

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 28/02/2021.



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

Nathalia Bibiana Teixeira

PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO PARA
CARREAMENTO NASAL E OROFARÍNGEO DE
Staphylococcus aureus **EM DIABÉTICOS INSULINO-**
DEPENDENTES NO MUNICÍPIO DE BOTUCATU, SP.

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Doenças Tropicais.

Orientadora: Profa. Associada Maria de Lourdes Ribeiro de Souza da Cunha

Coorientador: Prof. Associado Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza

Botucatu

2019

Nathalia Bibiana Teixeira

PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO PARA
CARREAMENTO NASAL E OROFARÍNGEO DE
Staphylococcus aureus EM DIABÉTICOS
INSULINO-DEPENDENTES NO MUNICÍPIO DE
BOTUCATU, SP.

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
Campus de Botucatu, para obtenção
do título de Doutora em Doenças
Tropicais.

Orientadora: Profa. Associada Maria de Lourdes Ribeiro de Souza da Cunha

Coorientador: Prof. Associado Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza

Botucatu

2019

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÊC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRE 8/7500

Teixeira, Nathalia Bibiana.

Prevalência e fatores de risco para carreamento nasal e orofaríngeo de *Staphylococcus aureus* em diabéticos insulino-dependentes no município de Botucatu, SP. / Nathalia Bibiana Teixeira. - Botucatu, 2019

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu
Orientador: Maria de Lourdes Ribeiro de Souza da Cunha
Coorientador: Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza
Capes: 20202008

1. *Staphylococcus aureus*. 2. Drogas - Resistência. 3. Fatores de virulência. 4. Diabetes mellitus. 5. Tipagem molecular.

Palavras-chave: Diabetes mellitus; *Staphylococcus aureus*; resistencia; tipagem molecular; virulencia.

Nathalia Bibiana Teixeira

Prevalência e fatores de risco para carreamento nasal e orofaríngeo de *Staphylococcus aureus* em diabéticos insulino-dependentes no município de Botucatu, SP.

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Botucatu
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Doença Tropicais

Orientadora: Profa. Adj. Maria de Lourdes Ribeiro de Souza da Cunha

Comissão examinadora:

Profa. Adj. Lenice do Rosário de Souza
Faculdade de Medicina de Botucatu

Prof. Dr. Ricardo de Souza Cavalcante
Faculdade de Medicina de Botucatu

Lígia Maria Abraão
Serviço de Controle de Infecção da Regional São Paulo

Denise Brandão de Assis
Universidade de São Paulo

Botucatu, ____ de _____ de _____.

Dedicatória

À minha mãe, Rosana Aparecida de Oliveira e à minha tia, Luciana Lucchesi

Obrigada por serem meu exemplo de força, amor e dedicação! Por sempre estarem ao meu lado em todos os momentos e por me darem condições de cultivar meus sonhos! Essa conquista eu devo a vocês!

Ao meu filho, Thomaz

Obrigada por ser tão corajoso, paciente e doce. Por ser a minha luz!

Ao meu esposo, Pedro Luiz da Silva Junior

Por todos esses anos de companheirismo e amor, por sempre me apoiar em meus projetos e estar comigo em qualquer caminhada.

Amo vocês!!!

Agradecimentos

A Deus e à Nossa Senhora por me permitirem sentir Sua presença constante em todos os momentos da minha vida.

Aos meus irmãos, Bianca Di Carla Teixeira e Neto Teixeira por serem os irmãos mais perfeitos, cheios de defeitos que alguém poderia ter. Sem vocês a vida não teria a menor graça.

À minha irmã postiça, Bruna Lucchesi por estar sempre ao meu lado nas horas mais impossíveis com seu jeito divertido e irritado de ser. Te amo demais.

Ao meu pai, Carlos Eduardo Teixeira por me mostrar que nessa vida tudo é possível, nada está fora do nosso alcance, basta ter esperança.

Aos meus amados sobrinhos, Julia Teixeira Koch, João Gabriel Teixeira Antunes, Manuela Lessa e Augusto Lessa, por nunca me deixarem esquecer do que realmente importa. Demonstrando com sua inocência que a felicidade está nas coisas mais simples.

