



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Faculdade de Medicina de Botucatu
Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais

Mônica da Silveira

**Prevalência e fatores de risco para carreamento de
Staphylococcus aureus resistente à meticilina em idosos
institucionalizados na cidade de Bauru-SP**

Orientador: Prof. Dr. Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza

Botucatu – São Paulo

2013

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Faculdade de Medicina de Botucatu
Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais

Mônica da Silveira

**Prevalência e fatores de risco para carreamento de
Staphylococcus aureus resistente à meticilina em idosos
institucionalizados na cidade de Bauru-SP**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais da Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (FMB/UNESP), para obtenção do Título de Mestre em Doenças Tropicais.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza

Botucatu – São Paulo

2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE - CRB 8/5651

Silveira, Mônica da.

Prevalência e fatores de risco para carreamento de *Staphylococcus aureus* resistente à metilina em idosos institucionalizados na cidade de Bauru-SP / Mônica da Silveira. - Botucatu, 2013

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza

Capes: 40101096

1. Idosos - Assistência em instituições. 2. *Staphylococcus aureus*. 3. Fatores de risco. 4. Epidemiologia molecular.

Palavras-chave: Epidemiologia molecular; Fatores de risco; Idosos institucionalizados; *Staphylococcus aureus*.

A pesquisa que deu origem a esta dissertação foi possível graças ao auxílio da Fundunesp (Número: 0036011); projeto “Prevalência e fatores de risco para carregamento de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina em idosos institucionalizados na cidade de Bauru-SP”.



Dedicatória

Dedicatória

À toda minha família, alicerce da minha vida, em especial ao meu pai José que é com certeza, fonte de grande sabedoria e minha maior admiração em todos os momentos da minha vida. Tenho muito orgulho em dizer que é meu pai, e espero ser um pouquinho como o senhor!

À minha mãe Gilza por todo amor, carinho e dedicação que recebi, e por tamanha doação em prol da nossa família, sem medir consequências.

Ao meu filho amado João Victor, que é a razão de tudo, e pela compreensão nos momentos em que não estivemos juntos para a elaboração deste trabalho. Perdoe-me pela ausência. Te amo!

Para minha irmã querida Fabiana, por estar sempre junto nos momentos em que mais precisei. Obrigada, e penso que seja o momento para agradecer por tudo o que faz por mim e por existir na minha vida. Sou sua admiradora sem que você soubesse.

Ao meu cunhado Adriano pelo carinho e apoio.

Amo vocês!



Agradecimientos

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus e a minha Padroeira Nossa Senhora por me apresentar caminhos nos momentos mais difíceis, e colocar pessoas que com certeza fizeram, fazem e farão a diferença em todos os dias da minha história.

De maneira especial agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Carlos onde serei eternamente grata em se fazer presente na minha vida, através de sua valiosa orientação e paciência que sempre recebi. Tenho muito orgulho em ser sua orientanda, tanto pela capacidade em ensinar que é inquestionável, ao ser humano apaixonado pela arte em curar vidas. Só tenho a agradecer por tudo e desculpas por minhas falhas.

À Profa. Dra. Maria de Lourdes agradeço a imensa ajuda por ter cedido o Laboratório de Bacteriologia do IBB, pois sem a sua colaboração, nada disso seria possível.

Ao Prof. Dr. Paulo Câmara pelo carinho e tantas palavras incentivadoras. Agradeço imensamente.

Ao Prof. Dr. Antônio Carlos C. Pignatari por me receber com imensa generosidade no LEMC, onde pude desfrutar momentos de grande aprendizado. Obrigada pelo carinho e atenção.

À Camila Sena que participou diretamente deste sonho. Você foi uma das pessoas que Deus colocou na minha vida, e agradeço imensamente por toda ajuda e, pela sua amizade principalmente. Obrigada por tudo e te desejo muitas felicidades e sucesso! Saiba que é realmente um prazer tê-la como amiga.

À minha amiga-siamesa Adriana Feltrin que não caberiam palavras para descrever tantos agradecimentos. Mas, obrigada por estar presente nas alegrias e tristezas, pois talvez fossem nesses momentos em que nossa amizade crescesse ainda mais. Obrigada a você e a sua família, pois tenho um grande carinho. E que venham outras lutas felizes!

À minha amiga Adriana Sierra, pessoa determinada e lutadora. Essa é você! Foi quem me apresentou o interesse pela pesquisa e serei sempre grata por ter te conhecido.

Ao meu amigo Marcus Vinicius que independente das ajudas em prol deste trabalho, a sua presença já me alegra.

À minha amiga Tháise que mesmo longe está sempre junto. Amiga guerreira... Você é demais!

À Rosane por sempre acreditar em mim, mesmo nos momentos em que já havia desistido. São pessoas como você que fazem a diferença.

Ao meu ex e querido Prof. Dr. Carrara, por quem admiro muito pelo trabalho dedicado à educação e a Biologia.

Ao Hospital Estadual de Bauru por ter dado a oportunidade e todo o apoio necessário para o desenvolvimento do meu trabalho. Sempre serei grata por isso.

À Regina da Pós-graduação por além de ser uma excelente profissional, vejo hoje como uma amiga, onde até no desespero, sempre tinha uma palavra e um sorriso que pudesse me despertar alguma pontinha de esperança. É um prazer ter te conhecido.

Aos docentes do Departamento de Doenças Tropicais, agradeço por todo o conhecimento transmitido e pelo carinho recebido.

Aos diretores das Casas de repouso por acreditar no meu trabalho e em seus frutos, como fonte para o desenvolvimento de práticas ainda mais seguras a serem implantadas.

Ao meu Santuário Nossa Senhora Aparecida/Bauru por ser a fortaleza na minha vida.

E a todos que convivi e me ajudaram na realização deste sonho.

Muito obrigada!



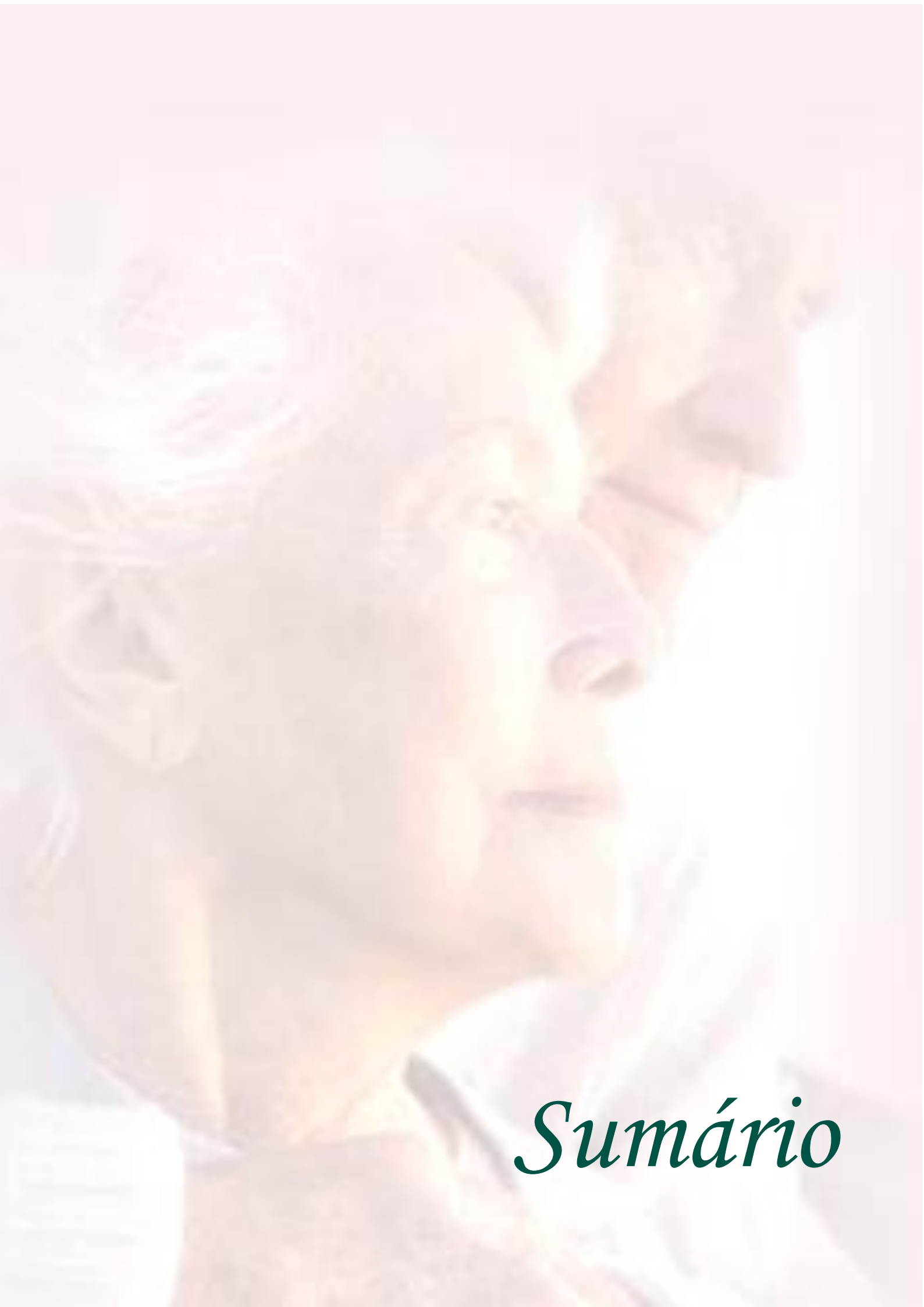
Epígrafe

*“Posso, tudo posso naquele que me fortalece
Nada e ninguém no mundo vai me fazer desistir
Quero, tudo quero, sem medo entregar meus projetos
Deixar-me guiar nos caminhos que Deus desejou para mim e ali estar*

*Vou perseguir tudo aquilo que Deus já escolheu pra mim
Vou persistir, e mesmo nas marcas daquela dor
do que ficou, vou me lembrar
E realizar o sonho mais lindo que Deus sonhou
Em meu lugar estar na espera de um novo que vai chegar
Vou persistir, continuar a esperar e crer
E mesmo quando a visão se turva e o coração só chora
Mas na alma, há certeza da vitória*

*Eu vou sofrendo, mas seguindo enquanto tantos não entendem
Vou cantando minha história, profetizando
Que eu posso, tudo posso... Em Jesus”*

Celina Borges



Sumário

Sumário

1 INTRODUÇÃO	26
1.1 Envelhecimento populacional.....	26
1.2 Instituições de longa permanência para idosos (ILPIs).....	27
1.3 Staphylococcus aureus: Patogenicidade e relevância clínica	28
1.4 Desafios para o Controle de Infecção em Casas de Repouso.....	32
1.5 <i>Justificativa do presente estudo</i>	33
2 OBJETIVOS	34
2.1 Objetivo Geral.....	34
2.2 Objetivos específicos	34
3. MÉTODOS	36
3.1 Desenho do estudo	36
3.2 Critérios de inclusão/exclusão e recrutamento de sujeitos	37
3.3 Aplicação de questionário	37
3.4 Procedimentos microbiológicos.....	38
3.4.1 Coleta de espécimes microbiológicas.....	38
3.4.2 Identificação da espécie	38
3.4.3 Testes de suscetibilidade.....	39
3.4.4 Extração de DNA bacteriano	39
3.4.5 Detecção do gene <i>mecA</i> de resistência à meticilina.....	40
3.4.6 Determinação do tipo de SCCmec (Staphylococcal Cassette Chromosome mec).....	40
3.4.7 <i>Visualização dos produtos amplificados</i>	41
3.4.8 <i>Pulsed Field Gel Eletrophoresis (PFGE)</i>	42
3.5 Análise estatística	43
3.6 Questões éticas	43
4 RESULTADOS	46

4.1 Características das ILPIs incluídas no estudo.....	46
4.3 Fatores de risco para colonização nasal por <i>S. aureus</i> e MRSA	50
4.4 Determinação da sensibilidade in vitro aos antimicrobianos	51
4.5. Detecção do gene <i>mecA</i> de resistência para metilina	51
4.6 Determinação do tipo de SCCmec.....	52
4.7 Identificação clonal dos MRSA.....	53
4.8 Variação da prevalência nas Casas de repouso.....	54
4.9 <i>Fatores de risco para colonização nasal por S. aureus e MRSA</i>	58
5 DISCUSSÃO	64
6 CONCLUSÃO	68
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
Anexos	75



*Lista de
Abreviaturas*

LISTA DE ABREVIATURAS

BHI	Caldo infusão de cérebro e coração
CA-MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina adquirido na comunidade (do inglês, <i>community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i>).
CID-10	Classificação estatística internacional de doenças e problemas relacionados à saúde, décima revisão.
CLSI	Instituto de padronização clínica e laboratorial (do inglês, <i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>)
EUA	Estados Unidos da América
HA-MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina, adquirido no hospital (do inglês, <i>hospital-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i>).
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IH	Infecção Hospitalar
ILPIs	Instituição de longa permanência para idosos
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina, (do inglês, <i>methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i>)
MSSA	<i>Staphylococcus aureus</i> sensível à meticilina (do inglês, <i>methicillin susceptible Staphylococcus aureus</i>)
NHANES	Programa de estudos destinados a avaliar a saúde e o estado nutricional de adultos e crianças nos Estados Unidos, combinando entrevistas e exames físicos (do inglês, <i>National Health and Nutrition Examination Survey</i>)
OMS	Organização Mundial de Saúde
PBP	Proteínas de ligação à penicilina (do inglês, <i>Penicillin-Binding Protein</i>)
PCR	Reação em cadeia de polimerase (do inglês, <i>Polymerase chain reaction</i>)
PFGE	Pulsed Field Gel Eletrophoresis

PVL	Leucocidina de Panton Valentine (do inglês, <i>Panton-Valentine Leukocidin</i>)
SCC <i>mec</i>	Cassete cromossômico estafilocócico <i>mec</i> (do inglês: <i>Staphylococcal chromosome cassette mec</i>)
SNC	Sistema nervoso central
TBE	Tris-Borato-EDTA
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido



Lista de Figuras

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Região administrativa de Bauru, cidade-sede da pesquisa desenvolvida. .36
- Figura 2 - Prevalência de *Staphylococcus aureus* como um todo e MRSA na população do estudo.50
- Figura 3 - Demonstração da sensibilidade à oxacilina com discos de cefoxitina (30µg) e oxacilina (1µg) pelo Método de Kirby-Bauer em *S. aureus* isolados de idosos mantidos em Instituições de longa permanência.51
- Figura 4 - Eletroforese em gel de agarose 2% (corado com SYBR® Safe) evidenciando amostras de *Staphylococcus aureus* positivas para o gene *mecA* L: Ladder 100pb; C+: Controle positivo da reação; C-: Controle negativo; Amostras positivas: 1-11.52
- Figura 5 - Dendrograma gerado pela análise Dice/UPGMA (Bionumerics® Applied Maths) de MRSA carregados por idosos mantidos em ILPIs.53
- Figura 6 - Forest plot mostrando resultados de prevalência de colonização por *Staphylococcus aureus* em Casas de repouso de Bauru (SP). Os dados são mostrados em escala linear com intervalo de confiança.56
- Figura 7 - Forest plot mostrando resultados de prevalência de colonização por MRSA em Casas de repouso de Bauru (SP). Os dados são mostrados em escala linear com intervalo de confiança.56
- Figura 8 - Boxplot com comparação de mediana e variação do índice de comorbidades de Charlson (marcador de gravidade) entre residentes de Casas de repouso de diferente porte no município de Bauru-SP. Obs.: Asteriscos e círculos mostram sujeitos fora do padrão usual. (G, grande porte; M, médio porte; P, pequeno porte).57
- Figura 9 - Boxplot com comparação de mediana e variação da pontuação na Escala de Karnofsky (marcador de dependência) entre residentes de Casas de repouso de diferente porte no município de Bauru-SP. Obs.: A-G=Grande porte; B-M=Médio porte; C-P=Pequeno porte.57



Lista de Tabelas

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais síndromes infecciosas causadas por <i>S. aureus</i>	30
Tabela 2 - Diferenças entre os subtipos de MRSA.....	31
Tabela 3 - Oligonucleotídeos para a detecção do gene <i>mecA</i>	40
Tabela 4 - Oligonucleotídeos para a detecção do Cassete cromossômico estafilocócico <i>mec</i> (SCC <i>mec</i>) em <i>S. aureus</i>	41
Tabela 5 - Características das Instituições de Longa Permanência para Idosos (Casas de repouso) incluídas no estudo.	47
Tabela 6 - Caracterização do SCC <i>mec</i> em isolados de MRSA residentes em ILPIs.	52
Tabela 7 - Prevalência de <i>S. aureus</i> e MRSA nas Casas de repouso no estudo.	55
Tabela 8 - Fatores associados ao carregamento nasal de <i>Staphylococcus aureus</i> em residentes de Casas de repouso no município de Bauru-SP	59
Tabela 9 - Fatores associados ao carregamento nasal de MRSA em residentes de casas de repouso no município de Bauru-SP (Análises uni e multivariadas).....	61



Resumo

RESUMO

O aumento recente da incidência e gravidade de *Staphylococcus aureus* tem suscitado diversos estudos abordando sua epidemiologia em instituições fechadas. Isolados de *S. aureus* resistentes à meticilina (*methicillin resistant S. aureus*, MRSA) são agentes comuns de infecção em hospitais. Nos últimos anos, a atenção dos epidemiologistas e clínicos tem se voltado aos MRSA de origem comunitária, associados a infecções graves de pele e trato respiratório. Nesse contexto, as Casas de repouso representam espaços de especial interesse, já que são instituições intermediárias entre a comunidade e os serviços de saúde. Não há dados sobre prevalência de *S. aureus* e MRSA em Casas de repouso no Brasil, um país onde somente 0,8% da população idosa são institucionalizadas. O presente estudo teve delineamento transversal e objetivou identificar a prevalência e fatores de risco para colonização por *S. aureus* como um todo e MRSA em particular. Foram incluídos 300 idosos vivendo em Casas de repouso no município de Bauru (SP). A colonização foi analisada através de coleta de swabs nasais dos sujeitos da pesquisa. Estes foram cultivados, e nos casos de isolamento de *S. aureus*, foi realizada a caracterização molecular da resistência à meticilina. Adicionalmente, os isolados de MRSA foram submetidos à genotipagem por Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE). Para análises de fatores de risco, foram levantados os prontuários dos sujeitos de pesquisa. Dados demográficos, internações, procedimentos e uso de antimicrobianos foram identificados. Análises univariadas e multivariadas (regressão logística) foram aplicadas. As prevalências identificadas para *S. aureus* e MRSA foram 17,7% e 3,7%, respectivamente. A idade avançada e a internação recente em hospitais foram preditores independentes para colonização por *S. aureus* como um todo. Os fatores associados à colonização por MRSA foram à residência em instituições de pequeno ou médio porte e o antecedente de internação hospitalar. Nas análises moleculares dos 11 isolados de MRSA, seis foram identificados como carreadores do cassete cromossômico (SCC*mec*) tipo II (tipicamente hospitalar), e dois como carreadores de SCC*mec* IV (associado a origem comunitária). A tipagem por PFGE identificou disseminação de clones no interior de instituições e entre diferentes Casas de repouso. Concluindo, o nosso

estudo identificou prevalência significativa de MRSA em Casas de repouso, sendo os isolados provenientes tanto de hospitais como da comunidade.

