



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO” FACULDADE DE MEDICINA

Máiris Alarcão Duarte de Oliveira Silvestre

EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR DE *Staphylococcus aureus* EM PACIENTES INTERNADOS EM HOSPITAL PSIQUIÁTRICO E DEPENDENTES QUÍMICOS ATENDIDOS EM SERVIÇO HOSPITALAR DE REFERÊNCIA NO MUNICÍPIO DE BOTUCATU, SP.

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestra em Doenças Tropicais.

Orientador: Prof. Adj. Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza

Co-orientadora: Profa. Adja. Maria de Lourdes Ribeiro de Souza da Cunha.

**Botucatu
2017**

Maíris Alarcão Duarte de Oliveira Silvestre

EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR DE *Staphylococcus aureus* EM PACIENTES INTERNADOS EM HOSPITAL PSQUIÁTRICO E DEPENDENTES QUÍMICOS ATENDIDOS EM SERVIÇO HOSPITALAR DE REFERÊNCIA NO MUNICÍPIO DE BOTUCATU, SP.

Dissertação apresentada à
Faculdade de Medicina,
Universidade Estadual Paulista “Júlio
de Mesquita Filho”, Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de
Mestra em Doenças Tropicais.

Orientador: Prof. Adj. Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza

Co-orientadora: Profa. Adja. Maria de Lourdes Ribeiro de Souza da Cunha.

Botucatu
2017

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

Silvestre, Máiris Alarcão Duarte de Oliveira.

Epidemiologia molecular de *Staphylococcus aureus* em pacientes internados em hospital psiquiátrico e dependentes químicos atendidos em serviço hospitalar de referência no município de Botucatu, SP / Máiris Alarcão Duarte de Oliveira Silvestre. - Botucatu, 2017

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu
Orientador: Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza
Coorientador: Maria de Lourdes Ribeiro de Souza da Cunha
Capes: 40101096

1. Epidemiologia molecular. 2. *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina. 3. Hospitais psiquiátricos - Pacientes. 4. Usuários de drogas.

Palavras-chave: Epidemiologia molecular; Hospitais psiquiátricos; MRSA; *Staphylococcus aureus*; Usuários de drogas ilícitas.

SUMÁRIO

RESUMO	5
Palavras-chave.....	5
ABSTRACT	6
Key-words.....	6
INTRODUÇÃO	7
<i>Staphylococcus aureus</i> e usuários de drogas ilícitas	7
Outros residentes de instituições psiquiátricas	11
Justificativa do presente estudo.	13
OBJETIVOS	14
Objetivos gerais.....	14
Objetivos específicos.....	14
METODOLOGIA	16
Populações do estudo	16
Critérios de inclusão e exclusão	17
Procedimentos do estudo	18
Identificação de espécie.....	18
Testes de suscetibilidade	19
Extração de DNA	20
Detecção molecular e caracterização de SCCmec	20
Pulsed-field gel electrophoresis.....	22
Análise de fatores de risco	22
Análises estatísticas.....	23
RESULTADOS	24
Prevalência de <i>S. aureus</i> e MRSA	24
Fatores de risco para carreamento de <i>S. aureus</i>	27
Caracterização molecular de MRSA	31
DISCUSSÃO	34
CONCLUSÃO	40
REFERÊNCIAS	42
ANEXO 1: Ficha de Levantamento de Dados	53
ANEXO 2: Termo de consentimento livre e esclarecido	55
ANEXO 3: Termo de consentimento livre e esclarecido para responsáveis legais	57
ANEXO 4: Parecer CEP	59
ANEXO 5: Artigo enviado para publicação	62

RESUMO

Usuários de drogas ilícitas (UDI) são reconhecidos como grupo de especial risco para estafilocóccicas. Nessa população foi descrito o primeiro surto de *Staphylococcus aureus* associados à comunidade (CA-MRSA). No entanto, a maior parte dos estudos relacionando *S. aureus* e MRSA a drogadição aborda usuários de substâncias endovenosas. No Brasil, a maior parte de dependentes é usuário de drogas inalatórias, especialmente o crack. Uma parcela destes dependentes tem múltiplas passagens por clínicas de recuperação. Um outro grupo institucionalizado ainda relevante no Brasil são os pacientes com internações de longa permanência em hospitais psiquiátricos. Apesar da reforma psiquiátrica e sua ênfase na desinstitucionalização, aspectos de vulnerabilidade social e abandono por familiares determinam ainda a residência de pacientes em hospitais psiquiátricos. Os dois grupos descritos acima são expostos a diferentes pressões epidemiológicas e estão tanto em maior risco de doença estafilocócica invasiva quanto em posição estratégica para manutenção e disseminação de isolados. Este estudo teve por objetivo identificar a prevalência e fatores preditores do carregamento de *S. aureus* e MRSA em UDI internados no Serviço Hospitalar de Referência de Álcool e Drogas (SARAD) e pacientes residentes no Hospital Psiquiátrico Cantídio de Moura Campos, ambos localizados em Botucatu, SP. Caracterização molecular de isolados de MRSA foi realizada. Foram estudados 220 sujeitos, 138 do SARAD e 82 do hospital psiquiátrico. As prevalências de *S. aureus* e MRSA para os dois serviços foram 26,8%/4,5% e 24,3%/7,3%, respectivamente. O uso de cocaína inalatória foi associado a maior carregamento de *S. aureus* entre dependentes químicos, enquanto a idade apresentou associação negativa com esse desfecho nos pacientes do hospital psiquiátrico. A análise de 14 isolados de MRSA obtidos de 10 sujeitos da pesquisa revelou um cluster englobando 8 isolados de 5 sujeitos. Ao todo, foram identificados isolados carregando SCCmec tipo IV (7 sujeitos), I (2 sujeitos) e II (1 sujeito). Nossos achados sugerem que prevalência de colonização por MRSA nos grupos estudados é superior àquela encontrada na população geral. Esses grupos são portanto, mais vulneráveis a infecções de difícil tratamento e podem contribuir para disseminação do MRSA em suas redes sociais e na população como um todo.

Palavras-chave

usuários de drogas ilícitas, hospitais psiquiátricos, *Staphylococcus aureus*, MRSA, epidemiologia molecular.

ABSTRACT

Illicit drug users (IDUs) are recognized as a group at particular risk for staphylococci. In this population the first outbreak of community-associated *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA) was described. However, most studies relating *S. aureus* and MRSA to drug abuse address users of intravenous substances. In Brazil, most dependents are users of inhaled drugs, especially crack. A proportion of these IDUs have multiple passages through recovery clinics. Another institutionalized group still relevant in Brazil are patients with long-term hospitalizations in psychiatric hospitals. In spite of the psychiatric reform and its emphasis on deinstitutionalization, aspects of social vulnerability and abandonment by relatives also determine the residence of patients in psychiatric hospitals. The two groups described above are exposed to different epidemiological pressures and are both at higher risk of invasive staphylococcal disease and in a strategic position for maintenance and dissemination of isolates. The objective of this study was to identify the prevalence and predictors of the carrying of *S. aureus* and MRSA in IDUs admitted to the Hospital of Reference for Alcohol and Drugs (SARAD) and patients residing in the Psychiatric Hospital Cantídio de Moura Campos, both located in Botucatu, São Paulo State, Brazil. Molecular characterization of MRSA isolates was performed. A total of 220 subjects were enrolled, 138 from the SARAD and 82 from the psychiatric hospital. The prevalences of *S. aureus* and MRSA for the two services were 26.8% / 4.5% and 24.3% / 7.3%, respectively. The use of inhaled cocaine was associated with increased carriage of *S. aureus* among chemical dependents, while age was negatively associated with this outcome in the patients of the psychiatric hospital. Analysis of 14 MRSA isolates from 10 subjects revealed a cluster comprising 8 isolates from 5 subjects. Our findings suggest that the prevalence of MRSA colonization in the groups studied is higher than that found in the general population. These groups are therefore more vulnerable to difficult-to-treat infections and can contribute to the spread of MRSA in their social networks and in the population as a whole.

Key-words

Illicit drug users, Psychiatric hospitals, *Staphylococcus aureus*, MRSA, molecular epidemiology.

INTRODUÇÃO

***Staphylococcus aureus* e usuários de drogas ilícitas**

Usuários de drogas ilícitas (UDI) são um grupo especialmente suscetível a infecções bacterianas.¹ Entre os diversos fatores que contribuem para essa vulnerabilidade, estão incluídos²:

- (a) a contaminação de componentes da substância consumida;
- (b) utensílios associados ao consumo – tais como seringas, agulhas, cachimbos, papel, algodão;
- (c) práticas de preparo das drogas para consumo, incluindo fracionamento, liquefação e/ou diluição em água ou outros líquidos não estéreis;
- (d) o ambiente de consumo de drogas, usualmente coletivo, muitas vezes aglomerado e via de regra com péssimas condições de higiene;
- (e) alterações na microbiota comensal dos UDIs, associadas ao déficit de autocuidado;
- (f) efeitos imunomodulatórios diretos ou indiretos.

Deve-se acrescentar a todos esses itens a frequente internação dos dependentes químicos em hospitais de doentes agudos³ – por exemplo, em crises de overdose,⁴ por comorbidades^{5,6} ou acidentes com trauma⁷

– e clínicas de reabilitação.⁷ Entre os agentes bacterianos que causam infecção em UDI podem ser listados *Salmonella* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*.⁸

Em UDI, *S. aureus* é fortemente implicado na etiologia de infecções de pele/partes moles^{9,10} e endocardites infecciosas.^{11,12} É digno de nota que o primeiro surto de *S. aureus* metilina-resistente associado à comunidade (CA-MRSA) foi descrito entre UDI em Detroit, Estados Unidos.¹³ O uso de drogas ilícitas foi identificado como importante fator preditivo de infecções pelo clone USA300 de CA-MRSA naquele país.¹⁴ Em série temporal, enquanto as infecções nesse grupo permanecem constantes, outras populações são progressivamente mais acometidas. Esse fenômeno levou pesquisadores a sugerir que os UDI foram responsáveis pela disseminação dessa linhagem para a população geral norte-americana. Vale mencionar que infecções por USA300 tem sido associadas a maior propensão a quadros de sepse grave.¹⁵

É importante salientar que a maior parte das infecções e surtos tem sido relatadas entre usuários de drogas endovenosas.^{1,8,11} No entanto, alterações anatômicas e fisiológicas das vias respiratórias relacionadas ao uso de drogas inalatórias foram implicadas na facilitação de colonização por bactérias patogênicas.² Em um estudo realizado por nosso grupo de pesquisa em população carcerária, drogas ilícitas foram fator preditivo independente para colonização por *S. aureus*.¹⁶

No Brasil, o abuso de drogas é frequentemente descrito como “epidêmico”. Ainda que se possa por em dúvida essa definição,¹⁷ é certo que centenas de milhares de pessoas são dependentes de drogas ilícitas no país.¹⁸

Assim como em outros países em desenvolvimento, o abuso de drogas intravenosas é minoritário (e possivelmente de prevalência inferior à observada nos Estados Unidos e Europa).¹⁹ Estudos apontam para tendência cada vez maior da substituição da injeção pela inalação de cocaína e seus derivados – especialmente o crack.²⁰

Pesquisa encomendada pelo Ministério da Justiça à FioCruz em 2011 estimou 370 mil usuários de crack somente nas capitais brasileiras.²¹ Outra pesquisa recente apontou para elevada mortalidade entre usuários de crack no Estado de São Paulo, atingindo 24 por 1.000 pessoas-ano.²² A violência e overdoses são causas frequentes de internações e mortes.²³ Mais preocupante ainda é o aumento no uso de crack e drogas semelhantes entre crianças e adolescentes.^{24,25}

A Política Nacional Antidrogas²⁶(PNAD) e o Plano Integrado de Enfrentamento ao Crack e outras Drogas²⁷ preveem, em uma de suas vertentes, o fortalecimento de redes de saúde e assistência social aos UDI. Entre os modelos de assistência à saúde estão as clínicas de

desintoxicação.²⁸ Como outras instituições similares, estas são espaços intermediários entre a comunidade e o hospital, e apresentam características favoráveis à disseminação de *S. aureus* e MRSA. Por essa razão, estudos sobre epidemiologia molecular desses agentes podem lançar luz sobre os riscos infecciosos dos UDI e sobre o complexo trânsito de clones bacterianos entre os serviços de saúde e a comunidade.

O Serviço de Atenção e Referência em Álcool e Drogas (SARAD) fica no município de Botucatu – SP, é o primeiro serviço do estado a tratar totalmente pelo Sistema Único de Saúde de pacientes portadores de doenças mentais e usuários de substâncias psicoativas (álcool, tabaco, medicamentos e outras drogas ilícitas) e comorbidades pertencentes a área de abrangência dos 68 municípios da DRS VI de Bauru. O serviço é ligado a autarquia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu – HCFMB, mas localiza-se em outro endereço.

Conta com uma área construída de 3.991.60 m², com estrutura predial diferenciada de um hospital comum, possuindo quadra poliesportiva coberta, piscina, área de convívio e lazer com churrasqueira, horta, mesa de sinuca, pebolim, biblioteca, auditório para uso também dos pacientes. Sala específica para realização de cuidados de beleza, cozinha experimental, sendo esses espaços também utilizados para realização de oficinas de geração de renda e cursos profissionalizantes. As enfermarias são divididas conforme sexo e idade, já que são atendidos adolescentes e adultos, possuem quartos de no máximo 3 leitos com banheiro privativo, sendo camas não

hospitalares, propiciando ambiente mais acolhedor. Sendo 26 leitos adultos (masculino e feminino) e 04 leitos infanto-juvenil (masculino e feminino). O hospital possui um setor específico para tratamento de morbidades clínicas, atendendo pacientes de todas as faixas etária e sexo, que exijam maior demanda de cuidados, com camas hospitalares e estrutura para atender urgências e emergências, chamado de unidade de desintoxicação (UD) com capacidade atual de 05 leitos, podendo chegar a 10.

Outros residentes de instituições psiquiátricas

Nas últimas décadas do século XX, houve forte movimento na população e comunidade científica, questionando a ética e efetividade das internações de longa permanência em hospitais psiquiátricos.^{29,30} O Brasil esteve amplamente envolvido nesse movimento.³¹

As principais conquistas em nosso país foram a desinstitucionalização de milhares de pessoas, a reformulação das redes de saúde mental e assistência social (criação dos Centros de Assistência Psicossocial, CAPS) e a inserção do atendimento em ações programáticas do Sistema Único de Saúde (como o Programa de Saúde da Família).³² Em tese, as internações psiquiátricas deveriam ser restritas aos casos em que se necessitava de cuidados agudos.^{31,32}

No entanto, chama atenção o grande número de leitos psiquiátricos registrados no Cadastro Nacional de Estabelecimentos de Saúde (CNES). Um estudo aponta para mais de 60 mil leitos psiquiátricos cadastrados, com utilização anual de 45 mil.³³ Parte desses pacientes ainda tem internação prolongada.³⁴ Mais grave porém, é a dificuldade em desinstitucionalizar alguns pacientes – decorrente da deficiência de estruturas familiares de apoio e mesmo do desenvolvimento desigual da rede de assistência à saúde mental no território brasileiro.³⁵

Em conjunto, a população de internados de longa permanência e residentes residuais em hospitais psiquiátricos representam uma população numerosa e ainda não suficientemente estudada quanto aos riscos infecciosos. Também não se conhece a epidemiologia de *S. aureus* nesse grupo.