À minha querida orientadora, Profa. Adj. Maria de Lourdes Ribeiro de Souza da Cunha por todos esses anos de ensinamentos, confiança, paciência e oportunidades que me deu em seu laboratório. Por ter me acolhido de volta depois do mestrado. Por ter me dado tamanha liberdade para realizar meu projeto de doutorado. Por ser uma excelente profissional e ainda sim demonstrar carinho e respeito por seus alunos. Deus a abençoe imensamente!

Ao Prof. Adj. Carlos Magno Castelo BrancoFortaleza por todo conhecimento compartilhado durante o doutorado, pela paixão que demonstra ao ensinar e pela disposição em me ajudar sempre que precisei.

A banca de qualificação, Prof. Dr. Ricardo de Souza Cavalcanti e Rodrigo Tavanelli

Hernandes pelas valiosas contribuições para o trabalho.

À Dra Bibiana Prada de Camargo Colenci por ter abraçado a idéia do projeto e auxiliado de forma indireta e diretamente doando um espaço em seu consultório para realização das coletas.

À profa. Dra. Teruê Sadatsume pela constante torcida, pelas brincadeiras, pelo carinho que demonstrou durante todos os anos de convivência. Sempre será A Professora Teruê, pra mim.

À Thais Aline Monteiro Pereira e a Paula Maria da Silva Monteiro Pereira, por serem meus anjos da guarda durante todo o projeto, colocando as minhas necessidades acima das delas, muitas vezes, para que o número de amostras fosse obtido e o trabalho concluído.

À Thais Alves Barbosa, por ser a melhor amiga que a pós-graduação me deu. Por sua prontidão em ajudar, seu carinho e alegria contagiante no laboratório. Você mora no meu coração!

À Camila Sena Martins de Souza, por ser a mesma pessoa querida de sempre, mesmo não convivendo mais diariamente comigo. Sua alegria me faz muita falta!

À Monica Luzia Leonel e Camila Lopes de Andrade, por fazerem meus dias fora do laboratório sempre muito divertidos. Pela amizade de tantos anos e pela cumplicidade. É muito bom saber que eu tenho vocês na minha vida!

Aos colegas de laboratório, Ana Cláudia Moro, Elka Ferreira, Lucas Porangaba da Silva, Mariana Poianas Silva e Carolina Destro de Angelis por toda cumplicidade, alegria e momentos de descontração durante nossos dias de trabalho.

Aos queridos funcionários do Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Biociências de Botucatu, Larissa Ragozo, Luiz Alquati, Ivana Castilho, Aline Missio, Rafael Capra, Silvia Helena Ferreira, Luiz dos Santos e Ana Claudia Acerra por tornarem o meu dia-a-dia mais leve e feliz. Obrigada por toda ajuda sempre que precisei!

À secretária da Pós-graduação da Faculdade de Medicina de Botucatu, Bruna Quirino Jorgetto, por estar sempre disposta a me ajudar e por toda paciência e consideração demonstrada ao longo do doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio disponibilizado, essencial para a realização desse trabalho.

Finalmente, gostaria de expressar meus sinceros agradecimentos a todos que contribuíram direta ou indiretamente para realização desse trabalho. Na impossibilidade de nomear cada um, deixo aqui meu reconhecimento e gratidão a todos.

Muito obrigada!