Palavras-Chave: Epidemiologia molecular; Fatores de risco; Idosos institucionalizados; *Staphylococcus aureus*



Abstract

ABSTRACT

The recent increase in the incidence and severity of *Staphylococcus aureus* gave rise to many studies on its epidemiology in closed institutions. Isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) are usual agents of infection in hospitals. In recent years, the attention of epidemiologists and clinicians has turned to MRSA of community origin, associated with severe infections of skin and respiratory tract. In this context, nursing homes represent areas of special interest, since they are intermediary institutions between the community and health services. No data on the prevalence of *S. aureus* and MRSA in nursing homes in Brazil, a country where only 0.8% of the elderly population is institutionalized. This cross-sectional study aimed to identify the prevalence and risk factors for colonization by *S. aureus* as a whole and MRSA in particular. We enrolled 300 elderly living in nursing homes in the city of Bauru, São Paulo State, Brazil. Colonization was analyzed by collecting nasal swabs of research subjects. Whenever *S. aureus* was isolated, we performed molecular characterization of methicillin resistance. Additionally, MRSA isolates underwent genotyping by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). For analysis of risk factors, we reviewed the charts of research subjects. Demographics, hospitalizations, procedures and uses of antimicrobials were identified. Univariate and multivariate (logistic regression) were applied. The prevalence identified for *S. aureus* and MRSA were 17.7% and 3.7%, respectively. Old age and recent hospitalization in hospitals were independent predictors of colonization with *S. aureus* as a whole, while small or medium-sized facilities and recent hospital admission were associated with carriage of MRSA. In the molecular analysis of 11 MRSA isolates, six were identified as carriers of chromosome cassette *SCCmec* type II (typically hospital), and two as carriers of *SCCmec* IV (associated with the community). Typing by PFGE identified dissemination of clones within institutions and between different nursing homes. In conclusion, our study identified significant prevalence of MRSA in nursing homes. MRSA strains may arise from both hospitals and the community setting.

Keywords: Molecular epidemiology; Risk factors; Elderly institutionalized; *Staphylococcus aureus*



Introdução

1 INTRODUÇÃO

1.1 Envelhecimento populacional

Biologicamente, o envelhecimento das pessoas é medido pelo aumento de sua idade cronológica, que é o tempo transcorrido entre a data de seu nascimento e a data atual. Associa-se o envelhecimento das pessoas a um processo biológico contínuo de declínio e de deterioração fisiológica, onde ocorre com a passagem do tempo e corresponde ao estágio final da vida. Este processo pode limitar, com fragilidade ou invalidez, o bem-estar biológico e psicológico dos indivíduos, com a diminuição da velocidade dos processos mentais e comportamentais, com o isolamento social. As diferenças entre indivíduos são muito grandes e este processo pode efetivamente incapacitar a pessoa ao pleno funcionamento social. Mas, envelhecer não significa necessariamente perder a saúde ou a autonomia, nem significa necessitar de cuidados de longa duração. Por outro lado, é preciso ressaltar que o tempo biológico não determina quando uma pessoa passa a ser idosa. Este também é um conceito socialmente construído que foi modificado através das culturas e dos tempos ¹.

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) é considerada idosa a pessoa maior de 60 anos nos países em desenvolvimento, e maior de 65 anos, nos países desenvolvidos. Esta categorização é seguida também no Brasil, segundo o Estatuto Nacional do Idoso e a Política Nacional do Idoso, onde consideram idosa a pessoa a partir dos 60 anos de idade ¹.

Segundo a Organização das Nações Unidas (ONU), em seu último relatório técnico, “Previsões sobre a população mundial”, elaborado pelo Departamento de Assuntos Econômicos e Sociais, em 2050 o número de pessoas com mais de 60 anos de idade será cerca de três vezes maior do que o atual. Os idosos representarão cerca de um quinto da população mundial projetada, ou seja, 1,9 bilhões de indivíduos (do total de 9 bilhões), o que evidencia de maneira urgente a necessidade de estudos e investigações que contribuam para a melhoria e/ou manutenção da saúde e qualidade de vida nessa faixa etária ².

Vários fatores têm favorecido para o aumento na expectativa de vida das pessoas, entre eles as descobertas da medicina na promoção de novas técnicas de

prevenção e promoção da saúde, que contribuem para aumento da longevidade. Este fenômeno, em conjunto com a redução das taxas de natalidade, tende a aumentar a participação dos idosos na população. Os dados demográficos e epidemiológicos da população de idosos com 60 anos ou mais no Brasil em 2000 eram de 14.536.029 idosos, representando 8,6% da população. Algumas projeções indicam que em 2050 a população brasileira será de 259,8 milhões de habitantes (aproximadamente 18% da população total serão idosos) representando a sexta população idosa do mundo, em números absolutos³.

O envelhecimento populacional é uma conquista da humanidade, mas apresenta desafios a serem enfrentados pela sociedade e os formuladores de política. Em nível mundial, a proporção de pessoas com 60 anos ou mais cresce de forma mais rápida que a de outras faixas etárias. Deve-se enfatizar, porém que longevidade não é sinônimo de envelhecimento saudável⁴.

Para muitos idosos, infelizmente, esse aumento da longevidade tem sido acompanhado de um declínio do estado de saúde físico e mental, presença de múltiplas doenças crônicas, perda de independência e autonomia, e limitações socioeconômicas e ambientais, que são fatores associados à limitação da capacidade funcional dos idosos⁵⁻⁶.

A situação familiar do idoso no Brasil reflete o efeito cumulativo de eventos socioeconômicos, demográficos e de saúde ao longo dos anos. Assim, o tamanho da prole, as separações, o celibato, a mortalidade, viuvez, recasamentos e as migrações vão originando no desenvolver das décadas, novos tipos de arranjos familiares e domésticos, incluindo as Instituições de longa permanência para idosos. Estas, nomeadas de asilos no passado, são a modalidade mais antiga de atendimento ao idoso fora de seu convívio familiar².

1.2 Instituições de longa permanência para idosos (ILPIs)

O surgimento de Instituições para idosos não é recente. O cristianismo foi pioneiro no amparo aos velhos, tendo registro de que o primeiro asilo foi fundado pelo Papa Pelágio II entre os anos de 520-590, que transformou a sua casa em um hospital para velhos⁴.

No século XVIII, os asilos da Era Elisabetana eram instituições que abrigavam mendigos. A partir do século XIX, foram criados na Europa asilos grandiosos, com

alta concentração de velhos. O maior era o *Salpêtrière*, que abrigava oito mil doentes, dentre os quais dois a três mil idosos ⁴.

No Brasil Colônia, o Conde de Resende defendeu que soldados velhos mereciam uma velhice digna e "descansada". Em 1794, no Rio de Janeiro, começou então a funcionar a Casa dos Inválidos, não como ação de caridade, mas como reconhecimento àqueles que prestaram serviço à pátria, para que tivessem uma velhice tranquila ⁴.

Atualmente, os dados do censo de 2010 realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) indicam que dos 18 milhões de pessoas com mais de 60 anos (quase 9% da população total do Brasil), mais de 100 mil residem em ILPIs. Os estados com a maior proporção de idosos nessas instituições são Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Rio Grande do Sul e Goiás ^{2,7}, porém é válido ressaltar que o número pode ser maior se levarmos em consideração que muitas delas não estão cadastradas e funcionam na clandestinidade ⁸.

Constata-se que as ILPIs brasileiras possuem número reduzido de vagas e perfil assistencialista precário, no qual prestar cuidados resume-se a oferecer abrigo e alimentação. Fatores como a contratação de mão de obra barata não habilitada legalmente e a não observância da estrutura física adequada da unidade repercutem consideravelmente no desenvolvimento das atividades técnicas de saúde e do próprio idoso institucionalizado ⁹.

Entre os idosos, a idade avançada, o estilo de vida sedentário, a necessidade de dispositivos invasivos, a presença de feridas crônicas como úlceras de pressão, dependência dos trabalhadores de saúde e hospitalização anterior contribuem para a aquisição de doenças infecciosas ¹⁰.

Dentre o assunto doenças infecciosas, podemos citar o patógeno *Staphylococcus aureus* que é uma espécie de grande interesse clínico, e está frequentemente relacionado com diversas infecções em seres humanos ^{11,12}.

1.3 *Staphylococcus aureus*: Patogenicidade e relevância clínica

Micro-organismos do gênero *Staphylococcus* (do grego, *Staphilé* = cachos de uva) ¹³ são cocos Gram-positivos, imóveis, não formadores de esporos, que dão origem a células arredondadas com cerca de um micron de diâmetro. Quando observados em microscopia óptica, aparecem geralmente como células únicas,

pares ou agrupadas, com aparência de cacho de uvas. A maioria das espécies são anaeróbias facultativas, com multiplicação rápida na maioria dos meios de cultura a 37°C. As colônias em meio sólido têm formas arredondadas, elevadas e brilhantes¹⁴⁻¹⁵.

Até o momento, o gênero *Staphylococcus* compreende 49 espécies e 26 subespécies¹⁶.

As colônias de *S. aureus* são douradas como resultado de pigmentos carotenoides formados durante o seu crescimento; daí o nome da espécie. Também é a única espécie encontrada em seres humanos que produz a enzima coagulase. Quando uma colônia de *S. aureus* é suspensa em plasma, a coagulase se liga a um fator sérico e este complexo converte o fibrinogênio a fibrina, resultando então, na formação de coágulo. Outras espécies de estafilococos que não produzem coagulase são referidas coletivamente como estafilococos coagulase negativa¹³.

Em placa de ágar sangue, forma-se um halo de hemólise em torno das colônias. Outro fator importante para a identificação do *S. aureus* é o meio de cultura ágar sal manitol, meio de cultura seletivo para essa espécie, uma vez que consegue fermentar o manitol, produzindo então o ácido láctico¹⁷.

Uma propriedade biológica fundamental do *S. aureus* é a capacidade para colonizar assintomaticamente pessoas normais. Aproximadamente 30% das pessoas são portadores assintomáticos nasais de *S. aureus*. Portadores de *S. aureus* apresentam maior risco de infecção e presume ser uma importante fonte de disseminação de cepas de *S. aureus* entre indivíduos. O principal modo de transmissão é por contato direto, geralmente contato pele-a-pele com colonizados ou indivíduos infectados, embora o contato com objetos e superfícies contaminadas desempenham também o seu papel¹⁸.

Em indivíduos saudáveis, o *Staphylococcus aureus* integra a microbiota da pele, superfícies das mucosas e frequentemente a mucosa nasal anterior, sendo esta última o sítio primário da sua colonização^{11,19}. Outros sítios de colonização incluem pregas cutâneas, períneo, axilas e vagina. Embora esse micro-organismo possa formar parte da microbiota humana normal, pode produzir infecções oportunistas importantes em condições apropriadas¹². Pode causar várias doenças, que incluem desde infecções de pele e de tecidos moles a quadros infecciosos invasivos e potencialmente fatais, como bacteremia, pneumonia, endocardite e sepse (Tabela 1)²⁰⁻²¹.

Tabela 1 - Principais síndromes infecciosas causadas por *S. aureus*.

ORIGEM	SÍNDROME
<i>Adquiridas na comunidade</i>	Toxi-infecções alimentares; Infecções de pele e partes moles: foliculites, erisipelas, celulites; Síndrome do choque tóxico; Pneumonias; Endocardites; Osteomielites e Abscessos
<i>Adquiridas em hospitais ou em outros serviços de saúde</i>	Infecções de sítio cirúrgico; Infecções da corrente sanguínea; Pneumonias e Infecções de pele e partes moles

O advento antibioticoterapia, entre as décadas de 1930 e 1940, fez com que diversos pesquisadores previssem o fim das doenças infecciosas como fator de morbidade e mortalidade. Porém, essa previsão não se concretizou. Ao analisar a evolução da resistência do *S. aureus*, percebe-se que, já no final dessa década, surgiram as primeiras cepas apresentando resistência ao quimioterápico que pode ser adquirida por transferência horizontal de genes ¹⁸.

Em 1961 houve relatos de *S. aureus* resistente à metilina (MRSA), e até a década de 1990 foi considerado um patógeno nosocomial chamado HA-MRSA (*health-care setting methicillin-resistant Staphylococcus aureus*) com um número limitado de clones causando infecções graves em indivíduos com fatores de risco associados aos cuidados de saúde. No entanto, a transmissão na comunidade entre indivíduos sem fatores de risco tem sido reportada nos últimos anos. Nesse contexto, identificaram-se isolados com características genéticas específicas, denominados CA-MRSA (*community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus*) ¹⁹.

As diferenças entre os subtipos de MRSA estão relacionadas na Tabela 2 ²², e apesar da dificuldade na distinção entre essas cepas, existem diferenças na caracterização de CA-MRSA que possuem maior susceptibilidade aos agentes não β -lactâmicos, carregam principalmente o SCCmec tipo IV onde é menor que os

demais e por isso possui um menor número de genes acoplados que codificam a resistência aos antimicrobianos, e além disso apresentam com maior frequência o gene da Leucocidina Panton-Valentine (PVL) ²³.

Tabela 2 - Diferenças entre os subtipos de MRSA

	HA-MRSA	CA-MRSA
Manifestação clínica predominante	Infecções de feridas pós-operatórias, osteomielite, pneumonia.	Infecções crônicas de pele, abscessos, pneumonia, fascíte.
Fatores de risco	Hospitalização, moradores de Casas de repouso, dispositivos de longa permanência, feridas crônicas e uso de antibióticos.	Viagem para áreas de alto risco, contato com indivíduos infectados com CA-MRSA.
Características moleculares	SCC <i>mec</i> tipos I, II ou III PVL é menos comum	Principalmente o SCC <i>mec</i> tipo IV, V e VI PVL é mais comum

No complexo genético móvel chamado *Staphylococcal Cassette Chromosome mec* (SCC*mec*) está inserido o gene *mecA* e até o momento, onze tipos de SCC*mec* têm sido descritos para *S. aureus*, utilizando a combinação de duas partes: o complexo *ccr* e o complexo *mec*, com três genes *ccr* filogeneticamente distintos classificados como: *ccrA*, *ccrB* e *ccrC*. Além disso, há seis classes do complexo gene *mec* (classe A, B, C1, C2, D e classe E), sendo que na classe D não temos nenhum SCC*mec* descrito até o momento ^{24,25,26}.

Os diferentes tipos de SCC*mec* são classificados como: SCC*mec* tipo I (complexo gene *mec* classe B e *ccrA1B1*), SCC*mec* tipo II (complexo gene *mec* classe A e *ccrA2B2*), SCC*mec* tipo III (complexo gene *mec* classe A e *ccrA3B3*), SCC*mec* tipo IV (complexo gene *mec* classe B e *ccrA2B2*), e SCC*mec* tipo V (complexo gene *mec* classe C2 e *ccrC*), SCC*mec* tipo VI (complexo gene *mec* classe B e *ccrA4B4*), SCC*mec* tipo VII (complexo gene *mec* classe C1 e *ccrC*) e SCC*mec* tipo VIII (complexo gene *mec* classe A e *ccrA4B4*), SCC*mec* tipo IX (complexo gene *mec* classe C2 e *ccrA1B1*), SCC*mec* tipo X (complexo gene *mec* classe C1 e *ccrA1B6*) e SCC*mec* tipo XI (complexo gene *mec* classe E e *ccrA1B3*). A região

restante do SCCmec é chamada de região J (*Joining region*), e possui componentes não essenciais do cassete e podem carrear determinantes de resistência antimicrobiana adicionais ²⁴.

