

MARIA CLARA PADOVEZE

**ESTUDO DAS INFECÇÕES HOSPITALARES EM
PACIENTES COM HIV/AIDS HOSPITALIZADOS E DA
COLONIZAÇÃO NASAL POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*
EM PACIENTES COM O HIV/AIDS NÃO
HOSPITALIZADOS**

CAMPINAS

2004

MARIA CLARA PADOVEZE

**ESTUDO DAS INFECÇÕES HOSPITALARES EM
PACIENTES COM HIV/AIDS HOSPITALIZADOS E DA
COLONIZAÇÃO NASAL POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*
EM PACIENTES COM O HIV/AIDS NÃO
HOSPITALIZADOS**

**Tese de Doutorado apresentada à Pós-Graduação da
Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual
de Campinas para obtenção do Título de Doutor em
Clínica Médica, área de concentração em Ciência Básica.**

Orientadora: Prof. Dra. Maria Luiza Moretti

Co-orientador: Prof. Dr. Rogério de Jesus Pedro

CAMPINAS

2004

Banca Examinadora da Defesa de Tese de Doutorado

Orientador(a): *Profa. Dra. Maria Luíza Moretti*

Membros:

1. Prof(a). Dr(a). Maria Luíza Moretti

Luíza

2. Prof(a). Dr(a). Sílvia Figueiredo Costa

Sílvia F. Costa

3. Prof(a). Dr(a). Newton José Fernandes Cavalcante

N. J. F. Cavalcante

4. Prof(a). Dr(a). Ana Teresinha Tresoldi

A. T. Tresoldi

5. Prof(a). Dr(a). Marcelo de Carvalho Ramos

Marcelo de Carvalho Ramos

**Curso de Pós-Graduação em Clínica Médica, área de concentração Ciências Básicas,
da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.**

Data: 13/12/2004

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho
aos indivíduos que convivem com o HIV/Aids.

Agradeço a Deus pela minha vida.

Agradeço aos pacientes que contribuíram com este estudo, demonstrando que se interessam não apenas pelo seu benefício pessoal, mas pelo benefício coletivo, através da ampliação dos conhecimentos científicos.

A Profa. Dra. Maria Luiza Moretti, profissional dedicada e que tem a característica de impulsionar os seus alunos para a participação em pesquisas, de modo agradável e amigo.

Ao Prof. Dr. Rogério de Jesus Pedro, pela postura amigável e discussões objetivas e proveitosas na elaboração do projeto e no desenvolvimento da análise dos resultados.

A todos os colegas da Unidade de Pesquisa Clínica, em especial a Maria Benedita Candido da Silva (Lia) que realizou parte das coletas de espécimes e a enfermeira Creuza Gimenes dos Santos pela colaboração em diversas situações.

A Dulcinéa Blum-Menezes e Orlando José Bratfich, que realizaram as análises de Pulsed-Field Gel Electrophoresis com extrema qualificação profissional.

Aos colegas do laboratório de microbiologia do HC-UNICAMP, em especial a Marizete Salvadego, Francisca das Flores Padovani Barteir (Flor) e Ângela Von Nowakonski pela colaboração no esclarecimento de dúvidas, revisão de identificação de amostras e resultados de teste de sensibilidade, quando necessário.

A Ângela Fernandes de Oliveira, que contribuiu nas primeiras etapas de semeadura e identificação de amostras.

Aos colegas do Laboratório de Doenças Transmissíveis e Epidemiologia Molecular pela agradável convivência e apoio em diversas tarefas, em especial ao Rogério Kuboyama pelas orientações no manuseio do software Biogene.

A Maria Marilene Rogante, colega de trabalho pela compreensão nas ausências que se fizeram necessárias em algumas etapas deste trabalho, bem como pela atitude de coleguismo e companheirismo que fazem parte da sua característica profissional.

Aos colegas Maristela Pinheiro Freire e Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza, pela disposição em discutir aspectos deste trabalho.

Ao Breno Luís Defantti, pela colaboração na busca e cópias de parte dos periódicos utilizados nesta pesquisa.

Ao Célio Fonseca Barbosa, meu marido, pelo apoio em todos os momentos.

Aos meus filhos João e Pedro, por existirem.

A meus pais, Aurora e João (*in memoriam*) pela educação que me proporcionaram e os exemplos de honestidade, trabalho e dedicação.

	PÁG.
RESUMO.....	<i>xxix</i>
ABSTRACT.....	<i>xxxiii</i>
1- INTRODUÇÃO.....	37
1.1- Infecções Hospitalares.....	39
1.2- Infecções Hospitalares em pacientes com HIV/Aids.....	40
1.3- Colonização por <i>S. aureus</i> como fator de risco para aquisição de infecções pelos pacientes com HIV/Aids.....	42
1.4- Aquisição de cepas de <i>S. aureus</i> resistentes aos antibióticos pelos pacientes com HIV/Aids.....	47
1.5- Métodos de tipagem como instrumento no esclarecimento de aspectos epidemiológicos da colonização e infecção por bactérias.....	48
1.5.1- "Pulsed-Field Gel Electrophoresis".....	49
1.6- Motivação do presente estudo.....	50
2- OBJETIVOS.....	53
2.1- Objetivo geral.....	55
2.2- Objetivos específicos.....	55
2.2.1- Fase I.....	55
2.2.2- Fase II.....	55
3- CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	57
3.1- Fase I.....	59
3.1.1- População de estudo.....	59
3.1.2- Coleta de dados.....	59

3.1.3- Análise estatística.....	60
3.2- Fase II.....	60
3.2.1- População de estudo.....	60
3.2.1.1- Critérios de inclusão.....	60
3.2.1.2- Critérios de exclusão.....	60
3.3- Metodologia aplicada.....	61
3.3.1- Seguimento dos pacientes.....	61
3.3.2- Coleta e identificação de espécimes para pesquisa de <i>S. aureus</i>	61
3.3.3- Tipagem do DNA genômico por PFGE.....	62
3.3.3.1- Análise da relação de identidade entre os isolados de <i>S. aureus</i>	63
3.3.4- Definição de tipo de colonização por <i>S. aureus</i>	64
3.3.5- Identificação de fatores associados com a colonização por <i>S. aureus</i>	65
3.3.6- Análise estatística.....	66
3.4- Consentimento do paciente.....	66
3.5- Conduta em relação à presença de colonização por <i>S. aureus</i>.....	67
4- RESULTADOS.....	69
4.1- Resultados da Fase I.....	71
4.1.1- Características da população estudada.....	71
4.1.2- Infecções Hospitalares e Utilização de Dispositivos Invasivos.....	73
4.1.3- Agentes etiológicos das Infecções Hospitalares.....	76
4.2- Resultados da Fase II.....	78
4.2.1- Características da População Estudada.....	78

4.2.2- Resultados da pesquisa de <i>S. aureus</i> em amostras de swab nasal.....	81
4.2.3- Análise do perfil genômico das amostras de <i>S. aureus</i>	83
4.2.4- Fatores associados à colonização nasal por <i>S. aureus</i>	90
5- DISCUSSÃO	95
6-CONCLUSÕES	107
7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	111
8- PUBLICAÇÕES ORIGINADAS POR ESTA TESE	125
9- APÊNDICES	129
Apêndice 1- Ficha de seguimento do paciente.....	131
Apêndice 2- Consentimento Pós-Informação para Pesquisas com Seres Humanos.....	139
Apêndice 3- Protocolo de extração e digestão de DNA para <i>S. aureus</i>	143
Apêndice 4- Número de semanas de acompanhamento de pacientes HIV-positivos ambulatoriais atendidos na UPC e resultados de pesquisa de colonização nasal por <i>S. aureus</i>	147

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Aids	Síndrome de Imunodeficiência Adquirida
BHI	Brain Heart Infusion
CCIH	Comissão de Controle de Infecção Hospitalar
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CHEF	Clamped Homogeneous Electric Field
CS	Coeficiente de Similaridade
CVC	Cateter Venoso Central
HC	Hospital das Clínicas
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana Adquirida
ICS	Infecção da Corrente Sanguínea
IH	Infecções Hospitalares
ITU	Infecção do Trato Urinário
MI	Enfermaria de Moléstias Infecciosas
MRSA	Methicillin-Resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
NNISS	National Nosocomial Infection Surveillance System
PCR	Polymerase Chain Reaction
PFGE	Pulsed-Field Gel Electrophoresis
PNEU	Pneumonia
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
UPC	Unidade de Pesquisa Clínica
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
VASC	Infecções do Acesso Vascular
VM	Ventilação Mecânica

	<i>Pág.</i>
Tabela 1 Diagnóstico de admissão em pacientes internados na Enfermaria de Moléstias Infecciosas do HC-UNICAMP, no período de fevereiro de 1998 a outubro de 1999, de acordo com a presença do HIV.....	72
Tabela 2 Frequência de Infecções Hospitalares (IH) em pacientes internados na Enfermaria de Moléstias Infecciosas do HC-UNICAMP, no período de fevereiro de 1998 a outubro de 1999, de acordo com a presença do HIV.....	73
Tabela 3 Frequência de utilização de dispositivos invasivos-dia em pacientes internados na Enfermaria de Moléstias Infecciosas do HC-UNICAMP, no período de fevereiro de 1998 a outubro de 1999, de acordo com a presença do HIV.....	74
Tabela 4 Frequência das Infecções da Corrente Sangüínea (ICS) em pacientes internados na Enfermaria de Moléstias Infecciosas do HC-UNICAMP, no período de fevereiro de 1998 a outubro de 1999, de acordo com a presença do HIV e o uso de Cateter Venoso Central (CVC).....	76
Tabela 5 Distribuição dos agentes etiológicos de Infecção da Corrente Sangüínea (ICS), Infecções do Trato Urinário (ITU) e Infecções Vasculares (VASC) em pacientes internados na Enfermaria de Moléstias Infecciosas do HC-UNICAMP, no período de fevereiro de 1998 a outubro de 1999.....	78

Tabela 6 Intervalo de tempo e Coeficiente de Similaridade (CS) de amostras entre as coletas de swab nasal de pacientes HIV-positivos ambulatoriais atendidos na Unidade de Pesquisa Clínica no período de março de 2000 a março de 2003, que apresentaram colonização nasal persistente combinada por <i>S. aureus</i>	88
Tabela 7 Resultado da pesquisa de colonização nasal por <i>S. aureus</i> pela ordem de coleta, Coeficiente de Similaridade (CS) de amostras e intervalo de tempo entre as coletas de swab nasal em pacientes HIV-positivos atendidos na Unidade de Pesquisa Clínica de março de 2000 a março de 2003, que apresentaram colonização nasal persistente múltipla.....	89

	Pág.
Quadro 1 Taxas de colonização por <i>S. aureus</i> em diferentes populações, segundo dados da literatura.....	44
Quadro 2 Taxas de colonização por <i>S. aureus</i> em pacientes HIV-positivos, segundo dados da literatura.....	46
Quadro 3 Características de pacientes HIV-positivos ambulatoriais atendidos na Unidade de Pesquisa Clínica no período de março de 2000 a março de 2003, de acordo com a colonização nasal por <i>S. aureus</i>	91
Quadro 4 Resultado da análise univariada de fatores de risco para resultado positivo para <i>S. aureus</i> para cada série de amostras de swab nasal coletado em pacientes HIV-positivos ambulatoriais atendidos na Unidade de Pesquisa Clínica de março de 2000 a março de 2003.....	94

	<i>Pág.</i>
Figura 1 Distribuição dos agentes etiológicos de Infecções Hospitalares (IH) em todas as localizações topográficas em pacientes internados na Enfermaria de Moléstias Infecciosas do HC-UNICAMP, no período de fevereiro de 1998 a outubro de 1999, de acordo com a presença do HIV.....	77
Figura 2 Distribuição da atividade de risco para aquisição do HIV em pacientes HIV-positivos ambulatoriais atendidos na Unidade de Pesquisa Clínica de março de 2000 a março de 2003.....	80
Figura 3 Distribuição do estadiamento da infecção pelo HIV em pacientes HIV-positivos ambulatoriais atendidos na Unidade de Pesquisa Clínica de março de 2000 a março de 2003.....	81
Figura 4 Taxas colonização nasal por <i>S. aureus</i> em pacientes HIV-positivos ambulatoriais atendidos na Unidade de Pesquisa Clínica de março de 2000 a março de 2003, de acordo com o número de amostras de swab nasal coletadas por paciente.....	83
Figura 5 Caracterização genômica de amostras de <i>S. aureus</i> obtidos de swab nasal de pacientes HIV-positivos ambulatoriais atendidos na Unidade de Pesquisa Clínica de março de 2000 a março de 2003.....	85
Figura 6 Caracterização genômica de amostras de <i>S. aureus</i> obtidos de swab nasal de pacientes HIV-positivos ambulatoriais atendidos na Unidade de Pesquisa Clínica de março de 2000 a março de 2003.....	86
Figura 7 Caracterização genômica de amostras de <i>S. aureus</i> obtidos de swab nasal de pacientes HIV-positivos ambulatoriais atendidos na Unidade de Pesquisa Clínica de março de 2000 a março de 2003.....	87

RESUMO

Pacientes com HIV/Aids são potencialmente uma população de maior risco para aquisição de Infecções Hospitalares (IH) quando comparados a outros grupos de pacientes hospitalizados. Dados da literatura indicam que a infecção mais comum nestes pacientes é a Infecção da Corrente Sanguínea (ICS) e o principal agente etiológico é o *Staphylococcus aureus*. O presente estudo desenvolveu-se em duas fases. Na primeira fase foi realizada uma avaliação das IH ocorridas em pacientes HIV-positivos comparando com pacientes HIV-negativos internados na Enfermaria de Moléstias Infecciosas (MI) do Hospital das Clínicas (HC) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Na segunda fase foi realizada a pesquisa de colonização por *S. aureus* em pacientes HIV-positivos atendidos ambulatorialmente na Unidade de Pesquisa Clínica (UPC) da Disciplina de Moléstias Infecciosas da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP. Foram coletadas três amostras de swab nasal em dias diferentes em pacientes sem história de internação prévia por até 2 anos antes do início do seguimento. As amostras de *S. aureus* obtidas da pesquisa de colonização nasal foram genotipadas utilizando-se a técnica de "Pulsed-Field Gel Electrophoresis" (PFGE). Potenciais fatores associados com a colonização nasal por *S. aureus* foram avaliados. Os resultados da Fase I revelaram que os pacientes HIV-positivos apresentaram maiores taxas de IH quando comparados com o grupo de controle. Os pacientes HIV-positivos foram submetidos a maior número de cateteres venosos centrais-dia e sondagens vesicais de demora-dia do que os pacientes HIV-negativos internados na mesma unidade. A localização topográfica mais freqüente foi a ICS e o principal agente etiológico identificado foi o *S. aureus*. A aquisição de *S. aureus* em pacientes HIV-positivos foi significativamente maior do que nos demais pacientes. Os resultados da Fase II demonstraram uma taxa de colonização nasal por *S. aureus* de 63,1% nos pacientes incluídos na pesquisa (70 em 111). Os padrões de colonização identificados foram: a) colonização ausente, com três amostras negativas (36%); b) colonização transitória, com apenas uma amostra positiva (25%) e c) colonização persistente, com duas ou três amostras positivas (39%). Utilizando técnica de PFGE, a colonização persistente foi subcategorizada em: c1) persistente simples, que apresenta o mesmo perfil genômico entre as amostras (24%); c2) persistente múltipla, que apresenta diferentes perfis genômicos entre as amostras (7%) e c3) persistente combinada, que apresenta duas amostras com perfil genômico idêntico e uma amostra com perfil genômico

diferente (8%). O fator de risco associado com a colonização nasal por *S. aureus* foi a classificação clínica e laboratorial de Aids, segundo os critérios do Centers for Disease Control and Prevention (CDC). O uso de antimicrobianos no momento da coleta ou até 6 meses antes foi associado com resultados negativos para a pesquisa de *S. aureus*. Não foram identificados fatores especificamente associados com os diferentes tipos de colonização identificados.

ABSTRACT

Patients with HIV/AIDS have potentially higher risk for Nosocomial Infection (NI) acquisition comparing other hospitalized groups of patients. In reviewing literature, the most common infection in these patients is the Blood Stream Infection (BSI) and the *Staphylococcus aureus* is the principal etiologic agent. The present study was developed in two phases. Phase I was developed at the Infectious Diseases Ward (IDW) in the Hospital das Clínicas (HC) from Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) evaluating NI developed among patients who were HIV-positive and comparing to NI developed among patients who were HIV-negative. Phase II objective was to study the *S. aureus* nasal colonization from HIV-positive outpatients without history of hospitalization within two years before the beginning of the follow-up of this study and was developed at the Unidade de Pesquisa Clínica (UPC) of de Infectious Diseases Department from UNICAMP. Three samples of nares swabs were collected in different days. The DNA profiles of the samples of *S. aureus* obtained from patients were analyzed by using Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE). Potential risk factors associated to the nasal colonization for *S. aureus* were accessed. Phase I results showed that HIV-positive patients had higher rates of NI than HIV-negative patients. The HIV-patients were more likely to have a central venous catheter or urinary catheter than HIV-negative patients cared for in the same ward. The most frequent NI site was the BSI and the *S. aureus* was the principal identified etiologic agent. HIV-positive patients were more likely to have *S. aureus* infection compared to the HIV-negative patients. Results from Phase II detected the presence of *S. aureus* nasal colonization in 70 of 111 enrolled HIV-patients (63,1%). Nasal colonization for *S. aureus* were classified as: a) absent: patients having three negative results, in 36% of the cases; b) transient: patients having one positive results, in 25% of the cases; and c) persistent: patients having two or three positive results, in 39% of the cases. By using PFGE, the last category were subdivided into: c1) simple persistent, patients having two or three positive samples with the same DNA profile, in 24% of cases; c2) multiple persistent, patients having positive samples with different profiles, in 7% of cases, and, c3) combined persistent, patients having two positive samples with the same profile and one positive sample with different profile, in 8% of cases. Clinical and laboratorial classification of AIDS, using Centers for Disease Control and Prevention (CDC) criteria, was identified as the risk factor for *S. aureus* nasal colonization.

The antibiotics use at the moment of collection of nasal swab or 6 months before were associated with negative results for *S. aureus*. No specific risk factors were associated with different types of colonization.

1- INTRODUÇÃO

1.1- Infecções Hospitalares

Infecções Hospitalares (IH) são aquelas adquiridas após a admissão do paciente e que se manifestam após a internação ou após a alta, quando puderem ser relacionadas com a internação ou procedimentos hospitalares (BRASIL, 1998).

Na metade da década de cinquenta, diante da emergência de cepas de estafilococos resistentes aos antibióticos disponíveis, os hospitais americanos e o Centers for Diseases Control and Prevention (CDC) passaram a desenvolver estratégias para o controle da epidemia por meio da organização de grupos de controle de infecção nos hospitais. Desde então, diversos estudos vêm sendo realizados, com o intuito de compreender o fenômeno, conhecer seus agentes etiológicos e fatores de risco associados.

No Brasil, não existem dados no âmbito nacional e o estudo mais abrangente conhecido é o de PRADÉ et al. (1995) que realizaram o "Estudo Brasileiro da Magnitude das Infecções Hospitalares em Hospitais Terciários", no qual foi desenvolvido um estudo de prevalência em hospitais terciários, identificando uma taxa de 15,5% de IH em 99 hospitais avaliados. Neste estudo de PRADÉ et al. (1995) os *S. aureus* corresponderam a 18,1% das IH cujo agente etiológico foi identificado; contudo apenas 1,0% das IH possuíam diagnósticos microbiológicos.

Particularmente no Hospital das Clínicas (HC) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), TRESOLDI et al. (1997) avaliaram a frequência relativa de microrganismos causadores de IH referentes ao período de 1987 a 1994 e encontraram como principais agentes etiológicos bactérias Gram-negativas. Dentre as bactérias Gram-positivas, o *S. aureus* foi o segundo agente mais frequentemente isolado e, no que se refere à etiologia de Infecções da Corrente Sanguínea (ICS), este foi o principal microrganismo isolado em hemoculturas, em 20% dos casos.

De modo geral, os fatores que predispõe a IH são os extremos de idade, extremos de baixo peso, doenças de base imunocomprometedoras e procedimentos invasivos. Entre outros pacientes com características de imunocomprometimento, os pacientes com HIV/Aids podem ser uma sub-população de risco para aquisição de IH.

1.2- Infecções Hospitalares em pacientes com HIV/Aids

Desde que a Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (Aids) foi descrita em 1981, tornou-se um importante problema de saúde pública, sendo a quarta causa de morte no mundo. Pacientes portadores do HIV podem representar uma população com risco aumentado de aquisição de IH devido às falhas em seu sistema imune e a necessidade de internações sucessivas.

HIRSCHHORN et al. (1996) citando estudo do CDC estimaram 225.000 pacientes HIV-positivos hospitalizados somente no ano de 1990, sendo apenas 1/3 destes indivíduos admitidos devido a infecção pelo HIV/Aids. Com o aumento da sobrevivência destes pacientes, a busca da assistência hospitalar e ambulatorial por indivíduos convivendo com o HIV tende a ser crescente. Supõe-se que há um aumento contínuo no número de hospitalizações de pacientes HIV-positivos adultos motivadas por outras causas que não a própria infecção pelo HIV.

Sendo assim, para esta sub-população somam-se aos tradicionais fatores de risco para IH, os riscos específicos como: a) neutropenia secundária ao uso de drogas para a infecção pelo HIV; b) flora microbiana alterada por esquemas profiláticos, que podem resultar em aumento da resistência aos antibióticos; c) imunodeficiência mediada pelo HIV; d) apresentações atípicas ou longos períodos de incubação, que podem levar a atraso no diagnóstico; e) reduzida resposta imunogênica à infecções primárias ou vacinação (DUSE, 1999; HIRSCHHORN et al., 1996).

Alguns pesquisadores observaram taxas de IH nesta população variando entre 8,7% a 15% do total das admissões (FRANK et al., 1997; GOETZ et al., 1994). De modo geral, as taxas de IH observadas nos pacientes HIV-positivos são maiores do que nas demais populações hospitalizadas.

GOETZ et al. (1994) em um estudo de 210 internações ocorridas em 72 pacientes HIV-positivos observaram uma taxa de 15,0% de IH, comparando-a com a taxa de 6,9% na taxa geral de IH no hospital. Este estudo mostrou que os principais fatores de risco da população HIV-positiva para aquisição de IH foram o uso de cateteres urinários, procedimentos gastrointestinais e acesso vascular.

Em um estudo multicêntrico, STROUD et al. (1997) detectaram uma taxa de IH de 6,1 por 1000 pacientes-dia em indivíduos HIV-positivos e compararam este achado com os dados obtidos no período de 1990 a 1994 do "National Nosocomial Infection Surveillance System" (NNISS), que contém informações referentes às IH em hospitais americanos, cujas taxas globais foram de 3,5 IH por 1000 pacientes-dia. Estes autores também concluíram que a população de indivíduos HIV-positivos apresenta taxas maiores de IH quando comparada com a população hospitalizada em geral.

Em São Paulo, no Hospital do Servidor Público, GRIMBAUM et al. (1998) observaram taxas de IH de 17,1% e 6,2 por 1000 pacientes-dia, em pacientes HIV-positivos. CAVALCANTE et al. (1998) identificaram taxas de IH no grupo de adultos soropositivos para HIV no Instituto de Infectologia Emílio Ribas que variaram entre 9,0 e 16,0%. CAVALCANTE (2000) cita dados deste mesmo hospital, em Unidade de Terapia Intensiva (UTI) no ano de 1996, quando a incidência de infecção primária da corrente sanguínea em pacientes HIV-positivos foi de 40,3%, enquanto a incidência desta mesma infecção foi de 10,9% em pacientes HIV-negativos.

As causas destas taxas aumentadas ainda não foram exatamente esclarecidas. Um importante aspecto a ser avaliado é a taxa de utilização de dispositivos invasivos, a qual reflete indiretamente a gravidade dos indivíduos expostos à assistência hospitalar.

STROUD et al. (1997) compararam as taxas de utilização de dispositivos em pacientes HIV-positivos internados em UTI com as taxas obtidas do estudo NNISS em UTI de clínica médica. Os pacientes HIV-positivos apresentaram maiores taxas de utilização de cateteres venosos centrais do que os pacientes observados pelo NNISS em UTI de clínica médica, porém as taxas de utilização de cateteres urinários foram menores e de utilização de ventilação mecânica foram iguais.

A localização topográfica mais frequentemente observada em pacientes HIV-positivos é a Infecção da Corrente Sanguínea (ICS), seguida das infecções de pele/ partes moles e das pneumonias.

Em um estudo prospectivo multicêntrico avaliando cateteres venosos centrais de longa duração e comparando grupos de pacientes com câncer e com HIV,

ASTAGNEAU et al. (1999) observaram maiores taxas de infecção nos pacientes HIV-positivos (31,6%) do que nos pacientes com câncer (5,0%).

As bactérias Gram-positivas são responsáveis pela maior parte das IH em indivíduos HIV-positivos. O estudo de FRANK et al. (1997) identificou os Gram-positivos como os agentes etiológicos de 51,7% das IH diagnosticadas em pacientes HIV-positivos no Hospital Geral de São Francisco. Estes dados são corroborados pelos estudos de GOETZ et al. (1994) e STROUD et al. (1997).

Dentre os Gram-positivos, diferentes estudos apontam o *S. aureus* como o principal agente etiológico de IH em indivíduos com o HIV/Aids e a ICS é a localização topográfica onde este agente é mais comumente identificado. A frequência com que o *S. aureus* é identificado como o causador de IH nestes pacientes varia de 21,0 a 34,0% (FRANK et al., 1997; GOETZ et al., 1994; STROUD et al., 1997).

Em estudo de DEGA et al. (1996), 40,0% das infecções associadas com cateter venoso totalmente implantável em pacientes com HIV foram causadas pelo *S. aureus*. O'DANIELS et al. (2000) avaliaram os fatores de risco de infecções relacionadas ao acesso venoso em pacientes HIV-positivos e identificaram uma taxa de 3,7 infecções por 1000 dispositivos vasculares-dia, cujo principal agente etiológico foi o *S. aureus*. CAVALCANTE et al. (1998) identificaram este agente como o microrganismo causador de ICS em 40,5% dos casos observados em adultos infectados pelo HIV. MUKAU et al. (1992) observaram que o *S. aureus* pode ser o agente etiológico em até 61% das infecções associadas a cateter em pacientes com Aids.

O acesso vascular central é considerado a principal porta de entrada dos *S. aureus* para a corrente sanguínea, por ser este um colonizador comum de pele (JACOBSON et al, 1988; FICHTENBAUM et al., 1995).

1.3- Colonização por *Staphylococcus aureus* como fator de risco para aquisição de infecções pelos pacientes com HIV/Aids.

O *S. aureus* é um habitante natural da flora da pele humana, presente em grandes populações em fossa ante-cubital, narina anterior e períneo. Também pode ser

encontrado na orofaringe, boca, vagina, trato intestinal, glândulas mamárias, porém em quantidades menores do que na pele (BOYD, 1995). O nicho ecológico do *S. aureus* é a narina anterior. Estudos demonstraram que esta é a área mais consistente em que este microrganismo pode ser isolado. Assim, a narina anterior é o sítio mais eficiente de coleta de espécimes com o propósito de triagem, pois é o reservatório primário em pessoas colonizadas por este microrganismo (KLUYTMANS et al., 1997; WENZEL et al., 1998).

Segundo KLUYTMANS et al. (1997), três padrões de colonização podem ser distintos:

- colonização persistente: 20% dos indivíduos carregam de maneira persistente a mesma cepa.
- colonização intermitente: aproximadamente 60% dos indivíduos apresentam colonização transitória, podendo variar as cepas carregadas em diferentes períodos.
- ausência de colonização: 20% de indivíduos que não apresentam colonização por *S. aureus*.

A colonização persistente é mais comum em crianças do que em adultos e muitas pessoas mudam seu padrão de colonização entre as idades de 10 e 20 anos. As razões para estes diferentes padrões de colonização são desconhecidas.

A prevalência e a incidência da colonização nasal varia de acordo com a população estudada, sendo que, na população geral, foram encontradas taxas em torno de 40,0% (KLUYTMANS et al., 1997) (Quadro 1). Diversos fatores têm sido associados com a colonização por *S. aureus*, dentre eles, podemos citar o *Diabetes mellitus*, o tratamento dialítico crônico, o uso de drogas endovenosas, as lesões crônicas de pele, receptores de transplante de fígado e a infecção pelo HIV (CHANG et al, 1998; KLUYTMANS et al, 1997; PIGNATARI et al, 1990). Um fator também possivelmente associado é o uso de tratamentos anti-alérgicos utilizando injeções (BASSETTI et al, 2001).

Quadro 1- Taxas de colonização por *S. aureus* em diferentes populações, segundo dados da literatura.

