



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

Renata Wrobel Folescu Cohen

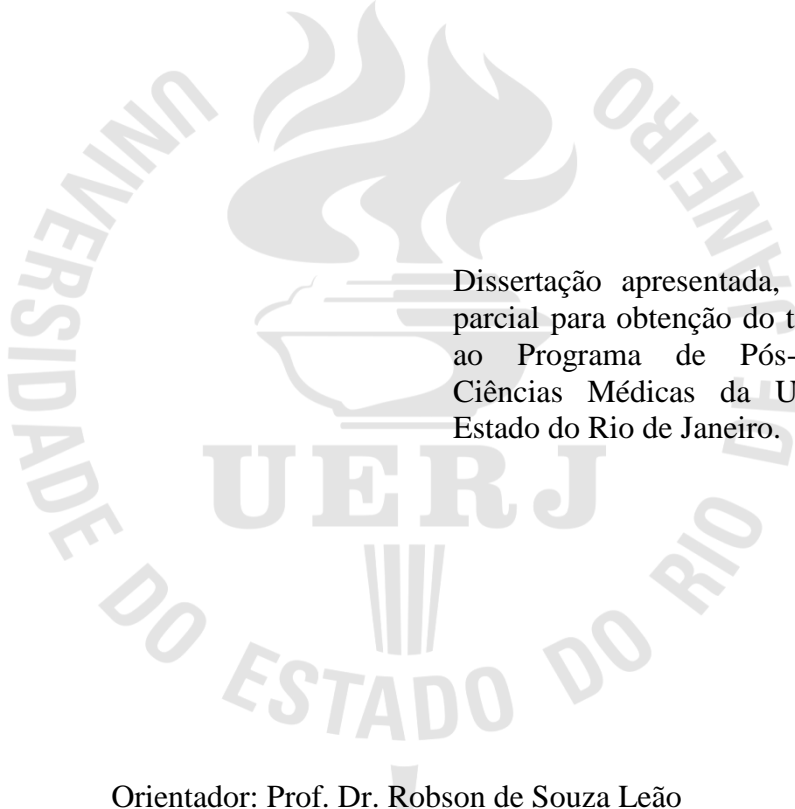
***Staphylococcus aureus* resistente a meticilina: impacto clínico em pacientes
com fibrose cística acompanhados em centro de referência no Rio de
Janeiro**

Rio de Janeiro

2015

Renata Wrobel Folescu Cohen

***Staphylococcus aureus* resistente à meticilina: impacto clínico em pacientes com fibrose
cística acompanhados em centro de referência no Rio de Janeiro**



Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientador: Prof. Dr. Robson de Souza Leão

Coorientadora: Prof^a. Dra. Elizabeth de Andrade Marques

Rio de Janeiro

2015

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

C678 Cohen, Renata Wrobel Folescu.

Staphylococcus aureus resistentes à metilina: impacto clínico em
pacientes com fibrose cística acompanhados em centro de referência no Rio de
Janeiro / Renata Wrobel Folescu Cohen. - 2015.

65 f.

Orientador: Robson de Souza Leão.

Coorientadora: Elizabeth de Andrade Marques.

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro,
Faculdade de Ciências Médicas. Pós-graduação em Ciências Médicas.

1. Fibrose cística - Teses. 2. *Staphylococcus aureus* resistente a metilina.
I. Leão, Robson de Souza. II. Marques, Elizabeth de Andrade. III.
Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas.
IV. Título.

CDU 576.8

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial de
dissertação, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Renata Wrobel Folescu Cohen

***Staphylococcus aureus* resistente à metilicina: impacto clínico em pacientes com fibrose cística acompanhados em centro de referência no Rio de Janeiro**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 10 de agosto de 2015.

Orientador: Prof. Dr. Robson de Souza Leão
Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Coorientadora: Prof^ª. Dra. Elizabeth de Andrade Marques
Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Banca Examinadora:

Prof^ª. Dra Cláudia Henrique da Costa
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof^ª. Dra. Mara Lucia Penna Queiroz
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof^ª. Dra. Rachel Leite Ribeiro
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Rio de Janeiro

2015

DEDICATÓRIA

À minha família, por me mostrar que a estrada vai além do que se vê.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por estar onipresente em todos os momentos da vida e me permitir ter essas pessoas ao meu redor;

À minha filha Nina, pelo olhar alegre, pelos abraços, por ouvir horas intermináveis de leituras que não eram nada infantis, por sorrir quando eu já me questionava se estava fazendo certo e, principalmente, por fazer parte do meu dia-a-dia me lembrando o que é felicidade de verdade;

Ao meu marido, David, por acreditar em mim mesmo quando eu achava que não ia conseguir, por ter a calma que por vezes me falta e pelo amor e carinho incondicionais com a nossa família;

À minha mãe Tania, meu maior exemplo, por ter os melhores conselhos e por me acolher como parceira profissional, me ensinando não só a teoria, mas também a praticar medicina com o coração;

Ao meu pai, Jaime, pelo apoio matemático e preciso e pelo incentivo ao longo desta jornada;

À minha avó Eva, pilar da nossa família, pelo exemplo de disposição e pelas horas de entretenimento para Nina quando estive ausente;

À minha irmã Julia, por me fazer entender que amor e carinho, muitas vezes, dispensam palavras e superam distâncias;

Ao meu orientador Prof Dr Robson de Souza Leão, por contribuir com o seu conhecimento acadêmico, por sua dedicação a esta dissertação e por me encorajar a seguir os caminhos da pesquisa, sempre com entusiasmo;

À minha co-orientadora Prof Dr^a Elizabeth Marques pelas sugestões precisas e pelo exemplo de dedicação a pesquisa;

À Dr^a Laurinda Higa, por seus grandes conhecimentos em Medicina, que me foram transmitidos com voz calma e raciocínio lógico mesmo antes de me formar médica;

Ao Prof Dr Ronir Raggio Luiz pelo apoio estatístico, de fundamental importância na concretização dos resultados;

Aos amigos, pelos momentos de descontração e pela paciência e apoio ao longo dessa jornada. Em especial às amigas, Deborah Aragão e Juliana Fionda, por estarem sempre presentes, construindo lado a lado nossa trajetória pessoal e profissional;

Aos colegas do IFF, pelos conhecimentos e por me ajudarem a construir uma visão diferenciada da prática médica;

Aos pacientes, que não só me incentivam a estudar a complexidade da fibrose cística, mas também me fazer enxergar que a vida vale a pena.