*“A educação é a arma mais poderosa que você
pode usar para mudar o mundo.”*

Nelson Mandela

RESUMO

Infecções causadas por *Staphylococcus aureus* representam um dos principais problemas de saúde pública, com elevadas taxas de morbidade e mortalidade principalmente entre indivíduos com deficiência de sistema imunológico como os diabéticos, em especial aqueles que fazem uso diário de insulina. Além da alta patogenicidade e facilidade de aquisição de resistência aos antimicrobianos, o patógeno tem grande habilidade de colonizar indivíduos de forma assintomática, favorecendo sua disseminação e tornando esses indivíduos fonte de risco para infecções. O estudo teve como objetivo analisar a prevalência e fatores de risco para o carreamento nasal e orofaríngeo, bem como caracterizar o perfil de resistência, virulência e tipagem molecular de *S. aureus* sensível à meticilina (MSSA) e *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA) isolados de indivíduos diabéticos insulino-dependentes do município de Botucatu, SP. *S. aureus* foram obtidos da nasofaringe e orofaringe de 312 indivíduos diabéticos insulino-dependentes da comunidade e analisados quanto à presença do gene *mecA*, genes das enterotoxinas (*sea*, *seb*, e *sec-1*), esfoliatinas A e B (*eta* e *etb*), toxina 1 da síndrome do choque tóxico (*tst*), leucocidina Pantón–Valentine (*pvl*), hemolisinas alfa (*hla*) e delta (*hld*) e biofilme (operon *icaADBC*) através da técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR) e a tipagem do SCC*mec* através de PCRmultiplex. O perfil de sensibilidade à oxacilina, cefoxitina, linezolida, quinupristina/dalfopristina e sulfametoxazol/trimetoprim foi realizada pelo método do disco-difusão e a concentração inibitória mínima (CIM) de vancomicina foi determinada pelo método do *E-test*. A tipagem molecular dos isolados foi identificado através da técnica de PFGE (*Pulsed Field Gel Electrophoresis*) e pela técnica de MLST (*Multilocus Sequence Typing*). Para análise dos fatores de risco foi aplicado um questionário contendo dados demográficos e clínicos que posteriormente foram analisados por modelo de regressão logística para determinar fatores de risco associados ao carreamento de *S. aureus* MRSA. A prevalência de colonização global de *S. aureus* e MRSA foi de 30,4% e 4,8%, respectivamente. Dos 112 isolados de *S. aureus*, 15 tinham o gene *mecA*, sendo que 10 carream o SCC*mec* do tipo IV, três carream o SCC*mec* do tipo I e dois isolados carream o SCC*mec* do tipo II. Dos 15 isolados resistentes (MRSA), sete apresentaram

sensibilidade à oxacilina e quatro apresentaram sensibilidade à cefoxitina pelo método de disco-difusão. Nenhum dos isolados de *S. aureus* apresentou resistência à linezolida, quinupristina/dalfopristina e vancomicina, enquanto que um isolado de MSSA, apresentou resistência à sulfametoxazol/trimetoprim. A análise dos fatores de risco para carreamento de *S. aureus* revelou associação negativa com idade e doença pulmonar, enquanto que úlcera de membros inferiores foi fator de risco. Para carreamento de MRSA apenas o sexo masculino foi associado significativamente como fator de risco na análise multivariada. Quanto à análise do perfil de virulência notou-se alto potencial patogênico tanto de isolados de MSSA quanto de MRSA, com maior prevalência de genes relacionados à produção de biofilme (genes *icaA* e *icaD*), enterotoxina A (gene *sea*) e as hemolisinas alfa (gene *hla*) e delta (gene *hld*). Não foram encontrados isolados carreando os genes da esfoliatina B e *pvl*. A tipagem molecular demonstrou a formação de *clusters* entre isolados MRSA de pacientes diferentes com presença de ST5 e ST8. Entre os MRSA e MSSA foram identificados isolados carreando o ST398, sugerindo disseminação dessa linhagem entre a população do estudo. Nossos achados reforçam a importância de estudos epidemiológicos de colonização, principalmente em populações de risco aumentado para infecções, como é o caso dos diabéticos, uma vez que além da alta prevalência de MRSA, notou-se também isolados sensíveis virulentos colonizando a mucosa nasal e garganta desses indivíduos, fato que pode contribuir para transmissão, aumento do risco de infecções graves e dificuldade no tratamento.

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus*, resistência, virulência, diabetes mellitus, perfil clonal, PFGE, MLST.

