



MARIA CLARA PADOVEZE

ESTUDO DA EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR DOS
Staphylococcus aureus RESISTENTES À
OXACILINA EM PACIENTES PORTADORES DE
SÍNDROME DE IMUNODEFICIÊNCIA ADQUIRIDA

Tese apresentada ao Departamento de
Microbiologia e Imunologia do Instituto
de Biologia da Universidade Estadual de
Campinas para obtenção do título de
Mestre.

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo (a) candidato (a)

Maria Clara Padoveze

e aprovada pela Comissão Julgadora.

19/06/98

W. A. W.

36e

092/BC

CAMPINAS

1998

MARIA CLARA PADOVEZE

ESTUDO DA EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR DOS
***Staphylococcus aureus* RESISTENTES A**
OXACILINA EM PACIENTES PORTADORES DE
SÍNDROME DE IMUNODEFICIÊNCIA ADQUIRIDA

Orientadora: Profa. Dra. Maria Luiza Moretti Branchini

Disciplina de Doenças Transmissíveis

Faculdade de Ciências Médicas

Universidade Estadual de Campinas

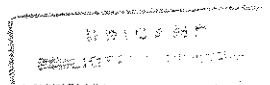
Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas

Departamento de Microbiologia e Imunologia

Instituto de Biologia

Universidade Estadual de Campinas

CAMPINAS – 1998



-BC	
MADA:	
UNICAMP	
6 e	
Ex.	
BO/ 35092	
395/98	
☐	D ☒
R\$ 11,00	
16/09/98	

1-00116012-3

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA - UNICAMP**

Padoveze, Maria Clara

P136e Estudo da epidemiologia molecular dos *Staphylococcus aureus* resistentes a oxacilina em pacientes portadores de síndrome de imunodeficiência adquirida/ Maria Clara Padoveze.-- Campinas, SP:[s.n.], 1998.
93f.:ilus.

Orientadora: Maria Luiza Moretti Branchini

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, - Instituto de Biologia.

I.Estafilococcus aureus. 2.Aids (doença). 3.Infecção hospitalar.
I.Branchini, Maria Luiza Moretti. II.Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

Campinas, 19 de Junho de 1998.

BANCA EXAMINADORA:

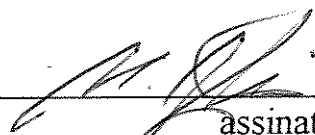
TITULARES:

Profa. Dra. Maria Luiza Moretti Branchini (orientador)



assinatura

Prof. Dr. Antonio Carlos Campos Pignatari



assinatura

Profa. Dra. Antonia Teresinha Tresoldi



assinatura

SUPLENTES:

Profa. Dra. Lucila Costallat Ricci

assinatura

“ A cabeça pensa a partir de onde os pés pisam ”

Leonardo Boff

Agradecimentos

Primeiramente, agradeço a Deus pela minha vida.

Muitas pessoas contribuíram, de diversas maneiras, na realização deste trabalho. Ao quinhão de cada um, meu profundo agradecimento:

Aos pacientes, fonte motivadora de minha profissão e aos pacientes deste estudo em particular.

À Profa. Dra. Maria Luiza Moretti Branchini, pela orientação, apoio, compreensão e amizade.

À toda a equipe de enfermagem do Leito-Dia e MI pela recepção amigável e colaboração, mas em especial à enfermeira Luciana e à Cássia, que pessoalmente contribuíram para o cumprimento da fase de coleta de espécimens, sem as quais este trabalho seria impossível..

Aos funcionários do laboratório de Microbiologia da Divisão de Patologia Clínica do HC-UNICAMP, pelo acolhimento e pela disposição em ensinar e colaborar, em especial à Dra. Ângela von Nowakonski e à Shirley Alice Gonçalves.

Aos colegas da Comissão de Controle de Infecção Hospitalar, pela colaboração nos momentos necessários.

À Profa. Dra. Antonia Teresinha Tresoldi, pela contribuição em inúmeras etapas deste processo.

À Profa. Dra. Lucila Costallat Ricci, pela abertura e colaboração em muitos momentos.

Aos pesquisadores e funcionários dos laboratórios de Biologia Molecular da Hematologia e da Clínica Médica pela convivência amigável e disposição em ajudar.

Ao Guaracy da Silva Ribeiro, por sua preciosa colaboração, sempre disposto a ajudar em todas as situações que se fizeram necessárias.

À Érivan Olinda Ribeiro, pela colaboração nas atividades dentro do laboratório de biologia molecular.

À Maria Elisabete Padoveze, pela revisão de português.

Ao Prof. Dr. Francisco Aoki, docente responsável pela unidade de Leito-Dia e à supervisora de enfermagem Rosa, os quais sempre me ofereceram abertura e apoio.

Aos colegas Carlos e Simone, que durante a residência contribuíram na fase inicial da coleta dos espécimens.

À Tereza, do laboratório de Hematologia, pela ajuda no manuseio de técnicas de laboratório.

Ao Prof. Dr. Djalma Moreira Filho pelos esclarecimentos de dúvidas.

Ao Prof. Dr. Nelson Andreollo, pela disposição em ajudar, quando foi necessário.

Ao Departamento de Enfermagem do Hospital das Clínicas da UNICAMP, nas pessoas das enfermeiras Márcia, Marilene e Lúcia, que sempre me apoiaram.

À Maria Cristina Quelhas pelo companheirismo no início desta jornada rumo à carreira acadêmica.

À amiga Rosely Moralez de Figueiredo, pelo ombro amigo nos momentos alegres, tristes ou difíceis.

Aos meus pais, pelo exemplo de amor, trabalho, dedicação e honestidade.

Aos meus filhos, por existirem.

Ao Célio, para o qual todas as palavras de agradecimento seriam poucas.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	01
1.1. Características do <i>Staphylococcus aureus</i>	02
1.2. <i>S. aureus</i> resistentes à oxacilina nas unidades de saúde.....	04
1.3. Fatores de risco para a aquisição do SARO.....	11
1.4. Padrão de susceptibilidade a antimicrobianos.....	12
1.5. Medidas de controle para evitar a disseminação da colonização/infecção por SARO.....	13
1.6. Epidemiologia molecular como instrumento na investigação de surto e endemias de infecções hospitalares.....	14
1.7. “Pulsed-field Gel Electrophoresis”.....	16
1.8. Presença do SARO no HC/UNICAMP.....	17
2. OBJETIVOS.....	19
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	21
3.1. População de estudo.....	22
3.2. Critérios de inclusão.....	22
3.3. Descrição das unidades de atendimento.....	22
3.3.1. Leito-Dia.....	22
3.3.2. Enfermaria de MI.....	23
3.4. Descrição das atividades da CCIH no período estudado.....	24
3.4.1. Sistema de vigilância epidemiológica.....	24

3.4.2. Critérios e condutas recomendadas para isolamento de pacientes portadores de SARO.....	24
3.5. Metodologia aplicada.....	25
3.5.1. Coleta e identificação do material.....	26
3.5.2. Definição do tipo de colonização por SARO.....	27
3.6. Banco de bactérias multi-resistentes do HC/UNICAMP.....	28
3.7. Tipagem molecular.....	28
3.7.1. Tipagem do DNA genômico por PFGE.....	28
3.7.2. Análise da relação de identidade entre os isolados de <i>S.</i> <i>aureus</i>	30
4. RESULTADOS.....	31
4.1. Primeira etapa: resultado da coleta de espécimens de narina anterior.....	32
4.2. Segunda etapa: análise dos SARO isolados em pacientes em tratamento no LD e MI.....	36
4.2.1. Padrão de susceptibilidade a antimicrobianos.....	37
4.2.2. Análise do perfil cromossômico através de PFGE.....	39
5. DISCUSSÃO.....	46
6. CONCLUSÕES.....	58
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60

8. RESUMO.....	78
9. ABSTRACT.....	82
10. ANEXOS.....	86
10.1. Anexo 1. Sistema de Classificação e Definição para Vigilância de Adultos e Adolescentes com Síndrome e Imunodeficiência Adquirida - Grupo IV.....	87
10.2. Anexo 2. Tabela Padrão para Interpretação de Halos de Inibição por Antibacterianos para <i>Staphylococcus aureus</i>	90
10.3. Anexo 3. Soluções Utilizadas para o Estudo Molecular.....	91
10.4. Anexo 4. Cepas de SARO Utilizadas na Análise da Epidemiologia Molecular	95
10.5. Anexo 5. Antibiograma das cepas de SARO – Tabela por ordem de número de laboratório.....	97

ÍNDICE DE TABELAS E FIGURAS

Tabela 1. Pacientes com SIDA acompanhados no LD e MI e número de pacientes que apresentaram cultura positiva para SARO.....	31
Tabela 2. Número de SNF colhidos de pacientes com SIDA acompanhados no LD e MI no período de dezembro de 1993 a dezembro de 1995.....	32
Tabela 3. Tipo de colonização nasal por SARO ocorrida em pacientes com SIDA acompanhados no período de dezembro de 1993 a dezembro de 1995.....	32
Tabela 4. Relação entre o número de <i>swabs</i> nasais colhidos por paciente e o tipo de colonização por SARO nos pacientes com SIDA acompanhados no LD no período de dezembro de 1993 a dezembro de 1995.....	33
Tabela 5. Relação entre o número de <i>swabs</i> nasais colhidos por paciente e o tipo de colonização por SARO nos pacientes com SIDA acompanhados no MI no período de dezembro de 1993 a dezembro de 1995.....	33
Tabela 6. Número de episódios de presença ou ausência de SARO nos pacientes com SIDA acompanhados noas unidades de LD e MI no período de dezembro de 1993 a dezembro de 1995, de acordo com o número de SNF colhido por paciente.....	34

Tabela 7. Espécimens de SARO utilizados para análise cromossômica por PFGE provenientes de pacientes com/sem SIDA atendidos no LD e MI no período de maio de 1995 a fevereiro de 1996.....	36
Tabela 8. Padrão de susceptibilidade a antimicrobianos de 60 cepas de SARO provenientes de pacientes em tratamento no LD e MI no período de maio de 1995 a fevereiro de 1996.....	37
Tabela 9. Sensibilidade aos antimicrobianos testados de 60 cepas de SARO provenientes de pacientes em tratamento no LD e MI no período de maio de 1995 a fevereiro de 1996.....	38
Tabela 10. Distribuição das cepas de SARO de acordo com o padrão genômico identificado por PFGE.....	39
Tabela 11. Distribuição dos diferentes perfis genômicos das cepas de SARO isoladas de pacientes com/sem SIDA em tratamento no LD e MI no período de maio de 1995 a fevereiro de 1996.....	40
Tabela 12. Número de cepas de SARO analisadas por paciente coletadas no período de maio de 1995 a fevereiro de 1996 no LD e MI.....	40
Tabela 13. Perfis genômicos detectados por PFGE em isolados sequenciais de SARO isolados de pacientes acompanhados no LD e MI no período de maio de 1995 a fevereiro de 1996.....	41

- Figura 1.** Perfis de DNA cromossômico de cepas de *S. aureus* digeridas por enzima de restrição *SmaI* e seguida de eletroforese em campo pulsátil.....42
- Figura 2.** Perfis de DNA cromossômico de cepas de *S. aureus* digeridas por enzima de restrição *SmaI* e seguida de eletroforese em campo pulsátil.....43
- Figura 3.** Perfis de DNA cromossômico de cepas de *S. aureus* digeridas por enzima de restrição *SmaI* e seguida de eletroforese em campo pulsátil.....44

1. INTRODUÇÃO

1.1. Características do *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus é uma bactéria pertencente à família *Micrococcaceae*, apresentando-se na bacterioscopia como cocos Gram-positivos agrupados em tétrades ou cachos. Caracteriza-se, também, por ser anaeróbio facultativo, não móvel, não formador de esporos e apresentar reação de catalase positiva (BOYD, 1995).

A identificação laboratorial do *S. aureus* é feita através de testes rotineiros que incluem: a bacterioscopia para caracterização morfológica, o teste de catalase para diferenciá-lo dos demais membros da família *Micrococcaceae* e a análise de características das colônias e da hemólise em meio de ágar-sangue. A diferenciação entre o *S. aureus* e outros *Staphylococcus* (*haemolyticus*, *epidermidis*, por exemplo) exige o teste de produção de coagulase. Este microrganismo é um habitante natural da flora humana da pele, presente em grandes populações em fossa antecubital, narina anterior e períneo. Este agente também pode ser encontrado na orofaringe, boca, vagina, trato intestinal e glândulas mamárias, porém em quantidades menores do que na pele (BOYD, 1995).

O *S. aureus* apresenta-se como agente etiológico de diversas doenças, apresentando diferentes mecanismos de virulência que incluem produção de enzimas e toxinas e mecanismos de escape ao sistema imune (BOYD, 1995). Entre as doenças por ele causadas destacam-se o impetigo, a

osteomielite, a septicemia, a celulite, a pneumonia, a síndrome da pele escaldada, a enterocolite estafilocócica, as intoxicações alimentares, e a síndrome do choque tóxico, estas duas últimas devidas à produção de moléculas denominadas atualmente de super-antígenos (JOHNSON, RUSSEL e PONTZER, 1992; NOBLE, 1997).

Staphylococcus resistentes à penicilina foram detectados a partir de 1930, sendo que atualmente cerca de 90% das cepas identificadas são resistentes a este antibiótico. Um dos mecanismos considerados para a resistência à penicilina é mediado por um plasmídeo de alta transferência que confere a capacidade de produção de uma β -lactamase, a penicilinase, capaz de hidrolisar a penicilina (CHAMBERS e SACHDEVA, 1990; FRANCIOLLI e cols., 1990; BARON, 1992).

As penicilinas semi-sintéticas resistentes à penicilinase (oxacilina, meticilina, nafcilina, dicloxacilina) e cefalosporinas possuem radicais químicos que as protegem da ação das β -lactamases. Estes agentes β -lactâmicos atuam na inibição da síntese da parede bacteriana através da ligação com proteínas específicas associadas com a construção do peptidoglicano (*Penicillin Binding Proteins* - PBPs). Uma vez que estas PBPs são responsáveis por atividades que envolvem a fixação de subunidades ao peptidoglicano durante a síntese da parede bacteriana, sua ligação aos beta-lactâmicos forma um complexo estável, porém inerte. Os *S. aureus* resistentes à oxacilina produzem uma PBP2 alterada (chamada PBP2a), a qual liga-se muito fracamente aos beta-lactâmicos (CHAMBERS, 1991; CHAMBERS e SACHDEVA, 1990; JORGENSEN,

1991; BARON, 1992; BOYCE, 1992; CHAMBERS, 1997). Este tipo de resistência é codificado por um gene cromossômico (*mecA*) e é denominada de resistência intrínseca.

Na literatura internacional são utilizados classicamente os termos meticilina-sensível e meticilina-resistente para indicar isolados resistentes às isoxazolilpenicilinas, embora a oxacilina não seja mais comercializada, sendo a oxacilina a representante deste grupo de penicilinas para uso clínico. Portanto, foi optado por utilizar, neste estudo, os termos oxacilina-resistente e oxacilina-sensível em substituição aos termos meticilina-resistente e meticilina-sensível.

1.2. *Staphylococcus aureus* resistente à oxacilina (SARO) nas unidades de saúde

A epidemiologia das infecções hospitalares causadas por *S. aureus* foi bem estudada nas décadas de 1950 e 1960, quando este era o agente predominante das infecções nosocomiais (BARG, 1993). JARVIS e MARTONE (1992) descreveram este microrganismo como o segundo na etiologia das infecções hospitalares, representando 11-12% dos isolados relatados pelos hospitais participantes do Sistema Nacional de Vigilância de Infecções Hospitalares dos Estados Unidos, no período de 1986 a 1990. Dentre as infecções nosocomiais causadas por *S. aureus*, naquele país, houve um aumento de 2,4% em 1975 para 29% em 1991, na proporção de cepas oxacilina-resistentes.

Cepas oxacilina-resistentes foram descritas, inicialmente, em 1961 na Inglaterra, seguindo-se de outros relatos na Europa em 1965-1970, havendo um decréscimo inexplicável nos anos de 1970 a 1975. O ressurgimento da frequência dos mesmos em casos de infecções hospitalares ocorreu entre a década de 1970 e início de 1980, com surtos descritos na Europa, Oriente Médio, África, Austrália, Ásia e América do Norte e do Sul. (BOYCE, 1991a; JORGENSEN, 1991). O primeiro surto documentado nos Estados Unidos foi em 1968 e desde 1975, este agente tem sido um importante patógeno de infecções hospitalares naquele país (COOKSON e cols., 1989; BOYCE, 1991b; BOYCE, 1992; GOETZ e MUDER, 1992; PANLILIO e cols., 1992; FAZAL e cols., 1996).

Atualmente ocorre grande variação na prevalência dos SARO entre os diversos países e, dentro dos mesmos, com diferenças de frequência de hospital para hospital, apresentando taxas que podem variar de 1 a 25% (BOYCE, 1991a; BOYCE, 1992; RICHET e cols., 1996; VANDENBROUCKE-GRAULS, 1996). Entre pacientes hospitalizados e que tornam-se colonizados por SARO, estima-se que 30 a 60% poderão desenvolver infecções, sendo as mais frequentes as cirúrgicas, bacteremias, infecções do trato urinário ou pneumonias (BOYCE e cols., 1994).

