Isto foi observado tanto para a distinção dos pacientes em NP e portadores (tabela 7) como para a diferenciação entre as classes de colonização (PP e PI) (tabela 8), sendo que os valores de Kappa encontrados para a sétima semana de coleta foram iguais a 0,84 e 0,83 respectivamente. O período de coleta de sete semanas exibiu uma sensibilidade de quase 80%, um valor preditivo positivo (VPP) de 94,5% e um valor preditivo negativo (VPN) de 100% para distinguir os NP dos portadores nasais de *S. aureus*, sendo a opção com uma menor duração (tabela 9). Para avaliarmos o melhor protocolo capaz de distinguir as três classes de portadores nasais, tivemos que dividir os PI em dois grupos: aqueles cuja classificação em algum momento se confundiria com os PP (tabela 10), e aqueles cuja classificação se confundiria com os NP (tabela 11). Esta divisão teve que ser considerada, pois o cálculo de S, E, VPP e VPN é sempre feita aos pares, impedindo a avaliação simultânea das 3 classes. Utilizando-se um período de coletas superior a 5 semanas, foi possível diferenciar os PP dos PI com valores de S, E e probabilidade pós teste iguais a 100% (tabela 10), enquanto que para distinguir os NP dos PI encontramos um valor de VPN e VPP iguais a 94,5% e 100% respectivamente. Ou seja, apesar do protocolo de 5 semanas conseguir diferenciar com alto nível de S o PP do PI, há uma baixa S em relação aos PI e NP, já que alguns pacientes apenas apresentaram coletas positivas para *S. aureus* ao fim do protocolo. Segundo nossos resultados, um protocolo de 7 semanas, conseguiria distinguir as duas classes (NP x PI) com um VPN e VPP equivalentes a 94,5% e 100% respectivamente (tabela 11). A partir da análise dos dados provenientes da análise de concordância Kappa, S, E, VPP e VPN, verificamos que a adoção de um protocolo com um número mínimo de sete coletas irá fornecer dados de forma tão satisfatória como protocolo de referência. A implementação de um

protocolo de 7 semanas no lugar do protocolo de 12 semanas, fornece uma redução nos custos de quase 50%, além de diminuir o incômodo dos pacientes, fornecer resultados de forma mais ágil e permitir a implantação de medidas de contenção e controle de forma mais precoce, contribuindo para a redução das taxas de infecção comum nesse grupo de pacientes. Apesar de terem sido poucos os estudos que tentaram otimizar e/ou validar protocolos de triagem, Nouwen e colaboradores (2004) propuseram um protocolo de coleta otimizado a partir do protocolo desenvolvido por Vandenberg e colaboradores (1999) para a classificação dos portadores nasais de *S. aureus*. Foi demonstrado que a utilização de duas culturas quantitativas foi suficiente para diferenciar os tipos de portadores nasais. Porém, o fato de ser realizado de forma quantitativa e o resultado trabalhado de forma matemática dificultam a sua aplicação na rotina de vigilância epidemiológica. Esse protocolo, denominado “culture rule”, passou a ser adotado por outros estudos que acabam utilizando duas coletas (qualitativas e não quantitativas) para a distinção entre os três padrões de colonização. De acordo com os nossos resultados, um protocolo composto apenas por duas coletas qualitativas exibe apenas uma concordância moderada com o protocolo de referência ($k=0,582$) (tabela 8) e uma S e E para distinguir PP dos PI iguais a 87,5%, 66,7% respectivamente.

Apesar dos benefícios conferidos pela adoção de um protocolo de 7 semanas, sabemos que sua aplicação em estudos epidemiológicos realizados em grande escala, é quase impossível em decorrência das limitações de recursos e de logística. Sendo assim, acreditamos que um protocolo com número mínimo de 3 coletas, cujo valor de VPP é cerca de 80% e o VPN superior a 90% possa ser utilizado para esse propósito.

Em vista da dificuldade de classificação dos tipos de portadores nasais, Van Belkun e colaboradores (2008) sugeriram uma reorganização dos tipos de colonização nasal de *S. aureus*. De acordo com os autores, os portadores deveriam ser classificados em dois grupos ao invés de três: PP e outros, sendo este composto por PI e os NP. Essa sugestão se deu ao fato das diferenças entre o grupo de PP e os NP e PI. Portadores persistentes conseguem albergar uma maior quantidade de UFC de *S. aureus* em relação aos PI e NP bem

como conseguem manter esses micro-organismo por períodos superiores que NP e PI (média de 4 dias para NP, 14 dias para PI e > 154 dias para PP) (Van Belkun *et al.*, 2009b). Além disso, o grupo dos NP e PI tem resposta imune similar a inoculação com uma mistura de *S. aureus* e similar nível sérico de anticorpos anti-staphylococcus (IgG e IgA) para TSST-1; SasG, ClfA, enterotoxina A, fato estatisticamente diferente em relação aos PP que apresentam concentrações séricas superiores dessas imunoglobulinas (Van Belkun *et al.*, 2009b). Sendo assim, os PI podem ser entendidos como NP que eventualmente albergaram *S. aureus* após influência ambiental.

Infecção é a segunda maior causa de mortalidade e hospitalizações entre pacientes submetidos à hemodiálise tanto no Brasil como nos EUA (Lafrance *et al.*, 2008; Sesso *et al.*, 2010). Dentre os principais fatores de risco temos: diabetes, status de colonização, episódios anteriores de bacteriemias, tempo de hemodiálise e tipo de acesso vascular (Lafrance *et al.*, 2008). Sabendo da importância desses fatores, decidimos também avaliar o impacto desses (principalmente da colonização nasal) para o desenvolvimento de bacteriemias em nossos pacientes. Não foi possível determinar o impacto dos episódios prévios de bacteriemias, pois estes dados quase nunca estavam presentes nos prontuários. Com o intuito de aumentar o número de pacientes arrolados e garantir um resultado mais próximo do real, foram excluídos todos os pacientes com menos de sete coletas, pois verificamos que o protocolo com sete coletas forneceu uma correlação muito boa com o protocolo de referência e ótimos resultados de VPP e VPN. Ao avaliarmos os 147 pacientes incluídos nessa análise, notamos que apenas o tipo de acesso vascular e o status de colonização tiveram influência no desenvolvimento de bacteriemias. O uso de fistula se mostrou um fator de proteção para o desenvolvimento de bacteriemias causadas tanto por qualquer micro-organismo como por apenas *S. aureus*, exibindo respectivamente apenas 7% ($p=0,00$) e 11% ($p=0,00$) do risco conferido pelo uso de cateter (Tabela 14). O tipo de acesso vascular tem extrema importância na ocorrência de infecções associadas ao acesso vascular e bacteriemias (Hoen *et al.*, 1998), pacientes em uso de cateter tem cerca de 2 episódios de bacteriemia por ano (Chan *et al.*, 2007) e apresentam um risco superior a 7 para o desenvolvimento de bacteriemias, enquanto pacientes com

fístula de enxerto tem um risco inferior a 2 para o desenvolvimento de bacteriemias (Hoen *et al.*, 1998). Um micro-organismo para causar uma bacteriemia associada ao cateter precisa se aderir e colonizar a porção extra ou intraluminal do cateter e formar um biofilme com subsequente disseminação hematogênica (Pascual, 2002; Barbara & Darouche, 2004). Outras hipóteses como colonização do cateter por disseminação hematogênica proveniente de outro foco de infecção e/ ou contaminação do líquido de infusão também são aceitas (Sadoyama *et al.*, 2008; Grothe *et al.*, 2010). Os cateteres são geralmente utilizados quando é necessário o acesso imediato a circulação do paciente ou durante o período de maturação da fístula. No entanto, em algumas situações onde o acesso permanente não pode ser criado (crianças pequenas; pacientes diabéticos com doença vascular grave, obesidade mórbida) a única opção de acesso vascular é o cateter. A escolha da fístula ou enxerto como acesso vascular é preferível ao cateter, pois este último está relacionado com um risco três vezes maior de desenvolvimento de infecção além de outras comorbidades (trombose, hematoma, fluxo inadequado) (Tokars, Miller, & Stein, 2002). Apesar disso, cerca de 60% dos pacientes sob hemodiálise no EUA (Chan *et al.*, 2007; Lafrance *et al.*, 2008) ainda usam cateter como primeira forma de acesso vascular (Foley, Chen & Collins, 2009). Atualmente, no Brasil, estima-se que 12,4% dos pacientes com insuficiência renal são regularmente tratados com cateteres venosos de uso temporário ou permanente (Sesso *et al.*, 2010). A menor utilização desse tipo de acesso no Brasil pode estar contribuindo para a redução das taxas de infecção relacionada ao acesso vascular e mortalidade desse grupo de pacientes.

A maioria dos estudos que avaliam os fatores de risco para o desenvolvimento de bacteriemia entre os pacientes de hemodiálise não avalia a colonização nasal ou apenas separa os pacientes em portadores e NP (Cavalcanti, 2006; Kluytmans & Wertheim, 2004; Fournier & Philpott, 2005). Em nosso estudo, fizemos questão de avaliar o risco conferido por cada status de colonização e notamos que o único desfecho afetado por esse fator de risco são as bacteriemias causadas por *S. aureus*. O risco ao qual os PP estão submetidos é alarmante e corresponde a um risco de 18% ($p=0,05$) superior ao risco encontrado para os NP. Não podemos dizer o mesmo para os PI, cujo valor

encontrado para o risco não foi estatisticamente significante (OR=2,91; $p=0,22$) (Tabela 16). Nossos dados corroboram com a sugestão de reclassificação dos tipos de colonização nasal proposta por de Van Belkum e colaboradores (2009b), visto que apenas os PP apresentaram risco para o desenvolvimento de bacteriemias por *S. aureus* e o resultado encontrado para os PI se assemelharam ao dos NP. Para enriquecer essa análise, resolvemos classificar e agrupar os pacientes segundo proposto por Van Belkum e colaboradores (2008) e notamos que mesmo nessa disposição, os PP estão com um risco de quase 10% ($p= 0,08$) superior ao grupo dos NP e PI. Apesar do resultado não ter sido estatisticamente significante, demonstra uma tendência que poderia ser confirmada caso o número de PP fosse maior.