A verdadeira viagem de descobrimento não consiste em procurar novas paisagens,
mas em ter novos olhos

Marcel Proust

RESUMO

COHEN, Renata Wrobel Folescu. ***Staphylococcus aureus* resistente a meticilina: impacto clínico em pacientes com fibrose cística acompanhados em centro de referência no Rio de Janeiro**. 2015. 65f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

A fibrose cística (FC) é uma doença autossômica recessiva multissistêmica que atinge 1:2500 nascidos vivos caucasianos. Apesar dos progressos no entendimento da base molecular e fisiopatologia da FC, as infecções respiratórias recorrentes são a maior causa de morbimortalidade da doença. Na última década, houve aumento na prevalência de diversos microrganismos potencialmente patogênicos em pacientes com FC, como *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA), alcançando mais de 20%. Diante deste cenário de aumento da prevalência de MRSA e pouca literatura disponível, torna-se essencial um melhor entendimento da repercussão clínica da colonização por esta bactéria nos pacientes com FC para implementação de protocolos terapêuticos nessa população. Este trabalho tem como objetivo avaliar a repercussão da colonização crônica por MRSA em pacientes com FC acompanhados no Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira – FIOCRUZ. Trata-se de estudo caso-controle, conduzido entre 2004 e 2013. Foram critérios de inclusão no estudo: diagnóstico de FC, acompanhamento clínico regular no período do estudo e colonização crônica por *S. aureus* sensível a meticilina (MSSA) ou MRSA nas secreções respiratórias. Foi feito pareamento para cada caso de MRSA crônico, segundo gênero, idade, momento da cronificação e presença de co-infecção crônica por *Pseudomonas aeruginosa*, totalizando 20 pares caso-controle. A partir da consulta aos prontuários dos pacientes incluídos, foram coletados dados demográficos e clínicos, como: gênero, data de nascimento, data do diagnóstico, estado de suficiência pancreática (gordura fecal ou elastase fecal ou necessidade de reposição exógena de enzimas). Os pacientes do estudo foram avaliados de acordo com os seguintes parâmetros: estado nutricional (índice de massa corporal – IMC e percentil de IMC), função pulmonar (VEF1% e CVF%) e alterações tomográficas (escore de Bhalla modificado). Não houve diferenças significativas entre casos e controles com relação ao aspecto nutricional. Dados de espirometria mostraram uma tendência de maior obstrução ao fluxo aéreo em pacientes com MRSA. Os pacientes MRSA apresentaram mais dano estrutural pulmonar no momento da colonização crônica e acentuada progressão da lesão, demonstrada não só pelo valor do escore de Bhalla total, mas também por todos os seus parâmetros individualmente. Os pacientes colonizados por MRSA apresentam, no momento da cronificação, dados de maior comprometimento respiratório, tanto no aspecto funcional quanto estrutural. A progressão da doença se mostra também mais rápida em pacientes colonizados por MRSA do que por MSSA, demonstrado através de comparação caso-controle, evitando possíveis variáveis de confundimento.

Palavras chave: Fibrose Cística. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina.

ABSTRACT

COHEN, Renata Wrobel Folescu. **Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: clinical impact in cystic fibrosis patients**. 2015. 65f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

MRSA infection prevalence in CF patients has increased over the past decade. Information that portrays the conditions of the respiratory system and progression of lung structural lesions are needed among MRSA patients. The aim was to evaluate the clinical and tomographic impact of chronic MRSA infection and compare data with a control group chronically colonized by methicillin susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA). In this case-control study, each patient was evaluated for BMI, spirometric parameters and modified Bhalla score values for HRCT at chronic colonization moment with MRSA and MSSA and throughout the study period. Twenty case-control pairs were included. There were no significant differences between groups regarding BMI or BMI percentile at the moment of chronic MRSA colonization or for annual rate of change. Spirometric data showed a trend towards worse outcome in MRSA group. MRSA patients presented more severe and marked progression of lung disease, demonstrated by modified Bhalla score total value and all its parameters individually. MRSA chronic colonized patients present more functional and structural lung damage at the moment of chronic colonization and disease progression seems to be faster. This was shown through case-control comparison with control for potential confounding variables.

Keywords: Cystic fibrosis. Methicillin-resistant. *Staphylococcus aureus*.

LISTAS DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Representação esquemática do desenho do estudo	28
Quadro 1 -	Escore de Bhalla modificado	30
Figura 2 -	Imagem tomográfica (TCAR) sem alterações	32
Figura 3 -	Imagem tomográfica (TCAR)	33
Figura 4 -	Imagem tomográfica (TCAR)	33
Figura 5 -	Imagem tomográfica (TCAR)	34
Gráfico 1 -	Avaliação do escore de Bhalla em dois momentos	43
Figura 6 -	Imagens tomográficas de paciente do grupo MSSA	47
Figura 7 -	Imagens tomográficas de paciente do grupo MRSA.....	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Pareamento de casos e controles incluídos no estudo	38
Tabela 2 -	Caracterização da população do estudo.....	39
Tabela 3 -	Volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF1%) no momento da cronificação e sua evolução ao longo do estudo em casos (MRSA) e controles (MSSA)	40
Tabela 4 -	Capacidade vital forçada (CVF%) no momento da cronificação e sua evolução ao longo do estudo em casos (MRSA) e controles (MSSA).....	40
Tabela 5 -	Evolução individual do escore de Bhalla em casos (MRSA) e controles (MSSA)	41
Tabela 6 -	Escore de Bhalla no momento da cronificação e sua evolução ao longo do estudo em casos (MRSA) e controles (MSSA)	42
Tabela 7 -	Tempo, em anos, entre as tomografias de tórax no momento e após a cronificação em casos (MRSA) e controles (MSSA)	42
Tabela 8 -	Avaliação do escore de Bhalla em casos (MRSA) e controles (MSSA) em dois momentos	43
Tabela 9 -	Parâmetros do escore de Bhalla no momento da cronificação	45
Tabela 10 -	Parâmetros do escore de Bhalla após cronificação	46
Tabela 11 -	Índice de massa corporal no momento da cronificação e sua evolução ao longo do estudo em casos (MRSA) e controles (MSSA)	48
Tabela 12 -	Percentil do índice de massa corporal no momento da cronificação e sua evolução ao longo do estudo em casos (MRSA) e controles (MSSA)	49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATS	<i>American Thoracic Society</i>
BGNF	Bastonetes Gram negativos não fermentadores
CA-MRSA	MRSA adquirido em comunidade
CBc	Complexo <i>Burkholderia cepacia</i>
CFF	<i>Cystic Fibrosis Foundation</i>
CFTR	<i>Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator</i>
CVF	Capacidade vital forçada
Δ F508	F508del (deleção de três pares de base do códon da fenilalanina)
DIMI-UERJ	Disciplina de Microbiologia, Imunologia da Faculdade de Ciências Médicas
FC	fibrose cística
GBEFC	Grupo Brasileiro de Estudos de Fibrose Cística
HA-MRSA	MRSA adquirido em ambiente hospitalar
HUPE	Hospital Universitário Pedro Ernesto
IFF/FIOCRUZ	Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira
IMC	Índice de massa corporal
LABAC	Laboratório de Bacteriologia
MLST	<i>Multilocus Sequence Typing</i>
MRSA	<i>S. aureus</i> resistente a metilicina
MSSA	<i>S. aureus</i> sensível a metilicina
PFGE	Eletroforese em gel de campo pulsado
PFR	Prova de função respiratória
PVL	<i>Panton-Valentine leukocidin</i>
REBRAFC	Registro Brasileiro de Fibrose Cística
SCC _{mec}	<i>Staphylococcal Cassete Chromosome mec</i>
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
TCAR	Tomografia computadorizada de alta resolução de tórax
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro
VEF ₁	Volume expiratório forçado no primeiro segundo