Epidemias hospitalares por *S. aureus* resistentes à oxacilina têm aumentado progressivamente nos hospitais, em especial nos de médio ou grande porte e nos universitários (CEDERNA e cols., 1990; DUCKWORTH, 1990; GUIGUET e cols., 1990; GOETZ e cols., 1992;

JERNIGAN e cols., 1995; BOYCE, 1996; FAZAL e cols., 1996). JORGENSEN e cols. (1996) relataram 50% de SARO entre os isolados de infecções hospitalares por *S. aureus* no ano de 1992 na Universidade de Sydney, Austrália.

No Brasil, a epidemiologia do SARO tem sido objeto de estudo por parte de diversos pesquisadores, particularmente nos hospitais universitários e de grande porte (CRUZ e cols, 1996; ESPANHA e cols, 1996; GARBES NETTO e cols, 1996). SADER e cols. (1993, 1994) avaliaram a disseminação intra-hospitalar de um único clone em diversos hospitais de São Paulo. No Hospital das Clínicas da Universidade Estadual de Campinas, o SARO foi introduzido no ano de 1990 e, desde então, mantém-se em níveis endêmicos em diversas unidades de internação. No ano de 1994, observou-se que o SARO correspondeu a 8,2% dos agentes etiológicos identificados nas infecções hospitalares (TRESOLDI e cols., 1997).

Uma vez o SARO presente como epidêmico em um hospital, sua erradicação ou controle é tarefa difícil (WENZEL, 1987; COOKSON e cols., 1989; GUIGUET e cols., 1990; BARON, 1992; GOETZ e cols., 1992; BOYCE e cols., 1994), sendo que cepas endêmicas instalaram-se em numerosos hospitais (GOLDMANN e cols., 1996; ADEYEMI-DORO e cols., 1997). À medida em que aumenta o tamanho e a complexidade dos hospitais, menor é a probabilidade de erradicação do mesmo. Surto de infecções por SARO têm sido mais comumente descritos após sua introdução em Unidades de Terapia Intensiva de população adulta,

neonatal ou pediatria e em unidades de Queimados (GUIGUET e cols., 1990; BOYCE, 1991b; BACK e cols., 1996).

A introdução do SARO num hospital não é interpretada como devida à mutação de uma cepa sensível, porém carregada através de pacientes ou profissionais da saúde, portadores da cepa resistente (OPAL e cols., 1990; REBOLI e cols., 1990; BOYCE, 1992; GOETZ e cols., 1992; SHOVEIN e YOUNG, 1992; MULLIGAN e cols., 1993; BACK e cols., 1996; JERNIGAN e cols., 1996). Pacientes que mantêm-se como portadores por períodos prolongados de tempo reintroduzem ou mantêm este agente na instituição, agindo como fonte de infecção (BACK e cols., 1996; BOYCE, 1992; BOYCE e cols., 1994). A ocorrência de SARO em unidades de atendimentos a pacientes crônicos pode facilitar a introdução deste microrganismo em hospitais gerais através de eventuais internações (CEDERNA e cols., 1990).

A prevalência do SARO em indivíduos na comunidade que não tenham tido contato recente com unidades de saúde é desconhecida, porém presume-se que esta deva ser baixa (BOYCE, 1992; LAYTON, HIERHOLZER e PATTERSON, 1995; LORIAN, 1995). TROILLET e cols. (1998) detectaram uma prevalência de 2,6% de colonização nasal por *Staphylococcus aureus* resistente à oxacilina em pacientes admitidos para hospitalização. JERNIGAN e cols. (1995) observaram uma tendência de aumento significativo de pacientes cuja presença de SARO foi detectada na admissão em relação à aquisição nosocomial. Tendência esta que foi observada também por LAYTON, HIERHOLZER e PATTERSON (1995),

que analisaram 36 pacientes com aquisição comunitária de SARO e detectaram os seguintes fatores de risco: hospitalização ou antibioticoterapia prévia no período de um ano, residência em clínicas de atendimento a pacientes crônicos e uso de drogas intravenosas. AKRAM e GLATT (1998) analisaram 45 casos de pacientes com bacteremia por SARO ocorridas dentro das primeiras 48 horas de internação e definiram apenas 16 indivíduos com aquisição verdadeiramente comunitária, os quais apresentaram como características: histórico de hospitalização prévia no ano anterior, diabetes mellitus e infecção pelo HIV. O abuso de drogas endovenosas foi observado em apenas um paciente.

Pacientes usuários de drogas endovenosas (UDEV) são altamente colonizados com *S. aureus* (CANNON e COBBS, 1976; HIRSCHHORN, STEGER e CRAVEN, 1996). LEVINE e cols. (1982) relataram 231 casos de endocardite bacteriana entre 1980 e 1981, sendo 36 causados por *S. aureus* oxacilina-resistente e todos estes ocorreram em pacientes usuários de drogas. SARAVOLATZ e cols. (1982) detectaram um surto de *S. aureus* oxacilina-resistente em comunidade, associado a usuários de drogas endovenosas, com conseqüente aumento na incidência de infecção hospitalar por SARO, sugerindo que este organismo, pode, em casos especiais, ser introduzido no hospital através de indivíduos advindos da comunidade. Uma vez que os pacientes com Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (SIDA) são, em grande parte, UDEV, questiona-se a importância destes pacientes na epidemiologia da transmissão do *S. aureus*. Há relatos de taxas de 30% a 50% de colonização nasal por este agente em pacientes infectados com o vírus da

imunodeficiência humana (HIV) (GOETZ e cols., 1994; CRAVEN, STEGER e HIRSCHHORN, 1996).

Alguns autores observaram que o uso de cateteres vasculares é fator de risco importante para infecções da corrente sanguínea neste grupo de pacientes (JACOBSON, GELLERMANN e CHAMBERS, 1988; WHIMBEY e cols., 1986; NICHOLS, BALOGH e SILVERMAN, 1990; GOETZ e cols., 1994; CRAVEN, STEGER e HIRSCHHORN, 1996; HIRSCHHORN, STEGER e CRAVEN, STEGER e HIRSCHHORN, 1996; STROUD e cols., 1997). Através de estudos envolvendo pacientes imunocomprometidos por diversas etiologias, pesquisadores puderam demonstrar que o risco de infecção associada com cateter central é significativamente maior em pacientes com SIDA, sendo que o *S. aureus* é o agente mais freqüente e (MUKAU e cols., 1992; SKOUTELIS e cols., 1990; DEGA e cols., 1996).

RAVIGLIONE e cols. (1990) desenvolveram um estudo comparativo entre indivíduos hospitalizados para avaliar a freqüência de colonização nasal por *S. aureus* em pacientes com e sem infecção pelo HIV, excluindo nesta avaliação os portadores clássicos de *S. aureus* (UDEV, pacientes com diabetes insulino-dependente, pacientes renais crônicos em tratamento de hemodiálise e pacientes recebendo tratamento para alergia). Estes autores encontraram uma freqüência do *S. aureus* em 54,7% dos pacientes com infecção pelo HIV e de 28% dos pacientes com outras doenças de base, sugerindo que os primeiros devam ser considerados portadores freqüentes deste agente, independentemente da condição de UDEV.

Como as infecções hospitalares são associadas com hospitalização prolongada, altas taxas de mortalidade (HALEY *apud* JARVIS e MARTONE, 1992) e aumento nos custos, podem impor ao grupo dos pacientes com SIDA um risco maior, visto que estes são freqüentemente hospitalizados e possuem falhas no seu sistema imunológico de defesa (GOETZ e cols., 1994). Infecções hospitalares podem levar a altas taxas de letalidade neste grupo de pacientes (WITT, CRAVEN e McCABE, 1987). CRAVEN, STEGER e HIRSCHHORN(1996) ainda consideraram difícil determinar se a aquisição de diferentes agentes de infecções por este grupo de indivíduos pode ser claramente definida como de origem hospitalar ou comunitária, devido às características peculiares de atendimento dos mesmos. Entre estas características incluem-se as sucessivas internações, sendo possível suspeitar sobre a aquisição intra-hospitalar de doenças tipicamente comunitárias, como, por exemplo, pneumonia por *Pneumocistis carinii*.

O *Staphylococcus aureus* é um importante agente de infecções em pacientes com SIDA (WHIMBEY e cols., 1986; JACOBSON, GELLERMANN e CHAMBERS, 1988). Alguns autores observaram alta freqüência de bacteremia por *S. aureus* neste grupo de pacientes, particularmente nos usuários de drogas endovenosas (WHIMBEY e cols., 1986; HIRSCHHORN, STEGER e CRAVEN, 1996). STROUD e cols. (1997) observaram que o *S. aureus* é mais comum em infecções da corrente sangüínea em pacientes infectados pelo HIV quando comparados com pacientes hospitalizados com outras doenças de base.

GOETZ e cols. (1994), num estudo de vigilância epidemiológica, analisando dados de 210 admissões num período de 2 anos, concluíram que as taxas de infecções hospitalares nos pacientes infectados com o HIV (15,0%) são maiores que a taxa global destas infecções (6,9%) e que os agentes etiológicos mais freqüentes foram as bactérias Gram-positivas, primariamente as espécies de *Staphylococcus*, responsáveis por 43,8% das infecções. Dentre os *Staphylococcus*, o SARO representou 57% dos casos.

No entanto, a real importância dos pacientes com SIDA, como portadores de SARO e sua contribuição na disseminação intra-hospitalar deste agente não foi ainda devidamente estudada.

1.3. Fatores de risco para a aquisição do SARO

Entre os fatores de risco para aquisição do SARO incluem-se: uso prévio de antimicrobianos (HERSHOW, KHAIR e SMITH, 1992), cirurgias, queimaduras, internação em unidade de terapia intensiva (LAYTON e cols., 1993; ASENSIO e cols., 1996). Uma vez colonizado ou infectado, o paciente torna-se reservatório na disseminação intra-hospitalar.

As infecções estafilocócicas causadas por SARO parecem ser de gravidade semelhante às causadas por *S. aureus* sensível a oxacilina (SARAVOLATZ e cols., 1982). WARD (1992) encontrou igual habilidade entre cepas sensíveis e resistentes para aderência *in vitro* em células do epitélio nasal. PUJOL e cols. (1996) observaram a incidência de colonização por *S.*

aureus oxacilina-resistente e oxacilina-sensível em pacientes admitidos em unidade de terapia intensiva e detectaram uma tendência maior em desenvolver bacteremia nos pacientes colonizados por cepas resistentes. Entretanto, não houve diferença na taxa de mortalidade entre os pacientes colonizados por cepas resistentes ou sensíveis. HERSHOW, KHAYR e SMITH (1992) analisaram 44 pacientes adultos com infecção estafilocócica, sendo 22 com *S. aureus* sensível à oxacilina e 22 apresentando cepas oxacilina-resistente. Estes autores observaram que a apresentação clínica dos casos foi similar com ambas as cepas, sugerindo não haver diferença intrínseca na virulência das mesmas. Entretanto, o uso de antibioticoterapia prévia e períodos prolongados de internação foram dados significativamente presentes nos pacientes infectados por cepas resistentes. Os mesmos autores consideraram que estes fatores associados devem funcionar como marcadores de severidade da doença, sendo este, provavelmente, o fator importante para aquisição do SARO.

1.4. Padrão de susceptibilidade a antimicrobianos

As cepas de *S. aureus* oxacilina-resistentes são freqüentemente também resistentes a outros antibióticos, como a gentamicina, eritromicina (GUIGUET e cols., 1990; LAYTON, HIERHOLZER e PATTERSON, 1995; LEE e cols., 1996), cefalosporinas (BOYCE e cols., 1994) e ciprofloxacina (MULLIGAN e cols., 1987; ALONSO e cols., 1997).

HERSHOW, KHAYR e SMITH (1992), em um estudo de 22 casos de pacientes infectados com *S. aureus* oxacilina-resistente, identificaram um

padrão fenotípico mais freqüente de resistência a múltiplos antibióticos, incluindo a gentamicina, clindamicina, sulfametoxazol-trimetropina e freqüente resistência também à ciprofloxacina.

JORGENSEN e cols. (1996) analisaram 50 isolados de SARO, que apresentaram concomitantemente resistência à penicilina, oxacilina, eritromicina, trimetropina e gentamicina. Oitenta e dois por cento (82%) dos isolados apresentaram, também, resistência à ciprofloxacina. Entretanto, a resistência ao cloranfenicol foi encontrada em apenas 2 (4%) dos isolados.

1.5. Medidas de controle para evitar a disseminação da colonização/infecção por SARO

Diversas medidas de controle vêm sendo aplicadas, objetivando-se o controle da disseminação do SARO nas unidades de saúde (JOSEPH e RIBNER, 1991; GOETZ e cols., 1992; MULLIGAN e cols., 1993; BOYCE e cols., 1994; HARTSTEIN e cols., 1995b; JERNIGAN e cols., 1995; ZAFAR e cols., 1995; ASENSIO e cols., 1996; RICHET e cols., 1996; VANDENBROUCKE-GRAUS, 1996). GOETZ e cols. (1992) consideraram que a aquisição nosocomial de *S. aureus* oxacilina-resistente tem consequências substanciais, e o controle da disseminação envolve múltiplas culturas de vigilância, medidas de isolamento restrito, aplicação de antimicrobianos tópicos e sistêmicos, transferência dos pacientes para unidades especiais, entre outras medidas. Estes autores destacaram a importância de estudos epidemiológicos capazes de definir

claramente se as falhas no controle da disseminação do SARO são devidas à ineficiência das medidas implementadas ou à reintrodução do agente na instituição ou unidade.

JERNIGAN e cols. (1995) consideraram como uma medida de valor a vigilância de rotina na admissão de pacientes transferidos de outras instituições, particularmente as de atendimento de doentes crônicos. Os autores relataram que *swabs* de narina e de feridas abertas apresentaram alto valor de sensibilidade e de valor preditivo negativo na identificação de pacientes portadores de SARO.

Vários trabalhos avaliando vias de transmissão determinaram que cepas de SARO foram primariamente transmitidas de paciente para paciente através das mãos contaminadas dos profissionais de saúde (JOSEPH e RIBNER, 1991; MULLIGAN e cols., 1993; HUANG, OIE e KAMIYA, 1994). A lavagem com sabão comum pode não eliminar o SARO completamente das mãos, sendo indicado o uso de sabão anti-séptico para a remoção completa deste microrganismo (HUANG, OIE e KAMIYA, 1994). A transmissão deste agente a partir do meio ambiente hospitalar pode ocorrer e, neste caso, há necessidade de implementação de medidas específicas de limpeza e desinfecção (KOBAYASHI, TSUZUKI e HOSOBUCHI, 1989; MULLIGAN e cols., 1993; LAYTON e cols., 1993; BOYCE e cols., 1994; BOYCE e cols., 1997).

1.6. Epidemiologia molecular como instrumento na investigação de surtos e endemias de infecções hospitalares.

Durante as últimas duas décadas, as investigações de surtos de agentes patogênicos causadores de infecções hospitalares expandiram-se, havendo a necessidade de um refinamento das metodologias empregadas no esclarecimento da epidemiologia dos mesmos (JARVIS, 1994; HARTSTEIN e cols., 1995a; BLANC e cols., 1996; HARTSTEIN, LeMONTE e IWAMOTO, 1997). Quando ocorre aumento na incidência de infecções por um determinado agente numa unidade, é importante conhecer se houve transmissão de um microrganismo genomicamente relacionado ou se de cepas diferentes. Os estudos epidemiológicos utilizam-se de métodos de tipagem destes microrganismos como um importante complemento para o esclarecimento de fontes de infecção e vias de transmissão de patógenos hospitalares. Estes métodos incluem: fagotipagem, análises de DNA plasmidial, análise de polimorfismo de fragmentos de restrição, "Pulsed-Field Gel Electrophoresis" (PFGE), "Polymerase Chain Reaction" (PCR) e ribotipagem, entre outros (JARVIS, 1994; SADER e cols., 1993, 1994; HARTSTEIN e cols., 1995a, 1995b; vanBELKUM e cols., 1995; HARTSTEIN, LeMONTE e IWAMOTO, 1997)

A utilização de fagotipagem vem sendo substituída de maneira crescente pelos métodos de tipagem molecular baseados na análise do DNA, tais como estudos do DNA plasmidial digerido com enzimas de restrição e do DNA genômico, pela aplicação da macrorestrição com enzimas de restrição de endonucleases que apresentam baixa frequência de clivagem e PFGE (MULLIGAN e ARBEIT, 1991; PFALLER, 1991; BANNERMAN e cols., 1995; TENOVER e cols., 1995; JORGENSEN e cols., 1996). Estes

últimos métodos têm demonstrado alto poder discriminatório e são altamente confiáveis na caracterização da relação de identidade genômica entre as cepas de SARO (MULLIGAN e ARBEIT, 1991; CARLES-NURIT e cols., 1992; NICOLLE e cols., 1992; LAYTON e cols., 1993; BANNERMAN e cols., 1995; HARTSTEIN e cols., 1995a, 1995b; TENOVER e cols., 1995). HARTSTEIN, LeMONTE e IWAMOTO (1997) consideraram que o uso de PFGE pode ser crucial para confirmar a eficácia de medidas de controle em hospitais que freqüentemente admitem pacientes infectados por SARO.