Nossos dados se assemelham aos encontrados por Nouwen e colaboradores (2005) os quais demonstraram que a colonização nasal persistente e não a intermitente é o maior determinante para infecções de *S. aureus* em pacientes sob diálise peritoneal contínua. A colonização persistente também está relacionada com o maior uso de antibióticos, principalmente a Vancomicina ($p<0,001$) (Nouwen *et al.*, 2005). Tais autores também demonstraram que 98% das amostras de infecção isoladas de PP eram genotipicamente idênticas aquelas isoladas das narinas desses pacientes, o que caracteriza um foco de infecção endógeno. Acredita-se que esse risco aumentado decorra da alta carga bacteriana presente nos PP, promovendo uma intensa dispersão dessas amostras no ambiente, aumentando o risco desses pacientes adquirirem infecções (White *et al.*, 1961; Vandenberg *et al.*, 1999; Nouwen *et al.*, 2004). Apesar dos PP exibirem um risco muito maior que os NP para o desenvolvimento de bacteriemias, este último exibem uma taxa de mortalidade 4 vezes maior que os PP, quando comparamos bacteriemias causadas por *S. aureus*. Para entender esse fenômeno, são necessários mais estudos que avaliem as diferenças imunes entre os tipos de portadores nasais, levando em consideração também as diferenças entre as amostras e a população estudada (Wertheim *et al.*, 2005).

Em pacientes submetidos à hemodiálise, os micro-organismos gram-positivos correspondem juntos a cerca de 80% [36-40% *S. aureus* (Tokars, Miller &

Stein, 2002; Fitzgibbons *et al.*, 2011); 10-36% SCN (Klevens *et al.*, 2005; Fitzgibbons *et al.*, 2011) e < 5% enterococos (Fitzgibbons *et al.*, 2011)] das bacteriemias associadas ao acesso vascular, sendo que atualmente, o *S. aureus* é o micro-organismo mais frequentemente isolado. Entretanto, em nosso estudo, o micro-organismo mais isolado foi *Stenotrophomonas maltophilia* (37,9%) seguido de *S. aureus* (31%), dos quais apenas uma amostra era MRSA. As altas taxas de bacteriemia por MRSA que variam entre de 4,5-15 episódios/100 pacientes-ano nos centros de hemodiálise (Patel *et al.*, 2011; Grothe *et al.*, 2010) associadas a algumas propriedades da vancomicina como: ampla cobertura contra os micro-organismos gram-positivos, possibilidade de administração após as sessões de diálise e o prolongado tempo de meia-vida, fizeram dela, o antibiótico de primeira escolha no tratamento de bacteremias em pacientes submetidos a diálise (Pallotta & Manley, 2008; Vandecasteele, Boelaert & Vriese, 2009). No entanto, segundo o CDC (acrônimo em inglês para: Centers for Disease Control and Prevention) e o HICPAC (acrônimo em inglês para: Hospital Infection Control Practices Advisory Committee) (1995) o uso de vancomicina deve ser realizado apenas em alguns casos como: infecções severas ocasionadas por micro-organismos resistentes aos β -lactâmicos, pacientes com alergia aos β -lactâmicos, colite ocasionada por micro-organismos resistentes ao metronidazol, profilaxia para endocardite e cirurgias de alto risco e como parte da terapia empírica em locais onde as taxas de infecções por MRSA sejam altas (Fitzgibbons *et al.*, 2010). Entretanto, a taxa de bacteremias causadas por MRSA encontrada em nosso estudo foi de 0,64 episódios/paciente-ano, valor muito inferior ao descrito na literatura para pacientes submetidos à hemodiálise (Patel *et al.*, 2011; Grothe *et al.*, 2010), o que possivelmente não justificaria o uso de vancomicina como primeira escolha terapêutica. Além disso, já foi demonstrado, que os glicopeptídeos são intrinsecamente menos efetivos contra staphylococcus (sensíveis aos β -lactâmicos) do que os β -lactâmicos. Tal fato pode estar relacionado a baixa difusão tecidual da droga e o tempo que esta droga leva para promover sua ação bacteriostática. Porém, são poucos os estudos que compararam o uso dos glicopeptídeos e β -lactâmicos em bacteremias causadas por MSSA (Apellaniz *et al.*, 1991; Laplante & Rybak, 2004). Estudos

envolvendo pacientes submetidos à hemodiálise demonstraram que o uso dos β -lactâmicos está associados a uma menor taxa de falência terapêutica (Stryjewski *et al.*, 2007), mortalidade (Kim *et al.*, 2008) e tempo maior de internação (Kim *et al.*, 2008) do que aqueles que receberam vancomicina. Os argumentos expostos acima, associados à baixa taxa de infecções causadas por MRSA, demonstram a necessidade de se avaliar do uso empírico de Vancomicina em pacientes submetidos à hemodiálise onde a frequência desse micro-organismo seja baixa. Sendo assim, acreditamos que a escolha terapêutica deve estar adaptada à realidade de cada local, levando em consideração a prevalência dos micro-organismos isolados dos processos infecciosos e sempre estar associada com medidas de controle de transmissão e prevenção.

Dentre os fatores que contribuem para a vulnerabilidades dos pacientes com IRC submetidos à diálise no desenvolvimento das infecções, o status imunológico é um dos principais responsáveis. Este é modulado pela uremia que promove a redução das funções relacionadas à primeira linha de defesa, o que aumenta o risco para infecções subseqüentes. Tem sido demonstrado que os granulócitos de pacientes com IRC apresentam deficiência em várias funções de defesa, tais como quimiotaxia, fagocitose, metabolismo oxidativo e degranulação (Jaber, 2005; Lafrance *et al.*, 2008). As células mononucleares periféricas também exibem fagocitose deficiente e reduzida capacidade de produção de citocinas, contribuindo para a deficiência de ativação e desempenho das funções dos granulócitos (Hoen *et al.*, 1998; Patruta *et al.*, 1998; Jaber, 2005). Vários outros fatores, como desnutrição, baixa ingestão de elementos essenciais (aminoácidos, vitamina B6 e Zinco), acumulação de metabólitos tóxicos e metabolismo de glicose deficiente também podem ocasionar alterações na imunidade celular desses pacientes, em decorrência da redução da atividade neutrofílica (Hoen *et al.*, 1998; Grothe *et al.*, 2010).

Dentre todos os episódios de bacteriemias causadas por *S. aureus*, em apenas um a amostra era MRSA. O paciente do qual isolamos essa amostra foi considerado como NP. Apesar de não termos avaliado em nosso estudo os fatores que favorecem a colonização nasal, alguns estudos indicam que a

colonização nasal persistente pode atuar como um fator protetor para a colonização nasal por MRSA, o que reduziria o risco desse tipo de portador nasal vir a adquirir infecções subseqüentes por esse micro-organismo (Dall'Antonia *et al.*, 2005) . Na colonização nasal persistente uma amostra de *S. aureus* que exibe uma boa capacidade adesiva encontra um indivíduo suscetível para tal processo e interage de forma estável e duradoura, o que dificulta a sua eliminação por competição quando este indivíduo entra em contato com outras amostras de *S. aureus* (como MRSA). Não podemos dizer o mesmo para os pacientes colonizados de forma intermitente, pois estes podem ficar longos períodos sem colonização estando vulnerável a colonização por MRSA. O mesmo raciocínio pode ser aplicado aos NP, o que justificaria o fato do único paciente que apresentou bacteriemia por MRSA ter sido um NP. Esta observação fortalece a necessidade de se usar um protocolo capaz de distinguir com acurácia os tipos de colonização nasal. Vale ressaltar, que a determinação do risco para o desenvolvimento de infecções foi estabelecido para amostras MSSA, não podendo ser aplicado em populações com alta taxa de colonização por MRSA sem antes haver uma validação do protocolo que será adotado.

Apesar de já ter sido demonstrado que a persistência da colonização nasal é relativamente estável (Vandenbergh *et al.*, 1999), o processo de colonização em si é dinâmico. Sendo assim, a classificação dos pacientes submetidos à hemodiálise segundo o status de colonização não deve ser realizado apenas durante a admissão, mas sim regularmente (ex.: uma vez ao ano). A triagem e classificação dos portadores nasais de *S. aureus* atua como medida de vigilância e se associada a uma criteriosa higienização do ambiente e das mãos dos funcionários são tão efetivas quanto a descolonização nasal com mupirocina, porém com o benefício de não induzir resistência antimicrobiana e terem uma melhor relação custo-benefício (D'Agata *et al.*, 2009).

Conclusões

7 CONCLUSÕES

Em suma, nossos resultados permitiram concluir que:

1-A taxa de colonização nasal por *S. aureus* encontrada em nosso estudo foi cerca de 20% (80% desses foram classificados como PI e 20% PP) e está de acordo com o demonstrado por estudos mais recentes, nos quais a taxa de colonização é inferior a 40%.

2- Dentre as amostras provenientes da secreção nasal dos pacientes, não isolamos nenhuma amostra resistente a oxacilina ou vancomicina.

3-O protocolo com sete coletas de periodicidade semanal apresentou altos valores de S, E,VPP, VPN além de uma excelente correlação com o protocolo de referência, podendo ser utilizado em substituição ao protocolo de referência com a mesma eficiência e qualidade para triagem e classificação dos portadores nasais em futuros estudos epidemiológicos.

4-Dentre os fatores de risco avaliados em nosso estudo, o uso de fístula se mostrou um fator de proteção para o desenvolvimento de bacteriemias por *S. aureus* ou por qualquer outro micro-organismo. Dentre os tipos de colonização por *S. aureus*, apenas a colonização nasal persistente se mostrou um fator de risco extremamente relevante (OR: 17,62 $p=0,05$) para o desenvolvimento de bacteriemias causadas por MSSA.