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO.....	13
1	OBJETIVOS	24
1.1	Objetivo geral	24
1.2	Objetivos específicos	24
2	MATERIAL E MÉTODOS	25
2.1	População em estudo	26
2.2	Avaliação de função respiratória	29
2.3	Avaliação radiológica através de Tomografia computadorizada de alta resolução de tórax (TCAR)	29
2.4	Avaliação nutricional	35
2.5	Avaliação bacteriológica	35
2.6	Análise estatística	35
3	RESULTADOS	37
3.1	População em estudo	37
3.2	Função respiratória	39
3.3	Escore de Bhalla - Tomografia computadorizada de alta resolução de tórax (TCAR)	41
3.4	Estado nutricional	48
4	DISCUSSÃO.....	50
	CONCLUSÃO.....	55
	REFERÊNCIAS.....	56
	ANEXO - Declaração de aprovação no comitê de ética.....	63

INTRODUÇÃO

Aspectos gerais da fibrose cística

A fibrose cística (FC) se enquadra entre as doenças genéticas ameaçadoras à vida e habitualmente apresenta acometimento multissistêmico. Decorrente da sequência fisiopatológica desencadeada a partir do defeito genético básico, a infecção bacteriana crônica é responsável pela lesão estrutural pulmonar e disfunção respiratória progressiva. A insuficiência respiratória é responsável por 95% dos óbitos em pacientes com FC (HELBICH *et al.*, 1999).

As infecções pulmonares bacterianas se estabelecem muito precocemente nesses pacientes e, em geral, estão associadas a um número limitado de microrganismos. O *Staphylococcus aureus* e o *Haemophilus influenzae* estão associados a infecções em pacientes mais jovens e, posteriormente, a *Pseudomonas aeruginosa* coloniza o trato respiratório. O combate à infecção e à doença pulmonar progressiva tem sido o grande objetivo das estratégias de acompanhamento e tratamento desses pacientes (HELBICH *et al.*, 1999; MARQUES, 2011).

A mediana da expectativa de vida que era de 2 anos de idade, quando a doença foi descrita (1938), atinge hoje a mediana de 41,1 anos nos países da América do Norte (DAVIS, 2006; CFF PATIENT REPORT, 2012). O aumento na expectativa de vida de pacientes com FC resulta de diagnóstico precoce e implementação de terapias que otimizam a função pulmonar, status nutricional e tratamento das infecções respiratórias crônicas. Nesse sentido, a existência de centros de referência tem contribuído definitivamente para o tratamento mais eficaz. A chave para eficácia dos centros de referência é a existência de equipe multidisciplinar, que deve incluir médico, enfermeiro, microbiologista, fisioterapeuta, nutricionista, farmacêutico, psicólogo, assistente social, geneticista e outros profissionais de saúde, todos com experiência em FC (CONWAY *et al.*, 2014).

O Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira (IFF/FIOCRUZ), como centro de referência, presta assistência multidisciplinar para pacientes pediátricos com FC, residentes no Estado do Rio de Janeiro. O acompanhamento é feito através de avaliação clínica, laboratorial e de imagem, e a separação de pacientes em grupos de

atendimento de acordo com o padrão de colonização microbiana contribui para a melhora na qualidade de vida deste grupo.

Epidemiologia da fibrose cística

A FC é considerada a doença congênita letal mais comum em populações de origem caucasiana (Europa Central, América do Norte, Austrália). A incidência varia entre os países e grupos étnicos, atingindo 1:2500 a 1:3500 em caucasianos nascidos vivos, cerca de 1:17000 em afro-americanos e 1:31000 em asiáticos (GENETICS HOME REFERENCE: CYSTIC FIBROSIS, 2014). Segundo informações do registro de pacientes da *Cystic Fibrosis Foundation* (CFF) de 2012, aproximadamente 30000 pacientes recebem tratamento na América do Norte em centros de referência creditados à CFF e 70000 mundialmente (CFF PATIENT REPORT, 2012).

No Brasil, não existem estudos epidemiológicos abrangentes que permitam estimar a incidência no país como um todo, porém um estudo nas regiões Sul e Sudeste evidenciou a incidência de 1:7576 nascidos vivos (RASKIN, 2001). Outros estudos regionais evidenciaram incidências de 1:6902 nascidos vivos no Rio de Janeiro (CABELLO *et al.*, 1999) e 1:9520 no Paraná (SANTOS *et al.*, 2005). Dados do Grupo Brasileiro de Estudos de Fibrose Cística (GBEFC) de 2011 referem à existência de 2182 pacientes com FC cadastrados para acompanhamento (Registro Brasileiro de Fibrose Cística- REBRAFC, 2011).

Fisiopatologia da fibrose cística

A base genética para FC é a existência de mutações em um único gene localizado no braço longo do cromossomo 7, no locus q31, com 27 éxons (GIBSON *et al.*, 2003). A doença tem padrão de herança autossômica recessiva, sendo necessário apresentar duas mutações para manifestar a doença. Os pais dos indivíduos afetados por FC são normalmente, ambos, heterozigotos portadores de mutação. O heredograma esperado a partir de pais heterozigotos é de

25% da prole homozigotos normais, 50% heterozigotos fenotipicamente normais e 25% homozigotos afetados pela doença. No presente momento, 1975 mutações foram identificadas (CYSTIC FIBROSIS MUTATION DATABASE, 2014). A mutação $\Delta F508$ é a mais frequente na população mundial. Nas populações originárias do norte da Europa, a $\Delta F508$ é responsável por 70-75% das mutações, e sua incidência diminui para o centro e Sul da Europa (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2004). Segundo registro brasileiro de fibrose cística, a mutação $\Delta F508$ foi encontrada em homozigose em 26% e em heterozigose em 42% dos pacientes (Registro Brasileiro de Fibrose Cística-REBRAFC, 2011).

O gene da FC codifica uma proteína conhecida como proteína reguladora da condutância transmembrana da fibrose cística (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*- CFTR), que se localiza na membrana apical de diversas células epiteliais e regula o transporte transmembranar destas. A disfunção da CFTR leva ao desencadeamento da sequência fisiopatológica da FC (LUCZAK *et al.*, 2002). Após sua síntese, a CFTR é dobrada e preparada para o transporte até a membrana celular no retículo endoplasmático. Uma vez na membrana da célula, ela é responsável pela condução de cloro através da mesma e atua na regulação do conteúdo de íons e água nas secreções luminiais. O conhecimento dos mecanismos moleculares pelos quais as mutações levam a expressão da FC permitiu que elas fossem categorizadas em seis classes de acordo com os efeitos funcionais na síntese, estrutura e função da proteína CFTR (NISSIM-RAFINIA *et al.*, 2007; PARANJAPE & MOGAYZEL, 2014). As mutações de classe I interferem na produção da CFTR, ou seja, não há biossíntese da proteína. Nas mutações de classe II, como a $\Delta F508$, a CFTR é processada inadequadamente, sendo degradada no retículo endoplasmático. As mutações de classe III codificam CFTR, que chega a membrana apical, mas que é incapaz de ser ativada. Nas mutações de classe IV, a CFTR chega à membrana celular, é ativada, mas há função reduzida do canal de cloro. As mutações de classe V interferem na maturação da CFTR gerando uma quantidade menor de proteína que, no entanto, é funcionante (ORENSTEIN *et al.*, 2000). Classe VI é caracterizada pela presença de CFTR funcionante porém com estabilidade diminuída (ZIELENSKI, 2000).