Tipo de população	Taxa de colonização	
	Média	Variação
Geral	32,0	19,0 - 55,1
Profissionais de saúde	26,6	16,8 - 56,1
Pacientes à admissão	35,7	10,2 - 85,0
Pacientes hospitalizados	29,8	14,3 - 52,5
Lesões de pele por <i>S. aureus</i>	65,9	42,0 - 100,0
<i>Diabetes mellitus</i>		
insulina-dependente	56,4	24,1 - 76,4
não insulina-dependente	29,0	11,1 - 35,0
controles	32,2	9,1 - 44,3
Diálise		
hemodiálise	51,5	30,1 - 84,4
CAPD	43,3	16,8 - 51,4
somente insuficiência renal crônica	21,1	14,3 - 33,3
Usuários de drogas		
endovenosa	55,2	33,8 - 61,4
não endovenosa	25,9	9,1 - 49,0
HIV/Aids		
Pacientes HIV-positivos	35,5	26,9 - 54,7
Controles (HIV-negativos)	20,9	17,2 - 30,8

Fonte: Adaptado de KLUYTMANS et al, 1997

Indivíduos infectados pelo HIV vêm sendo considerados como portadores comuns de *S. aureus* (CRAVEN, et al., 1996; KLUYTMANS et al., 1997; WEINKE et al., 1991). Contudo, as razões para as altas taxas de colonização por este microrganismo continuam indeterminadas. O Quadro 2 apresenta taxas de colonização por *S. aureus* em portadores de HIV, identificadas na literatura.

Os fatores de risco observados por WEINKE et al. (1991) para a colonização por *S. aureus* em 136 pacientes portadores de HIV foram: a doença sintomática (Aids), o uso de drogas endovenosas e hospitalização prolongada.

GANESH et al. (1989) avaliaram homossexuais do sexo masculino, sendo 47 infectados pelo HIV e 56 não infectados, e observaram que estes primeiros apresentaram maior incidência de *S. aureus*.

RAVIGLIONE et al. (1990) desenvolveram um estudo comparativo entre indivíduos hospitalizados para avaliar a frequência de colonização nasal por *S. aureus*, excluindo nesta avaliação os portadores clássicos deste agente (usuários de drogas endovenosas, pacientes com diabetes insulina-dependentes, pacientes renais crônicos em tratamento de hemodiálise e pacientes recebendo tratamento para alergia), em pacientes com e sem infecção pelo HIV. Estes autores encontraram uma frequência de *S. aureus* de 54,7% em pacientes com HIV comparada com 28,0% nos pacientes com outras doenças de base.

Alguns autores propuseram que defeitos imunológicos são a base para altas taxas de colonização em pacientes portadores de HIV (KLUYTMANS et al., 1997). Entretanto, a exata natureza destes defeitos necessita ser elucidada, avaliando o quanto o estágio da infecção pelo HIV influencia este fenômeno.

Uma vez a pele colonizada e na presença de cateteres vasculares, fatores de patogenicidade dos *Staphylococcus*, como por exemplo, a aderência às proteínas do hospedeiro, favorecem a fixação destes microrganismos ao cateter e sua conseqüente proliferação e infecção (NICASTRI et al., 2000; BISNO, 1995). A migração do *S. aureus* para o cateter pode ocorrer através do local da inserção ou pela manipulação dos dispositivos vasculares pela equipe de saúde (BISNO, 1995).

Quadro 2- Taxas de colonização por *S. aureus* em pacientes HIV-positivos, segundo dados da literatura.

Autor	Ano	População avaliada	Taxas de colonização
Ganesh et al	1989	47 homossexuais HIV-positivos	45%
		56 homossexuais HIV-negativos	27%
Raviglione et al	1990	64 pacientes internados HIV-positivos, não usuários de drogas	54%
		64 pacientes internados com outras doenças, não usuários de drogas	28%
Weinke et al	1992	136 pacientes internados HIV-positivos	44%
		47 trabalhadores saudáveis do hospital	23%
		39 pacientes internados com doenças crônicas	31%
Nguyen et al	1999	231 HIV-positivos ambulatoriais	26%
Martin et al	1999	265 pacientes ambulatoriais HIV-positivos	43%
Shapiro et al	2000	99 pacientes ambulatoriais HIV-positivos	36%
		50 militares hígidos	45%
Sissolak et al	2002	47 pacientes internados HIV-positivos internados, excluídos fatores clássicos de risco para <i>S. aureus</i>	43%
		123 pacientes internados HIV-negativos com outras doenças infecciosas, excluídos fatores clássicos de risco para <i>S. aureus</i>	24%
Villacian et al	2004	195 pacientes ambulatoriais HIV-positivos	23%

A colonização por *S. aureus* pode ser um fator determinante para IH, visto sua importância como agente etiológico de infecções associadas a dispositivos vasculares. WEINKE et al. (1991) investigaram 136 casos de pacientes infectados pelo HIV com o objetivo de identificar se a colonização por *S. aureus* pode ser considerado um fator de risco para bacteremia. Naquele estudo, 44,1% dos pacientes HIV-positivos foram

identificados como portadores de *S. aureus*, em comparação com 30,5% em pacientes com outras doenças crônicas e 23,4% em profissionais de saúde hígidos. Todos os casos de bacteremia apresentaram colonização prévia por *S. aureus*, sugerindo que a avaliação prévia da colonização pode ajudar a identificar pacientes sob risco de bacteremia por este agente.

1.4- Aquisição de cepas de *S. aureus* resistentes aos antibióticos pelos pacientes com HIV/Aids

O *S. aureus* produz muitas toxinas e é capaz de desenvolver resistência a todos os antibióticos disponíveis. Cepas de *S. aureus* oxacilina-resistentes foram descritas, inicialmente, em 1961 na Inglaterra, seguindo-se de outros relatos na Europa em 1965-1970, havendo um decréscimo nos anos de 1970 a 1975. Estas cepas, classicamente denominadas de MRSA (Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*) vêm se proliferando na epidemiologia hospitalar e há casos descritos na comunidade (AKRAM e GLATT, 1998; BOYCE, 1992; LAYTON et al., 1995; LEVINE et al., 1982; SARAVOLATZ et al., 1982; TROILLET et al., 1998). Para muitas cepas de MRSA, os glicopeptídeos, como a Vancomicina, são a última opção terapêutica. Entretanto, em 1997 uma cepa de resistência a Vancomicina foi identificada (TABAQCHALI, 1997).

Atualmente ocorre grande variação na prevalência dos MRSA entre os diversos países e, dentro dos mesmos, com diferenças de frequência de hospital para hospital, apresentando taxas que podem variar de 1,0 a 25,0% (BOYCE, 1991; BOYCE, 1992; LEPELLETIER e RICHET, 2001; RICHET et al., 1996; VANDENBROUCKE-GRALS, 1996). Entre pacientes hospitalizados e que se tornam colonizados por MRSA, estima-se que 30,0 a 60,0% poderão desenvolver infecções, sendo as mais frequentes as infecções cirúrgicas, bacteremias, infecções do trato urinário e pneumonias (BOYCE et al., 1994).

Como os pacientes HIV-positivos parecem ser mais propensos a adquirir cepas de *S. aureus*, uma vez admitidos em instituições com alta prevalência de MRSA serão mais facilmente colonizados pelas cepas resistentes.

Em estudo anterior desta pesquisadora, foi avaliada a incidência de colonização nasal por MRSA em 178 pacientes com Aids internados na Enfermaria de Moléstias

Infecciosas ou em atendimento em uma Unidade de Leito-Dia do HC-UNICAMP no período de dezembro de 1993 a dezembro de 1995 (PADOVEZE, 1998; PADOVEZE, 2001). No grupo de pacientes avaliados, 62 indivíduos (34, 8%) apresentaram pelo menos uma cultura positiva para MRSA. O estudo sugeriu que medidas para o controle de MRSA em unidades de internação devem considerar a influência de pacientes com atendimento intermitente em outros serviços de regime ambulatorial.

Poucos são os estudos que possam definir fatores de risco específicos para a aquisição de MRSA na população de indivíduos portadores do HIV. ONORATO et al. (1999) estudaram retrospectivamente pacientes com MRSA e portadores de HIV e concluíram que hospitalização prévia, uso de antibióticos, uso de cateter venoso central, presença de doença dermatológica e hospitalização prolongada foram as variáveis associadas com o risco para aquisição de infecções e colonizações por MRSA.

WEINKE et al. (1991) observaram que cepas multi-resistentes de *S. aureus* ocorreram com mais frequência em indivíduos infectados pelo HIV e portadores persistentes do que nos portadores intermitentes desta bactéria.

ALONSO et al. (1997) detectaram um surto de cepas de MRSA resistentes ao cotrimoxazol em unidade de atendimento à pacientes portadores de HIV e consideraram ser necessários maiores estudos a fim de investigar o potencial papel da profilaxia de *Pneumocystis carinii* no desenvolvimento destas cepas.

1.5- Métodos de tipagem como instrumento no esclarecimento de aspectos epidemiológicos da colonização e infecção por bactérias

Aspectos importantes em estudos de colonização nasal relacionam-se às características da população e a dinâmica das cepas colonizadoras de *S. aureus*. Entre as questões que necessitam ser esclarecidas estão as dúvidas quanto a se indivíduos persistentemente colonizados mantêm a mesma cepa ou se mudanças e substituições podem ser observadas ao longo do tempo. Ainda, se estas cepas responsáveis por colonizações persistentes possuem características genéticas diferentes daquelas identificadas em colonizações intermitentes.

Para responder estas e outras questões e melhor esclarecer a epidemiologia de agentes infecciosos, técnicas de tipagem fenotípicas e genotípicas podem ser empregadas. Estes métodos incluem: fagotipagem, análises de DNA plasmidial, “Pulsed-Field Gel Electrophoresis” (PFGE), “Polymerase Chain Reaction” (PCR) e ribotipagem, entre outros (BLANC et al., 1996; HARTSTEIN et al., 1995a, HARTSTEIN et al., 1995b; HARTSTEIN et al., 1997; JARVIS, 1994; PIGNATARI et al, 1990; SADER et al., 1993, SADER et al., 1994)

Dentre as técnicas empregadas, as análises baseadas em PCR ou PFGE podem ser aplicadas com sucesso, uma vez que estas técnicas atingiram um nível satisfatório de reprodutibilidade. Acrescenta-se a isto o fato de que permitem excelente grau de discriminação entre cepas não relacionadas, enquanto às ligadas epidemiologicamente são identificadas como sendo idênticas (BANNERMAN et al., 1995; HARTSTEIN et al., 1995a, HARTSTEIN et al., 1995b; HU et al, 1995; JORGENSEN et al., 1991; LAYTON et al., 1993; MULLIGAN e ARBEIT, 1991; NICOLLE et al., 1992; TENOVER et al., 1995; TENOVER et al, 1997).

1.5.1- "Pulsed-field Gel Electrophoresis"

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

O PFGE é um processo que utiliza campos elétricos que são ativados alternadamente, permitindo um realinhamento das moléculas de DNA, onde a separação de fragmentos das mesmas irá depender do seu peso molecular, sendo os de maior peso mais

lentos em relação aos de menor peso. A duração do tempo programado para cada campo elétrico atuar sobre a molécula de DNA é denominada de tempo de pulso. Um ângulo de reorientação é formado pelo ângulo agudo entre os campos elétricos alternados. O gradiente de voltagem, determinado em volts/centímetro, é o potencial elétrico aplicado ao gel.

No estudo anterior realizado pela pesquisadora utilizando a técnica de PFGE, pôde ser identificado um perfil predominante em 86,6% de 60 amostras coletadas de 33 pacientes com e sem Aids internados na Enfermaria de Moléstias Infecciosas ou acompanhados na unidade de Leito-Dia do HC-UNICAMP, sugerindo a disseminação cruzada entre estas duas unidades (PADOVEZE, 1998; PADOVEZE et al, 2001). Naquele estudo, isolados sequenciais de pacientes foram definidos como sendo idênticos em 11 casos e em três casos houve mudança do perfil genômico na última coleta obtida de cada paciente. O estudo citado identificou o grupo de pacientes HIV-positivos atendidos na Unidade de Leito-Dia como possíveis participantes na manutenção de cepas de MRSA na unidade de Moléstias Infecciosas.

1.6- Motivação do presente estudo

A avaliação das IH em pacientes com HIV/Aids hospitalizados no HC-UNICAMP permite compreender a magnitude das infecções por *S. aureus* em nosso meio.

Tendo em vista a prevalência de colonização nasal por MRSA no HC-UNICAMP, particularmente observada na Enfermaria de Moléstias Infecciosas e Unidade de Leito-Dia que atendem pacientes com HIV/Aids, a pesquisa de *S. aureus* em pacientes HIV-positivos ambulatoriais pode fornecer informações importantes sobre a presença destas cepas na comunidade.

A fim de evitar que a possível aquisição hospitalar possa induzir a viés na identificação de cepas de MRSA na comunidade é necessária a utilização de um critério rigoroso de exclusão de pacientes previamente hospitalizados.

O estudo da incidência e fatores de risco associados a colonização nasal por *S. aureus* em pacientes portadores do HIV não internados pode sugerir estratégias de

prevenção a serem adotadas para impedir que pacientes susceptíveis adquiram IH causadas por este agente. Além disto, a utilização de métodos de genotipagem por PFGE pode fornecer importantes subsídios para a compreensão da epidemiologia deste microrganismo.

2- OBJETIVOS

2.1- Objetivo Geral

Compreender o fenômeno das IH e a colonização nasal por *S. aureus* em paciente com HIV-Aids.

2.2- Objetivos Específicos

2.2.1. Fase I

- 1- Descrever as IH em pacientes admitidos na Enfermaria de Moléstias Infecciosas, comparando a densidade de incidência de infecção e taxas de utilização de dispositivos invasivos entre os pacientes HIV-positivos e HIV-negativos.
- 2- Identificar os principais agentes etiológicos de IH em pacientes admitidos na Enfermaria de Moléstias Infecciosas, comparando a ocorrência destes agentes entre os pacientes HIV-positivos e HIV-negativos.

2.2.2- Fase II

- 1- Determinar a incidência de colonização nasal por *S. aureus* em pacientes HIV-positivos não hospitalizados.
- 2- Analisar o perfil de susceptibilidade a oxacilina em amostras de colonização por *S. aureus* obtidas em pacientes HIV-positivos não hospitalizados.
- 3- Identificar os fatores de risco para a colonização nasal por *S. aureus* em pacientes HIV-positivos não hospitalizados.
- 4- Determinar o perfil genômico dos *S. aureus* responsáveis por colonização nasal em pacientes HIV-positivos não hospitalizados.

3- CASUÍSTICA E MÉTODOS

Foi desenvolvido um estudo prospectivo, observacional e descritivo na Fase I e estudo prospectivo, analítico, de coorte na Fase II.

3.1- Fase I

3.1.1- População de estudo

Foram avaliados prospectivamente quanto a presença de IH todos os pacientes internados na Enfermaria de Moléstias Infecciosas (MI) do Hospital das Clínicas (HC) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

A enfermaria de MI é localizada no sexto andar do HC e tem capacidade para 18 leitos, onde são hospitalizados pacientes com diferentes doenças infecto-contagiosas. A equipe médica e de enfermagem é a mesma para todos os pacientes internados, sem distinção de diagnóstico ou condição de isolamento, quando indicado.

Os pacientes foram classificados como sendo HIV-positivos ou HIV-negativos de acordo com resultados de sorologia obtidos durante o seguimento médico do paciente. Pacientes sem indicações clínicas ou históricas de suspeita de HIV e sem o status sorológico conhecido foram classificados como HIV-negativos.

3.1.2- Coleta de dados

A pesquisadora empreendeu visita diária à MI e realizou diagnóstico de infecção hospitalar utilizando os critérios padronizados pelo Centers for Disease Control and Prevention (GARNER et al., 1988). Todas as localizações topográficas foram consideradas, de acordo com o critério definido. Informações obtidas do prontuário e / ou diretamente com o médico e enfermeiros assistentes forneceram subsídios para a realização do diagnóstico. O diagnóstico das IH realizado pela pesquisadora fez parte das atividades de rotina da vigilância epidemiológica da Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) do HC da UNICAMP.

Diariamente foram identificados os pacientes submetidos a qualquer um dos seguintes dispositivos invasivos: a) ventilação mecânica (VM), b) sondagem vesical de demora (SVD), c) cateter venoso central (CVC).

3.1.3- Análise estatística

O software EPI INFO (Versão 6, CDC, Atlanta, Ga) foi utilizado para análise univariada e considerado o nível de significância de 5% ($p < 0.05$).

3.2- Fase II

3.2.1- População de estudo

Foram avaliados prospectivamente pacientes infectados com o vírus HIV, acompanhados ambulatorialmente na Unidade de Pesquisa Clínica (UPC). A amostra foi definida considerando-se a incidência estimada de 40% de colonização por *S. aureus* baseada nos dados de literatura e com erro assumido de 10%.

Na UPC os pacientes recebem avaliação médica e antiretrovirais são disponibilizados sempre que indicados. Coletas periódicas de sangue fazem parte do protocolo de atendimento de rotina nesta unidade.

3.2.1.1- Critérios de inclusão

Foram incluídos pacientes adultos portadores do HIV, confirmados por métodos de Elisa e Western Blot.

3.2.1.2- Critérios de exclusão

Foram definidos como critérios de exclusão da pesquisa os pacientes portadores de HIV, com as seguintes características:

- História de internação prévia maior do que 48 horas, dentro de dois anos, considerando a data de início do seguimento. O paciente que teve internação hospitalar durante o período de seguimento não foi excluído da pesquisa.
- História de processo infeccioso por *S. aureus* dentro de dois anos antes do início do seguimento.
- Vigência de processo infeccioso por *S. aureus* diagnosticado laboratorial ou clinicamente, até 14 dias após o início do seguimento.

3.3- Metodologia aplicada

3.3.1- Seguimento dos pacientes

A coleta de espécimes de *swab* nasal foi realizada três vezes para cada paciente, considerando a programação rotineira de retorno ao serviço. Como a programação de retorno foi variável para cada indivíduo, o seguimento dos pacientes foi realizado por período necessário para a coleta de três amostras em dias diferentes.

3.3.2- Coleta e identificação de espécimes para pesquisa *S. aureus*

A coleta foi realizada pela pesquisadora com a participação de uma colaboradora técnica de enfermagem. A identificação do material e os testes de susceptibilidade a oxacilina foram realizados pela pesquisadora com a colaboração dos técnicos do Laboratório de Microbiologia da Divisão de Patologia Clínica do HC-UNICAMP.

a.) *Swab* das narinas anteriores: foram colhidos *swabs* das narinas anteriores para identificação dos portadores nasais de *S. aureus* por ocasião do retorno programado, conforme especificado no item 3.2.1. Os *swabs* foram previamente umedecidos com solução salina e os espécimes coletados através de rotação suave de um mesmo *swab*

nas narinas anteriores (aproximadamente 1 cm) direita e esquerda cinco vezes (WENZEL et al., 1998). A semeadura foi feita imediatamente em tubo contendo meio líquido de "Brain Heart Infusion" (BHI). Posteriormente as amostras foram semeadas em placas de agar sangue a 5% e as colônias com morfologia compatível com *S. aureus* foram semeadas em Manitol Salt-Agar e identificadas por testes de catalase e presença do fator proteína A (Staph test) (KLOSS, et al., 1991).

Os isolados de *S. aureus* foram inoculados em alíquotas de 1,5 mL de leite desnatado a 10% estéril e congelados a -20°C até o momento da subtipagem molecular.

b.) Teste de susceptibilidade a oxacilina: a realização dos testes de susceptibilidade a oxacilina foi feita pelo método de difusão em disco (NCCLS, 1994). Para análise da sensibilidade dos *S. aureus* o padrão interpretativo foi a medida da zona de inibição de crescimento em milímetros, sendo considerado: sensível quando $\geq 13\text{mm}$; intermediário quando = 11-12mm e resistente quando $\leq 10\text{mm}$.

3.3.3- Tipagem do DNA genômico por PFGE

A tipagem do DNA genômico por PFGE foi realizada pela pesquisadora e seus colaboradores no laboratório de Epidemiologia Molecular e Doenças Transmissíveis, no Hospital das Clínicas, UNICAMP.

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

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

A preparação do DNA genômico foi descrita anteriormente por GOERING E DUENSING (1990) e adaptada por BRANCHINI et al. (1993). Isolados bacterianos são cultivados em BHI e incubados a 35° C por 12 horas. Após centrifugação, o concentrado de bactérias é lavado duas vezes com solução salina a 0,9%. A relação peso/volume desse concentrado é então equilibrada com solução de lise (tampão EC: 6 mM TRIS pH 7,5; 1M NaCl; 10 mM EDTA; 0,5% BRIJ 58; 0,2% desoxicholato de sódio; 0,5% N-lauroyl-sarcosine). São homogeneizados cinquenta e cinco microlitros da suspensão bacteriana adicionando de 450 microlitros de “low melt agarose” a 2% e dispensados em moldes. Os blocos de gel contendo o concentrado bacteriano são incubados por 24 horas a 37°C com 2 ml da mesma solução de tampão EC, adicionados de 50 microlitros de lisostafina e 10 microlitros de RNase, para formação de esferoplastos através da destruição da parede bacteriana e degradação de RNA. No dia seguinte, os blocos de agarose são lavados e reincubados a 50° C por 24 horas em solução ES (0.4 M EDTA pH 9,3; 1% n-lauroyl-sarcosine), para remover todos os componentes celulares indesejados, porém mantendo o DNA intacto. No próximo dia, os blocos são novamente lavados com solução TE de alta molaridade (100 mM TRIS pH 7,5; 100 mM EDTA pH 7,5). Para a digestão do DNA genômico por enzima de restrição, 1/2 de cada bloco é lavado com solução de TE de alta molaridade e incubado em 20 U de *SmaI* (GIBCO BRL, Life Technologies) à temperatura ambiente por 24 h. Após este período os blocos são lavados com solução de TE de baixa molaridade.

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

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

A relação entre dois isolados foi estimada pelo Coeficiente de Similaridade (CS), utilizando Coeficiente de Nei e Li, também chamado de Coeficiente de Dice, para

$CS = 2 \text{ nxy} / (\text{nx} + \text{ny})$, onde nx e ny são o número de bandas nas linhas "x" e "y" respectivamente e nxy é o número de bandas compartilhadas entre as duas linhas. Para realização do CS foi utilizado o software para windows Bio-Profil (Bio-Profil, Bio-Gene Windows Application v. 99.04).

Foram definidas como **cepas idênticas** as que apresentaram o mesmo padrão de bandas em número e peso molecular ($CS = 1$); **cepas relacionadas**, aquelas cujo padrão de bandas foi diferente do padrão principal encontrado devido a um evento genético por mutação, inserção, deleção ou inversão de DNA ($0,90 \leq CS < 1$). As cepas foram consideradas como **cepas diferentes** quando o padrão diferiu do padrão principal encontrado ($CS < 0,9$).

3.3.4- Definição de tipo de colonização por *S. aureus*

Colonização foi definida como a identificação do microrganismo em estudo, em espécimes coletados de pacientes, na ausência de sinais e sintomas ou resultados laboratoriais compatíveis com infecção.

O tipo de colonização nasal foi classificado da seguinte forma:

- a) **Colonização persistente:** identificação de *S. aureus* em 2 ou 3 amostras, consecutivas ou não.
- b) **Colonização transitória:** identificação de *S. aureus* em uma amostra.
- c) **Colonização indefinida:** interrupção do seguimento por desistência ou óbito.
- d) **Colonização ausente:** resultado negativo para *S. aureus* nas três amostras obtidas.

Através do perfil genômico das cepas colonizadoras determinado por PFGE, a colonização persistente foi sub-categorizada em:

- a.1.) **colonização persistente simples:** pacientes que apresentaram 2 ou 3 amostras com o mesmo perfil genômico.
- a.2.) **colonização persistente múltipla:** pacientes que apresentaram 3 amostras com perfis genômicos diferentes entre si ou pacientes que apresentaram 2 amostras com perfis genômicos diferentes entre si e 1 amostra negativa.

- a.3.) **colonização persistente combinada:** pacientes que apresentaram 2 amostras com perfis genômicos iguais entre si e 1 amostra com perfil genômico diferente destas duas.

3.3.5- Identificação de fatores associados com a colonização nasal por *S. aureus*

Foram coletadas e analisadas as seguintes informações sobre os pacientes (APÊNDICE 1):

- Dados de identificação: nome, número de registro de prontuário, idade, sexo, etnia, procedência, modo de residência.
- Tempo de confirmação diagnóstica de portador de HIV.
- Atividade de risco (homossexual, bissexual, usuário de droga, transfusão sanguínea, heterossexual, outros).
- Classificação de estadiamento da doença, de acordo com o critério do CDC, no momento de cada coleta. Considerou-se como Aids pacientes com estadiamento da doença nas categorias A3, B3, C1, C2 e C3.
- Presença de feridas abertas no momento da coleta.
- Se história de internação hospitalar em período maior do que 2 anos da data da coleta, tempo decorrido desde a última internação, motivo e local.
- Se história de internação hospitalar dentro do período de seguimento, tempo decorrido desde a última internação hospitalar antes da coleta de swab nasal, motivo e local.
- Uso de antimicrobiano dentro dos últimos 6 meses antes da coleta de swab nasal.
- Tempo decorrido desde o último atendimento em regime ambulatorial (exceto atendimento na UPC) e tipo de atendimento recebido (medicações injetáveis,

coleta de espécimes através de punções, terapêutica inalatória, exame invasivo ou não invasivo, curativos, outros).

- Medicamentos e antiretrovirais utilizados na data da coleta de swab nasal.
- Resultado de análise de carga viral, até 4 meses da data da coleta de swab nasal.
- Resultado de contagem de células CD4, até 4 meses da data da coleta de swab nasal.
- Doenças concorrentes no momento da coleta.

3.3.6- Análise estatística

Todos os testes foram conduzidos com o nível de significância de 5% ($p < 0.05$). Dados categóricos foram analisados utilizando teste de chi-quadrado ou teste exato de Fisher. Variáveis quantitativas foram analisadas utilizando teste de Kruskal Wallis. Fatores potencialmente associados com a presença de *S. aureus* foram comparados através de análise univariada. Análise multivariada através de regressão logística múltipla foi utilizada para determinar variáveis que influenciaram independentemente o resultado para *S. aureus*, a cada série de amostra coletada. O critério para entrada de variáveis no modelo de regressão logística foi o valor de $p < 0.10$ obtidos através da análise univariada. As análises de dados foram realizadas utilizando o software EPI INFO (Versão 2002, revisão novembro 2002, CDC, Atlanta, Ga).

3.4- Consentimento do paciente

Cada paciente foi pessoalmente informado verbalmente e por escrito, sobre o objetivo do estudo, pela pesquisadora, no momento da primeira visita. Ao paciente foi informado o direito de desistir do seguimento a qualquer momento. O resultado obtido nas coletas para pesquisa de *S. aureus* não foi informado durante o período do seguimento, para não induzir a automedicação por parte do paciente (APÊNDICE 2).

3.5- Conduta em relação à presença de colonização por *S. aureus*

Tendo em vista não haver recomendação na literatura sobre o assunto, nenhuma conduta terapêutica foi indicada exclusivamente em função dos resultados laboratoriais identificando a presença de colonização por *S. aureus*.

4- RESULTADOS

4.1- Resultados da Fase I

4.1.2- Características da população estudada

O estudo foi conduzido no período de fevereiro de 1998 a fevereiro de 1999 (21 meses). Muitos pacientes foram admitidos na unidade de MI apenas uma vez, outros apresentaram re-internação. Foram observados 9.493 pacientes-dia.

A caracterização das doenças apresentadas pelos pacientes estudados é apresentada na Tabela 1. Na população de pacientes HIV-positivos, a doença mais freqüentemente observada foi a pneumonia (22,2%), seguida de neurotoxoplasmose (16,0%) e meningite criptocócica (9,35). Nos pacientes HIV-negativos a causa mais freqüente de internação foi a febre de origem indeterminada (14,7%), seguida de celulites (12,3%) e meningites (11,8%).

Algumas doenças infecciosas observadas na população HIV-negativa não ocorreram na população HIV-positiva no período deste estudo, como: dengue, endocardite, leishmaniose, leptospirose, malária, paracoccidioidiomíose, salmonelose/febre tifóide e tétano. Outras doenças de ocorrência freqüente na população HIV-positiva não foram observadas na população HIV-negativa internada no período: Sarcoma de Kaposi, neurotoxoplasmose e tuberculose não pulmonar.