ABSTRACT

Infections caused by *Staphylococcus aureus* is a major public health problem and infections with this microorganism are associated with high morbidity and mortality rates, especially among individuals with immune deficiency disorders such as diabetes and particularly those who take insulin daily. In addition to its high pathogenicity and ability to acquire antimicrobial resistance, asymptomatic infection with this pathogen is common, favoring its dissemination and rendering these individuals a source of infection. The objective of this study was to analyze the prevalence and risk factors for nasal and oropharyngeal carriage, as well as to characterize the resistance profile, virulence, clonal profile and sequence type of methicillin-susceptible (MSSA) and methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) isolated from insulin-dependent diabetic individuals in the city of Botucatu, SP, Brazil. *Staphylococcus aureus* was collected from the nasopharynx and oropharynx of 312 community insulin-dependent diabetic individuals. The isolates were analyzed for the presence of the *mecA*, enterotoxin (*sea*, *seb* and *sec-1*), exfoliatin A and B (*eta* and *etb*), toxic shock syndrome toxin 1 (*tst*), Panton-Valentine leukocidin (*pvl*), alpha and delta hemolysin (*hla* and *hld*), and biofilm (*icaADBC* operon) genes by the polymerase chain reaction (PCR). SCC*mec* typing was performed by multiplex PCR. The susceptibility profile against oxacillin, cefoxitin, linezolid, quinupristin/dalfopristin and sulfamethoxazole/trimethoprim was evaluated by the disc diffusion method, and the minimum inhibitory concentration (MIC) for vancomycin was determined by the E-test. The clonal profile of the isolates was characterized by pulsed field gel electrophoresis (PFGE) and multilocus sequence typing (MLST) was used to obtain the sequence types of the isolates. The risk factors associated with *S. aureus* and MRSA carriage were determined by applying a questionnaire containing demographic and clinical data and subsequent logistic regression analysis. The overall prevalence of colonization with *S. aureus* and MRSA were 31.45% and 4.81%, respectively. Fifteen of the 112 *S. aureus* isolates carried the *mecA* gene; SCC*mec* type IV was identified in 10 isolates, SCC*mec* type I in three, and SCC*mec* type II in two. Among the 15 resistant isolates (MRSA), seven were susceptible to oxacillin and four to cefoxitin by the disc diffusion method. None of the *S. aureus* isolates was resistant to linezolid, quinupristin/dalfopristin or vancomycin,

whereas one MSSA isolate was resistant to sulfamethoxazole/trimethoprim. The analysis of risk factors revealed a negative association with age and lung disease, while leg ulcers were a risk factor for *S. aureus*. For MRSA, only male gender was significantly associated as a risk factor in multivariate analysis. Evaluation of the virulence profile showed a high pathogenic potential of both MSSA and MRSA isolates, with a higher prevalence of biofilm production (*icaA* and *icaD*), enterotoxin A (*sea*), and alpha and delta hemolysin (*hla* and *hld*) genes. None of the isolates carried the exfoliatin B or *pvl* gene. Clonal profile analysis demonstrated the formation of clusters among MRSA isolates from different patients, with the identification of ST5 and ST8. Isolates carrying ST398 were identified among MSSA and MRSA, suggesting dissemination of this lineage in the population studied. Our findings reinforce the importance of epidemiological studies of *S. aureus* colonization, especially in populations at high risk of infections such as diabetics. In addition to the high prevalence of MRSA, virulent susceptible isolates were found colonizing the nasal mucosa and throat of these individuals, a fact that may contribute to transmission, increase the risk of severe infections, and compromise treatment.

Key-words: *Staphylococcus aureus*, resistance, virulence, diabetes mellitus, clonal profile, PFGE, MLST

Lista de tabelas

Tabela 1. Prevalência de colonização por <i>S. aureus</i> em pacientes com Diabetes melittus (DM) em diferentes estudos.....	10
Tabela 2. Prevalência de colonização por <i>S. aureus</i> resistentes à meticilina (MRSA) em pacientes com Diabetes melittus (DM) em diferentes estudos.....	10
Tabela 3. Caracterização do população de diabéticos insulino-dependentes incluídos no estudo (ANEXO III).....	78

SUMÁRIO

1. Introdução	06
2. Justificativa	12
3. Objetivos	13
3.1 Objetivo geral.....	13
3.2 Objetivos específicos.....	13
4. Referências	14
5. Apresentação da tese	19
5.1 Artigo I.....	20
5.2 Artigo II.....	49
6. Conclusões	75
Anexo I	76
Anexo II	77
Anexo III	94
Anexo IV	96
Anexo V	97

1. Introdução

Staphylococcus aureus é reconhecidamente um importante patógeno relacionado tanto a infecções hospitalares quanto comunitárias, com elevada taxa de morbidade e mortalidade, representando um dos maiores problemas clínicos e epidemiológicos em infecções relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS).^{1,2}