Justificativa do presente estudo.

Como se pode constatar, o perfil de UDI no Brasil difere daquele apontado em estudos prévios como de maior risco para colonização/infecção por *S. aureus* e MRSA. Da mesma forma, persiste no Brasil uma numerosa população institucionalizada em hospitais psiquiátricos. Os dois grupos apresentam ampla interseção, mas estão expostos a riscos potenciais diferenciados.

Nosso estudo pretende, portanto, identificar a prevalência de carreamento e a disseminação de clones de *S. aureus* e MRSA em UDI e pacientes internados em hospital psiquiátrico.

OBJETIVOS

Objetivos gerais

- Identificar prevalência e fatores preditores de colonização por *Staphylococcus aureus* em geral, e isolados resistentes à meticilina (MRSA) em particular, entre usuários de drogas ilícitas (UDI) admitidos em instituição hospitalar e pacientes de hospital psiquiátrico no município de Botucatu, SP.
- Caracterizar a disseminação de clones de *S. aureus* nas populações do estudo.

Objetivos específicos

- Comparar prevalência de colonização por *S. aureus* ou MRSA entre UDI e pacientes admitidos no serviço de referência por dependência alcoólica.
- Relacionar colonização por *S. aureus* ou MRSA ao tipo de droga ilícita e rota de administração.

- Comparar prevalência de colonização por *S. aureus* ou MRSA entre pacientes com internação aguda, de longa permanência e/ou residentes em hospital psiquiátrico.
- Pesquisar associação entre colonização por *S. aureus* ou MRSA nas populações do estudo e a internação recente em hospitais gerais de doentes agudos.
- Caracterizar cassete cromossômico responsável pela resistência à metilina (SCCmec) em isolados de MRSA carregados pela população do estudo.

METODOLOGIA

Populações do estudo

O estudo abordou pacientes admitidos a dois serviços hospitalares de assistência à saúde mental localizados no município de Botucatu, SP.

O *Centro de Atenção Integral à Saúde "Professor Cantídio de Moura Campos"* é hospital especializado em assistência à saúde mental. Dispõe 44 leitos para internações psiquiátricas em enfermarias masculina e feminina, além de 8 leitos para intercorrências clínicas. Além disso, em junho/2014, 45 pacientes cuidados pelo serviço residiam em oito casas anexas ao hospital e 19 outros em duas residências conveniadas localizadas no centro da cidade de Botucatu.

O *Serviço de Atenção e Referência de Álcool e Drogas (SARAD)* possui 75 leitos, divididos em enfermarias de adultos (masculina e feminina), adolescentes (também separadas por gênero) e unidade de desintoxicação (destinada a pacientes com instabilidade clínica).

Crêterios de inclusão e exclusão

A inclusão de sujeitos no estudo se deu nos anos de 2015 e 2017. Foram incluídos os pacientes de ambos os serviços que apresentaram condi o de colaborar com a coleta de swabs nasais e de orofaringe.

Os pacientes do SARAD foram incluídos nas primeiras 48 horas de admissão. Para os pacientes do hospital psiquiátrico não foi estabelecido critério, sendo o período de internac o incluído na análise de preditores.

Aqueles com discernimento para dar seu consentimento foram convidados e assinaram TCLE. Para aqueles sem esse discernimento, aplicamos o TCLE a familiares ou cuidadores. **Toda a inclusão foi feita seguindo os procedimentos  ticos aplicáveis a essa popula o e conforme recomenda es do Comitê de  tica em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu.** Nenhuma medida que represente constrangimento ou desconforto foi aplicada.

Em coerência com o exposto acima, foram excluídos do estudo pacientes agitados e/ou para os quais a coleta representasse risco (embora seja procedimento pouco invasivo), assim como aqueles que manifestaram desejo de não participar da pesquisa.

Procedimentos do estudo

Foi coletado *swab* nasal e de orofaringe dos sujeitos incluídos no estudo. A técnica de coleta de *swab* nasal incluiu a umidificação do *swab* com SF0,9% (técnica estéril) e introdução em ambas as narinas, até a maior profundidade tolerável pelo sujeito da pesquisa, e rotação da haste pressionando gentilmente a extremidade contra a mucosa. *Swabs* de orofaringe foram coletados de modo a obter representatividade das tonsilas e mucosa jugal. Os *swabs* foram transportados ao laboratório em meio de Stuart.

Identificação de 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.³⁶ Foram realizadas as provas adicionais de Maltose, Trealose, Manitol e Polimixina B, para diferenciação de outras espécies de estafilococo coagulase positiva

Testes de suscetibilidade

O teste de suscetibilidade antimicrobiana foram realizado para todos os isolados obtidos através da técnica de difusão da droga em ágar a partir de discos impregnados conforme critérios recomendados pelo *Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)*.³⁷ Para o preparo dos inóculos foram utilizadas culturas em caldo BHI, previamente incubadas por 4 a 6 horas e ajustadas anteriormente com a turbidez da escala 0.5 de Macfarland. As drogas utilizadas foram: Oxacilina (1ug) e Cefoxitina (30ug). Uma vez ajustada à densidade do inóculo, a semeadura foi feita através de swab estéril na superfície de Agar Mueller Hinton, e a seguir aplicados os discos impregnados com as drogas. 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. A linhagem padrão de *S. aureus* ATCC 25923 foi usada como controle em todos os experimentos.

Extração de DNA

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 500 ul da solução de extração foi adicionada à mistura e esta foi centrifugada a 10.000 x g por 4 min. O sobrenadante foi transferido para a coluna e centrifugado a 5.000 x g por 1 min. O líquido coletado foi descartado e 500 ul de solução de extração foi adicionada novamente à coluna. Após a centrifugação e descarte do líquido coletado, 500ul da solução de lavagem foi adicionada à coluna e esta submetida à centrifugação a 20.000 x g por 3 min. A seguir, a coluna foi transferida para um tubo de 1,5 ml e 200 ul de água Milli Q aquecida a 70oC foi utilizada para a diluição.

Detecção molecular e caracterização de SCCmec

As reações de PCR para a detecção do gene *mecA* foram realizadas conforme os parâmetros descritos por Murakami et al,³⁸ utilizando primers *mecA1* e *mecA2*. Em todas as reações realizadas foram utilizadas linhagens de referência internacional com controle positivo (*S. aureus* ATCC 33591) e negativo (*S. aureus* ATCC 25923). A eficiência das amplificações foi monitorada pela eletroforese da reação em gel de agarose 2% e corado com Saber Safe.

A determinação do tipo de SCCmec foi realizada utilizando-se um método de reação PCR-Multiplex, conforme descrito por Oliveira e de Lencastre.³⁹ Foram utilizados 8 loci (A-H), selecionados com base nas seqüências do elemento mec descritas previamente. O locus A está localizado downstream ao gene *pls* e é específico para o SCCmec tipo I; o locus B é um fragmento interno do operon *kdp*, que é específico para o SCCmec tipo II; o locus C é um fragmento interno do gene *mecl* presente nos SCCmec tipos II e III; o locus D é um fragmento interno da região *dcs*, presente nos SCCmec tipos I, II e IV; o locus E está localizado na região entre o plasmídeo *pl258* e o transposon *Tn554*, sendo específico para SCCmec tipo III; o locus F, também específico para o SCCmec tipo III, está localizado entre o *Tn554* e a junção cromossômica direita (*orfX*). Os loci G e H são o incluídos para distinguir as variantes estruturais IA e IIIA, respectivamente. O locus G corresponde a junção esquerda entre a sequência de inserção *IS431* e o plasmídeo *pUB110*; o locus H corresponde a junção esquerda entre a sequência de inserção *IS431* e o plasmídeo *pT181*.

Pulsed-field gel electrophoresis

Tipagem por PFGE está foi realizada para os isolados de *S. aureus* conforme descrito por Murchan et al, 2003⁴⁰, utilizando a enzima de restrição *SmaI*. Para isolados não tipáveis com *SmaI*, utilizamos a enzima *ApaI*.⁴¹ Os padrões produzidos foram analisados quanto à similaridade em dendrogramas construídos em software Bionumerix (Applied Maths, Belgium).

Análise de fatores de risco

Foi realizada entrevista com os sujeitos e revisão de prontuários. Foram registrados:

- Dados demográficos.
- Local de internação: SHRAD, CAIS.
- Perfil de internação: curta permanência (até 30 dias), longa permanência.
- Presença de tatuagem, *piercing* e outros adornos.
- Uso de álcool e/ou drogas ilícitas.
- Uso de psicotrópicos.
- Uso prévio de antimicrobianos.
- Intercorrências clínicas prévias.

- Presença de co-morbidades.
- Internações em hospitais de agudos.

Análises estatísticas

Foram realizadas análises descritivas para grupos de sujeitos incluídos e resultados obtidos.

As análises foram realizadas nos *softwares* EPI INFO 7 (*Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, USA*) e STATA MP 14 (*StataCorp, College Station, TX, USA*). Na fase analítica, utilizamos inicialmente testes univariados: Chi-quadrado ou teste Exato de Fisher para variáveis dicotômicas, e os testes T de Student ou U de Mann-Whitney para variáveis numéricas.

A seguir, realizamos análise multivariada utilizando modelos de regressão de Poisson.⁴² Para seleção de variáveis dos modelos utilizamos estratégia por avanços (*stepwise forward*). Os critérios para entrada e permanência nos modelos correspondentes a p-valor de 0,1. No entanto, foram forçados em todos os modelos a idade, o sexo e (para pacientes do hospital psiquiátrico) o tipo de internação (pacientes agudos *versus* moradores).

Para desenhos de gráficos tipo *Forest Plot*, utilizamos ferramenta gratuita disponível no *site*:

https://www.statstodo.com/ForestPlot_Pgm.php.

RESULTADOS

Prevalência de *S. aureus* e MRSA

Foram incluídos no estudo 220 sujeitos, sendo 138 do SARAD e 82 do hospital psiquiátrico (49 moradores e 33 doentes agudos). A prevalência global de *S. aureus* foi de 26.8% (intervalo de confiança [IC] 95%=21.1%-33.2%), enquanto a de MRSA foi de 4.5% (IC95%=2.3%-8.0%). Quanto ao sítio de isolamento de *S. aureus*, este foi exclusivamente orofaríngeo em 16 (27,1%), nasal em 24 (40,7%) e encontrado em ambos nos demais (19, 32,2%). Para os 10 casos de MRSA, a divisão por sítio foi: 5 (oral), 1 (nasal) e 4 (ambos).

As **Figuras 1** e **2** mostram prevalências e IC95% por grupo de pacientes.

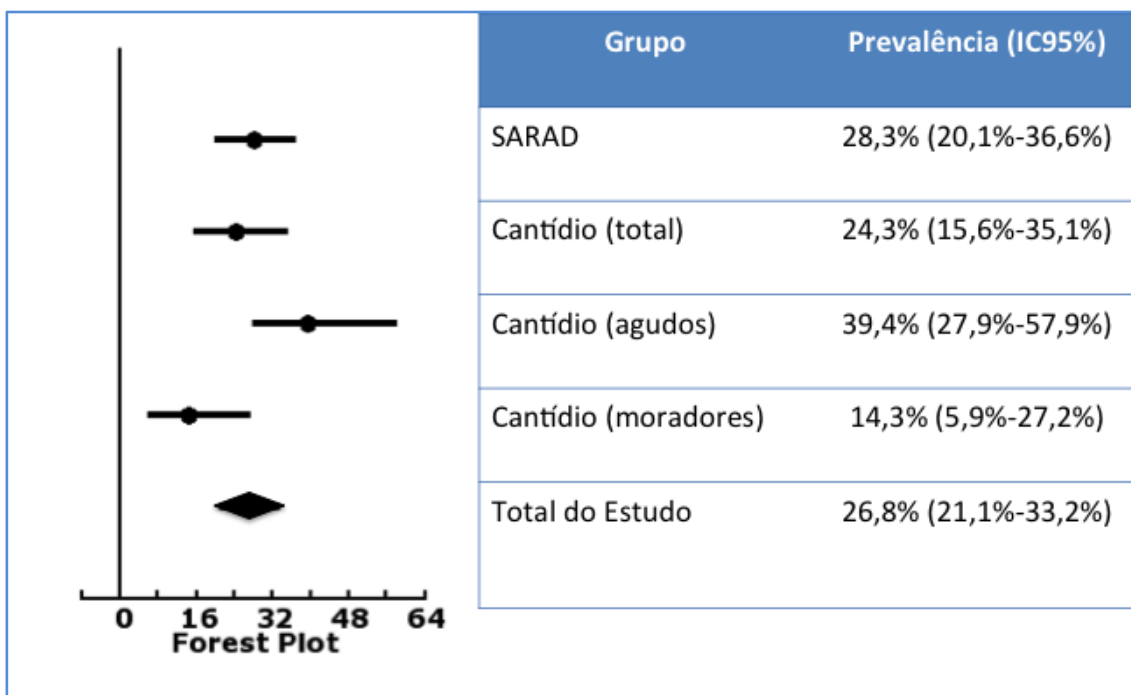


Figura 1. Gráfico tipo *Forest Plot* (escala linear) mostrando resultados de prevalência de *S. aureus* por subgrupos de sujeitos do estudo.

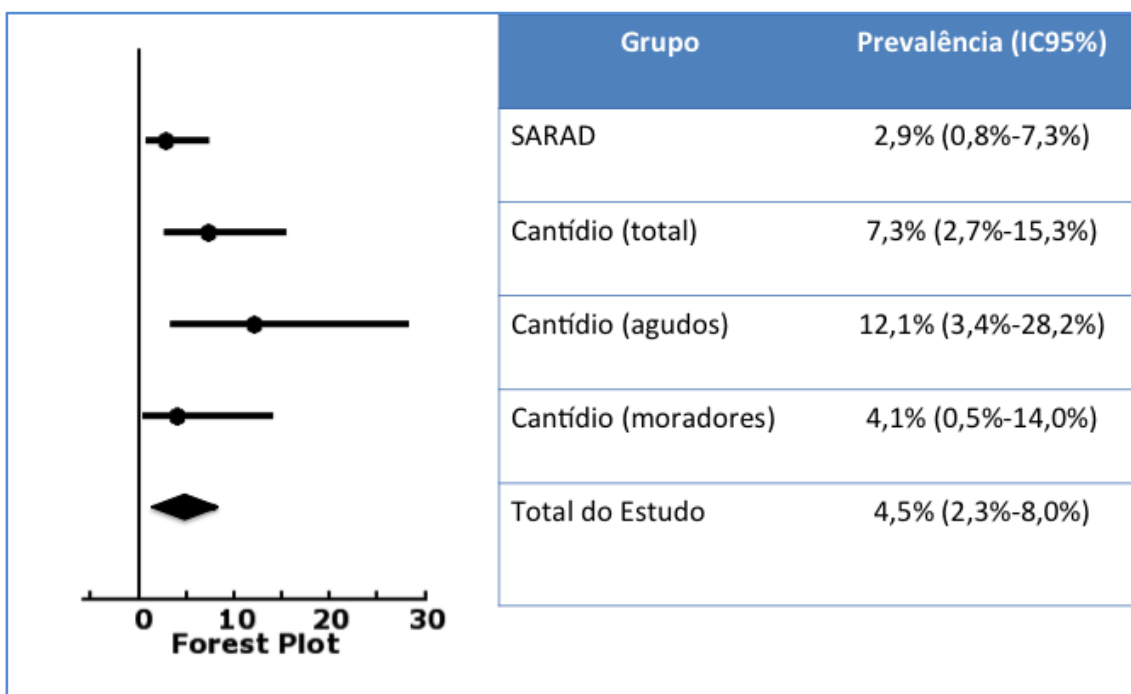


Figura 2. Gráfico tipo *Forest Plot* (escala linear) mostrando resultados de prevalência de MRSA por subgrupos de sujeitos do estudo.