Tabela 1- Diagnóstico de Admissão em pacientes internados na Enfermaria de Moléstias Infecciosas do HC-UNICAMP, no período de fevereiro de 1998 a outubro de 1999, de acordo com a presença do HIV.*

Doenças	Status HIV		Total
	Positivo (%)	Negativo (%)	
Abscesso hepático/pulmonar/esplênico	4 (1,6)	6 (2,9)	10
Celulite	14 (5,4)	25 (12,3)	39
Dengue	0 (0)	2 (1,0)	2
Diarréia	6 (2,4)	1 (0,5)	7
Doença hematológica	7 (2,7)	1 (0,5)	8
Endocardite	0 (0)	10 (4,9)	10
Febre de Origem Indeterminada	7 (2,7)	30 (14,7)	37
Hepatite	7 (2,7)	9 (4,4)	16
Infecção do Sistema Nervoso Central	3 (1,2)	3 (1,5)	6
Infecção do Trato Respiratório Superior	3 (1,2)	5 (2,5)	8
Infecção do Trato Urinário	2 (0,8)	4 (2,0)	6
Leishmaniose	0 (0)	3 (1,5)	3
Leptospirose	0 (0)	4 (2,0)	4
Malária	0 (0)	4 (2,0)	4
Meningite (todas as etiologias)	6 (2,4)	24 (11,8)	30
Meningite Criptotócica	24 (9,3)	2 (1,0)	26
Neurotoxoplasmose	41 (16,0)	0 (0)	41
Neurotuberculose	10 (3,9)	7 (3,4)	17
Osteomielite/artrite	4 (1,6)	8 (3,9)	12
Outras	4 (1,6)	13 (6,4)	17
Paracoccidioidiomycose	0 (0)	6 (2,9)	6
Pneumonia	57 (22,2)	12 (5,9)	69
Retinite por Citomegalovírus	14 (5,4)	1 (0,5)	15
Salmonelose/febre tifóide	0 (0)	3 (1,5)	3
Sarcoma de Kaposi	4 (1,6)	0 (0)	4
Septicemia	3 (1,2)	7 (3,4)	10
Tétano	0 (0)	2 (1,0)	2
Tuberculose não pulmonar	12 (4,7)	0 (0)	12
Tuberculose pulmonar	19 (7,4)	5 (2,5)	24
Varicela/herpes zoster	6 (2,4)	7 (3,4)	13
Total	257 (100)	204 (100)	461

*pacientes podem ter apresentado mais do que um diagnóstico de admissão.

A mediana do tempo de internação até o diagnóstico da IH foi maior em pacientes HIV-negativos (24,5 dias) comparada à mediana de tempo de pacientes HIV-positivos (15 dias).

4.1.3- Infecção Hospitalar e Utilização de Dispositivos Invasivos

Entre os pacientes observados, 43 apresentaram 56 infecções hospitalares. A densidade de incidência global foi de 5,90 infecções hospitalares por 1000 pacientes-dia. As taxas de infecção observadas foram de 8,16 por 1000 pacientes-dia para a população de indivíduos HIV-positivos e 3,94 por 1000 pacientes-dia para a população de indivíduos HIV-negativos. Os pacientes HIV-positivos foram mais propensos a adquirir infecção hospitalar do que os HIV-negativos ($p = 0.01$; $RR=1.38$; $IC= 1.14 -1.68$). (Tabela 2)

Tabela 2- Frequência das Infecções Hospitalares (IH) em pacientes internados na Enfermaria de Moléstias Infecciosas do HC-UNICAMP no período de fevereiro de 1998 a outubro de 1999, de acordo com a presença do HIV.

Status HIV	IH / n. pacientes com IH	pacientes- dia	IH /1000 pacientes dia
positivo	36/29	4413	8,16
negativo	20/14	5080	3,94
Total	56/43	9413	5,95
p = 0.01			

As taxas de utilização de dispositivos invasivos por 1000 pacientes-dia em pacientes HIV-positivos foram: 0,04 de VM; 0,13 de CVC e 0,09 de SVD. As taxas de utilização de dispositivos invasivos por 1000 pacientes-dia em pacientes HIV-negativos foram: 0,03 de VM; 0,07 de CVC e 0,07 de SVD.

As taxas de utilização de CVC e SVD foram significativamente maiores quando comparados os pacientes HIV-positivos e HIV-negativos (CVC = $p < 0.00$, RR=1.28, IC= 1.21-1.35; SVD = $p < 0.00$, RR= 1.12, IC= 1.05-1.20). Não houve diferença quanto às taxas de utilização de VM entre os grupos observados ($p = 0.10$, RR= 1.09, IC= 0.99-1.20). (Tabela 3).

Tabela 3- Frequência de utilização de dispositivos invasivos-dia em pacientes internados na Enfermaria de Moléstias Infecciosas do HC-UNICAMP no período de fevereiro de 1998 a outubro de 1999, de acordo com a presença do HIV.

	VM-dia	CVC-dia	SVD-dia	
Status HIV	(1)	(2)	(3)	Pacientes-dia
positivo	209	596	426	4413
negativo	203	406	390	5080
Total	412	1002	816	9493

(1) VM: Ventilador Mecânico, $p = 0.10$; (2) CVC: Cateter Venoso Central, $p < 0.00$; (3) SVD: Sondagem Vesical de Demora, $p < 0.00$

A principal localização topográfica das IH diagnosticadas foi a Infecção da Corrente Sanguínea (ICS) com 44,6% dos casos, seguida das Infecções do Trato Urinário (ITU) com 17,9%, Infecções do Acesso Vascular (VASC) com 14,3% e pneumonias (PNEU) apresentando 10,7%. As outras localizações topográficas corresponderam a 13,0% das IH diagnosticadas. A distribuição das outras localizações topográficas foi a seguinte: a) para pacientes HIV-positivos: infecção de pele e partes moles= 4, infecção de foco não esclarecido= 1; b) para pacientes HIV-negativos: infecção de úlcera de decúbito=1, infecção de pele e partes moles=1.

Considerando como denominador o número de pacientes-dia, os indivíduos HIV-positivos foram mais propensos a adquirir uma ICS do que os HIV-negativos ($p= 0.005$, $RR= 1.63$, $IC= 1.31-2.04$). Entretanto, quando foram analisados apenas os pacientes expostos a um CVC, não houve diferença na ocorrência de ICS observada entre estes dois grupos ($p= 0.24$, $RR= 1.32$, $IC= 1.00-1.74$). A Tabela 4 apresenta os dados comparando as taxas de ICS nos dois grupos de pacientes estudados. Entre os 19 pacientes HIV-positivos que apresentaram ICS, 11 utilizaram CVC, 6 utilizaram cateter periférico e 2 não utilizaram dispositivo de acesso vascular contínuo, mas acesso vascular intermitente. Entre os 6 pacientes HIV-negativos com ICS, três utilizaram CVC, 2 utilizaram cateter periférico e 1 utilizou dispositivo de acesso vascular intermitente.

Foram diagnosticadas três ITU em pacientes HIV-positivos e 7 ITU em pacientes HIV-negativos. Apesar de os pacientes HIV-positivos apresentarem maior tendência a utilizar uma sonda vesical de demora, não houve diferença na incidência de ITU entre os dois grupos de pacientes que utilizaram este dispositivo invasivo ($p= 0.49$, $RR= 0.72$, $IC= 0.29-1.76$). O número de PNEU diagnosticadas foi exatamente o mesmo para os dois grupos de pacientes ($n = 2$, $p= 1.00$, $RR= 0.99$, $IC=0.37-2.64$).

Tabela 4- Frequência das Infecções da Corrente Sangüínea (ICS) em pacientes internados na Enfermaria de Moléstias Infecciosas do HC-UNICAMP, no período de fevereiro de 1998 a outubro de 1999, de acordo com a presença do HIV e o uso de Cateter Venoso Central (CVC).

Status HIV	ICS global	N. pacientes-dia	ICS por 1000 pacientes-dia (1)	ICS em pacientes com CVC	CVC-dia	ICS por 1000 CVC-dia (2)
Positivo	19	4413	4,3	11	596	18,46
Negativo	6	5080	1,18	3	406	7,39
Total	25	9493	2,63	14	1002	13,97
(1) p = 0.005		(2) p = 0.24				

4.1.4- Agentes Etiológicos das Infecções Hospitalares

O agente etiológico mais comum foi o *S. aureus* (27,6%), seguido do *Acinetobacter baumannii* (15,5%), *Klebsiella pneumoniae* (13,3%) e *Pseudomonas aeruginosa* (8,65%). Agentes Gram-positivos foram mais comuns em pacientes HIV-positivos. Estes pacientes foram mais propensos a adquirir uma IH causada por *S. aureus* do que os pacientes HIV-negativos ($p = 0.012$, $RR = 1.81$, $IC = 1.23-2.66$).

No grupo de HIV-negativos, o principal patógeno foi o *A. baumannii* (21,0%) e *K. pneumoniae* (15,8%). Outros Gram-negativos representaram 36,8% dos agentes etiológicos das IH. Entre as infecções causadas por *S. aureus*, 93,3% foram oxacilina-resistentes (MRSA). As infecções estafilocócicas foram principalmente ICS ou VASC.

A Figura 1 apresenta a distribuição dos patógenos de IH em todas as localizações topográficas de acordo a infecção ou não pelo HIV nos pacientes hospitalizados na enfermaria em estudo.

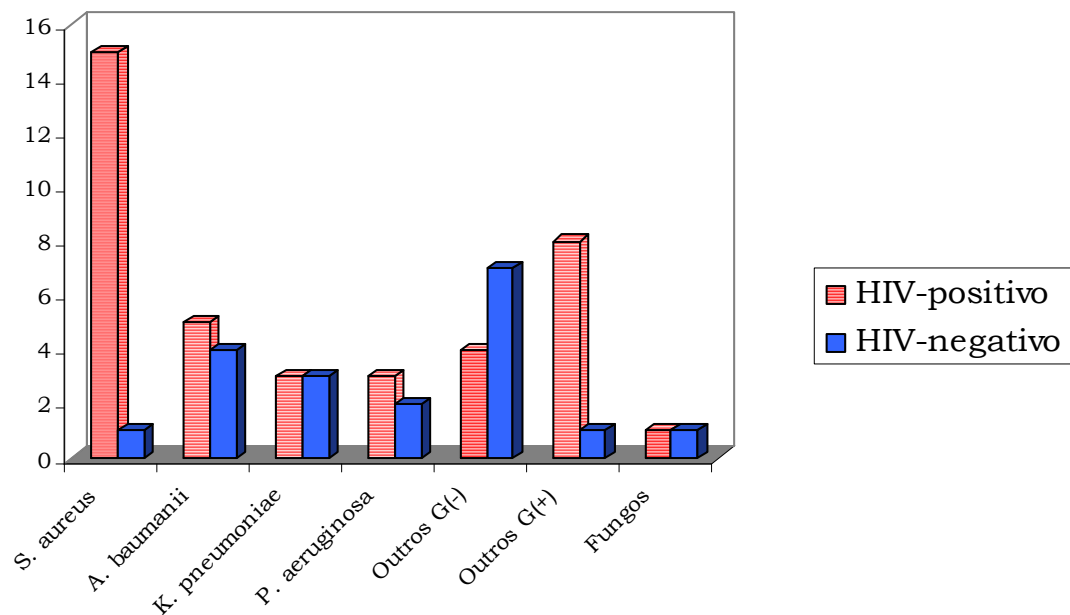


Figura 1- Distribuição dos agentes etiológicos de Infecções Hospitalares (IH) em todas as localizações topográficas em pacientes internados na Enfermaria de Moléstias Infecciosas do HC-UNICAMP, no período de fevereiro de 1998 a outubro de 1999, de acordo com a presença do HIV.

A Tabela 5 apresenta a distribuição de microrganismos identificados em ICS, ITU e VASC, para todos os pacientes hospitalizados na enfermaria de MI. Observa-se que entre as infecções estafilocócicas, há predominância do MRSA, particularmente nas ICS e VASC

Tabela 5- Distribuição dos agentes etiológicos de Infecções da Corrente Sangüínea (ICS), Infecções do Trato Urinário (ITU) e Infecções Vasculares (VASC) em pacientes internados na Enfermaria de Moléstias Infecciosas do HC-UNICAMP, no período de fevereiro de 1998 a outubro de 1999.

Patógeno	ICS		ITU		VASC	
	N	%	N	%	N	%
<i>A. baumannii</i>	5	14,7	2	20,0	0	0,0
<i>E. coli</i>	1	2,9	2	20,0	0	0,0
<i>E. faecalis</i>	2	5,9	1	10,0	0	0,0
<i>Enterobacter spp</i>	2	5,9	1	10,0	0	0,0
<i>K. pneumoniae</i>	4	11,8	2	20,0	0	0,0
MRSA	8	23,5	0	0,0	4	40,0
<i>P. aeruginosa</i>	3	8,8	1	10,0	1	10,0
<i>S. aureus</i> OXA sensível	1	2,9	0	0,0	0	0,0
<i>S. coagulase</i> (-)	4	11,8	0	0,0	1	10,0
<i>Candida spp</i>	0	0	1	10,0	1	10,0
Outros G(-)	4	11,8	0	0,0	1	10,0
Outros G(+)	0	0	0	0,0	2	20,0
Total	34	100,0	10	100,0	10	100,0

4.2- Resultados da Fase II

4.2.1- Características da população estudada

O estudo foi conduzido no período de março de 2000 a março de 2003. Preliminarmente foram inseridos 114 pacientes, posteriormente foram mantidos apenas 111 indivíduos que atenderam aos critérios de inclusão. Para um dos pacientes excluídos constatou-se posteriormente que o Western Blot apresentou-se duvidoso e foi considerado HIV-negativo (falso positivo); duas paciente foram excluídas porque apresentaram história de internação por mais de 48 horas antes de dois anos da data da primeira coleta.

Alguns pacientes não completaram o seguimento por desistência da pesquisa, desistência do tratamento ou por óbito. Foram 12 casos, correspondendo a 10,8% da população inserida na pesquisa. Entre estes pacientes, 5 realizaram apenas 1 coleta e 7 realizaram apenas 2 coletas.

O tempo médio de seguimento dos pacientes inseridos na pesquisa foi de 181 dias (variação: 1 a 956; mediana de 189). Considerando apenas os pacientes com coletas concluídas o tempo médio de seguimento foi de 189 dias (variação: 11 a 914; mediana de 164). O intervalo entre as coletas foi em média de 93 dias entre a primeira e segunda coleta (variação: 6 a 638; mediana: 43) e entre a segunda e terceira coleta foi em média de 100 dias (variação: 7 a 416; mediana: 83).

Pacientes do sexo masculino corresponderam a 62% da população estudada; a distribuição étnica dos pacientes foi: 83% brancos, 12% negros, 5% pardos. A faixa etária da população foi majoritariamente jovem, com média de 37 e mediana de 36 anos (variação: 21 a 72). A faixa etária de 21 a 41 anos correspondeu a 79% dos pacientes avaliados; 18% dos casos na faixa de 42 a 61 anos e 3% dos casos entre 62 e 79 anos.

Trinta e três por cento dos pacientes eram procedentes do município de Campinas e os demais procedentes de outros municípios do Estado de São Paulo, sendo que 74% destes indivíduos moram com suas famílias.

A atividade de risco para aquisição do HIV foi predominantemente heterossexual, sendo que apenas 9,91% corresponderam a pacientes com história de uso de drogas endovenosas (Figura 2).

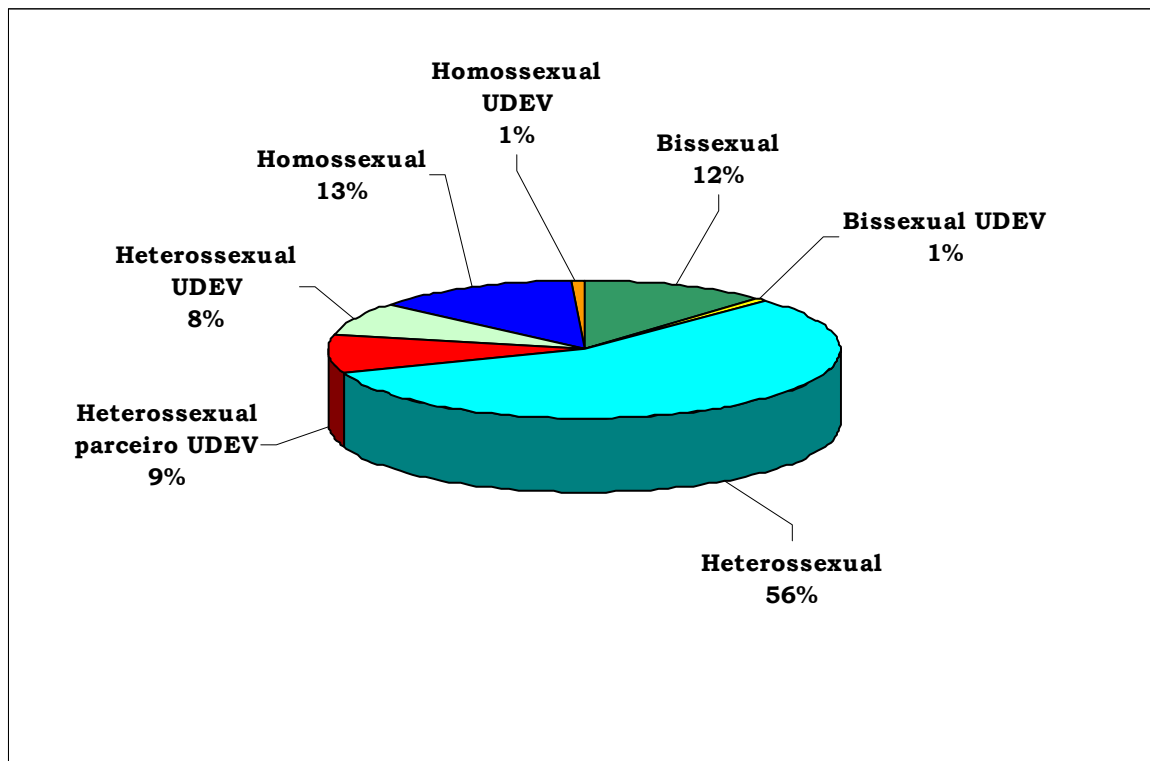


Figura 2- Distribuição da atividade de risco para aquisição do HIV em pacientes HIV-positivos ambulatoriais atendidos na Unidade de Pesquisa Clínica de março de 2000 a março de 2003. (UDEV: Usuários de Drogas Endovenosas)

A avaliação dos dados de estadiamento da infecção pelo HIV demonstrou que 38,7% da população estudada apresentavam-se com classificação compatível com os critérios do CDC para Aids (Figura 3). Quanto à carga viral dos pacientes avaliados, 51% apresentaram valores abaixo do limite de detecção (<400 cópias/mL) durante todo o seguimento, 30% apresentaram valores até 50.000 cópias/mL em algum momento do seguimento e 19% apresentaram valores acima de 50.000 cópias / mL em algum momento do seguimento.

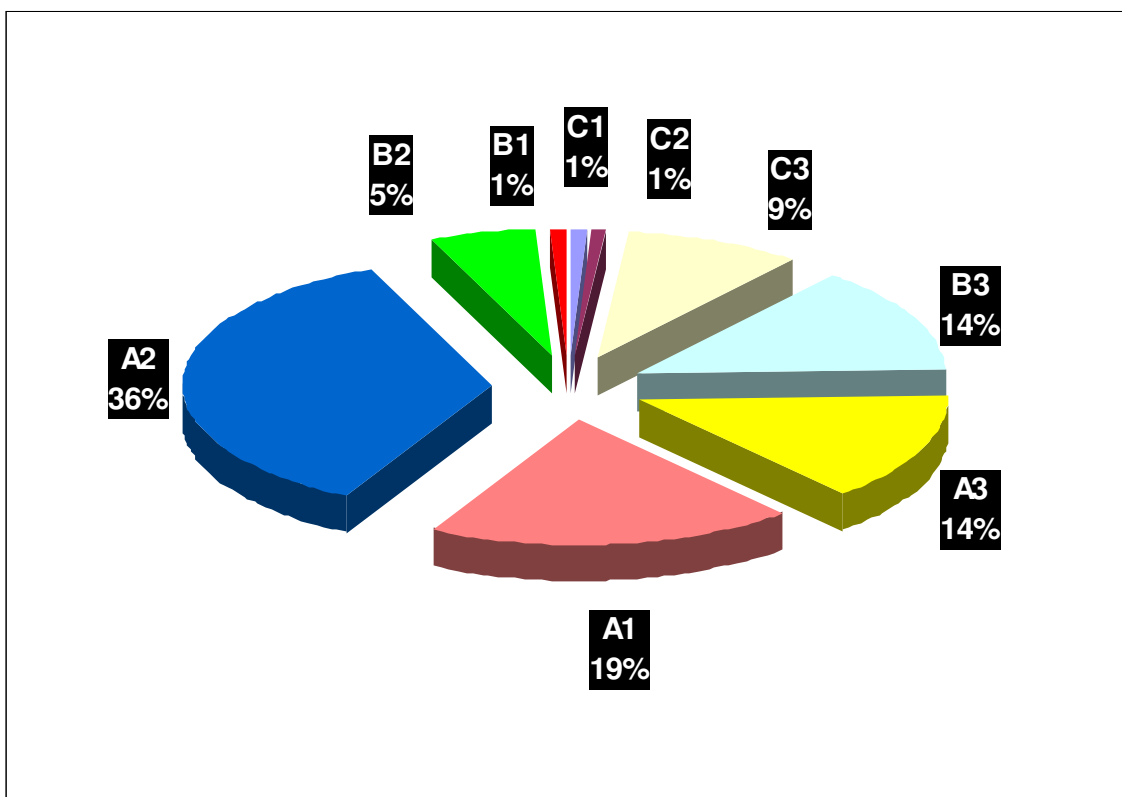


Figura 3- Distribuição do estadiamento da infecção pelo HIV em pacientes HIV-positivos ambulatoriais atendidos na Unidade de Pesquisa Clínica de março de 2000 a março de 2003.

4.2.2- Resultados da pesquisa de *S. aureus* em amostras de swab nasal

Foram coletadas 316 amostras de swab nasal, sendo que 137 (43,3%) resultaram em identificação de *S. aureus*. Considerando os 111 pacientes inseridos na pesquisa, 70 (63,1%) apresentaram no mínimo um resultado positivo para *S. aureus*. Apenas um paciente apresentou um resultado de cepa resistente a oxacilina, o que corresponde a 1% dos casos. Este paciente trabalha na área hospitalar, em atividade administrativa.

Na avaliação do grupo de pacientes que completaram o seguimento de três amostras, 64,6% apresentaram pelo menos um resultado positivo (64 em 99). Neste caso, a ocorrência dos resultados positivos distribuiu-se da seguinte forma: pacientes com 1 amostra positiva: 25,0%; pacientes com 2 amostras positivas consecutivas: 13,0%; pacientes com 3 amostras positivas: 24,0%; pacientes com 2 amostras positivas alternadas: 2,0%. Sendo assim, a colonização nasal foi classificada como **colonização ausente** em 35,3% dos casos (n= 35), **colonização transitória** em 25,2% dos casos (n=25) e **colonização persistente** em 39,9% dos casos (n=39).

A taxa de positividade para cada série de amostras coletada foi de: 45,9% de pacientes positivos na primeira série de amostras (51 em 111), 46,5% de pacientes positivos na segunda série de amostras (49 em 106) e 36,4% de pacientes positivos na terceira série de amostras (36 em 99).

Excluindo-se os pacientes que não concluíram o seguimento, pode-se avaliar a efetiva taxa de colonização no grupo estudado (n= 99). Observou-se que 11 pacientes foram detectados como positivos a partir da segunda coleta e 8 pacientes foram detectados como positivos a partir da terceira coleta. Desta forma, aproximadamente 20% dos pacientes não seriam detectados como colonizados por *S. aureus* se não fossem colhidas três amostras. A Figura 4 ilustra o aumento das taxas de colonização identificadas, de acordo com o número de amostras colhidas. A taxa de colonização nasal por *S. aureus* progrediu de 45,4% quando coletada apenas uma amostra para 56,5% e 64,6% quando coletadas 2 e 3 amostras, respectivamente.



Figura 4- Taxas de colonização nasal por *S. aureus* em pacientes HIV-positivos ambulatoriais atendidos na Unidade de Pesquisa Clínica no período de março de 2000 a março de 2003, de acordo com o número de amostras coletadas por paciente.

4.2.3- Análise do perfil genômico das amostras de *S. aureus*

A análise genômica por PFGE das amostras de colonização persistente identificou como **colonização persistente simples** 61,5% dos pacientes (24 de 39), **colonização persistente múltipla** 17,9% dos pacientes (7 de 39) e **colonização persistente combinada** 20,5% dos casos (8 de 39).

Os indivíduos cuja colonização foi detectada após a segunda coleta foram classificados como possuindo colonização transitória, exceto em dois casos (um deles com colonização persistente simples, outro com colonização persistente múltipla).

A Figura 5 exemplifica o resultado da análise por PFGE, apresentando a foto de um gel de agarose no qual foram processadas amostras de quatro pacientes. O paciente GGM apresentou característica de colonização classificada como persistente múltipla, com três amostras com diferentes genótipos. Os pacientes JMCS e PP apresentaram colonização

classificada como persistente simples, com as três amostras com o mesmo genótipo. O paciente JNV apresentou colonização classificada como persistente combinada, na qual as duas primeiras amostras colhidas apresentaram o mesmo genótipo e houve diferença no perfil genômico da última amostra em relação às demais.

A Figura 6 apresenta o resultado da análise por PFGE com relação a amostras de seis pacientes. Os pacientes AC e PB apresentaram colonização classificada como persistente múltipla, com duas amostras com perfil genômico diferente e 1 amostra negativa. Em ambos os casos, as amostras com resultado negativo ocorreram na terceira coleta. Os pacientes MF e CL apresentaram colonização classificada como persistente combinada. Em ambos os casos, a primeira amostra coletada apresentou perfil genômico diferente das duas amostras subsequentes. No caso do paciente MF, o intervalo de tempo entre duas amostras diferentes foi de 17 semanas e entre duas amostras iguais foi de 21 semanas. No caso do paciente CL, o intervalo de tempo entre duas amostras diferentes foi de 27 semanas e o intervalo entre duas amostras iguais foi de 19 semanas. Os pacientes HB e EC apresentaram, respectivamente, colonização persistente simples e colonização transitória.

Na Figura 7 podemos ver caracterizados os perfis genômicos de cepas de *S. aureus* obtidas de sete pacientes. O paciente JAM apresentou colonização classificada como persistente combinada, sendo a primeira amostra diferente das demais obtidas do mesmo paciente. Neste caso, o intervalo entre duas amostras diferentes foi de 14 semanas e entre duas amostras iguais foi de 13 semanas. Os pacientes CVCC, SM e SD apresentaram respectivamente colonização persistente simples. Nestes últimos dois casos, ambos os pacientes apresentaram resultado negativo na terceira coleta. Os pacientes ES, RD e SS apresentaram colonização transitória, com perfis genômicos diferentes entre si, o que demonstra o poder discriminatório do PFGE para as cepas analisadas neste estudo.

O maior intervalo entre coletas de amostras cujo perfil genômico apresentou-se idêntico foi de 70 semanas, sugerindo que nos casos classificados como colonização persistente simples a cepa colonizante pode permanecer por longos períodos de tempo.

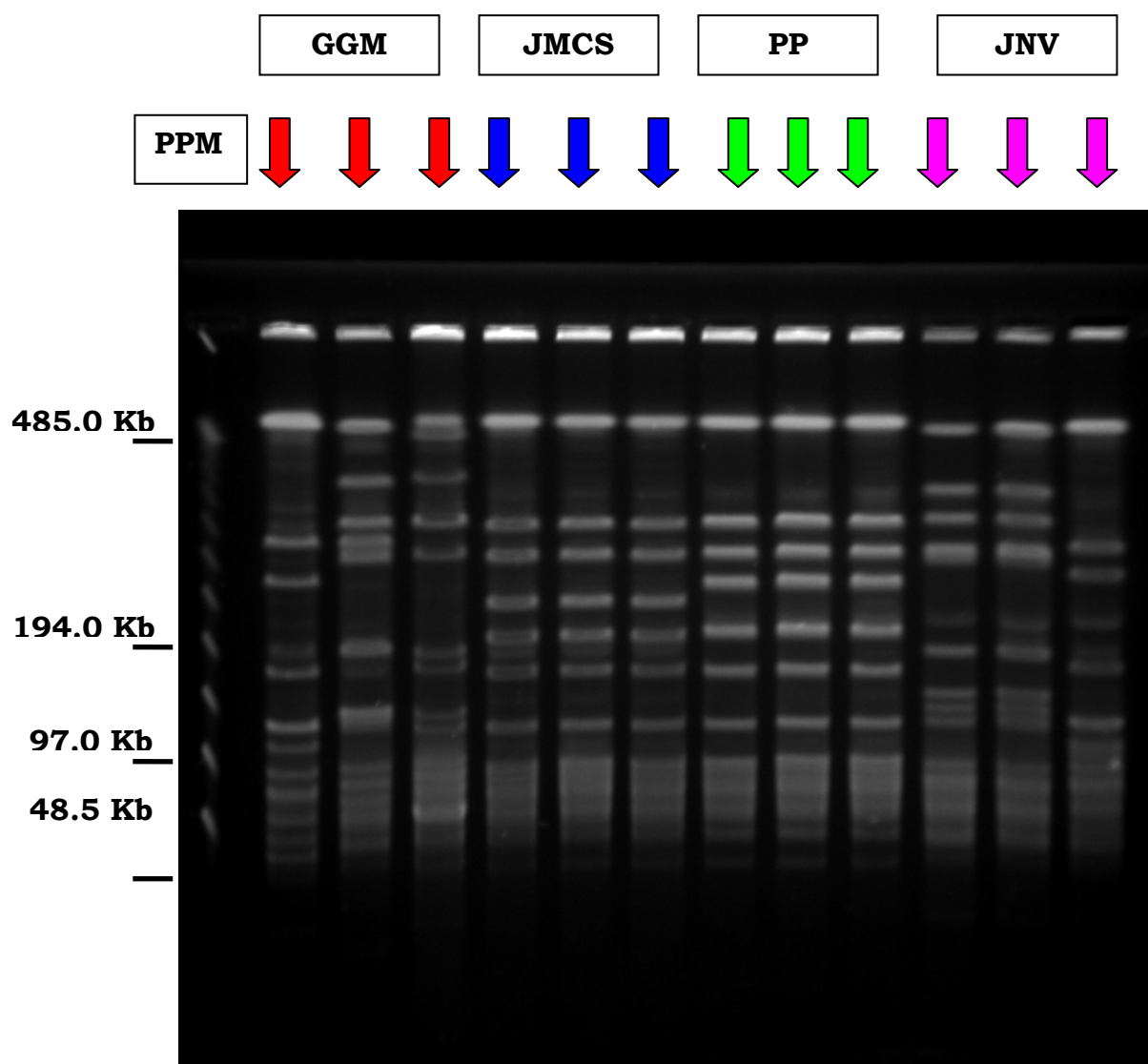


Figura 5- Caracterização genômica de amostras de *S. aureus* obtidos de swab nasal de pacientes HIV-positivos ambulatoriais atendidos na Unidade de Pesquisa Clínica, no período de março de 2000 a março de 2003.