1.4 Desafios para o Controle de Infecção em Casas de Repouso

Até a década de 1980, os hospitais monopolizavam a assistência de média e alta complexidade. Não é de surpreender, portanto, que as medidas de controle de infecção fossem direcionadas a unidades hospitalares. Essa situação começa a se modificar nas décadas seguintes. Esse fenômeno foi mais acentuado nos Estados Unidos. Naquele país, a despeito do crescimento demográfico, as internações hospitalares foram reduzidas em 5% entre 1975 e 1995. Também houve decréscimo no tempo de permanência (36%) e nos procedimentos invasivos realizados em hospitais (27%)²⁷. A razão por trás desse fenômeno foi a proliferação de modalidades não hospitalares de assistência. Essas são variadas, incluindo (mas não se restringindo a) ambulatorios, hospitais-dia, atendimento domiciliar (*home care*) e instituições de longa permanência (com destaque para as ILPIs).

Nos últimos anos, portanto, diversos estudos têm focado os riscos infecciosos relacionados a casas de repouso para idosos. Parte desses riscos está associada ao maior uso de dispositivos invasivos nessas instituições, determinando infecções com determinantes epidemiológicos semelhantes aos observados em hospitais²⁸. Há também quadros de risco especial para ILPIs, tais como influenza²⁹ e gastroenterites³⁰. Por fim, o intenso uso de antimicrobianos trouxe à tona uma realidade antes quase restrita aos hospitais: a emergência e disseminação de microrganismos multidroga-resistentes (MDR) ³¹.

Entre os agentes MDR especialmente preocupantes, podemos listar o *Clostridium difficile*³², bacilos Gram-negativos³³ e o MRSA³⁴. Este último é particularmente preocupante, dada sua facilidade de disseminação e capacidade de causar doença invasiva grave, incluindo infecções de pele/partes moles, pneumonias e sepse³⁵. Seu controle representa um grande desafio, dada a dificuldade de implementação de medidas usualmente aplicadas em ambiente hospitalar, como as precauções de isolamento e o controle de antimicrobianos.

Os desafios para o controle de infecção em ILPIs são múltiplos, e inclui o subdimensionamento de profissionais (*understaffing*), a ausência de “expertise” no tema e pobre (ou nenhuma) retaguarda laboratorial^{27, 36}. Assim, o diagnóstico de infecção e/ou colonização é prejudicado, com grave retardo na instituição de medidas de tratamento e/ou prevenção. Acreditamos que a situação seja mais grave no Brasil, onde as Casas de repouso têm, em geral, poucos recursos. Esse aspecto foi um dos motivos que nos levaram a realizar o estudo aqui apresentado. Outras justificativas são apresentadas a seguir.

1.5 Justificativa do presente estudo

Até o momento, não existem estudos que quantifiquem o fenômeno da colonização por *S. aureus* como um todo, ou por MRSA em particular, em Casas de repouso no Brasil. Em parte, essa lacuna se deve ao fato de que a institucionalização de idosos ainda não é um fenômeno de magnitude comparável à observada nos Estados Unidos e nos países europeus. No entanto, ela tende a crescer – e com ela os desafios para o controle da circulação de patógenos relevantes (e multi-droga-resistentes). As “Casas de repouso” são, portanto, espaços intermediários entre a comunidade e os hospitais. Nosso estudo se propôs a avaliar a epidemiologia de um importante agente infeccioso nessa população fragilizada e dependente de cuidados.



Objetivos

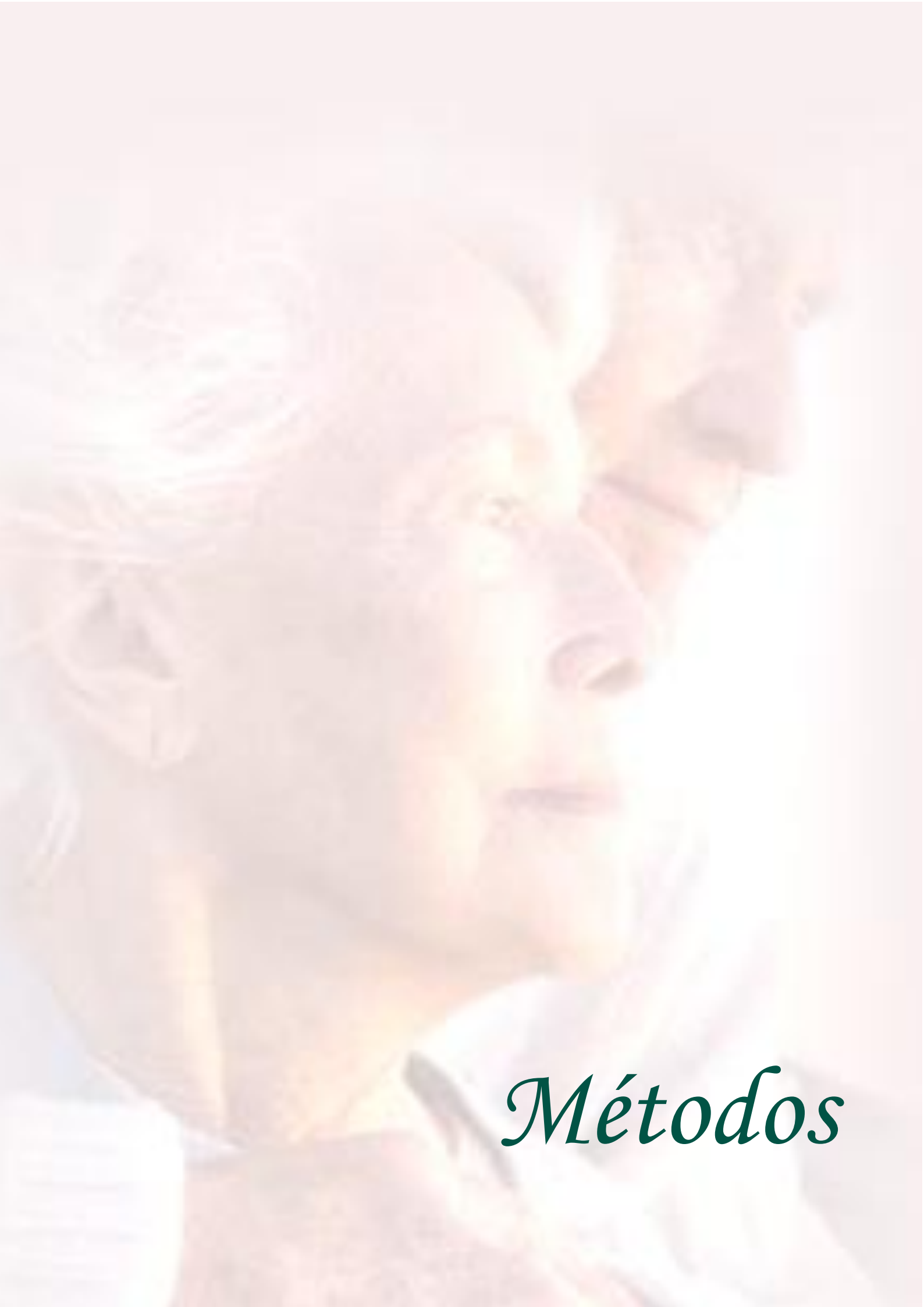
2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Identificar a prevalência, perfil clonal e os fatores associados à colonização nasal por *Staphylococcus aureus* resistente à metilina em idosos de Instituições de repouso da cidade de Bauru.

2.2 Objetivos específicos

- ✓ Identificar proporção de MRSA entre os isolados de *S. aureus* colonizantes de nasofaringe de idosos institucionalizados.
 - ✓ Analisar a relação entre comorbidades, internações prévias e uso de antimicrobianos e a colonização nasal por MSSA e MRSA.
 - ✓ Caracterizar por biologia molecular o Cassete cromossômico estafilocócico *mec* de isolados de MRSA identificados nas instituições.
 - ✓ Determinar a similaridade genética dos isolados, identificando cadeias de transmissão de cepas no interior das Casas de repouso.
-



Métodos

3. MÉTODOS

3.1 Desenho do estudo

Trata-se de um estudo epidemiológico observacional transversal, desenvolvido no município de Bauru, Estado de São Paulo. Este está localizado a noroeste da capital do estado (distanto desta, aproximadamente 326 km). O estudo foi realizado no período de junho de 2011 até agosto de 2012.

De acordo com o IBGE, a população do Município de Bauru em 2010 era de 343.937 habitantes. Realizado uma estimativa para o ano de 2013, calcula-se que haja aproximadamente 362.062 habitantes, distribuídos em área territorial de 667,684 km² atualmente³⁷.

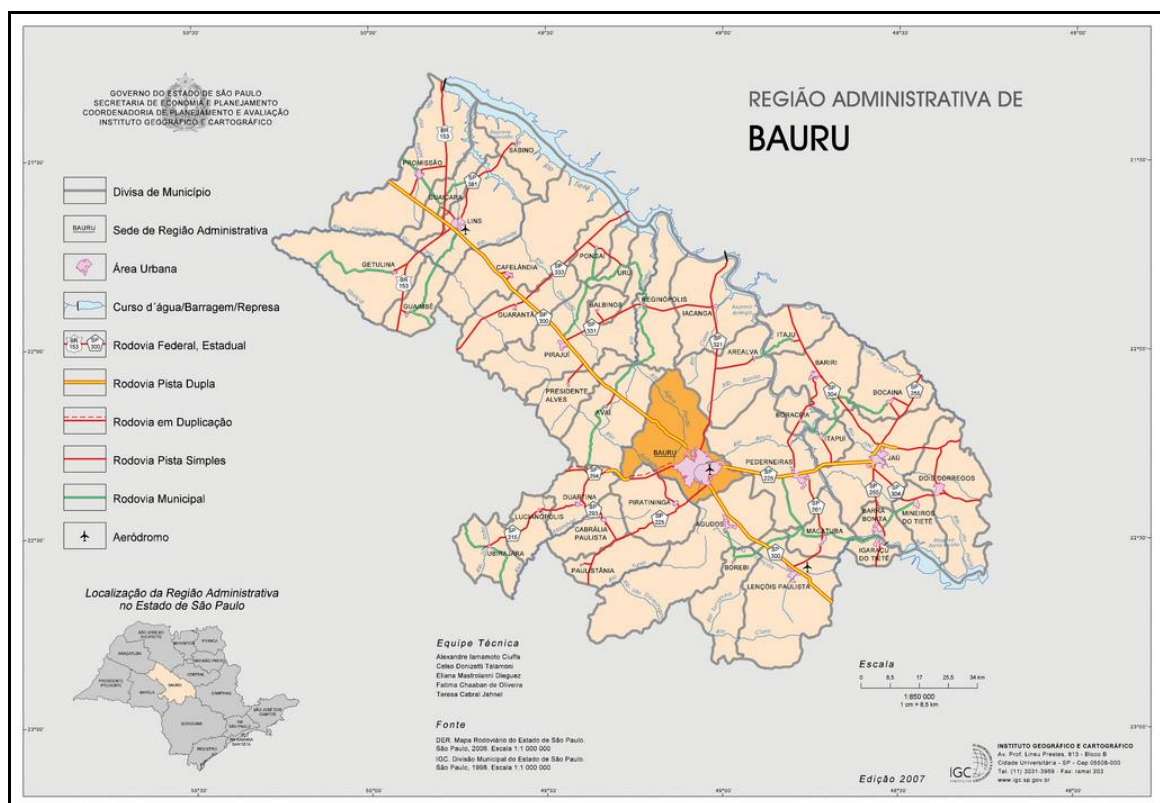


Figura 1. Região administrativa de Bauru, cidade-sede da pesquisa desenvolvida.

Foi realizado inquérito de prevalência abrangendo nove Instituições de longa permanência no município de Bauru-SP. A Secretaria Municipal de Saúde estima

entre 500 e 900 à população de idosos institucionalizados. Para estimar a amostra ideal para nosso estudo utilizamos os seguintes parâmetros:

- ✓ População de base (N): 900
- ✓ Margem de erro (d): 5%

Foi utilizada a fórmula em software OpenEpi (© Emory University, Atlanta, GA, USA): $n = [DEFF * Np(1-p)] / [(d^2 / Z^2 * 1 - \alpha / 2 * (N-1) + p * (1-p)]^{38}$.

A amostra estimada foi de 246 sujeitos. Por razões práticas, e para abranger o maior número de instituições possível, ela foi ampliada para 300. Por outro lado, uma vez que obtivemos exatamente 300 sujeitos em nove Casas de repouso e havia dificuldades administrativas em incluir outras duas (inicialmente previstas), foi ajustado para nove então, o total de instituições no estudo.

3.2 Critérios de inclusão/exclusão e recrutamento de sujeitos

Como critérios de inclusão e exclusão dos sujeitos, os idosos foram abordados e convidados a participar da pesquisa. Essa participação só foi confirmada, após assinatura do Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), de acordo com o *Anexo 01*. Para indivíduos com déficit cognitivo, foi solicitado o consentimento do responsável legal (ou na ausência deste) da instituição, conforme *Anexo 02*.

Foram incluídos todos os pacientes que consentiram em participar da pesquisa. Nos casos em que os idosos estavam impossibilitados de compreensão (ex. demência), estes foram incluídos mediante consentimento da pessoa responsável. Foram excluídos indivíduos institucionalizados há menos de 30 dias.

3.3 Aplicação de questionário

Antes da coleta de espécimes microbiológicos, foi aplicado questionário ao sujeito da pesquisa ou ao seu responsável (*Anexo 03*) levantando as seguintes informações:

- Gênero e idade;
 - Tempo de institucionalização;
 - Comorbidades (Definidas pelo CID10);
-

- Dispositivos invasivos (sonda naso-enteral, cateteres venosos, etc.);
- Internações recentes (últimos 6 meses);
- Doenças infecciosas atuais ou recentes e
- Uso de antimicrobianos (últimos 6 meses).

Outras avaliações foram realizadas em análise de prontuários (autorizada pelos pacientes ou seus responsáveis). Foi estimado o grau de impedimento funcional através da Escala de Karnofsky (*Anexo 04*)³⁹ e, para abordar a carga de comorbidades foi então aplicado o Índice de Charlson, conforme descrição do *Anexo 05*^{40,41}.

3.4 Procedimentos microbiológicos

3.4.1 Coleta de espécimes microbiológicas

Amostras da nasofaringe foram coletadas através de swabs. A técnica de coleta incluiu a umidificação do swab com solução fisiológica 0,9% (técnica estéril) e introdução em ambas às narinas, até a maior profundidade tolerável pelo sujeito da pesquisa, e rotação da haste pressionando gentilmente a extremidade contra a mucosa. Os swabs foram enviados em meio de transporte Stuart para o Laboratório de Microbiologia do Hospital Estadual Bauru, para realização de semeadura em placas contendo Ágar Sal Manitol, meio seletivo para estafilococos⁴². Após incubação à temperatura ótima de 37°C por 24 horas, as amostras foram submetidas ao procedimento de identificação dos micro-organismos isolados.

3.4.2 Identificação da espécie

Os microrganismos que se desenvolveram nas culturas foram submetidos à coloração de Gram, objetivando-se sua pureza e a observação de sua morfologia e coloração específica. Após a confirmação dessas características, foram feitas as provas de catalase e coagulase em tubo conforme preconizado por Koneman *et al*⁴².

Foram realizadas as provas adicionais de maltose e trealose, para diferenciação de outras espécies de estafilococos coagulase positiva.

3.4.3 Testes de suscetibilidade

Os testes de suscetibilidade antimicrobiana foram realizados para todos os isolados obtidos através de testes de disco difusão (*Método de Kirby-Bauer*) em ágar a partir de discos impregnados conforme critérios recomendados pelo *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI). As drogas utilizadas foram: Oxacilina (1µg) e Cefoxitina (30µg). As placas foram incubadas a temperatura de 35°C por 24 horas sendo a atividade do antimicrobiano avaliada pelo diâmetro do halo de inibição através de interpretação em base das normas estabelecidas pelo CLSI 2012⁴³.

As amostras obtidas e triadas foram encaminhadas ao Laboratório de Bacteriologia do Instituto de Biociências da UNESP de Botucatu, para confirmação dos mesmos seguindo então, para a detecção molecular das amostras.