A **Figura 3** mostra a prevalência relativa de *S. aureus* e MRSA dos pacientes do hospital psiquiátrico (Cantídio) quando comparada à dos dependentes químicos atendidos no SARAD. Nota-se prevalência significativamente menor de *S. aureus* entre os pacientes moradores. Por outro lado, pacientes agudos apresentavam carreamento de MRSA superior àquele identificado em nos pacientes do SARAD.

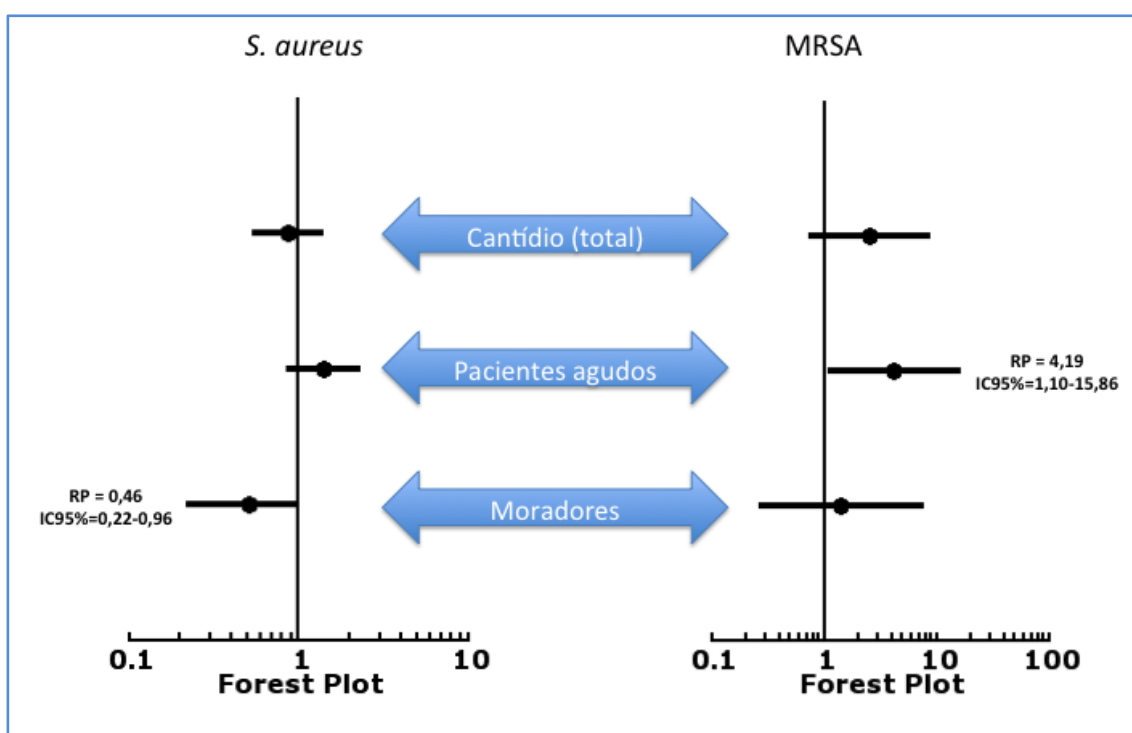


Figura 3. Gráficos tipo *Forest Plot* (escala logarítmica) mostrando razões de prevalência (RP) dos pacientes do hospital psiquiátrico em relação aos dependentes químicos atendidos no SARAD. Resultados com significância estatística estão detalhados.

Fatores de risco para carreamento de *S. aureus*

Análises de fatores de risco foram possíveis para *S. aureus* como um todo, porém não para MRSA, devido à falta de poder estatístico para discriminar preditores para este último desfecho. As análises foram feitas separadamente para os dois grupos estudados: Dependentes químicos (SARAD) e pacientes internados em hospital psiquiátrico (Cantídeo). Neste último, abordamos de forma conjunta pacientes agudos e moradores (discriminando essas características nos modelos preditivos).

A **Tabela 1** mostra resultados da análise realizada para dependentes químicos. Constata-se que o uso de cocaína inalatório foi positivamente associado a maior risco de carrear *S. aureus*, enquanto o etilismo se aproximou da significância como fator protetor contra esse desfecho.

Já para os pacientes do hospital psiquiátrico, uma associação negativa com a idade foi o único achado da análise multivariada (**Tabela 2**).

Tabela 1. Análise uni e multivariada (modelo final de regressão de Poisson) para preditores de carreamento de *S. aureus* em pacientes dependentes químicos atendidos no SARAD.

Fator	S. aureus (39)	Negativos (99)	Poisson, Univariada		Poisson, Multivariada	
			RP (IC95%)	p	RP (IC95%)	p
<i>Dados demográficos</i>						
Sexo masculino	27 (69,2)	69 (65,7)	1,13 (0,57-2,22)	0,73	1,09 (0,55-2,19)	0,80
Idade (mediana, quartis)	32 (23-44)	34 (26-42)	0,99 (0,97-1,02)	0,48	1,01 (0,98-1,05)	0,38
<i>Uso de drogas</i>						
Álcool	25 (64,1)	81 (81,8)	0,54 (0,28-1,04)	0,06	0,57 (0,29-1,11)	0,09
Drogas ilícitas	31 (79,5)	65 (65,7)	1,70 (0,78-3,69)	0,18		
Crack	28 (71,8)	60 (60,6)	1,45 (0,72-2,90)	0,30		
Cocaína inalatória	24 (61,5)	37 (37,4)	2,02 (1,06-3,85)	0,03	2,26 (1,02-5,00)	0,04
Cocaína injetável	1 (2,6)	1 (1,0)	1,79 (0,25-13,03)	0,57		
Maconha	31 (53,9)	34 (34,3)	1,76 (0,94-3,30)	0,08		
Tempo de uso* (mediana, quartis)	10 (5-23)	14 (7-24)	0,99 (0,97-1,02)	0,58		
Uso nos últimos 5 dias	28 (71,8)	60 (60,6)	1,45 (0,72-2,90)	0,30		
<i>Fatores comportamentais</i>						
HSH	1 (2,6)	6 (6,1)	0,49 (0,07-3,59)	0,48		
Promiscuidade**	22 (56,4)	55 (55,6)	1,03 (0,54-1,93)	0,94		
Situação de rua	12 (30,8)	26 (26,3)	1,16 (0,59-2,31)	0,65		
Tatuagens	20 (51,3)	52 (52,5)	0,96 (0,51-1,81)	0,91		
Cumpriu pena	10 (25,6)	20 (20,2)	1,24 (0,60-2,55)	0,56		
<i>Antecedentes de saúde</i>						
Índice de Comorbidades de Charlson ≥ 1	7 (18,4)	18 (18,2)	1,01 (0,45-2,30)	0,98		
Internação no último ano	11 (28,2)	19 (19,2)	1,41 (0,70-2,84)	0,33		
Cirurgia no último ano	4 (10,3)	11 (11,1)	0,94 (0,33-2,64)	0,90		
Infecção de pele no último ano	0 (0,0)	3 (3,0)	0,0 (indefinido)	1,00		

Usou antimicrobiano no último ano	11 (28,2)	31 (31,3)	0,90 (0,45-1,80)	0,76
Gestante	1 (2,6)	7 (7,1)	0,43 (0,06-3,11)	0,40
Sífilis	9 (23,1)	13 (13,1)	1,58 (0,75-3,33)	0,23

Nota. Todos os dados estão em proporção (%), exceto quando especificado. Resultados significantes são mostrados em negrito.

RP, Razão de Prevalências; IC, Intervalo de Confiança; HSH, Homem que faz sexo com homens.

* Tempo de uso de álcool ou drogas (em casos coincidentes, prevalecendo o maior tempo).

** Definida como 3 ou mais parceiros sexuais no último ano.

Tabela 2. Análise uni e multivariada (modelo final de regressão de Poisson) para preditores de carreamento de *S. aureus* em pacientes internados no hospital psiquiátrico (Cantídio).

Fator	S. aureus (20)	Negativos (62)	Poisson, Univariada		Poisson, Multivariada	
			RP (IC95%)	p	RP (IC95%)	p
Dados demográficos						
Residências de longa permanência	7 (35,0)	42 (67,7)	0,36 (0,14-0,91)	0,03	1,14 (0,28-4,65)	0,85
Sexo masculino	10 (50,0)	30 (48,4)	1,05 (0,44-2,52)	0,91	0,91 (0,37-2,22)	0,83
Idade (mediana, quartis)	35 (23-60)	60 (47-69)	0,96 (0,94-0,99)	0,002	0,96 (0,93-0,99)	0,03
Uso de drogas						
Álcool	4 (20,0)	5 (8,1)	2,02 (0,68-6,07)	0,21		
Drogas ilícitas	4 (20,0)	3 (4,8)	2,67 (0,90-8,01)	0,08		
Crack	2 (10,0)	2 (3,2)	2,16 (0,50-9,34)	0,30		
Maconha	2 (10,0)	1 (1,6)	2,93 (0,68-12,61)	0,15		
Fatores comportamentais						
HSH	1 (5,0)	2 (3,2)	1,39 (0,19-10,35)	0,75		
Promiscuidade	5 (25,0)	7 (11,3)	1,94 (0,71-5,35)	0,20		
Situação de rua	0 (0,0)	4 (6,5)	0,0 (indefinido)	0,31		
Tatuagens	4 (20,0)	6 (9,7)	1,80 (0,60-5,38)	0,29		
Cumpriu pena	0 (0,0)	1 (1,6)	0,0 (indefinido)	1,00		
Antecedentes de saúde						
Índice de Comorbidades de Charlson ≥ 1	5 (27,8)	39 (63,9)	0,31 (0,11-0,86)	0,02		
Internação no último ano	3 (15,0)	6 (9,7)	1,43 (0,42-4,88)	0,57		
Cirurgia no último ano	2 (10,0)	3 (4,8)	1,71 (0,40-7,37)	0,47		
Usou antimicrobiano no último ano	7 (35,0)	20 (32,3)	1,10 (0,44-2,75)	0,84		
Sífilis	0 (0,0)	4 (6,5)	0,0 (indefinido)	0,94		

Nota. Todos os dados estão em proporção (%), exceto quando especificado. Resultados significantes são mostrados em negrito. RP, Razão de Prevalências; IC, Intervalo de Confiança; HSH, Homem que faz sexo com homens.

Caracterização molecular de MRSA

Foram obtidos 14 isolados de MRSA de 10 pacientes. Todos foram submetidos a caracterização molecular por PFGE e identificação do cassete cromossômico (*SCCmec*) conforme mostrado na **Figura 4**. Observa-se cluster envolvendo 8 isolados de 5 sujeitos (de ambos os hospitais) e conjunto com a cepa USA 500.

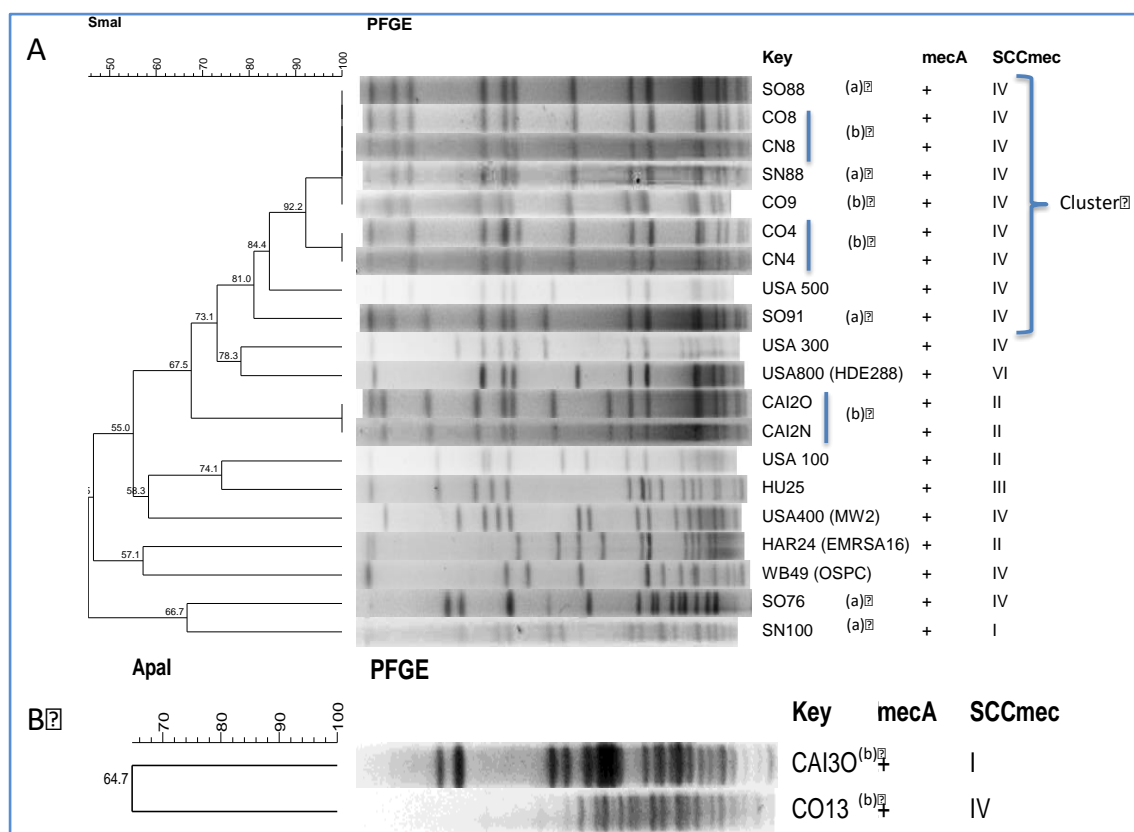


Figura 4. Dendrogramas mostrando isolados de MRSA recuperados no estudo, em conjunto com cepas padrão internacionais, tipados com enzimas de restrição *SmaI* (A) ou *ApaI* (B). À direita consta a identificação do *SCCmec*. Linhas horizontais apontam dois isolados do mesmo paciente. (a) Oriundo de dependentes químicos (SARAD); (b) Oriundo de pacientes do hospital psiquiátrico.