Linhas: 1- Padrão de Peso Molecular (PPM); 2 a 4: paciente GGM, colonização persistente múltipla; 5 a 7: paciente JMCS, colonização persistente simples; 8 a 10: paciente PP, colonização persistente simples; 11 a 13: paciente JNV, colonização persistente combinada.

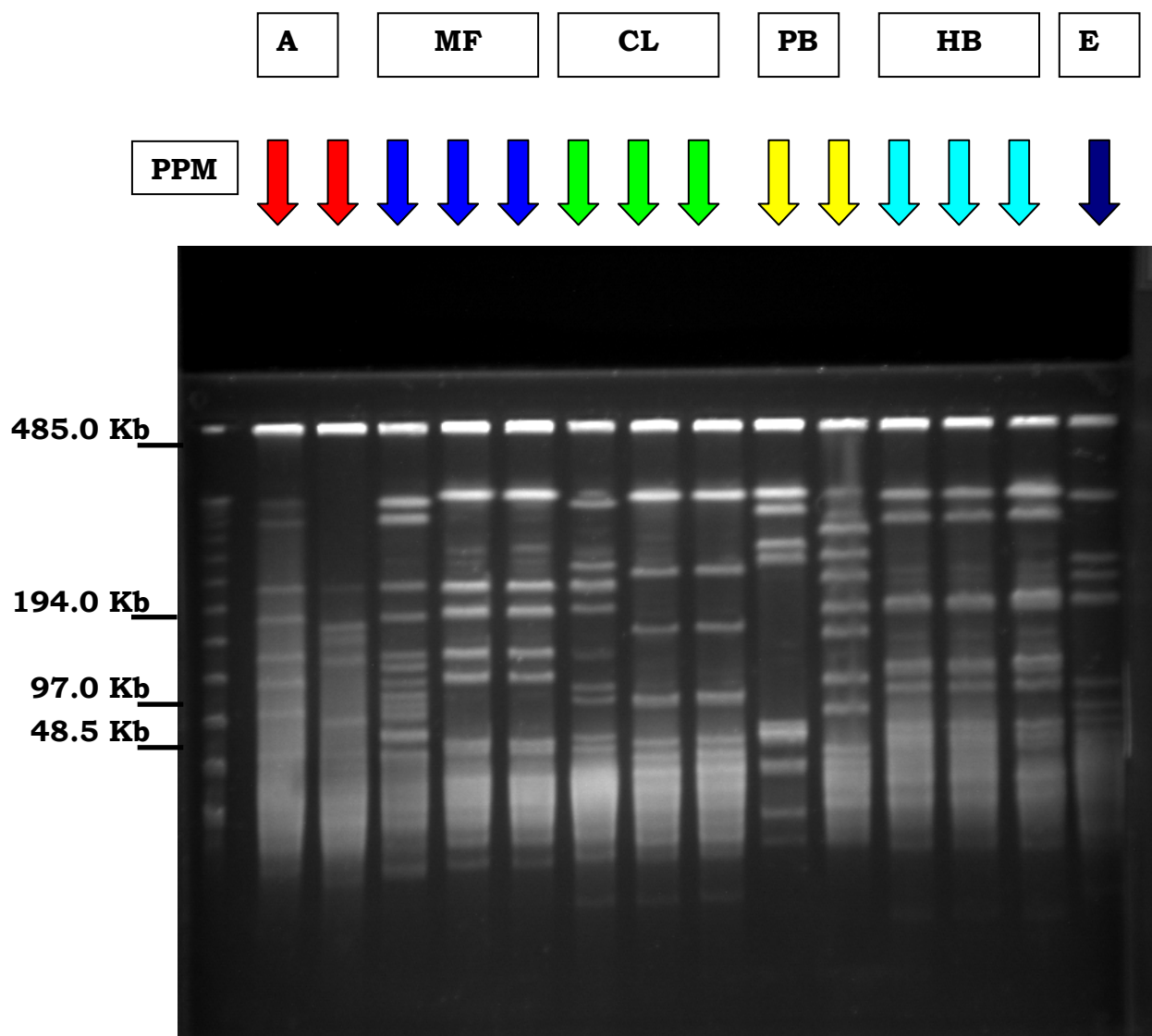


Figura 6- Caracterização genômica de amostras de *S. aureus* obtidos de swab nasal de pacientes HIV-positivos ambulatoriais atendidos na Unidade de Pesquisa Clínica, no período de março de 2000 a março de 2003.

Linhas: 1- Padrão de Peso Molecular (PPM); 2 e 3: paciente AC, colonização persistente múltipla; 3 a 5: paciente MF, colonização persistente combinada; 6 a 8: paciente CL, colonização persistente combinada; 10 e 11: paciente PB, colonização persistente múltipla; 12 a 14: paciente HB, colonização persistente simples; 15: paciente EC, colonização transitória.

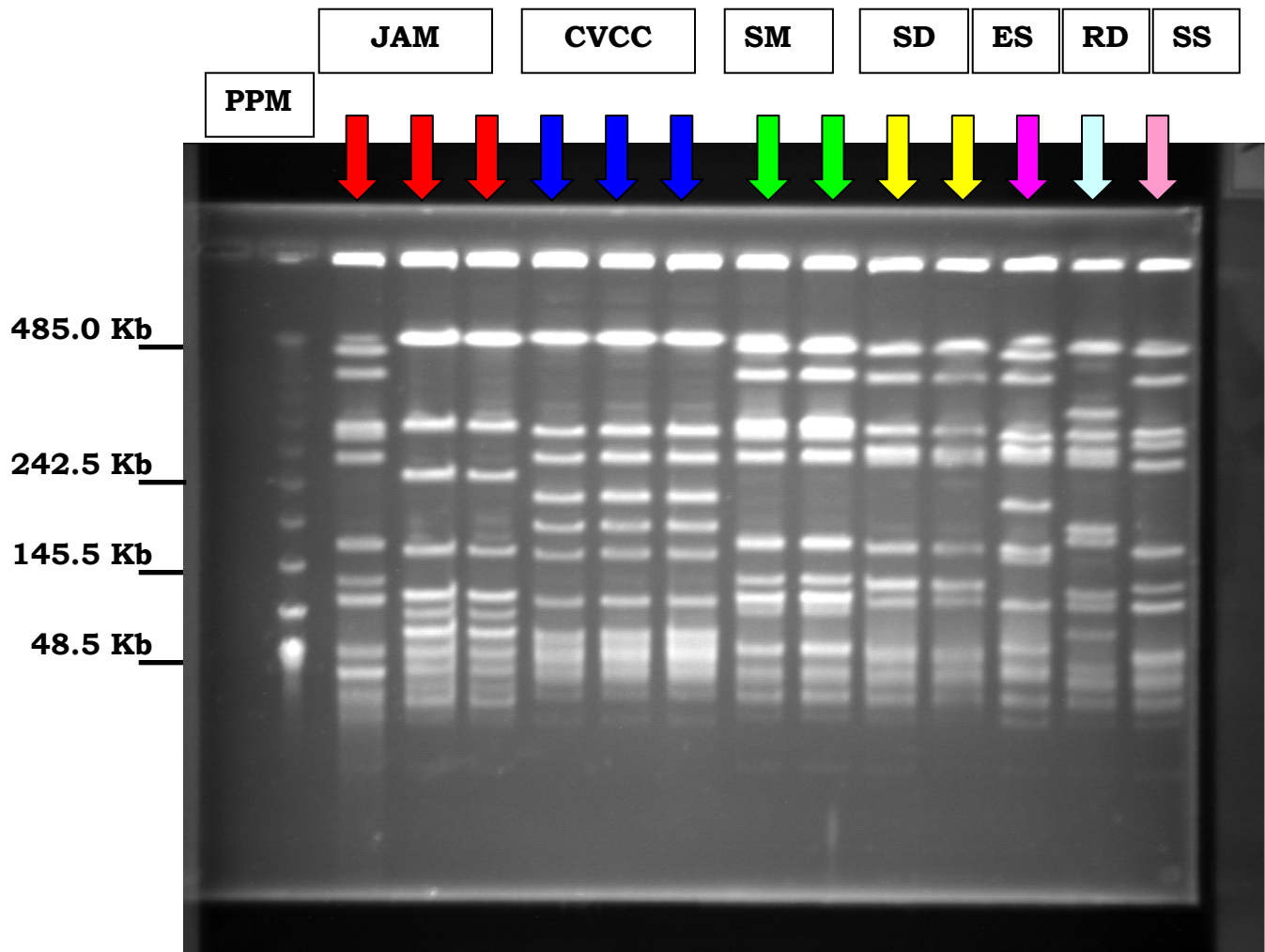


Figura 7- Caracterização genômica de amostras de *S. aureus* obtidos de swab nasal de pacientes HIV-positivos ambulatoriais atendidos na Unidade de Pesquisa Clínica, no período de março de 2000 a março de 2003.

Linhas: 1: Padrão de Peso Molecular (PPM), 2 a 4: paciente JAM, colonização persistente combinada; 5 a 7: paciente CVCC, colonização persistente simples; 8 e 9: paciente SM, colonização persistente simples, 10 e 11: paciente SD, colonização persistente simples; 12 a 14: pacientes ES, RD e SS, colonização transitória.

A Tabela 6 apresenta dados quanto ao CS e intervalo de tempo entre as coletas para os pacientes com colonização persistente combinada.

Tabela 6- Intervalo de tempo e Coeficiente de Similaridade (CS) entre as amostras de swab nasal de pacientes HIV-positivos ambulatoriais atendidos na Unidade de Pesquisa Clínica, no período de março de 2000 a março de 2003, que apresentaram colonização persistente combinada por *S. aureus*.

Paciente	Intervalo entre as coletas (semanas)		CS entre amostras não semelhantes
	Para amostras com CS= 1.00	Para amostras com CS< 0.90	
CFL	19	27	0.60
ELA	3	2	0.50
JNV	13	9	0.50
JACM	13	14	0.71
MROS	18	18	0.67
MF	21	17	0.63
RGR	4	10	0.71
SFA	5	32	0.82
Média	12	16	
Mediana	13	16	
Desvio padrão	7	10	

De modo geral, os pacientes com colonização persistente combinada, apresentaram a amostra com perfil genômico diferente na primeira ou na terceira coleta, sugerindo que houve mudança de genótipo. Exceção a esta regra foi o paciente ELA cuja amostra com perfil diferente das demais foi identificada na segunda coleta, enquanto as cepas procedentes da primeira e terceira coleta foram idênticas entre si. A Tabela 7 apresenta as características do perfil genômico de pacientes que apresentaram colonização persistente múltipla.

Quanto ao tempo de seguimento em dias entre os pacientes colonizados e não colonizados, não foi observada diferença significativa ($p= 0.05$). A diferença no tempo de seguimento não foi significativa quando foram comparados os tipos de colonização identificados ($p= 0.05$). Os intervalos de tempo entre as coletas também não apresentaram diferença significativa quando comparados os pacientes com colonização persistente *versus* colonização transitória ($p >0.05$).

Tabela 7- Resultado da pesquisa para *S. aureus* pela ordem de coleta, Coeficiente de Similaridade (CS) entre as amostras e intervalo de tempo entre as coletas de swab nasal em pacientes HIV-positivos ambulatoriais atendidos na UPC no período de março de 2000 a março de 2003, que apresentaram colonização persistente múltipla por *S. aureus*.

Paciente	Característica do perfil genômico das amostras	Intervalo de tempo entre coletas (semanas)		
	Resultados das amostras pela ordem de coleta	CS entre as amostras	Intervalo 1	Intervalo 2
ALC	1a. e 2a. diferentes entre si e 3a. negativa	0.73	4	8
EAMM	1a. e 3a.diferentes entre si e 2a.negativa	0.71	9	7
GGM	1a, 2a e 3a. diferentes entre si	0.55, 0.83, 0.73	9	59
JL	1a, 2a e 3a. diferentes entre si	0.53, 0.67, 0.40	4	50
MRBB	1a. negativa e 2a. e 3a. diferentes entre si	0.53	24	13
PB	1a. e 2a. diferentes entre si e 3a. negativa	0.57	18	22
SAR	1a. e 2a. diferentes entre si e 3a. negativa	0.50	8	11
média			11	24
mediana			9	13
desvio padrão			7	21

4.2.4- Fatores associados com a colonização nasal por *S. aureus*

Variáveis gerais como idade, sexo, etnia, uso de drogas, tempo de diagnóstico de HIV não foram significativamente associadas com a colonização. Pacientes com Aids apresentaram maior tendência a ser colonizados do que os pacientes portadores de HIV em estadiamento não classificado como Aids ($p=0.02$, $RR=1.45$, $IC= 1.10-1.91$).

Pacientes que durante o seguimento apresentaram em qualquer momento $CD4 < 200 \text{ cel/mm}^3$ ($n=13$) apresentaram a mesma probabilidade que os demais de apresentarem no mínimo um resultado positivo para *S. aureus*. Pacientes que apresentaram resultados de carga viral $>400 \text{ copias/mL}$ em qualquer momento durante o seguimento neste estudo, quando comparados com o grupo de pacientes cuja carga viral esteve indetectável durante o todo o seguimento não apresentaram maior tendência a colonização por *S. aureus* (Quadro 3).

Sessenta e cinco pacientes (58,5%) referiram história de internação prévia antes de dois anos, contudo, este não foi um dado associado com a presença de colonização por *S. aureus*. A última internação destes pacientes ocorreu em média há 13 anos (mediana: 9 anos; desvio padrão: 13 anos). Embora o tempo médio desde a última internação tenha sido menor para os pacientes colonizados quando comparados aos não colonizados (12 anos *versus* 14 anos; mediana: 9,5 anos *versus* 8 anos; desvio padrão 8 anos *versus* 18 anos), esta diferença não foi estatisticamente significativa ($p = 0.66$).

Quadro 3- Características de pacientes HIV-positivos atendidos na Unidade de Pesquisa clínica, no período de março de 2000 a março de 2003, de acordo com a colonização nasal por *S. aureus*.

Característica	Colonizado	Não colonizado	p =
Idade (anos)			0.10
média	37.7	35.5	
mediana	37.0	32.5	
Sexo (n=)			0.29
feminino	23	19	
masculino	46	23	
Etnia (n=)			0.08
branco	61	31	
negro	7	6	
pardo	1	5	
Uso de drogas endovenosas (n=)	6	5	0.40
Aids (n=)	33	10	0.02
Tempo de diagnóstico de HIV (dias)			0.15
média	1855	1459	
mediana	1730	1460	
CD4 <200 cell/mm³ (n=)	8	5	1.00
Carga viral: (n=)			0.32
indetectável (<400 cópias/ml)	35	15	
> 400 cópias/ml	28	20	

A hospitalização durante o período de seguimento neste estudo ocorreu em apenas quatro casos, portanto, não foi possível associar este fator de risco com a presença de *S. aureus*.

Durante o período de seguimento, a frequência de pacientes assintomáticos no momento da coleta de swab nasal foi de 39,6%, 41,0% e 26,5%, respectivamente na primeira, segunda e terceira série de coletas. As doenças mais frequentemente observadas

foram doenças de pele (outras que não feridas), infecções bacterianas (não estafilocócicas), hepatites virais, distúrbios digestivos e metabólicos.

Não houve diferença entre os valores de CD4 com relação a presença ou ausência de *S. aureus* em nenhuma das três séries de amostras coletadas. Categorizando os pacientes em indivíduos que apresentavam $CD4 < 200 \text{ cel/mm}^3$ ou $CD4 > 200 \text{ cel/mm}^3$ também não houve associação com o resultado positivo para *S. aureus* nas três séries de amostras coletadas (primeira amostra: $p = 0.50$, segunda amostra: $p = 0.28$; terceira amostra: $p = 0.26$). Devido ao pequeno número de pacientes com $CD4 < 200 \text{ cel/mm}^3$ não foi possível analisar diferenças quanto aos tipos de colonização identificados.

Os resultados da análise univariada para cada série de amostras demonstraram que os seguintes fatores não foram associados com resultados positivos para *S. aureus*: doença concorrente no momento da coleta, assistência ambulatorial prévia, tratamento recente por inalação ou injeção, terapia ou profilaxia para micobactéria ($p > 0.05$).

Terapia antimicrobiana foi analisada por dois critérios: terapia no momento da coleta ou até 6 meses antes da data da coleta de amostras de swab nasal. Terapia antimicrobiana no momento da coleta foi significativamente associada com resultados negativos para *S. aureus* nas três séries de amostras coletadas (respectivamente, $p = 0.03$, 0.02 e 0.03 , para a primeira, segunda e terceira série de amostras). Terapia antimicrobiana prévia até 6 meses antes da coleta foi associada com resultados negativos para *S. aureus* na segunda e terceira série de amostras ($p = 0.02$ e $p = 0.01$).

A classificação de Aids foi associada com resultados positivos para *S. aureus* na segunda e terceira série de amostra ($p = 0.02$ e $p = 0.006$).

Outros fatores de risco identificados na análise univariada foram: terapia antiretroviral ($p = 0.03$) e terapia com dapsona ($p = 0.01$), na segunda série de amostras. O Quadro 4 apresenta os resultados da análise univariada dos fatores avaliados a cada série de amostras de swab nasal coletados.

No modelo de regressão logística múltipla, para a primeira série de amostras foram inseridas as variáveis: uso de antimicrobiano na data da coleta, uso de sulfametoxazol + trimetropin e presença de feridas. Isto resultou na associação

independente inversa para o uso de antimicrobiano no momento da coleta ($p= 0.047$; $OR= 0.2$; $IC= 0.043-0.979$).

Para a segunda série de amostras foram inseridas as variáveis: Aids, uso de antimicrobiano na data da coleta, uso de antimicrobiano até 6 meses antes da coleta, uso de dapsona, uso de terapia antiretroviral. Isto resultou na associação independente para o uso de terapia antiretroviral ($p= 0.012$; $OR= 4.2$; $IC= 1.365-12.872$) e associação independente inversa para uso de antimicrobiano até 6 meses antes da data da coleta de swab ($p= 0.0053$, $OR= 0.3$; $IC= 0.069-0.627$).

Para a terceira série de amostras foram inseridas as variáveis: Aids, uso de antimicrobiano na data da coleta, uso de antimicrobiano até 6 meses antes da coleta, uso de sulfametoxazol + trimetropin. Isto resultou na associação independente para Aids ($p= 0.0027$; $OR= 4.0$; $IC= 1.622-10.086$) e associação independente inversa para uso de antimicrobiano ($p= 0.014$, $OR=0.07$; $IC= 0.008-0.587$).

Quadro 4- Resultado da análise univariada de fatores de risco para resultado positivo para *S. aureus* para cada série de amostras de swab nasal coletadas em pacientes HIV-positivos ambulatoriais atendidos na Unidade de Pesquisa Clínica, de março de 2000 a março de 2003.

fator	Resultado para pesquisa de <i>S. aureus</i>								
	série 1 (n= 111)			série 2 (n=106)			série 3 (n= 99)		
	(-)	(+)	p =	(-)	(+)	p =	(-)	(+)	p =
Aids	22	19	0.99	16	24	0.02	16	24	0.006
antimicrobiano em uso	10	2	0.03	10	2	0.02	11	1	0.03
antimicrobiano prévio*	16	10	0.58	18	5	0.01	18	5	0.01
assintomático	21	22	0.35	19	24	0.17	15	11	0.56
atendimento ambulatorial (sim/não)	56	45	0.49	11	8	0.85	16	12	0.48
tempo prévio de atendimento ambulatorial (dias)									
média	273	359		38	74		56	42	
mediana	90	120	0.89	27	17	0.70	30	36	0.91
CD4									
média	462	509		474	482		487	467	
mediana	455	484	0.34	492	480	0.92	487	476	0.96
<200 cels/mm ³	3	7	0.55	4	6	0.28	5	3	0.49
feridas	8	2	0.08	2	1	0.55	0	2	0.12
hospitalização > 2 anos	34	31	0.63	#	#	#	#	#	#
inalação	6	2	0.21	0	1	0.46	0	1	0.35
injeção	22	21	0.32	1	1	0.71	3	2	0.48
terapêutica / profilaxia para micobactéria	4	2	0.43	4	1	0.23	3	2	0.58
uso de antiretrovirais	45	37	0.84	41	44	0.03	52	31	0.50
uso de dapsona	3	5	0.25	1	7	0.01	2	2	0.45
uso de SXT**	9	2	0.05	6	2	0.18	9	1	0.07

*até 6 meses antes da data da coleta; **SXT= sulfametoxazol +
 (-)= resultado negativo (+)= resultado positivo

5- DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou a incidência de IH em pacientes HIV-positivos comparando com uma população de indivíduos HIV-negativos internados na mesma enfermaria e conseqüentemente, expostos ao mesmo ambiente e equipe profissional. Apesar de eventuais diferenças nos métodos de vigilância e critérios diagnósticos, os dados obtidos em nossa instituição confirmam o achado de outros autores, demonstrando que pacientes HIV-positivos apresentam taxas de IH maiores quando comparados com pacientes com outras patologias (CRAVEN et al., 1996; FRANK et al., 1997; GOETZ et al., 1994; HAHN et al., 2000; STROUD et al., 1997).

A localização principal das IH foi a ICS como já apontado por diversos autores (CRAVEN et al., 1996; DEGA et al., 1996; GOETZ et al., 1994; JACOBSON et al., 1988; MUKAU et al., 1992; PETROSILLO et al, 2002; PETROSILLO et al, 2003; STROUD et al., 1997). Outros autores, como FRANK et al. (1997), identificaram como as principais localizações topográficas as infecções de pele e tecidos moles seguidas das pneumonias. Em nosso meio, GRINBAUM et al. (1998), no Hospital do Servidor Público de São Paulo, identificaram como infecções mais prevalentes as pneumonias. Já no Instituto de Infectologia Emílio Ribas, em São Paulo, CAVALCANTE et al. (1998) relatam a ICS como a principal infecção diagnosticada em pacientes HIV-positivos.

O fato de haver alguns achados discordantes na literatura sugere que entre a população de HIV-positivos há mudanças em fatores de risco específicos dos pacientes ou na característica da instituição de atendimento que podem alterar substancialmente a distribuição topográfica das IH.

Em um estudo multicêntrico de ICS em pacientes HIV-positivos, PETROSILLO et al (2002) observaram taxas de 2,45 ICS por 1000 pacientes-dia e 9,6 por 1000 CVC-dia, dados inferiores aos diagnosticados no presente estudo. Contudo, no estudo de PETROSILLO et al (2002), a taxa de utilização de CVC (número de CVC-dia/ número de pacientes-dia) foi de 0,11, ou seja, bastante aproximada daquela observada na MI no período do seguimento, que foi de 0,13 (595 CVC/4413 pacientes-dia).

Os dados aqui apresentados demonstram que os pacientes HIV-positivos necessitam, com freqüência, da utilização de cateter venoso central durante a internação, mesmo não estando internados em UTI. Durante o período relatado, o diagnóstico de

VASC em diversos pacientes pode indicar que a técnica de inserção e os cuidados com o cateter central devem ser foco de atenção importante da CCIH no desenho do seu programa de medidas preventivas. No período estudado, a maioria dos CVC de pacientes internados foi de curta duração e muitos deles, inseridos no próprio quarto do paciente. Atualmente, a CCIH do HC-UNICAMP recomenda que a inserção de CVC nas enfermarias seja feita em salas destinadas para este propósito, como medida de prevenção de ICS e VASC.

Os pacientes HIV-positivos apresentaram maior incidência de ICS do que demais pacientes internados na MI. Porém, este dado é significativo apenas quando foram avaliadas as taxas de ICS globais (incluindo as não associadas ao CVC). Quando comparamos exclusivamente as taxas em pacientes que utilizaram CVC, tendo como denominador o número de CVC-dia, a diferença encontrada não foi estatisticamente significativa. Isto sugere que a ICS não é exclusivamente associada ao uso de CVC em pacientes HIV-positivos. Pode-se inferir que outros fatores, como lesões cutâneas ou cateteres periféricos sejam riscos relevantes para pacientes HIV-positivos que têm sua condição imunológica deprimida. Contudo, estes dados suscitam a necessidade de maiores estudos identificando os riscos específicos para ICS neste grupo de pacientes, acompanhando um maior número de casos para o adequado esclarecimento do fenômeno. STROUD et al. (1997) também detectaram altas taxas de ICS não associadas a cateter central, quando comparadas com os dados NNIS e consideraram que isto é provavelmente devido ao uso de cateteres periféricos.

Estes dados sugerem que o grupo de pacientes HIV-positivos deve receber, como medida preventiva de ICS, um cuidado especial com a pele, não só no preparo para inserção de CVC, como também no preparo para inserção de cateteres periféricos.

O principal agente etiológico das IH foi o *S. aureus*, como já apontado pela literatura (CRAVEN et al., 1996; DEGA et al., 1996; GOETZ et al., 1994; HIRSCHORN et al., 1996; JACOBSON et al., 1988; MUKAU et al., 1992; STROUD et al., 1997; WHIMBEY et al., 1986; WITT et al., 1987). Os pacientes HIV-positivos em nossa instituição apresentaram maior incidência de infecções estafilocócicas do que pacientes internados com outras moléstias infecciosas na mesma unidade.

O MRSA foi introduzido em 1992 no HC-UNICAMP e espalhou-se rapidamente pelo hospital, correspondendo inicialmente a 15,0% de todos os agentes etiológicos identificados em ICS e 11,0% de VASC nos primeiros anos após sua introdução (TRESOLDI et al, 1997). Nos períodos seguintes manteve-se com incidência anual média de 8,2% entre os agentes etiológicos de IH, com uma prevalência diária de 7,3 casos (TRABASSO et al, 2000a; TRABASSO et al, 2000b).

A unidade de MI já havia sido identificada como sendo de alta prevalência em estudos anteriores realizados pela CCIH (CCIH, dados internos). Sendo assim, a afinidade dos *S. aureus* por pacientes HIV-positivos reflete-se na aquisição de cepas resistentes em instituições como o HC-UNICAMP, onde há alta prevalência de MRSA.

A importante incidência de colonização por *S. aureus* na população HIV-positiva deve contribuir como fator de risco para a aquisição de ICS nos indivíduos hospitalizados ou submetidos a terapêutica domiciliar com cateter venoso central implantável. Alguns autores consideram que indivíduos HIV-positivos com tendência a colonizar-se pelo *S. aureus* podem adquirir infecções por MRSA no hospital e manter-se prolongadamente colonizados por este agente, com eventual transmissão do patógeno para a comunidade (ALONSO et al., 1997; SARAVOLATZ et al., 1982).

Considerando-se os aspectos que envolvem não só a profilaxia de ICS, como também o possível deslocamento de cepas MRSA para a comunidade através de indivíduos HIV-positivos, o estudo de fatores associados à colonização vem sendo destacado por diversos autores com vistas a possíveis implementações de medidas preventivas (AMIR et al, 1995; BATTAN et al, 1991; GANESH et al., 1989; HOOLBROCK et al., 1997; MILLER et al., 2003; NGUYEN et al., 1999; ONORATO et al., 1999; RAVIGLIONE et al., 1990; SHAPIRO et al., 2000; SISSOLAK et al., 2002; VILLACIAN et al., 2004).

O presente estudo confirma os achados da literatura quanto às altas taxa de colonização por *S. aureus* em pacientes HIV-positivos, mesmo em uma população sem história prévia de internação dois anos antes e com poucos usuários de drogas. Isto sugere que a colonização por *S. aureus* é intrinsecamente presente na população de indivíduos infectados pelo HIV (AMIR et al, 1995; GANESH et al, 1989; RAVIGLIONE et al, 1990; SISSOLAK et al, 2002; WEINKE et al, 1992). Contudo, BASSETTI et al. (2004) em um

estudo avaliando a colonização nasal por *S. aureus* em usuários de drogas, não identificou associação entre a presença deste agente e a infecção pelo HIV.