A quantidade de CFTR funcional presente na superfície celular, determinada pelo genótipo, está associada ao largo espectro de fenótipos de FC existente (ZIELENSKI, 2000). As mutações de classe I, II e III estão geralmente associadas à deficiência absoluta de atividade da CFTR, enquanto as mutações de classe IV, V e VI conferem atividade residual da CFTR. Essa

classificação tem sido útil no entendimento da correlação genótipo-fenótipo, principalmente no que se refere ao comprometimento pancreático: as mutações de classe I, II e III configuram um quadro clínico mais complexo com insuficiência pancreática e doença pulmonar; as mutações de classe IV e V tendem a expressar formas mais brandas de deficiência da CFTR, que incluem desde quadros de suficiência pancreática até FC atípica, que se apresenta com comprometimento pulmonar leve e/ou agenesia congênita de vasos deferentes em homens e até ausência completa de sinais e sintomas em mulheres (MOSKOWITZ *et al.*, 2005).

O defeito genético básico e a subsequente disfunção da CFTR resultam em redução ou ausência de função do canal de cloro, levando à produção de secreções hiperviscosas a partir de glândulas exócrinas. A disfunção orgânica decorrente é responsável pelas diferentes expressões clínicas da doença, tais como: concentração de cloro elevada no suor, comprometimento respiratório caracterizado por infecções bacterianas e bronquiectasias, insuficiência pancreática, obstrução intestinal, cirrose biliar e agenesia congênita bilateral de vasos deferentes, características muitas vezes encontradas em combinação (ORENSTEIN *et al.*, 2000).

Na maioria dos pacientes com FC, a insuficiência pancreática está presente desde o período neonatal. Normalmente, a proteína CFTR presente na membrana apical das células dos ductos pancreáticos é responsável pela secreção de bicarbonato, cloro e fluidos para sua luz, mantendo a solubilidade das enzimas derivadas dos ácinos e transportando-as para o duodeno. Nos pacientes com FC, a disfunção da CFTR leva à redução de bicarbonato e fluidos e ao consequente aumento da viscosidade da secreção pancreática. Aparentemente o comprometimento pancreático é subsequente à obstrução ductal por secreções espessas e consequente substituição acinar por fibrose (NISSIM-RAFINIA *et al.*, 2007). O resultado da disfunção pancreática descrita é a má absorção de nutrientes, desnutrição e vários sintomas relacionados ao trato gastrointestinal, tais como dor e distensão abdominal, diarreia, constipação, anemia e edema (LUDWIG NETO, 2008).

Estudos de anatomia patológica indicam que os pulmões são normais ao nascimento (DAVIS, 2006). No entanto, ao contrário do que ocorre nos lactentes normais, pacientes com FC desenvolvem colonização bacteriana precocemente e esta se torna crônica posteriormente. Vários modelos foram propostos na tentativa de explicar como a deficiência da CFTR altera a função das células epiteliais, aumentando a susceptibilidade para infecção pulmonar. Esses modelos incluem superfícies epiteliais alteradas, que levam à aderência bacteriana aumentada, resposta

inflamatória de vias aéreas exacerbada, e transporte iônico epitelial alterado, que resulta em *clearance* mucociliar reduzido. Métodos de cultura celular têm sido usados para demonstrar a impermeabilidade aos íons cloreto e absorção excessiva de íons sódio, atribuídas à deficiência de CFTR, resultando na desidratação do líquido periciliar. A depleção deste líquido leva a disfunção dos cílios e maior adesão das placas de muco à superfície epitelial. A retenção de placas de muco pode representar um evento predisponente à infecção por bactérias oportunistas em pacientes com FC (MOSKOWITZ *et al.*, 2005).

Existem evidências favoráveis à ideia de que a lesão pulmonar em FC se deve a mediadores inflamatórios liberados por neutrófilos que migraram para os pulmões em resposta à infecção crônica. A concentração de neutrófilos em vias aéreas de pacientes com FC é dez vezes maior que em indivíduos saudáveis e a neutrofilia em vias aéreas tem sido associada a mediadores que recrutam mais células inflamatórias para o pulmão (interleucina 8 – IL8) e também que aumentam a lesão tissular (elastase derivada de neutrófilos). Assim a terapia antimicrobiana, reduzindo o estímulo para a migração de neutrófilos deve atenuar a lesão tecidual pulmonar (RAO & GRIGG, 2006). No entanto, estudo a partir de lavado broncoalveolar em crianças com FC demonstrou que tanto os infectados quanto os não infectados apresentavam maior número de neutrófilos em vias aéreas do que os indivíduos controle. Essa evidência sugere que nas vias aéreas de pacientes com FC possa haver um estado “pró-inflamatório”, isto é, predisposição para resposta inflamatória excessiva e prolongada. Existem evidências a partir de estudos em animais e humanos de que a inflamação em FC é desproporcional aos níveis de infecção bacteriana, mas ainda permanece pouco claro se a inflamação precede a infecção em FC (MOSKOWITZ *et al.*, 2005). Em conjunto, inflamação, infecção crônica, obstrução progressiva de pequenas vias aéreas e bronquiectasias estão associadas a comprometimento respiratório importante (PARANJAPÉ & MOGAYZEL, 2014).