As infecções por *S. aureus* atingem desde tecidos superficiais até os mais profundos quando penetram pelas barreiras naturais, podendo estar associados à doença de pele e tecidos moles, ou às infecções sistêmicas graves como endocardites, pneumonia, meningite, síndrome do choque tóxico e sepse que podem levar à morte.³⁻⁵

O fato de o patógeno ser tão bem-sucedido em sua disseminação e patogenicidade está relacionado com numerosos fatores de virulência expressos pela bactéria, os quais possibilitam a adesão à superfície, danos celulares, ou evasão do sistema imune somados a uma grande habilidade de adaptação e desenvolvimento de resistência a antimicrobianos.^{2,6}

A adesão às superfícies celulares é realizada através de diversas adesinas, proteínas ancoradas à parede celular, denominadas MSCRAMMs (*Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules*) que reconhecem componentes da matriz extracelular e do plasma sanguíneo do hospedeiro incluindo fibrinogênio, fibronectina, fibroblasto e colágeno.^{7,8} Além disso, *S. aureus* expressa um grande número de enzimas como nucleases, proteases, lipases, hialuronidase e colagenase, as quais convertem o tecido hospedeiro local em nutrientes para o crescimento bacteriano.⁹

Dentre os diversos fatores de virulência produzidos por *S. aureus*, destacam-se as toxinas estafilocócicas, as quais podem ser subdivididas em agentes com atividade citolítica como as hemolisinas (alfa, beta, gama, delta) e a leucocidina de Pantone-Valentine (PVL) que promovem a abertura de poros na membrana plasmática das células, causando vazamento do conteúdo celular e lise¹⁰⁻¹² e as exotoxinas com propriedade de superantígeno, que incluem a toxina da Síndrome do Choque Tóxico (TSST-1), as enterotoxinas estafilocócicas (SEs) que são associadas a quadros de intoxicação alimentar, denominadas de A-E, G-I, R, S e T e as toxinas esfoliativas (ETs) denominadas A e B, ligadas a Síndrome da Pele Escaldada.¹³⁻¹⁵

Outro determinante de virulência importante é sua capacidade de produzir um polissacarídeo extracelular (biofilme) que possibilita a aderência da bactéria sobre superfícies plásticas e lisas, como cateteres, válvulas cardíacas, marcapassos e próteses

articulares. A produção desse polissacarídeo denominado “*Polysaccharide Intercelular Adhesin*” (PIA), é mediada por genes organizados em uma estrutura operon denominada “*intercelular adhesion*” (*icaADBC*). O biofilme confere proteção contra os mecanismos de defesa do hospedeiro e agentes antimicrobianos¹⁶⁻¹⁹

Na década de 1940, a penicilina foi introduzida no tratamento para as infecções causadas por *S. aureus*. Entretanto, 20 anos depois, 80% dos isolados eram resistentes à droga, por ação das β -lactamases que inativam a penicilina pela ruptura do anel β -lactâmico.¹⁰Foi então introduzida a meticilina, primeira penicilina semissintética que não era susceptível a ação das β -lactamases, e apenas um ano depois, a primeira cepa resistente, denominada *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), foi isolado no Reino Unido. Desde então isolados MRSA tornaram-se uma das principais causas de infecções hospitalares em todo mundo²⁰.

A resistência à meticilina é determinada pelo gene *mecA*, localizado em um complexo genético móvel chamado *Staphylococcal Cassette Chromosome mec* (SCC*mec*). Esse gene (*mecA*) codifica para modificações no receptor do β -lactâmico, estimulando a produção de uma proteína ligadora de penicilina (PBP 2a ou PBP 2') com baixa afinidade pelo antibiótico, resultando em resistência.^{21,22}As PBP's estão envolvidas na síntese da parede celular e muitos antimicrobianos atuam nessas proteínas, inativando a síntese completa da parede celular e consequentemente ocasionando a morte da bactéria.^{23,24}

Até o momento, foram descritos treze tipos de SCC*mec* para *S. aureus*, com base na combinação de dois complexos: o complexo *ccr* composto por três genes (*ccrA*, *ccrB* e *ccrC*) e o complexo *mec* que possui 6 classes (classe A, B, C1, C2, D e classe E).^{22,25}