Em nossa casuística, a presença de MRSA foi pequena, possivelmente pelo rigor do critério de exclusão adotado, em que pacientes com história prévia de internação até 2 anos antes do estudo não foram inseridos. Dados similares foram obtidos em um estudo realizado em Nairobi, por AMIR et al (1995), que avaliaram pacientes HIV-positivos e HIV-negativos (ambulatoriais ou recém-admitidos) identificando taxas de resistência a meticilina de 2,0% e 1,0%, respectivamente, sendo que a associação de infecção pelo HIV com maiores taxas de resistência em cepas de *S. aureus* foram observadas apenas quanto à tetraciclina. VILLACIAN et al. (2004) detectaram taxas de 23,0% de colonização em pacientes HIV-positivos ambulatoriais, com presença de 3,0% cepas MRSA. Este grupo de pesquisadores não identificou nenhum fator de risco associado a colonização por *S. aureus* sensível, porém o uso de qualquer antibiótico nos 6 meses precedentes e a hospitalização no último ano foram identificados como fator predisponente para a aquisição de MRSA. Nesta pesquisa, as cepas de MRSA identificadas possuíam o mesmo perfil genômico da cepa de MRSA predominante do hospital de referência para o atendimento destes pacientes. Na literatura, a identificação de história pregressa de internação e sua associação com cepas de *S. aureus* sensível ou MRSA é controversa (SALGADO et al., 2003; WARSHAWSKY et al., 2000). A diferença de critérios quando ao que é considerado como história recente de internação pode variar conforme o desenho do estudo, o que sem dúvida pode influenciar no conceito de aquisição comunitária do MRSA.

As taxas de colonização por *S. aureus* em pacientes HIV-positivos reportadas na literatura variaram de 23,0 a 54,0% (GANESH et al., 1989; MARTIN et al., 1999; NGUYEN et al., 1999; RAVIGLIONE et al., 1990; SHAPIRO et al., 2000; SISSOLAK et al., 2002; VILLACIAN et al., 2004; WEINKE et al., 1992). Nossa casuística identificou taxa de colonização acima das relatadas por estes diversos pesquisadores. Estas variações podem ser atribuídas tanto ao tipo de sub-população HIV-positiva avaliada (ambulatorial ou internada) quanto ao desenho do estudo, como o número de swabs colhidos, critérios

utilizados para definir colonização, uso de métodos quantitativos para definir colonização, entre outros.

NGUYEN et al. (1999) avaliando 231 pacientes HIV-positivos ambulatoriais identificaram 34,0% de colonização. O desenho do estudo foi de coletas de swab nasal a cada 3 meses por um período de 2 anos. A colonização persistente foi considerada com 2 ou 3 resultados positivos para *S. aureus* com no máximo 1 cultura negativa entre elas; colonização intermitente os pacientes com 2 ou mais culturas positivas com 2 ou mais culturas negativas entre elas e colonização transitória quando o paciente apresentou apenas 1 cultura positiva durante o seguimento. NUGUYEN et al. (1999) em sua definição, não consideraram como indivíduos portadores de *S. aureus* 20% dos casos em que a colonização foi definida como transitória. É de interesse notar que na presente casuística foram identificados 25% dos casos como colonização transitória, ou seja, um número bastante semelhante ao observado por NUGUYEN et al. (1999).

Embora os pacientes transitoriamente colonizados por *S. aureus* possam representar um grupo de menor risco para aquisição de infecção, estes indivíduos podem contribuir para disseminação deste agente no ambiente hospitalar possibilitando a transmissão do microrganismo para pacientes susceptíveis através das mãos dos profissionais de saúde.

No estudo anterior realizado por esta pesquisadora foram identificados 23 episódios de colonização transitória em 62 pacientes com MRSA nas unidades de MI e Leito-Dia do HC-UNICAMP. Alguns pacientes apresentaram mais de um episódio e um paciente manteve a colonização por MRSA por um período de 2 anos. O perfil genômico das cepas obtidas de pacientes com colonização transitória foi o mesmo dos pacientes com colonização persistente, sugerindo que a colonização transitória pode ter papel importante na disseminação intra-hospitalar de cepas de MRSA (PADOVEZE, 1998; PADOVEZE et al., 2001).

VANDENBERGH et al. (1999) utilizaram como critério para definir colonização o "índice de colonização", ou seja, o número de resultados positivos com relação ao número de amostras colhidas, acompanhando 91 adultos saudáveis durante um período de 12 semanas. Estes autores consideraram como portadores persistentes os

indivíduos que apresentaram índice de colonização ≥ 0.80 , portadores intermitentes aqueles com índice de colonização entre 0.10 e 0.70 e não portadores os indivíduos com índice zero. No estudo citado 36,0% dos indivíduos avaliados foram considerados como portadores persistentes e 17,0% como portadores intermitentes.

No presente estudo, o achado de colonização persistente combinada em oito pacientes pode ser explicado por duas hipóteses: a) substituição, em dado momento, por nova cepa de *S. aureus*; b) colonização simultânea por duas cepas distintas de *S. aureus*, com predominância de uma delas no momento da identificação e isolamento do microrganismo. O subgrupo de pacientes que apresentou colonização persistente múltipla claramente apresenta tendência a substituição de cepas, pois entre os casos identificados, alguns apresentaram mudanças no padrão genotípico em intervalo de poucas semanas entre as coletas.

Os determinantes para este tipo de comportamento no qual ocorrem mudanças no perfil genômico de cepas de *S. aureus* não puderam ser devidamente esclarecidos em nossa casuística. Contudo, é importante ressaltar que nos desenhos de pesquisas de colonização por *S. aureus* que não avaliem a caracterização do perfil genotípico, estes pacientes tendem a ser classificados como colonização persistente, embora sua história natural sugere que o comportamento da colonização é mais compatível com o tipo de colonização transitória, adquirindo novas cepas a intervalos aleatórios de tempo. Isto pode induzir a um viés no esclarecimento de fatores de risco para persistência da colonização.

No presente estudo, o uso de antimicrobianos foi associado com resultados negativos para *S. aureus*. BISCHOFF et al. (2004) estudando a colonização nasal em voluntários sadios encontraram o uso de antimicrobianos como fator protetor para a colonização. Este achado deve ser considerado com extrema cautela para não induzir ao uso inapropriado de antimicrobianos. O uso não racional de antimicrobianos como medida profilática para a colonização pode induzir a seleção de cepas resistentes sem gerar benefícios compensatórios. Maiores estudos são necessários para avaliar o impacto do uso de antimicrobianos como profilaxia de colonização e infecção, incluindo a duração do efeito protetor, efeitos indesejados e sub-população potencialmente beneficiada.

Entre os estudos que avaliaram as condições do hospedeiro como determinantes da colonização por *S. aureus* foi observado que este microrganismo adere melhor em epitélio não ciliado (como a narina anterior) do que ciliado. Outros fatores avaliados na literatura foram a ação bactericida de secreções nasais de não portadores, fatores de adesividade de proteínas estafilocócicas com carboidratos específicos da mucina e fatores genotípicos (como HLA), porém com dados ainda insuficientes para estabelecer conclusões (ALY et al, 1977; PEACOCK et al., 2001; SHUTER et al., 1996).

O presente estudo demonstra que entre as condições do hospedeiro que devem ser melhor avaliadas no caso dos pacientes HIV-positivos, a classificação de Aids é um fator potencialmente associado a maiores taxas de colonização por *S. aureus*. Alguns pesquisadores pressupõem que a Aids possa estar associada com a colonização devido a múltiplas e recentes hospitalizações. Contudo, na presente casuística, o fator internação recente não esteve presente, sendo assim, a classificação do estadiamento para Aids foi um fator independente associado com a colonização por *S. aureus*.

Entre os fatores do agente que vêm sendo pesquisados estão: o ácido lipoprotéico, proteína de superfície A, e o fator "microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules" (MSCRAMM), (JOSEFSSON et al., 2001; NOUWEN et al., 2001; VAN BELKUM, et al., 1997).

Considerando os conhecimentos adquiridos pelos estudos de fatores tanto do hospedeiro, quanto do agente, potenciais estratégias para a prevenção de infecções por *S. aureus* vêm sendo avaliadas por diversos pesquisadores (FUNG et al, 2000; LAUPLAND e CONLY, 2003; KLUYTMANS et al., 1996; WANTEN et al., 1998). O uso de mupirocina nasal como agente descolonizante tem sido uma das estratégias mais avaliadas e o estudo de KLUYTMANS et al. (1996) apresenta resultados positivos na prevenção de bacteremias em pacientes de hemodiálise.

MARTIN et al. (1999) realizaram um estudo para avaliar a utilização de mupirocina como agente para descolonização nasal de *S. aureus* em pacientes HIV-positivos persistentemente colonizados (2 culturas positivas colhidas com intervalo de 7 dias). Estes autores verificaram que após o uso de mupirocina, 88,0% dos pacientes apresentaram resultados de culturas negativas. Nas semanas subseqüentes, taxas de

positividade foram gradativamente aumentando, o que demonstrou que a eficácia da manutenção da descolonização é tempo-dependente. Naquele estudo, utilizando PFGE, os pesquisadores avaliaram o perfil genômico de cepas recolonizantes. Entre os 19 pacientes que recolonizaram após a terapêutica com mupirocina, 16 indivíduos recolonizaram com a mesma cepa pré-tratamento. Três pacientes recolonizaram com cepas diferentes, sendo um deles com uma nova cepa, um outro paciente com uma nova cepa mais a cepa inicial e um terceiro paciente apresentou duas novas cepas. O estudo de MARTIN et al. (1999) reforça os achados obtidos na presente pesquisa, onde uma parcela da população apresenta comportamento de colonização por cepas genomicamente distintas.

Estes dados sugerem que a aplicação de profilaxia através do uso de mupirocina ou outros agentes bactericidas deve ser indicado apenas para sub-populações bem definidas, que claramente irão se beneficiar deste tipo de estratégia e por um tempo em que o risco de aquisição de infecção seja de tal grandeza que justifique a intervenção profilática.

BOYCE (1996) considerou que, embora a profilaxia de colonização nasal por *S. aureus* seja apropriada para aplicação em populações de risco, esta estratégia não deve ser utilizada como medida de controle isolada, particularmente nos hospitais com altas taxas de MRSA. O uso indiscriminado de agentes como a mupirocina pode induzir a seleção de cepas resistentes. Este autor considerou que em populações de risco contínuo, a realização de "screening" periódico da colonização nasal e tratamento somente de colonizados é preferível do que a aplicação indistinta de profilaxia a todos os pacientes sob risco. Programas de vigilância através de culturas devem ser definidos através de estudos prévios de fatores de risco (BOYCE et al, 2004).

Entre outras estratégias de profilaxia incluem-se o uso de Imunoglobulina Humana para *S. aureus* Intravenosa (ALTASTAPH), que se encontra em fase II de testes clínicos para neonatos de extremo baixo peso e o uso de vacina para *S. aureus* tipo 5 e 8 conjugada de polissacarídeos capsular (STAPHVAX), que se encontra em fase III de testes clínicos em pacientes submetidos a hemodiálise. Contudo, na metodologia definida para participação nestes estudos, a infecção pelo HIV é um critério de exclusão (www.clinicaltrials.gov, acesso 01/11/2014) (NOWEN et al., 2001; HOEL, 2001).

Alguns autores consideraram a inoculação de cepas específicas como o *S. aureus* 502A e o *Corynebacterium spp* uma estratégia para prevenção de MRSA, agindo de forma competitiva no bloqueio de receptores (NOWEN et al., 2001). Os estudos com cepas de *S. aureus* 502A foram abandonados após a evidência de que crianças que haviam sido deliberadamente colonizadas com esta cepa desenvolveram infecção por este agente (PEACOCK et al., 2001). Estudo de UEHARA et al (2000) demonstrou que houve interferência na colonização por *S. aureus* através da inoculação de *Corynebacterium spp* em narinas de voluntários saudáveis. PEACOCK et al. (2001) citaram pesquisas em desenvolvimento, como a utilização de *Melaleuca alternifolia*, planta nativa da Austrália como agente descolonizante para MRSA e estudos experimentais com o uso de lisostafina em tratamentos experimentais de endocardites estafilocócicas.

Os pesquisadores que têm se dedicado ao estudo de estratégias de prevenção das infecções por *S. aureus* reconhecem a importância de identificar quem são os verdadeiros colonizados persistentes e os verdadeiros negativos persistentes como forma de definir objetividade na aplicação de qualquer medida (NOUWEN et al, 2001; PEACOCK et al, 2001). Sendo assim, o conhecimento dos fatores associados a colonização por *S. aureus* é requisito fundamental para implementação de estratégias de prevenção das infecções causadas por este microrganismo.

6- CONCLUSÃO

Através do estudo apresentado, concluiu-se que:

- Os pacientes HIV-positivos apresentaram maiores taxas de IH quando comparados com pacientes internados na mesma unidade hospitalar com outras doenças infecciosas.
- O *S. aureus* foi o principal agente das IH em pacientes HIV-positivos e a localização topográfica mais freqüente foi a ICS associada ou não ao uso de CVC.
- A aquisição de IH por *S. aureus* foi mais freqüente em indivíduos HIV-positivos do que em pacientes internados com outras doenças infecciosas na enfermaria de MI.
- Na enfermaria de MI do HC-UNICAMP, as ICS foram predominantemente causadas por MRSA.
- Pacientes HIV-positivos atendidos ambulatorialmente na UPC apresentaram 64,6% de colonização por *S. aureus* independente de história de internação prévia ou uso de drogas endovenosas.
- A colonização persistente simples, com o mesmo perfil genômico das cepas de *S. aureus* foi a característica mais freqüente da colonização nasal em pacientes HIV-positivos atendidos ambulatorialmente na UPC.
- Na população de pacientes HIV-positivos atendidos ambulatorialmente na UPC, a Aids foi associada a colonização nasal por *S. aureus*.
- O uso de antimicrobianos no momento da coleta ou em até 6 meses antes da data da coleta foi associado com resultados negativos para *S. aureus*.

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKRAM, J.; GLATT, A. E. True Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Bacteremia. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 19 (2): 106-7, 1998.

ALONSO, R.; PADILLA, B.; SANCHEZ-CARRILLO, C.; MUÑOZ, P.; RODRIGUEZ-CREIXEMS, M.; BOUZA, E. Outbreak Among HIV-Infected Patients of *Staphylococcus aureus* Resistant to Cotrimoxazole e Methicillin. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 18 (9): 617-21, 1997.

ALY, R.; SHINEFIELD, H.I.; STRAUSS, W.G.; MAIBACH, H.I. Bacterial Adherence to Nasal Mucosal Cells. *Infect Immun*, 17 (3): 546-9, 1977.

AMIR, M.; PAUL, J.; BATCHELOR, B.; KARIUKI, S.; OJOO, K.; WAIYAKI, P. et al. Nasopharyngeal Carriage of *Staphylococcus aureus* and Carriage of Tetracycline-Resistant Strains Associated with HIV-Seropositivity. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 14 (1): 34-40, 1995.

ASTAGNEAU, P.; MAUGAT, S; TRAN-MINH, T.; DOUARD, M.C; LONGUET, P.; MASLO, C. et al. Long-Term Venous Catheter Infection in HIV-Infected and Cancer Patients: A Multicenter Cohort Study. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 20(7): 494-8, 1999.

BANNERMAN, T.L; HANCOCK, G.A.; TENOVER, F.C.; MILLER, J.M. Pulsed-Field Gel Electrophoresis as a Replacement for Bacteriophage Typing of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol*, 33 (3): 551-5, 1995.

BASSETTI, S.; DUNAGAN, D.P.; D'AGOSTINHO, R.B.; SHERERTZ, R.J. Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* among Patients Receiving Allergen-Injection Immunotherapy: Associated Factors and Quantitative Nasal Cultures. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 22 (12): 741-5, 2001.

BASSETTI, S.; WOLFISBERG, L.; JAUSSE, B.; FREI, R.; KUNTZE, M.; BATTEGAY, M. et al. Carriage of *Staphylococcus aureus* among Injection Drug Users: Lower Prevalence in an Injection Heroin Maintenance Program than in an Oral Methadone Program. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 25 (2): 133-7, 2004.

- BATTAN, R.; RAVIGLIONE, M.C.; WALLACE, J.; CORT, S.; BOYLE, J.F.; TARANTA, A. *S. aureus* nasal carriage among homosexual men with and without HIV infection. *Am J Infect Control*, 19 (2): 98-100, 1991.
- BISCHOFF, W.E; WALLIS, M.; TUCKER, K.B.; REBOUSSIN, B.A.; SHERERTZ, R.J. *Staphylococcus aureus* Nasal Carriage in a Student Community: Prevalence, Clonal Relationships, and Risk Factors. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 25 (6): 485-91, 2004.
- BISNO, A. L. Molecular Aspects of Bacterial Colonization. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 16 (11): 648-57, 1995.
- BLANC, D.S.; PETIGNAT, C.; MOREILLON, P.; WENGER, A.; BILLE, J.; FRANCIOLI, P. Quantitative Antibigram as a Typing Method for the Prospective Epidemiological Surveillance and Control of MRSA: Comparison with Molecular Typing. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 17 (10): 654-9, 1996.
- BOYCE, J.M. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Hospitals and Long-Term Care Facilities: Microbiology, Epidemiology, and Preventive Measures. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 13 (12), 725-37, 1992.
- BOYCE, J.M. Patterns of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Prevalence. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 12 (2): 79-82, 1991.
- BOYCE, J.M. Preventing Staphylococcal Infections by Eradicating Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus*: Proceeding with Caution. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 17 (12): 775-9, 1996.
- BOYCE, J.M.; HAVILL, N.L.; KOHAN, C.; DUMIGAN, D.G.; LIGI, C.E. Do Infection Control Measures Work for Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*? *Infect Control Hosp Epidemiol*, 25 (5): 395-401, 2004.
- BOYCE, J.M.; JACKSON, M.M.; PUGLIESE, G.; BATT, M.D.; FLEMING, D.; GARNERNER, J.S. et al. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): a Briefing for Acute Care Hospitals and Nursing Facilities. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 15 (2): 105-15, 1994.

BOYD, R. F. The Gram-positive Cocci. In: BOYD, R. F. *Basic Med Microbiol*, 5a. ed. Boston, Little, Brown and Company, 1995. cap. 17. p. 246-62.

BRANCHINI, M.L.M.; MORTHLAND, V.H.; TRESOLDI, A.T.; NOWAKONSKY, A.V.; DIAS, M.B.S.D.; PFALLER, M.A. Application of Genomic DNA Subtyping by Pulsed-Field Gel Electrophoresis and Restriction Enzyme Analysis of Plasmid DNA to Characterize Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* from Two Nosocomial Outbreaks. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 17: 275-81, 1993.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria 2.616, de 12 de maio de 1998. <http://www.anvisa.gov.br> [acesso 25/05/2004]

CAVALCANTE, N.J.F. Aids e Infecção Hospitalar. In: FERNANDES, A.T.; FERNANDES, M.O.V.; RIBEIRO-FILHO, N. *Infecção Hospitalar e Suas Interfaces na Área de Saúde*. Ed. Atheneu, 2000. cap. 30. p-683-9.

CAVALCANTE, N.J.F.; ABREU, E.S.; OLIVEIRA JR., F.I.; FONSECA, M.; RAMALHO, M.; ABBOUD, C.S. Etiologia de Infecções da Corrente Sangüínea (Ics) em Adultos Infectados pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV). In: Anais do VI Congresso Brasileiro de Controle de Infecção e Epidemiologia Hospitalar. Campos do Jordão, 30/11 -03/12/1998. p. 257

CHANG, F.Y.; SINGH, N.; GAYOWSKI, T.; DRENNING, S.D.; WAGENER, M.M.; MARINO, I.R. *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization and Association with Infections in Liver Transplant Recipients. *Transplantation*, 65 (9): 1169-72, 1998.

CRAVEN, D.E; STEGER, K.A.; HIRSCHHORN, L.R. Nosocomial Colonization and Infection in Persons Infected with Human Immunodeficiency Virus. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 17 (5): 304-18, 1996.

DEGA, H.; ELIASZEWICK, M.; GISSELBRECHT, M.; FLEURY, J.; PIALOUX, G.; JANSSEN, B. et al. Infections Associated with Totally Implantable Venous Access Devices (TIVAD) in Human Immunodeficiency Virus-Infected Patients. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*, 13 (2): 146-54, 1996.

DUSE, A.G. Nosocomial Infections in HIV-Infected/AIDS Patients. *J Hosp Infect*, 43 Suppl: S191-201, 1999.

FICHTENBAUM, C.J.; DUNAGAN, C.; POWDERLY, W.G. Bacteremia in Hospitalized Patients Infected with the Human Immunodeficiency Virus: A Case-Control Study of Risk Factors and Outcome. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*, 8 (1): 51-7, 1995.

FRANK, U.; DASCHNER, F.D.; SCHULGEN, G.; MILSS, J. Incidence and Epidemiology of Nosocomial Infections in Patients Infected with Human Immunodeficiency Virus. *Clin Infect Dis*, 25: 318-20, 1997.

FUNG, S.; O'GRADY, S.; KENNEDY, C.; DEDIER, H.; CAMPBELL, L.; CONLY, J. The Utility of Polysporin Ointment in the Eradication of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Colonization: A Pilot Study. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 21 (10): 653-5, 2000.

GANESH, R.; CASTLE, D.; MCGIBBON, D.; PHILLIPS, I.; BRADBEER, C. Staphylococcal Carriage and HIV Infection. *Lancet*, 2: 228, 1989.

GARNER, S.J. JARVIS, W.R.; EMORI, T.G.; HORAN, T.C.; HUGHES, J.M. CDC Definitions for Nosocomial Infections, 1988. *Am J Infect Control*, 16: 128-40, 1988.

GOERING, R.V.; DUENSING, T.D. Rapid Field Inversion Gel Electrophoresis in Combination with an rRNA gene probe in the epidemiological evaluation of staphylococci. *J Clin Microbiol*, 28: 426-9, 1990.

GOETZ, A.M.; SQUIER, C.; WAGENER, M.M.; MUDER, R.R. Nosocomial Infections in the Human Immunodeficiency Virus-Infected Patient: A Two-Year Survey. *Am J Infect Control*, 22 (6): 334-9, 1994.

GRINBAUM, R.S.; YOSHIDA, M.; BIASUTI, C.; OLSON, G.C. Infecção Hospitalar em Pacientes Infectados pelo HIV. In: Anais do Congresso Brasileiro de Controle de Infecção e Epidemiologia Hospitalar. Campos do Jordão, 30/11 a 03/12/1998. p. 126.

HAHN, O.M.; ZIMER, D.; DEL RIO, C.; RAY, S.M. Incidence of Nosocomial Bloodstream Infection by HIV Status. IN: CDC4th Decennial International Conference on Nosocomial and Healthcare-associated Infections. Atlanta, Georgia, march 5-9, 2000. Poster Abstracts. p. 85

HARTSTEIN, A.I.; CHETCHOTISAKD, P.; PHELPS, C.L.; LeMONTE, A.M. Typing of Sequential Bacterial Isolates by Pulsed-Field Gel Electrophoreis. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 22: 309-14, 1995a.

HARTSTEIN, A.I.; DENNY, M.A.; MORTHLAND, V.H.; LeMONTE, A.M.; PFALLER, M.A. Control of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in a Hospital and an Intensive Care Unit. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 16 (7): 405-11, 1995b.

HARTSTEIN, A.I.; LeMONTE, A.M.; IWAMOTO, P.K.L. DNA typing and Control of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* at Two Affiliated Hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 18 (1): 42-8, 1997.

HIRSCHHORN, L.R.; STEGER, K.A.; CRAVEN, D.E. Nosocomial Infections in Adults Infected with Human Immunodeficiency Virus. In: MAYHALL, C.G. *Hospital Epidemiology and Infection Control*. Williams & Wilkins, Baltimore, 1996. Cap. 41. p. 593-610.

HOEL, D. How close is a staph vaccine? *Postgraduate Medicine online*, 110: (4), 2001. [http:// www.postgradmed.com](http://www.postgradmed.com) [acesso 01/11/2004]

HOLBROOK, K.A.; KLEIN, R.S.; HARTEL, D.; ELLIOT, D.A.; BARSKY, T. B.; ROTHSCILD, L.H. et al. *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization in HIV-Seropositive and HIV-Seronegative Drug Users. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 16: 301-6, 1997.

HU, L.; UMEDA, A.; KONDO, S.; AMAKO, K. Typing of *Staphylococcus aureus* Colonizing Human Nasal Carriers by Pulsed-Field Gel Electrophoresis. *J Med Microbiol*, 42: 127-32, 1995.

JACOBSON, M.A.; GELLERMAN, H.; CHAMBERS, H. *Staphylococcus aureus* Bacteremia and Recurrent Staphylococcal Infection in Patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome and AIDS-Related Complex. *Am J Med*, 85: 172-76, 1988.

JARVIS, W.R. Usefulness of Molecular Epidemiology for Outbreak Investigations. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 15 (17): 500-3, 1994.

JORGENSEN, J.H. Mechanisms of Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus* and Methods for Laboratory Detection. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 12 (1): 14-9, 1991.

JOSEFSSON, E.; HARTFORD, O.; O'BRIEN, L.; PATTI, J. M.; FOSTER, T. Protection against Experimental *Staphylococcus aureus* Arthritis by Vaccination with Clumping Factor A, a Novel Virulence Determinant. *J Infect Dis*, 184: 1572-80, 2001.

KLOSS, W.E.; LAMBE Jr, D.W. *Staphylococcus*. In: BALOWS, A.; HOUSTER, W.J.; HERMANN, I.H.D.; SHADOMY, H.J. (eds). *Manual of Clinical Microbiology*, 5^a ed. American Society for Microbiology, Washington DC, 1991. p. 222-37.

KLUYTMANS, J.; VAN BELKUM, A.; VERBRUGH, H. Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus*: Epidemiology, Underlying Mechanisms, and Associated Risks. *Clin Microbiol Rev*, 10 (3): 505-20, 1997.

KLUYTMANS, J.A.J.W.; MANDERS, M.J.; BOMMEL, E.V.; VERBRUGH, H. Elimination of Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* in Hemodialysis Patients. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 17 (12): 3793-7, 1996.

LAUPLAND, K.B.; CONLY, J.M. Treatment of *Staphylococcus aureus* Colonization and Prophylaxis for Infection with Topical Intranasal Mupirocin: An Evidence-Based Review. *Clin Infect Dis*, 37: 933-8, 2003.

LAYTON, M.C.; HIERHOLZER, W.J.; PATTERSON, J.E. The Evolving Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* at a University Hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 16 (1): 12-7, 1995.

LAYTON, M.C.; PEREZ, M.; HEALD, P.; PATTERSON, J.E. An Outbreak of Mupirocin-Resistant *Staphylococcus aureus* on a Dermatology Ward Associated with an Environmental Reservoir. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 14 (7): 369-75, 1993.

LEPELLETIER, D.; RICHEL, H. Surveillance et Contrôle des Infections à *Staphylococcus aureus* Résistant à la Meticilline dans les Hôpitaux Français. *Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire*, 6, 2001. <http://www.invs.sante.fr/beh/2001/06/index.htm> [acesso 01/11/2004].

LEVINE, D.P.; CUSHING, R.D.; JUI, J.; BROWN, W.J. Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Endocarditis in the Detroit Medical Center. *Ann Int Med*, 97 (3): 330-8, 1982.

- MARTIN, J.N.; PERDREAU-REMINGTON, F.; KARTALIJA, M.K.; PASI, O.G.; WEBB, M.; GRBERDING, J.L. et al. A Randomized Clinical Trial of Mupirocin in the Eradication of *Staphylococcus aureus* Nasal Carriage in Human Immunodeficiency Virus Disease. *J Infec Dis*, 180: 896-9, 1999.
- MILLER, M.; CESPEDES, C.; VAVAGIAKIS, P.; KLEIN, R.S.; LOWY, F.D. *Staphylococcus aureus* Colonization in a Community Sample of HIV-Infected and HIV-Uninfected Drug Users. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 22: 463-9, 2003.
- MUKAU, L.; TALAMINI, M.A.; SITZMANN, J.V.; BURNS, C.; McGUIRE, M.E. Long Term Central Venous Access vs Other Home Therapies: Complications in Patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome. *JPEN*, 16 (5): 455-9, 1992.
- MULLIGAN, M.E.; ARBEIT, R.D. Epidemiologic and Clinical Utility of Typing System for Differentiating among Strains of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 12: 20-8, 1991.
- NCCLS. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, Pa, E.U.A. *Aproved Standard. M2-15*, 14 (16), 1994.
- NGUYEN, M.H.; KAUFFMAN, C.A; GOODMAN, R.P.; SQUIER, C.; ARBEIT, R.D.; SINGH, N. et al. Nasal Carriage of and Infection with *Staphylococcus aureus* in HIV-Infected Patients. *Ann Intern Med*, 130 (3): 221-5, 1999.
- NICASTRI, E.; PETROSILLO, N.; VIALE, P.; IPPOLITO, G. Catheter-Related Bloodstream Infections in HIV-Infected Patients. *Ann N Y Acad Sci*, 946: 274-90, 2001.
- NICOLLE, L.E.; BHIALKOWSKA-HOBRZANSKA, H.; ROMANCE, L.; HARRY, V.S.; PARKER, S. Clonal Diversity of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in an Acute-Care Institution. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 13 (1): 33-7, 1992.
- NOUWEN, J.L.; BELKUM, A.V.; VERBRUGH, H.A. Determinants of *Staphylococcus aureus* nasal carriage. *Netherlands J Med*, 59: 126-36, 2001.