Nenhum sujeito da pesquisa apresentou carreamento simultâneo de cepas distintas.

Na tipagem de SCCmec predominou o tipo IV (de isolados de 7 sujeitos), sendo também identificados MRSA carreando SCCmec tipos I (dois isolados de dois sujeitos) e II (dois isolados de um mesmo sujeito).

Na **Tabela 3** resumimos as características clínico-epidemiológicas dos portadores de MRSA dos dois grupos estudados. É interessante notar que não houve associação clara entre SCCmec e história prévia de internação. Esse antecedente estava presente em 3/7 carreadores do tipo IV, no único carreador do tipo II e em nenhum dos carreadores do tipo I.

Tabela 3. Características clínico-epidemiológicas dos sujeitos carreadores de MRSA nos dois grupos estudados.

Características	SARAD (4)	Cantídio (6)
Masculino	2	2
Idade (mediana, extremos)	26 (18-49)	32 (21-76)
Álcool	3	2
Drogas ilícitas	3	2
Crack	3	2
Cocaína inalatória*	3*	0*
Promiscuidade	3	1
Situação de rua	1	0
Cumpriu pena	1	0
Charlson ≥ 1	0	1
Internação no último ano	2	2
Cirurgias no último ano	1	2
Antimicrobiano no último ano	1	0
Infecção de pele	0	0
SCCmec	IV (3 sujeitos) I (1 sujeito)	IV (4 sujeitos) I (1 sujeito) II (1 sujeito)
Sujeitos com isolados no cluster de PFGE	2	3
Sujeitos com isolados não tipáveis por <i>SmaI</i>	0	2

* Diferença estatisticamente significante pelo Teste Exato de Fisher ($p=0,03$).

DISCUSSÃO

A colonização por *S. aureus* pode ser transitória ou permanente, e é situada pela maioria dos estudos com prevalências entre 30 e 50%.^{43,44} Por outro lado, a prevalência da colonização por MRSA parece estar aumentando.⁴⁵ Desse modo, pode-se afirmar que a ocorrência de MRSA em sujeitos com história de abuso de substâncias ilícitas representa a interseção de duas epidemias.

Na literatura, encontramos com frequência a referência a drogas ilícitas como fator de risco para infecções por MRSA na população geral⁴⁶ ou em coortes de pacientes soropositivos para o HIV.⁴⁷ Há referência de associação entre drogas ilícitas e MRSA,^{48,49} incluindo achado de bacteremias pela cepa USA300 na população de usuários.⁵⁰ No entanto, inquéritos de prevalência abordando esse grupo são raros. Um exemplo interessante foi o estudo conduzido em uma clínica de pacientes usando metadona para tratamento de dependência a drogas em Dublin, Irlanda.⁵¹ Nesse estudo as prevalências de carreamento nasal de *S. aureus* e MRSA foram de 25% e 3,1%, respectivamente. A prevalência de MRSA tem sido relatada

em diferentes frequências em estudos da Suíça (1,0%)⁵², Itália (1,1%)⁵³, Canadá (18,6%)⁵⁴ e Inglaterra (49,0%).⁵⁵

É digno de nota que todos os estudos referidos acima envolveram principalmente usuários de drogas injetáveis, um padrão pouco prevalente no Brasil.¹⁹ Somente dois sujeitos de nosso estudo (ambos da clínica de dependentes químicos) referia uso de drogas intravenosas. Um interessante estudo da Suécia envolvendo usuários de drogas injetáveis e não injetáveis encontrou maior prevalência de carreamento perineal de *S. aureus* no primeiro grupo, porém somente um paciente em toda a coorte era colonizado por MRSA.

Na análise de fatores de risco associados a carreamento de *S. aureus*, sobressaiu a associação com cocaína inalatória. Além disso, 3 de 4 carreadores de MRSA na clínica de dependentes referia esse antecedente. É possível que esse fenômeno reflita quebra de integridade da mucosa nasal secundárias ao uso da cocaína.⁵⁶ Ou talvez haja facilitação da transmissão de *S. aureus* em redes sociais de indivíduos que compartilham drogas, um fenômeno que foi relatado na literatura.⁵⁷

Quanto à população de hospitais psiquiátricos, esta tem sido pouco abordada em pesquisas de MRSA. Um estudo realizado em

Chicago (EUA) identificou 2,3% de colonização nasal por MRSA no momento da admissão a enfermarias psiquiátricas.⁵⁸ Estudo semelhante conduzido em Baltimore (EUA) encontrou 5,2% dos pacientes carreando MRSA.⁵⁹ Em ambos os casos as pesquisas foram conduzidas em unidades para pacientes agudos. Em nosso estudo, a prevalência atingiu 12,1% nesse grupo, sendo de 7,3% na abordagem agregada do hospital psiquiátrico. Não foi possível abordar estatisticamente preditores de colonização por MRSA, porém o carregamento geral de *S. aureus* estava negativamente associado à idade. Esse achado é semelhante ao relatado por nosso grupo na população geral de Botucatu-SP.⁶⁰

Se comparada a estudos prévios conduzidos pelo nosso grupo de pesquisa, os achados deste mostram prevalência mais elevada de MRSA, conforme se observa na **Figura 5**. De fato, a prevalência agregada deste estudo mostra-se superior à identificada no estudo populacional⁶⁰: 4,5% versus 0,9%, $p=0,001$.

Quantos aos achados moleculares, nota-se a presença de um cluster disperso entre as duas unidades estudadas. Na verdade, metade dos carregadores de MRSA em cada hospital pertencia a esse cluster. É importante salientar que há certa circulação de pacientes

entre os dois serviços, mas os pacientes acometidos não haviam transitado dessa forma. Podemos levantar duas hipóteses para explicar o achado: a circulação de um clone no interior do hospital ou a transmissão através de redes sociais – que não foram abordadas em nossa pesquisa.⁵⁷ O cluster era caracterizado pelo carreamento de SCCmec tipo IV, usualmente associado a isolados associados à comunidade (Community-Associated [CA]-MRSA). No entanto, encontramos também padrões de SCCmec I e II, caracteristicamente circulantes no interior de serviços de saúde.

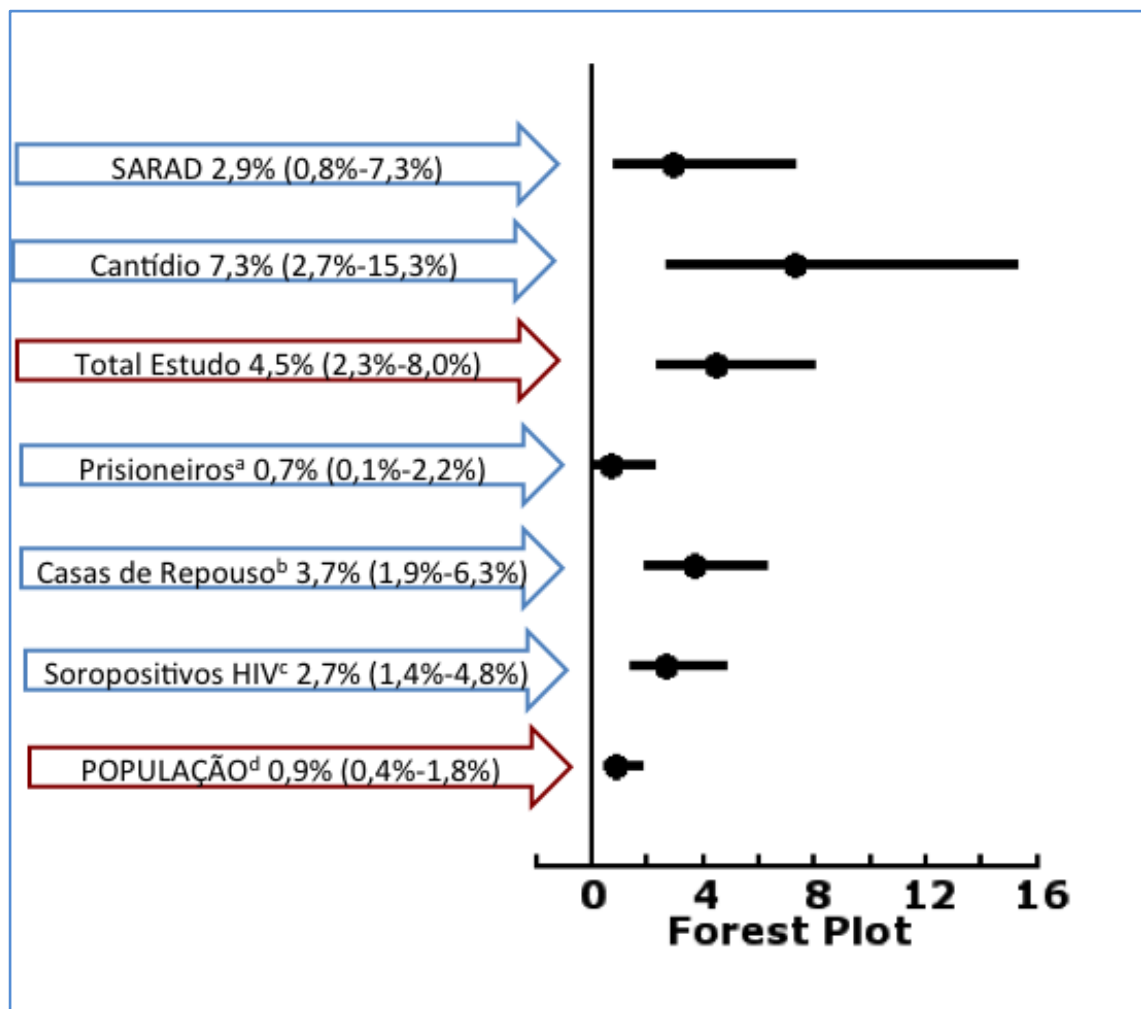


Figura 5. Gráfico tipo *Forest Plot* mostrando prevalências encontradas no presente estudo e em outros estudos prévios do nosso grupo. ^a Witzel et al, 2014⁶¹; ^b da Silveira, 2013⁶²; ^c Lastoria, 2016⁶³; ^d Pires et al, 2014⁶⁰.

Nosso estudo possui algumas limitações, incluindo o número relativamente pequeno de sujeitos e a não realização de tipagem por *Multilocus Sequence Typing* (MLST). Além disso, o desenho transversal dificulta a identificação do real impacto à saúde representado pelo carregamento de *S. aureus* e MRSA. Na realidade, não encontramos associação entre infecção de pele e colonização, um achado relatado em nosso inquérito populacional.⁵⁸

No entanto, consideramos que a realização conjunta de análise epidemiológica e molecular reforça a validade de nossos achados. Essa é a função da chamada “epidemiologia molecular”- a associação de métodos moleculares ao estudo da distribuição e determinantes dos agravos à saúde e seus fatores de risco.⁶⁴

Tomados em conjunto, nossos achados apontam para importante carregamento e transmissão de *S. aureus* e MRSA em pacientes psiquiátricos – sejam eles atendidos em clínicas para dependentes químicos ou portadores de outras condições associadas à saúde mental. Novos estudos são necessários para identificar a

contribuição de comportamentos específicos e do ambiente do serviço de saúde para esse fenômeno, e também para abordar seu impacto clínico.

CONCLUSÃO

- Prevalências de carreamento de *Staphylococcus aureus* como um todo e de MRSA em particular em pacientes dependentes químicos admitidos em hospital de referencia foram de 28,3% e 2,9%, respectivamente. O carreamento de *S. aureus* nesse grupo foi associado ao uso de cocaína inalatória.
- Entre pacientes internados no hospital psiquiátrico, taxas de prevalência para colonização por *S. aureus* e MRSA foram de 24,3% e 7,3%. Houve associação inversa entre idade e carreamento de *S. aureus*.
- A prevalência global de carreamento de MRSA no estudo foi superior à identificada em inquérito populacional na mesma região. Metade dos sujeitos colonizados por MRSA referia uso de drogas ilícitas.

- A tipagem molecular identificou cluster que agregou metade dos sujeitos colonizados, sugerindo possibilidade de transmissão intra e entre grupos.
- A caracterização do cassete cromossômico (SCCmec) identificou predomínio do tipo IV (epidemiologicamente associado a infecções da comunidade), com ocorrência minoritário dos tipos I e II (mais encontrados no interior de serviços de saúde). Porém não foi possível vincular cada tipo de SCCmec a interações prévias.

REFERÊNCIAS

1. Gordon RJ, Lowy FD. Bacterial infections in drug users. *N Engl J Med* 2005; 353:1945-54.
2. Kaushi K, Kapilla K, Praharaj AK. Shooting up: the interface of microbial infections and drug abuse. *J Med Microbiol* 2011; 60: 408-22.
3. Gibbs T, Ross L. Illicit drug use related attendances at accident and emergency services in Aberdeen: a prospective six month survey. *Health Bull (Edinb)*. 2000;58:170-6.
4. Longo MC, Henry-Edwards SM, Humeniuk RE, Christie P, Ali RL. Impact of the heroin 'drought' on patterns of drug use and drug-related harms. *Drug Alcohol Rev*. 2004;23:143-50.
5. Jouanjus E, Leymarie F, Tubery M, Lapeyre-Mestre M. Cannabis-related hospitalizations: unexpected serious events identified through hospital databases. *Br J Clin Pharmacol*. 2011;71:758-65.
6. Cornford CS, Mason JM, Inns F. Deep vein thromboses in users of opioid drugs: incidence, prevalence, and risk factors. *Br J Gen Pract*. 2011;61:e781-6.
7. Kenne DR, Boros AP, Fischbein RL. Characteristics of opiate users leaving detoxification treatment against medical advice. *J Addict Dis*. 2010;29:383-94.

8. Levine D, Brown PD. Infections in injection drug users. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 7th Edition. Philadelphia: Churchill-Livingstone, 2010: 3875-90.
9. Takahashi TA, Maciejewski ML, Bradley K. US hospitalizations and costs for illicit drug users with soft tissue infections. *J Behav Health Serv Res.* 2010;37:508-18.
10. Hennings C, Miller J. Illicit drugs: What dermatologists need to know. *J Am Acad Dermatol.* 2013;69:135-42.
11. Bassetti S, Battagay M. *Staphylococcus aureus* infections in injection drug users: risk factors and prevention strategies. *Infection.* 2004;32:163-9.
12. Cooper HL, Brady JE, Ciccarone D, Tempalski B, Gostnell K, Friedman SR. Nationwide increase in the number of hospitalizations for illicit injection drug use-related infective endocarditis. *Clin Infect Dis.* 2007;45:1200-3.
13. Levine D P, Crane LR, Zervos MJ. Bacteremia in narcotic addicts at the Detroit Medical Center. II. Infectious endocarditis: a prospective comparative study. *Rev Infect Dis* 1986;8:374–96.
14. Kreisel KM, Johnson JK, Stine OC, Shardell MD, Perencevich EN, Lesse AJ, Gordin FM, Climo MW, Roghmann MC. Illicit drug use and risk for USA300 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections with bacteremia. *Emerg Infect Dis.* 2010;16:1419-27.

