

Claudia de Lima Witzel

Isolamento e caracterização de amostras comunitárias *Staphylococcus aureus* resistente à Meticilina (CA-MRSA) em uma população carcerária no município de Avaré

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais da Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, para obtenção do Título de Mestre em Doenças Tropicais

Orientadora: Dra. Maria de Lourdes Ribeiro de Souza da Cunha

Co-orientador: Dr. Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza

Botucatu – São Paulo

2012

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. E TRAT. DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: **SELMA MARIA DE JESUS**

Witzel, Claudia de Lima.

Isolamento e caracterização de amostras comunitárias *Staphylococcus aureus* resistente à Meticilina (CA-MRSA) em uma população carcerária no município de Avaré, SP/ Claudia de Lima Witzel.- Botucatu, 2012.

Dissertação (mestrado) – Faculdade de medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2012

Orientador: Maria de Lourdes Ribeiro de Souza da Cunha

Co-orientador: Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza

1. Estafilococos. 2. Resistência Bacteriana. 3. População Carcerária

Palavras-chave: Resistência a oxacilina, *Staphylococcus aureus*, fatores de risco, população carcerária.

Epígrafe



*"Há homens que lutam um dia e são bons.
Há outros que lutam um ano e são melhores.
Há os que lutam muitos anos e são muito bons.
Porém, há os que lutam toda a vida.
Esses são os imprescindíveis."*

Bertolt Brecht.

Dedicatória



Dedicatória

Ao meu pai, Waldemir, por sempre acreditar, estimular e elogiar meu trabalho e pelo exemplo de homem que é me ajudou a tornar a pessoa que sou hoje, a minha mãe pela vida.

Ao Fernando, que em todos os momentos me apoiou, mesmo nos mais difíceis.

Obrigada pela dedicação e por tudo que se absteve para que eu pudesse chegar aqui.

Ao meu filho Felipe Daniel, que mesmo longe sempre me incentivou, me auxiliando nas tantas dúvidas que surgiram.

A minha filha Yasmin, que de longe me auxiliava em minhas dificuldades e ficava feliz por mim e sempre me parabenizava em todas as conquistas.

Ao meu filho Lucas Fernando, que desde pequeno até participou de aulas na Pós, e realizou desde pequeno suas primeiras e pequenas experiências.

A amiga Camila Sena, que incentivou nos momentos de desânimo, meu obrigado.

Agradecimientos



Agradecimentos

À Deus, por me dar forças nos momentos mais difíceis durante a execução deste trabalho.

À minha orientadora, Prof^a Dr^a Maria de Lourdes R.S. da Cunha, pela dedicação, grande paciência, incentivo e confiança depositada em mim.

Ao meu co-orientador Prof^o Dr^o Carlos Magno Castelo Branco, por acreditar inicialmente em minha vontade de ser pesquisadora.

Aos colegas de laboratório Valéria, Mariana, Danilo e Carlos, pela grande ajuda dada durante a execução deste trabalho e aos funcionários Izaltino e Pedro pelo apoio durante o desenvolvimento deste trabalho e pela boa convivência.

A amiga Camila que além de auxiliar em minhas pequenas e grandes dúvidas, não me deixou desanimar em momentos que se pensa que não vai dar mais para prosseguir.

À todos os colegas, professores e funcionários do departamento de Microbiologia e Imunologia da UNESP e a todos os colegas de pós-graduação, que de alguma forma colaboraram ou torceram para o bom andamento deste trabalho.

Aos funcionários da Pós-graduação da Faculdade de Medicina de Botucatu e da Pós-graduação em Doenças Tropicais pela atenção nos momentos de dúvidas.

A todos que de alguma forma, contribuíram com a minha formação, o que possibilitou chegar até este momento. E a todos que de uma forma ou de outra, auxiliaram na execução deste trabalho

À banca da qualificação, Prof. Dr. Paulo Câmara Marques Pereira, e à Pós-doutoranda Patrícia Yoshida Faccioli-Martins pela dedicação e pelas valiosas correções.

Sumário



Sumário

Lista de Figuras	X
Lista de Tabelas	XII
Lista de Abreviaturas	XIII
Resumo	XIV
Abstract	XV
1. Introdução	01
2. Objetivos	11
2.1 Objetivo Geral	11
2.2 Objetivos específicos	11
3. Material e Métodos	12
3.1 Amostragem e características da população	12
3.2. Coleta e processamento de material clínico	13
3.3. Identificação de <i>Staphylococcus aureus</i>	14
3.4. Determinação de amostras de <i>S. aureus</i> resistentes a meticilina (MRSA)	14
3.4.1. Detecção fenotípica de MRSA pela técnica de difusão da droga em ágar com disco de oxacilina e cefoxitina	14
3.4.2 Detecção genotípica de MRSA	15
3.4.2.1. Extração do Ácido Nucléico	15
3.4.2.2. Amplificação do ácido nucléico (PCR)	16
3.4.2.3. Visualização dos produtos amplificados	16
3.5. Detecção dos genes <i>lukS</i> -PV – <i>lukF</i> -PV da Leucocidina Panton-Valentine em <i>S. aureus</i> pela técnica de PCR	16
3.6. Determinação do tipo de SCCmec	17
3.6.1 Classificação de SCCmec em <i>S. aureus</i>	17
3.7 Determinação do perfil clonal das amostras MRSA, pela técnica de PFGE	20
3.8 Avaliação dos fatores de risco para colonização de <i>S.aureus</i> e MRSA	21
4. Resultados	22
4.1. Amostragem	22
4.2. Determinação de amostras de <i>S. aureus</i> resistentes a meticilina (MRSA)	22
4.2.1. Técnica de difusão da droga em ágar com disco de oxacilina e cefoxitina	22

4.3. Detecção do gene <i>mecA</i> de resistência à meticilina em <i>S. aureus</i>	25
4.4. Determinação do tipo de SCC <i>mec</i>	27
4.5. Determinação do perfil clonal das amostras	27
4.6. Características da população estudada	28
4.7 Características dos indivíduos portadores de CA-MRSA	29
4.8 Fatores de risco para aquisição de <i>S. aureus</i> e MSSA	30
5. Discussão	33
6. Conclusões	42
7. Referências	43
Anexo A - Questionário	53
Anexo B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	54
Anexo C- Aprovação do comitê de ética e pesquisa	56

Lista de Figuras

Figura 1. Distribuição de <i>Staphylococcus</i> coagulase negativa e <i>S. aureus</i> isolados de um total de 302 detentos do CR de Avaré.....	22
Figura 2. Amostra de <i>S. aureus</i> sensível à oxacilina, detectada pelo método de difusão da droga com discos de oxacilina e cefoxitina.....	23
Figura 3. Amostra de <i>S. aureus</i> resistente à oxacilina e cefoxitina simultaneamente, detectada pelo método de difusão da droga com discos de oxacilina e cefoxitina.....	24
Figura 4. Determinação da resistência à oxacilina e cefoxitina em indivíduos (n=5)portadores de <i>S. aureus</i> na mucosa nasal, pelo método de difusão da droga em agar com disco de oxacilina e cefoxitina.....	24
Figura 5. Presença do gene <i>mecA</i> em amostras de <i>S. aureus</i> provenientes dos indivíduos do CR Avaré.....	25
Figura 6. Eletroforese em gel de agarose para pesquisa do gene <i>mecA</i> (533 bp) em amostras de <i>S. aureus</i> pela técnica de PCR. 7 e 8: amostras positivas.5,6,9,10,11,12 e 13 amostras negativas. 1: marcador de peso molecular (100bp); 2: Controle positivo <i>S. aureus</i> ATCC 33591 3: Controle negativo <i>S. aureus</i> ATCC 29213; 4: H ₂ O.	27
Figura 7. Dendograma das amostras MRSA, mostrando similaridade com os controles tipo IV, observa-se agrupamento da amostra 123 com o controle JCSC 4469 (similaridade de 85,7 %). A amostra 251 não agrupou com nenhum dos controles avaliados.....	28

Lista de Tabelas

Tabela 1. Oligonucleotídeos para a detecção do gene <i>mecA</i>	16
Tabela 2. Oligonucleotídeos para a detecção dos genes <i>lukS</i> -PV e <i>lukF</i> -P.....	17
Tabela 3. Oligonucleotídeos para a detecção do Cassete Cromossômico estafilocócico <i>mec</i> (SCC <i>mec</i>) em <i>S. aureus</i>	19
Tabela 4. Determinação da sensibilidade à oxacilina em amostras de <i>S. aureus</i> por métodos fenotípicos e genotípicos.....	26
Tabela 5. Indivíduos positivos em testes fenotípicos para a detecção de resistência à oxacilina e cefoxitina positivos para a pesquisa de gene <i>mecA</i>	26
Tabela 06. Características demográficas e pessoais dos detentos portadores de MRSA.	29
Tabela 07. Resultados de características pessoais e drogas utilizadas pelos detentos do CR de Avaré, portadores de MRSA.....	30
Tabela 08. Análise univariada e multivariada de fatores de risco para carreamento de <i>S.aureus</i>	32

Lista de Abreviaturas

ATCC - American Type Culture Collection

BHI - Brain Heart Infusion

CA-MRSA - *S. aureus* resistente a meticilina de origem na comunidade

CDC – Center for Diseases Control

CR- Centro de Ressocialização

CNJ - Conselho Nacional de Justiça

DNA – Ácido desoxirribonucléico

HIV –Vírus da Imunodeficiência Humana

HA-MRSA - *S. aureus* resistente a meticilina de origem hospitalar

LA - Los Angeles

MRSA - *S. aureus* resistente a meticilina

NNISS – Sistema Nacional de Vigilância em Infecção Hospitalar

PVL - Leucocidina Panton-Valentine

PBP – Proteína Ligadora de Penicilina

PCR - Reação em Cadeia da Polimerase

SCC_{mec} - Cassete Cromossômico Estafilocócico *mec*

S. aureus - *Staphylococcus aureus*

UTIs - Unidades de Tratamento Intensivo

VDRL - Venereal Disease Research Laboratory- teste para identificação de pacientes com Sífilis.

PFGE – Eletroforese em Gel de Campo Pulsad

Resumo

As Infecções estafilocócicas são grande causa de mortalidade e morbidade. A emergência de isolados de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) originários da comunidade na década de 1990 trouxe desafios para sua prevenção e abordagem terapêutica. A identificação da prevalência e características de MRSA adquirido em comunidade (CA-MRSA) em populações de alto risco pode fornecer valiosas informações para compreensão de sua epidemiologia. O objetivo deste estudo foi identificar a prevalência, os fatores de risco e as características moleculares de CA-MRSA isolado em nasofaringe de uma população carcerária em Avaré, Brasil. Foram coletados swabs nasais de 302 homens encarcerados no Centro de Ressocialização de Avaré. A caracterização da resistência à meticilina foi feita através de difusão em disco (Oxacilina e Cefoxitina) e identificação do gene *mecA* (por Reação em Cadeia de Polimerase (PCR)). Utilizou-se também PCR para identificação dos genes *lukF-PV* e *lukS-PV* que codificam a leucocidina de Pantón-Valentine. Fatores de risco para colonização nasal por *S. aureus* e por MRSA foram avaliados em modelos univariados e multivariados (regressão logística). A prevalência de colonização nasal por *S. aureus* como um todo foi de 16,5%, e a MRSA (definida como positividade para o gene *mecA*), de (02) 4,0%. Os testes de difusão com disco de Oxacilina e Cefoxitina identificaram 2 (4%) resistentes simultaneamente a Oxacilina e Cefoxitina. Nenhum dos isolados de *S. aureus* apresentou genes codificadores da PVL. As amostras positivas para gene *mecA* apresentaram SCC*mec* tipo IV, confirmando esta tipagem presente em amostras comunitárias. Uma das amostras positivas para gene *mecA* apresentou SCC*mec* IV-d, que pelo método PFGE agrupou em 85,7% com o clone JCSC 4469 de origem japonesa. Os fatores de risco para aquisição de *S. aureus* revelados na pesquisa foram: homens que fazem sexo com homens (OR 3,24; p= 0,001), doenças de pele (OR 2,29; p= 0,008) , doenças pulmonares (OR 4,20; p= 0, 04) e drogas inalatórias (OR 2,08 e p=0,02).

Abstract

Staphylococci infections are a major cause of morbidity and mortality. The emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates original from the community in the 1990s brought challenges for prevention and therapeutic approach. Identifying the prevalence and characteristics of community-acquired MRSA (CA-MRSA) in high-risk populations can provide valuable information for understanding its epidemiology. The objective of this study was to identify the prevalence, risk factors and molecular characteristics of CA-MRSA isolates in nasopharynx of a prison population in Avare, Brazil. Nasal swabs were collected from 302 men incarcerated in Central Resocialization of Avaré. The characterization of methicillin resistance was done by disk diffusion (Oxacillin and Cefoxitin) and *mecA* gene identification (by Polymerase Chain Reaction(PCR). We also used PCR to identify the *lukF-PV* and *lukFS-PV* genes that encode the Panton-Valentine Leukocidin. Risk factors for nasal colonization by *S. aureus* and MRSA were evaluated with univariate and multivariate models (logistic regression). The prevalence of nasal colonization by *S. aureus* as a whole was 16.5%, and MRSA (defined as positive for the *mecA* gene), from (02) 4.0%. The diffusion testing with Oxacillin and Cefoxitin identified 2 (4%) isolates resistant to both Oxacillin and Cefoxitin. None of the isolated *S. aureus* had genes encoding PVL. Positive samples for *mecA* showed SCCmec type IV, confirming this typing in community samples. One of the positive samples for *mecA* showed SCCmec IV-d, which by PFGE method grouped in 85.7% with clone 4469 JCSC of Japanese origin. Risk factors for *S. aureus* acquisition revealed in the survey were: men who have sex with men (OR 3,24; p= 0,001), skin diseases (OR 2,29; p= 0,008) ,pulmonary disease (OR 4,20; p= 0, 04) and inhaled drugs (OR 2,08 e p=0,02).

1. Introdução

O gênero bacteriano *Staphylococcus* pertence à família Staphylococaceae e atualmente possui 46 espécies¹, das quais 17 podem ser isoladas em amostras de seres humanos².

A discriminação das espécies de *Staphylococcus* é observada em dois grandes grupos através da síntese da enzima coagulase, sendo os coagulase positivos representados pelas espécies *Staphylococcus aureus*, *S. intermedius*, *S. hyicus*, *S. schleiferi* subespécie *coagulans*, *S. lutrae*, *S. delphini* e *S. agnetis*. A ausência da síntese da enzima caracteriza o grupo dos coagulase negativos representados principalmente pelas espécies *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. warneri*, *S. capitis*, *S. saccharolyticus*, *S. lugdunensis*, *S. cohnii*, *S. xylosus*, *S. simulans*, *S. auricularis*, *S. caprae* e *S. schleiferi* subsp. *schleiferi*^{3,4,5}.