1.7. "Pulsed-field Gel Electrophoresis"

A eletroforese convencional de moléculas de DNA é realizada aplicando-se amostras de preparados de DNA em uma matriz sólida (geralmente agarose ou poliacrilamida) e induzindo estas moléculas a migrar através do gel sob um campo elétrico estático. A separação das moléculas através do gel depende, predominantemente, do peso molecular das mesmas, de modo que pequenos fragmentos podem mover-se mais rapidamente que os maiores. Diversos outros fatores afetam a separação e mobilidade das moléculas de DNA na eletroforese, incluindo composição e concentração do gel, do tampão, da temperatura e do gradiente de voltagem do campo elétrico. Em condições regulares, moléculas maiores do que 20 kilobases não irão separar-se umas das outras, pois terão a mesma capacidade de mobilidade.

O PFGE é um processo que utiliza campos elétricos que são ativados alternadamente, permitindo um realinhamento das moléculas de DNA, onde a separação de fragmentos das mesmas irá depender do seu peso molecular, sendo os de maior peso mais lentos em relação aos de menor peso. A duração do tempo programado para cada campo elétrico atuar sobre a molécula de DNA é denominada de tempo de pulso. Um ângulo de reorientação é formado pelo ângulo agudo entre os campos elétricos alternados. O gradiente de voltagem, determinado em volts/centímetro, é o potencial elétrico aplicado ao gel.

1.8. Presença do SARO no HC/UNICAMP

Em estudo prévio de infecções e colonizações por SARO responsáveis por surtos e endemias no Hospital das Clínicas da Universidade Estadual de Campinas (HC/UNICAMP), determinou-se um perfil genômico e de DNA plasmidial predominante no hospital. Dentre as principais unidades de internação onde ocorreu a identificação deste germe, destacavam-se as enfermarias de Moléstias Infecciosas (MI), de Gastrocirurgia e de Emergências Cirúrgica e Clínica, além da Unidade de Terapia Intensiva (BRANCHINI e cols., 1993).

A partir de 1993, foi aberta a unidade do Leito-Dia (LD) para pacientes portadores de SIDA, localizada em área fisicamente contígua à enfermaria de MI. Os pacientes acompanhados nesta unidade recebem tratamento semi-ambulatorial e por este motivo não têm sido rotineiramente acompanhados pelo sistema de vigilância epidemiológica da Comissão de

Controle de Infecção Hospitalar (CCIH). Uma vez que um elevado número destes pacientes são UDEV, permanecem longos períodos em tratamento no LD e, sofrem sucessivas internações na enfermaria de MI, foi questionada a importância destes pacientes na epidemiologia do SARO dentro do hospital.

Em virtude destas considerações, foi proposto o presente estudo para avaliar a epidemiologia do SARO neste grupo de pacientes.

2. OBJETIVOS

1.) Estudar a incidência de colonização nasal por SARO nos pacientes com Síndrome de Imunodeficiência Adquirida em tratamento na enfermaria de Moléstias Infecciosas e no Leito-Dia.

2.) Estudar o perfil genômico dos SARO responsáveis por colonização e infecção dos pacientes em tratamento no Leito-Dia e na enfermaria de Moléstias Infecciosas.

3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1. População de estudo

Foram avaliados prospectivamente pacientes portadores de SIDA acompanhados no LD do Hospital das Clínicas da UNICAMP e pacientes portadores de SIDA internados na enfermaria de MI, no período de dezembro de 1993 a dezembro de 1995.

3.2. Critérios de inclusão

Foram incluídos os pacientes portadores de SIDA atendidos no LD e na enfermaria de MI do HC/UNICAMP, classificados no Grupo IV, de acordo com os critérios do "Centers for Diseases Control and Prevention" (CDC, 1986) (ANEXO 1). Foram incluídos os casos novos e os pacientes já em tratamento no início deste estudo.

3.3. Descrição das unidades de atendimento

3.3.1. Leito-Dia

Unidade de atendimento semi-ambulatorial que possui 14 leitos, com um número médio de atendimento diário de 20 pacientes. O tipo de atendimento prestado inclui medicação via oral e parenteral, hidratação, coleta de exames laboratoriais, biópsias, instalação/troca de sonda vesical de demora, instalação de sonda nasogástrica, inalação e

hemoterapia. O quadro de pessoal consta de 2 enfermeiros, 4 auxiliares e 1 oficial de administração que prestam atendimento exclusivo nesta unidade. A equipe médica possui 9 médicos em esquema de rodízio diário e 1 docente responsável.

Os pacientes atendidos na unidade podem proceder do ambulatório de MI (caso novo ou já em acompanhamento), outros serviços, enfermaria de MI e outras enfermarias. O destino dos pacientes após a alta médica pode ser os ambulatórios especializados de MI, outros ambulatórios do HC-UNICAMP, os serviços de origem, podendo ainda haver retorno para novos tratamentos sempre que houver necessidade.

3.3.2. Enfermaria de MI

Compõe-se de unidade com 18 leitos, cujo atendimento é prestado a pacientes que requeiram regime de internação para investigação diagnóstica ou atendimento clínico rotineiro, semi-intensivo e intensivo, sendo que 6 leitos são destinados especificamente para pacientes com SIDA. Não há separação geográfica entre os leitos de pacientes portadores ou não portadores de SIDA. Possui quadro de pessoal com 8 enfermeiros, 27 auxiliares, 1 oficial de administração, 7 médicos residentes e 8 docentes.

A procedência dos pacientes para esta unidade pode ser do próprio LD, pronto-socorro, ambulatórios gerais e especializados de MI, outros serviços e outras unidades de internação do HC/UNICAMP. O destino dos

pacientes após a alta médica pode ser os ambulatórios especializados de MI, outros ambulatórios do HC-UNICAMP, retorno para acompanhamento ambulatorial no serviço de origem, alta domiciliar ou, ainda, encaminhamento ao LD.

3.4. Descrição das atividades da CCIH no período estudado

3.4.1. Sistema de vigilância epidemiológica

O sistema adotado, desde 1987, é o de vigilância ativa global. Todos os pacientes internados são acompanhados através de ficha de vigilância epidemiológica, onde constam dados de identificação do paciente, diagnósticos e registro diário de: procedimentos, fatores de risco, resultados de culturas, pico febril, antibioticoterapia. Esta ficha é preenchida pelo enfermeiro da unidade e analisada em dias alternados pela enfermeira da CCIH, a qual diagnostica as infecções hospitalares de acordo com critérios estabelecidos pelo CDC (GARNER, 1988). Estes dados são compilados mensalmente. Paralelamente, realiza-se vigilância dirigida para microrganismos multi-resistentes, nas unidade endêmicas, através de coletas semanais de *swab* nasal ou secreção traqueal para todos os pacientes que excederem 7 dias de internação. O LD não é acompanhado pelo sistema de vigilância epidemiológica da CCIH.

3.4.2. Critério e condutas recomendadas para isolamento de pacientes portadores de SARO

Todo paciente colonizado ou infectado por *S. aureus* resistente à oxacilina foram incluídos nas condutas de isolamento. Estas condutas incluíram: indicação de quarto privativo obrigatório, sendo que pacientes com a mesma espécie de microrganismo podem compartilhar o mesmo quarto; uso de mupirocina pomada aplicada na narina anterior 3 vezes ao dia por 5 dias; banho diário com solução degermante com gluconato de clorohexidina a 2% e limpeza especial da unidade do paciente (cama, criado-mudo, painel de gases, monitores, respiradores, suporte de soro, bombas de infusão, mesa de refeição) pelo menos 3 vezes por semana.

O acompanhamento da condição de portador foi feito através da coleta de *swab* nasal ou secreção traqueal semanalmente até o primeiro resultado negativo. Após o primeiro resultado negativo, realizou-se coleta de *swab* nasal ou secreção traqueal em intervalos de 3 dias. A suspensão do isolamento foi indicada após três pesquisas negativas.

No caso dos pacientes do LD foram feitas as mesmas recomendações, embora, devido ao caráter semi-ambulatorial, não foi possível supervisionar a aderência pelo paciente ao tratamento indicado.

3.5. Metodologia aplicada

O presente estudo realizou-se em duas etapas: a primeira fase (dezembro de 1993 a dezembro de 1995), consistiu na coleta de espécimens de narina anterior dos pacientes com SIDA acompanhados no LD e MI para estudo da incidência de SARO; na segunda etapa (maio de 1995 a março

de 1996), foram selecionadas cepas de SARO provenientes de pacientes acompanhados no LD e MI, portadores ou não de SIDA, para análise da epidemiologia molecular.

3.5.1. Coleta e identificação do material

A coleta foi realizada pela equipe de enfermagem das respectivas unidades e a identificação do material e os testes de sensibilidade a antimicrobianos foram realizados pelo Laboratório de Microbiologia da Divisão de Patologia Clínica do HC-UNICAMP.

a.) Swab das narinas anteriores: foram colhidos *swabs* das narinas anteriores para identificação dos portadores nasais de *S. aureus* por ocasião da admissão no tratamento do LD e MI e, a seguir, em intervalos semanais. Os *swabs* foram coletados através de rotação suave de um mesmo *swab* nas narinas anteriores direita e esquerda e encaminhados o mais rapidamente possível para o laboratório. As amostras coletadas foram semeadas em placas de agar sangue a 5% e identificadas pelo método convencional (KLOOS, 1991). A seguir foram inoculadas em alíquotas de 1,5 ml de leite desnatado a 10% estéril e congeladas a -20°C até o momento da subtipagem molecular.

b.) Antibiograma: a realização dos testes de susceptibilidade a antimicrobianos é feita pelo método de difusão em disco (BAUER, 1966). Para análise da sensibilidade dos SARO, foram testados os seguintes antimicrobianos: amicacina, ampicilina, cefalotina ou cefazolina,

clindamicina, cloranfenicol, eritromicina, gentamicina, netilmicina, oxacilina, penicilina, sulfametoxazol + trimetropina, teicoplanina, tetraciclina, tobramicina e vancomicina. Os isolados foram considerados sensíveis ou resistentes aos antimicrobianos de acordo com as recomendações do NCCLS (1994) (ANEXO 2).

3.5.2. Definição de tipo de colonização por SARO

Colonização foi definida como a identificação do microrganismo em estudo, em espécimens coletados de pacientes, na ausência de sinais e sintomas ou resultados laboratoriais compatíveis com as definições de infecção hospitalar, de acordo com os critérios estabelecidos pelo CDC (JERNIGAN e cols., 1995; SARAVOLATZ e cols., 1982). Neste estudo, o tipo de colonização nasal por SARO foi classificada de acordo com os seguintes critérios:

a.) colonização persistente: pacientes com pelo menos 2 culturas positivas consecutivas. No caso de pacientes que apresentaram 3 ou mais resultados de cultura negativos entre dois resultados positivos foram considerados como dois episódios distintos de colonização.

b.) colonização transitória: pacientes com um achado único positivo para SARO seguido de pelo menos mais uma cultura negativa.

c.) isolado único: pacientes com um achado único positivo para SARO, sem acompanhamento posterior devido a alta, óbito ou abandono de tratamento.

3.6. Banco de bactérias multi-resistentes do HC/UNICAMP

A partir de 1995, a CCIH, em conjunto com o Laboratório de Microbiologia, passou a colecionar todas as amostras de microrganismos multi-resistentes identificados pelas culturas de rotinas realizadas para investigação diagnóstica ou epidemiológica. O critério para inclusão das cepas de *S. aureus* neste banco é a resistência a oxacilina.

3.7. Tipagem molecular

3.7.1. Tipagem do DNA genômico por PFGE

O modelo de PFGE utilizado neste estudo foi o “Clamped Homogeneous Electric Field Electrophoresis” (CHEF), cujo princípio é o da geração de campos elétricos homogêneos usando múltiplos eletrodos distribuídos numa geometria hexagonal.

O equipamento (CHEF DRII; Bio Rad Manufacture) consta de: 1.) cuba onde estão dispostos os eletrodos, na qual são colocados a solução tampão e o gel; 2.) fonte geradora dos campos elétricos; 3.) módulo de resfriamento do tampão; 4.) bomba propulsora do tampão entre a cuba e o módulo de resfriamento.

A preparação do DNA genômico é baseada na técnica de GOERING e DVSENG (1990). Isolados bacterianos são cultivados em "Brain Heart Infusion" (BHI) e incubados a 35° C por 12 horas. Após centrifugação, o concentrado de bactérias é lavado duas vezes com solução salina a 0,9%. A relação peso/volume desse concentrado é então equilibrada com solução de lise (tampão EC: 6 mM TRIS pH 7,5; 1M NaCl; 10 mM EDTA; 0,5% BRIJ 58; 0,2% desoxicholato de sódio; 0,5% N-lauroyl-sarcosine). São homogeneizados cinquenta e cinco microlitros da suspensão bacteriana adicionados de 625 microlitros de "low melt agarose" a 1% e dispensados em moldes. Os blocos de gel contendo o concentrado bacteriano são incubados por 24 horas a 37°C com 2 ml da mesma solução de tampão EC, adicionados de 50 microlitros de lisostafina e 10 microlitros de RNase, para formação de esferoplastos através da destruição da parede bacteriana e degradação de RNA. No dia seguinte, os blocos de agarose são lavados e reincubados a 50° C por 24 horas em solução ESP (0.4 M EDTA pH 9,3; 1% n-lauroyl-sarcosine; 0,1 mg/ml de proteinase K), para remover todos os componentes celulares indesejados, porém mantendo o DNA intacto. No próximo dia, os blocos são novamente lavados com solução TE de alta molaridade (100 mM TRIS pH 7,5; 100 mM EDTA pH 7,5). Para a digestão do DNA genômico por enzima de restrição, 1/2 de cada bloco é lavado com solução Dummy no Salt (0,1M TRIS pH 7,5; 0,005M MgCl₂) e incubado em 20 U de *SmaI* (GIBCO BRL, Life Technologies) à temperatura ambiente por 24 h. Após este período os blocos são lavados com solução TE de baixa molaridade (1mM TRIS pH 7,5; 10mM EDTA pH 7,5).

Os blocos contendo o DNA digerido são inseridos em gel a 1% de agarose grau cromossômico em solução tampão TBE 0,5X. A eletroforese é realizada com pulsos de tempo de 5 e 35 segundos, gradiente de voltagem de 6 volts/cm, temperatura de 13,5°C por 20 h. O gel é corado com brometo de etídio e fotografado sob luz ultravioleta. Na primeira linha de cada gel é colocado DNA *lambda concatemer* (BioRad) para avaliação de peso molecular.

As soluções utilizadas encontram-se no ANEXO 3.

3.7.2. Análise da relação de identidade entre os isolados de *S. aureus*

Os perfis cromossômicos observados foram denominados por letras em ordem alfabética seqüencial para facilitação da análise. A relação entre dois isolados foi estimada pelo coeficiente de similaridade (CS), onde $CS = 2x$ (número de bandas que coincidem) / (total de número de bandas em ambas as cepas) (DICE, 1945). Foram consideradas **cepas idênticas** aquelas com o mesmo padrão de bandas em número e peso molecular ($CS = 1$); **cepas relacionadas**, aquelas cujo padrão de bandas foi diferente do padrão principal encontrado devido a um evento genético por mutação, inserção, deleção ou inversão de DNA ($0,90 \leq CS < 1$). As cepas foram consideradas como **cepas diferentes** quando o padrão diferiu do padrão principal encontrado ($CS < 0,9$).

4. RESULTADOS

4.1. Primeira etapa: resultado da coleta de espécimens de narina anterior

Foram acompanhados um total de 178 pacientes com SIDA no LD e enfermaria de MI de dezembro de 1993 a dezembro de 1995. No LD foram acompanhados 126 pacientes num período médio de 141,3 dias (variação: 1 a 720 dias). Na enfermaria de MI foram acompanhados 52 pacientes em períodos que variaram de 1 a 270 dias (média de 8,68 dias).

Entre os 178 pacientes acompanhados na enfermaria de MI e LD, 62 (34,83%) apresentaram pelo menos uma cultura positiva para SARO. No LD, 48 pacientes apresentaram cultura positiva para SARO e na enfermaria 14 pacientes (TABELA 1). Não houve diferença estatística entre a freqüência de pacientes positivos para SARO nas duas unidades observadas ($p=0,15$).

TABELA 1. Pacientes com SIDA acompanhados no LD e MI e pacientes que apresentaram cultura positiva para SARO*

Unidade de atendimento	Pacientes acompanhados	Pacientes positivos para SARO (%)
LD	126	48 (38,09)
MI	52	14 (26,92)
Total	178	62 (34,83)

* $p=0,15$

Durante o período de estudo foram colhidos 1239 *swabs* de narina anterior (SNF) dos pacientes acompanhados, com uma média de 7 SNF

por paciente (variação: 1 a 60). A distribuição dos resultados de SNF no período de investigação encontra-se na TABELA 2. A somatória de isolados positivos de SARO e *S. aureus* não foi diferente entre os anos de 1994 e 1995 ($p=0,25$). Analisando separadamente, o número de isolados de *S. aureus* não foi estatisticamente diferente entre os respectivos anos ($p=0,63$). Não houve diferença também com relação ao número de isolados positivos para SARO entre os anos de 1994 e 1995 ($p=0,10$).