3.4.4 Extração de DNA bacteriano

O ácido nucléico foi extraído a partir de cepas de *S. aureus* cultivadas em ágar sangue, inoculadas individualmente em Caldo infusão de cérebro e coração (BHI) e incubadas a 37°C por 24 horas. Para a extração foi utilizado o Kit Illustra (GE Healthcare) que consiste na digestão inicial das células de estafilococos com lisozima (10 mg/ml) e proteinase K (20 mg/ml). A seguir, 500µl da solução de extração foi adicionada à mistura e esta então, centrifugada a 5.000 x g por 1 minuto. Em seguida o sobrenadante foi transferido para a coluna GFX e centrifugado a 5.000 x g por 1 minuto. O líquido coletado foi descartado e 500µl da solução de extração foi adicionado novamente à coluna. Após a centrifugação e descarte do líquido coletado, 500µl da solução de lavagem foi adicionada à coluna, e esta submetida à centrifugação a 14.000 x rpm por 3 minutos. A coluna foi transferida para um tubo de 1,5 ml e 200µl de água Milli-Q aquecida a 70°C que foi utilizada para a eluição. As amostras foram centrifugadas novamente a 5.000 x g por 1 minuto, e a coluna de GFX desprezada. O DNA extraído foi guardado sob refrigeração a -20°C.

3.4.5 Detecção do gene *mecA* de resistência à meticilina

As reações de PCR para a detecção do gene *mecA* foram realizadas conforme os parâmetros descritos por Murakami *et al*⁴⁴. Em todas as reações realizadas foram utilizadas linhagens de referência internacional, como controle positivo (*S. aureus* ATCC 33591) e controle negativo (*S. aureus* ATCC 25923).

Tabela 3 - Oligonucleotídeos para a detecção do gene *mecA*

Primer	Sequência de nucleotídeos	Produto amplificado
<i>mecA1</i>	AAA ATC GAT GGT AAA GGT TGG	533 pb
<i>mecA2</i>	AGT TCT GCA GTA CCG GAT TTG	533 pb

Fonte: Murakami *et al.* (1991)

3.4.6 Determinação do tipo de SCC*mec* (*Staphylococcal Cassette Chromosome mec*)

A determinação do tipo de SCC*mec* foi realizada utilizando o método de reação de PCR Multiplex, conforme descrito por Oliveira & Lencastre⁴⁵ e atualizado por Milheiriço *et al*⁴⁶.

Como controle para a tipagem do SCC*mec* foram utilizadas as cepas COL para SCC*mec* tipo I; N315 para SCC*mec* tipo IA; PER34 para o SCC*mec* tipo II; AN546 para o SCC*mec* tipo III; HU25 para o SCC*mec* tipo IIIA e MW2 para o SCC*mec* tipo IV.

Tabela 4 - Oligonucleotídeos para a detecção do Cassete cromossômico estafilocócico *mec* (SCC*mec*) em *S. aureus*

Primer	Sequência de nucleotídeos 5'a 3'	SCC <i>mec</i> / Região J	Tamanho
dcs F2	5' – CATCCTATGATAGCTTGGTC – 3'	I, II, IV e VI, região J3	342
dcs R1	5' – CTAAATCATAGCCATGACCG – 3'		
<i>mecA</i> P4	5' – TCCAGATTACAACCTCACCAGG – 3'	Controle interno positivo	162
<i>mecA</i> P7	5' – CCACTTCATATCTTGTAACG – 3'		
cif2 F2	5' – TTCGAGTTGCTGGATGAAGAAGG – 3'	I, região J1	495
cif2 R2	5' – ATTTACCACAAGGACTACCAGC – 3'		
<i>mecI</i> P2	5' – ATCAAGACTTGCATTCAGGC – 3'	II e III, complexo <i>mec</i>	209
<i>mecI</i> P3	5' – GCGGTTTCAATTCACCTTGTC – 3'		
rif5 F10	5' – TTCTTAAGTACACGCTGAATCG – 3'	III, região J3	414
rif5 R13	5' – GTCACAGTAATCCATCAATGC – 3'		
<i>ccrC</i> F2	5' - G TACTCGTTACAATGTTTGG – 3'	V, complexo <i>ccr</i>	449
<i>ccrC</i> R2	5' – ATAATGGCTTCATGCTTACC – 3'		
kdp F1	5' – AATCATCTGCCATTGGTGATGC – 3'	II, região J1	284
kdp R1	5' – CGAATGAAGTGAAGAAAGTGG – 3'		
SCC <i>mec</i> V J1 F	5' - TTCTCCATTCTTGTTTCATCC – 3'	V, região J1	377
SCC <i>mec</i> V J1 R	5' – AGAGACTACTGACTTAAGTGG – 3'		
<i>ccrB2</i> F2	5' – AGTTTCTCAGAATTCGAACG – 3'	II and IV, complexo <i>ccr</i>	311
<i>ccrB2</i> R2	5' – CCGATATAGAAWGGGTTAGC – 3'		
SCC <i>mec</i> III J1 F	5' – CATTGTGAAACACAGTACG – 3'	III, região J1	243
SCC <i>mec</i> III J1 R	5' – GTTATTGAGACTCCTAAAGC – 3'		

Fonte: Oliveira & Lencastre (2002); Milheiriço et al (2007).

3.4.7 Visualização dos produtos amplificados

A eficiência das amplificações foi confirmada pela eletroforese da reação em gel de agarose 2% preparado em tampão Tris-Borato-EDTA (TBE) 1,0X.

Como padrão foi utilizado um marcador de peso molecular de 100 pb. O DNA foi corado com SYBR Safe e posteriormente fotografado sob transiluminação ultravioleta.

3.4.8 Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE)

A tipagem por PFGE dos isolados foi realizada segundo o protocolo modificado de McDougal *et al.* ⁴⁷.

As amostras foram colocadas em caldo BHI para crescimento durante 24 horas. Em um microtubo foi colocado 400µl da amostra crescida e centrifugada a 12.000 rpm por 50 segundos. Depois de desprezado o sobrenadante e adicionado 300µl de solução TE (10mM de Tris, 1mM EDTA [pH 8,0]). As amostras foram deixadas em banho-maria por 10 minutos a 37°C. Após agitação em vórtex, foram adicionados 5µl de Lisostafina (1mg/ml em 20mM de acetato de sódio [pH 4,5]) e 300µl de agarose *low melt*.

As amostras foram distribuídas nos moldes para plugues, após a solidificação foram colocadas em placa de 24 poços com 2 ml de solução EC (6mM Tris-HCl, 1M NaCl, 100mM EDTA, 0,5% Brij-58, 0,2% deoxicolato de sódio, 0,5% laurilsarcosil sódico) e incubadas à 37°C por no mínimo 4 horas. O EC foi retirado e os plugues lavados com 2 ml de TE quatro vezes à temperatura ambiente com intervalos de meia hora.

Para a restrição do DNA genômico foi utilizada a enzima Smal (Fast Digest Smal, Fermentas Life Science, Canadá). A eletroforese foi executada em aparelho CHEF-DR III System (BioRad Laboratories, EUA) em gel de agarose a 1% preparado com TBE 0,5M (Pulsed Field Certified Agarose, BioRad Laboratories, EUA) sob as seguintes condições de corrida: intervalos de tempo de pulso de 5 a 40 segundos por 21 horas; em rampa linear; 6V/cm; ângulo de 120°; 14°C; 0,5M TBE como tampão de corrida. Foi utilizado Lambda Ladder PFG Marker (New England BioLabs) como marcador molecular. O gel foi corado com GelRed (10.000X em água, Biotium, EUA) por 1 hora, e fotografado sob transiluminação UV.

A análise de similaridade foi realizada utilizando o software *BioNumerics*® (versão 7.1; Applied Maths, Bélgica). A criação do dendograma foi realizada pelo método UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*) com tolerância da posição das bandas e a otimização ajustadas para 1,25 e 0,5% respectivamente. O coeficiente de similaridade de Dice $\geq 80\%$ foi escolhido para determinação dos *clusters*.

3.5 Análise estatística

O banco de dados de questionários e resultados microbiológicos foi armazenado em EPI INFO 7 (© Centers for Diseases Control and Prevention, Atlanta, GA, USA) e analisado em SPSS 19.0 (© IBM, Armonk, NY, USA).

Para finalidade de análise, as casas de repouso foram classificadas conforme o número de sujeitos incluídos no estudo como: pequeno porte (menos que 20 idosos na instituição); médio porte (20 a 49) e grande porte (≥ 50 idosos). Foram calculadas taxas de prevalência para carreamento nasal de *S. aureus* e MRSA. Para expressão gráfica dos dados de prevalência foram construídos gráficos tipo forest plot utilizando ferramenta livre do site: http://www.stattools.net/ForestPlot_Pgm.php. Boxplots expressando a distribuição de valores das variáveis contínuas nos estratos de porte foram gerados no software SPSS 19.0 (©IBM, Armonk, NY, USA). A seguir, foram avaliados os fatores associados ao carreamento nasal de *S. aureus* e MRSA. Para finalidade prática definitiva, consideramos MRSA aqueles isolados de *S. aureus* em que foi identificada a presença do gene codificador da resistência (*mecA*) por meios moleculares.

A análise se iniciou com etapa univariada. Para associar variáveis preditoras e desfechos (colonização por *S. aureus* ou MRSA) foram utilizados os testes do Chi-quadrado, Exato de Fisher, T de Student e U de Mann-Whitney, quando indicados. A seguir, foram construídos diversos modelos de regressão logística, para testar relações multivariadas. Utilizamos um critério de seleção de variáveis por avanços (*forward selection*) conforme significância. Critérios para inclusão e exclusão nos modelos foram p-valores de 0,05 e 0,1 respectivamente. Um p-valor de 0,05 foi utilizado como limite final de significância.

3.6 Questões éticas

- ✓ A pesquisa atendeu as normas da Resolução 196/96, tendo sido apreciada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Lauro de Souza Lima / C.E.P. número 029/2010 e protocolo E-020/10 em 03 de novembro de 2010 (*Anexo 06*).

- ✓ *Autonomia e confidencialidade:* Os sujeitos foram incluídos na pesquisa após assinatura do Termo de consentimento livre e esclarecido (*Anexo 01* ou *02*). A total confidencialidade dos dados foi garantida a todos os sujeitos, bem como a possibilidade de retirar-se da pesquisa se achar conveniente.

 - ✓ *Benefícios individuais:* Os responsáveis das ILPIs foram orientados a descolonizar residentes carreadores de MRSA com emprego de Mupirocina na mucosa nasal, duas vezes ao dia, por 5 dias consecutivos, incluindo banhos com solução degermante de Clorexidina por esse mesmo período (*Anexo 07*). Também foi enviada orientação por escrito de que, em caso de infecções nesses sujeitos, fosse considerada a possibilidade de ser o MRSA o agente etiológico. Assim, acreditamos ter cumprido nossa função de retornar benefícios diretos aos sujeitos da pesquisa.
-



Resultados

4 RESULTADOS

4.1 Características das ILPIs incluídas no estudo.

As Casas de repouso estudadas apresentavam grande diversidade de estrutura física e recursos humanos, que podem ter interferido nos resultados. Assim, antes de prosseguirmos, acreditamos ser útil a apresentação das características gerais das Casas de repouso (Tabela 5). Vale ressaltar que não se fez uma avaliação metodologicamente direcionada da estrutura (o que não fazia parte dos objetivos originais do estudo), mas ainda assim alguns aspectos relevantes merecem destaque.

Também optamos por inverter a ordem tradicional dos resultados e adiantar dados de prevalência de colonização por *S. aureus* e MRSA por instituição. Acreditamos que a comparação com a estrutura e recursos facilita a compreensão das informações apresentadas a seguir.

As ILPIs estudadas são todas privadas, com exceção da Casa de repouso 'A' que é filantrópica e não possui fins lucrativos e, a Casa de Repouso 'I' que os idosos adquiriram como renda, um salário mínimo pela Lei Orgânica da Assistência Social, e são atendidos integralmente pela mesma, e são auxiliados também com a ajuda de voluntários.

A Casa de repouso intitulada 'A' foi considerada como Instituição padrão/referência. Lá, identificamos prevalência de 13.0% de *S. aureus*, sendo que nenhum dos 115 pacientes estava colonizado por MRSA.

Além de conter um número elevado de quartos, outras características são vistas como favoráveis: presença de visitas médicas (Clínico geral e Psiquiatra), assim como a de outros profissionais. O idoso é convidado a participar de atividades comunitárias e individuais. Possuem ajuda rotineira de voluntariado, participando ativamente de festas, cinema, igreja, corte de cabelo, manicure, entre outras. É válido salientar que a instituição conta com excelente higiene e assistência humanizada.

Tabela 5 - Características das Instituições de Longa Permanência para Idosos (Casas de repouso) incluídas no estudo.

Instituição de Longa Permanência	A	B	C	D	E
Número de idosos	115	6	16	14	29
Prevalência <i>S. aureus</i> (%)	13.0%	0.0%	50.0%	14.3%	27.6%
Prevalência MRSA (%)	0.0%	0.0%	18.8%	7.1%	10.3%
SCCmec	II e IV	II	NT e II
Cuidadores / Total	13	3	5	6	7
Cuidadores / Turno	Período de 12 horas x 36 horas de descanso todos os funcionários	Manhã e Tarde=3, Noite=1	2 pessoas por turno e 1 no período noturno.	Manhã e Tarde=5; Noite=1	5 durante o dia (Turno de 12 horas trabalhadas e 36 horas de descanso) e no período noturno 2 funcionários.
Leitos / Quartos	Até 4 leitos por quarto	8 quartos com 2 leitos, 1 com 3 leitos e 1 quarto com 4 leitos	Entre 2 a 3 leitos por quarto.	8 quartos com 2 leitos, 1 com 3 leitos e 1 quarto com 4 leitos.	15 quartos com 2 leitos e 2 quartos são individuais com apenas 1 leito.
Número de quartos	57	10	6	10	17
Visitas externas	Quinzenalmente	À vontade	À vontade	À vontade	14 às 17 horas
Visitas médicas	6 horas mensais (Clínico geral) e 2 horas semanais (Psiquiatra)	Quinzenalmente	Quando necessário	Cada 15 dias	Quando necessário
Outros profissionais	Psicólogo, fisioterapeuta e nutricionista.	Fisioterapeuta diariamente	Quando necessário	Fisioterapeuta diariamente	Quando necessário
Atividades comunitárias	Banho de sol, TV, Cinema, feira livre, bailes, festas de aniversário mensalmente, entre outras.	Banho de sol, TV, atividades em grupo e/ou individuais com fisioterapeuta.	Banho de sol e TV.	Banho de sol, TV, atividades em grupo e/ou individuais com fisioterapeuta.	Banho de sol e TV.

Tabela 5 (Continuação). Características das Instituições de Longa Permanência para Idosos (Casas de repouso) incluídas no estudo.

Instituição de Longa Permanência	F	G	H	I
Número de idosos	51	14	14	39
Prevalência <i>S. aureus</i> (%)	14.8%	21.4%	23.1%	17.9%
Prevalência MRSA (%)	1.9%	7.1%	0.0%	5.1%
SCC <i>mec</i>	II	II	...	IV e NT
Cuidadores / Total	8	3	6	11
Cuidadores / Turno	Manhã e tarde=5 e no período noturno=3	Manhã=3, Tarde=2 e Noite=2 (Obs.: Os cuidadores são a família do proprietário).	12 horas trabalhadas por 36 horas de descanso.	Todos os funcionários 12 horas trabalhadas por 36 horas de descanso.
Leitos / Quartos	Quartos com 4, 3 e 2 leitos.	1 quarto com 3 leitos, 1 com 4 leitos, e 2 quartos com 2 leitos.	2 leitos por quarto	Em média 2 leitos por quarto. Apenas 1 quarto possui 9 leitos, onde ficam os pacientes acamados.
Número de quartos	21	4	8	29
Visitas externas	À vontade	À vontade	À vontade	14 às 16 horas diariamente
Visitas médicas	Infectologista 1vez por semana	2 vezes ao mês	Geriatra diariamente.	Médico vascular quinzenalmente
Outros profissionais	Fisioterapeuta 3 vezes na semana	Fisioterapeuta 3 vezes por semana	Fisioterapeuta, nutricionista e psicóloga.	Estagiários em fisioterapia (semanal), psicólogos e assistentes sociais.
Atividades comunitárias	Banho de sol, TV, jogos e uma vez por mês promovem festas com bailes.	Jogos, banhos de sol e TV.	Banhos de sol, TV, atividades individuais e/ou comunitárias.	Banhos de sol, TV, igreja interna, artesanato e atividades externas como teatro e musicais.

MRSA, *S. aureus* resistente à metilina; SCC*mec*, Cassete cromossômico estafilocóccico *mec*.

Na ILPI nomeada como “B” não se identificou carreamento para *S. aureus* ou MRSA. Deve ser salientada a boa higiene da instituição, seguida por atividades comunitárias realizadas por um fisioterapeuta diariamente. A instituição possui um número pequeno de idosos, e não possui aparência de Casa de repouso, mas sim, de uma residência familiar.

A Instituição ‘C’ apresentou proporção elevada de pacientes colonizados por *S. aureus* e MRSA. Estes carreamos SCCmec II ou IV (ver adiante). Nota-se que nesta Casa de repouso não há regras com relação aos leitos nos quartos e visitas externas. Os idosos não participam de atividades externas como forma de integração, e vivem realmente como se fossem em um internato. A Casa de repouso não possui higiene adequada, tendo em vista, que a falta de higiene e o número reduzido de funcionários (onde trabalham em outras instituições) são fatores que realmente devem ser levados em consideração.