Staphylococcus aureus é capaz de causar desde infecções cutâneas a infecções sistêmicas muitas vezes fatais, sendo também agente de intoxicações alimentares, pneumonias, bacteremias, infecções urinárias, osteomielite e infecções oportunistas^{6,7}. *S. aureus* possui uma enorme capacidade de disseminação em variados ambientes, colonizando não somente o homem como também contaminando o ambiente ao seu redor. É uma bactéria comum na microbiota humana, colonizando as narinas em cerca de 20% da população^{8,9}. A contaminação e a colonização podem ocorrer após o contato com um indivíduo portador ou a partir de um objeto contaminado, sendo que o processo de colonização ocorre de maneira fácil, mas o processo infeccioso depende de fatores externos, como um procedimento médico invasivo ou uma doença crônica, condições estas que permitem as infecções oportunistas¹⁰.

Até a década de 40, quando se iniciou o uso da penicilina, todas as bactérias desse gênero eram suscetíveis a esse medicamento, mas logo depois foram encontradas cepas

resistentes¹¹. Kirby¹², em 1944, verificou que alguns *S. aureus* isolados de material clínico mostravam-se resistentes à penicilina devido à produção de penicilinase. Em 1946, nos Estados Unidos, cerca de 5% dos estafilococos isolados de pacientes ou portadores eram resistentes à penicilina, mas em 1949 esta resistência já poderia ser notada em 29% dos micro-organismos isolados em hospitais norte-americanos. Na década de 50, este número atingia 50% e em 1959 cerca de 80% a 90% das amostras já eram resistentes¹³.

Este mecanismo de resistência à penicilina atingiu cepas hospitalares e posteriormente cepas isoladas na comunidade¹⁴. Em 1960 surgiu a opção de tratamento com a meticilina (análogo da oxacilina, um fármaco da mesma classe presente no Brasil), penicilinas semi-sintéticas resistentes à ação da beta-lactamase. Entretanto, em 1963 foi descrito o primeiro surto nosocomial causado por *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA)¹⁵.

Os indivíduos considerados portadores assintomáticos, quando apresentam estado imunológico comprometido podem desenvolver uma gama de infecções^{16,17}. A esse padrão de carreamento, no qual se observa reprodução bacteriana sem interação imunológica ou doença clínica, dá-se o nome de “colonização”. A colonização da boca e faringe é um processo dinâmico e são considerados como reservatório de micro-organismos no ser humano. É estimado que 20% dos seres humanos carreguem persistentemente *S. aureus* na mucosa nasal e outros 30% o carregam de forma intermitente¹⁸. *S. aureus* inicia a colonização em seres humanos logo após o nascimento e recorre diversas vezes ao longo da vida¹⁹. Em tempo, é necessário acrescentar que, embora a nasofaringe seja o principal sítio de colonização por *S. aureus*, outros sítios podem ser colonizados, como axilas, períneo e trato gastrointestinal¹⁸.

Tanto o indivíduo colonizado quanto aqueles que apresentam infecção podem transmitir eficazmente *S. aureus* através de contato direto ou indireto. Esse fenômeno,

denominado “transmissão cruzada”, apresenta dinâmica aumentada no ambiente hospitalar pela contribuição significativa da gravidade inerente dos indivíduos internados, dos procedimentos invasivos realizados no hospital, do uso de antimicrobianos e da ocorrência do fator “understaffing” (ou seja, um baixo número de profissionais prestando assistência a uma grande quantidade de pacientes). A grande transmissibilidade, o seu elevado potencial patogênico e a possibilidade de resistência a múltiplos antimicrobianos são itens de grande valor que contribuem para a relevância das infecções estafilocócicas em hospitais e outros serviços de saúde²⁰.

No final da década de 80, na Austrália, foi relatado pela primeira vez o isolamento de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina na comunidade (CA-MRSA) em pacientes aborígenes que residiam em uma comunidade isolada, distante de qualquer cidade ou hospital, e se diferenciaram das amostras de MRSA previamente isoladas em hospitais do Oeste australiano. Estas amostras receberam o nome de WA-MRSA (do inglês: Western Australian MRSA)²¹. As incidências destas infecções associadas à comunidade aumentaram e em sua maioria está relacionada a infecções de tecidos moles e pele^{22,23}. As infecções adquiridas na comunidade são distintas das hospitalares, pois os CA-MRSA possuem resistência somente aos antibióticos beta-lactâmicos, além de poderem carrear o gene codificador da Leucocidina Pantón-Valentine (PVL), que está associado a infecções severas de pele, furunculoses e pneumonia necrosante em crianças e jovens previamente saudáveis^{24,25}.

O CA-MRSA é um patógeno emergente e está sendo identificado em diversas partes do mundo como agente etiológico de infecções em indivíduos sem fatores de risco clássicos para adquirir infecção por MRSA. Estudos recentes têm demonstrado a propagação destes patógenos na Austrália, Nova Zelândia, Europa, Estados Unidos, Taiwan e na América do Sul^{26,27,28,29}.

A epidemiologia das infecções causadas por CA-MRSA de acordo com a literatura não seguem predileções, mas alguns trabalhos vêm demonstrando associação a grupos de indivíduos menos favorecidos^{30, 31}. Harbath *et al*³² e Johnson *et al*³³ relataram que uso de drogas injetáveis, baixo nível sócio econômico, convivência em locais de super lotação e presença de infecções de peles são fatores de risco associados a CA-MRSA.

De acordo com o CDC (*Center for Disease Control and Prevention*)³⁴ foram observados focos de infecção entre os atletas, presos, recrutas militares, em creches, usuários de drogas injetáveis e entre outros grupos de pessoas que vivem em instituições lotadas e ou partilham objetos pessoais contaminados. Deficientes práticas de higiene, como a falta de lavagem de mãos também propicia a transmissão da bactéria. A ausência de regras de higiene e locais onde há superlotação facilita então a disseminação do CA-MRSA, situação preocupante, pois na comunidade fica mais difícil o controle da disseminação, o que tornaria inócua qualquer medida de controle do MRSA nos hospitais³⁵.

O uso de antimicrobianos de maneira indiscriminada e sem orientações adequadas vem sendo relatado por vários autores, mostrando a relevância em construir políticas para restrição e controle destes, pois estas ações reduzem a probabilidade de propagação de cepas resistentes e ou com sensibilidade reduzida^{36,37}.

Os critérios para que sejam considerados exemplos de CA-MRSA (CDC)³⁴ é acometer pacientes sem relatos de infecções anteriores por MRSA, apresentarem culturas positivas para MRSA nas primeiras 48 horas após admissão no hospital e não terem sido hospitalizados nos últimos 12 meses, nem admitidos em clínicas de repouso ou asilos e não terem sido submetidos à diálise, cirurgia, cateteres ou qualquer tratamento invasivo prévio.

A incidência de CA-MRSA varia geograficamente. Até a atual data há relatos de que o CA-MRSA tem afetado jovens, adultos, crianças e outros grupos raciais

minoritários. A transmissão tem ocorrido com facilidade entre detentos, atletas, soldados militares e homossexuais e se dá por contato direto do indivíduo susceptível com o portador assintomático³⁸. Estas infecções estão associadas a doenças de pele e tecidos moles²⁹, atingem desde tecidos superficiais até os mais profundos penetrando através de locais onde houve rompimento das barreiras naturais² e possuem características semelhantes às causadas por MSSA (Methicillin Sensitive *S. aureus*)³. Um fator comum desta propagação é a concentração de pessoas, contato entre eles mesmos, como partilha de objetos de uso pessoal que podem estar contaminados e entram em contato com a pele não integra, demonstrando que a higiene é um fator importante na aquisição de *S. aureus*, falta de higiene, troca de sabonetes e ambientes lotados são fatores que estão relacionados com estas infecções³⁹. O acesso à saúde é limitado nestes locais, e o uso indiscriminado de antibióticos contribui para a transmissão do CA-MRSA⁴⁰.

O controle do CA-MRSA em populações carcerárias tem sido foco de estudo na saúde pública, pois infecções que incluem pele e tecidos moles, bem como infecções invasivas, foram relatadas nestas Instituições. A literatura relata que a prevalência de colonização nasal por MRSA em unidades prisionais tem variado de 0,0 a 4,9%⁴¹.

Nas prisões da Califórnia houve casos relatados pelo Departamento de Saúde Pública de Los Angeles, que forçou iniciar medidas imediatas relacionadas ao controle destes casos para amenizar a situação como: aumentar a fiscalização na saúde dos presídios, construção de protocolos de tratamentos, aumentarem número de chuveiros, fornecerem sabonete para higiene pessoal e outros, mas apesar dos esforços realizados as infecções por CA-MRSA continuaram a ocorrer. Neste presídio de LA, a incidência de MRSA era de 13,8 casos por 1000 inclusões no sistema da cadeia⁴².

De acordo com CDC^{40,42}, o contato de um indivíduo com as instalações de um presídio é considerado um fator de risco para aquisição do MRSA, e então estas

observações indicaram que a população carcerária e os locais de encarceramento levam a fácil transmissão do MRSA com elevado índice de infecções de pele⁴³.

Os fatores de risco para aquisição de CA-MRSA em encarcerados ainda não estão bem definidas, mas estudos mostraram fatores associados à etnia Afro Americana, idade jovem, fazer uso de antibióticos recentemente, à pobreza, nível escolar baixo, tempo de prisão longa e partilha de objetos de uso pessoal^{39,44}.

A estimativa do número de população carcerária no Brasil, pelos dados divulgados pelo CNJ (Conselho Nacional de Justiça), apontam que o Brasil tem a terceira maior população carcerária do mundo, com 494.598 presos⁴⁵. Estes indivíduos encarcerados facilitam a transmissão de MRSA entre eles, devido às aglomerações e contato fora da comunidade^{46,47}. Não há registros no Brasil a respeito de infecções de CA-MRSA em presídios, e falta compreensão de como ocorre esta propagação e conhecimento sobre os fatores de risco para aquisição do CA-MRSA. Este estudo foi realizado para identificar e caracterizar os fatores de risco para aquisição do CA-MRSA em uma população carcerária do município de Avaré, SP.

Os serviços de saúde dentro dos presídios devem ter o conhecimento de como a disseminação do CA-MRSA ocorre dentro dos mesmos para que o setor de educação e controle de infecções possa rastrear os casos de infecções cutâneas e proporcionar terapêutica adequada.

A resistência à oxacilina tem sido um problema de grande relevância nos tratamentos das infecções causadas por *Staphylococcus*. O fato se deve à expressão heterogênea de resistência à oxacilina⁴⁸. Esses antibióticos se ligam a enzimas bacterianas constitutivas que participam da síntese da parede celular, as proteínas ligadoras de Penicilina (Penicillin-Binding Protein, PBP). A resistência do *Staphylococcus aureus* está relacionada à produção de uma PBP modificada, a PBP2a, que tem baixa afinidade aos

antibióticos beta-lactâmicos. A PBP2a é codificada pelo gene *mecA*, que é carregado por um elemento genético móvel chamado de Cassete Cromossômico Estafilocócico *mec* (SCC*mec*)⁴⁹.

Os SCC*mec* diferem entre si em relação ao número de genes que carregam e em sua arquitetura gênica^{50,51}. Alguns destes tipos são carreadores de genes de resistência determinantes para múltiplos antibacterianos, além dos beta-lactâmicos, os macrolídeos, lincosaminas, estreptograminas, aminoglicosídeos e tetraciclina. Desta forma, quando uma célula bacteriana adquire estes SCC*mec* de uma única vez adquire um fenótipo de múltipla-resistência^{50,52}.

Os tipos de SCC*mec* foram definidos através da combinação de duas partes: o complexo *ccr* e o complexo *mec*, com três genes *ccr* filogeneticamente distintos classificados como: *ccrA*, *ccrB* e *ccrC* e complexo gene *mec*: (classe A, B, C1, C2, D e classe E)^{53,54}. Até esta data, há onze tipos de SCC*mec* descritos. Os diferentes tipos de SCC*mec* são classificados como: SCC*mec* tipo I (complexo gene *mec* classe B e *ccrA1B1*), SCC*mec* tipo II (complexo gene *mec* classe A e *ccrA2B2*), SCC*mec* tipo III (complexo gene *mec* classe A e *ccrA3B3*), SCC*mec* tipo IV (complexo gene *mec* classe B e *ccrA2B2*), e SCC*mec* tipo V (complexo gene *mec* classe C2 e *ccrC*), SCC*mec* tipo VI (complexo gene *mec* classe B e *ccrA4B4*), SCC*mec* tipo VII (complexo gene *mec* classe C1 e *ccrC*) e SCC*mec* tipo VIII (complexo gene *mec* classe A e *ccrA4B4*), SCC*mec* tipo IX (complexo gene *mec* classe C2 e *ccrA1B1*), SCC*mec* tipo X (complexo gene *mec* classe C1 e *ccrA1B6*), SCC*mec* tipo XI (complexo gene *mec* classe E e *ccrA1B3*)⁵⁴. A região restante do SCC*mec* é chamada de região J (*Joining region*), que constitui componentes não essenciais do cassete que podem carrear determinantes de resistência antimicrobiana adicionais^{54, 55}. O CA-MRSA carrega o SCC*mec* do tipo IV e eventualmente o do tipo V, cujo cassete cromossômico é menor que os outros tipos e não possui genes acoplados que

codificam resistência a outros antimicrobianos não beta-lactâmicos²³. Há a hipótese de aquisição do gene *mec* pelas cepas suscetíveis que circulam na comunidade. Estas cepas são frequentemente sensíveis a vários antibióticos, inclusive a clindamicina.

O CA-MRSA também apresenta um fator de virulência denominado Leucocidina de Panton Valentine (PVL), uma citotoxina presente em menos de 5% dos *S. aureus*, com elevada atividade lítica específica para polimorfonucleares, monócitos e macrófagos, estando associadas à necrose tecidual, infecções graves na pele e pneumonia necrotizante⁵⁶. De acordo com Zhang⁵⁷, a presença de PVL nos pulmões causa hemorragia, extensa necrose dos septos alveolares, destruição do epitélio que recobre os brônquios e os bronquíolos. Outro estudo realizado em cortes histopatológicos mostrou lesões necróticas na mucosa da traquéia⁴. Estudos anteriores mostraram que a tendência do CA-MRSA em causar infecções graves de pele e tecidos moles e, possivelmente, pneumonia necrosante, é devido ao gene que codifica a produção de PVL⁵⁸.

No entanto, seu papel como determinante de virulência de CA-MRSA foi recentemente contestado⁵⁹. Em estudo com 1389 amostras de MRSA, 1,8% carregavam a toxina PVL e apenas 7,5% (30/401) destes isolados eram CA-MRSA⁶⁰, mostrando que o transporte de PVL não pode ser usado como um marcador exclusivo para CA-MRSA^{58,61}.