15. Kreisel KM, Stine OC, Johnson JK, Perencevich EN, Shardell MD, Lesse AJ, Gordin FM, Climo MW, Roghmann MC. USA300 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia and the risk of severe sepsis: is USA300 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* associated with more severe infections? *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2011;70:285-90.
16. Witzel CL. Isolamento e caracterização de amostras comunitárias de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (CA-MRSA) em uma população carcerária no município de Avaré-SP. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais, Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP. Orientação: Maria de Lourde Ribeiro de Souza da Cunha. 2012.
17. de Almeida-Filho N, Santana VS, Pinto IM, de Carvalho-Neto JA. Is there an epidemic of drug misuse in Brazil? A review of the epidemiologic evidence (1977-1988). *Int J Addict*. 1991;26:355-69.
18. Bastos FI. Structural violence in the context of drug policy and initiatives aiming to reduce drug-related harm in contemporary Brazil: a review. *Subst Use Misuse*. 2012;47(13-14):1603-10.
19. Aceijas C, Friedman SR, Cooper HL, Wiessing L, Stimson GV, Hickman M. Estimates of injecting drug users at the national and local level in developing and transitional countries, and gender and age distribution. *Sex Transm Infect*. 2006;82 (Suppl 3):iii10-7.

20. Ferri CP, Gossop M. Route of cocaine administration: patterns of use and problems among a Brazilian sample. *Addict Behav.* 1999;24:815-21.
21. BRASIL. Perfil dos usuários de crack e/ou similares no Brasil. Brasília: Ministério da Justiça, 2011 [disponível em <http://www.casacivil.gov.br/noticias/perfil-brasil.pdf>, consultado em 01.06.2014]
22. Ribeiro M, Dunn J, Laranjeira R, Sesso R. High mortality among young crack cocaine users in Brazil: a 5-year follow-up study. *Addiction.* 2004 Sep;99:1133-5.
23. Mesquita F, Kral A, Reingold A, Haddad I, Sanches M, Turienzo G, Piconez D, Araujo P, Bueno R. Overdoses among cocaine users in Brazil. *Addiction.* 2001;96:1809-13.
24. Duailibi LB, Ribeiro M, Laranjeira R. Profile of cocaine and crack users in Brazil. *Cad Saude Publica.* 2008;24 (Suppl 4):s545-57.
25. Lopes GM, Nóbrega BA, Del Prette G, Scivoletto S. Use of psychoactive substances by adolescents: current panorama. *Rev Bras Psiquiatr.* 2013;35 (Suppl 1):S51-61.
26. BRASIL. Política Nacional Sobre Drogas. Brasília: Conselho Nacional Antidrogas, 2005. [Disponível em <http://www.obid.senad.gov.br/portais/OBID/biblioteca/documentos/Legislacao/326979.pdf>, consultado em 01/06/2014].
27. BRASIL. DECRETO Nº 7.179, DE 20 DE MAIO DE 2010. Plano Integrado de Enfrentamento ao Crack e outras Drogas.

- Presidência da República/Casa Civil. Brasília, 2010 [Disponível em http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/Ato2007-2010/2010/Decreto/D7179.htm, consultado em 01.06.2014].
28. Crauss RM, Abaid JL. A dependência química e o tratamento de desintoxicação hospitalar na fala dos usuários. *Contextos Clínicos* 2012, 5:62-72.
29. Bottomley S. Mental health law reform and psychiatric deinstitutionalization: the issues in New South Wales. *Int J Law Psychiatry*. 1987;10:369-82.
30. De Girolamo G. Italian psychiatry and reform law: a review of the international literature. *Int J Soc Psychiatry*. 1989;35:21-37.
31. Cavalcanti MT. Psychiatric reform in Brazil: helping build and strengthen the Unified National Health System. *Cad Saude Publica*. 2008 ;24:1963.
32. Hirdes A. A reforma psiquiátrica no Brasil: uma (re) visão. *Cien Saude Colet*. 2009;14:297-305.
33. Kilsztajn S, Lopes Ede S, Lima LZ, Rocha PA, Carmo MS. Leitos hospitalares e reforma psiquiátrica no Brasil . *Cad Saude Publica*. 2008;24:2354-62.
34. Fleck MP, Wagner L, Wagner M, Dias M. Long-stay patients in a psychiatric hospital in Southern Brazil. *Rev Saude Publica*. 2007;41:124-30.
35. TRIBUNAL DE CONTAS DA UNIÃO. Avaliação das ações de atenção à Saúde Mental. Brasília, 2005 [disponível em

http://portal2.tcu.gov.br/portal/page/portal/TCU/comunidades/programas_governo/areas_atuacao/saude/saude_mental_sum.pdf, consultado em 01.06.2014].

36. Koneman EV, Allen SD, Sowell VR, Sommer HM. Introdução à microbiologia médica. In: Diagnóstico microbiológico: texto e Atlas colorido. 5ª ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2001.
37. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Tenth Edition (M02-A10). CLSI, 2009.
38. 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.
39. 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.
40. Murchan S, Kaufmann ME, Deplano A, de Ryck R, Struelens M, Zinn CE, Fussing V, Salmenlinna S, Vuopio-Varkila J, El Solh N, Cuny C, Witte W, Tassios PT, Legakis N, van Leeuwen W, van Belkum A, Vindel A, Laconcha I, Garaizar J, Haeggman S, Olsson-Liljequist B, Ransjö U, Coombes G, Cookson B. Harmonization of Pulsed-Field Gel Electrophoresis protocols for epidemiological typing of strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a

- single approach developed by consensus in 10 European laboratories and its application for tracing the spread of related strains. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 1574-85.
41. Rasschaert G, Vanderhaeghen W, Dewaele I, Janez N, Huijsdens X, Butaye P, Heyndrickx M. Comparison of fingerprinting methods for typing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* sequence type 398. *J Clin Microbiol*. 2009;47:3313-22.
42. Greenland S. Modeling and variable selection in epidemiologic analysis. *Am J Public Health* 1989; 79:340-9.
43. Kuehnert MJ, Kruszon-Moran D, Hill HA, McQuillan G, McAllister SK, Fosheim G, McDougal LK, Chaitram J, Jensen B, Fridkin SK, Killgore G, Tenover FC. Prevalence of *Staphylococcus aureus* nasal colonization in the United States, 2001–2002. *J Infect Dis* 2006; 193: 172–179.
44. Hamdan-Partida A, Sainz-Espuñes T, Bustos-Martínez
Characterization and persistence of *Staphylococcus aureus* strains isolated from the anterior nares and throats of healthy carriers in a Mexican community. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 1701–1705.
45. Gorwitz RJ, Kruszon-Moran D, McAllister SK, McQuillan G, McDougal LK, Fosheim GE, Jensen BJ, Killgore G, Tenover FC, Kuehnert MJ. Changes in the prevalence of nasal colonization with *Staphylococcus aureus* in the United States, 2001–2004. *J Infect Dis* 2008; 197: 1226–1234.

46. Vayalunkal JV, Suh KN, Toye B, Ramotar K, Saginur R, Roth VR. Skin and soft tissue infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): an affliction of the underclass. *CJEM*. 2012;14:335-43.
47. Crum-Cianflone NF, Wang X, Weintrob A, Lalani T, Bavaro M, Okulicz JF, Mende K, Ellis M, Agan BK. Specific Behaviors Predict *Staphylococcus aureus* Colonization and Skin and Soft Tissue Infections Among Human Immunodeficiency Virus-Infected Persons. *Open Forum Infect Dis*. 2015;2:ofv034.
48. Wooten DA, Winston LG. Risk factors for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in patients with community-onset and hospital-onset pneumonia. *Respir Med*. 2013;107:1266-70.
49. Gilbert M, MacDonald J, Gregson D, Siushansian J, Zhang K, Elsayed S, Outbreak in Alberta of community-acquired (USA300) methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in people with a history of drug use, homelessness or incarceration. *CMAJ*. 2006;175:149-54.
50. Popovich KJ, Snitkin E, Green SJ, Aroutcheva A, Hayden MK, Hota B, Weinstein RA. Genomic Epidemiology of USA300 Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in an Urban Community. *Clin Infect Dis*. 2016;62:37-44.
51. Somers CJ, Bridgeman J, Keenan E. Nasal carriage prevalence of methicillin resistant (MRSA) and methicillin sensitive (MSSA)

- Staphylococcus aureus* for subjects attending a Dublin methadone clinic. *J Infect.* 2010;60:494-6.
52. Colombo C, Senn G, Bürgel A, Ruef C. Clearance of an epidemic clone of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a drug-use network: a follow-up study in Switzerland. *Scand J Infect Dis.* 2012;44:650-5.
53. Tufi D, de Vito C, Furnari G, Marzuillo C, Anastasi D, Villari P. Prevalence of *Staphylococcus aureus* nasal colonisation in injection drug users. *Ig Sanita Pubbl* 2007;63:353-66.
54. Atkinson SR, Paul J, Sloan E, Curtis S, Miller R. The emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among injecting drug users. *J Infect* 2009;58:339-45.
55. Al-Rawahi GN, Schreuder AG, Porter SD, Roscoe DL, Gustafson R, Bryce EA. MRSA nasal carriage among injection drug users: six years later. *J Clin Microbiol* 2008;46:477-9.
56. Beule AG. Physiology and pathophysiology of respiratory mucosa of the nose and the paranasal sinuses. *GMS Curr Top Otorhinolaryngol Head Neck Surg.* 2010; 9: Doc07.
57. Gwizdala RA, Miller M, Bhat M, Vavagiakis P, Henry C, Neaigus A, Shi Q, Lowy FD. *Staphylococcus aureus* colonization and infection among drug users: identification of hidden networks. *Am J Public Health.* 2011; 101:1268-76.
58. Das S, Harazin M, Wright MO, Dusich I, Robicsek A, Peterson LR. Active Surveillance and Decolonization Without Isolation Is

- Effective in Preventing Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Transmission in the Psychiatry Units. *Open Forum Infect Dis.* 2014;1:ofu067.
59. Farley JE, Ross T, Krall J, Hayat M, Caston-Gaa A, Perl T, Carroll KC. Prevalence, risk factors, and molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal and axillary colonization among psychiatric patients on admission to an academic medical center. *Am J Infect Control.* 2013;41:199-203.
60. Pires FV, da Cunha Mde L, Abraão LM, Martins PY, Camargo CH, Fortaleza CM. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* in Botucatu, Brazil: a population-based survey. *PLoS One.* 2014;9:e92537.
61. Witzel Cde L, Fortaleza CM, de Souza CS, Riboli DF, da Cunha Mde L. Nasopharyngeal carriage of *Staphylococcus aureus* among imprisoned males from Brazil without exposure to healthcare: risk factors and molecular characterization. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2014;13:25.
62. Silveira M. Prevalência e fatores de risco para carreamento de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina em idosos institucionalizados na cidade de Bauru-SP. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais, 2013.
63. Lastoria LC. Colonização por *Staphylococcus aureus* em pessoas vivendo com HIV/AIDS acompanhadas em um serviço

ambulatorial de referência em Botucatu (SP): prevalência, resistência à meticilina e epidemiologia molecular. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais, 2016.

64. Foxman B, Riley L. Molecular epidemiology: focus on infection. *Am J Epidemiol.* 2001;153:1135-41.

ANEXO 1: Ficha de Levantamento de Dados

Nome: _____

Gênero: _____ Idade: _____

Instituição: _____

Local de residência: _____ Morador de rua (S/N): _____

Tempo de institucionalização (meses): _____

Diagnóstico psiquiátrico: _____ CID: _____

Drogas ilícitas (S/N) [Droga e tempo desde último uso]:

Álcool (S/N) [Droga e tempo desde último uso]:

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:

Tatuagens (S/N): _____ Há quanto tempo: _____

Internações 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 2: Termo de consentimento livre e esclarecido.

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Convidamos o (a) Sr (o) (a), para participar da pesquisa e estudo denominado **“Epidemiologia molecular de *Staphylococcus aureus*, em pacientes internados em hospital psiquiátrico e dependentes químicos atendidos no serviço hospitalar de referência no município de Botucatu SP”**.

A bactéria estafilococo, também chamada *Staphylococcus aureus*, é conhecida por causar vários tipos de infecções, como de pele, ossos e pulmões (pneumonias). Mas também pode estar presente no nariz, na boca e em outras partes do corpo de pessoas saudáveis. Uma pesquisa em Botucatu mostrou que uma de cada três pessoas possui essa bactéria. Isso não significa que essas pessoas vão ficar doentes. Na verdade a maioria não vai apresentar nenhum problema, embora alguns possam no futuro desenvolver infecções. Mas as pessoas que carregam – sem saber – essa bactéria podem transmitir a outras, que podem adoecer. Para essas, o tratamento pode ser mais difícil quando a bactéria estafilococo existe em sua forma resistente a antibióticos.

Nossa pesquisa pretende descobrir se pessoas internadas em hospitais psiquiátricos ou de dependentes químicos tem maior chance de apresentar a bactéria estafilococo, em sua forma comum ou resistente a antibióticos. Por isso convidamos você a participar. Se concordar, colheremos material do seu nariz e boca usando uma espécie de cotonete (chamado de “swab”). A realização do exame é rápida e geralmente não causa nenhuma dor, embora possa ocorrer um pequeno desconforto. Outros riscos – como sangramento ou irritação do local – são muito baixos, pois aplicamos o “cotonete” com delicadeza. O exame poderá ser interrompido a qualquer momento e não será feito em pessoas com facilidade de sangramento nasal.

O material que é colhido com o “cotonete” será enviado a laboratório para tentar encontrar a bactéria estafilococo. Se ela for encontrada, várias análises serão feitas para ver a resistência a antibióticos e a capacidade de se espalhar na população.

Solicitamos também o acesso aos dados de seu prontuário para sabermos os fatores que facilitam ou não a presença da bactéria estafilococo.

Caso aceite, nós informaremos seu resultado e você ficará sabendo se tem a bactéria. Se tiver a forma resistente, será oferecida a possibilidade de “descontaminação” (pomada para eliminar a bactéria do seu organismo). Se necessário, encaminharemos você para consulta com médico infectologista no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu (Dr. Carlos Magno, pesquisador do estudo).

As informações obtidas com essa pesquisa poderão nos ajudar a direcionar medidas para prevenir as infecções por estafilococos em toda a população.