Na instituição ‘D’ foi encontrado o MRSA identificado carreamo o SCCmec II (de origem tipicamente hospitalar). Sua estrutura física é grande, acolhedora e aparentemente possui boa higiene. Uma exigência da Casa de repouso é a de receber apenas mulheres e que, as mesmas não sejam acamadas, uma vez que isso exigiria mais atenção e maior número de funcionários.

A Instituição ‘E’ não possui estrutura física suficiente para que os idosos possam ter atividades extras como jogos, bailes, etc. A Casa de repouso tem boa higiene, porém característica estrutural de alojamento.

A Casa de repouso ‘F’ tem como diferencial a presença semanal de um Médico Infectologista. Possuem atividades comunitárias e individuais rotineiramente. Possui boa higiene e estrutura física simples, porém grande, a fim de que os idosos possam se interagir mutuamente.

A ILPI ‘G’ não possui regra para visitas externas, e os cuidados aos idosos são realizados pelos proprietários (família constituída por pai-mãe-filho). É uma instituição que possui bons padrões de higiene e estrutura física, e como atividades comunitárias e individuais, a que prevalece é tomar banho de sol e assistir televisão.

A Casa de repouso ‘H’ possui um Médico Geriatra à disposição onde é auxiliado por outros profissionais como fisioterapeuta, nutricionista e psicóloga. Apresenta boa higiene visivelmente.

Na instituição “I” existe espaço suficiente para que os idosos se interajam. Para subsidiar seus gastos, contam com a ajuda de voluntários, da aposentadoria

dos idosos e, anualmente um Churrasco que é divulgado em toda a cidade e região para arrecadação de dinheiro para a manutenção da Casa de abrigo. As atividades comunitárias são variadas e a higiene é considerada razoável.

4.2 Prevalência de *S.aureus* e MRSA na população geral do estudo

Obeve-se um total de 300 amostras provenientes de idosos oriundos de nove ILPIs no município de Bauru-SP. Dos espécimes analisados, 52 foram identificados como *S. aureus* (Figura 2). Constatou-se, portanto, prevalência de carreamento nasal de *S. aureus* em 17,33% (IC95%=13,32%-22,20%). Já o carreamento de MRSA (conforme demonstrado nos itens abaixo) foi caracterizado em 11 sujeitos, correspondendo então à prevalência de 3,67% (IC95%=1,94%-6,65%).

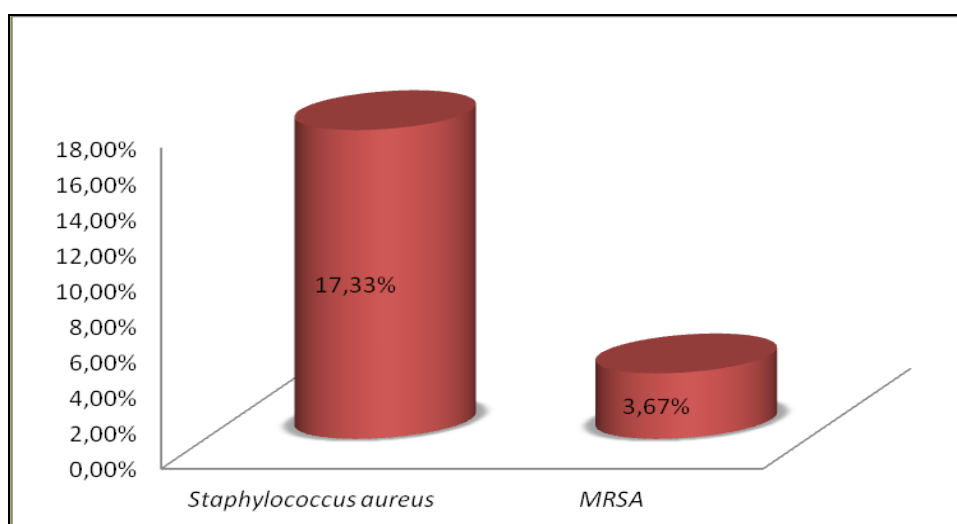


Figura 2 - Prevalência de *Staphylococcus aureus* como um todo e MRSA na população do estudo.

4.3 Fatores de risco para colonização nasal por *S. aureus* e MRSA

Os fatores de risco para colonização nasal por *S. aureus* e MRSA identificados em análise univariada e são apresentados nas **Erro! Fonte de referência não encontrada.5** e **Erro! Fonte de referência não encontrada.6**.

Na análise multivariada para *S. aureus* tiveram significância as Instituições de pequeno e médio porte, assim como internações anterior correspondente a menos de 6 meses.

4.4 Determinação da sensibilidade *in vitro* aos antimicrobianos

Todas as 52 amostras de *S. aureus* foram submetidas aos testes de suscetibilidade antimicrobiana utilizando as drogas Oxacilina (1 μ g) e Cefoxitina (30 μ g). O método de Kirby-Bauer revelou 11 amostras resistentes de acordo com o CLSI.



Figura 3 - Demonstração da sensibilidade à oxacilina com discos de cefoxitina (30 μ g) e oxacilina (1 μ g) pelo Método de Kirby-Bauer em *S. aureus* isolados de idosos mantidos em Instituições de longa permanência.

4.5. Detecção do gene *mecA* de resistência para meticilina

Dos 300 isolados foram encontradas 52 amostras de *S. aureus* e dessas, 11 possuem a presença do gene *mecA* (confere resistência a β -lactâmicos, permitindo

que a bactéria continue a sintetizar a parede bacteriana), conforme apresentado na figura 4 através da técnica de PCR segundo Murakami *et al.*³⁴.

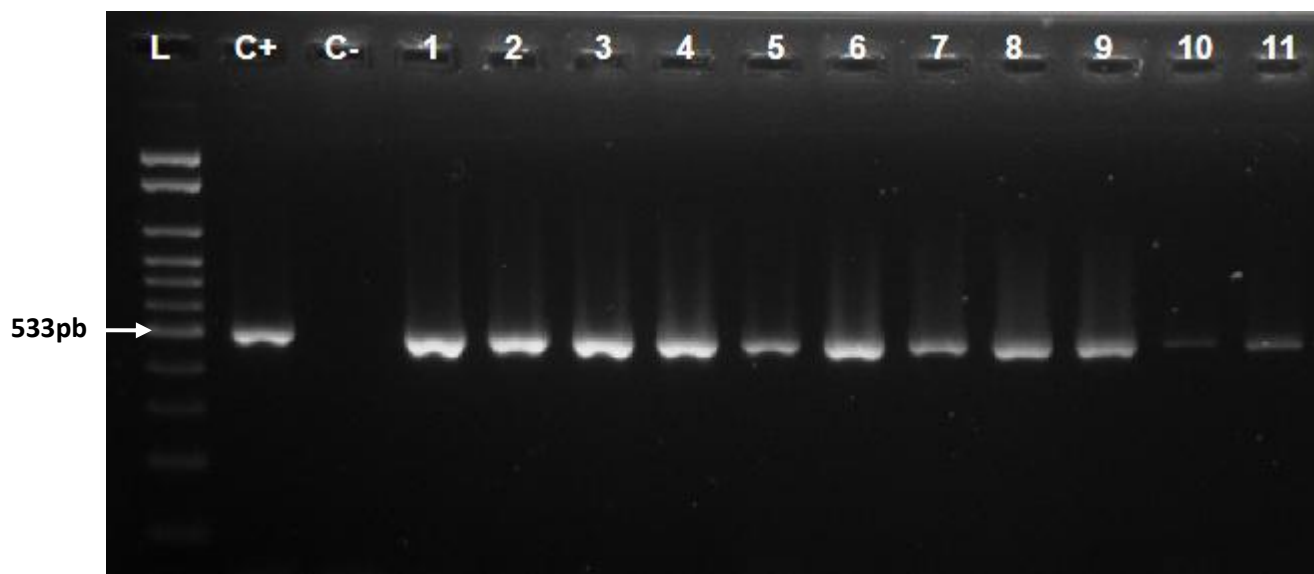


Figura 4 - Eletroforese em gel de agarose 2% (corado com SYBR® Safe) evidenciando amostras de *Staphylococcus aureus* positivas para o gene *mecA*: L: Ladder 100pb; C+: Controle positivo da reação; C-: Controle negativo; Amostras positivas: 1-11.

4.6 Determinação do tipo de SCCmec

Das 52 amostras de *S. aureus* estudadas, 21,15% eram carreadoras do gene *mecA*, sendo detectados 6 isolados albergando o SCCmec tipo II (considerado HA-MRSA) em 5 Instituições de longa permanência diferentes, 2 carreado o SCCmec tipo IV (considerado CA-MRSA) e 3 isolados não foram tipados pela técnica utilizada Tabela 6.

Tabela 6 - Caracterização do SCCmec em isolados de MRSA residentes em ILPIs.

SCCmec	Número de idosos	ILPIs
II	6	C, D, E, F, G
IV	2	C, I
NT*	3	A, E, I

Obs.: NT*=Não tipável pela técnica de Milheirço *et al.*³⁶ utilizada no estudo.

4.7 Identificação clonal dos MRSA

Foi realizada tipagem por PFGE das 11 amostras de MRSA, e a análise do perfil de macrorrestrrição do DNA cromossômico dos isolados provenientes das ILPIs permitiu identificar a presença de 3 *clusters* demonstrado no dendrograma abaixo:

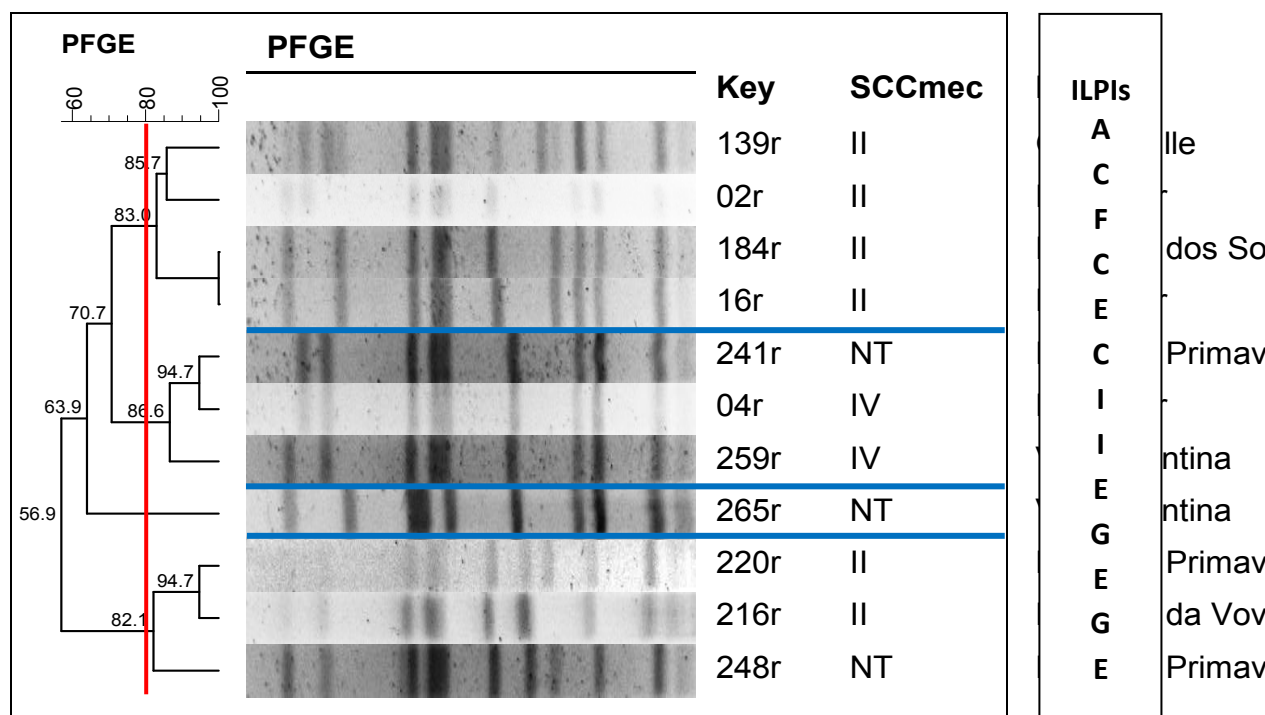


Figura 5 - Dendrograma gerado pela análise Dice/UPGMA (Bionumerics® Applied Maths) de MRSA carregados por idosos mantidos em ILPIs.

É interessante notar que, partindo de um limite de similaridade de 80%, encontramos amostras semelhantes em diferentes ILPIs, o que demonstra a circulação de *clusters* entre diferentes unidades.

O primeiro *cluster* demonstra que foi encontrado 4 pacientes com o SCCmec II (tipicamente hospitalar) em instituições diferentes (D, C [2 vezes encontrado] e F) com similaridade de 83%.

No segundo *cluster* foi encontrado 2 pacientes carregando o SCCmec tipo IV (considerado comunitário), e localizados em 2 ILPIs diferentes (C e I). No mesmo *cluster* 1 SCCmec encontrado na instituição E, não foi tipável pela técnica de Milheiriço *et al*³⁶. Não se pode afirmar o SCCmec, porém é válido ressaltar que foi obtido similaridade de 94,7% com o SCCmec IV da instituição C.

Já no último *cluster* foi encontrado 3 SCCmec com 82,1% de similaridade e, 2 deles são pertencentes ao SCCmec II tipicamente hospitalar. O terceiro SCCmec não foi tipável pela técnica de Milheiriço *et al*³⁶, mas ressaltamos que foi obtido similaridade com o SCCmec II das duas instituições anteriores com 94,7%.

4.8 Variação da prevalência nas Casas de repouso.

A prevalência de carreamento de *S. aureus* nas Casas de repouso do estudo variou de 0 a 50,0%. Para MRSA, essa variação se deu entre 0 e 18 % (Tabela 7). Quando comparadas as Instituições B a I com a Instituição A (Padrão/referência), observamos diferença significativa somente para instituição C, embora quando comparamos a gravidade dos residentes (estimada pelo índice de comorbidades de Charlson) entre as instituições de porte diferente, não observamos diferenças significantes (Figura 4).

Tabela 7 - Prevalência de *S. aureus* e MRSA nas Casas de repouso no estudo.

ILPI	Porte	Número de Sujeitos	Sexo Feminino (%)	Idade*	Escala de Karnofsky*	Índice de Charlson*	<i>S. aureus</i>	MRSA
A	Grande	115	44.3%	67 (60-94)	60 (40-100)	1 (0-6)	13.0%	0.0%
B	Pequeno	6	66.7%	82 (74-89)	80 (30-90)	2 (0-4)	0.0%	0.0%
C	Pequeno	16	62.5%	88 (71-103)	50 (40-100)	2 (0-5)	50.0%**	18.8%
D	Pequeno	14	100.0%	84.5 (62-96)	50 (40-100)	2 (1-4)	14.3%	7.1%
E	Médio	29	79.3%	82 (60-96)	60 (40-70)	2 (0-6)	27.6%	10.3%
F	Grande	54	75.9%	76 (60-100)	70 (40-100)	2 (0-6)	14.8%	1.9%
G	Pequeno	14	64.3%	82 (60-91)	60 (30-100)	2 (1-4)	21.4%	7.1%
H	Pequeno	13	92.3%	83 (71-98)	60 (30-90)	3 (0-5)	23.1%	0.0%
I	Médio	39	46.3%	78 (60-104)	50 (40-90)	1 (0-8)	17.9%	5.1%
Total	...	300	60.7%	76 (60-104)	60 (30-100)	2 (0-8)	18.0%	4.0%

* Dados apresentados em mediana (limite mínimo e máximo).

** Nota-se que a prevalência foi significativamente maior, quando comparada à padrão (Instituição A): OR=6,67; IC95%=2,17-20,44; p<0,001. Não houve outras diferenças significantes.

Na Tabela 7 é evidenciado que na Instituição C, considerada pequeno porte (<20 sujeitos) foi obtido um número elevado de *S. aureus* e MRSA. Houve prevalência de 50.0% para pacientes colonizados por MRSA e 18.8% com pacientes colonizados por *S. aureus*. Fazendo um comparativo com a Instituição A, onde possui 115 idosos resultou-se em apenas 0,9% de MRSA e 13.0% de *S. aureus*.