Para diagnóstico de FC, segundo consenso internacionalmente aceito (FARRELL *et al.*, 2008), é preciso que o paciente apresente pelo menos uma característica fenotípica compatível, tenha história familiar de irmão com FC, ou, ainda, tripsina imunorreativa sérica elevada detectada durante rastreamento neonatal pelo “teste do pezinho” (ROSENSTEIN & CUTTING, 1998) associado a características laboratoriais de disfunção da CFTR (FARRELL *et al.*, 2008). Essas evidências podem incluir teste do suor alterado ou medida da diferença de potencial nasal/retal alterados ou presença de 2 mutações conhecidas para FC no gene da CFTR. A análise

da concentração de eletrólitos no suor tem sido a medida mais simples da função da CFTR e é considerada padrão ouro no diagnóstico da FC, desde que um procedimento padrão conhecido como método de Gibson & Cooke foi estabelecido em 1959. O cloreto é o íon primário a ser avaliado no teste do suor, embora a concentração de sódio acompanhe o resultado do teste. Uma concentração de cloro $>60\text{mmol/L}$ confirma o diagnóstico de FC, valores entre 40 e 60 mmol/L são considerados intermediários e valores $<40\text{mmol/L}$ são considerados normais. Para crianças menores de seis meses, o Consenso da CFF recomenda que os valores de cloreto no suor: $\leq 29\text{mmol/L}$ sejam indicadores de FC improvável; 30 a 59 mmol/L são valores intermediários e $\geq 60\text{mmol/L}$ indicativo de FC. A pesquisa de mutações para FC permite o diagnóstico de casos atípicos (com resultados de testes do suor normais), a identificação de carreadores, o diagnóstico pré-natal e aconselhamento genético, sendo que em alguns países faz parte do programa de triagem neonatal. A medida da diferença de potencial nasal é um exame complementar ao teste do suor para o diagnóstico de FC. Seu principal benefício reside na possibilidade de se realizar o diagnóstico em pacientes nos quais o teste do suor tenha sido negativo ou inconclusivo.

Aspectos microbiológicos da fibrose cística

De forma direta ou indireta, a infecção pulmonar crônica na FC está envolvida na sequência fisiopatológica que é responsável pela morbimortalidade dos pacientes (ORENSTEIN *et al.*, 2000).

As infecções bacterianas se estabelecem muito precocemente nesses pacientes e, em geral, estão associadas a um número limitado de microrganismos. *S. aureus* e *H. influenzae* estão associados às infecções em pacientes mais jovens. Quando atingem a adolescência, outros microrganismos são encontrados nas secreções respiratórias, sendo a maioria deles do grupo dos bastonetes Gram negativos não fermentadores (BGNNF), um grupo caracteristicamente ambiental raro em outros pacientes. Destaca-se neste grupo, a *P. aeruginosa*, cujo estabelecimento de infecção crônica é marcado por aceleração no declínio da função pulmonar, com piora das lesões estruturais (ORENSTEIN *et al.*, 2000).

Nas últimas décadas, com aumento da expectativa de vida e desenvolvimento de novas abordagens metodológicas para o diagnóstico microbiológico, nota-se aumento na prevalência de diversos microrganismos potencialmente patogênicos nesses pacientes (DASENBROOK, 2011). O *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) é um desses importantes patógenos emergentes (DASENBROOK *et al.*, 2010). A prevalência de MRSA no trato respiratório de pacientes com FC nos Estados Unidos cresceu de 2% em 2001 para 26,5% em 2012 (CYSTIC FIBROSIS FOUNDATION PATIENT REGISTRY, 2012). Enquanto *P. aeruginosa* e o complexo *Burkholderia cepacia* (cBc) são patógenos classicamente associados a piora clínica e redução da expectativa de vida, o impacto da colonização por MRSA é menos claro (SAWICKI *et al.*, 2008). Poucos estudos avaliaram o papel do MRSA na evolução clínica de pacientes com FC (GOSS & MUHLEBACH, 2011).

S. aureus é um coco gram positivo comensal da pele humana, inclusive em pacientes com FC. Para propósitos epidemiológicos, múltiplas técnicas moleculares foram desenvolvidas para avaliar a similaridade clonal de *S. aureus*, incluindo a eletroforese em gel de campo pulsado (PFGE), a determinação do *sequence typing* por *Multilocus Sequence Typing* (MLST) e tipagem da proteína A estafilocócica (*spa typing*).

O gene *mecA*, que confere resistência aos antimicrobianos β -lactâmicos, encontra-se inserido em um elemento genético móvel denominado cassete cromossômico estafilocócico *mec* (*Staphylococcal cassette chromosome - SCCmec*) que é um componente integrante do cromossoma das cepas MRSA (BUDIMIR *et al.*, 2006; GOSS & MUHLEBACH, 2011). Cepas de MRSA tem origem na aquisição do gene *mecA* por *S. aureus* sensível a meticilina (MSSA). Baseado na composição estrutural, 11 tipos (I a XI) e numerosos subtipos de *SCCmec* tem sido reconhecidos no MRSA (WEBSITE OF INTERNATIONAL WORKING GROUP ON THE CLASSIFICATION OF STAPHYLOCOCCAL CASSETTE CHROMOSSOME ELEMENTS).

Dentre os fatores de virulência, associados ao MRSA, evidenciam-se as citotoxinas, com destaque para *Panton-Valentine leukocidin* (PVL) (LABANDEIRA *et al.*, 2007; BOAKES *et al.*, 2011). PVL é uma toxina formadora de poros formada por duas subunidades (*lukS-PV* e *lukF-PV*) codificadas pelo genes *lukS-PV* e *lukF-PV* (BOYLE-VAVRA & DAUM, 2007). PVL é conhecida por causar destruição dos leucócitos e danos aos tecidos (ELIZUR *et al.*, 2007).

Classicamente, as cepas de MRSA eram divididas em MRSA adquirido em comunidade (CA-MRSA) e MRSA adquirido em ambiente hospitalar (HA-MRSA). No entanto, ao longo do

tempo, a distinção entre HA-MRSA e CA-MRSA vem se tornando pouco clara, com um aumento dos relatos de cepas de CA-MRSA isoladas em ambiente hospitalar, substituindo as cepas tradicionais de HA-MRSA, tanto na literatura internacional quanto na nacional (SCHUENCK *et al.*, 2009; SCRIBEL *et al.*, 2009). Neste cenário, os pacientes com FC compõem um grupo particular, no qual a distinção epidemiológica a partir do local de aquisição da bactéria (comunidade ou hospital) não se aplica, uma vez que são pacientes com culturas de secreção respiratória polimicrobianas, uso frequente de antibióticos e internações rotineiras. Paralelamente, muito se tem discutido sobre a presença de genes da toxina PVL como marcadores de cepas de CA-MRSA. Estudos recentes sugerem que a presença de genes PVL não são marcadores característicos de CA-MRSA, pois podem ser encontrados em cepas de HA-MRSA e podem estar ausentes em cepas de CA-MRSA, especialmente em pacientes com FC (CHAMPION *et al.*, 2013; LIMA *et al.*, 2014).

Acompanhamento clínico e laboratorial na fibrose cística

Como o curso da doença varia entre os pacientes, a partir do acompanhamento, pode-se estabelecer terapia individualizada atendendo as necessidades de cada um. Nesse sentido são necessárias informações que retratem claramente as condições do aparelho respiratório e da progressão das lesões estruturais pulmonares. Nos centros de referência, avaliações clínicas multidisciplinares de rotina são feitas bi ou trimestralmente (CONWAY *et al.*, 2014).

Cada consulta ambulatorial deve incluir exame físico completo, medidas de peso e estatura, oximetria, cultura de secreção respiratória e testes de função pulmonar apropriados para idade (KEREM *et al.*, 2005). De acordo com o resultado das culturas das secreções respiratórias, os pacientes devem ser separados em grupos de atendimento que respeitam seu perfil microbiológico.