Saiba que esse estudo será realizado seguindo as normas de ética em pesquisa, com total sigilo (segredo) de suas informações. Além disso, você poderá sair do estudo a qualquer momento se assim desejar, bastando para isso entrar em contato com os pesquisadores. Se não se sentir atendido(a), poderá entrar em contato com a Chefia do Departamento de Doenças Tropicais da Faculdade de Medicina de Botucatu (14)3880-1284 e/o com o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu (14) 3880-1608.

Este documento deve ser assinado em duas vias, uma das quais ficará em seu poder.

Declaro que estou ciente dos procedimentos da pesquisa e concordo com minha participação.

Nome _____

—

Local
Internação _____

Data _____

—

Assinatura _____

—

Pesquisadora:

Máiris Alarcão Duarte de Oliveira

e-mail: mairis_duarte@hotmail.com Telefone: (14) 3811-2817

Orientador:

Dr Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza

E-mail: cmfortaleza@uol.com.br Telefone: (14) 3880- 1284

ANEXO 3: Termo de consentimento livre e esclarecido para responsáveis legais.

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Para responsáveis legais)

Convidamos o paciente sob sua responsabilidade, para participar da pesquisa e estudo denominado **“Epidemiologia molecular de *Staphylococcus aureus*, em pacientes internados em hospital psiquiátrico e dependentes químicos atendidos no serviço hospitalar de referência no município de Botucatu SP”**.

A bactéria estafilococo, também chamada *Staphylococcus aureus*, é conhecida por causar vários tipos de infecções, como de pele, ossos e pulmões (pneumonias). Mas também pode estar presente no nariz, na boca e em outras partes do corpo de pessoas saudáveis. Uma pesquisa em Botucatu mostrou que uma de cada três pessoas possui essa bactéria. Isso não significa que essas pessoas vão ficar doentes. Na verdade a maioria não vai apresentar nenhum problema, embora alguns possam no futuro desenvolver infecções. Mas as pessoas que carregam – sem saber – essa bactéria podem transmitir a outras, que podem adoecer. Para essas, o tratamento pode ser mais difícil quando a bactéria estafilococo existe em sua forma resistente a antibióticos.

Nossa pesquisa pretende descobrir se pessoas internadas em hospitais psiquiátricos ou de dependentes químicos tem maior chance de apresentar a bactéria estafilococo, em sua forma comum ou resistente a antibióticos. Por isso convidamos o (a) paciente sob sua responsabilidade a participar. Se concordar, colheremos material do seu nariz e boca usando uma espécie de cotonete (chamado de “swab”). A realização do exame é rápida e geralmente não causa nenhuma dor, embora possa ocorrer um pequeno desconforto. Outros riscos – como sangramento ou irritação do local – são muito baixos, pois aplicamos o “cotonete” com delicadeza. O exame poderá ser interrompido a qualquer momento e não será feito em pessoas com facilidade de sangramento nasal.

O material que é colhido com o “cotonete” será enviado a laboratório para tentar encontrar a bactéria estafilococo. Se ela for encontrada, várias análises serão feitas para ver a resistência a antibióticos e a capacidade de se espalhar na população.

Solicitamos também o acesso aos dados de seu prontuário para sabermos os fatores que facilitam ou não a presença da bactéria estafilococo.

Caso aceite, nós informaremos o resultado e você ficará sabendo se ele (a) tem a bactéria. Se tiver a forma resistente, será oferecida a possibilidade de “descontaminação” (pomada para eliminar a bactéria do seu organismo). Se necessário, encaminharemos ele(a) para consulta com

médico infectologista no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu (Dr. Carlos Magno, pesquisador do estudo).

As informações obtidas com essa pesquisa poderão nos ajudar a direcionar medidas para prevenir as infecções por estafilococos em toda a população.

Saiba que esse estudo será realizado seguindo as normas de ética em pesquisa, com total sigilo (segredo) das informações. Além disso, você poderá retirar o paciente sob sua responsabilidade do estudo a qualquer momento se assim desejar, bastando para isso entrar em contato com os pesquisadores. Se não se sentir atendido(a), poderá entrar em contato com a Chefia do Departamento de Doenças Tropicais da Faculdade de Medicina de Botucatu (14)3880-1284 e/o com o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu (14) 3880-1608.

Este documento deve ser assinado em duas vias, uma das quais ficará em seu poder.

Declaro que estou ciente dos procedimentos da pesquisa e concordo com a participação do paciente sob minha responsabilidade.

Nome
Paciente _____

Nome
Responsável _____

Local
Internação _____

Data _____

—

Assinatura _____

Pesquisadora:

Maíris Alarcão Duarte de Oliveira

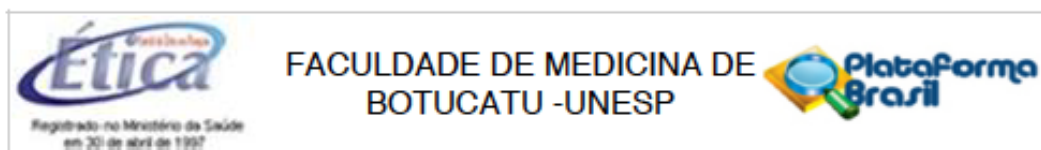
e-mail: mairis_duarte@hotmail.com Telefone: (14) 3811-2817

Orientador:

Dr Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza

E-mail: cmfortaleza@uol.com.br Telefone: (14) 3880- 1284

ANEXO 4: Parecer CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR DE *Staphylococcus aureus* EM PACIENTES INTERNADOS EM HOSPITAL PSIQUIÁTRICO E DEPENDENTES QUÍMICOS ATENDIDOS EM SERVIÇO HOSPITALAR DE REFERÊNCIA NO MUNICÍPIO DE BOTUCATU, SP

Pesquisador: Mairis Alarcão Duarte de Oliveira

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 48544115.3.0000.5411

Instituição Proponente: Departamento de Doenças Tropicais e Diagnóstico por Imagem

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.226.745

Apresentação do Projeto:

Projeto de fácil execução, sem risco, conduzido sob responsabilidade do Departamento de Doenças Tropicais e Diagnóstico por Imagem da fmb/UNESP e colaboração do Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Biociências de Botucatu/UNESP. Co-orientação da Profa Maria de Lourdes Ribeiro de Souza da Cunha.

O estudo consistem em avaliar amostras de swabs nasais e de orofaringe para a presença de *S.aureus* obtidos de pacientes internados no Centro de Atenção Integral à Saúde "Professor Cantidio de Moura Campos" e Serviço de Atendimento e Referência de Álcool e Drogas (SARAD).

Serão incluídos 100 pacientes psiquiátricos e 250 pacientes usuários de drogas ilícitas.

Será coletado amostra dos pacientes após assinatura do TCLE. Nos casos de impossibilidade de compreensão do TCLE os cuidadores ou responsáveis legal serão contatados para esclarecimento e assinatura do TCLE.

As amostras serão estudadas sob ponto de vista microbiológico (caracterização, suscetibilidade, caracterização molecular) e associados a fatores preditores de colonização.

Os dados coletados dos pacientes para avaliação são: idade, gênero, tempo de internação, escore de Charlson, uso de drogas, consumo de álcool, tipo de moradia.

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

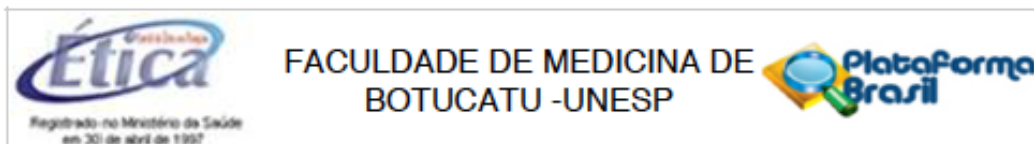
UF: SP

Município: BOTUCATU

CEP: 18.618-970

Telefone: (14)3890-1808

E-mail: capellup@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 1.226.745

Objetivo da Pesquisa:

Objetivos

Identificar prevalência e fatores preditores de colonização por *Staphylococcus aureus* em geral, e isolados resistentes à meticilina (MRSA) em particular, entre usuários de drogas ilícitas (UDI) admitidos em instituição hospitalar e pacientes de hospital psiquiátrico no município de Botucatu, SP.

Caracterizar a disseminação de clones de *S. aureus* nas populações do estudo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Sem risco e sem benefício direto, somente benefício científico.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa de fácil execução e baixo custo. Não existe custo para as Instituições envolvidas. A caracterização microbiológica será realizada no Instituto de Biociências de Botucatu.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

TCLE para o paciente e responsável legal contém informações de fácil entendimento.

Recomendações:

Nenhuma

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

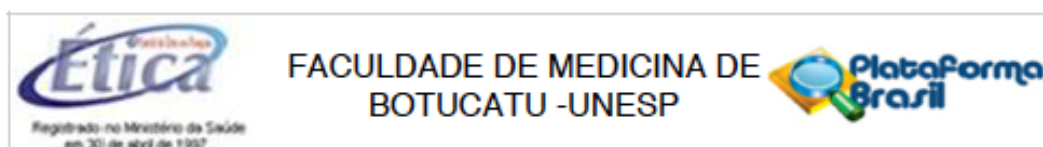
Projeto de pesquisa APROVADO, deliberado em reunião do CEP de 14/09/2015, sem necessidade de envio à CONEP.

Alertamos aos pesquisadores sobre a necessidade de enviar o "Relatório Final de Atividades" após conclusão do projeto. Essa documentação deve ser enviada via Plataforma Brasil na forma de "NOTIFICAÇÃO".

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Outros	Autorização SARAD.pdf	13/08/2015 20:23:04		Aceito

Endereço: Chácara Bufignoli, s/n
 Bairro: Rubião Junior CEP: 18.618-970
 UF: SP Município: BOTUCATU
 Telefone: (14)3880-1608 E-mail: capellup@fmb.unesp.br



FACULDADE DE MEDICINA DE
BOTUCATU -UNESP

Continuação do Parecer: 1.226.745

Outros	Declarações Cantidio.pdf	13/08/2015 20:24:03		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE sujeito.docx	13/08/2015 20:28:13		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE responsável legal.docx	13/08/2015 20:28:20		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto Mairs Ago 2015.pdf	13/08/2015 20:39:49		Aceito
Folha de Rosto	FolhadeRosto.pdf	24/08/2015 16:35:19	Mairis Alarcão Duarte de Oliveira	Aceito
Outros	EAP.pdf	24/08/2015 16:37:46	Mairis Alarcão Duarte de Oliveira	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_445133.pdf	24/08/2015 16:38:19		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BOTUCATU, 14 de Setembro de 2015

Assinado por:
SILVANA ANDREA MOLINA LIMA
(Coordenador)

ANEXO 5: Artigo enviado para publicação

Submetido ao periódico *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases*

Thank you for approving "Staphylococcus aureus colonization in illicit drug users, alcoholics and psychiatric patients in inner Brazil: epidemiology in settings of rare use of injection drugs.". An email has been sent to you confirming that the journal has received this submission. Your Co-Author(s) may also receive this email, depending on the journal policy.



Mendeley

To keep track of how your article is performing
[Click here to view Mendeley Stats](#)

[Main Menu](#)

DIAGNOSTIC MICROBIOLOGY AND INFECTIOUS DISEASE Contact us Help ? Scopus access for Editors and Reviewers ...[more](#)

home | main menu | submit paper | guide for authors | register | change details | log out Username: cmfortaleza@uol.com.br Switch To: Author Go to: [My EES Hub](#) Version: EES 2017.3

Submissions Being Processed for Author Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza, M.D., Ph.D.

Page: 1 of 1 (1 total submissions) Display 10 results per page.

Action	Manuscript Number	Title	Initial Date Submitted	Status Date	Current Status
Action Links		Staphylococcus aureus colonization in illicit drug users, alcoholics and psychiatric patients in inner Brazil: epidemiology in settings of rare use of injection drugs.	Apr 17, 2017	Apr 17, 2017	Submitted to Journal

Page: 1 of 1 (1 total submissions) Display 10 results per page.

[<< Author Main Menu](#)

Title: *Staphylococcus aureus* colonization in illicit drug users, alcoholics and psychiatric patients in inner Brazil: epidemiology in settings of rare use of injection drugs.

Authors:

Maíris Alarcão Duarte de Oliveira¹

Maria de Lourdes Ribeiro de Souza da Cunha²

Marina Barbosa¹

Nathalia Bibiana Teixeira²

Danilo Flávio Moraes Riboli²

Matheus Cristovam de Souza²

Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza¹

Authors affiliations:

¹ Department of Tropical Diseases, Faculdade de Medicina de Botucatu (Botucatu School of Medicine), Universidade Estadual Paulista (São Paulo State University, UNESP). City of Botucatu, São Paulo State, Brazil.

² Department of Microbiology and Immunology, Instituto de Biociências de Botucatu (Botucatu Institute of Biosciences), Universidade Estadual Paulista (São Paulo State University, UNESP). City of Botucatu, São Paulo State, Brazil.

Abstract

Little is known about the epidemiology of *Staphylococcus aureus* and MRSA colonization in illicit drug users (IDUs), alcoholics and patients of psychiatric hospitals in settings where the use of injection drugs is rare. In order to address this issue, we conducted a cross-sectional study in a city in inner Brazil enrolling subjects from two groups: (a) 138 IDUs admitted to a reference hospital for alcoholism and drug addiction; (b) 82 patients in acute and long-term therapy in a psychiatric hospital. Subjects were screened for *S. aureus* nasal and/or oropharyngeal colonization. Molecular methods were applied for identification of methicillin resistance, characterization of the Staphylococcal Chromosome Cassete *mec* and strain typing of MRSA isolates. Prevalence rates of overall *S. aureus* / MRSA colonization for study groups (a) and (b) were 26.8% / 4.5% and 24.3% / 7.3%, respectively. Poisson regression multivariable models identified inhaled cocaine as a risk factor for *S. aureus* colonization in group (a), while age was negatively associated with colonization in group (b). We identified isolates harboring SCCmec types IV (7 subjects), I (2 subjects) and II (1 subject). A single Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) cluster grouped MRSA isolates from 5 out of 10 subjects, from both study groups. In conclusion, we found MRSA prevalence higher than that identified in a population-based survey in the same area, with evidence of cross-transmission among subjects. Alcoholics, IDUs and psychiatric patients are at greater risk of MRSA infection and may play a role as spreaders of MRSA to the general population.

Keywords:

Staphylococcus aureus, MRSA, molecular epidemiology, alcoholics, illicit drug users, psychiatric hospitals.

1. Introduction

As the incidence methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection rises, the epidemiological distinction of healthcare-associated (HA-MRSA) and community-associated (HA-MRSA) is increasingly blurred (Bal et al, 2016). In this setting, special populations that move between community, outpatients settings and long-term care facilities may be reservoirs and spreaders of potentially hazardous clones.

Illicit drugs users (IDUs) have been identified as a group of high risk for staphylococcal infections (Basseti & Battegay, 2004; Kaushi et al, 2011), including MRSA bacteremias caused by the notorious USA300 clone (Kreisel et al, 2011). However, most studies focusing on this topic are conducted in settings of high prevalence of use of injectable drugs (Frazee et al, 2005; Ender et al, 2007; Vayalumkal et al, 2012; Rhee et al, 2015;). The evidence is smaller for users of oral or inhaled illicit drugs (Dahlman et al, 2017) and also for alcoholics (Kaech et al, 2006).