A epidemiologia do MRSA é dinâmica, sendo difícil identificar com precisão o local de aquisição, pois cepas hospitalares de MRSA podem ser identificadas na comunidade. Como exemplo pode-se citar os casos de pacientes previamente hospitalizados, que após a alta mantêm contato direto com familiares, que ficam expostos à aquisição do MRSA. Há também relatos recentes de surto hospitalar causado por cepas comunitárias em puérperas, causando casos de mastite importantes⁶². A disseminação de cepas resistentes (“transmissão cruzada”) de paciente a paciente através de profissionais da saúde, dispositivos e equipamentos também tem papel definido na disseminação de

resistência⁶³. Recentes avanços científicos considerando a origem genética da resistência a meticilina em *S. aureus* têm alavancado um maior entendimento da epidemiologia do MRSA. Análises genéticas detalhadas de cepas de MRSA de diversas partes do mundo revelaram que a transferência do SCCmec do MRSA para *S. aureus* susceptível a meticilina (MSSA) ocorreram poucas vezes, assim sendo, a crescente incidência do MRSA resulta da disseminação mundial de apenas alguns clones, e não da emergência de novos clones de MRSA a partir de cepas sensíveis^{64,65}. Esses resultados sugerem virtualmente que todos os pacientes que apresentam infecções ou colonização por MRSA adquiriram suas cepas de uma fonte externa. A transmissão de clones de uma cidade a outra, de um país ao outro e até mesmo de um continente a outro foi determinada pela transferência de pacientes infectados ou colonizados com MRSA⁶⁶. Métodos moleculares atuais são utilizados para classificação dos isolados, como o PFGE (*Pulsed Field Gel Electrophoresis*), considerado método *Gold Standard*; detecta similaridade genética e clonalidade entre isolados devido ao seu elevado poder discriminatório⁶⁷.

De acordo com Diekema⁶⁸, atitudes que podem controlar a disseminação do MRSA incluem culturas ativas de vigilância (para identificar pacientes colonizados com MRSA), uso restrito de antibióticos, o uso de precauções padrões (isolamentos) e quarentena para pacientes recém-admitidos.

As infecções causadas por MRSA são mais caras ao tratamento comparadas a outras infecções e, além disto, estão associadas à importante morbidade e mortalidade. São responsáveis pelas internações prolongadas, cuidados médicos e enfermagem especial (isolamento) e terapia secundária. O grande impacto do MRSA sobre morbidade, mortalidade e custos, tem sido amplamente documentado nos Estados Unidos e em países da Europa^{69,70}.

É de grande importância que possamos entender melhor a epidemiologia das

infecções do CA-MRSA, pois suas implicações são relevantes, pois a prevalência em indivíduos sem nenhum fator de risco aparente é um problema de saúde pública mundial. É sabido que o tratamento dos casos de CA-MRSA não foi adequadamente estabelecido, e isto é motivo de preocupação, pois os antibióticos beta-lactâmicos são utilizados no tratamento empírico de diversas infecções comunitárias.

Tendo em vista a emergência destas cepas comunitárias, até então estritamente hospitalares, e a escassez de novas publicações que indiquem índices de colonização por CA-MRSA no Brasil, este estudo objetiva o isolamento e caracterização do CA - MRSA em uma população carcerária, identificando os possíveis fatores de risco para sua aquisição, determinação do tipo de *SCCmec* das cepas isoladas e detecção do gene codificador da toxina PVL nas amostras estudadas.

As penitenciárias e as cadeias são focos de transmissão de infecção por MRSA, tornando essencial que as práticas de controle de infecção possam ser reavaliadas e atitudes novas possam proteger os detentos e conter a propagação da MRSA na população⁷¹. Os resultados devem fundamentar ações da vigilância epidemiológica, para que os casos suspeitos sejam detectados e gerenciados com maior rapidez e precisão.

2. Objetivos

2.1. Objetivo Geral

- Isolar e caracterizar as cepas comunitárias de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (CA-MRSA) isoladas da mucosa nasal de uma população carcerária.

2.2. Objetivos Específicos

- Isolar e identificar amostras de *S. aureus* de uma população carcerária.
- Detectar a resistência à meticilina em amostras de *S. aureus* incluídas no estudo.
- Determinar o tipo de Cassete Cromossômico Estafilocócico *mec* (SCC*mec*).
- Detectar a presença do gene PVL nas amostras de *S. aureus* estudadas.
- Determinar os fatores de risco para aquisição do CA-MRSA.
- Determinar os perfis clonais das cepas endêmicas e colonizantes de MRSA isoladas

3. Materiais e Métodos

3.1. Amostragem e características da população

Foram incluídas no estudo todas as culturas positivas para *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) e susceptíveis à meticilina (MSSA) isoladas de 302 detentos do Centro de Ressocialização de Avaré (CR-Avaré), no período de fevereiro de 2009 a abril de 2010. O CR- Avaré é um presídio Estadual administrado pelo Sistema de Administração Penitenciária (SAP) do Estado de São Paulo, possui 210 vagas distribuídas em três módulos, em forma da letra “U”; cada módulo possui seis alojamentos, e cada alojamento acolhe 12 reeducandos (detentos). A população carcerária que participou deste estudo entra em contato com a população externa do presídio uma a duas vezes por semana, sendo obrigatoriamente parentes. O Centro de Ressocialização possuiu uma enfermaria no quais os profissionais da saúde monitoram exames de sorologias, vacinação e outros agravos da saúde. Todos os atendimentos realizados na enfermaria são registrados no prontuário de saúde do interno. Foram avaliados todos os 302 prontuários que pertenciam aos detentos que participaram da pesquisa, através de preenchimento de instrumento (Anexo A). Um total de 55 prontuários incompletos foi separado e posteriormente foi solicitada a presença do detento na enfermaria para realizar a entrevista pessoal para a coleta dos dados ausentes no prontuário. O detento permaneceu na enfermaria sem a presença de guardas, pois a presença do mesmo o inibiria para responder verdadeiramente os dados solicitados. Os questionários e as entrevistas foram preenchidos pelo pesquisador e continham: dados de identificação, sexo, idade, grupo étnico, tabagismo, usuário de drogas, estado civil, tempo de encarceramento, sorologias positivas (VDRL, HIV e Hepatites), visita íntima, prática de esportes dentro do presídio, homens

que fazem sexo com homens, vacinas recebidas, saída do alojamento para o pátio (diariamente ou algumas horas por dia), isolamento (por quanto tempo), trabalho desenvolvido dentro do presídio, procedência em relação a presídios anteriores e tempo de encarceramento.

Foram excluídos do estudo os detentos que foram internados em ambiente hospitalar até um ano antes da coleta, usou procedimentos invasivos nos últimos doze meses e ou antibióticos nos trinta dias antes da coleta.

3.2 Coleta e processamento do material clínico

Antes da coleta foi entregue o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo B), os detentos assinaram em três vias, uma ficando arquivada no prontuário, outra para o pesquisador e a terceira com o detento.

Foram coletados *swabs* das fossas nasais utilizando *swabs* estéreis umedecidos com salina estéril, a serem condicionados em meio de transporte Stuart (Laborclin ®). Para a coleta foi efetuada a introdução do swabs na fossa nasais anteriores, fazendo movimentos circulares delicados, por três vezes.

Após a coleta, o material foi colocado no interior de tubo com meio de cultura e encaminhado ao laboratório de Bacteriologia do Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Biociências da Unesp, para realização de semeadura em placas contendo *Ágar Baird-Parker*, meio seletivo para *Staphylococcus*, e incubação à 37° C por 24/48 horas.

O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (Anexo C), pelo Diretor das Penitenciárias do Estado de São Paulo, Coordenador da Regional do Centro de Ressocialização de Avaré, Diretora do CR Avaré e Juiz responsável por este presídio (CR – Avaré).

As medidas foram tomadas, pois o preso não é considerado livre para participar de pesquisas, pois está sob custódia do Estado, após as autorizações citadas, os participantes assinaram Termo de Livre Consentimento e Esclarecido em três vias.

3.3 Identificação do *Staphylococcus aureus*

As colônias típicas, obtidas a partir do material do *swab* nasal foram semeados em ágar Baird Parker, foram coradas pelo método de Gram, objetivando-se verificar sua pureza, e a observação de sua morfologia e coloração específica. Após a confirmação dessas características, foram realizadas as provas de catalase e coagulase em tubo conforme preconizado por Koneman *et al*⁷².

A prova de coagulase foi realizada utilizando plasma de coelho em tubo para diferenciação da espécie *S. aureus* dos ECN, adicionando-se 500µl de cultura da bactéria em Brain Heart Infusion Broth (BHI) em 250µl de plasma de coelho, realizando leituras de 1, 4 e 24 horas⁷².

Posteriormente à confirmação da espécie, conservaram-se as amostras em caldo nutriente com glicerol a -70°C.

3.4. Determinação de Amostras de *S. aureus* Resistentes à Meticilina (MRSA)

3.4.1. Detecção fenotípica e MRSA pela técnica de difusão da droga em ágar com disco de oxacilina e cefoxitina

O teste de sensibilidade à oxacilina foi realizado pela técnica da difusão da droga em ágar a partir de discos impregnados com oxacilina (1 µg) e cefoxitina (30 µg) conforme critérios recomendados pelo Clinical Laboratory Standards Institute-CLSI⁷³. Para o preparo dos inóculos foram utilizadas culturas em caldo BHI, previamente incubadas por

24 horas e posteriormente ajustadas com a turbidez da escala 0,5 de MacFarland.

Uma vez ajustada à densidade do inóculo, a semeadura foi feita através de *swab* estéril na superfície de ágar Mueller-Hinton, e a seguir aplicado 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 e interpretação com base nas normas estabelecidas pelo CLSI⁷³. A linhagem padrão de *S. aureus* ATCC 25923 foi usada como controle em todos os experimentos.

3.4.2 Detecção genotípica de MRSA

3.4.2.1 Extração do ácido nucléico

O ácido nucléico total foi extraído a partir de cepas de *S. aureus* isoladas em ágar Baird Parker e inoculadas individualmente em caldo Infusão de Cérebro e Coração (BHI) e incubadas a 37°C por 24 h. A extração foi realizada com o Kit Illustra Blood GenomicPrep Mini Spin (GE Healthcare®) que consiste na centrifugação de 200 µl de caldo BHI, seguida de digestão inicial das células de estafilococos com lisozima (10 mg/ml) e proteinase K (20 mg/ml). A seguir adicionou-se, 500 µl da solução de lise à mistura e esta, submetida à centrifugação a 5.000 x g por 1 min. Em seguida o sobrenadante foi transferido para a coluna e centrifugado a 5.000 x g por 1 min. O líquido coletado foi descartado e adicionou-se 500 µl de solução de lise novamente à coluna. Após a centrifugação e descarte do líquido coletado, adicionou-se 500 µl da solução de lavagem à coluna e esta centrifugada a 14.000 x g por 3 min. A seguir, a coluna foi transferida para um tubo de 1,5 ml e 200 µl de água Milli Q aquecida a 70° C foi adicionada para a eluição. As amostras foram centrifugadas a 5000 x g por 1 minuto, a coluna foi desprezada e o DNA extraído foi armazenado a -20° C.

3.4.2.2 Amplificação do ácido nucléico (PCR)

As reações de PCR foram realizadas em microtubos de 0,5 ml em volumes totais de 25 µL contendo 10 pmol de cada *primer* (**Tabela 1**), 2,0 U de Taq DNA polimerase, 100 µM de desoxiribonucleotídeos trifosfatados, 10 mM de Tris-HCl (pH 8,4), 0,75 mM de MgCl₂ e 3µL de ácido nucléico. A incubação foi realizada em termociclador apropriado, empregando os parâmetros descritos por Murakami et al ⁷⁴, que consistiram de: 40 ciclos de desnaturação a 94°C por trinta segundos, anelamento dos *primers* a 55,5°C por trinta segundos e extensão a 72°C por um minuto. Após completar os 40 ciclos, os tubos foram mantidos a 72°C por cinco minutos antes de resfriar à 4°C. Em todas as reações realizadas foram utilizadas linhagens de referência internacional com controle positivo (*S. aureus* ATCC 33591) e negativo (*S. aureus* ATCC 25923).

Tabela 1. Oligonucleotídeos para a detecção do gene *mecA*

Função	Nome	Sequência de nucleotídeos 5'a 3'	TPA*
Primer	<i>mecA1</i>	AAA ATC GAT GGT AAA GGT TGGC	533 bp
	<i>mecA2</i>	AGT TCT GCA GTA CCG GAT TTGC	

Fonte: Murakami et al⁷⁴ *TPA: Tamanho do Produto Amplificado

3.4.5.3. Visualização dos produtos amplificados

A eficiência das amplificações foi monitorada pela eletroforese da reação em gel de agarose 2% preparado em tampão 1,0 X TBE e corado com SYBR Safe DNA gel Stain. O tamanho dos produtos amplificados foi comparado com o padrão de 100 bp e posteriormente fotografado sob transiluminação UV.

3.5 Detecção dos genes *lukS-PV-lukF-PV* da Leucocidina Panton-Valentine em *S. aureus* pela técnica de PCR

As reações de PCR foram realizadas em tubos de microcentrífuga de 0,5 ml em volumes totais de 25 µL contendo 10 pmol de cada *primer* (**Tabela 2**), 2,0 U de Taq DNA polimerase, 100 µM de desoxiribonucleotídeos trifosfatados, 10 mM de Tris-HCl (pH 8,4), 0,75 mM de MgCl₂ e 3µL de ácido nucléico obtido conforme item 3.5.1. A incubação foi realizada em termociclador apropriado, sendo que a amplificação consistiu na técnica descrita por Murakami *et al.*⁷⁴, ou seja, 30 ciclos de desnaturação a 94°C por trinta segundos, anelamento dos *primers* a 55°C por trinta segundos e extensão a 72°C por um minuto. Após completar os 30 ciclos, os tubos foram mantidos a 72°C por cinco minutos antes de resfriar à 4°C. Linhagens de referência internacional com controle positivo (*S. aureus* ATCC 49775) e negativo (*S. aureus* ATCC 29123) foram utilizadas em todas as reações.

Tabela 2: Oligonucleotídeos para a detecção dos genes *lukS-PV* e *lukF-PV*

Função	Nome	Sequência de nucleotídeos 5'a 3'	
TPA*			
Primer	<i>Luk-PV-1</i>	ATC ATT AGG TAA AAT GTC TGG ACA TGA TCCA	
Primer	<i>Luk-PV-2</i>	GCA TCA AST GTA TTG GAT AGC AAA AGC	433pb

Fonte: Lina *et al.*⁴ *TPA: Tamanho do produto amplificado

3.6 Determinação do tipo de SCCmec

3.6.1 Classificação de SCCmec em *S. aureus*

A determinação do tipo de SCCmec foi realizada utilizando-se o método de reação

PCR-Multiplex, com os primers apresentados na **Tabela 3**, conforme descrito por Oliveira e de Lencastre⁷⁵ e modificado por Milheiriço *et al*⁷⁶. As condições de ciclagem foram 94° C por 4 minutos; 53° C por 30 segundos e 72° C por 1 minuto; extensão final a 72°C por 4 minutos⁷⁶.