O'DANIELS, M.C.; LARSEN, N.M; WASHINGTON, C.H.; RIMLAND, D.; JARVIS, W.R; MANANGAN, L.P. et al. Risk of Venous Access Device Related Infections Among HIV Seropositive Patients. . IN: CDC4th Decennial International Conference on Nosocomial and Healthcare-associated Infections. Atlanta, Georgia, march 5-9, 2000. Poster Abstracts. p. 93.

ONORATO, M.; BORUCKI, M.J.; BAILLARGEON, G.; PAAR, D.P.; FREEMAN, D.H.; COLE, C.P. et al. Risk Factors for Colonization or Infection Due to Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in HIV-Positive Patients: a Retrospective Case-Control Study. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 20 (1): 26-30, 1999.

PADOVEZE, M.C. Estudo da Epidemiologia Molecular dos *Staphylococcus aureus* Resistentes a Oxacilina em Pacientes Portadores de Síndrome de Imunodeficiência Adquirida. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia. 93 p. Campinas, 1998.

PADOVEZE, M.C.; TRESOLDI, A.T.; NOWAKONSKY, A.V.; AOKI, F.H.; BRANCHINI, M.L.M. Nasal MRSA Colonization of AIDS Patients Cared for in a Brazilian University Hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 22 (2): 783-5, 2001.

PEACOCK, S.J.; SILVA, I.; LOWY, F.D. What Determines Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus*? *Trends Microbiol*, 9 (12): 605-10, 2001.

PETROSILLO, N.; PAGANI, L.; IPPOLITO, G.; GRUPO HIV e INFEZIONI OSPEDALIERE. Nosocomial Infections in HIV-positive Patients: an Overview. *Infection*, 31: suppl 2: 28-34, 2003.

PETROSILLO, N.; VIALE, P.; NICASTRI, E.; ARICI, C.; BOMBANA, E.; CASELLA, A. et al. Nosocomial Bloodstream Infections among Human Immunodeficiency Virus-Infected Patients: Incidence and Risk Factors. *Clin Infect Dis*, 34: 677-85, 2002.

PIGNATARI, A.; PFALLER, M.; HOLLIS, R.; SESSO, R.; LEME, I.; ERWALDT, L. *Staphylococcus aureus* Colonization and Infection in Patients on Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis. *J Clin Microbiol*, 28 (9): 1898-902, 1990.

- PRADE, S. S.; OLIVEIRA, S. T.; RODRIGUES, R.; NUNES, F. A.; MARTINS NETTO, E.M.; FELIX, J. Q. et al. Estudo Brasileiro da Magnitude das Infecções Hospitalares em Hospitais Terciários. *Rev Controle de Infecção Hospitalar*, 2: 11-25, 1995.
- RAVIGLIONE, M.C.; MARIUZ, P.; PABLOS-MENDEZ, A.; BATTAN, R.; OTTUSO, P.; TARANTA, A. High *Staphylococcus aureus* Nasal Carriage Rate in Patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome or AIDS-Related Complex. *Am J Infect Control*, 18 (2): 64-9, 1990.
- RICHET, H.; WIESEL, M.; Le GALLOU, F.; ANDRÉ-RICHET, B.; ESPAZE, E. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Control in Hospital: The French Experience. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 17 (8): 509-14, 1996.
- SADER, H.S.; PIGNATARI, A.C.; HOLLIS, R.J.; JONES, R.N. Evaluation of Interhospital Spread of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in São Paulo, Brazil, Using Pulse-Field Gel Electrophoresis of Chromosomal DNA. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 15 (5): 320-3, 1994.
- SADER, H.S.; PIGNATARI, A.C.; HOLLIS, R.J.; JONES, R.N. Oxacillin and Quinolone-resistant *Staphylococcus aureus* in São Paulo, Brazil: a Multicenter Molecular Epidemiology Study. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 14: 260-4, 1993.
- SALGADO, C.D.; FARR, B. M.; CALFEE, D. P. Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: a Meta-Analysis of Prevalence and Risk Factors. *Clin Infect Dis*, 36: 131-9, 2003.
- SARAVOLATZ, L.D.; MARKOWITZ, N.; ARKING, L.; POHLOD, D.; FISHER, E. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* – Epidemiologic Observations During a Community-Acquired Outbreak. *An Int Med*, 96 (1): 11-6, 1982.
- SHAPIRO, M.; SMITH, K.J.; JAMES, W.D.; GIBLIN, W.J.; MARGOLIS, D.J.; FOGLIA, A.N. et al. Cutaneous Microenvironment of Human Immunodeficiency Virus (HIV)-Soropositive and HIV-Seronegative Individuals, with Special Reference to *Staphylococcus aureus* Colonization. *J Clin Microbiol*, 38 (9): 3174-8, 2000.
- SHUTER, J.; HATCHER, V.B.; LOWY, F.D. *Staphylococcus aureus* Binding to Human nasal Mucin. *Infect Immun*, 64 (1): 310-8, 1996.

SISSOLAK, D.; GESAU, A.; HEINZE, G.; WITTE, W.; ROTTER, M.L. Risk Factors for Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* in Infectious Disease Patients, Including Patients Infected with HIV, and Molecular Typing of Colonizing Strains. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 21: 88-96, 2002.

STROUD, L.; SRIVASTAVA, P.; CULVER, D.; BISNO, A.; RIMLAND, D.; SIMBERKOFF, M. et al. Nosocomial Infections in HIV-infected Patients: Preliminary Results from a Multicenter Surveillance System (1989-1995). *Infect Control Hosp Epidemiol*, 18 (7): 479-85, 1997.

TABAQCHALI, S. Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Apocalypse Now? *Lancet*, 350 (9092): 1644-5, 1997.

TENOVER, F.C.; ARBEIT, R.D.; GOERING, R.V. How to Select and Interpret Molecular Strain Typing Methods for Epidemiological Studies of Bacterial Infections: A Review for Healthcare Epidemiologists. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 18 (6): 4526-39, 1997.

TENOVER, F.C.; ARBEIT, R.D.; GOERING, R.V.; MICKELSEN, P.A.; MURRAY, B.E.; PERSING, D.H. et al. Interpreting Chromosomal DNA Restriction Patterns Produces by Pulsed-Field Gel Electrophoresis: Criteria for Bacterial Strain Typing. *J Clin Microbiol*, 33 (9): 2233-9, 1995.

TRABASSO, P.; TRESOLDI, A.T.; BRANCHINI, M.L.M.; DANTAS, S.R.P.E.; PADOVEZE, M.C.; REGINATO, L. et al. Ten Years of Nosocomial Infection Control with Global Surveillance at a Brazilian University Hospital. IN: CDC4th Decennial International Conference on Nosocomial and Healthcare-associated Infections. Atlanta, Georgia, march 5-9, 2000a. Poster Abstracts. p. 254.

TRABASSO, P.; TRESOLDI, A.T.; DANTAS, S.R.P.E.; PADOVEZE, M.C.; NOWAKONSKI, A.V. Daily Prevalence of Multi-Drug Resistant Bacteria in a Brazilian University Hospital. IN: CDC4th Decennial International Conference on Nosocomial and Healthcare-associated Infections. Atlanta, Georgia, march 5-9, 2000b. Poster Abstracts. p. 116.

TRESOLDI, A.T.; BRANCHINI, M.L.M.; MOREIRA FILHO, D.C.; PADOVEZE, M.C.; DANTAS, S.R.P.E.; REGINATO, L.; et al. Relative Frequency of Nosocomial Microorganisms at UNICAMP University Hospital from 1987 to 1994. *Rev Inst Med Trop S. Paulo*, 39 (6): 333-6, 1997.

TROILLET, N.; CARMELI, Y.; SAMORE, M.H.; DAKOS, J.; EICHELBERGER, K.; De GIROLAMI, P.C. et al. Carriage of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* at Hospital Admission. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 19 (3): 181-5, 1998.

UEHARA, Y.; NAKAMA, H.; AGEMATSU, K.; UCHIDA, M.; KAWAKAMI, Y.; ABDUL FATTAH, A.S.M. et al. Bacterial Interference among Nasal Inhabitants: eradication of *Staphylococcus aureus* from nasal cavities by artificial implantation of *Corynebacterium sp.* *J Hosp Infect*, 44: 127-33, 2000.

VAN BELKUM, A.; ERIKSEN, N.H.R.; SIJMONS, M.; VAN LEEUVWEN, W.; VANDENBERGH, M.; KLUYTMANS, J. et al. Coagulase and Protein A Polymorphisms do not Contribute to Persistence of Nasal Colonization by *Staphylococcus aureus*. *J Med Microbiol*, 46: 222-32, 1997.

VANDENBERGH, M.F.Q.; YZERMAN, P.F.E.; BELKUN, A.V.; BOELEN, H.A.M.; SIJMONS, M.; VERBRUGH, H.A. Follow-up of *Staphylococcus aureus* Nasal Carriage after 8 Years: Redefining the Persistent Carrier State. *J Clin Microbiol*, 37 (10): 3133-40, 1999.

VANDENBROUCKE-GRAUS, C.M.J.E. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Control in Hospitals: The Dutch Experience. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 7 (8): 512-3, 1996.

VILLACIAN, J.S.; BARKHAM, T.; EARNEST, A.; PATON, N.I. Prevalence of and Risk Factors for Nasal Colonization with *Staphylococcus aureus* Among Human Immunodeficiency Virus-Positive Outpatients in Singapore. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 25 (5): 438-40, 2004.

WANTEN, G.J.A.; SCHNEEBERGER, P.M.; BERS, A.; GINNEKEN, E.V.; KOOLEN, M.I. Optimizing Screening Procedures for *Staphylococcus aureus* Nasal Carriage in Patients on Haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant*, 13: 1256-8, 1998.

WARSHAWSKY, B.; HUSSAIN, Z.; GREGSON, D.B.; ALDER, R.; AUSTIN, M; BRUCKSCHWAIGER, D. et al. Hospital and Community-Based Surveillance of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Previous Hospitalization is The Major Risk Factor. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 21 (11): 725- 7, 2000.

WEINKE, T.; ROHDE, J.; SCHILLER, R.; FEHERENBACH, F.J.; POHLE, H.D. *Staphylococcus aureus* Carriage Rate and Frequency of Staphylococcal Bacteremia in HIV-Infected Patients. VII International Conference on AIDS. Florence, 1991.

WENZEL, R.P.; REAGAN, D.R.; BERTINO, JS.; BARON, E.J.; ARIAS, K. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* outbreak: A Consensus Panel's Definition and Management Guidelines. *Am J Infect Control*, 26 (2): 102-10, 1998.

WHIMBEY, E.; GOLD, J.W.M.; POLSKY, B.; DRYJANSKI, J.; HAWKINS, C.; BLEVINS, A. et al. Bacteremia and Fungemia in Patients with the Acquired Immunodeficiency Syndrome. *Ann Int Med*, 104 (4): 511-4, 1986.

WITT, D.J.; CRAVEN, D.E.; McCABE, W.R. Bacterial Infections in Adult Patients with the Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) and AIDS-Related Complex. *Am J Med*, 82: 900-6, 1987.

8- PUBLICAÇÕES

PADOVEZE, M.C.; TRABASSO, P.; BRANCHINI, M.L.M. Nosocomial Infections Among HIV-Positive and HIV-Negative Patients in a Brazilian Infectious Diseases Unit. *Am J Infect Control* 2002, 30 (6): 346-50.

PADOVEZE, M.C.; TRABASSO, P.; BRANCHINI, M.L.M.; Nosocomial Infections among HIV and NON-HIV Patients in a Brazilian Infectious Diseases Unit. IN: CDC4th Decennial International Conference on Nosocomial and Healthcare-associated Infections. Atlanta, Georgia, march 5-9, 2000. Poster Abstracts. p. 254.

PADOVEZE, M.C.; PEDRO, R.J.; BLUM-MENEZES, D.; BRATFICH, O.J.; MORETTI, M.L. *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization in HIV Out Care Patients. (a ser submetida ao Clinical Infectious Disease]

Os artigos supracitados estão incluídos ao final do corpo da tese.

9- APÊNDICES

APÊNDICE 1

FICHA DE SEGUIMENTO DO PACIENTE

1. Dados gerais

1.1. Identificação do paciente

Nome: _____ HC: _____

Idade: ____ anos. Sexo: M () F ()

Raça: branco () negro () amarelo ()

Procedência: _____

Residência: família () casa de apoio () sozinho () outros ()

1.2. Tempo de doença

Data da confirmação diagnóstica de portador de HIV. Mês/ano): ____/____

Tempo de confirmação diagnóstica: _____ dias.

1.3. Atividade de risco para aquisição de HIV

Homossexual ()

Bissexual ()

Usuário de droga injetável ()

Transfusão sanguínea ()

Heterossexual ()

Outros () qual (s): _____

1.4. Resultado global da pesquisa de *S. aureus*

Colonizado: Sim () Não ()

- Tipo de colonização
- Colonização persistente simples ()

- Colonização persistente múltipla ()
- Colonização persistente combinada ()
- Colonização transitória ()
- Colonização indefinida
- Não colonizado ()

2. Dados da primeira coleta

Data: ____/____/____.

Resultado: Negativo () Positivo ()

Susceptibilidade a oxacilina: Sensível () Resistente ()

2.1. Estágio da doença

Estadiamento: _____

Carga viral: _____ Data: ____/____/____

CD4: _____ Data: ____/____/____

- Diagnósticos no momento

Diagnóstico 1: _____

Diagnóstico 2: _____

Diagnóstico 3: _____

Diagnóstico 4: _____

Diagnóstico 5: _____

Presença de feridas abertas: S () N ()

2.2. Hospitalização anterior

Internação prévia (> 2 anos): S () N ()

Data da última internação: ____/____/____

Tempo decorrida deste a última internação hospitalar: _____ dias

Motivo da última internação: _____

Local da última internação: _____

2.3. Atendimentos de saúde ou similares sem hospitalização

Atendimento prévio em regime ambulatorial: S () N ()

Tempo decorrido desde o último atendimento ambulatorial: _____ dias.

Motivo do atendimento ambulatorial: _____

Local do atendimento ambulatorial: _____

- Tipo de atendimento recebido:

Exame físico ou exames não invasivos ()

Exame invasivo () Qual: _____

Medicações injetáveis ()

Coleta de espécimens para exames através de punções ()

Terapêutica inalatória ()

Curativos ()

Outros () qual(s): _____

2.4. Terapêuticas associadas

Tratamento prévio com antimicrobiano: S () N ()

- nos últimos seis meses () Tempo decorrido desde o último tratamento com antimicrobiano: _____ dias.

- em uso no momento ()

Uso de antiretroviral no momento: Sim () Não ()

Antiretroviral 1: _____

Antiretroviral 2: _____

Antiretroviral 3: _____

Antiretroviral 4: _____

Antiretroviral 5: _____

Medicamentos em uso no momento: sim () Não ()

Medicamento 1: _____

Medicamento 2: _____

Medicamento 3: _____

Medicamento 4: _____

Medicamento 5: _____

3. Dados da segunda coleta

Data: ____/____/____.

Resultado: Negativo () Positivo ()

Susceptibilidade a oxacilina: Sensível () Resistente ()

3.1. Estágio da doença

Estadiamento: _____

Carga viral: _____ Data: ____/____/____

CD4: _____ Data: ____/____/____

- Diagnósticos no momento

Diagnóstico 1: _____

Diagnóstico 2: _____

Diagnóstico 3: _____

Diagnóstico 4: _____

Diagnóstico 5: _____

Presença de feridas abertas: S () N ()

3.2. Hospitalização anterior

Internação prévia (> 2 anos): S () N ()

Data da última internação: ____/____/____

Tempo decorrida deste a última internação hospitalar: _____ dias

Motivo da última internação: _____

Local da última internação: _____

3.3. Atendimentos de saúde ou similares sem hospitalização

Atendimento prévio em regime ambulatorial: S () N ()

Tempo decorrido desde o último atendimento ambulatorial: _____ dias.

Motivo do atendimento ambulatorial: _____

Local do atendimento ambulatorial: _____

- Tipo de atendimento recebido:

Exame físico ou exames não invasivos ()

Exame invasivo () Qual: _____

Medicações injetáveis ()

Coleta de espécimens para exames através de punções ()

Terapêutica inalatória ()

Curativos ()

Outros () qual(s): _____

3.4. Terapêuticas associadas

Tratamento prévio com antimicrobiano: S () N ()

- nos últimos seis meses () Tempo decorrido desde o último tratamento com antimicrobiano: _____ dias.
- em uso no momento ()

Uso de antiretroviral no momento: Sim () Não ()

Antiretroviral 1: _____

Antiretroviral 2: _____

Antiretroviral 3: _____

Antiretroviral 4: _____

Antiretroviral 5: _____

Medicamentos em uso no momento: sim () Não ()

Medicamento 1: _____

Medicamento 2: _____

Medicamento 3: _____

Medicamento 4: _____

Medicamento 5: _____

4. Dados da terceira coleta

Diagnóstico 1: _____

Diagnóstico 2: _____

Diagnóstico 3: _____

Diagnóstico 4: _____

Diagnóstico 5: _____

Presença de feridas abertas: S () N ()

4.2. Hospitalização anterior

Internação): S () N ()

Data da última internação: ____/____/____

Tempo decorrida deste a última internação hospitalar: _____ dias

Motivo da última internação: _____

Local da última internação: _____

4.3. atendimentos de saúde ou similares sem hospitalização

Atendimento prévio em regime ambulatorial: S () N ()

Tempo decorrido desde o último atendimento ambulatorial: _____ dias.

Motivo do atendimento ambulatorial: _____

Local do atendimento ambulatorial: _____

- Tipo de atendimento recebido

Exame físico ou exames não invasivos ()

Exame invasivo () Qual: _____

Medicações injetáveis ()

Coleta de espécimens para exames através de punções ()

Terapêutica inalatória ()

Curativos ()

Outros () qual(s): _____

4.4. Terapêuticas associadas

Tratamento prévio com antimicrobiano: S () N ()

- nos últimos seis meses () Tempo decorrido desde o último tratamento com antimicrobiano: _____ dias.
- em uso no momento ()

Uso de antiretroviral no momento: Sim () Não ()

Antiretroviral 1: _____

Antiretroviral 2: _____

Antiretroviral 3: _____

Antiretroviral 4: _____

Antiretroviral 5: _____

Medicamentos em uso no momento: sim () Não ()

Medicamento 1: _____

Medicamento 2: _____

Medicamento 3: _____

Medicamento 4: _____

Medicamento 5: _____

APÊNDICE 2

CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO PARA PESQUISAS COM SERES HUMANOS

Projeto: Colonização Nasal por *Staphylococcus aureus* em Pacientes com HIV/Aids

Responsável pela condução das pesquisas: Enfa. Maria Clara Padoveze.

Aluna do Curso de Pós-Graduação do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

Dados do Paciente

Nome: _____ Registro: _____

Idade: _____ Número do RG: _____

Endereço: _____

Justificativa e Objetivos da Pesquisa

Pacientes infectados pelo HIV são considerados portadores freqüentes de *Staphylococcus aureus*. Embora este microrganismo seja um agente comum de doenças em pacientes com Aids, o estado de portador não necessariamente implica em doença. O estado de portador é definido pela detecção de *S. aureus* em narina anterior, sem a presença de sinais e sintomas. O estado de portador não requer tratamento ou qualquer cuidado preventivo.

Até o momento do início deste estudo, os fatores associados com o estado de portador de *S. aureus* não foram devidamente esclarecidos. O objetivo desta pesquisa é determinar quais fatores estão associados com o estado de portador de *S. aureus*.

Descrição dos procedimentos a que o paciente será submetido.

Todos pacientes serão entrevistados num primeiro momento e em outras duas visitas, de acordo com o retorno programado para a coleta dos exames. Na medida do

possível, as coletas serão realizadas na data agendada para o retorno de rotina ao serviço de origem.

Serão realizadas três coletas de swab nasal, a intervalos regulares. Este exame tem o objetivo de identificar o microrganismo (*S. aureus*). A coleta de swab nasal consiste na introdução de um dispositivo com ponta de algodão esterilizado na narina anterior do paciente. É então feita suave rotação por 5 vezes em cada narina.

Transtornos ou riscos potenciais consequentes aos procedimentos realizados

A profundidade da introdução do swab não ultrapassa o limite da narina anterior. O procedimento não implica em perfuração ou corte da mucosa. Nenhum medicamento ou anti-séptico será aplicado antes, durante ou após a coleta, independente do resultado do exame. Não há necessidade de jejum ou qualquer preparo especial antes ou durante a coleta. O artigo utilizado para coleta do swab nasal é esterilizado, individual e de uso único, sendo descartado após o processamento do exame.

O resultado do exame não influenciará as condutas terapêuticas ou profiláticas recomendadas ao paciente.

Benefícios esperados

Os benefícios esperados não se aplicam ao paciente individualmente, mas sim aos pacientes como um todo, pois o resultado da pesquisa acrescenta conhecimento para a ciência médica sobre a ocorrência de *S. aureus* em pacientes portadores do HIV.

Efeitos colaterais ou adversos

Não há efeitos colaterais ou adversos relacionados a coleta de swab nasal.

Informações para o paciente

O paciente será informado sobre dúvidas que possa ter quanto a pesquisa. O resultado dos exames poderá ser informado ao paciente ao final da etapa de coletas.

O paciente poderá deixar de participar da pesquisa a qualquer tempo, sem prejuízo do atendimento, cuidado e tratamento pela equipe responsável.

Os resultados dos exames colhidos e informações obtidas nas entrevistas têm caráter sigiloso e confidencial. A identificação do paciente não será exposta nas conclusões do trabalho ou publicações originárias desta pesquisa.

Outras informações

Caso seja necessário esclarecer dúvidas, o profissional responsável (enfa. Maria Clara Padoveze) pode ser contatado no Laboratório de Epidemiologia Molecular e Doenças Transmissíveis, através do telefone (19) 3788-7013.

Reclamações quanto aos procedimentos éticos podem ser feitas na Secretaria da Comissão de Ética de Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, pelo telefone (19) 3788-8936.

Este impresso será preenchido em duas vias, uma ficará com o paciente e outra ficará no prontuário da pesquisa.

Concordo em participar da pesquisa: _____

Campinas, _____ de _____ de 2____.

APÊNDICE 3

PROTOCOLO DE EXTRAÇÃO E DIGESTÃO DE DNA PARA *Staphylococcus aureus*

TÉCNICA DE “PULSED FIELD GEL ELECTROPHORESIS” (PFGE) EQUIPAMENTO CHEF DR III SYSTEM (BIO RAD)

A. EXTRAÇÃO DO DNA

Dia 1:

1. Inocular aproximadamente 10 colônias de uma cultura de *Staphylococcus aureus*, com colônias isoladas a partir de Agar Sangue com 24 a 48 h de crescimento, em 20 mL de meio BHI (Brain Hart Infusion) a 37°C sob agitação (Shaker) por 24 h.

Dia 2:

1. Centrifugar os tubos contendo as culturas a 5000 rpm por 5 min a 22°C.
2. Descartar o sobrenadante e ressuspender as células em 5 mL de salina 0,9 % estéril (lavagem das células).
3. Centrifugar novamente a 5000 rpm por 5 min a 22°C.
4. Descartar o sobrenadante e ressuspender as células em 1mL de salina estéril (0,9%).
5. Transferir a papa de células para tubos “Eppendorf” pré-pesados.
6. Centrifugar os tubos de “Eppendorf” a 12000 rpm por 3 min
7. Aspirar a solução salina.
8. Pesar novamente os tubos. Determinar a massa de células subtraindo o peso inicial dos tubos “Eppendorf” do peso atual.
9. Equalizar o peso das células (mcg) com o volume de salina (mcL) a ser adicionado. $\text{Peso} = \text{volume}$.
10. Ressuspender a massa de células utilizando um vórtex.

11. Transferir uma alíquota de 20 mcL de cada suspensão de células para um novo tubo de “Eppendorf” e acrescentar 400 mL de EC Buffer.
12. Adicionar 3,5 mcL de solução estoque de lisostafina (Lysostaphin) (armazenada em “Freezer” a -20°C).
13. Adicionar Agarose a 2% em cada tubo de “Eppendorf” sendo: para cada 20 mcL de suspensão de células adicionar 450 mcL de Agarose.
14. Preparo da Agarose – Low Melt Agarose a 2% = 1 g de Low Melt Agarose para 50 mL de H₂O (Millipore estéril).
15. Dissolver a Low Melt Agarose na água utilizando banho-maria no forno de microondas. Distribuir 10 mL em tubos cônicos e guardar em geladeira.
16. Dispensar rapidamente a mistura de Low Melt Agarose com a suspensão de células no moldes para PFGE, resfriar os blocos a 4°C por 30 min (fazer 5 a 10 blocos por amostra).
17. Remover os blocos solidificados dos moldes em microplacas contendo 3 mL de EC Buffer.
18. Incubar por 5 horas a 37°C dando preferência por incubação em “Shaker” (levemente).

Dia 3:

1. Aspirar a solução de EC Buffer.
2. Lavar os blocos por 3 vezes com 5 mL de TE (Hi-Molarity) com intervalos de 30 min utilizando “Shaker” com baixa rotação.
3. Aspirar a solução de TE (High-Molarity) e cobrir os blocos com 2 mL de solução ES (ES = EDTA em pH 9,3; Sarcosyl 1%).
4. Incubar durante uma noite (“overnight”) a 50°C .

Dia 4:

1. Aspirar a solução de ES
2. Lavar os blocos com 5 mL de TE (High-Molarity) com intervalos de 30 min por pelo menos 4 vezes.
3. Estocar os blocos em 5 mL de TE (High-Molarity) em flaconetes a 4°C.

B. DIGESTÃO DO DNA POR ENZIMA DE RESTRIÇÃO – Sma I

Dia 1:

1. Cortar os blocos o suficiente para o manuseio.
2. Transferir os blocos para microplacas
3. Lavar com 3 mL de solução Dummy no Salt a temperatura ambiente por 4 horas, sendo 4 lavagens de 1 hora.
4. Aspirar a solução
5. Transferir os blocos para tubo de “Eppendorf” ou microplaca e adicionar 300 mcL de solução tampão R4 a cada frasco (deve ser preparado neste momento).
6. Deixar com esta solução por 30 min em geladeira a 4°C.
7. Aspirar este tampão.
8. Adicionar a solução de digestão, sendo 200 mcL de volume final para cada bloco (a ser preparada neste momento). (4 mcL de enzima Sma I x 9 amostras = 36 mcL + 20 mcL de tampão R4 x 9 amostras = 180 mcL + 178 mcL de H₂O Millipore estéril x 9 amostras = 1602 mcL)
9. Incubar a temperatura de 30°C, por 6 a 24 h (de preferência em “Shaker”).

Dia 2:

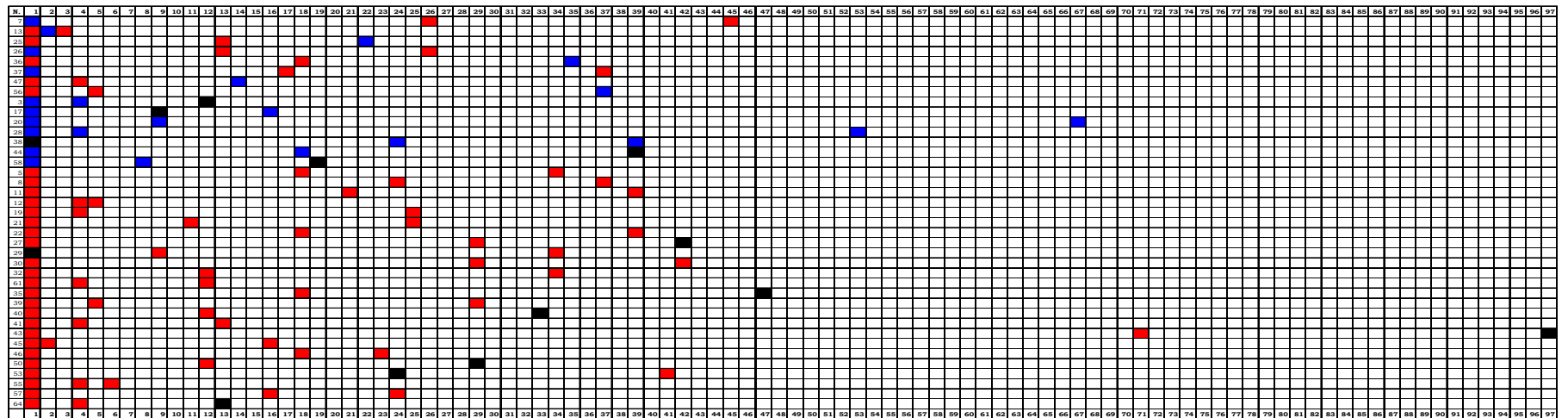
1. Aspirar a solução.
2. Adicionar 1 mL de TE (Low Molarity).