Another group that has been seldom focused in these studies comprises patients in psychiatric hospitals (Farley et al, 2013; Das et al, 2014). In spite of emphasis on outpatients therapy for mental diseases and progressing closure of those hospitals, there are still many long-term care facilities for psychiatric patients in developing countries (Saxena et al, 2011), including Brazil (Candiago et al, 2011). A previous study reported very low adherence to basic infection control practices in a Brazilian hospital (Piai-Morais et al, 2015), a phenomenon that may increase the spread of pathogens such as MRSA.

In Brazil, the use of injection drugs is minority (Ferri & Gossop, 1999; Inciardi et al, 2006) and declined further as the use of cocaine crack reached epidemic level (Abdalla et al, 2014). On the other hand, alcoholism is endemic (Coutinho et al, 2016) and the number of admissions to long-term care psychiatric hospitals is still high (Candiago et al, 2014). In this setting, a study of the epidemiology of *S. aureus* and MRSA colonization may be helpful in understanding the spread of pathogens among healthcare facilities and the community, as well as in characterizing populations of high risk for infection.

2. Methods

2.1. Study settings and inclusion criteria

A cross-sectional study was conducted in two facilities for mental health care in the City of Botucatu, São Paulo State, Brazil. Those settings are reference for an area comprising several municipalities and about 1 million inhabitants. The settings were:

- (a) The Hospital for Reference Care of Alcohol and Illicit Drugs (HRCAD, 50 beds), a facility that admits patients for short-term therapeutic interventions for addiction to drugs and alcohol.
- (b) The Cantídio Psychiatric Hospital (CPH, 80 beds), a hospital that performs both-short term (less than 30 days) and long-term admissions for general psychiatric disorders.

Subjects from HRCAD were included upon admission to the hospital, while those from CPH were included any time during their admission. Only those subjects who agreed to participate or from whom we obtained an informed consent from the legal representative were included. We excluded those subjects who were aggressive or had no cognitive ability for decision (when a legal representative could not be found). Enrolment of subjects was performed during years 2015 and 2016. The study was approved by the Committee for Ethics in Research.

2.2. Microbiology methods

Nasal and oropharyngeal swabs were collected from study subjects. The swabs were transported in Stuart Medium. Cultivation and species identification were performed according to standard techniques. MRSA identification was based on amplification of the *mecA* gene (Murakami et al, 1991) and the characterization of the Staphylococcal Chromosome Cassette *mec* (SCC*mec*) was performed using the protocol described by Milheiriço et al (2007).

All MRSA isolates were submitted to strain typing using Pulsed-Field Gel Electrophoresis protocol based on restriction enzyme *SmaI* (Murchan et al, 2003) or *ApaI* (for strains not typed with *SmaI*; Rasschaert et al, 2009). Cluster analysis was

performed in the software Bionumerix (Applied Maths, Belgium) using a similarity coefficient of more than 80% to define clusters.

2.3. Epidemiological analysis

Subjects data were obtained both by direct interview and by review of medical charts. We defined prevalence on the basis of recovery of *S. aureus* or MRSA from at least one site (nares or oropharynx).

We collected demographic data, sexual behavior, history of previous incarceration, patterns of use of alcohol and illicit drugs. We also recorded the following data for the year previous to inclusion to our study: hospital admissions, invasive procedures (including surgeries), use of antimicrobials, and respiratory or skin/soft tissue infections. Comorbidities were assessed individually and using the Charlson index (Charlson et al, 1987).

Data were analyzed using EPI INFO 7 (Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA) and STATA 14 (StataCorp, College Station, TX). Besides descriptive analysis, we focused on identifying predictors for *S. aureus* colonization for the study groups (HRCAD and CPH). Univariate and multivariable models of Poisson regression were used. In the multivariable analysis, we used a stepwise forward strategy for variable selection, with $P < 0.1$ as a criteria for both entering and staying in the model. Gender, age and (for patients in psychiatric hospital) data on long-term (versus short-term) admission were forced in all models. A $P < 0.05$ was used as criteria for significance in the final step. The number of MRSA-harboring subjects was not sufficient to warrant study of predictors (see below).

3. Results

3.1. Prevalence and risk factors

A total of 220 subjects were included in the study, 138 from the hospital for drug and alcohol addiction (HRCAD) and 82 from the psychiatric hospital (CPH). The

overall *S. aureus* colonization prevalence was 26.8 % (95% confidence interval [CI], 21.1%-33.2%). For MRSA colonization, prevalence was 4.5% (95%CI, 2.3%-8.0%).

Prevalence rates (and 95%CI) for study groups were as follows:

- HRCAD: *S. aureus*, 28.3% (20.1%-36.6%); MRSA, 2.9% (0-8%-7.3%);
- CPH: *S. aureus*, 24.3% (15.6%-35.1%); MRSA, 7.3% (2.7%-15.3%).

In CPH, the prevalence was higher ($P<0.05$) in acute care patients for both *S. aureus* (39.4% versus 14.3% in long-term residents) and MRSA (12.1% versus 4.1%).

The analysis of predictors for *S. aureus* colonization is presented in **Tables 1** and **2**. Briefly, in adjusted models, the use of inhaled cocaine was associated with greater likelihood of colonization in HRCAD, while age was negatively associated with carriage of *S. aureus* in CPH.

3.2. Molecular epidemiology of MRSA isolates

A total of 14 MRSA isolates were obtained from 10 subjects. Overall, 5 subjects were positive only in oropharynx swabs, 1 only in nares and 4 in both. Isolates harbored different SCC*mec* types: IV (10 isolates from 7 subjects), I (2 from 2) and II (2 from 1). All subjects from whom 2 sites were positive presented the same PFGE type in both specimens. A total of 12 isolates (8 subjects) were typed with *Sma*I, while 2 isolates from 2 subjects (both from CPA) required *Apa*I typing. A single similarity cluster grouped 5 out of 10 MRSA identified in our survey, alongside with the USA500 clone (**Figure 1**).

Table 3 summarizes clinical and epidemiological data from MRSA-colonized subjects. Briefly, 5 out of 10 had diagnosis of alcoholism; 5 out of 10 used illicit drugs (mostly crack cocaine) and 4 out of 10 reported previous hospital admissions. However, we could not associate SCC*mec* types to previous hospitalization, since most subjects reporting this data harbored type IV.

4. Discussion

The dynamics of *S. aureus* and MRSA spread in the general population is still not fully understood. However, both epidemiological reports and estimates from computational models point out to a prominent role of asymptomatic colonized persons (Macal et al, 2014). It is reasonable to assume that high-risk populations moving between healthcare facilities and the community may be especially involved in the dissemination of MRSA.

Prevalence rates for *S. aureus* and MRSA colonization in IDUs vary widely in previous reports. For MRSA, prevalence ranges from under 1% (Colombo et al, 2012) to 15% (Al-Rawahi et al, 2008). Our overall MRSA prevalence (4.5%) stands in intermediate levels. However, the rate reached 12.1% in short-term admissions to the psychiatric hospital. We must emphasize that only 2 out of 220 subjects included in our study had previous history of use of injection drugs. Also, there was no HIV-positive subject in our study. Therefore, two populations of increased risk for MRSA did not contribute to our findings (Poppovich, 2012).

The prevalence of MRSA colonization (both overall and for study groups) was higher than that reported in population-based survey (Pires et al, 2014) and in incarcerated men (Witzel et al, 2014) in the same area where this study was conducted. However, this may be partially due to including oropharyngeal swabs in the present survey.

This and other findings in our study deserve attention. While overall *S. aureus* was especially prevalent among users of inhaled cocaine, half of MRSA carriers (even those admitted to the psychiatric hospitals) reported use of crack. This may be partly due to physiologic impact on the mucous membranes of upper airways (Beule, 2010). However, we cannot rule out other predisposing factors, such as neglect of basic hygiene measures and sharing of paraphernalia (Santos Cruz et al, 2013). One should notice that alcoholism was marginally significant as a protector factor for *S. aureus* colonization in the hospital for addicted subjects (HCRAD). In fact, Dahlman et al (2017) reported higher rates of *S. aureus* colonization in subjects with opioid and amphetamine dependency, when compared to alcoholics.

The finding of a cluster grouping half MRSA isolates is also noteworthy. While there is some transfer of patients between the two hospitals (especially transfers from HCRAD to CPA when patients present more severe mental health picture) no MRSA carrier in this study had been admitted to both facilities. There is always the possibility of transmission in community networks of intravenous drug users, a hypothesis that is coherent with findings of previous studies (Gwizdala et al, 2011; Poppovich et al, 2013). In fact, a previous population-based study in Botucatu (the city where both study hospitals are located) identified transmission of strains within households and neighbours (Pires et al, 2014). The social networks of IDUs, alcoholics and other psychiatric patients were not addressed in this study, but our findings suggest that this is an important path for further studies.

A minor finding in our study was that two isolates could not be typed using *smal* restriction enzyme. We did not perform Multilocus Sequence Typing (MLST), but it is possible that those isolates belong to the ST398 clone, which cannot be typed with that enzyme. That clone has been characterized in livestock-associated MRSA, and was identified causing severe ventilator-associated pneumonia in a acute-care hospital in Botucatu (Bonesso et al, 2016).

We found *SCCmec* types usually related to community-associated (type IV) and healthcare-associated infections (types I and II). However, there was no epidemiological link between *SCCmec* type and previous history of admission to acute care hospitals. This argues for the – already mentioned - blurring of epidemiological definitions in MRSA infection or colonization (Bal et al, 2016).

Our study has some limitations, including the relatively small sample population and not performance of MLST. However, the simultaneous use of molecular and classical epidemiology strengthened the analysis of our findings (Foxman & Riley, 2001).

In conclusion, while overall *S. aureus* colonization was similar to that found in general population, we found relevant rates of MRSA carriage among study groups. Those subjects may be either at greater risk for MRSA infection or act as spreaders of potentially hazardous clones. In both cases, they constitute a target population for interventions aimed at preventing and controlling severe staphylococcal infections.

5. Acknowledgements

M.C.S. received student grant from FAPESP (São Paulo State Foundation for Research Support).

6. References

Abdalla RR, Madruga CS, Ribeiro M, Pinsky I, Caetano R, Laranjeira R. Prevalence of cocaine use in Brazil: data from the II Brazilian national alcohol and drugs survey (BNADS). *Addict Behav.* 2014;39:297-301.

Al-Rawahi GN, Schreader AG, Porter SD, Roscoe DL, Gustafson R, Bryce EA. MRSA nasal carriage among injection drug users: six years later. *J Clin Microbiol* 2008;46:477-9.

Bal AM, Coombs GW, Holden MT, Lindsay JA, Nimmo GR, Tattavin P, Skov RL. Genomic insights into the emergence and spread of international clones of healthcare-, community- and livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: Blurring of the traditional definitions. *J Glob Antimicrob Resist.* 2016;6:95-101.

Bassetti S, Battegay M. *Staphylococcus aureus* infections in injection drug users: risk factors and prevention strategies. *Infection.* 2004;32:163-

Beule AG. Physiology and pathophysiology of respiratory mucosa of the nose and the paranasal sinuses. *GMS Curr Top Otorhinolaryngol Head Neck Surg.* 2010; 9: Doc07.

Bonesso MF, Yeh AJ, Villaruz AE, Joo HS, McCausland J, Fortaleza CM, Cavalcante RS, Sobrinho MT, Ronchi CF, Cheung GY, Cunha ML, Otto M. Key Role of α -Toxin in Fatal Pneumonia Caused by *Staphylococcus aureus* Sequence Type 398. *Am J Respir Crit Care Med.* 2016;193:217-20

Candiago RH, Saraiva Sda S, Gonçalves V, Belmonte-de-Abreu P. Shortage and underutilization of psychiatric beds in southern Brazil: independent data of Brazilian mental health reform. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol.* 2011;46:425-9.

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.

Colombo C, Senn G, Bürgel A, Ruef C. Clearance of an epidemic clone of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a drug-use network: a follow-up study in Switzerland. *Scand J Infect Dis.* 2012;44:650-5.

Coutinho ES, Bahia L, Barufaldi LA, Abreu Gde A, Malhão TA, Pepe CR, Araujo DV. Cost of diseases related to alcohol consumption in the Brazilian Unified Health System. *Rev Saude Publica.* 2016;50. pii: S0034-89102016000100218.

Dahlman D, Jalalvand F, Blomé MA, Håkansson A, Janson H, Quick S, Nilsson AC. High Perineal and Overall Frequency of *Staphylococcus aureus* in People Who Inject Drugs, Compared to Non-Injectors. *Curr Microbiol.* 2017;74:159-167.

Das S, Harazin M, Wright MO, Dusich I, Robicsek A, Peterson LR. Active Surveillance and Decolonization Without Isolation Is Effective in Preventing Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Transmission in the Psychiatry Units. *Open Forum Infect Dis.* 2014;1:ofu067.

Ender M, Berger-Bächli B, McCallum N. Variability in SCCmecN1 spreading among injection drug users in Zurich, Switzerland. *BMC Microbiol.* 2007 ;7:62.

Farley JE, Ross T, Krall J, Hayat M, Caston-Gaa A, Perl T, Carroll KC. Prevalence, risk factors, and molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

nasal and axillary colonization among psychiatric patients on admission to an academic medical center. *Am J Infect Control*. 2013;41:199-203.

Ferri CP, Gossop M. Route of cocaine administration: patterns of use and problems among a Brazilian sample. *Addict Behav*. 1999;24:815-21.

Foxman B, Riley L. Molecular epidemiology: focus on infection. *Am J Epidemiol*. 2001;153:1135-41.

Frazer BW, Lynn J, Charlebois ED, Lambert L, Lowery D, Perdreau-Remington F. High prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in emergency department skin and soft tissue infections. *Ann Emerg Med*. 2005 ;45(3):311-20.

Gwizdala RA, Miller M, Bhat M, Vavagiakis P, Henry C, Neaigus A, Shi Q, Lowy FD. *Staphylococcus aureus* colonization and infection among drug users: identification of hidden networks. *Am J Public Health*. 2011; 101:1268-76.

Inciardi JA, Surratt HL, Pechansky F, Kessler F, von Diemen L, da Silva EM, Martin SS. Changing patterns of cocaine use and hiv risks in the south of Brazil. *J Psychoactive Drugs*. 2006;38:305-10.

Kaech C, Elzi L, Sendi P, Frei R, Laifer G, Bassetti S, Fluckiger U. Course and outcome of *Staphylococcus aureus* bacteraemia: a retrospective analysis of 308 episodes in a Swiss tertiary-care centre. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12:345–352.

Kaushi K, Kapilla K, Praharaj AK. Shooting up: the interface of microbial infections and drug abuse. *J Med Microbiol* 2011; 60: 408-22.