Uma propriedade fundamental de *S. aureus* é sua habilidade de colonizar pessoas saudáveis de forma assintomática. As narinas anteriores são consideradas o sítio de colonização primária de *S. aureus*, sendo encontrados em aproximadamente 30% dos indivíduos²⁶. Esses indivíduos apresentam um maior risco de desenvolver infecções pela bactéria e são uma importante fonte de disseminação do patógeno, particularmente devido a um aumento da prevalência de MRSA.^{27,28}

Nos anos de 2001 e 2002, prevalência de carreamento nasal de 32,4% de *S. aureus* e 0,8% de MRSA foram encontradas em indivíduos com idade acima de um ano, em inquérito norte-americano de base populacional, *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES), utilizando uma amostra representativa da população

civil não institucionalizada dos Estados Unidos.^{29,30} Resultados similares foram obtidos em estudo também de base populacional realizado no Brasil, na cidade de Botucatu, SP, com prevalência de 32,7% de *S. aureus* e 0,9% de MRSA.³¹

Além das narinas, estudos revelam a presença de *S. aureus* no trato respiratório superior, como a faringe e as amígdalas.⁵ Em estudos conduzidos por Partida et al³², a colonização da garganta ocorreu com maior frequência do que a colonização das narinas. Esse fato pode prejudicar o controle da disseminação de *S. aureus*, uma vez que, a colonização da garganta pode escapar da triagem de rotina.

Estudos demonstram através da tipagem de *S. aureus* de sítios infectados que na maioria das vezes, o isolado clínico é o mesmo observado previamente na cultura das narinas, demonstrando que *S. aureus* na mucosa nasal serve de reservatório para colonização em outros sítios.³³

É reconhecido que pessoas que frequentemente usam agulhas, como para administração de insulina ou uso de drogas apresentam taxas maiores que outros indivíduos, variando de 24,1% a 76,4% e média de 56,4%.²⁶ Estudos demonstram que a taxa de colonização nasal por *S. aureus* é maior em pacientes diabéticos do que em não diabéticos²⁸, e que o diabetes mellitus é um importante fator de risco para a colonização e infecção por MRSA.

Infecções em indivíduos diabéticos são reconhecidas como causas frequentes de morbidade e mortalidade.^{34,35} Segundo a Federação Internacional do Diabetes, no ano de 2017 a prevalência global de portadores de diabetes Mellitus foi estimada em 374 milhões de pessoas, equivalendo à 7,7% da população mundial, com idades entre 18 e 99 anos. Ainda em 2017, aproximadamente 5 milhões de mortes foram atribuídas ao diabetes e suas complicações entre pessoas de 20 a 99 anos.³⁶ No Brasil, segundo dados do Ministério da Saúde, estima-se que existam cerca de 11 milhões de portadores de diabetes, sendo que 7,5 milhões já sabem que tem a doença.³⁷

O Diabetes Mellitus tipo 1 (DM1) acomete aproximadamente de 5-10% da população de diabéticos. Sua incidência varia de acordo com a geografia, sendo mais prevalente em alguns países europeus. No Brasil, a incidência é de sete pacientes a cada 100.000 habitantes. Os sintomas do diabetes mellitus tipo 1 surgem geralmente na infância e adolescência com o ataque do sistema imunológico sobre as células beta do pâncreas, fazendo com que pouco ou nenhuma insulina seja liberada, tornando os pacientes dependentes de insulino terapia por toda a vida.^{36,37}

Já a Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) ocorre com maior frequência em pessoas obesas com mais de 40 anos de idade embora na atualidade esteja sendo verificada com maior frequência em jovens, em virtude de maus hábitos alimentares, sedentarismo e stress. Neste tipo da doença encontra-se a presença de insulina, porém sua ação é dificultada pela obesidade, o que é conhecido como resistência insulínica, uma das causas de hiperglicemia. Por ser pouco sintomático, o diabetes, na maioria das vezes, permanece por muitos anos sem diagnóstico e sem tratamento o que favorece a ocorrência de suas complicações. Pessoas com diabetes tipo 2, muitas vezes pode gerenciar inicialmente sua condição através de exercícios e dieta. No entanto, ao longo do tempo a maioria das pessoas vai exigir drogas orais ou insulina^{36,37}