TABELA 2. - Número de SNF colhidos de pacientes com SIDA acompanhados no LD e MI no período de dezembro de 1993 a dezembro de 1995,

n° SNF	dezembro de 1993 a dezembro de 1994 (%)	janeiro a dezembro de 1995 (%)	total (%)
c/ <i>S. aureus</i> *	25 (3,29)	13 (2,71)	38 (3,07)
c/ SARO**	63 (8,29)	53 (11,06)	116 (9,36)
negativos	672 (88,42)	413 (86,22)	1085 (87,57)
Total	760 (100)	479 (100)	1239 (100)

* $p=0,63$

** $p=0,10$

Entre os pacientes com colonização nasal por SARO houve igual ocorrência de colonização transitória e persistente (TABELA 3).

TABELA 3. - Tipo de colonização nasal por SARO ocorrida em pacientes com SIDA acompanhados no período de dezembro de 1993 a dezembro de 1995.

Tipo de colonização	Número de episódios (%)
isolado único	18 (9,57)
transitória	27 (14,36)
persistente	27 (14,36)
ausente	116 (61,70)
Total	188 (100)

Na TABELA 4 observa-se a distribuição entre o tipo de colonização detectada e o número de SNF colhidos por paciente em tratamento no LD no período estudado. Neste grupo, foram detectados 58 episódios de colonização por SARO, sendo que 9 pacientes apresentaram mais do que um episódio (8 pacientes com 2 episódios e 1 paciente com 3 episódios).

Tabela 4.- Relação entre o número de SNF colhidos por paciente e o tipo de colonização por SARO nos pacientes com SIDA acompanhados no LD no período de dezembro de 1993 a dezembro de 1995.

n° SNF por paciente	tipo de colonização*			
	Isolado único	Transitória	Persistente	ausente
1	3	-	-	14
2 a 3	2	0	1	19
> 3	5	26	21	45
Total	10	26	22	78

* número de episódios de colonização nasal

A TABELA 5 apresenta a relação entre o número de SNF colhidos por paciente e o tipo de colonização apresentada nos pacientes acompanhados na enfermaria de MI no período estudado.

TABELA 5.- Relação entre o número de SNF colhidos por paciente e o tipo de colonização por SARO nos pacientes com SIDA acompanhados no MI no período de dezembro de 1993 a dezembro de 1995.

n° SNF por paciente	Isolado único	tipo de colonização*		
		transitória	persistente	ausente
1	7	-	-	24
2 a 3	1	-	2	13
> 3	-	1	3	1
Total	8	1	5	38

* número de episódios de colonização nasal

A TABELA 6 mostra a distribuição comparativa entre o número de SNF coletados por paciente e o número de episódios positivos e negativos para SARO, nas unidades de LD e MI.

Nos pacientes do LD, não houve diferença no número de episódios positivos identificados entre o grupo em que foi coletado um SNF e o grupo em que foram colhidos de 2 a 3 SNF (Fisher, $p=0,53$). No entanto, nos pacientes em que foram colhidos mais de três SNF houve diferença significativa quando comparado aos dois outros grupos: naquele em que foi colhido apenas um SNF ($p=0,019$) e naquele em que foram colhidos de 2 a 3 SNF ($p=0,031$).

De maneira semelhante, com relação aos pacientes do MI, não houve diferença no número de episódios positivos identificados entre o grupo de pacientes em que foi colhido um SNF e o grupo de pacientes em que foram colhidos de 2 a 3 SNF (Fisher, $p=0,53$). Houve diferença entre o grupo de pacientes em que foram colhidos mais de três SNF e os dois outros grupos: aquele em que foi colhido apenas um SNF (Fisher, $p=0,023$) e aquele em que foram colhidos de 2 a 3 SNF (Fisher, $p=0,025$).

Tabela 6. Número de episódios de presença ou ausência de SARO nos pacientes com SIDA acompanhados nas unidades de LD e MI no período de dezembro de 1993 a dezembro de 1995, de acordo com o número de SNF colhido por paciente

No. de SNF por paciente	1		2-3		>3	
	LD	MI	LD	MI	LD	MI
Ausente	14	24	19	13	45	1
Presente	3	7	3	3	58	4
Total	17	31	22	16	103	5

Comparando-se os episódios positivos identificados nos pacientes do LD e MI, observa-se que não houve diferença entre os achados destas duas unidades como um todo. Examinando separadamente de acordo com o número de SNF coletados por paciente, não houve diferença na detecção de SARO entre as unidades quando foi coletado apenas um SNF por paciente (Fisher, $p=1,0$) e quando foram colhidos de 2 a 3 SNF por paciente (Fisher, $p=0,68$). Entretanto, houve diferença entre os episódios detectados nas duas unidades apenas quando comparados os grupos de pacientes do LD e MI em que foram coletados mais de três SNF por paciente (Fisher, $p=0,36$).

4.2. Segunda etapa: análise cromossômica por PFGE dos SARO isolados em pacientes em tratamento no LD E MI

A partir do estabelecimento do banco de bactérias multi-resistentes do HC/UNICAMP foi possível selecionar um grupo de 60 cepas provenientes de 33 pacientes para análise cromossômica através de PFGE. Os isolados são originários de pacientes com SIDA tanto do LD como do MI. Foram também incluídos 15 cepas de SARO de pacientes sem infecção pelo HIV e que se encontravam internados na enfermaria de MI no período de maio de 1995 a março de 1996. Os espécimens foram coletados de localizações topográficas diversas (TABELA 7, ANEXO 4).

Para fins de controle da técnica empregada incluíram-se três cepas de SARO isolados de paciente sem infecção pelo HIV internados em outras unidades do HC/UNICAMP, a saber: *swab* nasal e *swab* de inserção de

cateter provenientes de dois pacientes internados na enfermaria de pneumologia e secreção traqueal proveniente de paciente internada na enfermaria de emergência clínica. Foram incluídas também duas cepas de *S. aureus* sensíveis à oxacilina isolados de pacientes sem infecção pelo HIV e internados no HC/UNICAMP, a saber: secreção traqueal proveniente de uma paciente internada na enfermaria de MI; líquido proveniente de uma paciente com infecção comunitária admitida na enfermaria de pediatria (ANEXO 4).

TABELA 7. Espécimens de SARO utilizados para análise cromossômica por PFGE provenientes de pacientes com/sem SIDA atendidos no LD e MI no período de maio de 1995 a fevereiro de 1996.

Espécimen	LD	MI	MI	Total de espécimens
	SIDA	SIDA	não SIDA	
Abscesso	2	0	0	2
Biópsia de pele	1	0	0	1
Líquido sinovial	0	0	2	2
Ponta de cateter	1	1	0	2
Sangue	2	0	0	2
Secreções de pele	4	0	7	11
Swab anal	0	1	0	1
Swab de amígdala	1	0	0	1
Swab de inserção de cateter	0	0	1	1
Swab de inserção de dreno	1	0	0	1
Swab de orofaringe	3	0	0	3
Swab nasal	26	2	5	33
Total	41	4	15	60

4.2.1. Padrão de susceptibilidade a antimicrobianos

Os padrões de susceptibilidade encontrados estão apresentados na TABELA 8. Todas as cepas analisadas foram resistentes aos seguintes antimicrobianos: ampicilina, cefalotina, eritromicina, oxacilina, penicilina, tobramicina e amicacina. A amicacina apresentou apenas um caso de sensibilidade intermediária (ANEXO 5).

TABELA 8.: Padrão de susceptibilidade a antimicrobianos de 60 cepas de SARO provenientes de pacientes em tratamento no LD e MI no período de maio de 1995 a fevereiro de 1996

Padrão	Sensibilidade	Nº de espécimens
1	Vancomicina e netilmicina	30
2	Vancomicina, netilmicina e cloranfenicol	10
3	Vancomicina e intermediário a netilmicina	6
4	Vancomicina	4
5	Vancomicina, cloranfenicol e intermediário a netilmicina	3
6	Vancomicina, netilmicina, cloranfenicol e clindamicina	2
7	Vancomicina e intermediário a netilmicina e cloranfenicol	1
8	Vancomicina e sulfametoxazol + trimetropina	1
9	Vancomicina, netilmicina e gentamicina	1
10	Vancomicina, netilmicina e intermediário a amicacina	1
11	Vancomicina, tetraciclina e clindamicina	1

A sensibilidade à vancomicina ocorreu em todas as amostras e aos demais antibacterianos foi variável, de acordo com a TABELA 9.

TABELA 9.: Sensibilidade aos antimicrobianos testados de 60 cepas de SARO provenientes de pacientes em tratamento no LD e MI no período de maio de 1995 a fevereiro de 1996

Antimicrobiano	Nº de cepas sensíveis (%)
Vancomicina	60 (100,00)
Netilmicina	44 (73,33)
Cloranfenicol	14 (23,33)
Clindamicina	3 (5,00)
Gentamicina, sulfametoxazol + trimetropina, tetraciclina	1 (1,66)
Ampicilina, cefalotina, eritromicina, oxacilina, penicilina, tobramicina, amicacina	0 (0,00)

4.2.2. Análise do perfil cromossômico através de PFGE

O estudo do DNA cromossômico por PFGE identificou 7 padrões. O padrão "A", presente em 52 (86,66%) das 60 cepas estudadas foi o mais freqüentemente encontrado (FIGURA 1). Este padrão apresenta 4 bandas bem definidas aproximadamente entre 436.5 Kb e 291.0 Kb. Próximo a 194.0 Kb forma-se um conjunto pouco definido de mais 4 bandas, sendo que em eletroforeses repetidas as cepas apresentaram este conjunto de bandas ora juntas, ora separadas em grupos de duas. Com peso semelhante ou menor de 97.0 Kb apresenta-se um aglomerado de bandas de pouca definição.

Os padrões "A1" a "E" foram distribuídos entre as demais (8 cepas), conforme demonstrado na TABELA 10. Estes padrões encontram-se identificados nas FIGURAS 1 e 2.

TABELA 10.: Distribuição das cepas de SARO de acordo com o padrão genômico identificado por PFGE

Padrão	Nº de cepas
A	52
A ¹	3
A ²	1
B	1
C	1
D	1
E	1
Total	60

Os perfis genômicos detectados distribuíram-se de modo semelhante na enfermaria de MI e no LD, sendo que o perfil “A” esteve presente tanto em isolados provenientes de pacientes com SIDA como de pacientes sem SIDA. Os demais perfis (“A¹” a “E”) apresentam um padrão aleatório de distribuição, devendo-se observar que o perfil “A¹” foi identificado em três espécimens provenientes da mesma paciente(TABELA 11).

Não houve diferença significativa com relação ao achado do padrão “A” em cepas de pacientes com ou sem SIDA ($p=0,38$). O padrão “A” foi também observado na cepa controle de SARO proveniente de paciente internado na enfermaria de Pneumologia. As demais cepas-controle apresentaram padrão genômico diferentes das cepas do presente estudo (ANEXO 4).

TABELA 11.: Distribuição dos diferentes perfis genômicos das cepas de SARO isoladas de pacientes com/sem SIDA em tratamento no LD e MI no período de 1995 a fevereiro de 1996.

Perfil genômico	LD	MI	
	SIDA	SIDA	não SIDA
A	38	2	12
A ¹	0	0	3
A ²	1	0	0
B	1	0	0
C	1	0	0
D	0	1	0
E	0	1	0
Total	41	4	15

* p= 0,38

Dentre as cepas analisadas por PFGE, algumas representaram isolados seqüenciais obtidos de um mesmo paciente, em datas diferentes. Apenas no caso de uma paciente (MAS) foram analisadas duas cepas de SARO coletadas na mesma data, porém provenientes de espécimens diferentes (swab de secreção e líquido sinovial) (ANEXO 4). A TABELA 12 demonstra o número de cepas analisadas por paciente. Em 14 pacientes foram feitas análises do perfil genômico em mais de uma cepa proveniente de um mesmo indivíduo. Em 11 casos o mesmo perfil genômico foi observado entre os isolados seqüenciais de pacientes.

TABELA 12. Número de cepas de SARO analisadas por paciente coletadas no período de maio de 1995 a fevereiro de 1996 no LD e MI

N ° de cepas/ paciente	N ° de pacientes
1	19
2	7
3	2
4	4
5	1

Entre os isolados seqüenciais de um mesmo paciente foram identificados mais de um perfil genômico em três casos (TABELA 13). Nos dois primeiros casos, a mudança de perfil genômico foi observada no isolado proveniente da última coleta realizada. Com relação a estes casos as diferenças entre a data da coleta da última cepa com padrão "A" e a cepa com padrão diferente foram respectivamente de 15 e 14 dias (FIGURA 3). O paciente LCL, com dois isolados seqüenciais, apresentou a cepa relacionada A² na coleta com data de 6 dias anterior à coleta do espécimen que apresentou padrão "A". (ANEXO 4)

TABELA 13.: Perfis genômicos detectados por PFGE em isolados seqüenciais de SARO isolados de pacientes acompanhados no LD e MI no período de maio de 1995 a fevereiro de 1996

Paciente	Nº de cepas analisadas	Perfis genômicos
AFM	4	A,A,A,B
FAP	5	A,A,A,A,C
LCL	2	A ² ,A

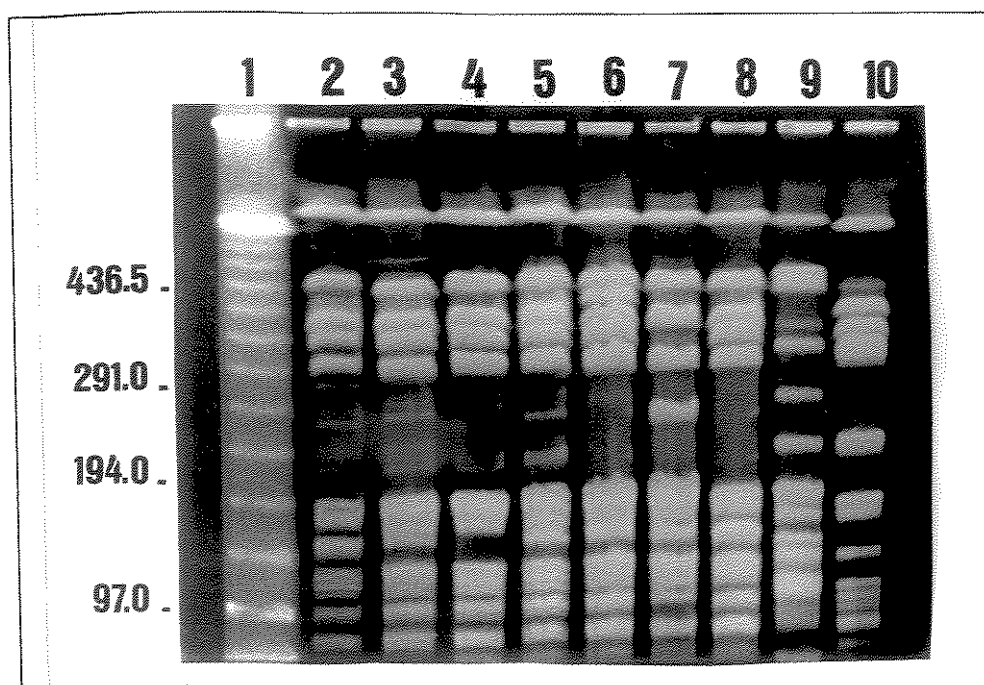


FIGURA 1: Perfis de DNA cromossômico de cepas de *S. aureus* digeridas por enzima de restrição *Sma*I e seguida de eletroforese em campo pulsátil (condições de corrida: 6volts/cm, tempo inicial: 5 segundos, tempo final: 35 segundos, 13,5°C durante 22 horas em agarose 1% em TBE 0,5x).

Canaleta 1: marcador de peso molecular (λ Ladder, BioRad).

Canaletas 2, 3, 5 e 8: SARO isolados de pacientes com SIDA; padrão A.

Canaleta 4: SARO isolado de paciente sem SIDA; padrão A₁.

Canaleta 6: SARO isolado de paciente com SIDA; padrão A₂.

Canaleta 7: SARO isolado de paciente com SIDA; padrão B.

Canaleta 9: SARO isolado de paciente com SIDA; padrão C.

Canaleta 10: *S. aureus* sensível a oxacilina, isolado de paciente sem SIDA, internada na enfermaria de MI; padrão G.