5- *S. aureus* foi o segundo micro-organismo mais isolado dos episódios de bacteriemia sendo que apenas uma amostra era MRSA. A partir desses resultados, sugerimos que a atual terapia empírica nesses centros de hemodiálise seja revisto, resguardando a vancomicina para casos nos quais os β -lactâmicos não possam ser administrados.

Perspectivas Futuras

8 PERSPECTIVAS FUTURAS

1-Realizar a análise clonal das amostras de *S. aureus* provenientes da secreção nasal.

2- Re-avaliar o status de colonização nesse mesmo grupo de pacientes após dois anos.

3- Determinar os possíveis fatores de virulência e do hospedeiro que possam estar relacionados com a persistência da colonização nasal.

4- Validar os protocolos com três e sete semanas em outros setores onde a colonização nasal por *S. aureus* atue como um fator de risco, como UTI.

Referências

9 REFERÊNCIAS

Adesida SA, Abioye OA, Bamiro BS, Brai BI, Smith SI, Amisu KO, Ehichioya DU, Ogunsola FT, Coker AO. Associated risk factors and pulsed field gel electrophoresis of nasal isolates of *Staphylococcus aureus* from medical students in a tertiary hospital in Lagos, Nigeria. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2007;11(1):63-9.

Aktas E, Pazarli O, Kulah C, Comert F, Kulah E, Sumbuloglu. Determination of *Staphylococcus aureus* carriage in hemodialysis and peritoneal dialysis patients and evaluation of the clonal relationship between carriage and clinical isolates. *American Journal of Infection Control*. 2011; 39:421-425.

Alexander EL, Morgan DJ, Kesh S, Weisenberg SA, Zaleskas JM, Kaltsas A, Chevalier JM, Silberzweig J, Barrón Y, Mediavilla JR, Kreiswirth BN, Rhee KY. Prevalence, persistence, and microbiology of *Staphylococcus aureus* nasal carriage among hemodialysis outpatients at a major New York Hospital. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* . 2011 ;70(1):37-44.

Anderson DJ, Kaye KS. Controlling antimicrobial resistance in the hospital. *Infectious Disease Clinics of North America*. 2009; 23: 847-864.

ANVISA. Rede Nacional de Monitoramento e Controle da Resistência Microbiana em Serviços de Saúde - Rede RM, Brasília, 2009. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/divulga/newsletter/rede_rm/2009/100709_perfil_sensibilidade.htm>. Acesso em: 10 out. 2009.

Apellaniz G, Valdes M, Perez R, Martin F, Soria F, Garcia A, Gomez J, Vicente T. Comparison of the effectiveness of various antibiotics in the treatment of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* experimental infective endocarditis. *The Journal of Chemotherapy*. 1991; 3: 91-97.

Appelbaum PC. Microbiology of Antibiotic Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Clinical Infectious Disease*. 2007; 45 (3): 165 – 170.

Archer LG. *Staphylococcus epidermidis* and other coagulase-negative staphylococci. In: Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE, Dolin R editors. Principles and practice of infectious diseases. 5th ed. New York: Churchill Livingstone; 2000; p. 2092-100.

Barbara WT, Darouiche RO. Catheter-associated infections: pathogenesis affects prevention. *Archives of Internal medicine*. 2004; 164: 842-850.

Batalha JEN, Caramori JCT, Corrente JE, Montelli AC, Barretti P, Cunha MLRS. Risk of peritonitis during peritoneal dialysis in carriers of *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*. 2006; 4(12):578-594.

Bloom BS, Fendrick AM, Chernew ME, Patel P. Clinical and economic effects of mupirocin calcium on preventing *S. aureus* infection in hemodialysis patients: a decision analysis. *American Journal Kidney Disease*. 1996; 27: 687–694.

Boelaert JR, Van Landuyt HW, De Baere YA, Deruyter MM, Daneels RF, Schurgers ML, Matthys EG, Gordts BZ. *Staphylococcus aureus* infections in haemodialysis patients: pathophysiology and use of nasal mupirocin for prevention. *Journal of Chemotherapy*. 1995;7(3):49-53.

Brakstad OG, Aasbakk K, Maeland JA. Detection of *Staphylococcus aureus* by polymerase chain reaction amplification of the *nuc* gene. *Journal of Clinical Microbiology*. 1992; 30(7):1654-1660.

Burian M, Rautenberg M, Kohler T, Fritz M, Krismer B, Unger C, Hoffmann WH, Peschel A, Wolz C, Goerke C. Temporal expression of adhesion factors and activity of global regulators during establishment of *Staphylococcus aureus* nasal colonization. *Major article*. 2010b; 201:1414-1421.

Burian M, Wolz C, Goerke C. Regulatory adaption of *Staphylococcus aureus* during nasal colonization of humans. *Plos one*. 2010a; 4(5):1-9.

Casey AL, Lambert PA, Elliott TSJ. Staphylococci. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2007; 29: 23-32.

Cavalcanti SMM, França EM, Vilela MA, Montenegro F, Cabral C, Medeiros ACR. Estudo comparativo de prevalência de *Staphylococcus aureus* importado para as unidades de terapia intensiva de hospital universitário, Pernambuco, Brasil. *Revista brasileira de epidemiologia*. 2006; 9(4): 436-43.

Chan MR, Sanchez RJ, Young HN, Yevzlin AS. Vascular access outcomes in the elderly hemodialysis population: A USRDS study. *Semin Dial*. 2007; 20(6):606-10.

Chang S, Sievert DM, Hageman JC, Boulton ML, Tenover FC, Downes FP, Shah S, Rudrik JT, Pupp GR, Brown WJ, Cardo D, Fridkin SK. Infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* containing the vanA resistance gene. *The New England Journal of Medicine*. 2003; 348: 1342–1347.

Chapaval L, Moon DH, Gomes JE. Aplicação da técnica de Rep-PCR no rastreamento de *Staphylococcus aureus* em sala de ordenha para o monitoramento da qualidade do leite. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 2006; 43(3): 309-320.

Choi CS, Yin CS, Bakar AA, Sakewi Z, Naing NN, Jamal F, Othman N. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* among healthy adults. *Journal of Microbiology and Immunology Infections*. 2006; 39(6):458-64.

Chow J.W; Yu V.L. *Staphylococcus aureus* nasal carriage in hemodialysis patients: its role in infection and approaches to prophylaxis. *Archives of Internal Medicine*. 1989; 149:1258-62.

Claassen M, Nouwen J, Fang Y, Ott A, Verbrugh H, Hofman A, van Belkum A, Uitterlinden A. *Staphylococcus aureus* nasal carriage is not associated with known polymorphism in vitamin D receptor gene. *Immunology and Medical Microbiology*. 2005; 43(2):173-6.

Clarke SR, Foster SJ. Surface adhesins of *Staphylococcus aureus*. *Advances in Microbial Physiology* . 2006; 51:187-224.

Clinical and laboratory standards institute 2003a. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test: M2-A8. CLSI Wayne, Pennsylvania, USA.

Clinical and laboratory standards institute 2010a. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: M100-S20. CLSI Wayne, Pennsylvania, USA.

Coates, T; Bax, R; Coates, A. Nasal decolonization of *Staphylococcus aureus* with mupirocin: strengths, weaknesses and future prospects. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2009; 64: 9–15

Cole AM, Dewan P, Ganz T. Innate antimicrobial activity of nasal secretions. *Infectious Immunology*. 1999;67(7):3267–3275.

Cole AM, Tahk S, Oren A, Yoshioka D, Kim YH, Park A, Ganz T. Determinants of *Staphylococcus aureus* nasal carriage. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. 2001; 8(6):1064-1069.

Collins AJ, Foley RN, Herzog C, Chavers B, Gilbertson D, Ishani A, Kasiske B, Liu J, Mau LW, McBean M, Murray A, St Peter W, Guo H, Li Q, Li S, Li S, Peng Y, Qiu Y, Roberts T, Skeans M, Snyder J, Solid C, Wang C. United States Renal Data System 2008. Annual Data Report. *American Journal Kidney disease*. 2009 ;53(1):S1-374.

Corrigan RM, Miajlovic H, Foster TJ. Surface proteins that promote adherence of *Staphylococcus aureus* to human desquamated nasal epithelial cells. *BMC Microbiology*. 2009; 9(22): 1-10.

D'Agata EM, Webb GF, Horn MA, Moellering RC Jr, Ruan S. Modeling the invasion of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* into hospitals. *Clinical Infectious Disease*. 2009; 48(3):274-84.

Dall'Antonia M, Coen PG, Wilks M, Whiley A, Millar M. Competition between methicillin-sensitive and -resistant *Staphylococcus aureus* in the anterior nares. *Journal of Hospital Infection*. 2006; 61: 62 – 7.

Dawn M. Sievert, James T. Rudrik, Jean B. Patel, L. Clifford McDonald, Melinda J. Wilkins, Jeffrey C. Hageman . Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus* in the United States, 2002–2006. *Clinical Infectious Diseases*. 2008;46: 668-674.

Deresinski S. Antibiotic therapy of vascular catheter-related bloodstream infections: is vancomycin the optimal choice for *Staphylococcus aureus* infections? *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2009; 34; 43-46.

Deutsche Sammlung Von Mikroorganismen und zellkulturen Gmbh (German Collection of Microorganisms and cell cultures). Disponível em; <http://www.dsmz.de/dsmz>. Acesso em : 20 de setembro de 2011 às 07: 32

Diekema DJ, Pfaller MA, Schmitz FJ, Smayevsky J, Bell J, Jones RN, Beach M; SENTRY Participants Group. Survey of infections due to *Staphylococcus* species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific region for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999. *Clinical Infectious Disease*. 2001; 32(2):S114-32.

Dupeyron, C;Campillo, B;Bordes, M;Faubert E;Richardet; J. P; Mangeney, N.A clinical trial of mupirocin in the eradication of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal carriage in a digestive disease unit . *Journal of Hospital Infection*. 2002; 52 (4):281-7

Emons M, Uitterlinden AG, Nouwen JL, Kardys I, Maat MP, Melles DC, et al. Host polymorphisms in interleukin 4, complement factor H, and c-reactive protein associated with nasal carriage of *staphylococcus aureus* and occurrence of boils. *Journal of Infectious Disease*. 2008; 197(9):1244–1253.