Pacientes diabéticos são mais susceptíveis às infecções persistentes, principalmente infecções de pele como as causadas por *S. aureus*, devido ao aumento dos níveis de glicose sanguínea e supressão da resposta imune. Além disso, é muito comum nesses pacientes, o surgimento de feridas de cicatrização lenta devido à presença de neuropatias e diminuição do fluxo sanguíneo nas extremidades do corpo.³⁸

Vários estudos documentaram um risco aumentado de infecções de pele e membranas mucosas de pacientes com diabetes³⁹⁻⁴², embora estes estudos possam ser criticados por causa da seleção não controlada dos pacientes. Para evitar o viés de seleção e de confundimento, Muller et al⁴³ realizaram um estudo de coorte prospectivo com acompanhamento dos pacientes por um período de 12 meses, incluindo 705 pacientes adultos que tinham DM1 e 6.712 pacientes adultos que apresentavam DM2 com 18.911 pacientes controle que tinham hipertensão sem diabetes. Os resultados mostraram que ambos os pacientes com DM1 e aqueles com DM2 apresentavam maior risco para infecções bacterianas de pele, sendo que pacientes com DM1 tinham um risco maior de recorrência. O maior risco no grupo DM1 pode ser explicado por uma frequência maior de carreadores de *S. aureus* encontrada em diabéticos insulino-dependentes. Muller et al⁴³ também verificaram que pacientes com DM1 e DM2 apresentaram maior risco de infecção do trato respiratório inferior, infecção do trato urinário e de membranas mucosas.

Taxas de colonização por *S. aureus* foram maiores em diabéticos tratados com insulina do que os pacientes não diabéticos em estudos de Smith et al⁴⁴ (54 vs 34%, RR= 1.6, $p<0,05$), Tuazón et al⁴⁵ (23 vs 4%, RR= 6.3, $p<0,05$) e Chandler e Chandler⁴⁶(53 vs 17%, RR= 3.2, $p<0,05$). Dados de outros estudos da prevalência de *S.*

aureus e MRSA em pacientes diabéticos podem ser verificados na Tabela 1 e Tabela 2, respectivamente.

Tabela 1. Prevalência de colonização por *S. aureus* em pacientes com Diabetes melittus (DM) em diferentes estudos.

Autores	Local do estudo	Ano	Prevalência de <i>S. aureus</i> em DM (%)
Lipsky et al ⁴⁸	Seattle (EUA)	1987	30,5
Boyko et al ⁴⁹	Seattle (EUA)	1889	34,1
Ahluwalia et al ⁵⁰	Índia	2000	56,6
Graham et al ⁵¹	New York (EUA)	2006	30,2
Tamer et al ⁵²	Turquia	2006	35,3
Kutlu et al ⁵³	Turquia	2012	41,9
Alizargar et al ⁴⁷	Iran	2013	42,5

Fonte: Alizargar et al⁴⁷

Tabela 2. Prevalência de colonização por *S. aureus* resistentes à metilina (MRSA) em pacientes com Diabetes melittus (DM) em diferentes estudos.

Autores	Local do estudo	Ano	Prevalência de MRSA em DM (%)
Hidron et al ⁵⁴	Atlanta (EUA)	2005	10,2
Duran et al ⁵⁵	Turquia	2006	0
Graham et al ⁵¹	New York (EUA)	2006	2,4
Baykan et al ⁵⁶	Turquia	2009	3,8
Kutlu et al ⁵³	Turquia	2012	9,9
Alizargar et al ⁴⁷	Iran	2013	24,7

Fonte: Alizargar et al⁴⁷

As características associadas à colonização por *S. aureus* não são bem definidas. Algumas evidências sugerem que hospitalização recente pode aumentar a incidência de colonização nasal por *S. aureus*.⁴⁸ Outro fator potencialmente associado com colonização por *S. aureus* é o uso repetido de injeções com agulhas para a terapia com insulina. No entanto, alguns estudos sugerem que este não é o caso.^{46, 48, 57}

Estudo realizado por Alizargar et al⁴⁷ encontrou somente a terapia com insulina como fator de risco significativo para colonização por MRSA ($p < 0.05$), sendo que de 191 pacientes com a terapia com insulina, 95 (49,7%) estavam colonizados com MRSA.