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

Tabela 3. Oligonucleotídeos para a detecção do Cassete Cromossômico estafilocócico *mec* (SCC*mec*) em *S. aureus*.

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

SCC*mec*/R*: Tipo de SCC*mec*/ Região

TPA **: Tamanho do produto amplificado.

Fonte: Milheirico et al (2007) e Oliveira e Lencastre(2002).

3.7. Determinação do perfil clonal das amostras MRSA, pela técnica de PFGE

O PFGE das amostras de *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina isolados dos detentos foi realizado segundo o protocolo modificado de McDougal *et al* ⁷⁷. As amostras foram colocadas em caldo BHI onde cresceram por 24h. Em um microtubo previamente pesado, 400µl da amostra crescida foi centrifugada a 12.000 g por 50s. Depois de desprezado o sobrenadante, o microtubo foi novamente pesado e adicionados 300µl de solução TE (10mM de Tris, 1mM EDTA [pH 8,0]) mais a diferença entre o peso final e inicial em ml. As amostras foram deixadas em banho-maria por 10min. a 37°C. Após agitação em vórtex, foram adicionados 5µl de Lisostafina (1mg/ml em 20mM de acetato de sódio [pH 4,5]) e 300µl de agarose low melt. As amostras foram então acondicionadas em moldes para plugues até que solidificassem e, então, colocadas em placa de 24 poços com 2 ml de solução EC (6mM Tris-HCl, 1M NaCl, 100mM EDTA, 0,5% Brij-58, 0,2% deoxicolato de sódio, 0,5% laurilsarcosil sódico) e incubadas à 37°C por pelo menos 4h. O EC foi retirado e os plugues foram lavados com 2 ml de TE quatro vezes à temperatura ambiente por meia hora.

Para a restrição do DNA genômico foi usada a enzima *SmaI* (Fast Digest *SmaI*, Fermentas Life Science, Canadá). A eletroforese foi executada em aparelho CHEF-DR III System (BioRad Laboratories, EUA) em gel de agarose a 1% preparado com TBE 0,5M (Pulsed Field Certified Agarose, BioRad Laboratories, EUA) sob as seguintes condições: intervalos de tempo de pulso de 5 a 40s por 21h; em rampa linear; 6V/cm; ângulo de 120°; 14°C; 0,5M TBE como tampão de corrida. Foi utilizado Lambda Ladder PFG Marker (New England BioLabs) como marcador molecular. Os géis foram corados com GelRed (10.000X em água, Biotium, EUA) por 1h, e fotografados sob transiluminação UV. Para análise de similaridade, cálculo dos coeficientes de correlação Dice e criação do dendograma pelo método UPGMA (unweighted pair group method using arithmetic

averages) foi utilizado o software BioNumerics (versão 6.1; Applied Maths, Bélgica). A tolerância da posição das bandas e a otimização foram ajustadas para 1.25 e 0.5% respectivamente. Um coeficiente de similaridade de 80% foi escolhido para determinação dos clusters, segundo McDougal *et al*⁷⁷.

3.8 Avaliação dos fatores de risco para colonização de *S. aureus* e MRSA

Trata-se de um estudo de delineamento transversal que tem como desfechos de interesse o isolamento de *S. aureus* ou MRSA. As análises foram realizadas considerando como caso os sujeitos colonizados por *S. aureus* e como controles os que não foram identificados como portador de *S. aureus*. Devido ao pequeno número de carreadores de MRSA, não foi possível avaliar isoladamente este desfecho. Foram coletados em entrevistas e prontuários: (a) dados demográficos (idade, estado civil, raça/cor, escolaridade); (b) informações relativas ao regime carcerário (tempo de encarceramento, transferência de outros presídios, isolamento); (c) hábitos (tabagismo, etilismo, o uso de drogas ilícitas, sexo com homens); (d) presença de comorbidades; (e) uso de medicações.

Os dados foram digitados em banco montado no software EPI INFO 3.5 [(c) Center for Disease Control and Prevention, USA] e analisados em SPSS versão 19.0 [(C) IBM]. Realizou-se inicialmente análise univariada. Nesta, variáveis dicotômicas foram analisadas pelos testes do Chi-quadrado ou Exato de Fisher. Para as variáveis contínuas, foram empregados os testes T de Student ou U de Mann-Whitney. A seguir, foram montados modelos multivariados de regressão logística. Optou-se por estratégia regressiva (backward) para seleção de variáveis. Os critérios de P-valor para entrada e permanência no modelo foram 0,05 e 0, 1, respectivamente. Em casos de variáveis com significativa colinearidade, optou-se pela inclusão no modelo da categoria mais abrangente. P-valor inferior a 0,05 foi utilizado como limite final de significância.

4. Resultados

4.1. Amostragem

Foram coletados *swabs* de 302 detentos do CR - Avaré no período de fevereiro de 2009 a março de 2010. Os 302 detentos estudados apresentaram cultura positiva para *Staphylococcus* spp. (**Figura 1**). A prevalência de carreamento de *S. aureus* foi de 16,5% (50 detentos) com IC 95% (12,7 – 21,1%) e para *Staphylococcus* coagulase-negativa foi 83,5% (252 detentos) com IC 95% (78,9 – 87,3%).

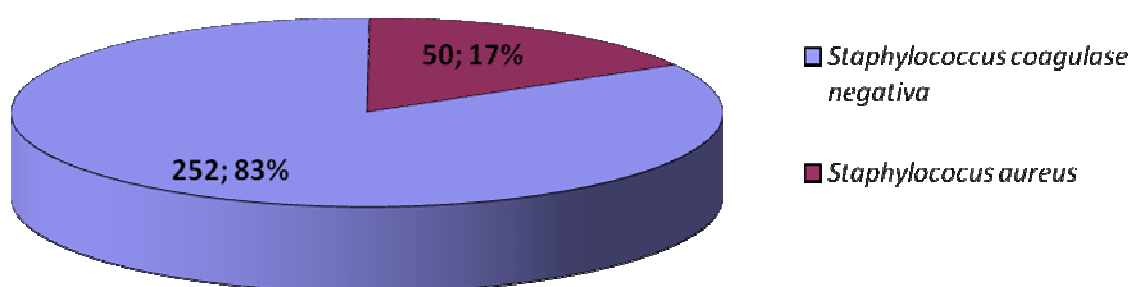


Figura 1. Distribuição de *Staphylococcus* coagulase negativa e *S. aureus* isolados de um total de 302 detentos do CR de Avaré.

4.2. Determinação de amostras de *S. aureus* resistentes a metilicina (MRSA)

4.2.1. Técnica de difusão da droga em ágar com disco de oxacilina e ceftoxitina

As amostras que apresentaram o diâmetro do halo de inibição para disco de oxacilina (1 µg) menor ou igual a 10mm foram consideradas resistentes, amostras com diâmetro de 11-12mm foram classificadas como intermediárias e amostras com halo maior

ou igual a 13 mm foram consideradas sensíveis. Para o disco de cefoxitina (30 µg) as amostras com o diâmetro do halo menor ou igual a 21mm foram consideradas resistentes, e sensíveis as que apresentaram o diâmetro do halo de inibição maior ou igual a 22 mm CLSI ⁷³ (**Figuras 2 e 3**).

De acordo com esta metodologia, foi determinado que de um total de 50 indivíduos portadores de *S. aureus* (mucosa nasal), 2 (4%) foram colonizados com *S. aureus* resistentes à meticilina pelo disco de oxacilina e cefoxitina simultaneamente (**Figura 4**).

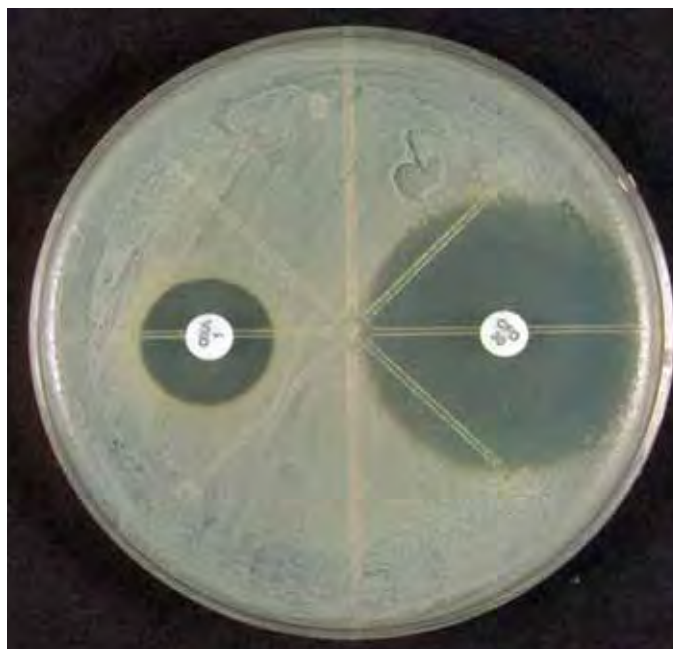


Figura 2. Amostra de *S. aureus* sensível à oxacilina, detectada pelo método de difusão da droga com discos de oxacilina e cefoxitina.



Figura 3. Amostra de *S. aureus* resistente à oxacilina e cefoxitina simultaneamente, detectado pelo método de difusão da droga com discos de oxacilina e cefoxitina.

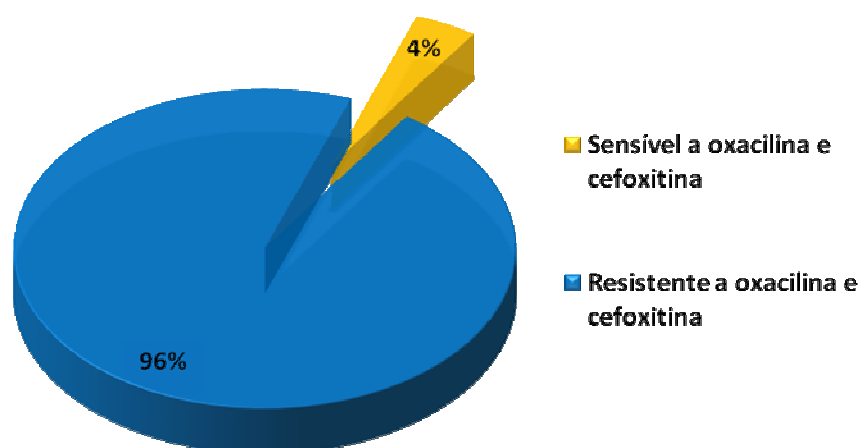


Figura 4. Determinação da resistência à oxacilina e cefoxitina em indivíduos (n = 50) portadores de *S. aureus* na mucosa nasal, pelo método de difusão da droga em ágar.

4.3. Detecção do gene *mecA* de resistência à meticilina em *S. aureus*

De um total de 50 indivíduos portadores de *S. aureus*, 2 (4%) estavam colonizados com *S. aureus* positivos para o gene *mecA* e 48 (96%) negativos para gene *mecA* (**Figura 5**). Essas duas amostras de *S. aureus* também apresentaram resistência ao disco de oxacilina e cefoxitina pelo método de disco difusão (**Tabelas 4 e 5**). Portanto, a prevalência de carreamento de MRSA na população estudada foi de 0,7% e IC 95% (0,01 – 2,2 %).

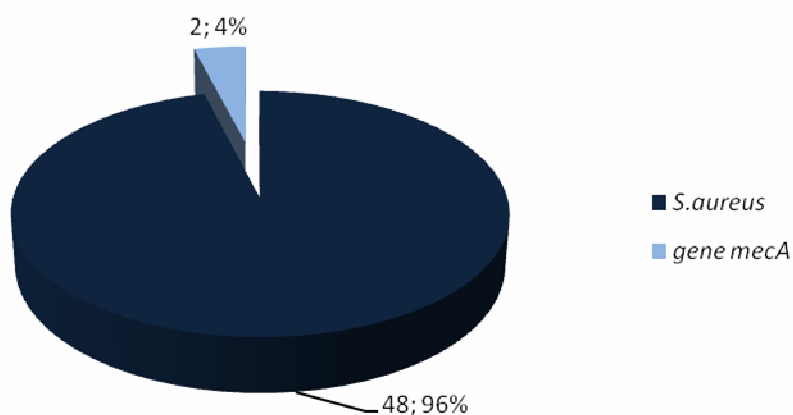


Figura 5. Presença do gene *mecA* nas amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas dos detentos do CR de Avaré.

Tabela 4. Determinação da sensibilidade à oxacilina em amostras de *S. aureus* por métodos fenotípicos e genotípicos.

Gene <i>mecA</i>	Disco		Disco	
	Oxacilina		Cefoxitina	
	R	S	R	S
Positivo (n = 02)	2	0	2	0
Negativo (n = 48)	0	48	0	48
Total	2	48	2	48

Tabela 5. Indivíduos com amostras de *S. aureus* resistentes a metilicina (MRSA) pelo método disco difusão com discos de oxacilina e cefoxitina e pesquisa do gene *mecA*.

	Gene <i>mecA</i>	Discos (mm)		SCC <i>mec</i>
		Oxacilina	Cefoxitina	
Detento 1	Positivo	10	15	IV
Detento 2	Positivo	10	15	IV

Oxacilina S (1µg): ≥13 mm – sensível; Oxacilina R (1µg): ≤12 mm – resistente

Cefoxitina S (30µg): ≤21 mm – resistente; Cefoxitina R (30µg): ≥22 mm – sensível

A técnica de PCR para a detecção do gene *mecA* foi repetida concomitantemente com os testes fenotípicos e confirmaram-se estes resultados para essas amostras (**Figura 6**).