Avaliações sanguíneas (hemograma, bioquímica, função hepática, pancreática e renal) e de imagem, como ultrassonografia abdominal, radiografia de tórax e ecocardiograma são realizados uma ou duas vezes no ano. Este acompanhamento constitui a chave do sucesso para a

avaliação da condição multissistêmica do paciente e é usado para acompanhar a progressão da doença e a resposta às intervenções terapêuticas (GIBSON *et al.*, 2003).

O estado nutricional influencia diretamente o comprometimento multissistêmico de pacientes com FC. Portanto, suporte nutricional direcionado a atingir parâmetros de crescimento adequados são essenciais nesse contexto (MILLA, 2004). Do ponto de vista nutricional, existem alvos específicos a serem atingidos e o índice de massa corporal (IMC) tem sido apontado como o parâmetro mais importante a ser monitorado. Para crianças e adolescentes com FC, o IMC é definido em percentis comparáveis com indivíduos sem FC, e o objetivo é manter os pacientes o mais próximo possível do percentil 50. A associação de um melhor quadro nutricional com melhora da função pulmonar está bem documentada, assim como a piora nutricional é um dos fatores de risco para perda de função pulmonar (ZEMANICK *et al.*, 2010).

A avaliação do comprometimento pulmonar nos pacientes com FC é realizada com prova de função respiratória (PFR) e exames radiológicos como radiografia de tórax e tomografia computadorizada de alta resolução de tórax (TCAR).

A PFR tem sido considerada instrumento fundamental no monitoramento da função pulmonar e constitui uma medida indireta e não invasiva da estrutura pulmonar (JONG *et al.*, 2004). É uma importante medida da gravidade da doença e prognóstico, sendo o VEF₁ o parâmetro mais fortemente associado a mortalidade (KEREM *et al.*, 2005). Devido as frequentes exacerbações, há um declínio anual progressivo do VEF₁ e este parâmetro tem sido apontado como fundamental no monitoramento da progressão da doença. Em geral, a presença de um VEF₁ maior ou igual a 90% do predito sugere função pulmonar normal embora possa haver evidências de lesão pulmonar mesmo com espirometrias com valores normais; VEF₁ de 70 a 89% indica doença pulmonar leve; de 40 a 69%, doença moderada e abaixo de 40% traduz doença pulmonar grave. Graças aos avanços terapêuticos, a queda do VEF₁ tem sido mais lenta nas últimas décadas, mas ainda é uma característica marcante da FC e um importante marcador da evolução da doença (CYSTIC FIBROSIS FOUNDATION PATIENT REGISTRY, 2012).

A radiografia de tórax, exame útil no monitoramento do quadro respiratório, também é pouco sensível nas fases precoces da doença e fornece imagens bidimensionais de uma estrutura tridimensional complexa (TIDDENS, 2006). A tomografia computadorizada de alta resolução (TCAR) de tórax é considerada um método específico de imagem para avaliar precocemente o comprometimento das vias aéreas e do parênquima pulmonar. Com este método, são obtidas

imagens finas no plano axial, que permitem uma avaliação detalhada das estruturas anatômicas, bem como a identificação de alterações morfológicas do pulmão (LUCAYA *et al.*, 2000; LUCAYA & LE POINTE, 2002; TIDDENS, 2006). Nos pacientes com FC, a TCAR pode identificar a presença de espessamento da parede de vias aéreas inferiores, bronquiectasias, impatção mucoide e hiperinsuflação pulmonar (AZIZ *et al.*, 2007). Apesar de a TCAR ser considerada o melhor método para avaliar a estrutura pulmonar, algumas restrições não têm permitido a adoção ampla desse método: altas doses de radiação e alto custo do exame. Como a tecnologia de tomografias vem se aperfeiçoando, o tempo de aquisição das imagens tomográficas foi reduzido substancialmente, o que tem contribuído para a redução da dose de radiação. Dessa forma, tem sido recomendada a realização de exames de TCAR a cada dois anos, já que a frequência e distribuição dos achados deste exame em pacientes portadores de FC podem ser úteis para acompanhar a progressão da lesão pulmonar (ROBINSON, 2004).

As alterações tomográficas encontradas em pacientes com FC podem ser pontuadas, de forma reprodutível, por meio de sistemas de escore (JONG *et al.*, 2004). Em 1991, Bhalla e colaboradores publicaram o primeiro sistema de escore baseado em TCAR para pacientes com FC (BHALLA *et al.*, 1991). Desde então, vários sistemas de escore aplicados a TCAR têm sido descritos com o objetivo de realizar análise qualitativa e quantitativa da progressão das alterações estruturais pulmonares em indivíduos com FC, sendo considerados como potenciais medidas de desfecho nesses pacientes (ROBINSON, 2004).

Os principais sistemas de escore tomográfico em FC foram descritos por Bhalla *et al.*, 1991; Santamaria *et al.*, 1998; Brody *et al.*, 1999; Helbich *et al.*, 1999 e Castile *et al.*, 2000. Estudo comparativo desses escores semiquantitativos demonstrou que, além de serem confiáveis e reprodutíveis, todos detectam precocemente alterações pulmonares em FC (JONG *et al.*, 2004). Em 2006, foram propostas novas modificações no escore de Bhalla original, visando à inclusão de alterações também encontradas em FC, tais como nódulos acinares, espessamento do septo interlobular, infiltrado em vidro fosco, perfusão em mosaico e aprisionamento aéreo (JUDGE *et al.*, 2006). Os sistemas de escore para as alterações encontradas nos exames de TCAR permitem a quantificação da gravidade do comprometimento pulmonar. A detecção precoce de lesões estruturais relacionadas à infecção e sua análise sistemática através de escore considerados reprodutíveis (FOLESCU *et al.*, 2012), podem contribuir efetivamente para o ajuste de estratégias de terapêuticas que venham alterar o prognóstico de pacientes portadores de FC.

No Brasil, poucos estudos fazem referência à frequência e ao impacto clínico da colonização por MRSA em pacientes com FC. Diante do aumento da prevalência de MRSA e pouca literatura nacional disponível, torna-se essencial um melhor entendimento da repercussão da colonização crônica por esta bactéria nos pacientes com FC. Correlacionar o isolamento crônico de MRSA nas secreções respiratórias com dados clínicos, funcionais e tomográficos evolutivos é essencial para compreender a história natural das infecções por MRSA nos pacientes com FC, cuja microbiota bacteriana é bastante peculiar. Nesse contexto, documentar a repercussão através de medidas objetivas no seguimento destes pacientes pode colaborar com a prática clínica, inclusive ressaltando a importância da implementação de protocolos terapêuticos direcionados para MRSA em FC.