3. Incubar a temperatura ambiente por 1 hora.
4. Preparar o gel de Agarose ultra-puro, grau cromossômico, a 1% em TBE 0,5X.
5. Dissolver o gel em forno de microondas e dispensar no molde. (Preparo do Gel de 150 mL: Para gel de 10 cepas = 150 mL + TBE 0,5X = 15 mL de TBE 5X + 135 mL de H₂O Millipore estéril + 1,5 g de Agarose.)
6. Após a solidificação resfriar o gel a 4°C por no mínimo 30 min antes de tirar o molde dos blocos.
7. Inserir os blocos nos sulcos do gel. Deixar o primeiro sulco para o marcador de peso molecular Lambda.
8. Selar os sulcos com Agarose a 1% em TBE 0,5X.
9. Colocar o Gel na cuba de eletroforese contendo 2,2 L de TBE 0,5X e deixar estabilizar a temperatura de corrida durante cerca de 30 minutos. (Preparo do Tampão para Eletroforese: 220 mL de TBE 5X + 1980 mL de H₂O destilada)
10. Condições de corrida:
 - Volts por cm= 6
 - Temperatura= 13,5 °C
 - Tempo inicial= 5 s
 - Tempo final= 35 s
 - Tempo de corrida = 20 h
11. Ao final da corrida corar o gel com Brometo de Etídio por 30 min.
12. Fotografar sob luz ultra-violeta.

Protocolo baseado em, com modificações: GOERING, R.V.; DUENSING, T.D. Rapid field inversion gel electrophoresis in combination with an rRNA gene probe in the epidemiological evaluation of stahylococci. *J Clin Microbiol*, 28: 426-9, 1990.

APÊNDICE 4

NÚMERO DE SEMANAS DE ACOMPANHAMENTO DE PACIENTES HIV-POSITIVOS AMBULATORIAIS ATENDIDOS NA UPC E RESULTADOS DE COLONIZAÇÃO NASAL POR *S. AUREUS*



	cepas com perfil genotípico igual para o mesmo paciente
	cepas com perfil diferente entre si para o mesmo paciente
	resultado negativo

from 1980–84 to 1985–89 and maintained this elevated level.

P-W2-32

TEN YEARS OF NOSOCOMIAL INFECTION CONTROL WITH GLOBAL SURVEILLANCE AT A BRAZILIAN UNIVERSITY HOSPITAL. Trabasso P,* Tresoldi AT, Branchini MLM, Dantas SRPE, Padoveze MC, Reginato L, von Nowakowski A. Nosocomial Infection Control Committee, Campinas State Univ, Campinas, Brazil.

OBJECTIVE: To assess data from global surveillance of nosocomial infection (NI). **METHODS:** Descriptive study of surveillance of NI performed in a teaching, 403 beds, acute, 3rd care hospital, with Global Surveillance of NI from 1987 to 1997. **RESULTS:** The global incidence mean of NI was 9.6%, with a increase to 12.98% in 1992, when Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) was introduced into surgical units and rapidly spread. After controlling this outbreak, annual incidence of NI returned to basal values (mean=8.2%). NI were more common in Bone Marrow Transplant (BMT, 43.6%) ward; Med-surgical Intensive Care Unit (MSICU, 30.5%); Pediatric Intensive Care Unit (PICU, 26.3%); Med Intensive Care Unit (16.8%), Trauma Unit (16.6%) and Surgical Intensive Care Unit (SICU, 14.6%). Vascular Surgery, Infectious Disease, Nephrology, Neurology and Urology showed risk varying from 6.9% to 9.8% and were classified as mild risk. Gastroenterology (3.2%), Lung Diseases (1.7%), Oncology (1.6%), Cardiology (1.5%), and Endocrinology (1.3%) were classified as low risk. Surgical wound infection (SWI, 21.1%) and ventilator-associated pneumonia (VAP, 20.1%) were the most frequent NI, followed by urinary tract Infection (UTI, 17.3%) and blood stream infection (BSI, 11.9%). *Acinetobacter baumannii* caused 29.3% of NI in MSICU and 28.8% in SICU, while *S. aureus* caused 27.8% of NI in PICU and *S. epidermidis* 16.2% of NI in BMT. *Escherichia coli* (16.2%), *Pseudomonas aeruginosa* (14.5%) and *Klebsiella pneumoniae* (10.3%) were de most frequent pathogens for UTI. *Enterococcus faecalis* (13.2%), *Enterobacter cloacae* (13.2%), *P. aeruginosa* (12.3%) and *A. baumannii* (12.3%) were the most important pathogens for SWI. Only 7.4% of VAP had etiologic agent in our series (*A. baumannii*, 21.7%; *P. aeruginosa*, 17.4%). Despite the difficulty that global surveillance has to compare data from different settings, it was important to knowledge of characteristics of our hospital and contributed to change surveillance methods to prevalence for low risk wards and to the methodology by components in high risk units.

P-W2-33

TRENDS IN NOSOCOMIAL PNEUMONIAS WITH CONCURRENT BACTEREMIAS: THE EMERGENCE OF ACINETOBACTER BAUMANNII. Gordon SM, Fatica CA, Arroliga AC. Cleveland Clinic Foundation, Cleveland, OH.

Acinetobacter baumannii are ubiquitous aerobic gram-negative coccobacilli resistant to many antibiotics which reportedly cause 3%–5% of nosocomial pneumonias (NP) in NNIS hospitals. We retrospectively reviewed all cases of NP (using CDC definitions) with concurrent bacteremias from 1994–98 at the Cleveland Clinic. A total of 313 episodes of NP with bacteremia were identified accounting for 62% of all NP and 12% of all nosocomial bloodstream infections during the five year study period. 73% were acquired in intensive care units where patients were usually mechanically ventilated. 75% (235 episodes) were due to gram-negative bacilli and 23% (72 episodes) due to gram-positive cocci.

The most common pathogens causing NP with bacteremias were *Acinetobacter baumannii* (25%), *Pseudomonas aeruginosa* (24%), *S. aureus* (19%), *Klebsiella* sp. (8%) and *Serratia* sp. (8%). The mean onset from admission to onset of *Acinetobacter* NP with bacteremia was 28 days and 87% of these episodes had *Acinetobacter* isolated from a respiratory source. We conclude that at our hospital *Acinetobacter* is a major pathogen in ventilator-associated nosocomial pneumonias associated with bacteremia.

P-W2-34

NOSOCOMIAL INFECTIONS AMONG HIV AND NON-HIV PATIENTS IN A BRAZILIAN INFECTIOUS DISEASES UNIT. Padoveze MC,* Branchini MLM, Travasso P. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brazil.

OBJECTIVE: to compare the incidence of nosocomial infections (NI) among HIV-positive and non-HIV inpatients from an infectious diseases ward. **METHODS:** patients admitted to the infectious diseases (ID) ward of the Clinics Hosp of Universidade Estadual de Campinas were prospectively followed from February 1998 to October 1999. NI were defined by the infection control nurse using current Ctrs for Disease Control and Prevention (CDC) criteria. **RESULTS:** A total of 56 NI occurred in 43 patients, with an overall incidence of 5.90 per 1000 patient days. Thirty-six (36) NI were diagnosed in 29 HIV patients (4413 patient days) and 20 NI were diagnosed in 14 patients (5080 patient days). Central venous and urinary catheter utilization was significantly higher among HIV patients than non-HIV patients. There was no difference between ventilator use in both patient groups. The median time of hospitalization until NI were diagnosed was lower in HIV patients than in non-HIV patients (15 and 24.5 days, respectively). Overall distribution by infection site was 44.63% for bloodstream infections (BSI); 17.86% for urinary tract infections; 14.26% for vascular infections; 10.71% for pneumonia; and 12.5% for all other sites. Overall HIV-infected patients were at overall higher risk of acquiring a BSI than non-HIV patients, including those without any type of vascular access. However, analyzing only patients with central venous catheter, there was no difference in BSI incidence ($p=0.24$) between HIV and non-HIV subjects. Gram-positive microorganisms were more likely to occur in HIV-positive group. *Staphylococcus aureus* was the most important pathogen in HIV-patient (38.46%), and 93.33% of them were methicillin-resistant. It is important to notice that the infection control committee had identified, since 1992, this ID ward as having an endemic incidence of methicillin resistance. **CONCLUSIONS:** The HIV-patients had higher NI rates than patients with other non-HIV infection diseases. They were more likely to have BSI infections and staphylococcal infections than non-HIV infected patients.

P-W2-35

Surveillance: Miscellaneous

NOSOCOMIAL INFECTION SURVEILLANCE INITIATIVES IN NEW ZEALAND. Bennett SN. Wellington, New Zealand.

BACKGROUND: In 1984 New Zealand state sector reforms introduced population-based funding formulas for allocating resources to healthcare. By 1994 Regional Health Authorities (RHAs) controlled personal health funding. Public health funding was provided by a Public Health Commission and later the Ministry of Health (MoH) while the Crown

Nosocomial infections among HIV-positive and HIV-negative patients in a Brazilian infectious diseases unit

Maria Clara Padoveze, RN^a

Plínio Trabasso, MD^a

Maria Luiza Moretti Branchini, MD^b

Campinas, São Paulo, Brazil

Background: Some researchers observed that HIV-infected patients have a higher risk of acquiring nosocomial infections (NI). This study compared the incidence of NI among HIV-positive and HIV-negative inpatients.

Methods: Patients from an infectious diseases ward who were classified as positive and negative regarding their HIV status were followed-up for 21 months in a prospective cohort study. Daily surveillance was made with use of Centers for Disease Prevention and Control criteria for NI.

Results: NI per 1000 patients-day were 8.16 for HIV-positive patients and 3.94 for HIV-negative patients ($P = .01$). Central venous catheter (CVC) and urinary catheter utilization was significantly higher among HIV-positive patients than among HIV-negative patients ($P < .001$). Bloodstream infections (BSI) caused most of the NI, followed by urinary tract infections, vascular infections, and pneumonia. Overall, HIV-positive patients were more likely to have a BSI than were HIV-negative patients ($P = .005$). When only BSI was analyzed in patients with a CVC, there was no difference in the incidence of BSI between the 2 groups of patients ($P = .24$). HIV-positive patients were more likely to have an NI caused by *Staphylococcus aureus* than were HIV-negative patients ($P = .04$). Other important NI agents in both groups were *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and coagulase-negative *Staphylococcus*.

Conclusions: In this study the HIV-positive patients were more likely to have NI than were the HIV-negative patients. Overall, HIV-positive patients are at increased risk for an NI caused either by *S aureus* or a BSI. Although HIV-positive patients had more CVC-days, there was no difference in the number of BSI among both groups, suggesting that the BSI incidence in the HIV-positive group is not exclusively related to the CVC. (Am J Infect Control 2002;30:346-50.)

Since AIDS was first recognized in 1981, it became a significant public health problem, particularly in developing countries. Individuals infected by HIV may represent a special population at increased risk for nosocomial infections (NI) because they have immune system impairment and are hospitalized more frequently.

Some researchers have observed higher rates of NI in this population, ranging from 8.7% to 15% of overall admissions.¹⁻³ Goetz et al² in a study of 210 admissions of 72 patients observed higher rates of NI in HIV-infected patients (15%) compared with their overall nosocomial rates (6.9%). That study showed that the use of urinary catheters, gastrointestinal procedures, and vascular access were risk factors for acquisition of NI. In a multicenter surveillance system, Stroud et al³ detected 6.1 NI per 1000 patient-days and compared those data with those obtained from The National Nosocomial Infection Surveillance System's (NNISS) hospital-wide surveillance from 1990 through 1994, which were 3.5 per 1000 patient-days. Because the susceptibility of AIDS patients to infection may be greater than that of others, efforts should be made to understand specific risk factors and to target control measures.

From the Hospital Infection Control Committee^a and Infectious Diseases Division,^b Hospital das Clínicas and Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP.

Reprint requests: Maria Clara Padoveze, RN, Rua Aristides Lobo, 242, CEP: 13080-060, Campinas, São Paulo, Brazil.

Copyright © 2002 by the Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology, Inc.

0196-6553/2002/\$35.00 + 0 17/46/125220

doi:10.1067/mic.2002.125220

Table 1. Common diseases in a Brazilian infectious diseases ward from February 1998 to February 1999

Disease	HIV status		Total
	Positive (%)	Negative (%)	
Cellulitis	14 (5.4)	25 (12.3)	39
Central nervous system infection	3 (1.2)	3 (1.5)	6
Cytomegalovirus retinitis	14 (5.4)	1 (0.5)	15
Cryptococcal meningitis	24 (9.3)	2 (1.0)	26
Dengue fever	0 (0)	2 (1.0)	2
Diarrhea	6 (2.4)	1 (0.5)	7
Endocarditis	0 (0)	10 (4.9)	10
Fever of unknown origin	7 (2.7)	30 (14.7)	37
Hematologic disease	7 (2.7)	1 (0.5)	8
Hepatic/splenic/pulmonary abscess	4 (1.6)	6 (2.9)	10
Hepatitis	7 (2.7)	9 (4.4)	16
Kaposi's sarcoma	4 (1.6)	0 (0)	4
Leishmaniasis	0 (0)	3 (1.5)	3
Leptospirosis	0 (0)	4 (2.0)	4
Malaria	0 (0)	4 (2.0)	4
Meningitis (all etiologies)	6 (2.4)	24 (11.8)	30
Osteomyelitis/arthritis	4 (1.6)	8 (3.9)	12
Paracoccidioidomycosis	0 (0)	6 (2.9)	6
Pneumonia (bacterial)	57 (22.2)	12 (5.9)	69
Toxoplasmic encephalitis	41 (16.0)	0 (0)	41
Tuberculosis (pulmonary)	19 (7.4)	5 (2.5)	24
Tuberculosis (central nervous system)	10 (3.9)	7 (3.4)	17
Tuberculosis (other extra pulmonary)	12 (4.7)	0 (0)	12
Salmonellosis/typhoid fever	0 (0)	3 (1.5)	3
Sepsis	3 (1.2)	7 (3.4)	10
Shingles/herpes zoster	6 (2.4)	7 (3.4)	13
Tetanus	0 (0)	2 (1.0)	2
Upper respiratory tract infections	3 (1.2)	5 (2.5)	8
Urinary tract infections	2 (0.8)	4 (2.0)	6
Others	4 (1.6)	13 (6.4)	17
Total	257 (100)	204 (100)	461

An important issue arising from NI studies of HIV-positive patients regards device ratios utilization because of the potential greater exposure of these patients to invasive devices, such as indwelling intravenous or urinary catheters. Stroud et al³ concluded that by comparison with HIV-infected patients, individuals hospitalized in the medical intensive care unit of NNIS hospitals had a significantly lower device utilization ratios for central lines, significantly higher ratios for urinary catheters, and the same ratio for ventilators. Many studies have detected staphylococcal infection as the most common causative agent of NI in HIV-positive patients.¹⁻⁵ This is probably a result of a combination of the skin entrance of this agent and frequent use of central vascular catheters.

In the literature, the NI in HIV-positive patients are usually compared with those with other underlying

Table 2. Nosocomial infections in a Brazilian infectious diseases ward

HIV status	NI/No. of patients	Patient-days	NI per 1000 patient-days
Positive	36/29	4413	8.16
Negative	20/14	5080	3.94
Total	56/43	9493	5.90

$P = .01$

Table 3. Use of invasive devices in a Brazilian infectious diseases ward

HIV status	Respiratory therapy-days*	CVC-days†	Urinary catheter-days‡	
			days	Patient-days
Positive	209	596	426	4413
Negative	203	406	390	5080
Total	412	1002	816	9493

* $P = .10$.

† $P < .001$.

‡ $P = .001$.

diseases, such as solid malignancy, or those with different causes of hospitalization.^{2,3,5} Because patients with different infectious diseases are frequently hospitalized in the developing countries, the aim of this study was to compare the incidence of NI and use of invasive devices in HIV-positive and HIV-negative inpatients from a Brazilian infectious diseases ward.

PATIENTS AND METHODS

All patients hospitalized in an infectious diseases ward (IDW) were prospectively followed-up between February 1998 and October 1999. The IDW is located in a general public university hospital (Hospital das Clinicas da Universidade Estadual de Campinas) and has a capacity of 18 beds.

An infection control nurse made daily surveillance with use of Centers for Disease Control and Prevention definitions for diagnosis of NI. Patients were classified as HIV-positive or HIV-negative. Patients who had no clinical or historical indications of being HIV-positive and for whom the serologic study was not done were classified as HIV-negative.

Data collection involved monitoring the total number of central and urinary lines present daily and determining the number of new lines inserted since the last observation. Respiratory therapy was defined as ventilator-assisted treatment. Growth of

Table 4. Comparison of overall BSI and BSI in HIV-positive and HIV-negative patients with a CVC in a Brazilian infectious diseases ward

HIV status	Overall BSI*	Patient-days	BSI per 1000 patient-days	BSI in patients with CVC†	CVC-days	BSI in patients with a CVC per 1000 CVC-days
Positive	19	4413	4.30	11	596	18.46
Negative	6	5080	1.18	3	406	7.39
Total	25	9493	2.63	14	1002	13.97

* $P = .005$.† $P = .24$.**Table 5.** Pathogen distribution by selected sites of nosocomial infection in a Brazilian infectious diseases ward

Pathogen	BSI*		UTI		VASC*	
	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)
<i>A baumannii</i>	5	14.7	2	20	0	0
<i>E coli</i>	1	2.9	2	20	0	0
<i>E faecalis</i>	2	5.9	1	10	0	0
<i>Enterobacter</i> species	2	5.9	1	10	0	0
<i>K pneumoniae</i>	4	11.8	2	20	0	0
MRSA	8	23.5	0	0	4	40
<i>P aeruginosa</i>	3	8.8	1	10	1	10
<i>S aureus</i> (methicillin-sensitive)	1	2.9	0	0	0	0
Coagulase-negative <i>Staphylococcus</i>	4	11.8	0	0	1	10
Yeast	0	0	1	10	1	10
Other gram negative	4	11.8	0	0	1	10
Other gram positive	0	0	0	0	2	20
Total	34	100	10	100	10	100

*More than one agent may be involved in NI episodes.

15 or more colony form units from a catheter, determined by semiquantitative culture with accompanying signs of inflammation (eg, erythema, warmth, swelling, or tenderness) at the device site, or in the absence of semiquantitative culture, when there was purulent drainage from the skin-catheter junction, was considered to be a vascular infection.

Epi Info (Version 6; CDC, Atlanta, Ga) analysis was used, and significance was assumed if P was less than .05.

RESULTS

The most common diseases that patients are treated for in the IDW are shown in Table 1, according to data collected from February 1998 to February 1999. Many patients are admitted in this unit more than once. In the study period (21 months), there were 9493 patient-days observed, with 56 NI in 43 patients. The overall incidence of NI was 5.90 per 1000 patient-days. The rates of NI in the studied group were 8.16 for HIV-positive patients and 3.94

for HIV-negative patients per 1000 patient-days. HIV-positive patients were more likely to have an NI than were HIV-negative patients ($P = .01$) (Table 2).

Table 3 displays the use of invasive devices in the IDW. Central venous and urinary catheter utilization was significantly higher among HIV-positive than among HIV-negative patients. There was no difference between ventilator use among both patient groups. The median length of stay until an NI was diagnosed was longer for HIV-negative patients (24.5 days) compared with that of HIV-positive patients (15 days).

The most important infection site in the IDW was bloodstream infection (BSI) (44%), followed by urinary tract infection (UTI) (18%), vascular infections (VASC) (14%), and pneumonia (PNEU) (11%). All other sites accounted for 13% of infections.

Overall, HIV-positive patients were more likely to have a BSI than were HIV-negative patients ($P = .005$). However, when only BSI was analyzed among patients with a central venous catheter (CVC), there

was no difference in incidence between the 2 groups ($P = .24$) (Table 4).

Three UTIs were detected in HIV-positive patients and 7 in HIV-negative patients. Although HIV-positive patients were more likely to use a urinary tract catheter, there was no difference between both groups regarding incidence of UTI ($P = .46$). There was no difference in pneumonia acquisition between HIV-positive and HIV-negative patients ($P = .81$).

The most common etiologic agent was *S aureus* (27.59%), followed by *A baumannii* (15.50%), *K pneumoniae* (10.35%), and *Pseudomonas aeruginosa* (8.625%). Gram-positive agents were more common than in HIV-positive patients. These patients were more likely to have NI caused by *S aureus* than were HIV-negative patients ($P = .04$). In the group of HIV-negative patients, the main pathogens were *A baumannii* (21%) and *K pneumoniae* (15.79%). Other gram-negative organisms represented 36.84% of etiologic agents. Of the infections caused by *S aureus*, 93.53% were methicillin-resistant (MRSA). Staphylococcal infections were mainly from a BSI or VASC (Table 5) (Fig 1).

DISCUSSION

To our knowledge, this study is the first prospective comparison specifically of NI in HIV-infected patients and those with other infectious diseases. These data confirm that other studies in which HIV-positive patients had higher NI rates than did patients with other underlying diseases and reinforce the concept of high susceptibility of this group.¹⁻⁴ HIV-negative patients who were in the IDW with HIV-positive patients but who had different infectious diseases had significantly lower NI rates than did the HIV-positive patients even though both groups were exposed to the same environment and cared for by the same health care workers.

Although differences in surveillance definitions and methods make comparisons difficult, the incidence rate of NI in this study is in accordance with findings observed by other authors.¹⁻⁴ The distribution of the infections site was mostly BSI, followed by UTI, as cited by Stroud³ and Craven.⁴ However, these findings are contrary to data from Frank et al¹; their study found the principal site to be skin and/or soft tissue following pneumonia, suggesting that even among the HIV-positive population, some risk factors or immunologic status may change characteristics in the distribution of NI.

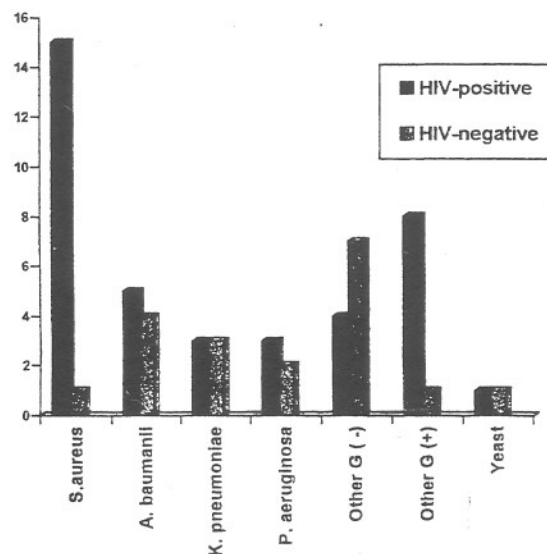


Fig 1. Pathogen distribution in all sites from NI in a Brazilian infectious diseases ward.

Our data show that central lines were used with greater frequency in HIV-infected patients. During the study period, we had a large number of patients with VASC, indicating that we have to be more careful about our technical approach of the use of CVCs. Most CVC use in the IDW was of short duration, and the devices were generally inserted in the patient's room.

HIV-positive patients were more likely to have a BSI and staphylococcal (MRSA) infections than were the comparing group. In this study we did not observe a difference in BSI incidence among patients in both groups who had a CVC. We consider that other risk factors, such as mucocutaneous lesions or peripheral venous catheters, may be implicated in BSI. Stroud et al³ also detected higher rates of noncentral line-associated BSI in HIV-positive patients compared with NNISS data, which is probably associated with peripheral lines. All these data led to the conclusion that this group of patients requires meticulous care of the skin and central or peripheral vascular access. Our study agrees with the findings of our studies regarding the principal agent that causes NI in HIV-infected patients.¹⁻⁹ High *S aureus* nasal carriage among HIV-infected patients may have contributed to the high incidence of *S aureus* infections, mainly BSI. The mechanisms of these phenomena remain unclear, and there is no consensus on whether intravenous drug abuse is the key for this heavy colonization and infection by this agent or whether other variables might be implicated.^{4,10-15}

Because HIV-positive patients have high *S aureus* carriage, they might be a reservoir of MRSA in the hospital and community.^{16,17} The predominance of MRSA in the IDW reflected the whole hospital environment. It is important to notice that since 1992, the Infection Control Committee has detected an endemic incidence of MRSA in this ward. In another study, Padoveze et al¹⁸ observed a high incidence of MRSA in the IDW that was related to the HIV-positive patients' day care unit with the same DNA profile, analyzed by pulsed-field gel electrophoresis. Onorato et al¹⁹ analyzed MRSA colonization and infection in HIV-positive patients and determined that prior hospitalization, exposure to broad-spectrum antibiotics, presence of CVC, and dermatologic disease were risk factors for MRSA infection.

Despite immunologic impairment in HIV-positive patients, fungal infections were not important indicators of NI, and our data confirmed that of others in this matter.¹⁻⁵ Craven et al⁴ suggested that traditional methods for measuring the scope of NI need to be re-examined for patients with HIV infection because of difficulties in establishing the size of the population at risk; inaccuracies in diagnosing infections; and the possible misclassification of infections that initially were acquired in outpatient clinics, home, or long-term care facilities.

The goal of this study was to compare the incidence of NI between 2 populations through a cohort study. Further studies that use controls matched for age, diagnosis, severity of illness, prior hospitalization, etc, could clarify aspects regarding specific risk factors for NI in HIV-positive patients. The limitations of our study are the lack of analysis regarding other risk factors such as a CD4+ cell count, other indicators of morbidity, presence of dermatologic disease, and follow-up of peripheral venous catheter-days, which could show details of NI in the studied groups.

CONCLUSIONS

HIV-positive patients had more NI than did the HIV-negative patients admitted to this Brazilian IDW. They were more likely to have BSI and NI caused by *S aureus*, mainly MRSA. These data suggest that the difference in BSI incidence is not exclusively related to the use of a CVC.

References

1. Frank U, Daschner FD, Schulgen G, Milss J. Incidence and epidemiology of nosocomial infections in patients infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis* 1997;25:318-20.
2. Goetz AM, Squier C, Wagener MM, Muder RR. Nosocomial infections in the human immunodeficiency virus-infected patient: a two-year survey. *Am J Infect Control* 1994;22(6):334-9.
3. Stroud L, Srivastava P, Culver D, Bisno A, Rimland D, Sinberkoff M, et al. Nosocomial infections in HIV-infected patients: preliminary results from a multicenter surveillance system (1989-1995). *Infect Control Hosp Epidemiol* 1997;18(7):479-85.
4. Craven DE, Steger KA, Hirschhorn LR. Nosocomial colonization and infection in persons infected with human immunodeficiency virus. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1996;17(5):304-18.
5. Whimbey E, Gold JWM, Polsky B, et al. Bacteremia and fungemia in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann Int Med* 1986;104(4):511-14.
6. Witt DJ, Craven DE, McCabe WR. Bacterial infections in adult patients with the acquired immune deficiency syndrome (AIDS) and AIDS-related complex. *Am J Med* 1987;82:900-6.
7. Jacobson MA, Gellerman H, Chambers H. *Staphylococcus aureus* bacteremia and recurrent staphylococcal infection in patients with acquired immunodeficiency syndrome and AIDS-related complex. *Am J Med* 1988;85:176.
8. Hirschhorn LR, Steger KA, Craven DE. Nosocomial infections in adults infected with human immunodeficiency virus. In: Mayhall CG, editor. *Hospital epidemiology and infection control*. Baltimore: Williams & Wilkins; 1996. p. 593-610.
9. Weinke T, Rohde J, Schiller R, Feherenbach FJ, Pohle HD. *Staphylococcus aureus* carriage rate and frequency of staphylococcal bacteremia in HIV-infected patients. VII International Conference on AIDS; 1991; Florence, Italy.
10. Ganesh R, Castle D, McGibbon D, Phillips I, Bradbeer C. Staphylococcal carriage and HIV infection. *Lancet* 1989;2:228.
11. Kluytmans J, vanBelkum A, Verbrughe H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clin Microbiol Rev* 1997;10(3):505-20.
12. Raviglione MC, Mariuz P, Pablos-Mendez A, Battan R, Ottuso P, Taranta A. High *Staphylococcus aureus* nasal carriage rate in patients with acquired immunodeficiency syndrome or AIDS-related complex. *Am J Infect Control* 1990;18(2):64-9.
13. Shapiro M, Smith KJ, James WD, Giblin WJ, Margolis DJ, Flogia NA, et al. Cutaneous microenvironment of human immunodeficiency virus (HIV)-seropositive and HIV-seronegative individuals, with special reference to *Staphylococcus aureus* colonization. *J Clin Microbiol* 2000;38(9):3174-8.
14. Holbrook KA, Klein R, Hartel D, Elliott DA, Barsky TB, Rothschild LH, et al. *Staphylococcus aureus* nasal colonization in HIV-seropositive and HIV-seronegative drug users. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1997;16(4):301-6.
15. Saravolatz LD, Markowitz N, Arking L, Pohlod D, Fisher E. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*—epidemiologic observations during a community-acquired outbreak. *Ann Int Med* 1982;96(1):11-16.
16. Alonso R, Padilla B, Sanchez-Carrillo C, et al. Outbreak among HIV-infected patients of *Staphylococcus aureus* resistant to cotrimoxazole and methicillin. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1997;18(9):617-21.
17. Padoveze MC, Tresoldi AT, Colombini MRC, Aoki FC, Nowakonsky A, Branchini MLM. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) nasal colonization in AIDS patients cared for in a hospital day-care unit as a reservoir of an epidemic MRSA strain. Presented at: 37th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy; 1997; Toronto, Ontario, Canada.
18. Onorato M, Borucki MJ, Baillargeon G, Paar DP, Freeman DH, Cole PC, et al. Risk factors for colonization or infection due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in HIV-positive patients: a retrospective case-control study. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999;20(1):26-30.