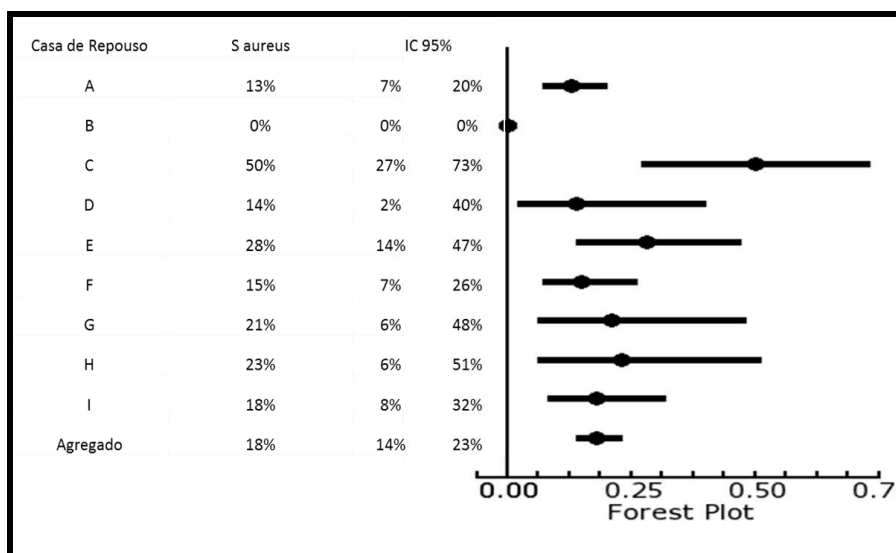


Figura 6 - Forest plot mostrando resultados de prevalência de colonização por *Staphylococcus aureus* em Casas de repouso de Bauru (SP). Os dados são mostrados em escala linear com intervalo de confiança.

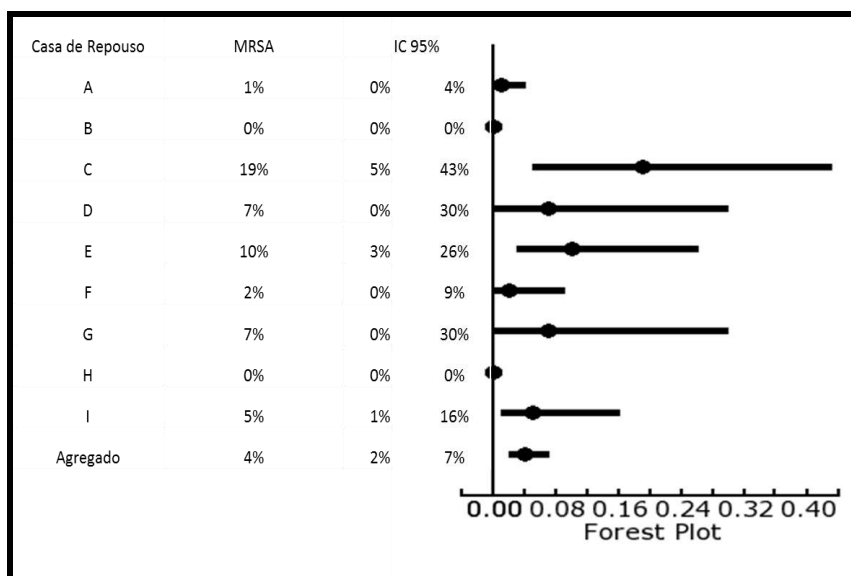


Figura 7 - Forest plot mostrando resultados de prevalência de colonização por MRSA em Casas de repouso de Bauru (SP). Os dados são mostrados em escala linear com intervalo de confiança.

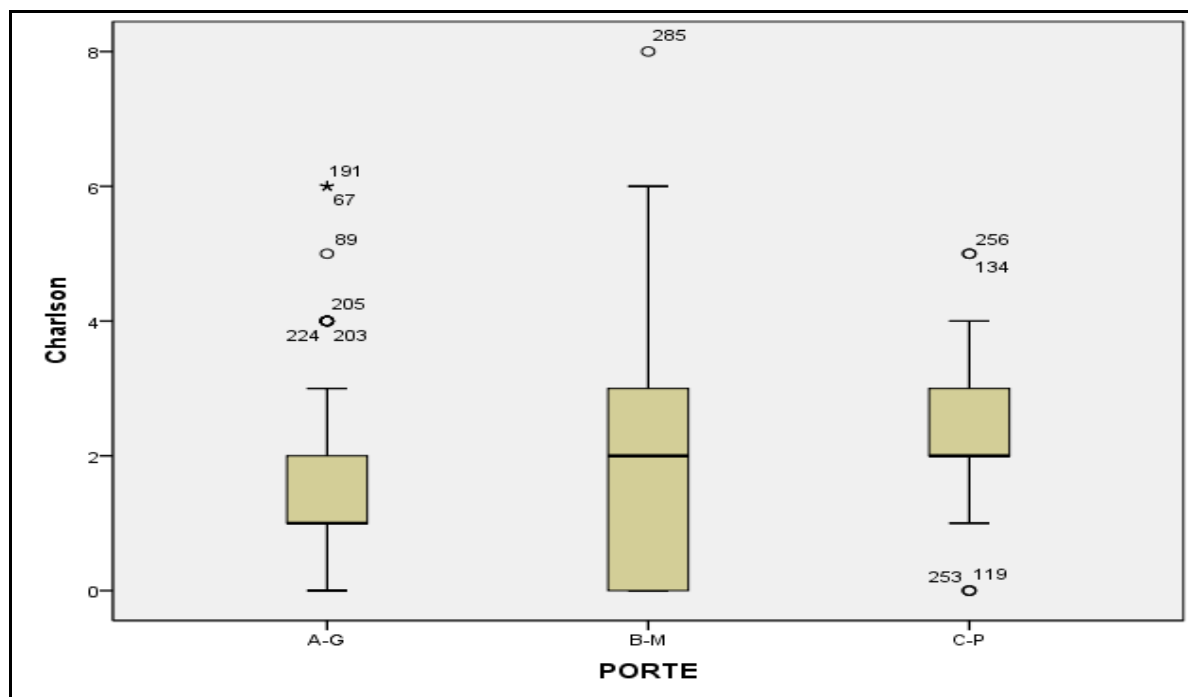


Figura 8 - Boxplot com comparação de mediana e variação do índice de comorbidades de Charlson (marcador de gravidade) entre residentes de Casas de repouso de diferente porte no município de Bauru-SP. Obs.: Asteriscos e círculos mostram sujeitos fora do padrão usual. (G, grande porte; M, médio porte; P, pequeno porte).

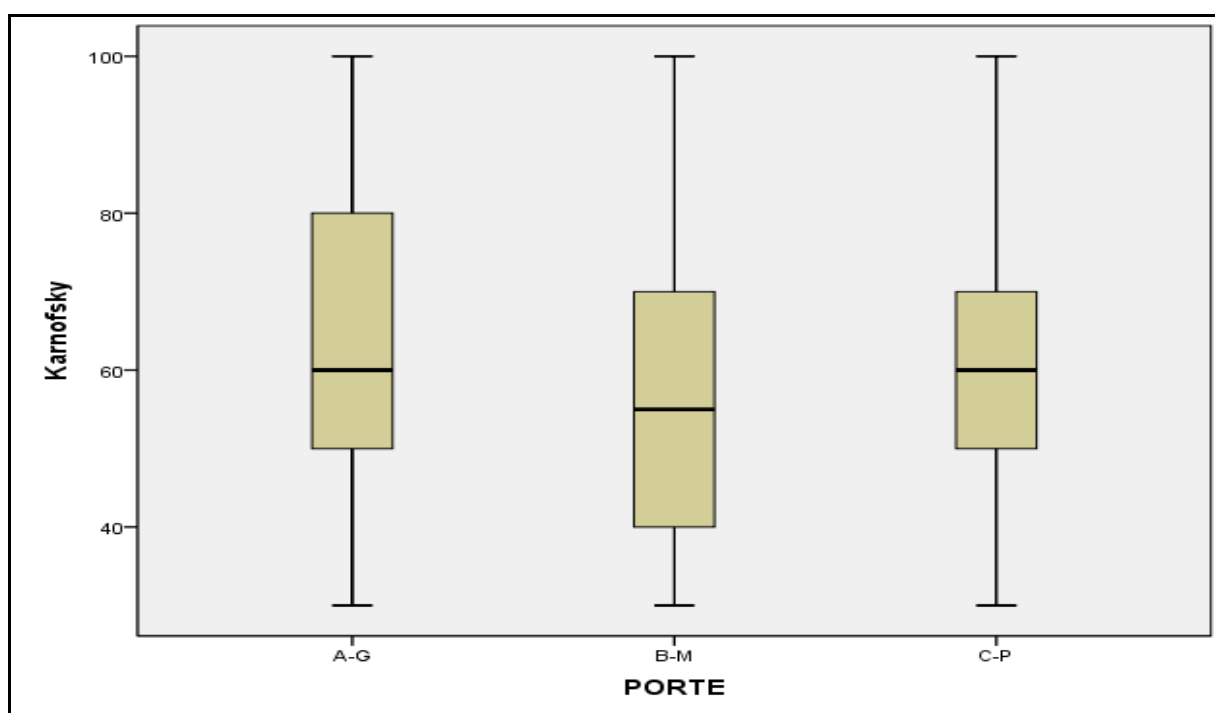


Figura 9 - Boxplot com comparação de mediana e variação da pontuação na Escala de Karnofsky (marcador de dependência) entre residentes de Casas de repouso de diferente porte no município de Bauru-SP. Obs.: A-G=Grande porte; B-M=Médio porte; C-P=Pequeno porte.

4.9 Fatores de risco para colonização nasal por *S. aureus* e MRSA

As Tabelas 8 e 9 apresentam análises uni e multivariadas de fatores associados à colonização nasal por *S. aureus* como um todo e MRSA, respectivamente. A idade avançada (OR para cada ano adicional de idade=1,03, IC95%=1,01-1,06; p=0,02) e a internação recente em hospitais (OR=3,75, IC95%=1,63-8,61; p=0,002) foram preditores independentes para colonização por *S. aureus* como um todo. Os fatores associados à colonização por MRSA foram a residência em instituições de pequeno (OR=10,94; IC95%=1,91-100,46; p=0,03) ou médio porte (OR=11,11; IC95%=1,21-102,17; p=0,03) e o antecedente de internação hospitalar (OR=10,05; IC95%=2,52-40,06; p=0,001).

Tabela 8 - Fatores associados ao carregamento nasal de *Staphylococcus aureus* em residentes de Casas de repouso no município de Bauru-SP

Fatores de risco	ANÁLISE UNIVARIADA				ANÁLISE MULTIVARIADA	
	<i>S. aureus</i> (n=52)	Negativos (n=248)	OR (IC95%)	p	OR (IC95%)	p
Porte da instituição						
Grande (padrão)	23 (42,6)	146 (59,3)	1,0	...		
Médio	15 (27,8)	53 (21,7)	1,76 (0,87-3,70)	0,12		
Pequeno	16 (29,6)	47 (19,1)	2,16 (1,05-4,43)	0,03		
Dados demográficos						
Gênero feminino	37 (68,5)	145 (58,9)	1,52 (0,81-2,84)	0,19		
Idade mediana (IQ)	79 (70-87)	75 (66-82)	...	0,01	1,03 (1,01-1,06)	0,02
Tempo de residência em meses, mediana (IQ)	34,5 (12-85)	48 (12-182)	...	0,13		
Dados clínicos & comorbidades						
Escala de Karnofsky, mediana (IQ)	50 (40-70)	60 (50-80)	...	0,07		
Índice de Charlson, mediana (IQ)	2 (1-3)	2 (0-2)	...	0,82		
Doença cardíaca	5 (9,3)	22 (8,9)	1,04 (0,38-2,88)	0,94		
Doença pulmonar	2 (3,7)	10 (4,1)	0,91 (0,19-4,26)	0,90		
Doença renal	1 (1,9)	2 (0,8)	2,30 (0,20-25,86)	0,48		
Diabetes mellitus	9 (16,7)	44 (17,9)	0,91 (0,41-2,02)	0,83		
Doença do SNC	25 (46,3)	95 (38,6)	1,37 (0,75-2,48)	0,29		
Demência	29 (53,7)	156 (63,4)	0,67 (0,37-1,21)	0,18		
Neoplasia sólida	3 (5,6)	15 (6,1)	0,91 (0,25-3,25)	0,87		
Aids	0 (0,0)	0 (0,0)	0,0 (...)	0 (0,0)		
Procedimentos terapêuticos no último ano						

Internação em hospital	12 (22,2)	16 (6,5)	4,10 (1,81-9,30)	<0,001	3,75 (1,63-8,61)	0,002
Cirurgia	2 (3,7)	13 (5,3)	0,68 (0,15-3,14)	0,47		
Uso de antibióticos (qualquer classe)	12 (22,2)	55 (22,4)	0,99 (0,49-2,14)	0,98		
Antibióticos β-lactâmicos	9 (16,7)	24 (9,8)	1,85 (0,81-4,24)	0,16		
Quinolonas	4 (7,4)	24 (9,8)	0,74 (0,25-2,28)	0,59		
Macrolídeos	1 (1,9)	10 (4,1)	0,44 (0,06-3,55)	0,43		
Outras classes de antimicrobianos	4 (7,4)	9 (3,7)	2,11 (0,62-7,11)	0,19		
Sonda nasoenteral	2 (3,9)	6 (2,4)	1,54 (0,60-7,84)	0,64		
Sonda vesical de demora	3 (5,7)	11 (4,5)	1,27 (0,34-0,70)	0,72		
Infecções no último ano						
Pele	8 (21,1)	46 (17,6)	1,25 (0,54-02,91)	0,60		
Pneumonia	3 (5,7)	51 (6,5)	0,85 (0,24-3,01)	1,00		

Obs.: Todos os dados estão expressos em números (%), exceto quando especificado.

OR, Odds Ratio; IC, Intervalo de Confiança; IQ, interquartis (valores dos quartis 25% e 75% da distribuição das variáveis); SNC, Sistema nervoso central.

Tabela 9 - Fatores associados ao carreamento nasal de MRSA em residentes de casas de repouso no município de Bauru-SP (Análises uni e multivariadas).

Fatores de risco	ANÁLISE UNIVARIADA				ANÁLISE MULTIVARIADA	
	MRSA (n=11)	Negativos (n=289)	OR (IC95%)	p	OR (IC95%)	p
Porte da instituição						
Grande (padrão)	1 (9,1)	168 (58,13)	1,0	...	1,0	...
Médio	5 (45,5)	63 (21,8)	13,33 (1,53-116,22)	0,12	11,11 (1,21-102,17)	0,03
Pequeno	5 (45,5)	58 (20,07)	14,48 (1,66-126,39)	0,02	10,94 (1,91-100,46)	0,03
Dados demográficos						
Gênero feminino	6 (54,6)	176 (60,9)	0,78 (0,23-2,58)	0,6		
Idade, mediana (IQ)	84 (82-91)	75 (66,9-83,9)	...	0,001		
Tempo de residência em meses, mediana (IQ)	36 (18-48)	48 (12-188)	...	0,3		
Dados clínicos & comorbidades						
Escala de Karnofsky, mediana (IQ)	40 (45-90)	60 (55-70)	...	0,1		
Índice de Charlson, mediana (IQ)	2 (0-3)	2 (1,5-2,5)	...	0,8		
Doença cardíaca	0 (0,0)	27 (9,3)	0,00 ...	0,3		
Doença pulmonar	0 (0,0)	12 (4,2)	0,00 ...	0,5		
Doença renal	0 (0,0)	3 (1,0)	0,00 ...	0,7		
Diabetes mellitus	0 (0,0)	53 (18,3)	0,00 ...	0,1		
Doença do SNC	5 (45,5)	115 (39,8)	1,26 (0,38-4,23)	0,7		
Demência	7 (63,6)	178 (61,6)	1,09 (0,31-3,81)	0,9		
Neoplasia sólida	2 (18,2)	16 (5,5)	3,79 (0,76-19,03)	0,08		
Aids	0 (0,0)	0 (0,0)	0,00 ...	0 (0,0)		

Procedimentos terapêuticos no último ano

Internação em hospital	5 (45,5)	23 (8,0)	9,64 (2,73-34,61)	< 0,001	10,05 (2,52-40,06)	0,001
Cirurgia	0 (0,0)	15 (5,2)	0,0 ...	0,4		
Uso de antibióticos (qualquer classe)	3 (27,3)	64 (22,15)	1,31 (0,34-5,11)	0,7		
Antibióticos β-lactâmicos	1 (9,1)	32 (11,1)	0,80 (0,10-6,48)	0,8		
Quinolonas	2 (18,2)	26 (9,0)	2,25 (0,46-10,96)	0,3		
Macrolídeos	0 (0,0)	11 (3,8)	0,0 ...	0,5		
Outras classes de antimicrobianos	1 (9,1)	12 (4,5)	2,30 (0,27-19,53)	0,4		
Sonda nasointestinal	1 (9,1)	7 (2,4)	4,03 (0,45-35,93)	0,2		
Sonda vesical de demora	1 (9,1)	13 (4,5)	1,89 (0,23-15,81)	0,4		

Infecções no último ano

Pele	1 (9,1)	37 (12,8)	0,68 (0,09-5,48)	0,7
Pneumonia	1 (9,1)	18 (6,2)	1,51 (0,18-12,42)	0,7

Obs.: Todos os dados estão expressos em número (%), exceto quando especificado.

OR, Odds Ratio; IC, Intervalo de Confiança; IQ, interquartil (valores dos quartis 25% e 75% da distribuição das variáveis); SNC, Sistema nervoso central.



Discussão

5 DISCUSSÃO

Os residentes das Instituições de longa permanência não estão tão intensamente submetidos aos riscos dos cuidados de saúde quanto àqueles internados em hospitais de cuidados agudos. Por outro lado, deslocam-se frequentemente: seja para a comunidade, seja para hospitais, sendo considerado como um ambiente de transição entre ambos os tipos de unidades/instituições. Por essa razão, a epidemiologia de MRSA nessas instituições é um foco relevante para pesquisa.