Ena JR, Boelaert LD, Boyken HW, Van Landuyt CA, Herwaldt LAG. Epidemiology of *S. aureus* infections in patients on hemodialysis. *Infection Control and Hospital Epidemiology*. 1998;15:78–81.

Erdenizmenli M, Yapar N, Senger SS, Ozdemir S, Yuce A. Investigation of Colonization with Methicillin-Resistant and Methicillin-Susceptible

Staphylococcus aureus in Outpatient Population in Turkey. Japanese Journal of Infectious Diseases. 2004; 57: 172-175.

Fitzgibbons LN, Puls DL, Mackay K, Forrest GN. Management of gram-positive coccal bacteremia and hemodialysis. The American Journal of Kidney Diseases. 2011; 57(4):624-640

Foster TJ. The Staphylococcus aureus "superbug". The Journal of Clinical Investigation. 2004; 114:1693-1696.

Fournier B, Philpott DJ. Recognition of Staphylococcus aureus by the Innate Immune System. Clinical Microbiology Reviews. 2005; 18(3): 521-540.

Fournier B, Philpott DJ. Recognition of Staphylococcus aureus by the innate immune system. Clinical Microbiology Review. 2005; 18(3):521-540.

Frank DN, Feazel LM, Bessesent MT, Price CS, Janoff EN, Pace NR. The human nasal microbiota and Staphylococcus aureus carriage. PLoS ONE. 2010; 5 (5) e10598.

Fuchs PC, Jones RN, Barry AL. Interpretive Criteria for Disk Diffusion Susceptibility Testing of Mupirocin, a Topical Antibiotic. 1990. American Society for Microbiology. 28(3):608-609.

Fusco DN, Alexander EL, Weisenberg SA, Mediavilla JR, Kreiswirth BN, Schuetz AN, Jenkins SG, Rhee KY. Clinical failure of vancomycin in a dialysis patient with methicillin-susceptible vancomycin-heteroresistant S. aureus. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 2009;65(2):180-183.

Garrity GM, Brenner DJ, Krieg NR, Staley JR. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Volume Two: The Proteobacteria. 2^a ed. New York: Springer.2001.

Geert JAW, Peter MS, Annelies B, Egidia VG, Marianne IK. Optimizing screening procedures for Staphylococcus aureus nasal carriage in patients on hemodialysis. Nephrology Dialysis Transplant. 1998; 13: 1256-1258.

Ghasemian R, Najafi N, Makhloogh A, Khademloo M. Frequency of nasal carriage of staphylococcus aureus and its antimicrobial resistance pattern in patients on hemodialysis. *Iranian journal of Kidney disease*. 2010; 4:218-22.

Gilpin DF, Small S, Bakkshi S, Kearney MP, Cardwell C, Tunney MM. Efficacy of a standard methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* decolonisation protocol in routine clinical practice. *Journal Hospital Infection*. 2010; 75(2):93-8.

Grothe C, da Silva Belasco AG, de Cássia Bittencourt AR, Vianna LA, de Castro Cintra Sesso R, Barbosa DA. Incidence of bloodstream infection among patients on hemodialysis by central venous catheter. *Revista Latinoamericana de Enfermagem*. 2010;18(1):73-80.

Hacek DM, Paule SM, Thomson RB Jr, Robicsek A, Peterson LR. Implementation of a universal admission surveillance and decolonization program for methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA) reduces the number of MRSA and total number of *S. aureus* isolates reported by the clinical laboratory. *Journal Clinical Microbiology*. 2009; 47(11): 3749-52

Hasty MB, Klasner A, Kness S, Denmark TK, Ellis D, Herman MI, Brown L. Cutaneous community-associated methicillin-resistant staphylococcus aureus among all skin and soft-tissue infections in two geographically distant pediatric emergency departments. *Academic emergency medicine*. 2007; 4(1):35-40.

Henderson DK. Managing methicillin-resistant staphylococci: A paradigm for preventing nosocomial transmission of resistant organisms. *The American Journal of Infection Control*. 2006; 34(5): 46-53.

Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover FC. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *J Antimicrob Chemother*. 1997;40: 135-136.

Hoën B, Paul-Dauphin A, Hestin D; Kessler M. EPIBACDIAL: A multicenter prospective study of risk factors for bacteremia in chronic hemodialysis patients. *Journal American Society of Nephrology*. 1998; 9:869-876.

Howden, BP, Davies JK, Johnson PDR, Stinear TP, Grayson ML. Reduced Vancomycin Susceptibility in *Staphylococcus aureus*, Including Vancomycin-Intermediate and Heterogeneous Vancomycin-Intermediate Strains: Resistance Mechanisms, Laboratory Detection, and Clinical Implications. *Clinical microbiology reviews*. 2010; 23 (1): 99–139.

Iwase T, Uehara Y, Shinji, H, Tajima A, Seo H, Takada K, Agata T, Mizunoe Y. *Staphylococcus epidermidis* Esp inhibits *Staphylococcus aureus* biofilm formation and nasal colonization. *Nature*. 2010; 465 (20), e10.1038.

Jaber BL. Progression of chronic kidney disease: can it be prevented or arrested? *American Journal of Medicine*. 2005 ;118(12):1323-1330.

Jarlov JO, Busch-Sorensen C, Espersen F. Evaluation of different methods for the detection of methicillin resistance in coagulase-negative staphylococci. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 1997; 40: 241 – 249.

Katayama Y, Ito T, Hiramatsu K. A new class of genetic element, staphylococcus cassette chromosome mec, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 2000; 44(6), 1549-55.

Kim JS, Kim HS, Song W, Cho HC, Lee KM, Kim EC. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates with toxic shock syndrome toxin and staphylococcal enterotoxin C genes. *Korean Journal Laboratory medicine*. 2007 ;27(2):118-123.

Kim SH, Kim KH, Kim HB, Kim NJ, Kim EC, Oh MD, Choe KW. Outcome of vancomycin treatment in patients with methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 2008;52(1):192-197.

Kinsman OS, McKenna R, Noble WC. Association between histocompatibility antigens (HLA) and nasal carriage of *staphylococcus aureus*. *Journal of medicine and Microbiology*. 1983; 16(2):215–220.

Klevens RM, Tokars JI, Andrus M. Electronic reporting of infections associated with hemodialysis. *Nephrology News & Issues*. 2005; 19: 37-43.

Kluytmans JAJW, Mouton JW, Vandenberg MF. Reduction of surgical-site infections in cardiothoracic surgery by elimination of nasal carriage of *Staphylococcus aureus*. *Infection Control Hospital Epidemiology*. 1996 ;17:780-785.

Kluytmans JAJW, Van Belkum A, Verbrugh H. Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus*: Epidemiology, Underlying Mechanisms, and Associated Risks. *Clinical Microbiology Reviews*.1997; 10(3): 505–520.

Kluytmans JAJW, Wertheim HFL. Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* and prevention of nosocomial infections. *Infection*. 2005; 33: 3-8

Koneman, E. W. Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido. 6.ed. São Paulo: MEDSI, 2008. 1465 p.

Koziol-Montewka M, Chudnicka A, Ksiazek A, Majdan M. Rate of *staphylococcus aureus* nasal carriage in immunocompromised patients receiving haemodialysis treatment. *International journal of antimicrobial agents*. 2001; 18:193-196.

Koziol-Montewka M, Szczepanik A, Baranowicz I, Jozwiak L, Ksiazek A, Kaczor D. The investigation of *staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci nasal carriage among patients undergoing haemodialysis. *Microbiological Research*. 2006; 161:281-287.

Lafrance JP, Rahme E, Leloir J, Iqbal S. Vascular access-related infections: definitions, incidence rates, and risk factors. *American Journal of Kidney Disease*. 2008; 52(5):982-93

Lamers RP, Stinnett JW, Muthukrishnan G, Parkinson CL, Cole AM. Evolutionary Analyses of *Staphylococcus aureus* Identify Genetic Relationships between Nasal Carriage and Clinical Isolates. *PLoS ONE*. 2011; 6(1): e16426.

Lamikanra A, Olusanya OI. A long-term study of the nasal carriage of *Staphylococcus aureus* in healthy Nigerian students. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 1988; 82(3):500-2.

Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* . 1977; 33:159-174.

LaPlante KL, Rybak MJ: Impact of high-inoculum *Staphylococcus aureus* on the activities of nafcillin, vancomycin, linezolid, and daptomycin, alone and in combination with gentamicin, in an in vitro pharmacodynamic model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2004; 48(12): 4665-4672.

Laube DM, Yim S, Ryan LK, Kisich KO, Diamond G. Antimicrobial peptides in the airway. *Current Topics in Microbiology and Immunology*. 2006; 306: 153–182.

Leite GB. Análise de portadores assintomáticos de *Staphylococcus aureus* no hospital universitário de Brasília [monografia na internet]. Brasília: Universidade de Brasília- faculdade de medicina; 2008 [acesso em 2011 jul 8]. Disponível em: http://repositorio.bce.unb.br/bitstream/10482/1485/1/2008_GustavoBalduinoLeite_reduzida.pdf.

Li Y, Friedman JY, O'Neal BF, Hohenboken MJ, Griffiths RI, Stryjewski ME, Middleton JP, Schulman KA, Inrig JK, Fowler, Jr VG, Reed SD. Outcomes of *Staphylococcus aureus* Infection in Hemodialysis-dependent Patients. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology* . 2009; 4: 428-434.

Lina G, Boutite F, Tristan A, Bes M, Etienne J, Vandenesch F, Bacterial Competition for Human Nasal Cavity Colonization: Role of *Staphylococcal agr* Alleles. *Applied and environmental microbiology*. 2003; 69(1):18-23.

Livermore DM. Antibiotic resistance in staphylococci. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2001; 16(1): 3-10.