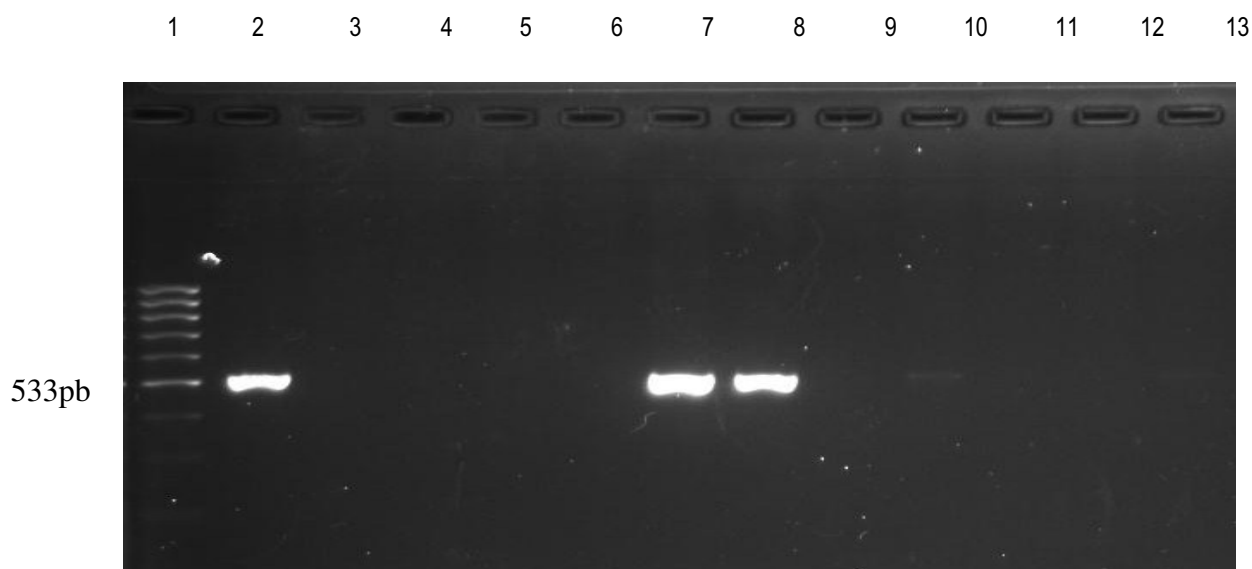


Figura 6. Eletroforese em gel de agarose para pesquisa do gene *mecA* (533 bp) em amostras de *S. aureus* pela técnica de PCR. 7 e 8: amostras positivas. As amostras 5, 6, 9, 10, 11, 12 e 13 negativas. 1: marcador de peso molecular (100bp); 2: Controle positivo *S. aureus* ATCC 33591 3: Controle negativo *S. aureus* ATCC 29213; 4: H₂O.

4.4. Determinação do tipo de SCC*mec*

Foi realizada a técnica de PCR multiplex para caracterizar o SCC*mec* nas amostras positivas para o gene *mecA*. Foi detectado o SCC*mec* tipo IV nas duas amostras de MRSA positivas para o gene *mecA* isoladas dos dois detentos.

4.5 Determinação do perfil clonal das amostras

Para determinação do perfil clonal das amostras MRSA foi utilizada a técnica de

Pulsed Field Gel Electrophoresis – PFGE com a enzima *SmaI*. Foram tipadas por esta técnica 2 amostras MRSA (**Figura 7**). Os resultados mostraram que as duas amostras MRSA SCCmec IV não pertencem ao mesmo clone como é evidenciado pelo dendograma. Os resultados também revelaram uma similaridade de 85,7 entre um MRSA isolado e o clone internacional JCSC 4469.

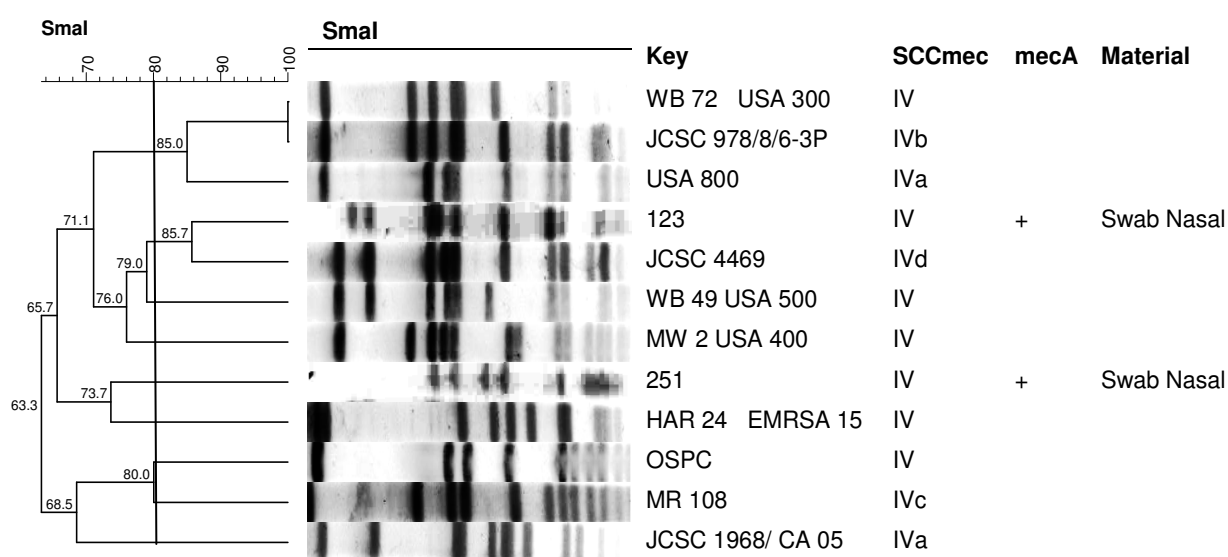


Figura 7. Dendrograma das amostras MRSA analisadas pela técnica de PFGE gerado pela análise Dice/UPGMA (Bionumerics, Applied Maths) dos perfis PFGE – *SmaI* (similaridade $\geq 80\%$).

4.6 Características da população estudada.

A análise das características da população carcerária em geral revelou predominância da raça branca (74,17%), idade média de 32 anos e com maior frequência de indivíduos com relação estável (58,60%) com referência ao estado civil. Em relação ao grau de instrução, em sua maioria (79,13%) cursou somente fundamental incompleto.

Dentre as drogas ilícitas utilizadas pelos presidiários foi observado que a droga mais utilizada foi maconha, utilizada por 90% dos portadores de *S. aureus* e por 70,6 %

dos não portadores.

4.7 Características dos indivíduos portadores de CA-MRSA

A Tabela 06 apresenta as características dos detentos positivos para MRSA quanto à etnia, estado civil, idade, IMC e escolaridade, procedência, doenças crônicas, alojamento, tempo de detenção, prática de esporte, trabalho no presídio e regime de detenção. Os resultados mostraram que as características etnia parda, estado civil em união estável, escolaridade, idade e IMC foram semelhantes nos dois detentos.

Tabela 06. Características demográficas e pessoais dos detentos portadores de MRSA.

Características	Detento 1	Detento 2
Estado civil	União estável	União estável
Idade (anos)	26	36
Escolaridade	Fund. incompleto	Fund. Incompleto
Etnia	Pardo	Pardo
IMC (Índice Massa Corpórea)	18,9	22
Procedência	Cadeia Piraju	Cadeia de Paranapanema
Tempo detenção (meses)	25	48
Alojamento (cela)	12	7
Trabalho	Não	Não
Pratica esporte	Não	Não
Regime de detenção	Fechado	Fechado
Doenças crônicas	Não	Não

Outras características apresentadas pelos detentos portadores de CA-MRSA quanto

ao uso de drogas ilícitas foram que ambos utilizavam cocaína e maconha, e faziam uso de diazepam 10 mg diariamente e apenas um utilizava crack. Ambos faziam uso de tabaco e álcool e recebiam visita íntima uma vez por semana, sendo que um deles relatou fazer sexo com homem (**Tabela 07**).

Tabela 07. Resultados de características pessoais e drogas utilizadas pelos detentos do CR de Avaré, portadores de MRSA.

Características	Detento 1	Detento 2
Álcool	Sim	Sim
Tabagismo	Sim	Sim
Cocaína	Sim	Sim
Maconha	Sim	Sim
Crack	Não	Sim
Diazepam cp 10 mg	Sim	Sim
Sexo com homens	Sim	Não
Visita íntima	Sim	Sim

4.8 Fatores de risco para aquisição de *S. aureus* e MSSA

A Tabela 8 mostra a análise univariada para determinação dos fatores de risco para aquisição de *S. aureus* revelou como fatores de risco: homens que fazem sexo com homens (Odds Ratio) (OR 3,24 e $p=0,001$), doenças de pele (OR 2,29 e $p=0,008$), drogas inalatórias (OR 2,08 e $p=0,02$) e doenças pulmonares (OR 4,20 e $p=0,04$). Na análise multivariada os resultados encontrados foram: homens que fazem sexo com homens (OR 3,20 e $p=0,03$), doenças de pele (OR 2,21 e $p=0,03$), drogas inalatórias (OR 2,24 e

p=0,03) e doenças pulmonares (OR 6,36 e p-0,03).

Tabela 08. Análise univariada e multivariada de fatores de risco para carreamento de *S. aureus*.

Fatores de Risco	Análise Univariada		Análise multivariada	
	Casos (50)	Não casos (252)	OR (IC95%)	p
<i>Dados demográficos</i>				
Idade, média	32,8	32,9	...	0,95
Cor branca	40 (80,0)	184 (73,0)	1,48 (0,70-3,12)	0,03
Ensino fundamental completo	11 (22,0)	52 (20,6)	1,09 (0,52-2,26)	0,83
Casamento ou união estável	31 (62,0)	146 (57,1)	1,19 (0,64-2,21)	0,30
Índice de Massa Corpórea (média)	23,6	23,1	...	0,64
<i>Fatores comportamentais</i>				
Sexo com homens	9 (18,0)	16 (6,3)	3,24 (1,34-7,82)	0,001
Uso de drogas injetáveis	0 (0,0)	11 (4,4)	0,0 (indefinido)	0,22
Uso de drogas inalatórias	27 (54,0)	91 (36,1)	2,08 (1,13-3,83)	0,02
Uso de maconha*	45 (90,0)	178 (70,6)	3,74 (1,43-9,8)	0,004
Uso de cocaína*	29 (58,0)	94 (37,3)	2,32 (1,25-4,30)	0,007
Uso de crack*	14 (28,0)	59 (23,4)	1,27 (0,64-2,50)	0,49
Uso de álcool	29 (58,0)	155 (61,5)	0,86 (0,47-1,60)	0,64
Tabagismo	37 (74,0)	189 (75,0)	0,95 (0,48-1,89)	0,88
Prática regular de esportes	7 (14,0)	34 (13,5)	1,04 (0,43-2,50)	0,92
Trabalho no presídio	34 (68,0)	146 (57,9)	1,54 (0,81-2,94)	0,18
Tatuagem	26 (52,0)	148 (58,7)	0,77 (0,41-1,40)	0,38
Tatuagem nos últimos seis meses*	13 (26,0)	31 (32,1)	0,74 (0,37-1,47)	0,39
<i>Características do regime de internação</i>				
Meses de prisão, mediana (variação)	9,5 (0-62)	11 (1-96)	...	0,22
Regime fechado	44 (88,0)	212 (84,5)	1,62 (0,60-4,34)	0,33
Recebe visita íntima	25 (50,0)	106 (46,8)	1,38 (0,75-2,53)	0,30
<i>Comorbidades</i>				
Doença cardíaca	7 (14,0)	36 (14,3)	0,98 (0,40-2,33)	0,96
Doença pulmonar	4 (8,0)	5 (2,0)	4,20 (1,11-16,60)	0,04
Doença hepática	2 (4,0)	5 (1,2)	3,43 (0,56-21,08)	0,20
Doença de pele	26 (52,0)	83 (33,1)	2,29 (1,23-4,25)	0,008
Diabetes mellitus	1 (2,0)	4 (1,6)	1,26 (0,14-11,47)	1,0
Soropositividade para o HIV	0 (0,0)	2 (0,8)	0,0 (indefinido)	1,0
Hepatite B	1 (2,0)	4 (1,6)	1,26 (0,14-11,47)	1,0
Hepatite C	1 (2,0)	2 (0,8)	2,59 (0,23-29,18)	0,92
Sorologia para sífilis (VRDL) positiva	1 (2,0)	5 (2,0)	1,01 (0,12-8,82)	1,0

5. Discussão

Este é o primeiro estudo de prevalência de CA-MRSA e levantamento de fatores de risco para aquisição do mesmo em uma população carcerária no Brasil, enfatizando que os detentos que participaram do estudo no momento da coleta não apresentavam problemas de saúde, e os portadores de doenças crônicas estavam controlados e estáveis diante a doença. Devido ao confinamento e fatores de risco como uso de drogas, e partilha de objetos de uso pessoal, este estudo ressalta a importância epidemiológica, uma vez que o portador de *S. aureus* tem potencial de desenvolver infecções por esse microrganismo em situações de imunossupressão, como também a disseminação dessas amostras para a comunidade.

Os resultados mostraram uma frequência de 100% para a presença de bactérias do gênero *Staphylococcus* entre os detentos estudados, sendo que 252 (83,5%) foram identificadas como *Staphylococcus* coagulase-negativa e 50 (16,5%) como *S. aureus*. Esses resultados são similares aos encontrados na população em geral (20% de *S. aureus*) e a outros estudos como de Farley *et al* ⁷⁸, que mostrou resultado de taxa de colonização para *S. aureus* de 15,8 % em detentos internados na cadeia de Baltimore (EUA). Já outro estudo realizado em duas prisões de Nova York mostrou taxa de colonização de 25,5% (124/487) ⁷⁹, entretanto este estudo não realizou exclusão de presos de acordo com critérios do CDC (não ter sido internado nos últimos 12 meses ou não ter passado por instituições de saúde, não ter sofrido procedimentos invasivos ou procedimentos, cultura positiva dentro de 48 horas de internação, e não ter histórico de MRSA anterior), justificando talvez este resultado mais elevado de colonização por *S. aureus*.

Indivíduos colonizados por *S. aureus* não apresentam sintomas, ou seja, não apresentam infecção ativa, mas a colonização assintomática é de grande importância clínica, pois estes indivíduos podem levar as mãos às narinas (contaminando-as), e transmitir a bactéria pelo contato. Estudos revelam que o carreamento nasal também

contribui para a transmissão da bactéria por disseminação aérea^{80, 81, 82}. Dentre os portadores contínuos normalmente o *S. aureus* está presente no nariz e na pele, sendo sua ocorrência mais comum em homens que em mulheres⁸³. Esses portadores (funcionários de hospitais e equipe médica) não desenvolvem a doença porque, em condições normais, o sistema imunológico humano consegue combater tais invasores. Por outro lado, pacientes mais debilitados tais como portadores de câncer, pacientes em pós-operatório, portadores de HIV e outros casos que acarretam imunodeficiência, correspondem aos principais alvos dessas bactérias^{84, 85}. Em situações como infecções, procedimentos dentários (invasivos), suturas e outros, os detentos recebem tratamento dentro do próprio presídio pelos profissionais da saúde. A população carcerária vive permanentemente em situação de aglomeração e contato físico, seja pelo esporte ou o próprio espaço físico. Casos que necessitem de remoção são transportados para hospitais comuns, internados em quartos individuais para evitar constrangimentos e fuga, mas recebem tratamento e cuidados por profissionais da saúde que também prestam cuidados a todos os outros pacientes do setor. Esta situação é complexa, devido ao número muitas vezes insuficiente de profissionais da saúde no sistema de saúde público, esta situação de detentos portadores de *S. aureus* internados pode levar a disseminação do micro-organismo no ambiente hospitalar .