Nosso achado, no entanto, faz eco a estudos na literatura, assim como um inquérito espanhol que encontrou 19.6% de prevalência global de carreamento para *S. aureus* em ILPIs, sendo que destes, 54% eram indivíduos colonizados por MRSA e 46% MSSA (*Staphylococcus aureus* resistente a metilicina) ⁴⁸.

Em nosso estudo foi encontrado 17,33% de *Staphylococcus aureus* e 3,67% de *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina.

Normalmente é fato verificarmos que a colonização nasal na grande maioria, refere-se a pacientes internados ou grupos especiais, como profissionais de saúde, acadêmicos de enfermagem, de medicina, atletas e trabalhos analisando carreamento na admissão hospitalar, isto é, grupos específicos. Poucos inquéritos de base populacional são relatados, embora um estudo norueguês, no período de 2005 a 2011 em Oslo, foi obtido um total de 1198 casos de infecção por carreamento de MRSA. Trata-se de um aumento em que ocorre três vezes a partir de 92 casos em 2005 para 268 casos em 2011, onde foram achados MRSA em 22 das 50 instituições ⁴⁹.

É interessante notar que, partindo de um limite de similaridade de 80%, encontramos amostras semelhantes em diferentes ILPIs, o que demonstra a circulação de *clusters* entre diferentes unidades. No primeiro *cluster* demonstra que foi encontrado 4 pacientes com o SCCmec II em instituições diferentes e similaridade de 83%.

No segundo *cluster* foi encontrado 2 pacientes carreando o SCCmec tipo IV (considerado comunitário), e localizados em 2 ILPIs diferentes. No mesmo *cluster*, 1 SCCmec não foi tipável pela técnica de Milheiriço e colaboradores. Não se pode afirmar o SCCmec, mas é válido ressaltar que foi obtido similaridade de 94,7% com

o SCCmec IV. E, finalmente no último *cluster* foi encontrado 3 SCCmec com 82,1% de similaridade e, 2 deles são pertencentes ao SCCmec II. O terceiro SCCmec não foi também tipável, mas ressaltamos que foi obtido similaridade com o SCCmec II com 94,7%.

Na cidade de Orange/Califórnia, no período de janeiro de 2009 a abril de 2011, foram realizadas em 26 ILPIs 3.806 culturas de swab nasal e, destes 22% eram carreadores de MRSA ⁵⁰.

Publicado recentemente um estudo realizado em Cingapura, o risco relativo para a colonização por MRSA em Casas de repouso foi de 6,89 (IC 95%: 5,74-8,26; 41% dos 190 contra 6,0% de 14.849), e os fatores de risco associados foram internações hospitalares anteriores, lesões de pele e uso prévio de antibióticos ⁵¹.

O primeiro isolado por MRSA no Reino Unido ocorreu em 1961, e 2 anos após a introdução da meticilina na prática clínica. Durante os anos seguintes, o MRSA se espalhou para outros países europeus. Durante os anos 1970 foi disseminado em todo o mundo, por exemplo, para a Austrália, o Japão e os EUA ⁵². Em nosso estudo, identificamos 6 pacientes com o SCCmec originalmente hospitalar.

A literatura internacional não fornece muitas avaliações sobre os riscos de transmissão de patógenos em ambientes extra-hospitalares. Estudos surgiram nos últimos anos para avaliar esse risco, especialmente em Instituições de longa permanência para idosos e Casas de pacientes crônicos. Controle de infecção fora do ambiente hospitalar é considerado uma fronteira do conhecimento no campo e pesquisa com o objetivo de passar esta barreira deve ser incentivado ⁵³.

De acordo com Figueiredo & Maroldi é evidente que a lavagem das mãos entre os profissionais de saúde é a principal medida para interromper o ciclo de infecção cruzada. Decidir como limpar as mãos (sabão, sabonete antisséptico ou álcool) deve levar em conta o tipo de contato, grau de contaminação, as condições e procedimentos do paciente a ser realizada. No entanto, apesar das muitas maneiras disponíveis para lavar as mãos, os estudos mostram que os trabalhadores de saúde respondem de uma maneira lamentável de recomendações lavagem das mãos, eles deixam de realizar a lavagem das mãos em 60% das ocasiões, é indicado como necessário ⁵³.

Na Bélgica foi realizado um estudo com 2.953 moradores selecionados em 60 ILPIs, e foram encontrados 19,9% que eram portadores de MRSA. Os fatores de risco incluíam contato hospitalar, exposição a antibióticos, diminuição da mobilidade e lesões de pele, falta de formulário terapêutico antibiótico e a combinação de atividades de controle de infecção menos desenvolvido e uma alta proporção de médicos residentes no nível institucional ⁵⁴.

Um total de 1.111 habitantes (66% de todos os moradores) e 553 funcionários (86% do pessoal disponível) em 45 lares de idosos onde participaram do estudo realizado na Irlanda do Norte. A taxa de prevalência de MRSA na população residente era de 23,3% com intervalo de confiança de 95% (IC= 18,8-27,7%) e de 7,5% no pessoal (IC = 5,1-9,9% a 95%). Moradores eram mais propensos a ser colonizados, caso eles vivessem em casas em que mais de 12,5% de todo o pessoal de saúde blindados (assistentes de cuidados e enfermeiros) fossem colonizados com MRSA (OR = 2,46, IC = 1,41-4,29 95%) ou se viviam em casas em que mais de 15% dos assistentes de cuidados foram colonizados com MRSA (OR = 2,64, IC 95% = 1,58-4,42). Visto que os resultados sugerem que há colonização substancial de MRSA em moradores de asilos e funcionários nesta área de saúde administrativa. Devem ser implantadas estratégias de controle de infecção e alta prioridade em Casas de repouso ⁵⁵.

Um estudo de prevalência foi realizado em duas unidades de cuidados de longa duração (com 15 enfermarias) no período de junho de 2006 a Julho de 2006, foram obtidos em 551 indivíduos um total 43 carreadores de MRSA (7,8%, IC = 5,7-10,4%). O estudo sugere que os lares são um importante reservatório de MRSA. As análises estatísticas e PFGE indicam um cenário onde MRSA parece ser fatores de riscos endêmicos e individuais, ou seja, internações recentes e tratamentos antibióticos repetidos, desempenham um papel importante na seleção de organismos resistentes aos medicamentos ⁵⁶.



Conclusão

6 CONCLUSÃO

- ✓ A colonização global por *S. aureus* foi baixa: 18,0%. As prevalências de *S. aureus* e MRSA foram mais elevadas em instituições menores. Nessas instituições parecem albergar residentes ligeiramente mais graves. Entretanto, a prevalência maior de MRSA se manteve nesse grupo de instituições mesmo quando o resultado era ajustado para gravidade.
 - ✓ Foi encontrado SCCmec IV nos isolados do estudo, sugerindo que a comunidade pode ser uma fonte de MRSA para as Casas de repouso.
 - ✓ Foram observados 3 *clusters* de MRSA nas Instituições de Longa Permanência, indicando circulação dos patógenos nessas instituições.
 - ✓ Idade mais avançada e hospitalizações foram fatores de risco para carreamento do *Staphylococcus aureus* como um todo. Por outro lado, a residência em instituições de pequeno porte e hospitalizações foram fatores associados ao carreamento de MRSA.
-



*Referências
Bibliográficas*

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Christophe, M. Instituições de Longa Permanência para Idosos no Brasil: uma opção de cuidados de longa duração? [dissertação]. Rio de Janeiro, Escola Nacional de Ciências Estatísticas; 2009.
 2. Dias DSG, Carvalho CS; Araújo CV. Comparison of subjective perceptions of quality of life and well-being of elderly people living alone, with family and institutionalized. Rev. Bras. Geriatr. Gerontol., Rio de Janeiro, 2013; 16(1):127-138.
 3. Teixeira JS, Corrêa JC, Rafael CBS, Miranda VPN, Ferreira MEC. Aging and body perception of institutionalized senior citizens. Rev. Bras. Geriatr. Gerontol., Rio de Janeiro, 2012; 15(1):63-68.
 4. Pollo SHL, Assis, M. Long-term care facilities—challenges and alternatives in Rio de Janeiro municipality, Brazil. Rev. Bras. Geriatr. Gerontol., Rio de Janeiro, 2008; 11(1): 29-44.
 5. Lima-Costa MF, Filho AIL, Matos DL. Tendências nas Condições de Saúde e Uso de Serviços de Saúde entre Idosos Brasileiros: um estudo baseado na Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios (1998,2003). Cad. Saúde Pública; 2007; 23 (10): 2467-78.
 6. Alencar MA, Bruck NNS, Pereira BC, Câmara TMM, Almeida RDS. Profile of elderly living in a long-term care institution. Rev. Bras. Geriatr. Gerontol., Rio de Janeiro, 2012; 15(4):785-796
 7. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa Nacional de Amostra de Domicílios 2010. [Acesso em 10 out 2013]. Disponível: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/indicadores_minimos/sinteseindicisociais2010/SIS_2010.pdf
 8. Marin MJS, Miranda FA, Daniele Fabbri D, Laura Privatto Tinelli LP, Storniolo LV. Understanding the history of life of institutionalized elderly. Rev. Bras. Geriatr. Gerontol., Rio de Janeiro, 2012; 15(1):147-154.
 9. Freitas MAV, Scheicher ME. Quality of life of institutionalized elderly. Rev. Bras. Geriatr. Gerontol. 2010; 13(3): 395-401.
 10. Horner C, Parnell P, Hall D, Kearns A, Heritage J, Wilcox M. Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* in elderly residents of care homes: colonization rates and molecular epidemiology. J Hosp Infect. 2012, 83(3): 212-8.
 11. Cassettari VC, Strabelli T, Medeiros EAS. *Staphylococcus aureus* bacteremia: what is the impact of oxacillin resistance on mortality? Braz J Infect Dis. 2005 9(1): 70-76.
-

12. Koneman EW, Allen SD, Janda W, Schreckenberger PC, Winn WCJ. Diagnóstico Microbiológico. Editora Guanabara Koogan. 6 ed. 2008.
13. Murray PM, Rosenthal K, Pfaller M. Medical microbiology. 6 ed. St. Louis: Mosby; 2009.
14. Brooks GF, Carroll KC, Tenover FC, Tenover SA. Microbiologia Médica, Rio de Janeiro; Ed McGraw Hill, 2009.
15. Levinson W. Microbiologia Médica e Imunologia. Porto Alegre: Ed Artmed, 2010.
16. List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature (LPSN). Genus *Staphylococcus*. Acesso em: 16 out. 2013. Disponível em: <http://www.bacterio.net/s/staphylococcus.html>.
17. Santos AL, Santos DO, Freitas CC, Ferreira BLA, Afonso IF, Rodrigues CR, Castro HC. *Staphylococcus aureus*: visiting a strain of clinical importance. J Bras Patol Med Lab. 2007 Dez; 43(6) 413-23.
18. Chambers HF, DeLeo FR. Waves of Resistance: *Staphylococcus aureus* in the Antibiotic Era. Nat Rev Microbiol. 2009; 7: 629-41.
19. Carvalho CE, Berezin EN, Pistelli IP, Mímica L, Cardoso MRA. Monitoramento microbiológico sequencial da secreção traqueal em pacientes intubados internados em unidade de terapia intensiva pediátrica. J Pediatr. 2005; 81: 29-33.
20. Shinefield HR, Ruff NL. Staphylococcal infection: a historic perspective. Infect Dis Clin North Am. 2009; 23: 1-15.
21. Hecker M, Becher DM, Fuchs S, Engelmann S. A proteomic view of cell physiology and virulence of *Staphylococcus aureus*. Int J Med Microbiol. 2010; 300: 76-87.
22. Köck R, Mellmann A, Schaumburg F, Friedrich WA, Kipp F, Becker K. The epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Germany. Dtsch Arztebl Int. 2011; 108: 761-7.
23. Cooke FJ, Brown NM. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. Br Med Bull. 2010; 94: 215-227.
24. International Working Group on the Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome Elements (IWG-SCC). Acesso em: 06 de jul. 2013. Disponível em: http://www.sccmec.org/Pages/SCC_ClassificationEN.html.
25. Monecke S, Coombs G, Shore AC, Coleman, DC A Field Guide to Pandemic, Epidemic and Sporadic Clones of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. PLoS ONE. 2011; 6: 17936.

26. List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature (LPSN). Genus Staphylococcus. Acesso em: 16 out. 2013. Disponível em: <http://www.bacterio.net/s/staphylococcus.html>.
27. Jarvis WR. Infection control and changing health-care delivery systems. *Emerg Infect Dis*. 2001;7:170-3.
28. Crnich CJ, Drinka P. Medical device-associated infections in the long-term care setting. *Infect Dis Clin North Am*. 2012;26:143-64
29. Mossad SB. Influenza in long-term care facilities: preventable, detectable, treatable. *Cleve Clin J Med*. 2009;76:513-21.
30. Creig JD, Lee MB. Enteric outbreaks in long-term care facilities and recommendations for prevention: a review. *Epidemiol Infect*. 2009;137:145-55.
31. van Buul LW, van der Steen JT, Veenhuizen RB, Achterberg WP, Schellevis FG, Essink RT, van Benthem BH, Natsch S, Hertogh CM. Antibiotic use and resistance in long term care facilities. *J Am Med Dir Assoc*. 2012;13:568.e1-13.
32. Simor AE. Diagnosis, management, and prevention of *Clostridium difficile* infection in long-term care facilities: a review. *J Am Geriatr Soc*. 2010;58:1556-64.
33. Urban C, Bradford PA, Tuckman M, Segal-Maurer S, Wehbeh W, Grenner L, Colon-Urban R, Mariano N, Rahal JJ. Carbapenem-resistant *Escherichia coli* harboring *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase beta-lactamases associated with long-term care facilities. *Clin Infect Dis*. 2008;46:e127-30.
34. Manzur A, Gudiol F. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in long-term-care facilities. *Clin Microbiol Infect*. 2009;15 Suppl 7:26-30.
35. Martin CM. Challenges of treating MRSA in long-term care. *Consult Pharm*. 2011;26:800-2, 807-9.
36. Uchida M, Pogorzelska-Maziarz M, Smith PW, Larson E. Infection prevention in long-term care: a systematic review of randomized and nonrandomized trials. *J Am Geriatr Soc*. 2013;61:602-14.
37. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa nacional de amostra populacional. [Acesso em 17 nov. 2013]. Disponível: <http://cod.ibge.gov.br/W3>.
38. Dean AG, Sullivan KM, Soe MM. OpenEpi: Open Source Epidemiologic Statistics for Public Health. Atualizado em: 01 de set. 2013. Acesso em: 29 de jun. 2013. Disponível em: <http://www.openepi.com>.
39. Terret C, Albrand G, Moncenix G, Droz JP. Karnofsky Performance Scale (KPS) or Physical Performance Test (PPT)? That is the question. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2011; 77 (2): 142–147.

40. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis* 1987; 40: 373-83.
41. Pimenta, FAP. Fatores relacionados ao perfil clínico, funcional, cognitivo, genético e de predição da mortalidade em pacientes idosos com depressão e demência [Doutorado]. Belo Horizonte: Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais; 2011.
42. Santos AL, Santos DO, Freitas CC, Ferreira BLA, Afonso IF, Rodrigues CR, Castro HC. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. *J Bras Patol Med Lab*. 2007; 43 (6): 413-423.
43. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 22th information supplement (M100-S22). Wayne, PA: CLSI; 2012.
44. Murakami K, Minamide K, Wada K, Nakamura E, Teraoka H, Watanabe S. Identification of methicillin-resistant strains of staphylococci by polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol*. 1991; 29: 2240-44.
45. Oliveira DC, Lencastre H. Multiplex PCR Strategy for Rapid Identification of Structural Types and Variants of the *mec* Element in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2002, 2155–2161.
46. Milheiriço C, Oliveira DC, de Lencastre H. Update to the multiplex PCR strategy for assignment of *mec* element types in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51: 3374-7.
47. McDougal LK, Steward CD, Killgore GE, Chaitram JM, McAllister SK, Tenover FC. Pulsed-field gel electrophoresis typing of oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from the United States: Establishing a National Database. *Journal of Clinical Microbiology*. 2003, 41(11): 5113.
48. García-García JA, Santos-Morano J, Castro C, Bayoll-Serradilla E, Martín-Ponce ML, Vergara-López S *et al*. Prevalencia y factores asociados a la colonización por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en centros de larga estancia en el sur de España. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2011; 29: 405-10.
49. Steen TW, Jørgensen SB, Garder KM, Kvalvaag G. MRSA-funn i sykehjem i Oslo 2005 – 11. *Tidsskr Nor Legeforen*. 2013;133: 1819-23.
50. Hudson LO, Reynolds C, Spratt BG, Enright MC, Quan V, Kim D, Hannah P, Mikhail L, Alexander R, Moore DF, Godoy D, Bishop CJ, Huang SS. Diversity of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from residents of 26 nursing homes in Orange County, California. *J. Clin. Microbiol*. 2013, 51(11):3788.