Lowy FD. Antimicrobial Resistance: The Example of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Investigation*. 2003; 111: 1265 – 1273.

Mack D, Becker P, Chatterjee I, Dobinsky J, Knobloch JKM, Peters G, Rohde H, Herrmann M. Mechanisms of biofilm formation in *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*: functional molecules, regulatory

circuits, and adaptive responses. *International Journal of Medical Microbiology*. 2004; 294: 203-212.

Mainous AG 3rd, Hueston WJ, Everett CJ, Diaz VA. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S aureus* in the United States, 2001-2002. *Annual Medicine*. 2006; 4(2):132-7.

Maki DK, Stolz SM, Wheeler S, Mermel LA. Prevention of central venous catheter-related bloodstream infection by use of an antiseptic-impregnated catheter: a randomized, controlled trial. *Ann Intern Med* 1997;127: 257±66.

Margolis E, Yates A, Levin BR. The ecology of nasal colonization of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenza* and *Staphylococcus aureus*: The role of competition and interactions with host's immune response. *BMC Microbiology*. 2010;10 (59):1-11.

Marr KA, Kong L, Fowler VG, Gopal A, Sexton DJ, Conlon PJ, Corey GF. Incidence and outcome of *Staphylococcus aureus* bacteremia in hemodialysis patients. *Kidney International*. 1998; 54: 1684–1689.

Marr KA, Kong L, Fowler VG, Gopal A, Sexton DJ, Conlon PJ, Corey GR. Incidence and outcome of *Staphylococcus aureus* bacteremia in hemodialysis patients. *Kidney International*. 1998; 54:1684-1689.

Martins A, Cunha Mde L. Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci: epidemiological and molecular aspects. *Microbiology Immunology*. 2007;51(9):787-95.

Mc Donald LC, Hageman JC. Vancomycin intermediate and resistant *Staphylococcus aureus*. What the nephrologist needs to know. *Nephrologist news and Issues*. 2004; 18(11):63-72.

Mesiano ER, Merchán-Hamann E. Bloodstream infections among patients using central venous catheters in intensive care units. *Revista Latino Americana de Enfermagem*. 2007;15(3):453-9.

Mongodin E, Bajolet O, Cutrona J, Bonnet N, Dupuit F, Puchelle E, Bentzmann

S. Fibronectin-Binding proteins of staphylococcus aureus are involved in adherence to human airway epithelium. *Infection and Immunity*. 2002; 70(2): 620-630

Motamedifar M, Hassanzadeh P, Ghafari N. Relative frequency of staphylococcal carriage and antibiotic sensitivity of isolated staphylococci in hemodialysis patients in shiraz, Iran. *Medical Principles and Practice*. 2010;19:379-383.

Murray CK, Roop SA, Hospenthal DR. Bacteriology of war wounds at the time of injury. *Mil Med* 2006; 171: 826-29.

Naimi TS, Anderson D, O'Boyle C, Boxrud DJ, Johnson SK, Tenover FC, Lynfield R. Vancomycin-intermediate Staphylococcus aureus with phenotypic susceptibility to methicillin in a patient with recurrent bacteremia. *Clin Infect Dis*. 2003; 36(12):1609-12.

Nashev D, Toshkova K, Salasia SIO, Hassan AA, Lammler C, Zschock M. Distribution of virulence genes of staphylococcus aureus isolated from stable nasal carriers. *FEMS microbiology letters*. 2004; 233: 45-52.

Nouwen JL, Boelens H, van Belkum A, Verbrugh H. Human factor in staphylococcus aureus nasal carriage. *Infectious Immunology*. 2004a; 72(11):6685–6688.

Nouwen JL, Ott A, Vandenberghe MFQ. Predicting the Staphylococcus aureus nasal carrier state: Derivation and validation of a 'culture rule.' *Clinical Infectious Disease*. 2004b; 39:806–811.

Nouwen JL, Fieren MW, Snijders S, Verbrugh HA, Van Belkum A. Persistent (not intermittent) nasal carriage of Staphylococcus aureus is the determinant of CPD-related infections. *Kidney International*. 2005; 67(3):1084-92.

Nouwen JL; Schouten J; Schneebergen P; Snijders S; Maaskant J; Koolen M; Van Belkum A; Verbrugh H.A. Staphylococcus aureus Carriage Patterns and the Risk of Infections Associated with Continuous Peritoneal Dialysis. *Journal*

of clinical microbiology. 2006; 2233–2236.

Novick RP, Schlievert P, Ruzin A. Pathogenicity and Resistance Islands of Staphylococci. *Microbes and Infection*, Amsterdam. 2001; 3: 585 – 594

Nunes AP, Schuenck RP, Bastos CC, Magnanini MM, Long JB, Iorio NL, Santos KR. Heterogeneous resistance to vancomycin and teicoplanin among *Staphylococcus* spp. isolated from bacteremia. *Brazilian Journal of Infectious Disease*. 2007; 11(3):345-450.

O'Brien LM, Walsh EJ, Massey RC, Peacock SJ, Foster TJ. *Staphylococcus aureus* clumping factor B (ClfB) promotes adherence to human type I cytokeratin 10: implications for nasal colonization. *Cellular Microbiology*. 2002; 4(11):759-770.

Oplustil CP, Zoccoli CM, Tobouti NR, Sinto IS. *Procedimentos básicos em microbiologia clínica*. 3ª ed. São Paulo: Sarvier Editora; 2010.

Palazzo IC, Araujo ML, Darini AL. First report of vancomycin-resistant staphylococci isolated from healthy carriers in Brazil. *Journal of Clinical Microbiology*. 2005; 43: 179–185

Panierakis C, Goulielmos G, Mamoulakis D, Maraki S, Papavasiliou E, Galanakis E. *Staphylococcus aureus* nasal carriage might be associated with vitamin D receptor polymorphisms in type 1 diabetes. *Internal Journal of Infectious Disease*. 2009; 13(6): 437-443.

Pascual A. Pathogenesis of catheter-related infections: lessons for new designs. *Clinical Microbiology Infections*. 2002;8:256:264.

Patel G, Jenkins SG, Mediavilla JR, Kreiswirth BN, Radbill B, Salgado CD, Calfee DP. Clinical and Molecular Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* among Patients in an Ambulatory Hemodialysis Center. *Infectious Control Hospital Epidemiology*. 2011; 32(9):881-888.

Patruta SI, Edlinger R, Sunder-Plasmann G, Horl WH. Neutrophil impairment associated with iron therapy in hemodialysis patients with functional iron

deficiency. *Journal of The American Society of Nephrology*. 1998;9:655-663

Peacock SJ, de Silva I, Lowy FD. What determines nasal carriage of *Staphylococcus aureus*? *Trends Microbiology*. 2001; 9(12):605-10.

Peña C, Fernández-Sabe N, Domínguez MA, Pujol M, Martínez-Castelao A, Ayats J, Gudiol F, Ariza J. *Staphylococcus aureus* nasal carriage in patients on haemodialysis: role of cutaneous colonization. *Journal Hospital Infection*. 2004;58(1):20-7.

Pe'richon B, Courvalin P. VanA-Type Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2009; 53(11): 4580-4587.

Pragman AA, Schlievert PM. Virulence regulation in *Staphylococcus aureus*: the need for in vivo analysis of virulence factor regulation. *FEMS immunology and medical microbiology*. 2004; 42: 147-154.

Pollota KI, Manley HJ. Vancomycin Use in Patients Requiring Hemodialysis: A Literature Review. *Seminars in Dialysis*. 2008; 21, 63-70.

Quinn GA, Cole AM. Suppression of innate immunity by a nasal carriage strain of *Staphylococcus aureus* increases its colonization on nasal epithelium. *Immunology*. 2007 ;122(1):80-89.

Reed SD, Friedman JY, Engemann JJ, Griffiths RI, Anstrom KJ, Kaye KS, Stryjewski ME, Szczech LA, Reller LB, Corey GR, Schulman KA, Fowler VG. Costs and Outcomes among Hemodialysis-Dependent Patients with Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Infection control and hospital epidemiology*. 2005; 26:175-183.

Robicsek A, Beaumont JL, Paule SM, Hacek DM, Thomson RB Jr, Kaul KL, King P, Peterson LR. Universal surveillance for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in 3 affiliated hospitals. *Annual Internal Medicine*. 2008 Mar 18; 148(6):409-18.

Ruimy R, Angebault C, Djossou F, Dupont C, Epelboin L, Jarraud S.

Andremon TA. Are host genetics the predominant determinant of persistent nasal *Staphylococcus aureus* carriage in humans?. *The Journal of Infectious disease*. 2010; 202(6): 924-934.

Sabat A, Melles DC, Martirosian G, Grundmann H, van Belkum A, Hryniewicz W. Distribution of the serine-aspartate repeat protein-encoding *sdr* genes among nasal-carriage and invasive *Staphylococcus aureus* strains. *Journal Clinical Microbiology*. 2006; 44(3):1135-8.

Safdar N; Bradly E. A. The Risk of Infection after Nasal Colonization with *Staphylococcus aureus*. *The American Journal of Medicine*. 2008; 121:310-315.

Safdar N, Narans L; Gordon B; Maki DG. Comparison of Culture Screening Methods for Detection of Nasal Carriage of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: a Prospective Study Comparing 32 Methods. *Journal of clinical microbiology*. 2003; 41:3163–3166

Saxena AK, Panhotra BR, Al-Arabi Al-Ghamdi AM. End-Stage Sickle Cell Nephropathy: Determinants of Reduced Survival of Patients on Long-term Hemodialysis. *Saudi Journal of Kidney Disease and Transplant*. 2004; 15(2):174-5.

Schroeder K, Jularic M, Horsburgh SM, Hirschhausen N, Neumann C, Bertling A, Schulte A, Foster S, Kehrel BE, Peters G, Heilmann C. Molecular characterization of a novel *staphylococcus aureus* surface protein (*sasc*) involved in cell aggregation and biofilm accumulation. *Plos one*. 2009; 4(10):1-14

Schuenck RP, Lourenco MC, Iório NL, Ferreira AL, Nouér SA, Santos KR. Improved and rapid detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal carriage using selective broth and multiplex PCR. *Res Microbiol*. 2006 ;157(10):971-975.