1 OBJETIVOS

1.1 Objetivo geral

Avaliar a repercussão da colonização crônica pelo *S. aureus* resistente à metilicina (MRSA) em pacientes com fibrose cística

1.2 Objetivos específicos

a) Analisar os pacientes colonizados cronicamente por *S. aureus* resistente à metilicina (MRSA), de acordo com VEF1%, CVF%, escore tomográfico, IMC e percentil de IMC no momento da colonização crônica e evolutivamente durante o período do estudo;

b) Comparar os dados nutricionais, funcionais e tomográficos dos pacientes colonizados cronicamente por MRSA com grupo controle, formado por pacientes cronicamente colonizados por *S. aureus* sensível à metilicina (MSSA), pareado por gênero, idade, momento da cronificação por *S. aureus* e presença de co-infecção crônica por *P. aeruginosa*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O projeto do estudo obteve aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa com seres humanos do Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira – FIOCRUZ (IFF/FIOCRUZ) (CAAE: 27902814.9.0000.5269 – ANEXO)

Trata-se de estudo caso-controle retrospectivo, realizado com dados de prontuário e exames radiológicos de pacientes com FC diagnosticados segundo critérios da CFF (ROSENSTEIN & CUTTING, 1998) e assistidos no Serviço de Pneumologia do Departamento de Pediatria do IFF/FIOCRUZ, durante o período de janeiro de 2004 a dezembro de 2013. A instituição presta assistência multidisciplinar regular para 170 crianças e adolescentes com FC, residentes no Estado do Rio de Janeiro. Esta assistência é feita através de consultas multidisciplinares no mínimo a cada três meses, nas quais secreções respiratórias são coletadas e encaminhadas para avaliação bacteriológica inicial no Laboratório de Bacteriologia do Hospital Universitário Pedro Ernesto da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (LABAC-HUPE-UERJ).

De acordo com o resultado das culturas das secreções respiratórias, os pacientes são separados em grupos de atendimento que respeitam rigorosamente o perfil microbiológico de cada paciente, visando a redução do índice de infecção cruzada.

São os seguintes, os grupos de assistência multidisciplinar:

- a) negativos (ausência de bactérias patogênicas nas secreções respiratórias);
- b) pacientes colonizados por *S. aureus* sensível à meticilina (MSSA);
- c) pacientes colonizados com *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA);
- d) pacientes colonizados por *P. aeruginosa* (em erradicação);
- e) pacientes colonizados por *P. aeruginosa* (crônico);
- f) pacientes colonizados por bactérias do complexo *B. cepacia* (cBc).

2.1 População em estudo

Os critérios de inclusão dos pacientes no presente estudo foram:

- a) Preencher critérios diagnósticos de FC, segundo consenso internacionalmente aceito pela CFF (ROSENSTEIN & CUTTING, 1998), que correspondem a existência de uma ou mais das seguintes características (A, B ou C) obrigatoriamente associadas a uma evidência de disfunção CFTR (1, 2 ou 3):

Características suspeitas:

- A. Uma ou mais características fenotípicas da doença ou
- B. História de irmão portador de fibrose cística ou
- C. Rastreamento neonatal positivo pela dosagem de tripsina imunorreativa através do “Teste do Pezinho”.

Evidências de disfunção da CFTR:

1. Dois testes do suor positivos (dosagem de cloretos acima de 60 mEq/L pelo método de iontoforese com pilocarpina) ou
2. Duas mutações genéticas para FC identificadas ou
3. Diferença de potencial nasal (DPN).

- b) Estar recebendo acompanhamento clínico e laboratorial regulares (pelo menos quatro vezes ao ano) entre 2004 e 2013, incluindo a coleta e cultura de secreção respiratória nas consultas agendadas e realização de exames funcionais e de imagem de tórax de acordo com o planejamento assistencial da equipe, em momento de estabilidade clínica.

- c) Apresentar isolamento crônico de *S. aureus* (MSSA ou MRSA) nas secreções respiratórias (3 ou mais isolamentos em período de 12 meses) (DASENBROOK *et al.*, 2008; COX *et al.*, 2011)

Os critérios de exclusão adotados foram:

- a) Colonização por bactérias do complexo *B. cepacia*
- b) Falta de acesso a documentos fonte para a coleta de dados (resultados das culturas ou prontuários médicos).

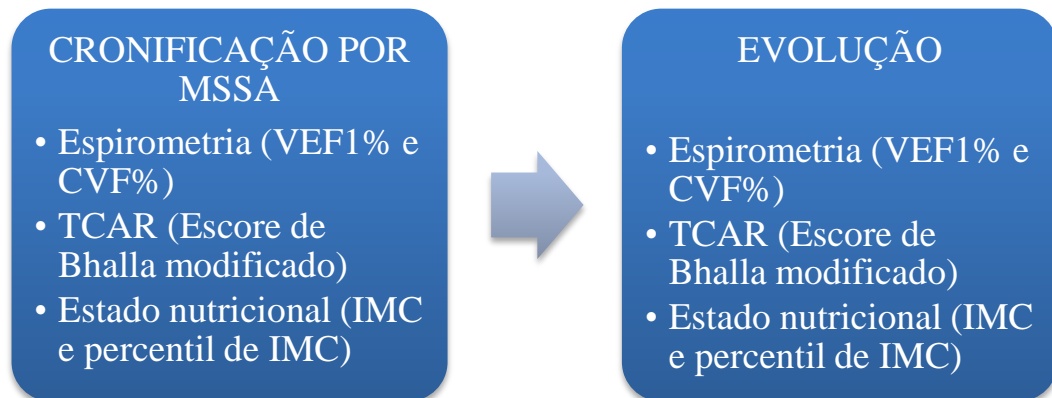
Dos pacientes selecionados para inclusão no estudo, os que apresentavam mais 3 culturas de secreção respiratória com isolamento de MRSA em 12 meses, foram alocados no grupo MRSA crônico. O grupo controle foi selecionado a partir de total pacientes colonizados cronicamente por *S. aureus* sensível a meticilina (MSSA- 3 ou mais isolamentos em período de 12 meses). Foi feito pareamento para cada caso de MRSA crônico, segundo gênero, idade, momento da cronificação e presença de co-infecção crônica por *P. aeruginosa* (VANDERHELST *et al.*, 2012).

A partir da consulta aos prontuários dos pacientes incluídos, foram coletados dados demográficos e clínicos, como: gênero, data de nascimento, data do diagnóstico, estado de suficiência pancreática (gordura fecal ou elastase fecal ou necessidade de reposição exógena de enzimas). Para análise da evolução clínica de cada paciente, foram avaliados:

- a) valor do VEF₁% e CVF% (melhor valor do ano) para os pacientes com mais de 6 anos de idade
- b) valor do escore de tomografia computadorizada do tórax (escore de Bhalla modificado)
- c) índice de massa corporal (IMC)
- d) percentil de IMC para idade para pacientes maiores de 2 anos

Os parâmetros citados foram avaliados e comparados, a partir da colonização crônica por MRSA (casos) e MSSA (controles), evolutivamente durante todo o período do estudo.