Teste de disco-difusão foi realizado para investigar as características da resistência fenotípica à metilicina, o CLSI em 2005⁸⁶ passou a recomendar o uso do disco de cefoxitina para prever a susceptibilidade à oxacilina. Métodos genotípicos recentes⁷⁴ têm sido realizados paralelamente aos métodos fenotípicos de detecção da resistência à oxacilina, com ótimos resultados para *Staphylococcus aureus*. Esse método genotípico baseia-se na detecção do gene *mecA*, sendo este o responsável pelo principal mecanismo de resistência à oxacilina, embora não seja o único. Dentre as 50 amostras *S. aureus* positivas, 2 (4%) demonstraram resistência a oxacilina e a cefoxitina simultaneamente. A

resistência à oxacilina tem sido um grande problema na terapêutica dos estafilococos, principalmente devido ao fato da expressão heterogênea de resistência à oxacilina⁴⁸, onde cepas teoricamente sensíveis apresentam subpopulações resistentes não detectáveis pelo método de diluição o que teoricamente poderia condicionar o fracasso terapêutico.

A PCR é a técnica padrão ouro para detecção do gene *mecA*, e dos 50 indivíduos positivos para *S. aureus*, a presença do gene *mecA* foi verificada em 02 (4%) dos indivíduos, resultados similares aos obtidos pelo método de disco difusão. A prevalência de MRSA na população total de detentos estudada (302) foi de 0,7 %. Main⁴¹ mostrou prevalência de colonização nasal por MRSA em uma prisão em Mississippi de 2,5 %. Enquanto outro estudo realizado em duas prisões da cidade de Nova York a taxa de resistência entre *S. aureus* foi de 10,5%⁸⁷. A baixa prevalência encontrada nesse estudo pode ser explicada pelo fato do presídio possuir somente 210 detentos, sendo possível então ter maior controle sobre as doenças e conhecer de maneira mais detalhada os agravos de saúde local, o que permite educação em saúde mais frequente e voltada para a realidade local. A diretoria administrativa deste local é exigente quanto ao banho diário, às roupas limpas, higiene pessoal e há orientações constantes quanto a doenças infecto contagiosas, crônicas e a outras questões que se observe necessário, o que justifica a baixa prevalência de MRSA nesta população carcerária. Todos os detentos que são inclusos no sistema passam pela enfermaria e recebem vacinas (Hepatite B, Tétano, SRC (sarampo, rubéola e caxumba), as vacinas de febre amarela e influenza são administradas quando orientado pela Secretaria de Saúde) bem como também são colhidas sorologias (VDRL, HIV Hepatite B e C).

Outro estudo realizado em São Francisco (EUA) revelou um aumento na prevalência de MRSA em infecções de pele em presidiários, com 29% em 1997 para 74% em 2002; sugerindo que a transmissão entre este tipo de população esta cada vez mais

comum⁸⁸, este resultado corrobora com os detentos MRSA positivos deste estudo que relataram terem tido doenças de pele três meses antes da coleta de material para a pesquisa. Já na cadeia de Mississippi um estudo revelou que indivíduos que haviam sido presos por > de 60 dias foram mais propensos a serem portadores de MRSA (84/1565 -5,4%) do que aqueles que tinham menor tempo de detenção (1/142 – 0,7%)⁸⁹, corroborando com os resultados encontrados dentre os detentos MRSA positivos deste estudo, no qual o tempo de detenção foi entre 24 a 48 meses.

Neste estudo não foram detectados os genes da Leucocidina Panton –Valentine (PVL) nas amostras isoladas. Segundo Bustos *et al*⁹⁰ a Leucocidina Panton-Valentine é codificada pelos genes *LukF* e *LukS*, e sua presença ocorre em menos de 5% das cepas de *S. aureus*⁹¹. Em estudo com 1389 amostras de MRSA, 1,8% carregavam a toxina PVL e 7,5% (30/401) destes isolados eram CA-MRSA, e somente 6,7% dos CA-MRSA foram positivos para a toxina PVL⁶⁰. Esses relatos corroboram com o resultado deste estudo e mostram que a presença da toxina PVL não pode ser usada como um marcador exclusivo para o CA-MRSA^{58,61}. Há autores que relatam que o papel da toxina PVL em CA-MRSA ainda é indefinido e controverso⁹².

O SCCmec tipo IV foi isolado em 100% das amostras resistentes desse estudo, corroborando com a literatura que relata o SCCmec tipo IV como o mais encontrado entre amostras de população carcerária. Estudo realizado por Pan⁸⁸, na cadeia da Califórnia (EUA), mostrou 91% de SCCmec tipo IV nos isolados de *S. aureus*. Um estudo realizado por Maree *et al*⁹³ com amostras isoladas de uma população carcerária em uma cadeia de Los Angeles revelou que todos os isolados de *S. aureus* com gene *mecA* foram tipados como SCCmec IV, e em um presídio em Nova York, dentre os MRSA estudados 93,1% apresentaram o SCCmec tipo IV⁷⁹.

Os SCC*mec* IV e V contêm o gene *mecA* como único determinante de resistência, sendo a resistência frequentemente limitada aos antibióticos β -lactâmicos, além disso, são relativamente pequenos em tamanho o que confere mobilidade e habilidade de transferência entre as estirpes^{95,96}; o que possibilita sua rápida disseminação na comunidade⁹⁴, concordando com o resultado encontrado neste estudo no qual o SCC*mec* tipo IV esteve presente na comunidade fechada (população carcerária) estudada.

A tipagem dos dois MRSA isolados dos detentos pela técnica de Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) mostrou que essas amostras não pertenciam ao mesmo clone e um deles agrupou com 85,7% de similaridade com o clone JCSC 4469 de origem Japonesa. Este clone foi relatado por MA⁹⁷ em um estudo retrospectivo realizado em hospitais no Japão que encontrou SCC*mec* tipo IV-d (JCSC 4469) em 10,3% das amostras estudadas.

A presença de MRSA na comunidade é uma realidade⁹⁸, a prevalência vem aumentando em todo mundo, e a hospitalização destes portadores em instituições de saúde pode levar a disseminação destes microrganismos no ambiente hospitalar. A entrada de MRSA para dentro de instituições hospitalares é mais comum através da admissão de paciente colonizado ou infectado, e após a entrada desta bactéria em determinado hospital esta tende a permanecer, o que conseqüentemente aumenta a sua prevalência no hospital⁹⁹.

A cultura de vigilância ainda é pouco difundida dentre os hospitais brasileiros, atitude que auxiliaria o controle de futuras infecções. De acordo com Huang e Platt¹⁰⁰ indivíduos colonizados por MRSA provavelmente irão desenvolver infecção. Em um estudo realizado por estes autores foi verificado que 60 (29%) desenvolveram infecção subsequente em uma UTI (Unidade de Terapia Intensiva) na Austrália. McGinagle *et al*¹⁰¹ relatam que identificar e isolar indivíduos colonizados por MRSA, em ausência de sinais de infecção ativa contribui para a redução da circulação desse agente diminuindo sua participação na etiologia das IHS.

Quanto à faixa etária dos detentos portadores do SCCmec tipo IV encontrados nesse estudo, ambos eram jovens e este resultado está de acordo com o relatado na literatura que revela o SCCmec tipo IV relacionado a pessoas jovens¹⁰².

O uso de drogas ilícitas, álcool e tabaco foram detectados nos dois portadores de MRSA deste estudo. Embora o uso de drogas seja proibido, de acordo com questionário respondido pelos detentos, maconha, crack e cocaína são utilizadas dentro do presídio. Essas drogas são de uso inalatório e a literatura relata que efeitos do crack no sistema respiratório vão desde as fossas nasais até alvéolos pulmonares, causando tosse, dispnéia, necrose de mucosa nasal e secreção escura¹⁰³. Baldwin *et al*¹⁰⁴, mostraram que há um aumento do número de macrófagos em lavado broncoalveolar de usuários de crack. Apesar deste aumento, a droga ativa o pigmento hemossiderina (marcador de hemorragia alveolar) que consequentemente diminui a atividade antibacteriana, pela incapacidade da utilização do óxido nítrico na destruição de *S. aureus*, contribuindo para aumentar as infecções pulmonares¹⁰⁵. A maconha ou cannabis pode desencadear uma supressão da função imunológica no organismo, ficando os usuários mais suscetíveis a certas infecções e cânceres¹⁰⁶. Portanto os detentos que fazem uso de maconha e são portadores de *S. aureus* estariam mais propensos a desenvolverem infecções. Pesquisas anteriores mostram surtos de infecções bacterianas entre usuários de drogas, e sugerem que o uso de drogas é um importante fator de risco para a transmissão de doenças infecciosas. O primeiro surto de infecção na comunidade por MRSA em Deltroid nos Estados Unidos ocorreu entre usuários de drogas^{107,108}. O uso de cocaína aspirada pelo nariz causa inúmeras alterações, e dentre elas o efeito vasoconstrictor que leva a necrose e perfuração do septo nasal¹⁰⁹, facilitando a entrada do *S. aureus* e consequentemente infecções futuras.

Os dois detentos deste estudo também relataram uso de diazepam (Benzodiazepínico, cp 10 mg), que são macerados até virar pó e inalados (diretamente) e

/ou colocados junto aos componentes do cigarro para serem conjuntamente inalados. *Este medicamento é prescrito* principalmente como ansiolítico e hipnótico, além de possuir ação miorrelaxante e anticonvulsivante¹¹⁰.

Ambos os detentos portadores de MRSA recebiam visita íntima (expressão utilizada no sistema presidiário, significando relacionamento sexual), a frequência é de uma vez por semana com uma parceira constante por seis meses no mínimo, um estudo realizado no norte de Manhattan mostrou a relação de transmissão de MRSA sexualmente. No estudo citado, dos três casos de transmissão heterossexual de CA-MRSA, em um deles foi coletado material vaginal da mulher (que relatou ter tido outros parceiros, além do marido) e da virilha do homem, e ambos isolados apresentaram SCCmec tipo IV, confirmando cepa comunitária¹¹¹.

A análise dos fatores para aquisição de *S. aureus* e MSSA revelou como fatores de risco na análise univariada, homens que fazem sexo com homens (OR- 3,24 e p= 0,001 e na análise multivariada (OR = 3,20 e p=0,03). Os resultados indicam que este tipo de comportamento oferece três vezes mais chance de adquirir *S. aureus*. Esse tipo de comportamento associado à maior aquisição de *S. aureus* pode ser devido à probabilidade de traumas na pele durante as atividades sexuais, facilitando a colonização, já que o contato íntimo com a pele, aberturas na pele como cortes ou abrasões, artigos e superfícies contaminadas, moradias superlotadas e falta de higiene facilitam a disseminação deste micro-organismo. Um estudo de Diep¹¹² mostrou que o risco de contrair MRSA é 13 vezes maior para homens que fazem sexo com homens do que para o resto da população. Antoniou e Devlin¹¹³ relataram que surtos de infecções de pele e tecidos moles associada a *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (CA-MRSA) são mais frequentes entre homens que fazem sexo com homens (HSH).

Entre os fatores de riscos também foram encontrados a ocorrência de doenças

pulmonares (asma e bronquite crônica) com (OR - 4,20 e $p = 0,04$) na análise univariada e na análise multivariada (OR -6,36 e $p = 0,03$) e uso de drogas inalatórias que apresentou na análise univariada (OR-1,08 e $p = 0,04$) e na análise multivariada (OR-2,24 e $p = 0,03$). A produção defensiva de secreção nestes indivíduos torna-os susceptíveis a infecções pulmonares, e há evidências de que usuários de drogas inalatórias (cocaína, crack) podem desenvolver sintomas relacionados a vias aéreas como asma, broncoespasmo e tosse. Estes indivíduos podem desenvolver pneumonia estafilocócica que constitui de 1 a 10% de todos os casos de pneumonias adquiridas na comunidade (PAC) e apresenta uma alta taxa de mortalidade¹¹⁴.

Doença de pele também foi revelada como fator de risco para aquisição de *S. aureus* e MSSA (OR-2,29 e $p = 0,008$) na análise univariada e na análise multivariada apresentou (OR-2,21 e $p = 0,003$). A colonização por *S. aureus* no organismo humano em primeiro momento se dá pela adesão a pele e ou mucosa. Os detentos, além de trocar objetos pessoais, praticam futebol como esporte, ocorrendo contato pele/pele, e abrasões e escoriações de pele são comuns (em sua maioria não são atendidos na enfermaria, porque procuram resolver entre eles mesmos para não sofrerem penalidades), há também partilha de agulhas e ou objetos perfurantes para realizar tatuagens. Um estudo em 2003, no Missouri – EUA, realizado entre jogadores profissionais de futebol americano demonstrou a presença de MRSA em lesões de pele em cinco de 58 jogadores do time¹¹⁵, mostrando a presença de doenças de pele entre grupos de indivíduos que dividem objetos, banheiros e alojamentos.

Diante da escassez de novas publicações que indiquem os índices de colonização por CA-MRSA no Brasil, a significância desse estudo para determinação da prevalência de MRSA em uma população carcerária baseia-se na recente emergência destas cepas comunitárias. A população carcerária pode ser um foco de transmissão de *S. aureus*, CA-

MRSA e MSSA para a população que visita os presídios, incluindo parentes próximos, onde há contatos diretos, pele a pele, facilitando a transmissão cruzada de micro-organismos e permitindo que bactérias como o MRSA se espalhem rapidamente.

Atualmente o número de presidiários no Brasil é estimado pelo Conselho Nacional de Justiça (CNJ) em 496 mil, onde recebem visitas de familiares, e íntimas, aumentando e facilitando a transmissão de micro-organismos como *S. aureus* pelos detentos colonizados. A educação em saúde e conscientização de planejamento de medidas de prevenção, controle e avaliação de MRSA na população carcerária é situação que deve ser refletida pelas autoridades e profissionais de saúde do sistema penal.

Mesmo com a baixa prevalência de MRSA encontrada nesta população carcerária, a implementação de estratégias de controle de antimicrobianos é crucial para prevenir a disseminação destas cepas na comunidade. Medidas de educação em saúde são de grande importância, diante desta população que vive confinada, em um ambiente precário em higiene e escasso quanto à informação sobre saúde.

Com o aumento de casos de CA-MRSA na comunidade, há necessidade urgente de maior vigilância no controle de infecções hospitalares, prevendo-se que a população que carrega o CA-MRSA pode tornar-se reservatório bacteriano no ambiente hospitalar.