Schuenck, RP, Nouér SA, Winter CDE, Cavalcante, FS, Scotti TD, Ferreira AL, Giambiagi MM, Santos KR. Polyclonal presence of non-multiresistant

methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates carrying SCCmec IV in health care-associated infections in a hospital in Rio de Janeiro, Brazil. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2009; 64(4):434-41.

Schutte BC, McCray PB. [Beta]-defensins in lung host defense. *Annual review Physiology*. 2002;64: 709– 748.

Sesso RCC, Lopes AA, Thomé FS, Lugon JR, Burdmann EA. Censo brasileiro de diálise 2009. *Jornal Brasileiro de nefrologia*. 2010; 32(4): 380-384.

Severin JA, Lestari ES, Kuntaman K, Melles DC, Pastink M, Peeters JK, Snijders SV, Hadi U, Duerink DO, van Belkum A, Verbrugh HA; Antimicrobial Resistance in Indonesia, Prevalence and Prevention Study Group. Unusually high prevalence of panton-valentine leukocidin genes among methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* strains carried in the Indonesian population. *J Clinical Microbiology*. 2008; 46(6):1989-95.

Simor AE, Daneman N. *Staphylococcus aureus* decolonization as a prevention strategy. Elsevier. 2009; 23:133-151.

Sievert MS, Rudrick JT, Patel JB, McDonald CJ, Wilkins MJ, Hageman JC. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* in the United States, 2002–2006. *Journal of Infectious Disease*. 2008;46: 668-74.

Sivaraman K, Venkataraman N, Tsai J, Dewell S, Cole AM. Genome sequencing and analysis reveals possible determinants of *staphylococcus aureus* nasal carriage. *BMC Genomics*. 2008; 9(33): 1-13.

Sivaraman K, Venkataraman N, Cole AM. *Staphylococcus aureus* nasal carriage and its contributing factors. *Future Microbiol*. 2009; 4(8):999-1008.

Sadoyama G, Santos KR, Brilhante AP, Filho PP. Staphylococcus aureus as source of catheter-related bloodstream infection evaluated by PFGE and rep-PCR typing in a Brazilian hospital. *Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica*. 2008 ;116(11):953-60.

Shorr AF. Staphylococcal Resistance Epidemiology. *Clinical Infectious Disease*. 2007; 45(3): 171 – 176.

Souza M, Arantes DV, Alves E. *Biossegurança - Assistência de enfermagem em infectologia*. 3ª ed. São Paulo: Atheneu; 2004; p 11.

Stevens AM, Hennessy T, Baggett HC, Bruden D, Parks D, Klejka J. Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus carriage and risk factors for skin infections, Southwestern Alaska, USA. *Emergency Infectious Disease*. 2010;16(5):797-803.

Stryjewski ME, Szczech LA, Benjamin DK Jr, Inrig JK, Kanafani ZA, Engemann JJ, Chu VH, Joyce MJ, Reller LB, Corey GR, Fowler VG Jr. Use of vancomycin or first-generation cephalosporins for the treatment of hemodialysis-dependent patients with methicillin-susceptible Staphylococcus aureus bacteremia. *Clinical Infectious Disease*. 2007; 15;44(2):190-6

Tenover FC, Weigel LM, Appelbaum PC. Vancomycin-Resistant Staphylococcus aureus Isolate from a Patient in Pennsylvania, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2004: 48(1); 275 – 280.

Tenover FC, Moellering RC, The rationale for revising the Clinical and Laboratory Standards Institute Vancomycin minimal inhibitory concentration interpretive criteria for Staphylococcus aureus. *Clinical Infectious Disease*. 2007; 44: 1208-1215.

Tokars JI, Miller ER, Stein G. New national surveillance system for hemodialysis-associated infections: initial results. *American Journal of Infectious Control*. 2002;30(5):288-95.

Van Belkum A, Melles DC, Nouwen J, van Leeuwen WB, van Wamel W, Vos MC, Wertheim HF, Verbrugh HA. Co-evolutionary aspects of human

colonization and infection by *Staphylococcus aureus*. *Infection, Genetics and Evolution*. 2009b; 9(1):32-47.

Van Belkum A, Verkaik NJ, Vogel CP, Boelens HA, Verveer J, Nouwen JL, Verbrugh HA, Wertheim HFL. Reclassification of *staphylococcus aureus* nasal carriage types. *Journal of Infectious disease*. 2009a; 199:1820-1826.

Van den Akker EL, Nouwen JL, Melles DC, van Rossum EF, Koper JW, Uitterlinden AG, et al. *Staphylococcus aureus* nasal carriage is associated with glucocorticoid receptor gene polymorphisms. *Journal of Infectious Disease* 2006;194(6):814–818.

Vandecasteele SJ, Boelaert JR, Vriese AS. *Staphylococcus aureus* infections in hemodialysis: what a nephrologist should know. *Clinical journal of the american society of nephrology*. 2009; 4:1388-1400.

Vandenbergh MF, Yzerman EP, Van Belkun AH, Boelens HA, Slijmons M, Verbrugh HA. Follow-up of *Staphylococcus aureus* nasal carriage after 8 years: redefining the persistent carrier state. *Journal clinical microbiology*. 1999; 37:3133–3140.

Vinodhkumaradithyaa A, Uma A, Shirivasan M, Ananthalakshmi I, Nallasivam P, Thirumalaikolundusubramanian P. Nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among surgical unit staff. *Journal Infectious Disease*. 2009; 62(3):228-9.

Von Eiff, C; Becker, K; Machka, K; Stammer, H; Peters, G. Nasal carriage as a source of *Staphylococcus aureus* bacteremia. *The New England Journal of Medicine*.2001; 344: 11-6

Wanten GJA, Schneeberger PM, Bevers A, Ginneken E, Koolen MI. Optimizing screening procedures for *staphylococcus aureus* nasal carriage in patients on haemodialysis. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 1998; 13:1256-1258.

Watanakunakorn C. Mode of action and in-vitro activity of vancomycin. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 1984; 14(D): 7-18.

Weidenmaier C, Fokai-Kun JF, Kulauzovic E, Kohler T, Thumm G, Stoll H, Gotz F, Peschel A. Differential roles of sortase-anchored surface proteins and wall teichoic acid in *Staphylococcus aureus* nasal colonization. *International Journal of Medical Microbiology*. 2008; 289: 505-513.

Wenzel RP, Perl TM. The significance of nasal carriage of *Staphylococcus aureus* and the incidence of postoperative wound infection. *The Journal of Hospital Infections*. 1995; 31:13-24.

Wertheim HF, Vos MC, Ott A, Voss A, Kluytmans JA, Vandenbroucke-Grauls CM, Meester MH, van Keulen PH, Verbrugh HA. Mupirocin prophylaxis against nosocomial *Staphylococcus aureus* infections in nonsurgical patients: a randomized study. *Annals Internal Medicine*. 2004; 140(6):419-25.

Wertheim HFL, Verveer J, Boelens HA, van Belkum A, Verbrugh HA, Vos MC. Effect of mupirocin treatment on nasal, pharyngeal, and perineal carriage of *Staphylococcus aureus* in healthy adults. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 2005;49(4):1465–1467.

Wertheim HFL, Walsh E, Choudhury R, Melles DC, Boelens HAM, Miajlovic H, Verbrugh HA, Foster T, Belkum AV. Key role for clumping factor b in *Staphylococcus aureus* nasal colonization of humans. *Plos Medicine*. 2008; 1(5):104-113.

White A. Quantitative studies of nasal carriers of *Staphylococcus aureus* among hospitalized patients. *Journal Clinical Investigation*. 1961;40:23–30,

Yang, ES; Tan, J; Eells, S; Rieg, G; Tagudar, G; Miller, LG. Body site colonization in patients with community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and other types of *S. aureus* skin infections. *Clinical Microbiology and Infection*. 2009; 16: 425–431

Yu VL, Goetz A, Wagener M. *Staphylococcus aureus* nasal carriage and infection in patients on hemodialysis: efficacy of antibiotic prophylaxis. *New England Journal of Medicine*. 1986; 315:91-96.

Yu L, Abensur H, Barros EJJ; Homsl E, Burdmann EA, Neto MC, Younes-Ibrahim M, Santos OP. Insuficiência renal aguda: diretriz da Sociedade Brasileira de Nefrologia. *Journal of Brazilian Nephrology*. 2002;24(1):37-39;

Zhang K, McClure, JA, Elsayed S, Louie T, Conly JM. Novel multiplex PCR assay for characterization and concomitant subtyping of Staphylococcal cassette chromosome mec types I to V in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal clinical microbiology*. 2005; 43(10), 5026-5033.

Anexos

10 ANEXOS**ANEXO 1- Aprovação do projeto pelo comitê de ética em pesquisa.**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Vitória-ES, 30 de Outubro de 2008

Da: Profa. Dr^a. Ethel Leonor Noia Maciel
Coordenadora
Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde

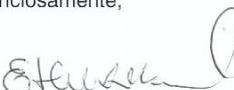
Para: Profa. Ana Paula Nunes
Pesquisadora Responsável pelo Projeto de Pesquisa intitulado: **“Estudo das infecções hospitalares causadas por amostras de *Staphylococcus aureus* coagulase-negativos resistentes a oxacilina em pacientes oncológicos e com insuficiência renal: análise da produção de biofilme, perfil de multirresistência aos antimicrobianos e pesquisa de novas opções terapêuticas”**

Senhora Pesquisadora,

Informamos à Vossa Senhoria, que o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, após analisar o Projeto de Pesquisa, N^o Registro no CEP-075/07, intitulado: **“Estudo das infecções hospitalares causadas por amostras de *Staphylococcus aureus* coagulase-negativos resistentes a oxacilina em pacientes oncológicos e com insuficiência renal: análise da produção de biofilme, perfil de multirresistência aos antimicrobianos e pesquisa de novas opções terapêuticas”** e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, cumprindo os procedimentos internos desta Instituição, bem como as exigências das Resoluções 196 de 10.10.96, 251 de 07.08.97 e 292 de 08.07.99, **APROVOU** o referido projeto, em Reunião Ordinária realizada em 29 de Outubro de 2008.