Berman et al⁵⁷ em estudo para determinação da taxa de colonização por *S. aureus* e MRSA em usuários de droga intravenosa (IV), não usuários de droga IV, indivíduos submetidos à diálise e diabéticos verificaram que esses grupos apresentaram a mesma taxa de colonização por *S. aureus* encontrada em não usuários de droga IV e estudantes de medicina. Entretanto, MRSA foram isolados de 40 (29,2%) de 137 usuários de droga IV, 7(5,6%) de 124 não usuários de drogas IV, 5(22,7%) de 22 pacientes em diálise, 6 (18,2%) de 33 diabéticos e 3 (5,2%) de 58 estudantes de medicina. A diferença na colonização por MRSA entre usuários de droga IV e não usuários foi altamente significativa ($p < 0,01$).

Pacientes diabéticos insulino-dependentes e pacientes em diálise também exibiram taxas maiores de colonização com MRSA do que não usuários de droga IV. Segundo os autores estes resultados sugerem que o uso de agulhas não é um fator de risco para aquisição de *S. aureus*, e a alta taxa de MRSA entre usuários de droga IV já era esperada por causa das altas taxas de infecções por MRSA, adquiridas na comunidade, entre os usuários de droga IV recebidos no hospital de estudo, enquanto nos pacientes em diálise e nos diabéticos é possível que esses pacientes fossem tratados com antibióticos mais frequentemente que a população geral.⁵⁷

Em um estudo realizado por Onanuga & Temedie et al⁵⁸, a múltipla resistência em isolados de narinas anteriores de pacientes diabéticos foi de 52,5% e, em estudo de Kutlu et al⁵³ realizado em 2012, essa prevalência foi de 40% em diabéticos ambulatoriais. A alta resistência aos antimicrobianos em MRSA isolados de pacientes diabéticos também foi verificada por Alizargar et al⁴⁷ em estudo realizado no Irã, com taxa de resistência à eritromicina, ciprofloxacina, claritromicina de 81,9%, 71,3% e 65,5% e taxa de multiresistência de 59%. Duas amostras de *Staphylococcus aureus* resistentes à vancomicina (VRSA) foram isoladas nesse estudo⁴⁷. Outro VRSA isolado de paciente diabético também foi isolado no Irã em 2012⁵⁹ e em 9 dos 13 isolados de VRSA relatados desde 2002 nos Estados Unidos.^{60,61} Esses resultados evidenciam a importância de outros estudos para a pesquisa de resistência à vancomicina em *S. aureus* isolados de diabéticos.

Conclusões

- A prevalência de colonização por MRSA foi maior em indivíduos diabéticos quando comparada à população saudável;
- Foram encontrados isolados de *S. aureus* e MRSA colonizando exclusivamente a garganta, fato que indica a importância da inclusão desse sítio de coleta em estudos de prevalência de carreamento desse microrganismo;
- Alguns isolados de MRSA apresentaram sensibilidade à oxacilina e cefoxitina;
- Prevalência de SCCmec tipo IV entre os MRSA isolados de diabéticos;
- Elevado potencial patogênico de MSSA e MRSA ressalta a importância dos MSSA em relação à gravidade das infecções.
- Nenhum *S. aureus* apresentou resistência à vancomicina, linezolida e quinupristina/dalfopristina.
- Clusters de MRSA e MSSA entre isolados provenientes de indivíduos diferentes sugere disseminação entre os diabéticos;
- A maioria dos MRSA foi tipada como ST5-SCCmecTipo IV e ST8-SCCmec Tipo IV.
- Importante linhagem patogênica ST398 foi tipada entre MRSA e MSSA;
- Alguns indivíduos eram colonizados na mucosa nasal e orofaríngea com diferentes cepas de *S. aureus*;
- A idade e doença pulmonar foram associados negativamente ao carreamento de *S. aureus* em indivíduos diabéticos insulino-dependentes;
- Apenas úlcera de membros inferiores foi associada como fator de risco para colonização por *S. aureus*;
- O sexo masculino foi associado como fator de risco para carreamento de MRSA.