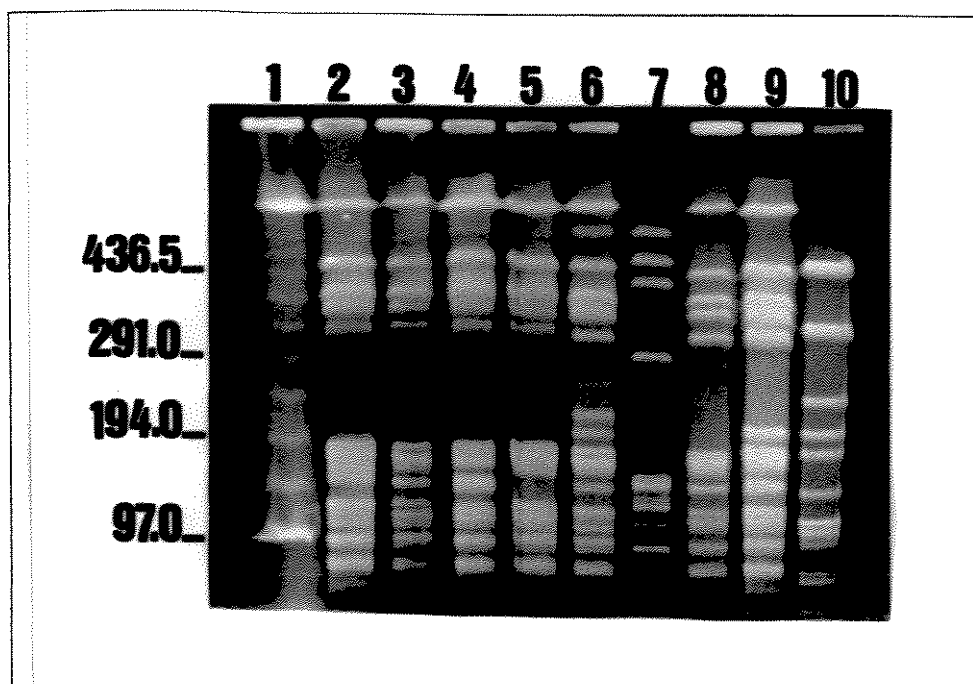


FIGURA 2: Perfis de DNA cromossômico de cepas de *S. aureus* digeridas por enzima de restrição *Sma*I e seguida de eletroforese em campo pulsátil (condições de corrida: 6volts/cm, tempo inicial: 5 segundos, tempo final: 35 segundos, 13,5°C durante 22 horas em agarose 1% em TBE 0,5x).

Canaleta 1: marcador de peso molecular (λ Ladder, BioRad).

Canaletas 2, 3 e 4: SARO isolado de paciente com SIDA; padrão A.

Canaleta 5: SARO isolado de paciente sem SIDA; padrão A₁.

Canaleta 6: SARO isolado de paciente com SIDA; padrão D.

Canaleta 7: SARO isolado de paciente com SIDA; padrão E.

Canaleta 8: SARO isolado de paciente sem SIDA internado na enfermaria de Pneumologia; padrão A.

Canaleta 9: SARO isolado de paciente sem SIDA internado na enfermaria de Pneumologia; padrão I.

Canaleta 10: *S. aureus* sensível a oxacilina de origem comunitária isolado de paciente internada na enfermaria de pediatria, padrão H.

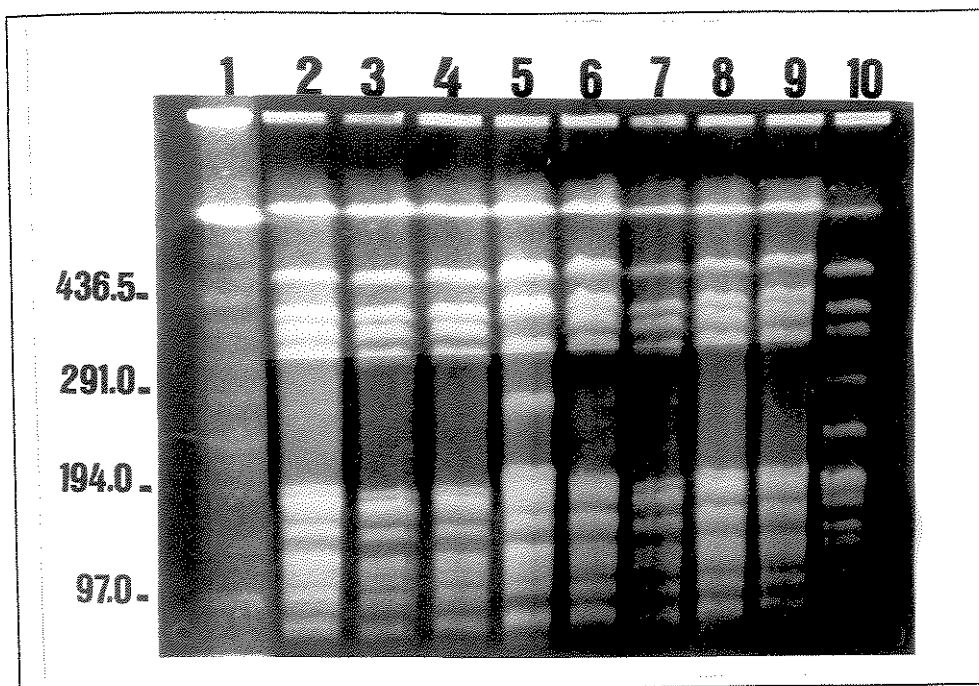


FIGURA 3: Perfis de DNA cromossômico de cepas de *S. aureus* digeridas por enzima de restrição *Sma*I e seguida de corrida eletroforética em campo pulsátil (condições de corrida: 6volts/cm, tempo inicial: 5 segundos, tempo final: 35 segundos, 13,5°C durante 22 horas em agarose 1% em TBE 0,5x).

Canaleta 1: marcador de peso molecular (λ Ladder, BioRad).

Canaletas 2, 3 e 4: SARO isolado do paciente AFM; padrão A.

Canaleta 5: SARO isolado do paciente AFM; padrão B

Canaletas 6,7,8 e 9: SARO isolado do paciente FAP; padrão A.

Canaleta 10: SARO isolado do paciente FAP; padrão C.

5. DISCUSSÃO

O *S. aureus* é um importante agente de infecções hospitalares e cepas resistentes aos antimicrobianos têm sido responsáveis por surtos e endemias em muitos hospitais, motivando diversos estudos com o objetivo de reduzir a sua disseminação (BARON e cols., 1992; BOYCE, 1992; BOYCE, 1991b; CHAMBERS, 1991; DUCKWORTH, 1990; FAZAL e cols., 1996; GOLDMANN e cols., 1996; GUIGUET e cols., 1990; JERNIGAN e cols., 1996; LAYTON e cols., 1993; LAYTON, HIERHOLZER e PATTERSON, 1995; MULLIGAN e cols., 1993; RICHET e cols., 1996; ROSDAHL e KNUDSEN, 1991). Embora alguns serviços tenham relatado situação de controle ou mesmo de decréscimo do SARO, este agente ainda continua sendo objeto de atenção e estudos (ADEYEMI-DORO e cols., 1997; ROSDAHL e KNUDSEN, 1991; VANDENBROUCKE-GRAULS, 1996).

O reconhecimento de pacientes que apresentam fatores de risco para a aquisição de germes resistentes pode indicar uma diretriz em relação às medidas de prevenção e controle da disseminação destes agentes. A importância do *S. aureus* é particularmente acentuada no grupo de pacientes portadores de infecção pelo HIV.

No grupo de pacientes com SIDA é usual a condição de portador nasal de *S. aureus*, entretanto, os fatores que determinam tal tendência não foram, até o momento, precisamente definidos pelos pesquisadores (RAVIGLIONE e cols., 1990; CRAVEN, 1996). ALONSO e cols. (1997)

descreveram um surto de *S. aureus* resistente ao cotrimoxazol e à oxacilina em uma unidade de pacientes infectados pelo HIV. Contudo, a incidência de SARO especificamente nos pacientes com SIDA tem sido pouco estudada até o momento.

A alta incidência de SARO observada no presente estudo nos pacientes com SIDA acompanhados no Leito-Dia e enfermaria de MI pode ser atribuída a diversos fatores: intrínsecos da doença de base; relativos à exposição continuada ao ambiente hospitalar, em consequência da doença de base; relativos ao hospital em questão e, a associação complexa destes fatores.

Estas considerações demonstram a necessidade de maiores estudos capazes de definir claramente quais os aspectos determinantes na aquisição de cepas de SARO nestas unidades, a fim de direcionar medidas de controle deste agente. Embora o estudo das infecções causadas por SARO em pacientes infectados pelo HIV não tenham sido o objeto direto deste estudo, ressalta-se que o SARO é um importante causador de infecções neste grupo de pacientes e a colonização nasal prévia é associada com infecções por este agente (MULLIGAN e cols., 1993; GOETZ e cols. 1994; HIRSCHHORN, STEGER e CRAVEN, 1996).

A presença de SARO em pacientes com SIDA internados no MI e que não estiveram em tratamento no LD, sugere que esta unidade tem a sua própria epidemiologia de SARO e que esta não é exclusivamente ligada aos pacientes oriundos do LD. Há que se considerar, entretanto, que a

internação freqüente de pacientes do LD na enfermaria de MI fornece um intercâmbio persistente deste microrganismo entre as unidades, expondo mais estes pacientes que, colonizados, são potencialmente fontes de infecção por SARO. A unidade de LD pode não ser o determinante exclusivo da presença do SARO no MI, mas deve contribuir de maneira importante para a manutenção dos números de incidência deste agente nesta unidade.

BOYCE (1992) considera os pacientes colonizados e infectados como principal reservatório de SARO nos hospitais. Pacientes colonizados no momento da readmissão podem representar 20 a 30% de todos os casos presentes num hospital num determinado período de tempo. Assim torna-se importante conhecer quais são estes pacientes e o quanto podem representar na epidemiologia hospitalar do SARO.

O SARO esteve presente em maior número de SNF positivos do que o *S. aureus* sensível a oxacilina no período estudado. A manutenção de números semelhantes de SNF positivos para SARO ao longo dos dois anos estudados indica a definição de um problema persistente e de difícil controle, levando-se em conta que as medidas preconizadas pela CCIH já se encontravam em vigência no período deste estudo. Estes dados confirmam os de outros autores indicando que uma vez o SARO altamente endêmico torna-se difícil controlar a sua disseminação (BOYCE e cols., 1994). Estudos devem ser continuados no sentido de avaliar especificamente a contribuição das culturas rotineiras de vigilância na possível redução do SARO nestas unidades nos anos subseqüentes. No

caso do LD, onde a vigilância epidemiológica das infecções hospitalares é complexa em função das características de atendimento na unidade, a pesquisa rotineira de colonização por SARO pode contribuir para identificar os eventuais portadores deste germe e para a aplicação das medidas de controle.

Algumas medidas de controle, atualmente aplicáveis a pacientes agudos internados, podem não ser factíveis ou desejáveis no caso de pacientes crônicos em regime semi-ambulatorial. A indicação do uso da mupirocina, por exemplo, requer avaliação da sua eficácia neste grupo de pacientes (NEU, 1990).

Devido às características peculiares do grupo de pacientes estudados, não foi possível fazer o acompanhamento com coletas superiores a 3 SNF em todos os pacientes e houve grande variação no tempo de seguimento de cada paciente. No caso dos 18 pacientes que apresentaram isolado único de SARO, caso os mesmos pudessem ter sido acompanhados por um período de tempo maior, estes episódios estariam situados nas categorias de colonização transitória ou persistente. Este fato poderia modificar os dados obtidos neste trabalho em que não houve diferença entre o número de episódios de colonização transitória e persistente.

A análise do número de SNF coletado por paciente sugere que à medida em que aumenta-se o número de espécimens coletados há consequente aumento na detecção do SARO. Como o tempo de internação é um fator limitante para o seguimento dos pacientes no MI, foi possível

acompanhar apenas quatro pacientes com mais de 3 SNF nesta unidade durante o período estudado. Mesmo assim uma análise comparativa preliminar identificou diferença na detecção de SARO entre as duas unidades quando se consegue coletar mais de 3 SNF por paciente, sugerindo que este seja o número mínimo de espécimens a serem colhidos para estudo epidemiológico de grupos de pacientes expostos à colonização por SARO.

A similaridade nos achados das categorias de colonização transitória e persistente aponta para a necessidade de realização de estudos sobre esta aquisição diferenciada de SARO por pacientes com a mesma doença de base e expostos ao mesmo ambiente hospitalar.

O aparecimento de cepas de microrganismos resistentes a antimicrobianos é preocupante principalmente do ponto de vista terapêutico. Desde que houve a emergência dos SARO resistentes simultaneamente a diversos outros antimicrobianos, a vancomicina tem sido a droga de escolha e comumente o único antibacteriano disponível para o tratamento das infecções graves por SARO e outros agentes Gram-positivos. Entretanto, após mais de 30 anos do uso de vancomicina, a resistência a este antimicrobiano tem sido relatada em isolados clínicos de *Staphylococcus* coagulase-negativo e enterococo, em cepas detectadas no Japão e Estados Unidos (HIRAMATSU, 1997; HIRAMATSU e cols., 1997; TABAQCHALI, 1997).

Na década de 1980 foram identificadas cepas de *Enterococcus* sp resistentes à vancomicina associadas com genes *vanA* ou *vanB*. Pesquisas avaliando a transferência experimental de genes *vanA* para *S. aureus* sugerem a possibilidade da aquisição deste gene *in vivo* por este organismo. No ano de 1996, no Japão, foi detectada uma cepa de *S. aureus* com sensibilidade reduzida a vancomicina. Entretanto, não houve detecção dos genes *vanA* ou *vanB* pelo método de PCR e o mecanismo desta susceptibilidade reduzida encontra-se em investigação (HIRAMATSU, 1997; HIRAMATSU e cols., 1997). No ano de 1997, o CDC publicou recomendações para a prevenção e o controle das infecções estafilocócicas associadas à susceptibilidade reduzida à vancomicina (CDC, 1997). Estes fenômenos enfatizam a importância do conhecimento da situação epidemiológica das infecções e colonizações por SARO, através da análise de incidência, fatores de risco, padrão de susceptibilidade a antimicrobianos e padrão de transmissibilidade deste agente.

Conforme já observado por outros autores, a resistência à oxacilina vem acompanhada da resistência para diversos outros antibióticos (GUIGUET e cols., 1990; BOYCE e cols., 1994; LAYTON, HIERHOLZER e PATTERSON, 1995; LEE e cols., 1996; JORGENSEN e cols., 1996). Neste trabalho observou-se grande número de cepas de SARO resistentes aos antibióticos testados. Entre os aminoglicosídeos, a netilmicina foi o que apresentou melhor perfil de sensibilidade. No entanto, esta opção terapêutica é raramente considerada para o tratamento das infecções por *S. aureus*. Diferente dos dados de JORGENSEN e cols. (1996) que

Na década de 1980 foram identificadas cepas de *Enterococcus* sp resistentes à vancomicina associadas com genes *vanA* ou *vanB*. Pesquisas avaliando a transferência experimental de genes *vanA* para *S. aureus* sugerem a possibilidade da aquisição deste gene *in vivo* por este organismo. No ano de 1996, no Japão, foi detectada uma cepa de *S. aureus* com sensibilidade reduzida a vancomicina. Entretanto, não houve detecção dos genes *vanA* ou *vanB* pelo método de PCR e o mecanismo desta susceptibilidade reduzida encontra-se em investigação (HIRAMATSU, 1997; HIRAMATSU e cols., 1997). No ano de 1997, o CDC publicou recomendações para a prevenção e o controle das infecções estafilocócicas associadas à susceptibilidade reduzida à vancomicina (CDC, 1997). Estes fenômenos enfatizam a importância do conhecimento da situação epidemiológica das infecções e colonizações por SARO, através da análise de incidência, fatores de risco, padrão de susceptibilidade a antimicrobianos e padrão de transmissibilidade deste agente.

Conforme já observado por outros autores, a resistência à oxacilina vem acompanhada da resistência para diversos outros antibióticos (GUIGUET e cols., 1990; BOYCE e cols., 1994; LAYTON, HIERHOLZER e PATTERSON, 1995; LEE e cols., 1996; JORGENSEN e cols., 1996). Neste trabalho observou-se grande número de cepas de SARO resistentes aos antibióticos testados. Entre os aminoglicosídeos, a netilmicina foi o que apresentou melhor perfil de sensibilidade. No entanto, esta opção terapêutica é raramente considerada para o tratamento das infecções por *S. aureus*. Diferente dos dados de JORGENSEN e cols. (1996) que

avaliação da eficácia de medidas de intervenção para o controle de endemias e surtos (HARTSTEIN e cols., 1995b.)

No presente estudo, a aquisição e transmissão nosocomial foi confirmada pelo achado maciço de um mesmo perfil genômico. Esta transmissão ocorreu tanto entre os pacientes de cada unidade individualmente, como entre as duas unidades. Os dados deste estudo sugerem a possibilidade de que na enfermaria de MI os pacientes sem infecção pelo HIV podem ser igualmente colonizados por cepas hospitalares de SARO. No entanto, seria necessário um maior número de casos avaliados para se ter a real dimensão deste problema nos pacientes HIV-negativos.

A mudança no perfil genômico do SARO em três pacientes com isolados seqüenciais indica a aquisição de um novo clone. Entretanto, estes indivíduos não puderam ser seguidos posteriormente para avaliação da manutenção dos diferentes padrões genotípicos. Dois dentre estes pacientes apresentaram diferença de aproximadamente 15 dias entre a data da última coleta onde foi identificada a cepa com padrão "A" e a data da coleta da cepa onde foi identificado um padrão diferente. No caso do terceiro paciente, com a cepa relacionada A², a diferença foi de apenas 6 dias (ANEXO 3). HARTSTEIN e cols. (1995a) utilizando PFGE analisaram 39 grupos de múltiplos isolados bacterianos de mesmo paciente em unidade de terapia intensiva e no caso do *S. aureus* foi observado padrões genômicos diferentes em isolados colhidos de um mesmo paciente. MASLOW e cols. (1995) observaram que, na maioria dos pacientes colonizados em que o SARO foi repetidamente identificado

durante longos períodos de tempo, houve determinação de diferentes padrões genômicos destas cepas obtidas. Em alguns casos ocorreu a recorrência do perfil genômico inicial. Esse fato pode ser devido tanto à recolonização do paciente do paciente como à reemergência da primeira cepa no panorama endêmico hospitalar.