Kreisel KM, Stine OC, Johnson JK, Perencevich EN, Shardell MD, Lesse AJ, Gordin FM, Climo MW, Roghmann MC. USA300 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia and the risk of severe sepsis: is USA300 methicillin-resistant

Staphylococcus aureus associated with more severe infections? *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2011;70:285-90.

Macal CM, North MJ, Collier N, Dukic VM, Wegener DT, David MZ, Daum RS, Schumm P, Evans JA, Wilder JR, Miller LG, Eells SJ, Lauderdale DS. Modeling the transmission of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a dynamic agent-based simulation. *J Transl Med*. 2014 ;12:124.

Milheiro 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.

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.

Murchan S, Kaufmann ME, Deplano A, de Ryck R, Struelens M, Zinn CE, Fussing V, Salmenlinna S, Vuopio-Varkila J, El Solh N, Cuny C, Witte W, Tassios PT, Legakis N, van Leeuwen W, van Belkum A, Vindel A, Laconcha I, Garaizar J, Haeggman S, Olsson-Liljequist B, Ransjo U, Coombes G, Cookson B. Harmonization of Pulsed-Field Gel Electrophoresis protocols for epidemiological typing of strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a single approach developed by consensus in 10 European laboratories and its application for tracing the spread of related strains. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 1574-85.

Pires FV, da Cunha Mde L, Abraão LM, Martins PY, Camargo CH, Fortaleza CM. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* in Botucatu, Brazil: a population-based survey. *PLoS One*. 2014;9:e92537

Popovich KJ, Smith KY, Khawcharoenporn T, Thurlow CJ, Lough J, Thomas G, Aroutcheva A, Zawitz C, Beavis KG, Weinstein RA, Hota B. Community-associated

methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in high-risk groups of HIV-infected patients. *Clin Infect Dis*. 2012;54:1296-303.

Popovich KJ, Snitkin E, Green SJ, Aroutcheva A, Hayden MK, Hota B, Weinstein RA. Genomic Epidemiology of USA300 Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in an Urban Community. *Clin Infect Dis*. 2016;62:37-44.

Rasschaert G, Vanderhaeghen W, Dewaele I, Janez N, Huijsdens X, Butaye P, Heyndrickx M. Comparison of fingerprinting methods for typing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* sequence type 398. *J Clin Microbiol*. 2009;47:3313-22.

Rhee Y, Aroutcheva A, Hota B, Weinstein RA, Popovich KJ. Evolving Epidemiology of *Staphylococcus aureus* Bacteremia. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2015;36:1417-22.

Santos Cruz M, Andrade T, Bastos FI, Leal E, Bertoni N, Villar LM, Tiesmaki M, Fischer B. Key drug use, health and socio-economic characteristics of young crack users in two Brazilian cities. *Int J Drug Policy*. 2013;24:432-8.

Saxena S, Lora A, Morris J, Berrino A, Esparza P, Barrett T, van Ommeren M, Saraceno B. Mental health services in 42 low- and middle-income countries: a WHO-AIMS cross-national analysis. *Psychiatr Serv*. 2011;62:123-5.

Vayalumkal JV, Suh KN, Teye B, Ramotar K, Saginur R, Roth VR. Skin and soft tissue infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): an affliction of the underclass. *CJEM*. 2012;14:335-43.

Witzel Cde L, Fortaleza CM, de Souza CS, Riboli DF, da Cunha Mde L. Nasopharyngeal carriage of *Staphylococcus aureus* among imprisoned males from Brazil without exposure to healthcare: risk factors and molecular characterization. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2014;13:25.

Table 1. Predictors of *S. aureus* colonization in alcoholists and illicit drug users upon admission to a reference care hospital (HRCAD). Univariate and multivariable Poisson regression analysis.

Predictors	S. aureus (39)	Negative (99)	Poisson, Univariate		Poisson, Multivariable	
			PR (95CI%)	P	PR (95%CI)	P
<i>Demographic data</i>						
Male gender	27 (69.2)	69 (65.7)	1.13 (0.57-2.22)	0.73	1.09 (0.55-2.19)	0.80
Age (median, quartiles)	32 (23-44)	34 (26-42)	0.99 (0.97-1.02)	0.48	1.01 (0.98-1.05)	0.38
<i>Use of alcohol and drugs</i>						
Alcohol	25 (64.1)	81 (81.8)	0.54 (0.28-1.04)	0.06	0.57 (0.29-1.11)	0.09
Illicit drugs, overall	31 (79.5)	65 (65.7)	1.70 (0.78-3.69)	0.18		
Crack cocaine	28 (71.8)	60 (60.6)	1.45 (0.72-2.90)	0.30		
Inhaled cocaine	24 (61.5)	37 (37.4)	2.02 (1.06-3.85)	0.03	2.26 (1.02-5.00)	0.04
Injectable cocaine	1 (2.6)	1 (1.0)	1.79 (0.25-13.03)	0.57		
Marijuana	31 (53.9)	34 (34.3)	1.76 (0.94-3.30)	0.08		
Time of use* (median, quartiles)	10 (5-23)	14 (7-24)	0.99 (0.97-1.02)	0.58		
Use in the last 5 days	28 (71.8)	60 (60.6)	1.45 (0.72-2.90)	0.30		
<i>Other behavioural factors</i>						
Men that have sex with men	1 (2.6)	6 (6.1)	0.49 (0.07-3.59)	0.48		
Promiscuous**	22 (56.4)	55 (55.6)	1.03 (0.54-1.93)	0.94		
Homeless	12 (30.8)	26 (26.3)	1.16 (0.59-2.31)	0.65		
Has tattoos	20 (51.3)	52 (52.5)	0.96 (0.51-1.81)	0.91		
History of incarceration	10 (25.6)	20 (20.2)	1.24 (0.60-2.55)	0.56		
<i>Health-related factors</i>						
Charlson comorbidity index ≥ 1	7 (18.4)	18 (18.2)	1.01 (0.45-2.30)	0.98		
Admitted do hospital in the previous year	11 (28.2)	19 (19.2)	1.41 (0.70-2.84)	0.33		

Surgery in the previous year	4 (10.3)	11 (11.1)	0.94 (0.33-2.64)	0.90
Skin/soft tissue infection in the previous year	0 (0.0)	3 (3.0)	0.0 (...-...)	1.00
Used antimicrobials in the previous year	11 (28.2)	31 (31.3)	0.90 (0.45-1.80)	0.76
Pregnant	1 (2.6)	7 (7.1)	0.43 (0.06-3.11)	0.40
Syphilis	9 (23.1)	13 (13.1)	1.58 (0.75-3.33)	0.23

Note. All data in number (%) except when specified. Significant results presented in boldface. No subject included in our study was positive for HIV or chronic viral hepatitis, and all subjects reported history of smoking. Other data that were investigated but not reported by any subject were not included in the table.

PR, prevalence ratio; CI, Confidence interval.

*Time of use of alcohol or drugs (in coincident cares, the longest use prevails).

**Define as 3 or more sexual partners in the previous year.

Table 2. Predictors of *S. aureus* colonization in alcoholists and illicit drug users during admission to a psychiatric hospital (CPA). Univariate and multivariable Poisson regression analysis.

Fator	S. aureus (20)	Negative (62)	Poisson, Univariate		Poisson, Multivariable	
			PR (95%CI)	P	PR (95%CI)	P
Demographic data						
Long term admission*	7 (35.0)	42 (67.7)	0.36 (0.14-0.91)	0.03	1.14 (0.28-4.65)	0.85
Male gender	10 (50.0)	30 (48.4)	1.05 (0.44-2.52)	0.91	0.91 (0.37-2.22)	0.83
Age (median, quartilhes)	35 (23-60)	60 (47-69)	0.96 (0.94-0.99)	0.002	0.96 (0.93-0.99)	0.03
Use of alcohol and drugs						
Alcohol	4 (20.0)	5 (8.1)	2.02 (0.68-6.07)	0.21		
Illicit drugs, overall	4 (20.0)	3 (4.8)	2.67 (0.90-8.01)	0.08		
Crack	2 (10.0)	2 (3.2)	2.16 (0.50-9.34)	0.30		
Marijuana	2 (10.0)	1 (1.6)	2.93 (0.68-12.61)	0.15		
Other behavioural factors						
Men that have sex with men	1 (5.0)	2 (3.2)	1.39 (0.19-10.35)	0.75		
Promiscuous**	5 (25.0)	7 (11.3)	1.94 (0.71-5.35)	0.20		
Homeless	0 (0.0)	4 (6.5)	0.0 (... - ...)	0.31		
Has tattoos	4 (20.0)	6 (9.7)	1.80 (0.60-5.38)	0.29		
History of incarceration	0 (0.0)	1 (1.6)	0.0 (... - ...)	1.00		
Health-related factors						
Charlson comorbidity index ≥ 1	5 (27.8)	39 (63.9)	0.31 (0.11-0.86)	0.02		
Admitted do hospital in the previous year	3 (15.0)	6 (9.7)	1.43 (0.42-4.88)	0.57		
Surgery in the previous year	2 (10.0)	3 (4.8)	1.71 (0.40-7.37)	0.47		
Used antimicrobials in the previous year	7 (35.0)	20 (32.3)	1.10 (0.44-2.75)	0.84		
Syphillis	0 (0.0)	4 (6.5)	0.0 (...-...)	0.94		

Note. All data in number (%) except when specified. Significant results presented in boldface. No subject included in our study was positive for HIV or chronic viral hepatitis, and all subjects reported history of smoking. Other data that were investigated but not reported by any subject were not included in the table.

PR, prevalence ratio; CI, Confidence interval.

*Long-term was defined as admission lasting for more than 30 days. However, 47 out of 49 subjects in long-term admissions resided in the hospital for more than one year at the time the survey was performed.

**Defined as 3 or more sexual partners in the previous year.

Table 3. Clinical and epidemiological characteristics of study subjects colonized with MRSA.

Características	HRCAD (4)	CPA (6)
Male gender	2	2
Age, median (range)	26 (18-49)	32 (21-76)
Alcoholism	3	2
Use of illicit drugs, overall	3	2
Crack cocaine	3	2
Inhaled cocaine*	3*	0*
Promiscuous**	3	1
Homeless	1	0
History of incarceration	1	0
Charlson comorbidity index \geq 1	0	1
Hospital admission in the previous year	2	2
Surgery in the previous year	1	2
Antimicrobial use in the previous year	1	0
Skin/Soft tissue infection in the previous year	0	0
SCC <i>mec</i> type (number of subjects)	IV (3), I (1)	IV (4), I (1), II (1)
Isolates in PFGE cluster***	2	3
Isolates not typable with <i>Sma</i> I***	0	2

*Statistically significant difference (Fisher exact test, $P=0.03$).

** Defined as 3 or more sexual partners in the previous year.

***See Figure 1.

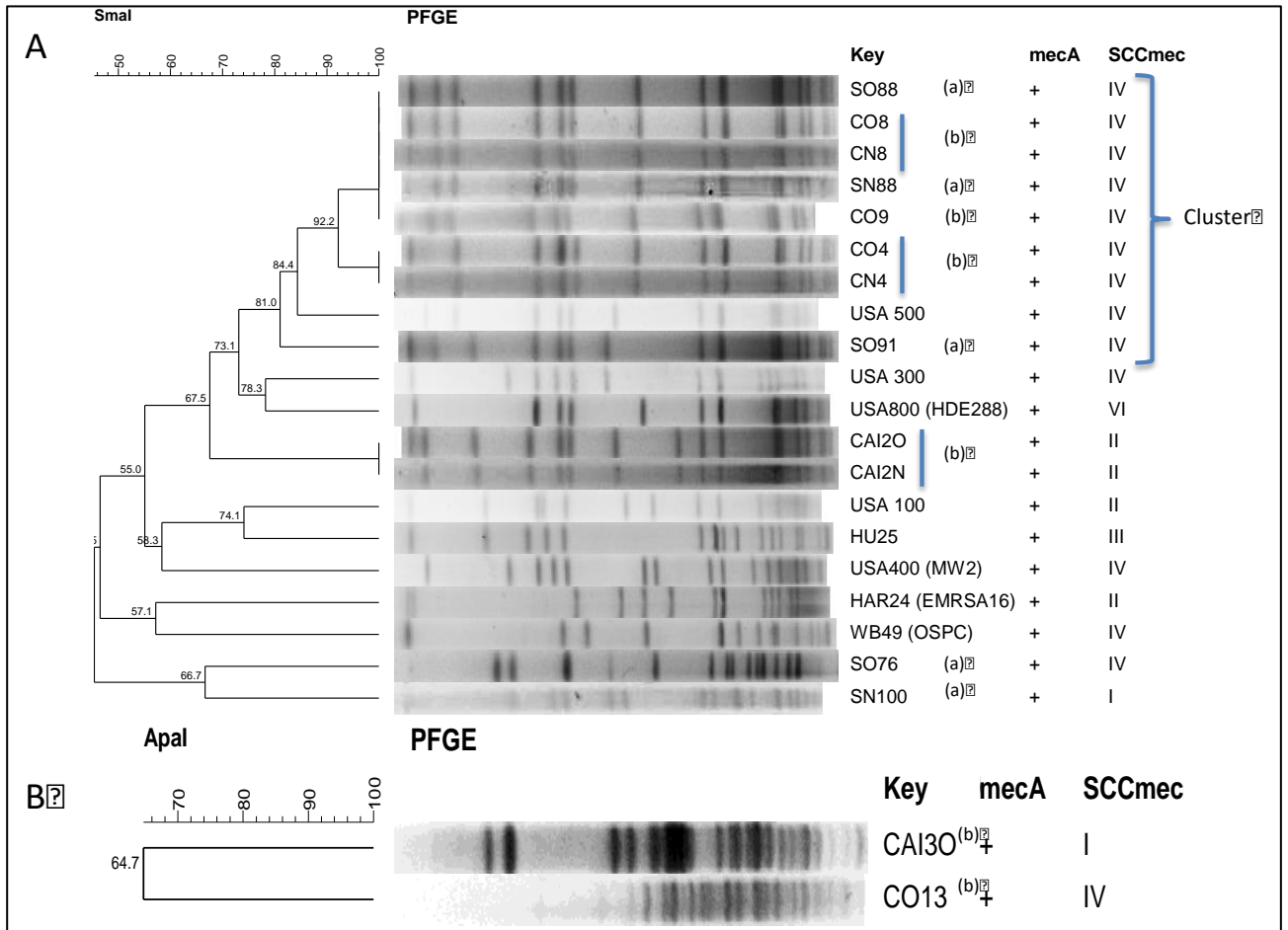


Figure 1. Dendrograms showing MRSA isolates recovered in the study, altogether with international reference clones. A presents isolates typed with *SmaI*, while isolates on B required *ApaI* for typing. Isolates from the same subject are grouped with vertical lines. The origin of isolates was as follows: (a) subjects in hospital for drug and alcohol addiction (HRCAD); (b) subjects from the psychiatric hospital (CPA). N and O stand for nasal or oropharyngeal swabs, respectively.