Gostaríamos de lembrar que cabe ao pesquisador responsável elaborar e apresentar os relatórios parciais e finais de acordo com a resolução do Conselho Nacional de Saúde n^o 196 de 10/10/96, inciso IX.2. letra “c”.

Atenciosamente,



Prof^a Dra Ethel Leonor Noia Maciel
COORDENADORA
Comitê de Ética em Pesquisa
Centro de Ciências da Saúde/UFES

ANEXO 2- Aprovação da ementa pelo comitê de ética em pesquisa.**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

Vitória-ES, 01 de outubro de 2010..

Da: Profa. Dr^a. Ethel Leonor Noja Maciel
Coordenadora Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde

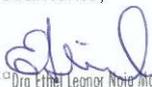
Para: Prof. Ana Paula Ferreira Nunes
Pesquisador Responsável pelo Projeto de Pesquisa intitulado: **“Estudo das infecções hospitalares causadas por amostras de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus coagulase* – negativos resistentes a oxacilina em pacientes oncológicos e com insuficiência renal: Análise da produção de biofilme, perfil de multirresistência aos antimicrobianos e pesquisa de novas opções terapêuticas”.**

Senhor Pesquisador,

Informamos a Vossa Senhoria, que o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, após analisar a **Emenda do Projeto de Pesquisa, nº. de registro no CEP – 075/07**, intitulado: **“Estudo das infecções hospitalares causadas por amostras de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus coagulase* – negativos resistentes a oxacilina em pacientes oncológicos e com insuficiência renal: Análise da produção de biofilme, perfil de multirresistência aos antimicrobianos e pesquisa de novas opções terapêuticas**, cumprindo os procedimentos internos desta Instituição, bem como as exigências das Resoluções 196 de 10.10.96, 251 de 07.08.97 e 292 de 08.07.99, **APROVOU** as modificações apresentadas.

Gostaríamos de lembrar que cabe ao pesquisador responsável elaborar e apresentar os relatórios parciais e finais de acordo com a resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196 de 10/10/96, inciso IX.2. letra “c”.

Atenciosamente,



Prof.^a Dra Ethel Leonor Noja Maciel
COORDENADORA
Comitê de Ética em Pesquisa
Centro de Ciências da Saúde/UFES

Av. Marechal Campos, 1468 – Maruípe – Vitória – ES – CEP 29.040-091.
Telefax: (27) 3335 7211

ANEXO 3- Questionário aplicado para os pacientes submetidos à hemodiálise.

Universidade Federal do Espírito Santo- UFES /Departamento de Patologia- Laboratório
RESBAC

Núcleo de Doenças Infecciosas- NDI

Dr^a. Ana Paula Ferreira Nunes- Orientadora

Manuela Tedesco Araujo- Aluna de mestrado NDI

Questionário para coleta de swabs nasais em pacientes de hemodiálise.

- 1) Nome: _____
- 2) Idade: _____ SEXO: F () M ()
- 3) Endereço e telefone: _____
- 4) Profissão: _____
- 5) Há quanto tempo faz hemodiálise? _____
- 6) Há quanto tempo faz hemodiálise no Hospital Meridional? _____
- 7) Tem diabetes? () S () N Faz uso de insulina? () S () N
- 8) Já fumou ou ainda fuma? Há quanto tempo? () S _____ () N
- 9) Já teve/tem história de rinite? () S () N Qual tratamento utilizou? _____
- 10) Já teve/tem história de sinusite? () S () N Qual tratamento utilizou? _____
- 11) Fez uso de antibiótico nos últimos 3 meses? Qual? () S _____ () N
- 12) Fez uso de corticóides? Qual? () S _____ () N
- 13) Já fez algum tipo de transplante? Qual órgão() S _____ () N
- 14) O que levou a necessidade de se fazer hemodiálise? Doença vascular ()

Diabetes mellitus ()	Glomerulonefrite ()
Infecção no trato urinário ()	Outro() _____

Termo de consentimento:

Estou ciente dos objetivos, riscos e benefícios da minha participação no projeto de pesquisa “Análise do estado portador nasal de *Staphylococcus aureus* como fator de risco para pacientes sob regime de hemodiálise em hospitais da Grande Vitória, ES.” e concordo em fornecer meus dados e permitir a coleta de amostras nasais para o desenvolvimento deste estudo desde que seja mantido o sigilo da minha identidade.

Assinatura do Voluntário/Nome do voluntário/ Data

ANEXO 4 Termo de consentimento livre e esclarecido.

TÍTULO DO ESTUDO

“Análise do estado portador nasal de *Staphylococcus aureus* como fator de risco para pacientes sob regime de hemodiálise em hospitais da Grande Vitória, ES.”

FINANCIAMENTO

Fundação de Apoio a Pesquisa do Espírito Santo (FAPES)

COORDENADOR E COLABORADORES DO PROJETO

Dra. Ana Paula Ferreira Nunes, UFES.

Manuela Tedesco Araujo, UFES.

Flávia Caselli Pacheco, Laboratório Tommasi.

Andressa Roxana Fernandes Ribeiro

Aline Pandolfi

Carolina Alves Furlan

INTRODUÇÃO

Você está sendo convidado a participar de um projeto de pesquisa. Esse termo de consentimento irá informá-lo sobre a pesquisa para qual você está sendo convidado a participar. A SUA PARTICIPAÇÃO É VOLUNTÁRIA. Você tem o direito de recusar ou de se retirar do estudo a qualquer momento sem que isto implique em riscos para o seu tratamento médico. Se você concordar em participar do estudo, você será solicitado a assinar este documento e irá receber uma cópia do mesmo.

Este estudo tem por objetivo definir o estado portador de *S. aureus* dos pacientes e alunos que aceitarem participar do estudo.

COMO SERÁ A SUA PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO?

Em permitir voluntariamente que seja colhida secreção nasal, com auxílio de um swab nasal durante 12 semanas e permitir que a amostra de *Staphylococcus aureus* isolada a partir do cultivo desse material seja incluída no projeto de pesquisa supracitado.

Permitir que qualquer amostra bacteriana isolada a partir de material clínico (sangue, secreções, cateter, urina, etc.) colhido para exames microbiológicos

solicitados por médicos sejam incluídas no projeto de pesquisa. Lembrando que neste caso não constituiria colheita de material adicional.

EXISTEM RISCOS AO PARTICIPAR DESTE ESTUDO?

Não há risco de sua participação no estudo, pois a colheita de secreção nasal não constitui procedimento invasivo e todas as outras amostras bacterianas serão obtidas pelo laboratório de Microbiologia a partir do material clínico enviado para a realização de exames microbiológicos diagnósticos ou de rotina estabelecidos pelo corpo médico.

HAVERÁ CONFIABILIDADE DE SUAS INFORMAÇÕES?

Todas as informações serão mantidas confidenciais. Você terá um número de registro e seu nome não será usado. Somente as pessoas ligadas ao estudo da Universidade Federal do Espírito Santo terão permissão para consultar seus prontuários médicos e de pesquisa relacionados a esse estudo de acordo com as disposições legais do Brasil. Se as descobertas deste estudo forem publicadas, seu nome ou sua identificação não será divulgado. Sua identidade permanecerá confidencial.

QUEM VOCÊ DEVERÁ CONTACTAR EM CASO DE DÚVIDAS?

Se você tiver alguma dúvida sobre seus direitos como voluntário de pesquisa, você poderá entrar em contato com:

Comitê de ética em Pesquisa (CCS/UFES)

cep@ccs.ufes.br/ Telefone: (27) 3335-7211

Manuela Tedesco Araujo/ [Tel:\(27\)3335-7258](tel:(27)3335-7258)/m.tedesco@hotmail.com

Termo de consentimento:

Eu recebi uma cópia desse termo de consentimento e sei que uma cópia ficará guardada em arquivo.

Eu entendo que se eu assinar ou colocar a minha impressão digital no espaço abaixo, eu estou concordando em participar do estudo.

Assinatura do voluntário/Nome do voluntário/data/hora

Eu expliquei os objetivos deste estudo para o voluntário. Tenho plena convicção que ele/ela entendeu os objetivos, riscos e benefícios da sua participação no estudo.

ANEXO 5-(Tabela 17)- Análise univariada dos fatores de risco associados ao desenvolvimento de bacteriemias entre os não portadores e portadores persistentes (N= 121).

Variáveis	Episódios de Bacteremia		Odds Ratio(IC)	pvalor	Episódios bacteriemia <i>S. aureus</i>		Odds Ratio(IC)	pvalor
	Sim	Não			Sim	Não		
Sexo								
Masculino	7	59	0,69	0,51	3	63	1,26	0,80
Feminino	8	47	(0,20-2,39)		2	53	(0,14-15,60)	
Idade (anos)								
Acima de 50	9	45	2,03	0,20	4	50	5,28	0,10
Abaixo de 50	6	61	(0,59-7,43)		1	66	(0,49-263,84)	
Status de colonização (2)**								
PP	1	3	2,45	0,43	1	3	9,42	0,03
NP	14	103	(0,04-32,74)		4	113	(0,14-147,76)	
Etnia								
Não brancos	9	57	1,29	0,65	3	63	1,26	0,80
Branco	6	49	(0,38-4,72)		2	53	(0,13-15,60)	
Tempo(m) hemodiálise								
Acima de 36	4	54	0,35	0,08	1	61	0,23	0,19
Abaixo de 36	11	52	(0,08-1,29)		4	55	(0,02-2,08)	
Acesso vascular								
Fístula	9	100	0,09	0,00	4	105	0,41	0,44
Cateter	6	6	(0,020-0,42)		1	11	(0,037-22,49)	
Diabetes mellitus								
Presente	4	35	0,74	0,62	2	37	1,42	0,70
Ausente	11	71	(0,16-2,75)		3	79	(0,11-12,94)	

(IC)-Intervalo de confiança 95%; (m)- meses; NP- Não portador; PP- portador persistente; (**)Para esta análise os pacientes foram divididos em 2 grupos: expostos- portadores persistentes; não expostos- não portadores.