Uma vez que o mesmo perfil genômico foi encontrado nas cepas provenientes de pacientes do LD e MI pode-se considerar estes grupos de pacientes como reservatórios de SARO. Desta forma, as medidas de vigilância epidemiológica para o controle de SARO necessitam ser aplicadas nas duas unidades.

Pode-se traçar um paralelo entre os pacientes do LD, em tratamento semi-ambulatorial, e pacientes oriundos de clínicas de atendimento a pacientes crônicos. Diversos autores têm referido a preocupação com a reintrodução do SARO em unidades de tratamento agudo através da admissão de pacientes crônicos atendidos nessas unidades com alta prevalência deste germe (CEDERNA e cols., 1990, NICOLLE, STRAUSBAUG e GARIBALDI, 1990; BOYCE, 1992; BOYCE e cols., 1994; STRAUSBAUGH e cols., 1996). Nestes casos, alguns autores recomendam a vigilância bacteriológica à admissão do paciente no hospital, entre outras medidas (CEDERNA e cols., 1990; BOYCE e cols., 1994).

BOYCE e cols. (1994) consideraram que cada hospital deve estabelecer sua própria estratégia de controle dos SARO baseada no conhecimento de

sua epidemiologia, incluindo-se a prevalência dos SARO em outras instituições que encaminham pacientes para internação nestes serviços. Estes autores recomendam cautela quanto às terapêuticas de descontaminação prévia à admissão em clínicas de atendimento a pacientes crônicos, o que pode ser dispendioso, consumir tempo e provocar efeitos adversos. Estes pacientes crônicos têm tendência menor para desenvolver infecção (5-15%) em comparação com pacientes agudos hospitalizados (30-60%), porém podem agir como reservatório de SARO. STRAUSBAUGH e cols. (1996) não recomendam culturas previamente à transferência de pacientes hospitalizados para unidades de cuidados crônicos. Entretanto, recomendam a vigilância rotineira de patógenos resistentes a antimicrobianos através de revisão periódica de dados microbiológicos objetivando o conhecimento do perfil de resistência nestas unidades. Estas informações devem direcionar medidas de controle e podem ser utilizadas com objetivos educacionais no estímulo à prevenção da transmissão e à racionalização do uso de antimicrobianos pela equipe de saúde.

Concluindo, os pacientes com SIDA avaliados neste estudo, apresentaram alta incidência de SARO em colonização nasal. Não houve diferença entre o número de episódios de colonização transitória e persistente. A predominância de um único padrão ("A") detectado por PFGE sugere maciça disseminação intra-hospitalar deste agente. Esta disseminação também atingiu pacientes sem SIDA. Culturas rotineiras de vigilância na unidade de Leito-Dia podem ser um recurso valioso no controle da disseminação deste agente na enfermaria de Moléstias

Infecciosas dada a frequência com que estes pacientes são admitidos para internação nesta unidade.

Assim, considerando os resultados obtidos neste estudo é recomendável que medidas de controle aplicadas à enfermagem de MI considerem o envolvimento dos pacientes atendidos no LD como potencial reservatório de SARO.

6. CONCLUSÕES

O presente estudo detectou alta incidência de SARO nos pacientes com SIDA em tratamento no LD e na enfermaria de MI. A incidência de SARO no período estudado foi maior do que a de *S.aureus* sensível à oxacilina.

Foi observado o mesmo número de episódios de colonização nasal por SARO nas categorias de colonização transitória e persistente.

No grupo de pacientes acompanhados houve diferença na detecção de SARO quando foram colhidos mais do que três *swabs* de narina anterior por paciente, indicando que este seja o número mínimo de coletas para seguimento em trabalhos futuros.

O perfil genômico “A” foi predominante nos espécimens de SARO analisados por PFGE independente da presença ou não de infecção pelo HIV e da unidade de atendimento dos pacientes. A identificação do mesmo perfil “A” entre as cepas de SARO das duas unidades sugere transmissão cruzada.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADEYEMI-DORO, F.A.B.; SCHEEL, O.; LYON, D.J.; CHENG, A.F.B. Living with Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: a 7-Year Experience with Endemic MRSA in a University Hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 18(11): 765-767, 1997.
- AKRAM, J.; GLATT, A.E. True Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Bacteremia. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 19(2): 106-107, 1998.
- ALONSO, R.; PADILLA, B.; SANCHEZ-CARRILLO, C.; MUÑOZ, P.; RODRIGUEZ-CREIXEMS, M.; BOUZA, E. Outbreak Among HIV-Infected Patients of *Staphylococcus aureus* Resistant to Cotrimoxazole e Methicillin. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 18(9): 617-621, 1997.
- ASENSIO, A; GUERRERO, A.; QUEREDA, C.; LIZÁN, M.; MARTINEZ-FERRER, M. Colonization and Infection with Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Associated Factors and Eradication. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 17(1): 20-28, 1996.
- BACK, N.A.; LINNEMANN, C.C.; STANECK, J.L.; KOTAGAL, U.R. Control of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in a Neonatal Intensive-Care Unit: Use of Intensive Microbiologic Surveillance and Mupirocin. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 17 (4): 227-231, 1996.
- BANNERMAN, T.L; HANCOCK, G.A.; TENOVER, F.C.; MILLER, J.M. Pulsed-Field Gel Electrophoresis as a Replacement for Bacteriophage

- Typing of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol*, 33(3):551-555, 1995.
- BARG, N.L. Environmental Contamination with *Staphylococcus aureus* and Outbreaks: the Cause or the Effect? *Infect Control Hosp Epidemiol*, 14 (7): 367-368, 1993.
- BARON, E. J. The Detection, Significance, and Rationale for Control of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol News*, 14 (17): 129-133, 1992.
- BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J.C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol*, 45: 493-496, 1966.
- BLANC, D.S.; PETIGNAT, C.; MOREILLON, P.; WENGER, A.; BILLE, J.; FRANCIOLI, P. Quantitative Antibigram as a Typing Method for the Prospective Epidemiological Surveillance and Control of MRSA: Comparison with Molecular Typing. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 17(10):654-659, 1996.
- BOYCE, J.M. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Hospitals and Long-Term Care Facilities: Microbiology, Epidemiology, and Preventive Measures. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 13 (12), 725-737, 1992.
- BOYCE, J.M. Patterns of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Prevalence. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 12 (2): 79-82, 1991a.
- BOYCE, J.M. Should We Vigorously Try to Contain and Control Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*? *Infect Control Hosp Epidemiol*, 12 (1): 46-54, 1991b.

- BOYCE, J.M. Treatment and Control of Colonization in the Prevention of Nosocomial Infections. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 17(4): 256-261, 1996.
- BOYCE, J.M.; JACKSON, M.M.; PUGLIESE, G.; BATT, M.D.; FLEMING, D.; GARNERNER, J.S.; HARTSTEIN, A.L.; KAUFFMAN, C.A.; SIMMONS, M.; WINSTEIN, R.; WILLIAMS, C.O. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): a Briefing for Acute Care Hospitals and Nursing Facilities. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 15(2): 105-1115, 1994.
- BOYCE, J.M.; POTTER-BYNOE, G.; CHENEVERT, C.; KING, T. Environmental Contamination Due to Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Possible Infection Control Implications. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 18(9): 622-627, 1997.
- BOYD, R. F. The Gram-positive Cocci. In: _____, *Basic Med Microbiol*, 5a. ed. Boston, Little, Brown and Company, 1995. cap. 17. p. 246-262.
- BRANCHINI, M.L.M.; MORTHLAND, V.H.; TRESOLDI, A.T.; NOWAKONSKY, A.V., DIAS, M.B.S.D.; PFALLER, M.A. Application of Genomic DNA Subtyping by Pulsed-Field Gel Electrophoresis and Restriction Enzyme Analysis of Plasmid DNA to Characterize Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* from Two Nosocomial Outbreaks. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 17: 275-281, 1993.
- CANNON, N.J.; COBBS, E.G. Infective endocarditis in drug addicts. In: KAYEK (ed): *Infective Endocarditis*. Baltimore, University Park Press, 1976. p. 11-127.

- CARLES-NURIT, M.J. et al. DNA polymorphisms in methicillin-susceptible and methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol*, 30: 2092-2096, 1992.
- CDC. CENTERS for DISEASE CONTROL and PREVENTION. Current trends: Classification System for Human T- Lymphotropic Virus Type III/Lymphadenopathy Associate Virus Infections. *MMWR*, 35 (20):334-339, 1986.
- CDC. CENTERS for DISEASE CONTROL and PREVENTION. Interim Guidelines for Prevention and Control of Staphylococcal Infection Associated with Reduced Susceptibility to Vancomycin. *MMWR*, 46(27): 626- 635, 1997.
- CEDERNA, J.E.; TERPENNING, M.; ENSBERG, M.; BRADLEY, S.F.; KAUFFMAN, C.A. *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization in a Nursing Home: Eradication with Mupirocin. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 11 (1): 13-16, 1990.
- CHAMBERS, H.F. Treatment of Infection and Colonization Caused by Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 12 (12): 29-35, 1991.
- CHAMBERS, H.F. Methicillin Resistance in Staphylococci: Molecular and Biochemical Basis and Clinical Implications. *Clin Microbiol Rev*, 10(4):781-791, 1997.
- CHAMBERS, H.F.; SACHDEVA, M. Binding of β -Lactam Antibiotics to Penicillin-Binding Proteins in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *J Infect Dis*, 161: 1170-1176, 1990.

- COOKSON, B.; PETERS, B.; WEBSTER, M.; PHILLIPS, I.; RAHMAN, M.; NOBLE, W. Staff Carriage of Epidemic Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol*, 27 (7): 1471-1476, 1989.
- CRAVEN, D.E.; STEGER, K.A.; HIRSCHHORN, L.R. Nosocomial Colonization and Infection in Persons Infected with Human Immunodeficiency Virus. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 17 (5): 304-318, 1996.
- CRUZ, E.D.A.; PERUZZO, S.; BRAGAGNOLO, K.L.; CASTRO, M.E.; STIER, C.L.; MARTINS, L.T.F. Análise das Infecções Hospitalares por MRSA num Hospital Universitário num Período de 2 anos. In: V Congresso Brasileiro de Controle de Infecção Hospitalar, 1996, Rio de Janeiro. Associação Brasileira de Profissionais em Controle de Infecções Hospitalares. *Abstract* 178, p. 86.
- DEGA, H.; ELIASZEWICK, M.; GISSELBRECHT, M.; FLEURY, J.; PIALOUX, G.; JANSSEN, B.; SAINT-MARTIN, L.; GONZALEZ-CANALI, G.; DUPONT, B. Infections Associated with Totally Implantable Venous Access Devices (TIVAD) in Human Immunodeficiency Virus-Infected Patients. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*, 13(2):146-154, 1996.
- DICE, L.R. Measures of the amount of ecological association between species. *Ecology*, 26: 297-302, 1945.
- DUCKWORTH, G.J. Revised Guidelines for the Control of Epidemic Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *J Hosp Infect*, 16: 351-377, 1990.
- ESPANHA, C.A.; FARIAS, A.M.S.; MARANGONI, D.V.; PESSOA DA SILVA, C.L. Vigilância de *Staphylococcus aureus* Resistente à Metilicilina

- (MRSA) em Pacientes de Risco ao Ingresso Hospitalar – Uma Medida Eficaz? In: *V Congresso Brasileiro de Controle de Infecção Hospitalar*, 1996, Rio de Janeiro. Associação Brasileira de Profissionais em Controle de Infecções Hospitalares. *Abstract* 167, p. 84.
- FAZAL, B.A.; TELZAK, E.E.; BLUM, S.; TURETT, G.S.; PETERSEN-FITZPATRICK, F.E.; LORIAN, V. Trends in the Prevalence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Associated with Discontinuation of an Isolation Policy. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 17 (6):372-374, 1996.
- FRANCIOLLI, M.; BILLE, J.; GLAUSER, M.P.; MOREILLON, P. β -Lactam Resistance Mechanisms of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *J Infect Dis*, 163 : 514-523, 1991.
- GARBES NETTO, P.G.; SOUZA-FILHO, A.P.; HIGA, A.Y.; SERRADAS, L.; SERRANO, L.A.; FERNANDES, C.S.G.; FUKUCHI, N. Controle Nosocomial da Colonização/Infecção pelo *Staphylococcus aureus* Resistentes a Oxalicilina. In: *V Congresso Brasileiro de Controle de Infecção Hospitalar*, 1996, Rio de Janeiro. Associação Brasileira de Profissionais em Controle de Infecções Hospitalares. *Abstract* 168, p. 84.
- GARNER, J.S. et al. CDC Definitions for Nosocomial Infections. *Am J Infect Control*, 16: 128-140, 1988.
- GOERING, R.V.; DVENSING, T.D. Rapid field inversion gel electrophoresis in combination with RNA gene probe in the epidemiological evaluation of *Staphylococci*. *J Clin Microbiol*, 28: 426-429, 1990.

- GOETZ, A.M.; MUDER, R.R. The Problem of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: a Critical Appraisal of the Efficacy of Infection Control Procedures with a Suggested Approach for Infection Control Programs. *Am J Infect Control*, 20 (2):80-84, 1992.
- GOETZ, A.M.; SQUIER, C.; WAGENER, M.M.; MUDER, R.R. Nosocomial Infections in the Human Immunodeficiency Virus-Infected Patient: A Two-Year Survey. *Am J Infect Control*, 22 (6): 334-339, 1994.
- GOETZ, B.M.; MULLIGAN, M.E.; KWOK, R.; O'BRIEN, H.; CABALLES, C.; GARCIA, J.P. Management and Epidemiologic Analyses of an Outbreak Due to Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Am J Med*, 92 : 607-614, 1992.
- GOLDMANN, D.A.; WEINSTEIN, R.A.; WENZEL, R.P.; TABLAN, O.C.; DUMA, R.J.; GAYNES, R.P.; SCHLOSSER, J.; MARTONE, W.J. Strategies to Prevent and Control the Emergence and Spread of Antimicrobial-Resistant Microorganisms in Hospitals. *JAMA*, 275 (3):234-140, 1996.
- GUIGUET, M.; REKACEWICZ, C.; LECLERCQ, B.; BRYN, Y.; ESCUDIER, B.; ANDREMONT, A. Effectiveness of Simple Measures to Control an Outbreak of Nosocomial Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections in an Intensive Care Unit. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 11(1): 23-26, 1990.
- HARTSTEIN, A.I.; CHETCHOTISAKD, P.; PHELPS, C.L.; LeMONTE, A.M. Typing of Sequential Bacterial Isolates by Pulsed-Field Gel Electrophoreis. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 22:309-314, 1995a.
- HARTSTEIN, A.I.; DENNY, M.A.; MORTHLAND, V.H.; LeMONTE, A.M.; PFALLER, M.A. Control of Methicillin-Resistant *Staphylococcus*

- aureus* in a Hospital and an Intensive Care Unit. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 16(7):405-411, 1995b.
- HARTSTEIN, A.I.; LeMONTE, A.M.; IWAMOTO, P.K.L. DNA typing and Control of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* at Two Affiliated Hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 18(1):42-48, 1997.
- HERSHOW, R.C.; KHAYR, W.F.; SMITH, N.L. A Comparison of Clinical Virulence of Nosocomially Acquired Methicillin-Resistant and Methicillin-Sensitive *Staphylococcus aureus* Infections in a University Hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 13 (10): 587-193, 1992.
- HIRAMATSU, K. Reduced Susceptibility of *Staphylococcus aureus* to Vancomycin - Japan, 1996. *Am J Infect Control*, 25(5): 405-408, 1997.
- HIRAMATSU, K.; ARITAKA, N.; HANAKI, H.; KAWASAKI, S.; HOSODA, Y.; HORI, S.; FUKUCHI, Y.; KOBAYASHI, I. Dissemination in Japanese Hospitals of Strains of *Staphylococcus aureus* Heterogeneously Resistant to Vancomycin. *Lancet*, 350(9092): 1670-1673, 1997.
- HIRSCHHORN, L.R.; STEGER, K.A.; CRAVEN, D.E. Nosocomial Infections in Adults Infected with Human Immunodeficiency Virus. In: MAYHALL, C.G. *Hospital Epidemiology and Infection Control*. Williams & Wilkins, Baltimore, 1996. Cap. 41. p. 593-610.
- HUANG, Y.; OIE, S; KAMIYA, A. Comparative effectiveness of hand-cleansing agents for removing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from experimentally contaminated fingertips. *Am J Infect Control*, 22 (4): 224-227, 1994.
- JACOBSON, M.A.; GELLERMAN, H.; CHAMBERS, H. *Staphylococcus aureus* Bacteremia and Recurrent Staphylococcal Infection in

- Patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome and AIDS-Related Complex. *Am J Med*, 85: 172-176, 1988.
- JARVIS, W.R. Usefulness of Molecular Epidemiology for Outbreak Investigations. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 15(17): 500-503, 1994.
- JARVIS, W.R.; MARTONE, W.J. Predominant Pathogens in Hospital Infections. *J Antimicrobial Chem*, 29 (A):19-24, 1992.
- JERNIGAN, J.A.; CLEMENCE, M.A.; STOTT, G.A.; TITUS, M.G.; ALEXANDER, C.H.; PALUMBO, C.M.; FARR, B.M. Control of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* at a University Hospital: One Decade Later. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 16 (12):686-696, 1995.
- JERNIGAN, J.A.; TITUS, M.G.; GRÖSCHEL, D.H.M.; GETCHELL-WHITE, S.I.; FARR, B.M. Effectiveness of Contact Isolation During a Hospital Outbreak of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Am J Epidemiol*, 143(5):496-504, 1996.
- JOHNSON, H.M.; RUSSELL, J.K.; PONTZER, CH. Superantigens in Human Disease. *Scientific Am*: 92-101, 1992.
- JORGENSEN, J.H. Mechanisms of Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus* and Methods for Laboratory Detection. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 12(1): 14-19, 1991.
- JORGENSEN, M.; GIVNEY, R.; PEGLER, M.; VICKERY, A.; FUNNELL, G. Typing Multidrug-Resistant *Staphylococcus aureus*: Conflicting Epidemiological Data Produced by Genotypic and Phenotypic Methods Clarified by Phylogenetic Analysis. *J Clin Microbiol*, 34(2): 398-403, 1996.