6. Conclusão

- A prevalência do carreamento por *S. aureus* dentro do presídio foi de 16,5%.
- A prevalência de MRSA na população carcerária estudada foi de 0,7%.
- O cassete cromossômico tipo IV foi o detectado na população resistente.
- As amostras de *S. aureus* isoladas não apresentaram o gene da toxina PVL.
- Os fatores de risco para aquisição de *S. aureus* revelados na pesquisa foram: homens que fazem sexo com homens (OR 3,24 e $p=0,001$), doenças de pele (OR 2,29 e $p=0,008$), drogas inalatórias (OR 2,08 e $p=0,02$) e doenças pulmonares (OR 4,20 e $p=0,04$). Na análise multivariada os resultados encontrados foram: homens que fazem sexo com homens (OR 3,20 e $p=0,03$), doenças de pele (OR 2,21 e $p=0,03$), drogas inalatórias (OR 2,24 e $p=0,03$) e doenças pulmonares (OR 6,36 e $p=0,03$).
- As duas amostras MRSA não pertencem ao mesmo clone e uma delas apresentou similaridade de 85,7% com o clone internacional JCSC 4469.
- Ações voltadas para educação em saúde são realizadas neste presídio nos últimos cinco anos contribuindo para os resultados encontrados.

7.0 Referências Bibliográficas

1. Euzéby, JP. List of prokaryotic names with standing in nomenclature – Genus *Staphylococcus* [Internet]. Acesso em: 22 março 2012. Disponível em: <http://www.bacterio.cict.fr/s/staphylococcus.html>.
2. Santos AL, Santos DO, Freitas CC, Ferreira BLA, Afonso IF, Rodrigues CR, et al. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. J Bras Patol Med Lab. 2007;43(6):413-23.
3. Baba T, Takeuchi F, Kuroda M, Yuzawa H, Aoki K, Oguchi A, et al. Genome and virulence determinants of high virulence community-acquired MRSA. Lancet. 2002;359(9320):1819-27.
4. Lina G, Piémont Y, Godail-Gamot F, Bes M, Peter MO, Gauduchon V, et al. Involvement of Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. Clin Infect Dis. 1999;29(5):1128-32.
5. Martins A, Pereira VC, Cunha MLRS. *Staphylococcus aureus* resistance to oxacillin in isolates from the Clinical Hospital of Botucatu Medical School, Brazil. Chemother. 2010;56(2):112-9.
6. Kloos WE, Bannerman TL. *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH, editors. Manual of Clinical Microbiology. Washington: American Society for Microbiology Press; 1999. p. 264-282.
7. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Microbiologia Médica. 4. ed., Rio de Janeiro: Guanabara, 2004.
8. Cepeda JA, Whitehouse T, Cooper B, Hails J, Jones K, Kwaku F, et al. Isolation of patients in single rooms or cohorts to reduce spread of MRSA in intensive-care units: prospective two-centre study. Lancet. 2005;365(9456):295-304.
9. Kniehl E, Becker A, Forster DH. Bed, bath and beyond: pitfalls in prompt eradication of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrier status in healthcare workers. J Hosp Infect. 2005;59(3):180-7.
10. Gordon RJ, Lowy FD. Pathogenesis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. Clin Infect Dis. 2008;46 Suppl 5:S350-9.
11. Ito T, Okuma K, Ma XX, Yuzawa H, Hiramatsu K. Insights on antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* from its whole genome: genomic island SCC. Drug Resist Updat. 2003;6(1):41-52.
12. Kirby WM. Extraction of a highly potent penicillin inactivator from penicillin resistant staphylococci. Science. 1944; 99(2579):452-3.
13. Bauer AW, Perry DM, Kirby WM. Drug usage and antibiotic susceptibility of staphylococci. Journal of the American Medical Association. 1960;173:475-480.

14. Oliveira GA, Faria JB, Levy CE, Mamizuka EM. Characterization of the Brazilian endemic clone of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from hospitals throughout Brazil. *Braz J Infect Dis*. 2001;5(4):163-70.
15. Stewart GT, Holt RJ. **Evolution of natural resistance to the newer penicillins.** *Br Med J*. 1963;1(5326):308-11.
16. Rubin RJ, Harrington CA, Poon A, Dietrich K, Greene JA, Moiduddin A. The economic impact of *Staphylococcus aureus* infection in New York City hospitals. *Emerg Infect Dis*. 1999;5(1):9-17.
17. Feil EJ, Cooper JE, Grundmann H, Robinson DA, Enright MC, Berendt T, et al. How clonal is *Staphylococcus aureus*? *J Bacteriol*. 2003;185(11):3307-16.
18. Wertheim HF, Melles DC, Vos MC, van Leeuwen W, van Belkum A, Verbrugh HA, et al. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis*. 2005;5(12):751-62.
19. Kluytmans J, van Belkum A, Verbrugh H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clin Microbiol Rev*. 1997;10(3):505-20.
20. Muto CA, Jernigan JA, Ostrowsky BE, Richet HM, Jarvis WR, Boyce JM, et al. SHEA guideline for preventing nosocomial transmission of multidrug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and *enterococcus*. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2003;24(5):362-86.
21. Udo EE, Pearman JW, Grubb WB. Genetic analysis of community isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Western Australia. *J Hosp Infect*. 1993;25(2):97-108.
22. Kaplan SL, Hulten KG, Gonzalez BE, Hammerman WA, Lamberth L, Versalovic J, et al. Three-year surveillance of community-acquired *Staphylococcus aureus* infections in children. *Clin Infect Dis*. 2005;40(12):1785-91.
23. Naimi TS, LeDell KH, Como-Sabetti K, Borchardt SM, Boxrud DJ, Etienne J, et al. Comparison of community- and health care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *JAMA*. 2003;290(22):2976-84.
24. Iwatsuki K, Yamasaki O, Morizane S, Oono T. Staphylococcal cutaneous infections: invasion, evasion and aggression. *J Dermatol Sci*. 2006;42(3):203-14.
25. Kleven RM, Morrison MA, Nadle J, Petit S, Gershman K, Ray S, et al. Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the United States. *JAMA*. 2007;298(15):1763-71.
26. Vandenesch F, Naimi T, Enright MC, Lina G, Nimmo GR, Heffernan H, et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Panton-

Valentine leukocidin genes: worldwide emergence. *Emerg Infect Dis.* 2003;9(8):978-84.

27. Van der Flier M, van Dijk NB, Fluit AC, Fleer A, Wolfs TF, van Gestel JP. Fatal pneumonia in an adolescent due to community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* positive for Panton-Valentine-leukocidin. *Ned Tijdschr Geneeskd.* 2003;147(22):1076-9.

28. Alvarez CA, Barrientes OJ, Leal AL, Contreras GA, Barrero L, Rincón S, Diaz L, Vanegas N, Arias CA. Community associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, Colombia. *Emerg Infect Dis.* 2006; 12: 2000-2001.

29. Ribeiro A, Dias C, Silva-Carvalho MC, Berquó L, Ferreira FA, Santos RN, et al. First report of infection with community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in South America. *J Clin Microbiol.* 2005;43(4):1985-8.

30. Dufour P, Gillet Y, Bes M, Lina G, Vandenesch F, Floret D, et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in France: emergence of a single clone that produces Panton-Valentine leukocidin. *Clin Infect Dis.* 2002;35(7):819-24.

31. Eady E, Cove JH. Staphylococcal resistance revisited: community-acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus* – an emerging problem for the management of skin and soft tissue infections. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2003;16(2):103-24.

32. Harbarth S, François P, Shrenzel J, Fankhauser-Rodriguez C, Hugonnet S, Koessler T, et al. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Switzerland. *Emerg Infect Dis.* 2005;11(6):962-5.

33. Johnson LB, Saeed S, Pawlak J, Manzor O, Saravolatz LD. Clinical and laboratory features of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: is it really new? *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2006;27(2):133-8.

34. CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Community-associated MRSA. Information from the U.S. 2003. Acesso em: 08/12/2011. Disponível em: http://www.cdc.gov/ncidod/hip/aresist/mrsa_comm_faq.htm.

35. Naimi TS, LeDell KH, Boxrud DJ, Groom AV, Steward CD, Johnson SK, et al. Epidemiology and clonality of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Minnesota, 1996-1998. *Clin Infect Dis.* 2001;33(7):990-6.

36. Coia JE, Duckworth GJ, Edwards DI, Farrington M, Fry C, Humphreys H, et al. Guidelines for the control and prevention of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in healthcare facilities. *J Hosp Infect.* 2006;63 Suppl 1:S1-44.

37. Guilarde AO, Turchi MD, Martelli CM, Primo MG. *Staphylococcus aureus* bacteraemia: incidence, risk factors and predictors for death in a Brazilian teaching hospital. *J Hosp Infect.* 2006;63(3):330-6.

38. Fridkin SK, Hageman JC, Morrison M, Sanza LT, Como-Sabetti K, Jernigan JA, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* disease in three communities. *N Engl J Med*. 2005;352(14):1436-44.
39. Turabelidze G, Lin M, Wolkoff B, Dodson D, Gladbach S, Zhu BP. Personal hygiene and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Emerg Infect Dis*. 2006;12(3):422-7.
40. CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in correctional facilities-Georgia, California and Texas. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep*. 2003; 52(41):992-6.
41. Main CL, Jayaratne P, Haley A, Rutherford C, Smaill F, Fisman DN. Outbreaks of infection caused by community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a Canadian correctional facility. *Can J Infect Dis Med Microbiol*. 2005;16(6):343-8.
42. CDC. Centers of Disease Control and Prevention. Outbreaks of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin infections – Los Angeles County, California, 2002-3. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2003;52(5):88.
43. Centers for Disease Control and Prevention. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin or soft tissue infections in a state prison, Mississippi, 2000. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2001;50:919-22.
44. David MZ, Mennella C, Mansour M, Boyle-Vavra S, Daum RS. Predominance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among pathogens causing skin and soft tissue infections in a large urban jail: risk factors and recurrence rates. *J Clin Microbiol*. 2008;46(10):3222-7.
45. CNJ. Conselho Nacional de Justiça [Internet]. Acesso em: 15 fev 2012. Disponível em: http://www.cnj.jus.br/index.php?option=com_content&view=article&catid=1:notas&id=13210:brasil-precisa-de-mais-396-prisoas-para-.
46. Jones TF, Craig AS, Valway SE, Woodley CL, Schaffner W. Transmission of tuberculosis in a jail. *Ann Intern Med*. 1999;131(8):557-63.
47. Leh SK. HIV infection in U.S. correctional systems: its effect on the community. *J Community Health Nurs*. 1999;16(1):53-63.
48. Tveten Y, Jenkins A, Digraanes A, Melby KK, Allum AG, Kristiansen BE. Comparison of PCR detection of *mecA* with agar dilution and Etest for oxacillin susceptibility testing in clinical isolates of coagulase-negative staphylococci. *Clin Microbiol Infect*. 2004;10(5):462-5.
49. Enright MC, Robinson DA, Randle G, Feil EJ, Grundmann H, Spratt BG. The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002;99(11):7687-92.
50. McCulloch JA. Avaliação Da Funcionalidade Do Locus *Acessory Gene Regulator*

(Agr) Em Cepas De *Staphylococcus aureus* brasileiras com suscetibilidade reduzida aos glicopeptídeos. [Tese]. São Paulo: Universidade do Estado de São Paulo-Faculdade de Ciências Farmacêuticas; 2006.

51. Hiramatsu K, Cui L, Kuroda M, Ito T. The emergence and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Trends Microbiol. 2001;9(10):486-93.

52. Ito T, Ma XX, Takeuchi F, Okuma K, Yuzawa H, Hiramatsu K. Novel type V staphylococcal cassette chromosome mec driven by a novel cassette chromosome recombinase, ccrC. Antimicrob Agents Chemother. 2004;48(7):2637-51.

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

54. (IWG-SCC). International Working Group on the Staphylococcal Cassette Chromosome Elements. Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome mec (SCCmec): Guidelines for Reporting Novel SCCmec Elements. Antimicrob Agents Chemother.

55. Hanssen AM, Ericson Sollid JU. SCCmec in *Staphylococci*: genes on the move. FEMS Immunol Med Microbiol. 2006;46(1):8-20.

56. Dufour P, Gillet Y, Bes M, Lina G, Vandenesch F, Floret D, et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in France: emergence of a single clone that produces Panton-Valentine leukocidin. Clin Infect Dis. 2002;35(7):819-24.

57. Zhang K, McClure JA, Elsayed S, Louie T, Conly JM. Novel multiplex PCR assay for characterization and concomitant subtyping of staphylococcal cassette chromosome mec types I to V in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol. 2005;43(10):5026-33.

58. Saïd-Salim B, Mathema B, Braughton K, Davis S, Sinsimer D, Eisner W, et al. Differential distribution and expression of Panton-Valentine leukocidin among community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. J Clin Microbiol. 2005;43(7):3373-9.

59. Voyich JM, Otto M, Mathema B, Braughton KR, Whitney AR, Welty D, et al. Is Panton-Valentine leukocidin the major virulence determinant in community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* disease? J Infect Dis. 2006;194(12):1761-70.

60. Rossney AS, Shore AC, Morgan PM, Fitzgibbon MM, O'Connell B, Coleman DC. The emergence and importation of diverse genotypes of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) harboring the Panton-Valentine leukocidin gene (pvl) reveal that pvl is a poor marker for community-acquired MRSA strains in Ireland. J Clin Microbiol. 2007;45(8):2554-63.

61. Diep BA, Carleton HA, Chang RF, Sensabaugh GF, Perdreau-Remington F. Roles of 34 virulence genes in the evolution of hospital- and community-associated strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Infect Dis. 2006;193(11):1495-503.
62. Salgado CD, Farr BM, Calfee DP. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a meta-analysis of prevalence and risk factors. Clin Infect Dis. 2003;36(2):131-9.
63. Chaves F, García-Martínez J, de Miguel S, Sanz F, Otero JR. Epidemiology and clonality of methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* causing bacteremia in a tertiary-care hospital in Spain. Infect Control Hosp Epidemiol. 2005;26(2):150-6.
64. Gomes AR, Westh H, de Lencastre H. Origins and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clonal lineages. Antimicrob Agents Chemother. 2006;50(10):3237-44.
65. Roberts RB, de Lencastre A, Eisner W, Severina EP, Shopsin B, Kreiswirth BN, et al. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in 12 New York hospitals. MRSA Collaborative Study Group. J Infect Dis. 1998;178(1):164-71.
66. Roman RS, Smith J, Walker M, Byrne S, Ramotar K, Dyck B, et al. Rapid geographic spread of a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain. Clin Infect Dis. 1997;25(3):698-705.
67. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. J Clin Microbiol. 1995;33(9):2233-9.
68. Diekema DJ, Pfaller MA, Turnidge J, Verhoef J, Bell J, Fluit AC, et al. Genetic relatedness of multidrug-resistant, methicillin (oxacillin)-resistant *Staphylococcus aureus* bloodstream isolates from SENTRY Antimicrobial Resistance Surveillance Centers worldwide, 1998. Microb Drug Resist. 2000;6(3):213-21.
69. Finch R. Gram-Positive Infections: Lessons Learnt and Novel Solutions. Clin. Microbial. Infect. 2006;12(81):3-8.
70. Barrett JF. MRSA-what is it, and how do we deal with the problem? Expert Opin Ther Targets. 2005;9(2):253-65.
71. Bick JA. Infection control in jails and prisons. Clin Infect Dis. 2007;45(8):1047-55.
72. Konemann EW, Allen SD, Dowell VR, Sommer HM. Introdução À Microbiologia Médica. In: Diagnóstico Microbiológico: Texto e Atlas Colorido. 5th ed. Rio de Janeiro: Medsi; 2001.
73. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-First Informational Supplement (M100-S21). CLSI, 2011.