51. Verrall A, Merchant R, Dillon J, Ying D, Fisher D. Impact of nursing home residence on hospital epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a perspective from Asia. *J Hosp Infect.* 2013;83(3):250-2
 52. Deurenberg RH, Stobberingh EE. The evolution of *Staphylococcus aureus*. *Infection, Genetics and Evolution.* 2008; 8:747–763
 53. Moralez FR, Maroldi MAC. Home care: health professionals at risk for biological exposure. *Rev. esc. enferm. USP.* 2012; 46(1): 145-150.
 54. Denis O, Jans B, Deplano A, Nonhoff C, De Ryck R, Suetens C, Struelens MJ. Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among residents of nursing homes in Belgium. *J Antimicrob Chemother.* 2009;64(6):1299-306.
 55. Baldwin NS, Gilpin DF, Hughes CM, Kearney MP, Gardiner DA, Cardwell C, Tunney MM. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in residents and staff in nursing homes in Northern Ireland. *J Am Geriatr Soc.* 2009;57(4):620-6.
 56. Brugnaro P, Fedeli U, Pellizzer G, Buonfrate D, Rassa M, Boldrin C, Parisi SG, Grossato A, Palù G, Spolaore P. Clustering and risk factors of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage in two Italian long-term care facilities. *Infection.* 2009;37(3):216-21.
-



Anexos

ANEXO 01

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA IDOSOS COM CONDIÇÃO DE COMPREENDER O ESTUDO

O (A) senhor(a) está sendo convidado(a) a participar de uma pesquisa. Por favor, leia com atenção o texto abaixo, tire suas dúvidas, e informe se concorda em participar:

Algumas pessoas carregam em suas narinas uma bactéria chamada estafilococo. Normalmente, ela não causa nenhum problema. Mas pessoas que possuem essa bactéria têm maior risco de pneumonias e infecções de pele. Nosso estudo tem o objetivo de verificar o quanto essa bactéria é comum nas pessoas que vivem em casas de repouso. Para isso, faremos um exame, que consiste em passar uma espécie de “cotonete” nas narinas. Esse exame não causa dor. A partir dele, saberemos se existe ou não a bactéria, e também se ela é ou não resistente a antibióticos. Além de colher o exame, faremos algumas perguntas que nos ajudarão a identificar os fatores que aumentam a chance de adquirir essa bactéria. As informações serão complementadas com consulta ao prontuário da casa de repouso.

Caso concorde em participar, o (a) senhor(a) será informado(a) sobre o resultado do exame. Esses exames são confidenciais e em nenhum momento será divulgada qualquer informação que permita o seu reconhecimento. O(a) senhor(a) poderá a qualquer momento sair da pesquisa, e seus dados serão retirados da nossa análise. As informações para contato com os pesquisadores estão listadas abaixo. Se não estiver satisfeito com as condições do estudo, poderá entrar em contato com o Departamento de Doenças Tropicais e Diagnóstico por Imagem da Faculdade de Medicina de Botucatu (telefone: 14-3811 6212), na pessoa do Professor Paulo Câmara Marques Pereira, coordenador da pós-graduação.

Tendo sido informado, concordo em participar do estudo denominado “PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO PARA CARREAMENTO DE *Staphylococcus aureus* RESISTENTE À METICILINA EM IDOSOS INSTITUCIONALIZADOS NA CIDADE DE BAURU-SP”.

Nome: _____

Assinatura: _____ Data: __/__/__

Pesquisadores:

Mônica da Silveira (Bióloga)

Endereço: Rua Walter Petroni, 1-64. Bairro: Mary Dota. Bauru/SP

Fone: (14) 9738-8847

Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza (Médico)

Endereço: Rua Professor Milton Guimarães, 311. Bairro: Itamaraty. Botucatu/SP

Fone: (14) 9601-0996

Obs.: Este documento estará impresso em frente e verso e serão obtidas duas vias assinadas, uma que ficará com o sujeito da pesquisa e outra com os pesquisadores.

ANEXO 02

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA RESPONSÁVEIS POR IDOSOS INCAPAZES DE COMPREENDER O ESTUDO

O (A) idoso(a) sob sua responsabilidade está sendo convidado(a) a participar de uma pesquisa. Por favor, leia com atenção o texto abaixo, tire suas dúvidas, e informe se concorda em permitir sua participação:

Algumas pessoas carregam em suas narinas uma bactéria chamada estafilococo. Normalmente, ela não causa nenhum problema. Mas pessoas que possuem essa bactéria têm maior risco de pneumonias e infecções de pele. Nosso estudo tem o objetivo de verificar o quanto essa bactéria é comum nas pessoas que vivem em casas de repouso. Para isso, faremos um exame, que consiste em passar uma espécie de “cotonete” nas narinas. Esse exame não causa dor. A partir dele, saberemos se existe ou não a bactéria, e também se ela é ou não resistente a antibióticos. Além de colher o exame, faremos algumas perguntas que nos ajudarão a identificar os fatores que aumentam a chance de adquirir essa bactéria. As informações serão complementadas com consulta ao prontuário da casa de repouso.

Caso concorde permitir a participação do idoso sob sua responsabilidade, o (a) senhor (a) será informado (a) sobre o resultado do exame. Esses exames são confidenciais e em nenhum momento será divulgada qualquer informação que permita o seu reconhecimento. O (a) senhor (a) poderá a qualquer momento solicitar a retirada do(a) idoso(a) da pesquisa, e seus dados serão removidos da nossa análise. As informações para contato com os pesquisadores estão listadas abaixo. Se não estiver satisfeito com as condições do estudo, poderá entrar em contato com o Departamento de Doenças Tropicais e Diagnóstico por Imagem da Faculdade de Medicina de Botucatu (Telefone: 14-3811 6212), na pessoa do Professor Paulo Câmara Marques Pereira, coordenador da pós-graduação.

Tendo sido informado, concordo em permitir a participação do idoso sob minha responsabilidade no estudo denominado “PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO PARA CARREAMENTO DE *Staphylococcus aureus* RESISTENTE À METICILINA EM IDOSOS INSTITUCIONALIZADOS NA CIDADE DE BAURU-SP”.

Nome do Idoso: _____

Nome do Responsável: _____

Relação com o idoso: _____

Assinatura: _____ Data: __/__/__

Pesquisadores:

Mônica da Silveira (Bióloga)

Endereço: Rua Walter Petroni, 1-64. Bairro: Mary Dota. Bauru/SP

Fone: (14) 9738-8847

Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza (Médico)

Endereço: Rua Professor Milton Guimarães, 311. Bairro: Itamaraty.
Botucatu/SP

Fone: (14) 9601-0996

Obs.: Este documento estará impresso em frente e verso e serão obtidas duas vias assinadas, uma que ficará com o sujeito da pesquisa e outra com os pesquisadores.

ANEXO 03

QUESTIONÁRIO

Nome: _____

Gênero: _____ Idade: ____ Casa de repouso: _____

Tempo de institucionalização: _____

Co-morbidades / Charlson score

1 - () IAM () ICC () Doença vascular periférica
() Demência () DPOC () Doença do tecido conjuntivo
() Úlcera péptica () Hepatopatia leve
() Doença cerebrovascular () Diabetes

2 - () Hemiplegia () Doença renal moderada/severa
() Neoplasia maligna () Leucemia () Linfoma
() Diabetes com dano de órgão

3 - () Doença hepática moderada/severa

6 - () AIDS () Tumor sólido metastático

Score de Charlson: _____

Outras co-morbidades: _____ Demência senil? (S/N): _____

Karnofsky: _____

Internações em hospitais no último ano:

Hospital	Data Entrada	Data Saída	Motivo

Uso de antimicrobianos no último ano

Antimicrobiano	Data início	Data fim	Motivo

Cirurgias e procedimentos invasivos no último ano

Procedimento	Data	Motivo

Outras informações de interesse:

ANEXO 04

Escala de Karnofsky²⁹.

ESCALA	DE	KARNOFSKY
<i>Apto para atividades normais e trabalho; nenhum cuidado especial é necessário.</i>	100	Normal; nenhuma queixa; nenhuma evidência de doença.
	90	Capacitado para atividades normais. Pequenos sinais e sintomas.
	80	Atividade normal com esforço. Alguns sinais e sintomas de doença.
	70	Cuidados para si, incapaz para seguir com atividades normais ou trabalho ativo.
	60	Requer ajuda ocasional, porém apto a cuidar de suas necessidades pessoais.
	50	Requer ajuda considerável e frequente assistência médica ou especializada.
<i>Inapto para cuidar de si mesmo, requer cuidados hospitalares ou equivalente especializado; doença pode estar progredindo rapidamente.</i>	40	Incapacitado; requer cuidado especial e assistência.
	30	Severamente incapacitado; admissão hospitalar é indicada, mas a morte não é iminente.
	20	Muito doente; admissão hospitalar é necessária, necessitando de terapia e cuidados intensivos.
	10	Moribundo; processo de fatalidade progredindo rapidamente.
	0	Morte

ANEXO 05

ÍNDICE DE COMORBIDADE DE CHARLSON (ICC)

PESO DO ICC	CONDIÇÃO CLÍNICA (ICC)
1	Infarto do miocárdio Insuficiência cardíaca congestiva Doença vascular periférica Demência Doença cerebrovascular Doença pulmonar obstrutiva crônica Doença do tecido conjuntivo Diabetes leve, sem complicação. Úlcera Doença hepática leve
2	Hemiplegia ou paraplegia Doença renal grave ou moderada Diabetes com lesão de órgão alvo Leucemia Linfoma
3	Doença hepática grave ou moderada
6	Tumor maligno Metástase Síndrome da Imunodeficiência Adquirida - AIDS

ANEXO 06

Bauru, ___/___/_____.

Prezado (a) Sr (a),

Agradecemos pelo interesse da sua instituição em participar da pesquisa intitulada “PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO PARA CARREAMENTO DE *Staphylococcus aureus* RESISTENTE À METICILINA EM IDOSOS INSTITUCIONALIZADOS NA CIDADE DE BAURU-SP”.

Como compromisso ético da pesquisa, estamos fornecendo informações relevantes sobre achado laboratorial de idoso internado na sua instituição e incluído como sujeito da pesquisa.

O (A) senhor (a) _____ teve resultado de coleta de cultura de secreção nasal positivo para *Staphylococcus aureus* resistente à metililina/oxacilina.

Esse achado não significa doença. É comum a presença da bactéria *Staphylococcus aureus* na mucosa nasal de pessoas saudáveis, mas esse resultado tem importância por duas razões:

- ✓ Porque pessoas que possuem essa bactéria têm mais chance de desenvolver infecções no futuro.
- ✓ Porque infecções por essa bactéria são mais difíceis de tratar.

Pelas razões acima, a literatura médica recomenda a realização de descolonização (ou seja, eliminação dessa bactéria). Essa descolonização poderá ser feita pela aplicação de pomada de Mupirocina na mucosa nasal, duas vezes ao dia, por 5 dias, e banhos com solução degermante de Clorexidina por esse mesmo período. **Informamos que essas são apenas orientações, que devem ser aplicadas somente por indicação de médico responsável pelo paciente.**

A presença dessa bactéria sem causar doença não é indicação para uso de antibióticos. Porém, caso no futuro esse paciente venha a ter infecções, é importante que se considere a possibilidade de participação do “*Staphylococcus aureus* resistente à metililina/oxacilina”, sendo acrescentada a Vancomicina ao esquema terapêutico usual. **Salientamos, mais uma vez, que essa medida deverá ser tomada somente a critério do médico responsável pelo paciente.**

Em caso de dúvida, favor entrar em contato com Mônica da Silveira pelo telefone (14) 9738 8847.

Atenciosamente,

Mônica da Silveira e Carlos Magno C. B. Fortaleza

ANEXO 07



Comitê de Ética em Pesquisa

Instituto Lauro de Souza Lima

Caixa Postal 3021 – CEP: 17034-971 – Bauru/ SP/ Brasil

Fone: 55 14 3103-5921

Fax: 55 14 3103-5914

CT.: C.E.P. nº 029/2010

Bauru, 03 de novembro de 2010

Ilma. Sra.
Mônica da Silveira
A/C Dr. Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza

Prezado(a) Senhor(a)

O projeto de pesquisa intitulado “Prevalência e fatores de risco para carreamento de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina em idosos institucionalizados na cidade de Bauru-SP”, protocolo E-020/10, foi apreciado neste Comitê de Ética em Pesquisa, e foi **APROVADO**.

Aproveitamos a oportunidade para reiterar nossos protestos do mais elevado apreço.

Atenciosamente

A handwritten signature in purple ink, appearing to read 'Ida Maria Foschiani Dias Baptista'.

Dra Ida Maria Foschiani Dias Baptista
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa
Instituto Lauro de Souza Lima

ANEXO 08



PREFEITURA MUNICIPAL DE BAURU
SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE
DEPARTAMENTO DE SAÚDE COLETIVA
DIVISÃO DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA

CONDIÇÕES DE FUNCIONAMENTO DAS INSTITUIÇÕES DE LONGA PERMANÊNCIA PARA IDOSOS

ORIENTAÇÕES PARA MELHORAR AS CONDIÇÕES DE VIDA E SAÚDE DO
IDOSO EM CASAS DE REPOUSO OU ASILOS

O QUE A INSTITUIÇÃO QUE ABRIGA O IDOSO DEVE TER?

Recursos administrativos

- ✓ Licença de funcionamento expedida pela vigilância sanitária municipal;
- ✓ Laudo técnico de avaliação dos projetos de edificações;
- ✓ Responsável técnico de nível superior;
- ✓ Manual de rotinas e procedimentos;
- ✓ Cardápio nutricional;
- ✓ Prontuário individual do idoso com:
 - registro de admissão do idoso e do responsável;
 - registro de informações diárias.

Recursos humanos

- ✓ Equipe mínima proporcional ao número e necessidades dos idosos atendidos:
 - Médico;
 - Enfermeiro;
 - Técnico ou Auxiliar de Enfermagem;
 - Auxiliar de limpeza;
 - Auxiliar de lavanderia;
 - Cuidador;
 - Auxiliar de cozinha/cozinheiro.

Condições de habitação e higiene

- ✓ Identificação externa;
- ✓ Identificação de todos os ambientes internos;
- ✓ Recepção e/ou administração;
- ✓ Preferência por construções horizontais;
- ✓ Possuir 2 portas de acesso;
- ✓ Paredes e tetos revestidos com material lavável e de cores claras;
- ✓ Pisos de material de fácil limpeza;
- ✓ Boa iluminação e ventilação;
- ✓ Possuir:

- Cozinha, refeitório com lavatório e despensa;
- Área de recreação e lazer;
- Depósito de material de limpeza com tanque;
- Abrigos para lixo comum, infectante e de gás;
- Sanitários separados por sexo para usuários e funcionários;
- Sala de enfermagem;
- Lavanderia;
- Sala de utilidades para limpeza, desinfecção, armazenamento de roupas sujas e guarda provisória de lixo:
 - com pia para lavagem;
 - com pia de dejetos com válvula de descarga.

OBS.: Os sanitários deverão ser na proporção mínima de 1 bacia sanitária, 1 chuveiro, 1 lavatório para cada 10 leitos e 1 mictório para cada 20 leitos.

Como devem ser os dormitórios

- ✓ Separados por sexo, no máximo para 4 pessoas;
- ✓ Terem área mínima de 7,5 m² (individual) e com 5,50m² por cama (coletivo), incluindo espaço para guardar os pertences do residente;
- ✓ Proibido o uso de beliches, camas de armar e paredes divisórias;
- ✓ Os colchões devem ser totalmente revestidos de material impermeável;
- ✓ Devem ter luz de vigília e campainha de alarme ao alcance das mãos;
- ✓ As roupas de cama e banho devem ser suficientes e em condições de uso;
- ✓ Deverá também ter local para guardar roupas de uso coletivo.

Acessibilidade e segurança

- ✓ Pisos antiderrapantes;
 - ✓ Rampas e escadas de acesso: com largura mínima de 1,20m e pintura de cor amarela no 1º e último degraus;
 - ✓ Guarda-corpo;
 - ✓ Corrimão;
 - ✓ Barras de apoio nos sanitários;
- Corredores largos e sem qualquer obstáculo.

Crítérios para locais com acamados ou com debilidades graves

- ✓ O responsável técnico deve ser médico;
- ✓ O dormitório deve seguir o critério de enfermaria;
- ✓ Possuir lavanderia hospitalar;
- ✓ Ter cama com grades e cadeira de rodas disponíveis;
- ✓ Local exclusivo para lavagem e desinfecção de instrumentais e para esterilização.

Casas de repouso ou asilos devem contar com

- ✓ Assistência odontológica;
- ✓ Assistência nutricional;
- ✓ Assistência psicológica;
- ✓ Assistência farmacêutica;
- ✓ Atividades de lazer;
- ✓ Atividades de reabilitação;
- ✓ Serviço social e apoio jurídico.

INFORMAÇÕES BASEADAS NA LEGISLAÇÃO VIGENTE
DÚVIDAS E ESCLARECIMENTOS - DIVISÃO DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA
R. DR. LISBOA JR, 2-66 (AO LADO DO HOSPITAL DE BASE)
TELEFONE: 3235-1458 / 3235-1449