- JOSEPH, J.F.; RIBNER, B.S. Antibiotic Resistance in Long-Term Care Facilities. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 12:245-250, 1991.
- KLOSS, W.E.; LAMBE Jr, D.W. *Staphylococcus*. In: BALOWS, A.; HOUSTER, W.J.; HERMANN, I.H.D.; SHADOMY, H.J. (eds). *Manual of Clinical Microbiology*, 5th ed. American Society for Microbiology, Washington DC, 1991. p. 222-237.
- KOBAYASHI, H.; TSUZUKI, M.; HOSOBUCHI, K. Brief Report: Bactericidal Effects of Antiseptics and Disinfectants Against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 10 (12): 526-564, 1989.
- LAYTON, M.C.; HIERHOLZER, W.J.; PATTERSON, J.E. The Evolving Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* at a University Hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 16(1):12-17, 1995.
- LAYTON, M.C.; PEREZ, M.; HEALD, P.; PATTERSON, J.E. An Outbreak of Mupirocin-Resistant *Staphylococcus aureus* on a Dermatology Ward Associated with an Environmental Reservoir. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 14(7): 369-375, 1993.
- LEE, Y.L.; GUPTA, G.; CESARIO, T.; LEE, R.; NOTHVOGEL, S.; NASSAR, J.; FLIONIS, L.; THRUPP, L. Colonization by *Staphylococcus aureus* Resistant to Methicillin and Ciprofloxacin During 20 Month's Surveillance in a Private Skilled Nursing Facility. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 17(10): 649-653, 1996.
- LEVINE, D.P.; CUSHING, R.D.; JUI, J.; BROWN, W.J. Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Endocarditis in the Detroit Medical Center. *Ann Int Med*, 97(3):330-338, 1982.

- LORIAN, V. The Need for Surveillance for Antimicrobial Resistance. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 16(11): 638-641, 1995.
- MASLOW, J.N.; BRECHER, S.; GUNN, J.; DURBIN, A.; BARLOW, M.A.; ARBEIT, R.D. Variation and Persistence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains among Individual Patients Over Extended Periods of Time. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 14(4):282-290, 1995.
- MASLOW, J.N.; MULLIGAN, M.E. Epidemic Typing Systems. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 17(9):595-604, 1996.
- MUKAU, L.; TALAMINI, M.A.; SITZMANN, J.V.; BURNS, R.C.; McGUIRE, M.E. Long-Term Central Venous Access vs Other Home Therapies: Complications in Patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome. *J Parenter Enter Nutr*, 16(5):455-459, 1992.
- MULLIGAN, M.E.; ARBEIT, R.D. Epidemiologic and Clinical Utility of Typing System for Differentiating among Strains of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 12: 20-28, 1991.
- MULLIGAN, M.E.; MURRAY-LEISURE, K.A.; RIBNER, B.S.; STANDIFORD, H.C.; JOHN, J.F.; KORVICK, J.A.; KAUFFMAN, C.A.; YU, V.L. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: a Consensus Review of the Microbiology, Pathogenesis, and Epidemiology with Implications for Prevention and Management.. *Am J Med*, 94: 313-328, 1993.
- MULLIGAN, M.E.; RUANE, P.J.; JOHNSTON, L.; WONG, P.; WHEELOCK, J.P.; MacDONALD, K.; REINHARDT, J.F.; JOHNSON, C.C.; STATNER, B.; BLOMQUIST, I.; McCARTHY, J.; O'BRIEN, W.; GARNER, S.;

- HAMMER, L.; CITRON, D.M. Ciprofloxacin for Eradication of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Colonization. *Am J Med*, 82 (suppl A):215-219, 1987.
- NATH, S.K.; SHEA, B.; JACKSON, S.; ROTSTEIN, C. Ribotyping of Nosocomial Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates from a Canadian Hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 16(12):717-724, 1995.
- NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, Pa, E.U.A. *Approved Standard. M2-15*, 14(16), 1994.
- NEU, H.C. The Use of Mupirocin in Controlling Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 11(1):11-12, 1990.
- NICHOLS, L.; BALOGH, K.; SILVERMAN, M. Bacterial Infections in the Acquired Immune Deficiency Syndrome. *Am J Clin Pathol*, 92(6): 787-790, 1990.
- NICOLLE, L.E.; BHIALKOWSKA-HOBRZANSKA, H.; ROMANCE, L.; HARRY, V.S.; PARKER, S. Clonal Diversity of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in an Acute-Care Institution. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 13(1): 33-37, 1992.
- NICOLLE, L.E.; STRAUSBAUGH, L.F.; GARIBALDI, R.A. Infections and Antibiotic Resistance in Nursing Homes. *Clin Microbiol Rev*, 9(1):1-17, 1996.
- NOBLE, W.C. Antibiotic Resistance in the *Staphylococci*. *Science Progress*, 80(1):5-21, 1997.

- OPAL, S.M.; MAYER, K.H.; STENBERG, M.J.; BLAZEK, J.E.; MIKOLICH, D.J.; DICKENSHEETS, D.L.; LYHTE, L.W.; TRUDEL, R.R.; MUSSER, J.M. Frequent Acquisition of Multiple Strains of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* by Healthcare Workers in an Endemic Hospital Environment. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 11(9): 479-485, 1990.
- PANLILIO, A.L.; CULVER, D.H.; GAYNES, R.P.; BANERJEE, S.; HENDERSON, T.S.; TOLSON, J.S.; MARTONE, W.J. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in U.S. Hospitals, 1975-1991. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 13(10): 582-586, 1992.
- PFALLER, M.A. Typing methods for epidemiologic investigation. In: BALOWS, A; HOUSTER, W.J.; HERMANN, I.H.D; SHADOMY, H.J. (eds). *Manual of Clinical Microbiology*, 5th ed. American Society for Microbiology, Washington DC, 1991, p. 222-237.
- PUJOL, M.; PEÑA, C.; PALLARES, R.; ARIZA, J.; AYATS, J.; DOMINGUEZ, M.A.; GUDIOL, F. Nosocomial *Staphylococcus aureus* Bacteremia among Nasal Carriers of Methicillin-Resistant and Methicillin-Susceptible Strains. *Am J Med*, 100: 509-516, 1996.
- RAVIGLIONE, M.C.; MARIUZ, P.; PABLOS-MENDEZ, A.; BATTAN, R.; OTTUSO, P.; TARANTA, A. High *Staphylococcus aureus* Nasal Carriage Rate in Patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome or AIDS-Related Complex. *Am J Infect Control*, 18(2): 64-69, 1990.
- REBOLI, A.C.; JOHN, J.F.; PLATT, C.G.; CANTEY, J.R. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Outbreak at a Veterans' Affairs Medical Center: Importance of Carriage of the Organism by Hospital Personnel. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 11(6):291-296, 1990.

- RICHET, H.; WIESEL, M.; Le GALLOU, F.; ANDRÉ-RICHET, B.; ESPAZE, E. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Control in Hospital: The French Experience. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 17(8):509-514, 1996.
- ROSDHL, V.T.; KNUDSEN, A.M. The Decline of Methicillin-Resistance among Danish *Staphylococcus aureus* Strains. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 12(2):83-88, 1991.
- SADER, H.S.; PIGNATARI, A.C.; HOLLIS, R.J.; JONES, R.N. Evaluation of Interhospital Spread of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in São Paulo, Brazil, Using Pulse-Field Gel Electrophoresis of Chromosomal Dna. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 15(5): 320-323, 1994.
- SADER, H.S.; PIGNATARI, A.C.; HOLLIS, R.J.; JONES, R.N. Oxacillin and Quinolone-resistant *Staphylococcus aureus* in São Paulo, Brazil: a Multicenter Molecular Epidemiology Study. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 14: 260-264, 1993.
- SARAVOLATZ, L.D.; MARKOWITZ, N.; ARKING, L.; POHLOD, D.; FISHER, E. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* - Epidemiologic Observations During a Community-Acquired Outbreak. *An Int Med*, 96(1):11-16, 1982.
- SHOVEIN, J.; YOUNG, M.S. MRSA: Pandora's Box for Hospitals. *Am J Nurs*: 49-52, 1992.
- SKOUTELIS, A.T.; MURPHY, R.L.; MacDONELL, K.B.; VonROENN, J.H.; STERKEL, C.C.; PHAIR, J.P. Indwelling Central Venous Catheter Infections in Patients with Acquired Immune Deficiency Syndrome. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 39(4): 335-342, 1990.

- STRAUSBAUGH, L.J.; CROSSLEY, K.B.; NURSE, B.A.; THRUPP, L.R.
Antimicrobial Resistance in Long-Term-Care Facilities. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 17(2): 129-140, 1996.
- STROUD, L.; SRIVASTAVA, P.; CULVER, D.; BISNO, A.; RIMLAND, D.;
SIMBERKOFF, M.; ELDER, H.; FIERER, J.; MARTONE, W.; GAYNES,
R. Nosocomial Infections in HIV-infected Patients: Preliminary
Results from a Multicenter Surveillance System (1989-1995). *Infect
Control Hosp Epidemiol*, 18(7): 479-485, 1997.
- TABAQCHALI, S. Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus*:
Apocalypse Now? *Lancet*, 350(9092): 1644-1645, 1997.
- TENOVER, F.C.; ARBEIT, R.D.; GOERING, R.V.; How to Select and
Interpret Molecular Strain Typing Methods for Epidemiological Studies
of Bacterial Infections: A Review for Healthcare Epidemiologists.
Infect Control Hosp Epidemiol, 18(6): 4526-439, 1997.
- TENOVER, F.C.; ARBEIT, R.D.; GOERING, R.V.; MICKELSEN, P.A.;
MURRAY, B.E.; PERSING, D.H.; SWAMINATHAN, B. Interpreting
Chromosomal DNA Restriction Patterns Produces by Pulsed-Field Gel
Electrophoresis: Criteria for Bacterial Strain Typing. *J Clin Microbiol*,
33(9): 2233-2239, 1995.
- TRESOLDI, A.T.; BRANCHINI, M.L.M.; MOREIRA FILHO, D.C.;
PADOVEZE, M.C.; DANTAS, S.P.E.; REGINATO, L.; NOWAKONSKI,
A.; OLIVEIRA, U.M.; TRABASSO, P. Relative Frequency of
Nosocomial Microorganisms at UNICAMP University Hospital from
1987 to 1994. *Rev Inst Med Trop S. Paulo*, 39(6):333-336, 1997.
- TROILLET, N.; CARMELI, Y.; SAMORE, M.H.; DAKOS, J.;
EICHELBERGER, K.; De GIROLAMI, P.C.; KARCHMER, A.W.

- Carriage of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* at Hospital Admission. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 19(3): 181-185, 1998.
- VanBELKUM, A. van LEEUWN, W.; KLUYTMANS, J.; VERBRUGH, H.
Molecular Nosocomial Epidemiology: High Speed Typing of Microbial Pathogens by Arbitrary Primed Polymerase Chain Reaction Assays. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 16(11): 658-666, 1995.
- VANDENBROUCKE-GRAUS, C.M.J.E. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Control in Hospitals: The Dutch Experience. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 7(8):512-513, 1996.
- WARD, T.T. Comparison of in Vitro Adherence of Methicillin-Sensitive and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* to Human Nasal Epithelial Cells. *J Infect Dis*, 166:400-404, 1992.
- WENZEL, R.P. Epidemic: identification and management. In: _____. *Prevention and Control of Nosocomial Infections*. Williams e Wilkins, p. 91-108. 1987.
- WHIMBEY, E.; GOLD, J.W.M.; POLSKY, B.; DRYJANSKI, J.; HAWKINS, C.; BLEVINS, A.; BRANNON, P.; KIEHN, T.E.; BROWN, A.E.; ARMSTRONG, D. Bacteremia and Fungemia in Patients with the Acquired Immunodeficiency Syndrome. *Ann Int Med*, 104(4):511-514, 1986.
- WITT, D.J.; CRAVEN, D.E.; McCABE, W.R. Bacterial Infections in Adult Patients with the Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) and AIDS-Related Complex. *Am J Med*, 82:900-906, 1987.
- ZAFAR, A.B.; BUTLER, R.C.; REESE, D.J.; GAYDOS, L.A.; MENNONNA, P.A. Use of 0,3% Triclosan (Bacti-Stat*) to Eradicate an Outbreak of

Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in a Neonatal Nursery.

Am J Infect Control, 23(3): 200-208, 1995.

8. RESUMO

O *Staphylococcus aureus* é um importante agente etiológico de infecções hospitalares. Cepas de *S. aureus* resistentes à oxacilina (SARO) têm sido causadoras de surtos e endemias em hospitais, particularmente os de médio e grande porte e nos universitários. Diversas medidas de controle são empregadas com o objetivo de reduzir a disseminação deste agente dentro das unidades de saúde. Entretanto, uma vez o SARO estabelecendo-se como endêmico, sua erradicação é bastante difícil. O emprego de técnicas de discriminação através da análise do DNA de cepas causadoras de infecções hospitalares é um recurso valioso para confirmar a eficácia de medidas de controle de agentes de infecção hospitalar.

O SARO foi introduzido no Hospital das Clínicas da UNICAMP em 1990, tornando-se endêmico em diversas unidades, entre elas, a enfermaria de Moléstias Infecciosas (MI). A partir de 1993 foi aberta a unidade de Leito-Dia (LD) para atendimento semi-ambulatorial de pacientes portadores de Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (SIDA). Estes pacientes com frequência sofrem reinternações na enfermaria de MI e por este motivo questionou-se a importância deste grupo de pacientes na epidemiologia de SARO no hospital.

Este estudo objetivou estudar a incidência de colonização nasal por SARO nos pacientes com SIDA em tratamento na enfermaria de MI e LD. Foi analisado o perfil genômico de cepas de SARO responsáveis por

colonização e infecção dos pacientes em tratamento nestas duas unidades, utilizando-se a técnica de eletroforese de campo pulsátil - "Pulsed-Field Gel Electrophoresis" (PFGE).

Na primeira etapa deste trabalho, foram coletados semanalmente *swabs* de narina anterior (SNF) de 178 pacientes com SIDA no LD e MI de dezembro de 1993 a dezembro de 1995. O período de seguimento variou de 1 a 720 dias no LD (média: 141,3 dias) e de 1 a 270 dias no MI (média: 8,68 dias). Dentre os pacientes acompanhados, 62 (34,83%) apresentaram pelo menos uma cultura positiva para SARO.

Foram colhidos 1.239 SNF (média: 7 SNF por paciente), sendo estes: 1085 SNF negativos, 116 positivos para SARO e 38 positivos para *S. aureus* sensível à oxacilina. Foram observados 18 episódios de isolado único de SARO, nos casos de pacientes que não puderam ser seguidos posteriormente. Observaram-se 27 episódios de colonização transitória e 27 episódios de colonização persistente. Houve diferença significativa na detecção de SARO nos grupos de pacientes em foram colhidos mais que 3 SNF por paciente no LD e MI quando comparados com os grupos em que foram colhidos 1 ou de 2 a 3 SNF por paciente.

Na segunda etapa, foram analisadas por PFGE 60 cepas de SARO isoladas de 33 pacientes com e sem SIDA, em tratamento no LD e MI. Nestas cepas pode-se identificar 7 perfis genômicos (A, A¹, A², B, C, D e E). Detectou-se um perfil predominante "A" em 52 (86,66%) das cepas

analisadas. Não houve diferença significativa na presença do perfil “A” entre pacientes com ou sem SIDA.

Entre as cepas analisadas por PFGE algumas foram coletadas de um mesmo paciente, porém em datas diferentes. Em 11 casos, estes isolados seqüenciais apresentaram o mesmo perfil genômico. Em três casos houve mudança do perfil genômico em isolados seqüenciais de pacientes.

Concluindo, observou-se alta incidência de SARO no grupo de pacientes com SIDA acompanhados neste estudo. O predomínio do perfil genômico “A” no LD e MI indica transmissão cruzada nas duas unidades, sugerindo que estes pacientes devem ser considerados potenciais portadores de SARO.

9. ABSTRACT

The *Staphylococcus aureus* is an important nosocomial pathogen. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains has been caused outbreaks and endemics at hospitals, mainly in university and terciary care hospitals. Many control measures are used by health care units to reduce MRSA spread. There is some difficult to eradicate MRSA in hospitals where it has been endemic. Epidemiological surveillance of nosocomial pathogens is frequently aided by the application of DNA typing methods in order to determine the effectiveness of control measures.