STAPHYLOCOCCUS AUREUS NASAL COLONIZATION IN HIV OUT CARE PATIENTS

AUTHORS:

MARIA CLARA PADOVEZE, RN, MSc,

ROGÉRIO DE JESUS PEDRO, MD, PhD,

DULCINÉA BLUM-MENEZES, MSc,

ORLANDO JOSÉ BRATFICH, MSc,

MARIA LUIZA MORETTI, MD, PhD,

from Infectious Diseases Division, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP.

KEYWORDS:

Staphylococcus aureus; HIV infection; risk factors; molecular typing; PFGE.

CORRESPONDING AUTHOR

MARIA CLARA PADOVEZE

Mailing address: Rua Aristides Lobo, 242. Cidade Universitária. CEP: 13083-060. Campinas, São Paulo, Brazil.

Telephone: 55 19 3287 5330 / Fax: 55 19 3788 7913.

E-mail address: padoveze@hc.unicamp.br

ABSTRACT

Background: *S. aureus* nasal carriage in HIV-patients is still not completely characterized. The aim of this study was to describe epidemiological and molecular features of *S. aureus* nasal colonization in HIV-outpatients.

Methods: HIV-outpatients with no history of hospitalization within the last two years were screened for *S. aureus* nasal colonization. Three samples were collected for each patient, and the risk factors for colonization were assessed. Nasal carriage was classified as no colonization, transient colonization or persistent colonization. The persistent colonization was subdivided into simple (same profile), multiple (different profiles) or combined (two with the same e and one with different profiles), using Pulsed-Field Gel Eletrophoresis for genotyping the strains of *S. aureus*.

Results: 111 patients were enrolled in these study and 70 patients (63%) had at least one culture positive for *S. aureus*. 99 patients concluded three samples collection. The rates of colonization became higher as more than 2 samples were taken, going from 45.5% in the first sample up to 65.6% when 3 samples were collected. Patients with clinical stage of AIDS were more likely to be colonized than non-aids patients ($p=0.02$). Among the patients with *S. aureus* nasal carriage, 39% were transient carriers and 61% were persistent carriers, whose genomic subtype was: 61.5% simple, 20.5% combined and 18% multiple persistent colonization.

Conclusions: HIV-patients had high rates of *S. aureus* nasal colonization even with no history of recent hospitalization. The most common characteristic of colonization is simple persistent colonization showing the same genomic profile.

1. Introduction

Staphylococcus aureus is an important pathogen causing community and hospital acquired infections in HIV-infected patients. (PADOVEZE et al, 2002; GOETZ et al, 1994; STROUD et al, 1997; FRANK et al, 1997; JACOBSON et al, 1988; DEGA et al, 1995; MUKAU et al, 1992; FICHTENBAUM et al, 1995).

The anterior nares are the main reservoir of *S. aureus* in human and their nasal carriage has been established as an important risk-factor for the development of both community-acquired and nosocomial infections (VANDENBERGH et al, 1999; CRAVEN et al, 1996; WEINKE et al, 1992). Some authors have suggested that treatment of nasal carriage is one potential strategy for prevention of infections (LAUPLAND & CONLY, 2003).

Although nasal carriage of *S. aureus* has been linked to infection with this organism in the settings of hemodialysis, peritoneal dialysis, postoperative surgical wound infection, and nursing homes, the natural history of nasal carriage of *S. aureus* in HIV-infected patients has not been well delineated, although several studies describe an increased nasal carriage of *S. aureus* in HIV infected group. Vandenberg et al (1999) observed that the risk of *S. aureus* infection over time was approximately 10% for every 6 months in HIV-infected patients who were nasal carriers of *S. aureus* and had CD4 counts less than 100 cells/mm³.

Holbrook et al (1997) did not demonstrate an association between in HIV-infected patients and nasal *S. aureus* colonization. However, these authors have studied a drug user population and, for this group, having HIV infection possibly pose no special risk since the drug abuse may be the most important risk.

HIV-infected patients may play a role as reservoir of MRSA strains. They can have some specific risk factors for acquisition of this pathogen, considering they are hospitalized in an environment with this microorganism. Tumbarello et al (2002) observed that the individual exposure to β -lactams, in association with a history of multiple hospitalizations and low CD4 cell number ($<200/\text{mm}^3$) play a pivotal role as risk factors for the development of methicillin resistance in HIV-infected patients. Onorato et al (1999) observed that prior antibiotic use, a central venous catheter, presence of a dermatological disease, and total hospital days were variables independently associated with increased risk for MRSA colonization and infection in HIV-infected patients.

As *S. aureus* nasal carriage appears to be an important precondition to infection, the characterization of this carriage would improve the risk assessment of the disease. Such characterization not only enlarges our understanding of the disease process, but also could lead to preventive intervention.

If there is any association between HIV-infection and *S. aureus* nasal colonization, identifying a subpopulation of patients to offer prophylaxis might prevent substantially the morbidity and mortality from *S. aureus* infections. Objecting to evaluate the conditions associated with HIV-infection and *S. aureus* nasal

carriage this study was carried out including patients with no recent history of hospitalization in order to exclude a potential nosocomial acquisition of this pathogen. .

2. Methods

2.1. Study population

A screening for *S. aureus* nasal carriage was performed among HIV adult patients. Western Blot test positive for HIV and no hospital admission (more than 48 h) two years before first specimen collection were the inclusion criteria. Patients with diagnosed *S. aureus* infection at the moment of the first collection were excluded. These patients were followed regularly at the HIV Clinical Research Unit (CRU) and had access to all retroviral medications and therapies for prophylaxis against opportunistic infections any time it was indicated. After providing formal consent, patients underwent a confidential standardized interview that included questions about history of hospitalization and other healthcare procedures.

2.2. Nasal swabbing and isolation of *S. aureus*

Three nasal swabs were collected from each patient, the first at the time of interview and the other two when they came back to clinical follow up. Nasal swab specimens were obtained by using sterile dry cotton swabs moistened by a Brain Heart Infusion (BHI) liquid media at the time of collection. Both left and right anterior nares were swabbed by rubbing the swab three times of each nostril while rotating the swab without interruption. The swabs were immediately placed in BHI and incubated overnight at 35°C.

2.3. Identification of organisms and susceptibility testing

Species identification was performed by plating the samples onto blood agar and mannitol-salt agar overnight. Positive plates were confirmed by catalase and the Staph test, which detects clumping factor and protein A.

Isolates were tested by the Kirby-Bauer disk diffusion method described by the National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) using Mueller-Hinton agar. Susceptibility tests were performed by the use of a bacterial inoculum's whose turbidity was equivalent to that of 0.5 McFarland turbidity standard. The suspension was used to inoculate Mueller -Hinton agar plates by swabbing them with

a cotton swab. The plates were incubated overnight at 35°C. The quality control strain of *S. aureus* American Type Culture Collection (ATCC) 29213 was included with each run. The interpretation of results was performed according to recommendations of the NCCLS. The antimicrobial agent tested was oxacillin.

2.4. Parameters evaluated

The following data were obtained: age, gender, HIV risk behavior, stage of HIV infection, concurrent diseases, previous hospitalization > 2 years or during follow-up, presence of wounds, previous antimicrobial therapy (6 months before the date of specimen collection), antiretroviral therapy, the most recent CD4 cells number count, the viral load within four months and invasive or no invasive medical assistance other than the follow-up in the CRU.

2.5. Genomic DNA typing by Pulsed Field Gel Electrophoresis

The clonal similarities among *S. aureus* strains were analyzed by using Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) by modification of the method of Goering and Duensing (BRANCHINI et al, 1993). Genomic DNA was recovered and digested with *Sma*I enzyme. The restriction products underwent electrophoresis on a 1% agarose gel and were stained with ethidium bromide and photographed. The relation between two given isolates was estimated by calculating a coefficient of similarity (CS) as follows: $CS = 2 \times (\text{number of matching bands}) / (\text{total number of bands in both strains})$. Isolates were considered to be the same subtype if CS was ≥ 0.90 (Bio-Profil Bio-Gene Windows Application v. 99.04).

2.6. Classification of nasal carriage

Nasal carriage was defined as following: a) no colonization: none of three nares cultures resulted positive; b) transient colonization: only one of three nare cultures resulted positive; c) persistent colonization: 2 or 3 positive nares cultures were positive. Further, using the PFGE genotyping these last category was subdivided in c.1) simple persistent colonization: 2 or 3 positive cultures with the same profile; c.2) multiple persistent colonization: 2 or 3 positive cultures with different profiles among them; c.3) combined persistent colonization: patients having 3 positive cultures, being 2 with the same profile and one with a different profile.

2.7. Statistical Analysis

All tests were conducted at the 5% level of significance ($p < 0.05$). Categorical data were analyzed by using the chi-square or Fisher exact test. For quantitative variables we used Kruskal Wallis test. Potential risk factors for presence of *S. aureus* colonization were analyzed by univariate methods to identify differences in patients who developed and who did not developed this nasal carriage. Multiple logistic regression analysis was used to determine independent variables influencing the positive result for *S. aureus* at each sample collection. The criteria for enter variables in the model was the p value $< .10$ in the univariate analysis. Data analysis was performed using EPINFO version 2000 for univariate and SAS (.....) for multivariate analysis

3. Results

This study was conducted from March 2000 to March 2003. A total of 111 patients were enrolled and 316 nares cultures were collected, of which 43.4% (137 of 316) were positive for *S. aureus*. Sixty-three percent of patients (70 of 111) had at least one culture positive for *S. aureus*. About eleven percent of patients (12 of 111) had less than three nares cultures performed because they did not return to follow-up; in these cases, the classification of colonization was assumed to be "undefined".

The rates of colonization became higher as more than 2 swabs were taken, going from 45.4% at the first sample collection up to 65.6% at the third collection. (FIGURE 1)

The median follow-up period was 164 days (range: 11 to 956; mean: 189; standard deviation: 153). There was no difference in the follow-up period among colonized and non-colonized patients ($p= 0.21$). The interval between first and second collection had a mean of 93 days and median of 63 (range: 6 to 658); the interval between second and third collection had a mean of 100 days and median of 83 (range: 7 to 416).

The characteristics of the studied subjects are showed in Table 1. The median age was 36 and 62% of them were male. Ethnic characteristics were white in 82.9%, black in 11.7% and brown in 5.4%. Age, gender, ethnics, intravenous drug abuses or time from HIV diagnostic were not associated with colonization ($p> 0.05$). Viral load (copies/ml) in the follow-up period was undetectable (<400 copies/ml) in 50.5% of patients, <50.000 in 29.2% of patients and >50.000 19.2% of patients.

Clinical AIDS was diagnosed in 43 (38.7%) individuals. Patients with clinical AIDS diagnostic were more likely to be colonized than non-AIDS patients ($p= 0.02$).

Among patients who had concluded three samples, 64.6% (64 of 99) were nasal carriers; of these patients, 25.2% (25 of 99) were transient carriers, 39.4% (39 of 99) were persistent carriers. Using PFGE profile, the persistent carriers were classified as simple persistent colonization in 61.5% (24 of 39), multiple persistent colonization in 17.9% (7 of 39), and combined persistent colonization in 20.5% (8 of 39)

of cases (FIGURE 2). Regarding clinical AIDS, no statistical difference was observed between transient *versus* persistent colonization ($p=0.89$).

The follow-up period was similar among colonized and non-colonized patients ($p=0.65$). Almost all patients whose state of colonization was detected only after the second sample were classified as having transient colonization, except in 2 cases (one simple persistent, one multiple persistent). There was no difference in follow-up period, considering the types of colonization. Regarding the time intervals between samples collection, no statistical difference occurred comparing transient *versus* persistent colonization ($p>0.05$).

During the follow-up period, the frequency of asymptomatic patients was 39.6%, 41.0% and 26.5% respectively at the first, second and third swab collection. The most frequently identified diseases were skin diseases (not wound), bacterial infectious (other than staphylococcal), viral hepatitis, digestive disturbances and metabolic disturbances.

There was no difference among the median level of CD4 considering presence or absence of *S. aureus* at any of all three samples (respectively $p=0.34$, 0.85 and 0.87 for the first, the second and the third sample). Patients who had any CD4 cell count lower than 200 cells/mm³ in the follow-up period ($n=13$) had the same probability to be colonized as the patients who had higher levels of CD4 in the whole period ($n=96$; $p=1.00$). At any of the three samples, having CD4 lower than 200 cells/mm³ showed no difference for negative or positive result for *S. aureus* (first sample: $p=0.50$; second sample: $p=0.28$; third sample: $p=0.26$). Due to the small number of colonized patients with CD4 < 200 cells/mm³, it was not possible to analyze the differences among them considering the type of colonization.

History of hospitalization more than 2 years before the first collection could not be associated with *S. aureus* colonization. Hospitalization during follow-up period occurred only in four cases. Therefore, it was not possible to associate this risk factor with positive results for *S. aureus*. The univariate analysis for each sample collection showed that the following factors had no significance for the presence of *S. aureus*: simultaneous diseases at the time of collection, previous ambulatory assistance, recent treatment by inhalation or injection or therapy and prophylaxis for mycobacteria ($p<0.05$). Antimicrobial therapy use at the time of collection was significantly associated with negative results for *S. aureus* at the three samples (respectively, $p=0.03$, 0.02 and 0.03 for the first, second and third samples). Previous antimicrobial therapy until six months before the nasal swab collection was associated with negative results for *S. aureus* at the second and third samples ($p=0.02$; $p=0.01$). Clinical AIDS was associated with the presence of *S. aureus* at the second and third samples ($p=0.02$, $p=0.006$). Other risk factors were associated with *S. aureus* presence at only second sample collection: antiretroviral therapy ($p=0.03$) and dapson therapy ($p=0.01$).

It was entered in the model for multiple logistic regression for the first collection: antimicrobial use; sulfametoxazol+trimetropin use and wound presence. This results in independent inverse association for antimicrobial use at the time of sample collection ($p=0.047$; OR= 0.2). For the second sample collection the variables entered was: clinical AIDS, antimicrobial use at the time of collection, antimicrobial use before six

months from collection time, dapson therapy, antiretroviral therapy. This results in independent association for antiretroviral therapy ($p=0.012$, $OR=4.2$) and inverse independent association for antimicrobial use before six months from collection time ($p=0.0053$, $OR=0.069$). For the third sample collection the variables entered was: clinical AIDS, antimicrobial use at the time of collection, antimicrobial use before six months from collection time and sulfamethoxazol+trimetropin use. This results in independent association for clinical AIDS ($p=0.0027$, $OR=4.0$) and inverse association for antimicrobial use ($p=0.014$, $OR=14.71$)

4. Discussion

The present study confirms previous studies regarding the observed high rates of *S. aureus* colonization in HIV-infected patients, although our studied population had few intravenous drug users and no recent hospitalization. It suggests that *S. aureus* colonization is intrinsically combined with HIV population and is not related with other risk factors common in other types of patients groups.

Regarding recent hospitalization, Villacian et al (2004) studied HIV outpatients and did not find hospital admission as a risk factor for acquisition of methicillin-sensitive *S. aureus*. In their study, the history of hospitalization was associated only with the presence of methicillin-resistant *S. aureus* strains. Some researches highlighted the overlap of HIV-infected individuals and injecting drug users, however, the present study agreed with other authors that colonization for *S. aureus* in HIV-patients are not exclusively related to the use of intravenous drug (HOLBROOK et al, 1997; MILLER et al, 2003;

It is important to note that the criteria used to identify the carriage patterns have varied from study to study with respect to the number of nasal specimen cultures that are performed, the follow-up period, and the interpretation of the culture data that are obtained (VANDENBERGH et al, 1999; NGUYEN et al, 1999). In fact, our data suggests that rates of *S. aureus* carriage can be higher if the research includes more than one sample collection per patient.

Differences in reported carriage rates are also due to the various definitions used to assign carriage patterns. Three carriage patterns can be distinguished: persistent carriage, transient carriage and non-carriage (VANDENBERGH et al, 1999; NGUYEN et al, 1999). Nguyen et al (1999) did not considered as staphylococcal carriers individuals that had only transient colonization, although these patients can harbor resistant strains in the hospital and could contribute to disseminate them (PADOVEZE, 2001). Despite this lack of literature consistency, it is relevant to distinguish persistent from transient nasal carriage.

Using genotyping techniques, the present study demonstrated that the most common situation in our HIV population is to have simple persistent carriage with the same genomic pattern. However, in some cases the genomic pattern changes over time, but we could not detect the associated factors. In a randomized clinical trial of mupirocin in the eradication of *S. aureus* in HIV-patients, Martin et al (1999) compared the

strains recovered after treatment using this topic antimicrobial. They observed that in 19 cases, 16 patients recolonized with the same strain, but in 3 cases occurred changes of the strains.

The correct separation of the population into individuals who are true persistent carriers versus those who carry *S. aureus* only intermittently seems to be relevant, since it allows the studies of *S. aureus* nasal carriage to be better focused. Moreover, it may have a direct clinical impact on the design of intervention strategies because some groups seem to be persistent carriers but, in fact, they are transient carriers acquiring different strains. It is important to design studies in order to clarify the reasons for this behavior.

Some authors observed that the use of agents active against *S. aureus* could influence carriage rate and they expected to see patients who receive such agents to be at lower risk of developing carriage state. Our data suggest that the use of antibiotic therapy at the time or six month before the sample collection is associated with negative results for *S. aureus* colonization.

Raviglione et al (1990) showed a trend to increase the carriage rate when zidovudine is administered, possibly reflecting changes in the normal flora produced by this agent. In our study, the use of antiretroviral therapy was observed as risk factor for positive result for *S. aureus* only at once (second sample collection) and this result suggests that this risk factor is not unequivocally associated with *S. aureus* colonization, but can vary along the time.

Weinke et al (1992) observed that patients with AIDS had higher carriage rate compared to patients who were only HIV-positive. These authors suggested that *S. aureus* colonized patients were more severely ill. In our study, the median CD4 was more than 400 cells/mm³ and about one third of the patients were asymptomatic at the time of sample collection. Despite this, clinical AIDS was associated with *S. aureus* colonization in the whole group, but when the analysis was done by each time of collection, this risk factor appear significant only at the third sample. It seems that this factor may be associated with other risks to favor colonization, but in our study it was not possible to identify any other association. Therefore, further studies are needed to clarify this point.

HIV-infected patients have high rates of colonization independently of nosocomial acquisition or intravenous drug use. To define strategies for *S. aureus* elimination from nares with agents such as rifampicin or mupirocin it is desirable to know if the patients are persistent or transient carries. It shall be noted that some persistent carries may behave like transient carries because they acquire different genotypic strains. Regarding preventing strategies, this last subgroup should be considered as transient carriers.

References

1. BRANCHINI MLM, MORTLAND VH, TRESOLDI AT, NOWAKONSKY AV, DIAS MBSD, PFALLER MA. Application of Genomic DNA Subtyping by Pulsed Field Gel Electrophoresis and Restriction Enzyme Analysis of Plasmid DNA to Characterize Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* from Two Nosocomial Outbreaks. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1993, 17: 275-81.
2. CRAVEN DE, STEGER KA, HIRSCHHORN LR. Nosocomial Colonization and Infection in Persons Infected with Human Immunodeficiency Virus. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1996, 17(5): 304-18.
3. DEGA H, ELIASZEWICZ M, GISSELBRECHT M et al. Infections Associated with Totally Implantable Venous Access Devices (TIVAD) in Human Immunodeficiency Virus-Infected Patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1996, 13(2): 146-54.
4. FICHTENBAUM CJ, DUNAGAN C, POWDERLY WG. Bacteremia in Hospitalized Patients Infected with the Human Immunodeficiency Virus: A Case-Control Study of Risk Factors and Outcome. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1995, 8(1): 51-7.
5. FRANK U, DASCHNER FD, SCHULGEN G, MILLS J. Incidence and Epidemiology of Nosocomial Infections in Patients Infected with Human Immunodeficiency Virus. *Clin Infect Dis* 1997, 25: 318-20.
6. GANESH R, CASTLE D, McGIBBON D, PHILLIPS I, BRADBEER C. Staphylococcal Carriage and HIV Infection [Letter]. *Lancet* 1989, 2: 558.
7. GOETZ AM, SQUIER C, WAGENER MM, MUDER RR. Nosocomial Infections in the Human Immunodeficiency Virus-Infected Patient: A two-year survey. *Am J Infect Control* 1994, 22(6): 334-9.
8. HOLBROOK KA, KLEIN RS, HARTEL D et al. *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization in HIV-Seropositive and HIV-Seronegative Drug Users. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1997, 16: 301-6.
9. JACOBSON MA, GELLERMAN H, CHAMBERS H. *Staphylococcus aureus* Bacteremia and Recurrent Staphylococcal Infection in Patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome and AIDS-Related Complex. *Am J Med* 1988, 85: 172-6.
10. LAUPLAND KB, CONLY JM. Treatment of *Staphylococcus aureus* Colonization and Prophylaxis for Infection with Topical Intranasal Mupirocin: An Evidence-Based Review. *Clin Infect Dis* 2003, 37: 933-8.
11. MARTIN JN, PERDREAU-REMINGTON F, KARTALIJA MK et al. A Randomized Clinical Trial of Mupirocin in the Eradication of *Staphylococcus aureus* Nasal Carriage in Human Immunodeficiency Virus Disease. *J Infect Dis* 1999, 180: 896-899.

12. MILLER M, CESPEDES C, VAVAGIAKIS P, KLEIN RS, LOWY FD. *Staphylococcus aureus* Colonization in a Community Sample of HIV-Infected and HIV-Uninfected Drug Users. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2003, 22: 463-9.
13. MUKAU L, TALAMINI MA, SITZMANN JV, BURNS C, McGUIRE ME. Long Term Central Venous Access vs Other Home Therapies: Complications in Patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome. *JPEN* 1992, 16(5): 455-9.
14. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (1996). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Ninth Informational Supplement, M100-29. NCCLS, Wayne, PA, USA.
15. NGUYEN MH, KAUFFMAN CA, GOODMAN RP et al. Nasal Carriage of and Infection with *Staphylococcus aureus* in HIV-Infected Patients. *Ann Intern Med* 1999, 130(3): 221-5.
16. ONORATO M, BORUCKI MJ, BAILLARGEON G et al. Risk Factors for Colonization or Infection due to Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in HIV-Positive Patients: A Retrospective Case-Control Study. *Infect Contro Hosp Epidemiol* 1999, 20(1): 26-30.
17. PADOVEZE MC, TRABASSO P, BRANCHINI MLM. Nosocomial Infections among HIV-Positive and HIV-Negative Patients in a Brazilian Infectious Diseases Unit. *Am J Infect Control* 2002, 30((6): 346-50.
18. PADOVEZE MC, TRESOLDI AT, NOWAKONSKI AV, AOKI FH, BRANCHINI MLM. Nasal MRSA Colonization of AIDS Patients Cared for in a Brazilian University Hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2001, 22(12): 783-5.
19. RAVIGLIONE MC, MARIUZ P, PABLOS-MENDEZ A, BATTAN R, OTTUSO P, TARANTA A. High *Staphylococcus aureus* Nasal Carriage Rate in Patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome or AIDS-Related Complex. *Am J Infect Control* 1990, 18(2): 64-9.
20. SHAPIRO M, SMITH KJ, JAMES WD et al. Cutaneous Microenvironment of Human Immunodeficiency Virus (HIV)-Seropositive and HIV-Seronegative Individuals, with Special Reference to *Staphylococcus aureus* Colonization. *J Clin Microbiol* 2000, 38(9): 3174-8.
21. SISSOLAK D, GEUSAU A, HEINZE G, WITTE W, ROTTER ML. Risk Factors for Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* in Infectious Disease Patients, Including Patients Infected with HIV, and Molecular Typing of Colonizing Strains. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002, 21: 88-96.
22. STROUD L, SRIVASTAVA P, CULBER D et al. Nosocomial Infections in HIV-Infected Patients: Preliminary Results from a Multicenter Surveillance System (1989-1995). *Infect Control Hosp Epidemiol* 1997, 18(7): 479-85.
23. TUMBARELLO M, DONATI KG, TACCONELLI E et al. Risk Factors and Predictors of Mortality of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Bacteraemia in HIV-Infected Patients. *J Antimicrob Chem* 2002, 50: 375-82.

24. VANDENBERGH MFQ, YZERMAN PFE, BELKUN AV, BOELENS HAM, SIJMONS M, VERBRUGH HA. Follow-up of *Staphylococcus aureus* Nasal Carriage after 8 Years: Redefining the Persistent Carrier State. J Clin Microbiol 199, 37(10): 3133-40.
25. WEINKE T, SCHILLER R, FEHRENBACH FJ, POHLE HD. Association Between *Staphylococcus aureus* Nasopharyngeal Colonization and Septicemia in Patients Infected with the Human Immunodeficiency Virus. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1982, 11(11): 985-9.

Table 1. Characteristics of HIV-positive outpatients colonized or non-colonized by *Staphylococcus aureus*

Characteristic	Colonized	Non-Colonized	P value
Age	mean = 37.7 median = 37.0	35.5 32.5	0.10
Gender	female = 23 male = 46	female = 19 male = 23	0.29
Ethnics	white = 61 black = 7 brown = 1	white = 31 black = 6 brown = 5	0.08
Intravenous drug use	n = 6	n = 5	0.40
Clinical AIDS	n = 33	n = 10	0.02
Time from HIV diagnosis before the first nasal swab (days)	mean = 1855 median = 1730	mean = 1459 median = 1460	0.15
CD4 <200 cell/mm ³	n = 8	n = 5	1.00
Viral load: - indetectable all the time (<400 copies/mL) - > 400 copies/ mL at any time	n = 35 n = 28	n = 15 n = 20	0.32

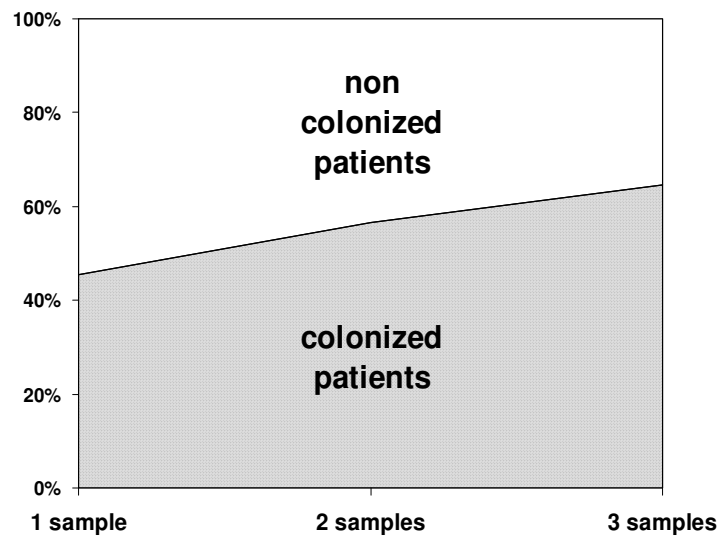


Figure 1. *Staphylococcus aureus* colonization rates in HIV-positive outpatients considering number of nasal swabs taken.

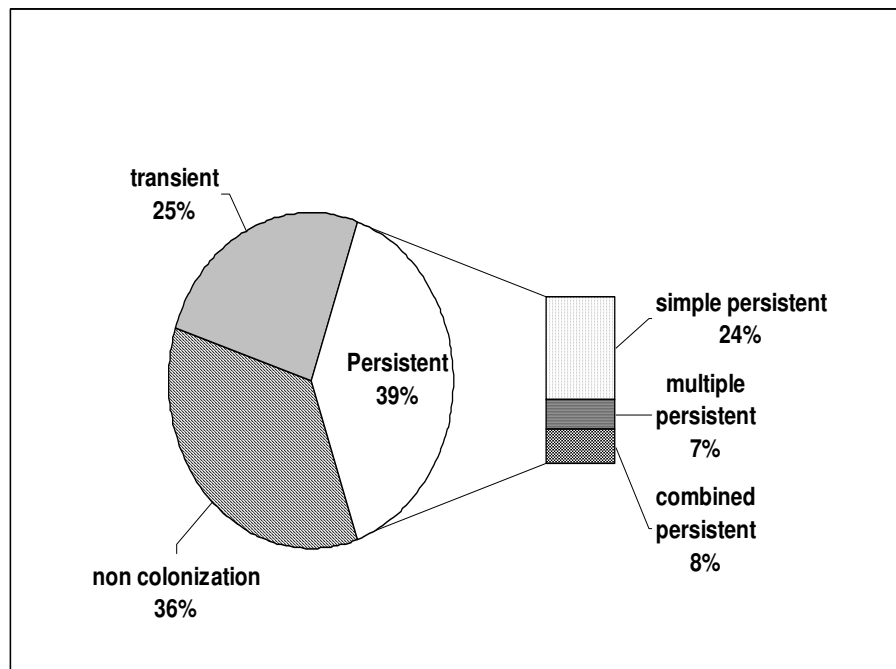


Figure 2. Type of *Staphylococcus aureus* nasal colonization in HIV-positive outpatients