74. Murakami K, Minamide W, Wada K, Nakamura E, Teraoka H, Watanabe S. Identification of methicillin-resistant strains of staphylococci by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol.* 1991;29(10):2240-4.
75. Oliveira DC, de Lencastre H. Multiplex PCR strategy for rapid identification of structural types and variants of the *mec* element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002;46(7):2155-61.
76. 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(9):3374-7.
77. McDougal LK, Steward CD, Killgore GE, Chaitram JM, McAllister SK, Tenover FC. Pulsed-field gel electrophoresis typing of oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from the United States: establishing a national database. *J Clin Microbiol.* 2003;41(11):5113-20.
78. Farley JE, Stamper PD, Ross T, Cai M, Speser S, Carroll KC. Comparison of the BD GeneOhm methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) PCR assay to culture by use of Chromagar MRSA for detection of MRSA in nasal surveillance cultures from an at-risk community population. *J Clin Microbiol.* 2008;46(2):743-6.
79. Lowy FD, Aiello AE, Bhat M, Johnson-Lawrence VD, Lee MH, Burrell E, et al. *Staphylococcus aureus* colonization and infection in New York State prisons. *J Infect Dis.* 2007;196(6):911-8.
80. Carvalho CE, Berezin EM, Pistelli IP, Mímica L, Cardoso MRA. Monitoramento microbiológico sequencial da secreção traqueal em pacientes intubados internados em unidade de terapia intensiva pediátrica. *J Pediatr.* 2005;81(1):29-33.
81. Cavalcanti SM, França ER, Cabral C, Vilela MA, Montenegro F, Menezes D, et al. Prevalence of *Staphylococcus aureus* introduced into intensive care units of a University Hospital. *Braz J Infect Dis.* 2005;9(1):56-63.
82. Davis JS. Management of bone and joint infections due to *Staphylococcus aureus*. *Intern Med J.* 2005;35 Suppl 2:S79-96.
83. Bethune DW, Blowers R, Parker M, Pask EA. Dispersal of *Staphylococcus aureus* by patients and surgical staff. *Lancet.* 1965;1(7383):480-3.
84. Chambers HF. The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*? *Emerg Infect Dis.* 2001;7(2):178-82.
85. Jessen O, Rosendal K, Bülow P, Faber V, Eriksen KR. Changing staphylococci and staphylococcal infections. A ten-year study of bacteria and cases of bacteremia. *N Engl J Med.* 1969;281(12):627-35.

86. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing (M100-S15). CLSI, 2005.
87. CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Skin or Soft Tissue Infections in a State Prison-Mississippi, 2000. MMWR. 2001;50:919-22.
88. Pan ES, Diep BA, Carleton HA, Charlebois ED, Sensabaugh GF, Haller BL, et al. Increasing prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in California jails. Clin Infect Dis. 2003;37(10):1384-8.
89. Centers for Disease Control and Prevention. 2003. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in correctional facilities-Georgia, California, and Texas, 2001–2003. MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep. 52:992–6.
90. Bustos-Martínez JA, Hamdan-Partida A, Gutiérrez--Cárdenas M. *Staphylococcus aureus*: la reemergencia de un patógeno en la comunidad. Rev Biomed. 2006;17:287-305.
91. Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. Clin Microbiol Rev. 2000;13(1):16-34.
92. Matouskova I, Janout V. Current knowledge of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2008;152(2):191-202.
93. Maree CL, Eells SJ, Tan J, Bancroft EA, Malek M, Harawa NT, et al. Risk factors for infection and colonization with community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the Los Angeles County jail: a case-control study. Clin Infect Dis. 2010;51(11):1248-57.
94. Cohen PR. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin infections: a review of epidemiology, clinical features, management, and prevention. Int J Dermatol. 2007;46(1):1-11.
95. Appelbaum PC. The emergence of vancomycin-intermediate and vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*. Clin Microbiol Infect. 2006;12 Suppl 1:16-23.
96. Deurenberg RH, Vink C, Kalenic S, Friedrich AW, Bruggeman CA, Stobberingh EE. The molecular evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Clin Microbiol Infect. 2007;13(3):222-35.
97. Ma XX, Ito T, Chongtrakool P, Hiramatsu K. Predominance of clones carrying Panton-Valentine leukocidin genes among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated in Japanese hospitals from 1979 to 1985. J Clin Microbiol. 2006;44(12):4515-27.
98. Scanvic A, Denic L, Gaillon S, Giry P, Andremont A, Lucet JC. Duration of colonization by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* after hospital discharge and risk factors for prolonged carriage. Clin Infect Dis. 2001;32(10):1393-8.

99. Cuevas O, Cercenado E, Vindel A, Guinea J, Sánchez-Conde M, Sánchez-Somolinos M, et al. Evolution of the antimicrobial resistance of *Staphylococcus* spp. in Spain: five nationwide prevalence studies, 1986 to 2002. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004;48(11):4240-5.
100. Huang SS, Platt R. Risk of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection after previous infection or colonization. *Clin Infect Dis.* 2003;36(3):281-5.
101. McGinagle KL, Gourlay ML, Buchanan IB. The use of active surveillance cultures in adult intensive care units to reduce methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-related morbidity, mortality, and costs: a systematic review. *Clin Infect Dis* 2008; 46(11):1717-25.
102. Cooke FJ, Brown NM. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *Br Med Bull.* 2010;94:215-27.
103. Herculiane PP. Efeitos da inalação crônica da cocaína crack no aparelho respiratório de camundongos. [Tese] Universidade São Paulo- USP, 2007.
104. Baldwin GC, Choi R, Roth MD, Shay AH, Kleerup EC, Simmons MS, et al. Evidence of chronic damage to the pulmonary microcirculation in habitual users of alkaloidal ("crack") cocaine. *Chest.* 2002;121(4):1231-8.
105. Baldwin GC, Tashkin DP, Buckey DM, Park, AN, Dubinett, SM., Roth, MD. Marijuana and Cocaine Impair Alveolar Macrophage Function and Cytokine Production. Division of Pulmonary and Critical Care, Department of Medicine. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997;156:1606-13.
106. Nagarkatti P. Cannabis 'raises the risk of cancer and other killer diseases. Acesso em: 07 de fev de 2012. Disponível em: <http://www.dailymail.co.uk/news/article-1332838/Cannabis-raises-risk-cancer-killer-diseases.html>.
107. Saravolatz LD, Markowitz N, Arking L, Pohlod D, Fisher E. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Epidemiologic observations during a community-acquired outbreak. *Ann Intern Med.* 1982;96(1):11-6.
108. Kreiswirth B, Kornblum J, Arbeit RD, Eisner W, Maslow JN, McGeer A, et al. Evidence for a clonal origin of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Science.* 1993;259(5092):227-30.
109. Gontijo B, Bittencourt FV, Lourenço LFS. Manifestações cutâneas decorrentes do uso de drogas ilícitas. *An. Bras. Dermatol.* 2006;81(4):307-17.
110. Silva JAC. História dos Benzodiazepínicos. In: Bernik MA, coordenadores. *Benzodiazepínicos: quatro décadas de experiência.* São Paulo: Edusp. 1999. p. 15-28.
111. Cook HA, Furuya EY, Larson E, Vasquez G, Lowy FD. Heterosexual transmission

of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Clin Infect Dis. 2007;44(3):410-3.

112. Diep HA, Carleton LK, McDougal FC, Tenover DE, Cohen KH, Mayer, GF, et al. Emergence of multidrug-resistant, community-associated, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone USA300 in men who have sex with men. Ann. Intern. Med. 2008;148:249–57.

113. Antoniou T, Devlin R, Gough K, Mulvey M, Katz KC, Zehtabchi M, et al. Prevalence of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in men who have sex with men. Int J STD AIDS. 2009;20(3):180-3.

114. Luna CM, Famiglietti A, Absi R, Videla AJ, Nogueira FJ, Fuenzalida AD, et al. Community-acquired pneumonia: etiology, epidemiology, and outcome at a teaching hospital in Argentina. Chest. 2000;118(5):1344-54.

115. Kazakova SV, Hageman JC, Matava M, Srinivasan A, Phelan L, Garfinkel B, et al. A clone of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among football players. N Engl J Med. 2005;352(5):468-475.

ANEXO A

QUESTIONÁRIO

- 1- Idade: Matrícula -
- 2- Estado Civil:
- 3- Raça:
- 4- Orientação sexual:
- 5- Escolaridade
- 6- Trabalha dentro do Presídio? Qual atividade?
- 7- Você é portador de alguma doença crônica? Qual?
- 8- Você usa algum tipo de droga? Qual?
- ()Álcool ()Maconha ()Cigarro ()Cocaína inalável ()Crack
- Drogas injetáveis, outras _____
- 9- É tabagista? Fuma quantos cigarros por dia?
- 10-Recebe visita íntima?
- () sim () não
- Qual frequência/ _____
- 11- Você sofreu internação hospitalar nos últimos 12 meses?
- 12-Você fez uso de antibiótico no último mês? Se sim, qual?
- 13- Permaneceu no isolamento no último mês? Quanto tempo?
- 14- Toma sol diariamente? Qual a frequência?
- 15- Veio de outro Presídio? Há quanto tempo?
- 16- Pratica esporte? Qual a frequência?
- 17- Fez alguma tatuagem nos últimos 12 meses?
- 18-Se diabético, faz uso de insulina?
- 19- Peso - IMC -
- 20-Outras intercorrências.

ANEXO B

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para participação em pesquisa científica

Projeto de Pesquisa: “Isolamento e caracterização de amostras cepas comunitárias Staphylococcus aureus resistentes à meticilina (CA-MRSA) em uma população carcerária no município de Avaré-SP”.

Nome do (a) Pesquisador (a): Claudia de Lima Witzel

Nome do (a) Orientador (a): Prof^a. Dr^a. Maria de Lourdes R. de Souza da Cunha

O sra (sr.) está sendo convidada (o) a participar desta pesquisa que tem como finalidade verificar a presença de uma bactéria chamada Staphylococcus Aureus na mucosa interna do nariz. Através deste estudo poderemos observar quais antibióticos que conseguem eliminar esta bactéria. A população alvo desta pesquisa será realizada com os reeducandos deste Centro de Ressocialização de Avaré, que estão em regime fechado. Ao participar desta pesquisa o Sr. permitirá que a pesquisadora realize a coleta do material necessário para o estudo. O Sr. tem liberdade de se recusar a participar e ainda se recusar a continuar participando em qualquer fase da pesquisa, sem qualquer prejuízo para Sr.. Sempre que quiser poderá pedir mais informações sobre a pesquisa através do telefone da pesquisadora do projeto e, se necessário através do telefone do Comitê de Ética em Pesquisa. A participação nesta pesquisa não traz complicações legais. Não haverá riscos ou desconfortos durante e após a coleta. Os procedimentos adotados obedecem aos Critérios da Ética em Pesquisa com Seres Humanos conforme Resolução no. 196/96 do Conselho Nacional de Saúde. Nenhum dos procedimentos usados oferece riscos à sua dignidade. Todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais. Somente a pesquisadora e a orientadora terão conhecimento dos dados. Ao participar desta pesquisa o Sr. não terá nenhum benefício direto. Entretanto, esperamos que este estudo traga informações importantes sobre novas estratégias de tratamento de doenças causadas por esta bactéria, e o pesquisador se compromete a divulgar os resultados obtidos. O Sr. não terá nenhum tipo de despesa para participar desta pesquisa, bem como nada será pago por sua participação.

Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre para participar desta pesquisa. Portanto preencha, por favor, os itens que se seguem:

Consentimento Livre e Esclarecido

Tendo em vista os itens acima apresentados, eu, de forma livre e esclarecida, manifesto meu consentimento em participar da pesquisa.

Nome do Participante da Pesquisa

Assinatura do Participante da Pesquisa

Assinatura do Pesquisador

Testemunha

Endereço e telefone do pesquisador: Rua Santos Dumont s/nº, Bairro Brabância - SP.
CEP: 18703-100; tel. (14) 37331700

Endereço e telefone da orientadora: UNESP- Botucatu, Departamento de Microbiologia
e Imunologia- Instituto de Biomedicina- tel. (14) 3815 8272.

ANEXO C

 **Universidade Estadual Paulista**
Faculdade de Medicina de Botucatu 

Distrito Rubião Junior, s/nº - Botucatu - S.P.
CEP: 18.618-970
Fone/Fax: (0xx14) 3811-6143
e-mail secretaria: capelluppi@fmb.unesp.br
e-mail coordenadoria: tsarden@fmb.unesp.br

 Registrado no Ministério da Saúde
em 30 de abril de 1997

Botucatu, 09 de fevereiro de 2009. Of. 11/09-CEP

Ilustríssima Senhora
Prof^a. Dr^a. Maria de Lourdes Ribeiro de Souza da Cunha
Departamento de Microbiologia e Imunologia do
Instituto de Biociências de Botucatu

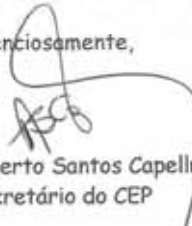
Prezada Prof^a Maria de Lourdes,

De ordem do Senhor Coordenador deste CEP, informo que o Projeto de Pesquisa sobre protocolo 3077/2009-CEP - "Isolamento e caracterização de amostras comunitárias de *Staphylococcus Aureus* resistentes a Metilicina (CA-MRSA) em uma população carcerária do município de Avaré-SP", a ser conduzido por Cláudia de Lima Witzel, orientada por Vossa Senhoria, recebeu do relator parecer favorável com recomendação, aprovado em reunião 09/02/2009.

Recomendação: Informar os responsáveis pela saúde dos reeducandos, respeitando sigilo médico, quando forem detectados resultados positivos.

Os pesquisadores devem estar cientes da necessidade de envio de "Relatório Final de Atividades", tão logo seja concluído este projeto.

Atenciosamente,


Alberto Santos Capelluppi
Secretário do CEP