Since 1990, MRSA has become endemic in some wards at Hospital das Clínicas of the UNICAMP. Among them there is the Infectious Diseases (ID) ward. In 1993 a day care unit was created to care for AIDS patients. This group of patients needs frequent hospitalization at ID ward and their role in the MRSA epidemiology has been unclear.

The objective was to study the incidence of nasal colonization by MRSA in AIDS patients in the AIDS day care unit and ID ward. It was performed a chromosomal DNA analysis of MRSA colonization and infection strains in both units, using Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE).

This study was carried out in two phases: first the AIDS patients were followed from the AIDS day care unit and ID ward from December 1993 to December 1995. Swabs of anterior nares cultures (SN) were weekly

obtained from these patients. 178 AIDS patients were followed and 62 (34, 83%) had at least one positive culture for MRSA. The average follow-up in AIDS day care unit was 141,3 days (range: 1 - 720) and in the ID ward was 8,68 days (range: 1 - 270).

It was obtained 1239 SN (mean: 7 SN per patient): 1085 SN negative, 116 positive for MRSA and 38 positive for methicillin-sensitive *S. aureus*. It was found 18 patients with a single positive culture without follow-up. There were 27 transient colonization episodes and 27 persistent colonization episodes. There was difference among the group of patients in which were collected more than three SN in LD and MI units comparing with the two other groups that were collected 1 or from 2 to 3 SN per patient.

Sixty MRSA strains from 33 AIDS patients and non-AIDS patients cared for in the day care unit and ID ward were typed by PFGE. It was found 7 different profiles (A, A¹, A², B, C, D e E). The profile "A" was found in 52 (86,66%) isolates typed. There was no statistical difference among AIDS and non-AIDS patients with respect to this profile.

Some of the strains typed have been collected from the same patient in different days. In 11 cases, these sequential isolates show the same profile. In 3 cases, the sequential isolates changed their profile.

In conclusion, this study detected high MRSA incidence in AIDS patients. The predominance of the profile "A" at the AIDS day care and ID units

strongly suggest cross-colonization and these patients should be considered potential MRSA carrier.

doença concomitante ou outra condição que não infecção pelo HIV que justifique a ocorrência.

Subgrupo C - doenças infecciosas secundárias. Definidas como diagnóstico de doença infecciosa associada com infecção pelo HIV ou moderadamente indicativas de defeitos da imunidade celular. Pacientes deste grupo são subdivididos em duas categorias.

Categoria C1 - inclui pacientes com doença sintomática ou invasiva por uma das 12 doenças infecciosas secundárias específicas: pneumonia por *P. carinii*, criptosporidíase crônica, toxoplasmose, estrogiloidíase extraintestinal, isosporíase, candidíase (esofageana, brônquica ou pulmonar), criptococcose, histoplasmose, infecção por *Mycobacterium avium* ou *M. kansasii*, infecção por citomegalovírus, herpes simples disseminado ou crônico muco-cutâneo, leucoencefalopatia progressiva multifocal.

Categoria C2 - inclui pacientes com doença sintomática ou invasiva devido a uma de seis doenças infecciosas secundárias específicas: leucoplasia oral pilosa, herpes zoster multidermatomal, bacteremia recorrente por *Salmonella* spp., nocardiose, tuberculose, candidíase oral.

Subgrupo D - câncer secundário. Definido como diagnóstico de um ou mais tipos de câncer conhecidos por serem associados com infecção pelo HIV e no mínimo moderadamente indicativo de defeito na imunidade

celular: sarcoma de Kaposi, linfoma não Hodgkin e linfoma primário do cérebro.

Subgrupo E - outras condições na infecção pelo HIV. Definidas como a presença de outros achados clínicos ou doenças não classificadas acima, que poderiam ser atribuídas a infecção pelo HTLV-II/LAV ou serem indicativos de defeito da imunidade celular. São incluídos pacientes com pneumonite intersticial linfóide. Também são incluídos aqueles pacientes cujos sinais ou sintomas puderem ser atribuídos tanto ao HIV ou a outra doença coexistente não classificadas anteriormente e pacientes com outras condições clínicas cuja evolução ou tratamento possa ser complicado ou alterado pela infecção pelo HIV.

Fonte: CDC, 1996.

10.2. ANEXO 2

**TABELA PADRÃO PARA INTERPRETAÇÃO DE HALOS DE INIBIÇÃO
POR ANTIBACTERIANOS PARA *Staphylococcus aureus***

Antibacteriano	Teste Qualitativo dos Discos Zonas limites em mm	Padrão Interpretativo Zonas de Inibição em mm		
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	Resistente	Intermediária	Sensível
Amicacina 30 µg	20-26	≤ 14	15-16	≥ 17
Ampicilina 10 µg	27-25	≤ 28	-	≥ 29
Cefalotina 30 µg	27-37	≤ 14	15-17	≥ 18
Clindamicina 2 µg	24-30	≤ 14	15-20	≥ 21
Cloranfenicol 30 µg	19-26	≤ 12	13-17	≥ 18
Sulfametoxazol 23,75 µg + trimetropin 5 µg = 25 µg	24-32	≤ 10	11-15	≥ 16
Eritromicina 15 µg	22-30	≤ 13	14-22	≥ 23
Gentamicina 10 µg	19-27	≤ 12	13-14	≥ 15
Netilmicina 30 µg	22-31	≤ 12	13-14	≥ 15
Oxacilina 1 µg	18-24	≤ 10	11-12	≥ 13
Penicilina G 10 UI	26-37	≤ 28	-	≥ 29
Tetraciclina 30 µg	19-28	≤ 14	15-18	≥ 19
Tobramicina 10 µg	19-29	≤ 12	13-14	≥ 15
Vancomicina 30µg	15-19	≤ 9	10-11	≥ 12

Fonte: NCCLS, 1994

10.3. ANEXO 3

SOLUÇÕES UTILIZADAS PARA O ESTUDO MOLECULAR

Solução Tampão EC

Solução Estoque/Sal	Volume/peso	Concentração final
1 M TRIS (SIGMA CHEMICAL CO, S. Louis, MO, USA) pH 7,5	3 ml	6mM
5 mM NaCl (LABSYNTH, São Paulo)	100 ml	1M
0,5M EDTA (GIBCO BRL, Life Technologies In. Galthersburg, MD, USA)	10 ml	10mM
Na deoxycholic acid (SIGMA)	1 g	0,2%
Polyoxyethylene 20 cetyl ether - BRIJ 58 (SIGMA)	2,5G	0,5%
N- Lauroyl-Sarcosine (SIGMA)	2,5g	0,5%
Água destilada	Para 500 ml	

Obs.: Misturar todos os componentes da fórmula e ajustar pH para 7,5

Gel de Agarose de baixo ponto de fusão para blocos

Solução Estoque/Sal	Volume/peso	Concentração final
Agarose Low Melt Preparative Grade (BIORAD)	1g	1%
Tampão EC	100 ml	

Obs.: Diluir a agarose e aquecer até a sua completa dissolução

Solução de Lisostaphina

Solução Estoque/Sal	Volume/peso	Concentração final
Lisostaphina (SIGMA)	1800 U/mg	1000 U/ml
	proteína	
Diluyente TES	5 ml	

Obs.: estocar em alíquotas de 0,5 ml e manter à -20°C

TES Diluyente para Lisostaphina

Solução Estoque	Volume	Concentração final
TRIS (SIGMA) 1M pH 7,5	2,5 ml	0,05M
EDTA (GIBCO) 0,5M pH 8	0,5 ml	0,005M
5mM NaCl (SYNTH)	1,5 ml	0,15M
Água destilada	45,5 ml	

Obs.: misturar todos os componentes da fórmula

Solução de Rnase

Solução Estoque/Sal	Volume/peso	Concentração final
RNase (SIGMA)	50 mg	10 mg/ml
Diluyente para RNase	5 ml	

Obs.: Aquecer a 100°C por 5 minutos, resfriar e estocar em alíquotas de 1 ml a 4°C

Diluyente para Rnase

Solução Estoque	Volume	Concentração final
TRIS (SIGMA) 1M pH 7,5	0,1 ml	10mM
Solução Salina	9,9 ml	15mM

Obs.: Misturar todos os componentes da fórmula

Solução ESP (para 10 amostras)

Solução Estoque	Volume	Concentração final
EDTA (GIBCO) 0,625M pH9,3	16 ml	0,4M
N-Lauroyl-Sarcosine (SIGMA) 5%	4 ml	1%
Proteinase K (GIBCO) 20 mg/ml	0,1 ml	0,1 mg/ml

Obs.: Misturar todos os componentes da fórmula

Proteinase K

Solução/Sal	Volume/peso	Concentração final
Proteinase K (GIBCO)	200 mg	20 mg/ml
Água destilada	100 ml	

Obs.: estocar em alíquotas de 1 ml e manter à -20°C

TE de alta molaridade

Solução Estoque	Volume	Concentração final
EDTA (GIBCO) 0,5M pH 7,5	50 ml	0,1M
TRIS (SIGMA) 1 M pH 7,5	100 ml	0,1M
Água destilada	350 ml	

Obs.: Misturar todos os componentes da fórmula

Solução "Dummy no Salt"

Solução Estoque	Volume	Concentração final
TRIS (SIGMA) 1 M pH8,0	5 ml	0,1M
MgCl ₂ (SIGMA) 1M	0,25 ml	0,005M
Água destilada	500 ml	

Obs.: misturar os componentes da fórmula e guardar à temperatura ambiente

TE de baixa molaridade

Solução Estoque	Volume	Concentração final
EDTA (GIBCO) 0,5M pH 7,5	0,2 ml	1 mM
TRIS (SIGMA) 1 M pH 7,5	1 ml	10mM
Água destilada	98,8 ml	

Obs.: Misturar todos os componentes da fórmula

Tampão TBE estoque (5 vezes concentrado)

Solução Estoque/Sal	Volume/peso	Concentração final
Trisma base (SIGMA)	54 g	
Ácido bórico (SYNTH)	27,5 g	
EDTA (GIBCO) 0,5M pH 8,0	10,0 ml	
Água destilada	1000 ml	

Obs.: diluir o trisma base, o ácido bórico, em água destilada adicionar o EDTA e estocar à temperatura ambiente

10.4. ANEXO 4

Cepas de SARO Utilizadas na Análise da Epidemiologia Molecular

Nome	nº ordem	NumLab	HIV	Unidade	Espécimen	Data de coleta	Padrão PFGE
ACP	12	1910	sim	LD	SAN	14/05/95	A
ACP	26	327	sim	LD	CAT	12/05/95	A
ALJ	53	827B	sim	LD	SOF	10/10/95	A
AFM	21	26	sim	LD	SNF	04/09/95	A
AFM	51	806A	sim	LD	SNF	28/12/95	A
AFM	20	257A	sim	LD	SNF	29/01/95	A
AFM	30	412	sim	LD	SNF	13/02/96	B
AMD	23	286	sim	MI	SNF	27/10/95	A
AAP	60	944B	não	MI	SNF	29/05/95	A
CMC	44	624C	não	MI	SNF	21/09/95	A
CNSR	56	918	não	MI	SNF	17/05/95	A
EMF	47	720A	sim	LD	SNF	31/12/95	A
EMF	7	125A	sim	LD	SNF	09/01/96	A
ERP	8	137A	sim	MI	CAT	06/11/95	A
FAP	28	340	sim	LD	SNF	06/11/95	A
FAP	9	166B	sim	LD	SNF	17/01/96	A
FAP	17	224A	sim	LD	SNF	24/01/96	A
FAP	35	434A	sim	LD	SNF	14/02/96	A
FAP	41	543	sim	LD	SNF	28/02/96	C
GXG	62	999A	sim	LD	SEC	18/07/95	A
GXG	14	2033A	sim	LD	BXP	21/07/95	A
HJL	24	297	não	MI	SNF	30/10/95	A
IJS	33	432	sim	LD	SNF	14/02/96	A
IJS	39	519	sim	LD	SNF	27/02/96	A
IAMFP	38	514B	sim	LD	SNF	27/02/96	A
JRR	37	512A	não	MI	SEC	11/12/95	A
JRR	36	450A			SEC	02/02/96	A
JCB	13	20	sim	LD	SNF	04/09/95	A
JCFS	29	399A	não	MI	SCA	29/11/95	A
JRC	49	782A	sim	LD	SNF	27/12/95	A
JRE	57	92	sim	LD	SNF	12/09/95	A
JRE	15	22	sim	LD	SNF	04/09/95	A
JRE	58	931C	sim	LD	SNF	22/05/95	A
JVR	43	596B	sim	MI	SNF	06/03/96	D
JVN	61	947A	sim	LD	SNF	30/05/95	A
JSP	3	101	sim	LD	SNF	12/09/95	A
LFV	31	418A	não	MI	SEC	31/01/96	A
LCL	1	063A	sim	LD	SEC	05/01/96	A
LCL	46	711A	sim	LD	SEC	30/12/95	A ²
MAA	22	260A	sim	LD	SNF	23/10/95	A
MAS	55	877A	não	MI	SEC	20/05/95	A ¹
MAS	54	870A	não	MI	LSI	20/05/95	A ¹
MAS	50	791A	não	MI	LSI	11/05/95	A ¹
MCC	34	433B	sim	LD	SNF	14/02/96	A
ÔJA	6	1213	sim	LD	SOF	01/08/95	A
OJA	42	586C	sim	LD	SNF	18/11/95	A
OJA	18	24A	sim	LD	AMI	23/01/96	A
OJA	19	256B	sim	LD	SNF	29/01/96	A
PG	16	223A	não	MI	SEC	13/11/95	A
PG	25	303A	não	MI	SEC	17/08/95	A
PG	40	531A	não	MI	SEC	09/02/96	A
PG	45	67B	não	MI	SNF	25/07/95	A

ANEXO 4 (continuação)

Cepas de SARO Utilizadas na Análise da Epidemiologia Molecular

Nome	nº ordem	NumLab	HIV	Unidade	Espécimen	Data de coleta	Padrão PFGE
RAS	48	782A	sim	LD	ABS	06/10/95	A
RAS	59	939	sim	LD	SNF	25/05/95	A
RAS	2	079A	sim	LD	ABS	06/01/96	A
RAS	4	107B	sim	LD	SEC	08/01/96	A
RJM	52	826D	sim	MI	ANA	10/10/95	E
SMFA	11	1858b	sim	LD	SAN	10/05/95	A
VC	32	428A	sim	LD	DRE	29/08/95	A
VC	5	12101	sim	LD	SOF	01/08/95	A

NumLab: número de laboratório; SAN: sangue; CAT: ponta de cateter central; SOF: *swab* de orofaringe; SNF: *swab* nasal; SEC: secreção de pele; BXP: biópsia de pele; SCA: *swab* de inserção de cateter central; LSI: líquido sinovial; AMI: *swab* de amígdala; ABS: abscesso; ANA: *swab* anal; DRE: *swab* de inserção de dreno

CEPAS DE *S. aureus* UTILIZADAS COMO CONTROLE DA TÉCNICA

DE PFGE

Nome	NumLab	HIV	Oxacilina	Unidade	Espécimen	Data de coleta	Padrão PFGE
AM	1988b	Não	Resistente	EECLI	SET	06/10/96	F
BMR	2120A	não	Resistente	PNEUM	SNF	12/09/96	A
EML	182E	Não	Sensível	MOLIF	SET	10/01/95	G
GCRL	608	não	Sensível	PEDIA	LCR*	08/03/97	H
MSM	3120B	não	Resistente	PNEUM	SCA	05/10/96	I

* origem não hospitalar

NumLab: número de laboratório; SET: secreção traqueal; SNF: *swab* nasal; LCR: líquido; SCA: *swab* de inserção de cateter central.

10.5. ANEXO 5

Antibiograma das Cepas – SARO
Tabela por Ordem de Número de Laboratório

NUMLAB	AMI	AMP	CFL	CLI	CLO	ERI	GEN	NET	OXA	PEN	SUT	TET	TOB	VAN
063A	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S
079A	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S
101	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S
107B	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S
12101	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S
1213	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	S
125A	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S
137A	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S
166B	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	S
1858B	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	S
1910	R	R	R	R	S	R	R	I	R	R	R	R	R	S
20	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
2033A	R	R	R	S	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S
22	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	S
223A	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S
224A	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S
24A	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
256B	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	S
257A	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S
26	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S
260A	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S
286	R	R	R	S	S	R	R	S	R	R	R	R	R	S
297	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S
303A	I	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S
327	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	S
340	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S
399A	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S
412	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S
418A	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	S
428A	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S
432	R	R	R	R	I	R	R	I	R	R	R	R	R	S
433B	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S
434A	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S
450A	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S
512A	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	S
514B	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	S
519	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	S
531A	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	S
543	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S
586C	R	R	R	R	S	R	R	I	R	R	R	R	R	S
596B	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S
624C	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S
67B	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S
711A	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S
720A	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	S
782A	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	S
782A	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S
791A	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
806A	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	S
826D	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S
827B	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S
870	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S
877A	R	E	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S
918	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	S
92	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	S
931C	R	R	R	R	S	R	R	I	R	R	R	R	R	S
939	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
944B	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	S
947A	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S
999A	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S