ANEXO 6-(Tabela 18)- Resultados da regressão logística para as variáveis que demonstraram potencial de risco no desenvolvimento de bacteriemias entre portadores persistentes e não portadores (N=121).

Variáveis	Episódios de bacteriemias			Episódios de bacteriemias apenas por <i>S. aureus</i>		
	Odds Ratio	pvalor	IC	Odds Ratio	pvalor	IC
Comparação						
2-Status de colonização	2,58	0,45	0,22-30,20	17,62	0,05	0,99-314,46
Acesso vascular	0,087	0,00	0,021-0,35	-	-	-
Tempo em meses de hemodiálise	0,98	0,08	0,96-1,00	0,95	0,12	0,89-1,01

(IC)-Intervalo de confiança 95%; (m)- meses; NP- Não portador; PP- portador persistente. (**)Para esta análise os pacientes foram divididos em 2 grupos: expostos- portadores persistentes; não expostos- não portadores.

ANEXO 7-(Tabela 19)- Análise univariada dos fatores de risco associados ao desenvolvimento de bacteriemias entre os portadores intermitentes e os não portadores (N= 143).

Variáveis	Episódios de Bacteriemia		Odds Ratio(IC)	pvalor	Episódios bacteriemia <i>S. aureus</i>		Odds Ratio(IC)	pvalor
	Sim	Não			Sim	Não		
Sexo								
Masculino	9	68	0,74	0,54	4	73	1,15	0,87
Feminino	10	56	(0,25-2,20)		3	63	(0,19-8,15)	
Idade (anos)								
Acima de 50	10	57	1,3	0,59	3	64	0,84	0,83
Abaixo de 50	9	67	(0,44-3,9)		4	72	(0,12-5,20)	
Status de colonização								
3(***)								
PI	5	21	1,75	0,32	3	23	3,68	0,08
NP	14	103	(0,44-5,87)		4	113	(0,50-23,12)	
Etnia								
Não brancos	11	72	0,99	0,99	4	53	0,96	0,96
Brancos	8	52	(0,33-1,41)		3	79	(0,15-6,82)	
Tempo(m) hemodiálise								
Acima de 36	6	62	0,46	0,13	1	67	0,17	0,07
Abaixo de 36	13	62	(0,13-1,41)		6	69	(0,003-1,49)	
Acesso vascular								
Fístula	9	116	0,62	0,00	3	122	0,086	0,00
Cateter	10	8	(0,016-0,22)		4	14	(0,011-0,58)	
Diabetes mellitus								
Presente	7	40	1,23	0,69	4	43	2,88	0,16
Ausente	12	84	(0,38-3,68)		3	93	(0,46-20,38)	

(IC)-Intervalo de confiança 95%; (m)- meses; NP- Não portador; PI- portador intermitente. (***)Para esta análise os pacientes foram divididos em 2 grupos: expostos- portadores intermitentes; não expostos- não portadores.

ANEXO 8-(Tabela 20)- Resultados da regressão logística para as variáveis que demonstraram potencial de risco no desenvolvimento de bacteriemias entre portadores intermitentes e não portadores (N=143).

Variáveis	Episódios de bacteriemias			Episódios de bacteriemias apenas por <i>S. aureus</i>		
	Odds Ratio	pvalor	IC	Odds Ratio	pvalor	IC
Comparação 3-Status de colonização	0,88	0,86	0,23-3,47	2,91	0,22	0,52-16,44
Acesso vascular	0,06	0,00	0,02-0,20	0,10	0,01	0,02-0,54
Tempo em meses de hemodiálise	-	-	-	0,15	0,10	0,02-1,46

(IC)-Intervalo de confiança 95%; (m)- meses; NP- Não portador; PI- portador intermitente.
 (***)Para esta análise os pacientes foram divididos em 2 grupos: expostos- portadores intermitentes; não expostos- não portadores.

ANEXO 9-(Tabela 21)- Análise univariada dos fatores de risco associados ao desenvolvimento de bacteriemias entre os portadores intermitentes e os portadores persistentes (N= 30).

Variáveis	Episódios de Bacteriemia		Odds Ratio(IC)	pvalor	Episódios bacteriemia <i>S. aureus</i>		Odds Ratio(IC)	pvalor
	Sim	Não			Sim	Não		
Sexo								
Masculino	4	13	1,69	0,58	3	14	2,57	0,42
Feminino	2	11	(0,19- 21,73)		1	12	(0,17-146,04)	
Idade (anos)								
Acima de 50	3	12	1,00	1,0	1	14	0,29	0,28
Abaixo de 50	3	12	(0,11-9,06)		3	12	(0,01-4,28)	
Status de colonização								
4(****)								
PI	5	21	0,71	0,79	3	23	0,39	0,46
PP	1	3	(0,05- 45,91)		1	3	(0,02-27,31)	
Etnia								
Não brancos	4	17	0,82	0,84	3	18	1,33	0,81
Brancos	2	7	(0,09-11,16)		1	8	(0,09-79,62)	
Tempo(m) hemodiálise								
Acima de 36	2	12	0,5	0,46	1	13	0,33	0,35
Abaixo de 36	4	12	(0,39-4,39)		3	13	(0,01-4,96)	
Acesso vascular								
Fístula	2	20	0,1	0,01	1	21	0,08	0,01
Cateter	4	4	(0,01-1,07)		3	5	(0,00-1,36)	
Diabetes mellitus								
Presente	3	5	3,8	0,15	2	6	3,33	0,25
Ausente	3	19	(0,37-36,48)		2	20	(0,19-52,94)	

(IC)-Intervalo de confiança 95%; (m)- meses; NP- Não portador; PI- portador intermitente. (****)Para esta análise os pacientes foram divididos em 2 grupos: expostos- portadores intermitentes; não expostos- portadores persistentes.

ANEXO 10-(Tabela 22)- Resultados da regressão logística para as variáveis que demonstraram potencial de risco no desenvolvimento de bacteriemias entre portadores intermitentes e portadores persistentes (N=30).

Variáveis	Episódios de bacteriemias			Episódios de bacteriemias apenas por <i>S. aureus</i>		
	Odds Ratio	pvalor	IC	Odds Ratio	pvalor	IC
Comparação						
4-Status de colonização	0,611	0,73	0,04 - 10,12	0,27	0,41	0,01-5,88
Acesso vascular	0,098	0,024	0,013- 0,74	0,07	0,043	0,00-0,92

(IC)-Intervalo de confiança 95%; (m)- meses; NP- Não portador; PI- portador intermitente.
 (****)Para esta análise os pacientes foram divididos em 2 grupos: expostos- portadores intermitentes; não expostos- portadores persistentes.

ANEXO 11 - Formulação dos meios de cultura utilizados na pesquisa**Agar Mueller-Hinton – Teste de difusão do disco- (BBL)**

Mueller-Hinton agar38g
 Água destilada1000mL
 pH 7,3 ± 0,2 a 25°C

Agar Manitol salgado – (HIMEDIA)

Agar Manitol salgado111g
 Água destilada1000mL
 pH 7,3 ± 0,2 a 25°C

Agar Sangue-(HIMEDIA)

Blood agar base21g
 Sangue humano.....50mL
 Água destilada1000mL

Agar DNase com azul de toluidina-(HIMEDIA)

Agar DNase42g
 Água destilada1000mL

Agar Mueller-Hinton – Triagem oxacilina

Mueller-Hinton agar38g
 Cloreto de sódio.....40g
 Água destilada1000mL
 Foram distribuídos 20 ml do meio em placas de Petri acrescentado de 80µL e 120µL de solução de oxacilina (1000µg/ml) para preparo dos meios contendo 4µg/ml e 6µg/ml respectivamente.

Agar BHI – (Difco)

BHI Agar 52g
 Água destilada.....1000mL
 pH 7,3 ± 0,2 a 25°C

Agar BHI – Triagem vancomicina

BHI Agar 52g

Água destilada.....1000mL

Foram distribuídos 20 ml do meio em placas de Petri acrescentado de 80µL e 120µL de solução de vancomicina (1000µg/ml) para preparo dos meios contendo 4µg/ml e 6µg/ml respectivamente.

Agar Muller- Hinton- Diluição em agar de oxacilina

Mueller-Hinton agar38g

Cloreto de sódio.....20g

Água destilada1000mL

Realizou-se a diluição seriada da oxacilina (1000µg/ml) para se obter soluções com concentrações entre : 0,0625 µg/mL a 8µg/mL. Foram distribuídos 19,5 ml do meio em placas de Petri acrescentado de 500µL das soluções contendo oxacilina.

Agar Muller- Hinton- Diluição em agar de vancomicina

Mueller-Hinton agar38g

Água destilada1000mL

Realizou-se a diluição seriada da vancomicina (1000µg/ml) para se obter soluções com concentrações entre : 0,0625 µg/mL a 8µg/mL. Foram distribuídos 19,5 ml do meio em placas de Petri acrescentado de 500µL das soluções contendo oxacilina.

ANEXO 12 - Formulação dos reagentes e soluções utilizadas**Salina fisiológica a 0,85%**

Cloreto de sódio	0,85g
Água destilada	100mL

TBE 10X-(HEXAPUR)

Tris HCl	0,89M
Ácido bórico	0,89M
EDTA	2,5mM

pH final=8,2

Gel de agarose 2%-(BioAgency)

Agarose	2g
TBE1X	100mL

Tampão de arraste

Azul de bromofenol (Vetec)	0,05%
Sacarose (Invitrogen).....	40%
EDTA(Hexapur).....	0,1M
Lauril sulfato de sódio(SIGMA).....	0,5%

pH final=8,0