Figura 1- Representação esquemática do desenho do estudo

GRUPO MRSA**Grupo controle (MSSA)**

2.2 Avaliação de função respiratória

Esta avaliação foi feita através de estudo retrospectivo de laudos de espirometria realizadas em sistema computadorizado, modelo *Collins SurveyII* (Warren E. Collins, Inc.) nos pacientes com idade superior a 6 anos e com capacidade cognitiva para realização do teste. As manobras realizadas produzem curvas volume-tempo e fluxo-volume que, para sua utilização na interpretação, deverão passar por critérios de aceitabilidade e reprodutibilidade padronizados pela *American Thoracic Society* (ATS) (MILLER, 2005). Os laudos de espirometria que não atendiam a estes critérios não foram incluídos no estudo. Os valores absolutos foram convertidos em percentuais preditos usando as equações de Knudson como referência. Os maiores valores anuais de volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF₁%) e capacidade vital forçada (CVF%) para cada paciente foram analisados (KNUDSON *et al*, 1983).

2.3 Avaliação radiológica através de tomografia computadorizada de tórax de alta resolução (TCAR)

Na rotina de acompanhamento dos pacientes, as avaliações de imagem através de TCAR são realizados com intervalo de pelo menos 2 anos, quando o paciente se encontra estável do ponto de vista respiratório. As imagens de TCAR foram obtidas sem sedação, com séries em inspiração e expiração, com cortes de 1mm de espessura e intervalos de 10mm e janela de 1500 e nível de -700. O equipamento utilizado até dezembro de 2012 foi ProSpeed-S™ (General Electric, Milwaukee, EUA) com parâmetros de 60 a 80 mAs (miliampere/segundo) e 120 kV (kilovolt) e, a partir de janeiro de 2013, o equipamento usado foi o TC ELITE BRIGHT SPEED, 16 canais (General Electric), com parâmetros de 40 a 60 mAs e 80 kV. As imagens de TCAR obtidas são arquivadas no Departamento de Radiologia do IFF/FIOCRUZ e serão retrospectivamente analisadas.

Os exames de TCAR previamente selecionados de acordo com os critérios de inclusão, foram analisados por radiologista e pneumologista pediátricos, com experiência no assunto,

aplicando o escore de Bhalla modificado para cada exame. O escore de Bhalla é um método validado para avaliação radiológica de pacientes com fibrose cística, com confiabilidade intra e interobservador documentadas (FOLESCU *et al.*, 2012).

O escore adotado foi o de Bhalla modificado (JUDGE *et al.*, 2006), cujas alterações e respectivos parâmetros para análise estão descritos no Quadro 1.

Quadro 1 - Escore de Bhalla modificado (*)

Parâmetros na TCAR	Escore			
	0	1	2	3
Gravidade das bronquiectasias	Ausente	Lúmen discretamente maior que o vaso adjacente	Lúmen 2 a 3 vezes maior que o vaso adjacente	Lúmen 3 vezes maior que o vaso adjacente
Espessamento das paredes	Ausente	Espessamento da parede da via aérea igual ao vaso adjacente	Espessamento da parede da via aérea menor ou igual a duas vezes ao vaso adjacente	Espessamento da parede da via aérea duas vezes maior que o vaso adjacente
Extensão das bronquiectasias (SBP)	Ausente	1-5	6-9	>9
Extensão da formação de tampões mucosos (SBP)	Ausente	1-5	6-9	>9
Saculações/abscessos (SBP)	Ausente	1-5	6-9	>9
Gerações de divisões brônquicas envolvidas (bronquiectasias/tampões mucosos)	Ausente	Até a 4ª geração	Até a 5ª geração	Até a 6ª geração e distal
Número de bolhas	Ausente	Unilateral	Bilateral (não >4)	>4
Enfisema (SBP)	Ausente	1-5	>5	
Colapso/consolidação	Ausente	Subsegmentar	Segmentar/lobar	
Padrão de atenuação em mosaico**	Ausente	1-5	>5	
Aprisionamento de ar**	Ausente	1-5	>5	
Nódulo acinar**	Ausente	Subsegmentar/segmentar	Lobar	
Espessamento de septos intralobulares**	Ausente	Subsegmentar/Segmentar	Lobar	Difuso (>1 lobo)
Infiltrado em vidro fosco**	Ausente	Subsegmentar/segmentar	Lobar	Difuso (>1 lobo)

Legenda: SBP=segmentos broncopulmonares

Fonte: *Adaptação de Judge *et al.*, 2006 **Modificações do escore de Bhalla original (Judge *et al.*, 2006).

As alterações tomográficas foram definidas de acordo com os critérios da Sociedade Fleischner (HANSELL *et al*, 2008):

a) Bronquiectasia: brônquio com diâmetro interno maior do que a artéria pulmonar adjacente, perda do estreitamento do lúmen por mais que 2cm e visualização do brônquio até 1cm da pleura costal

b) Espessamento peribrônquico: parede brônquica com mais de 1mm de espessura. Tanto a gravidade da bronquiectasia quanto o grau de espessamento peribrônquico foram avaliados a partir da lesão mais grave.

c) Tampões mucosos: visualização de opacidades no interior de grandes vias aéreas e/ou periféricamente, quando assumem o aspecto de “árvore em brotamento”.

d) Saculações: dilatações císticas ou saculares nas paredes de brônquios já dilatados.

e) Abscessos: brônquios dilatados com nível hidroaéreo em seu interior.

f) Gerações das divisões brônquicas: pontuado a partir da presença de bronquiectasia ou tampão mucoso nas regiões: central (1 ponto), mediana (2 pontos) e periférica (3 pontos).

g) Bolhas: espaços aéreos arredondados e focais com mais de 1cm de diâmetro, com paredes finas localizadas periféricamente no espaço subpleural.

h) Enfisema: áreas com coeficiente de atenuação reduzida, sem paredes visíveis e com perda do padrão vascular de base. A pontuação variou em função do número de segmentos broncopulmonares envolvidos.

i) Colapso: colabamento dos alvéolos (atelectasia).

j) Consolidação: opacidade traduzida como aumento da densidade do parênquima pulmonar, mais frequentemente homogênea, acompanhada de obscurecimento dos vasos adjacentes.

k) Padrão de atenuação em mosaico: áreas focais de atenuação reduzida intercaladas por áreas de atenuação aumentada. Anteriormente era utilizado o termo perfusão em mosaico e após o consenso da Sociedade Fleischner (HANSELL *et al*, 2008) o termo preferido é padrão de atenuação em mosaico.

l) Aprisionamento aéreo: área hiperlucante (com coeficiente de atenuação diminuída) de permeio a área de pulmão normal identificada na expiração.

m) Nódulos acinares: opacidades redondas de menos de 3cm.

n) Espessamento de septos interlobulares: finas opacidades entre os lóbulos. Os septos lobulares normais têm aproximadamente 0,1mm de espessura e geralmente são vistos na TCAR quando estão espessados.

o) Infiltrado em vidro fosco: aumento da densidade do parênquima pulmonar sem obscurecimento dos vasos adjacentes.

As figuras 2, 3, 4 e 5 representam exemplos de imagens tomográficas de pacientes com fibrose cística participantes do estudo.

Figura 2 – Imagem tomográfica (TCAR) sem alterações

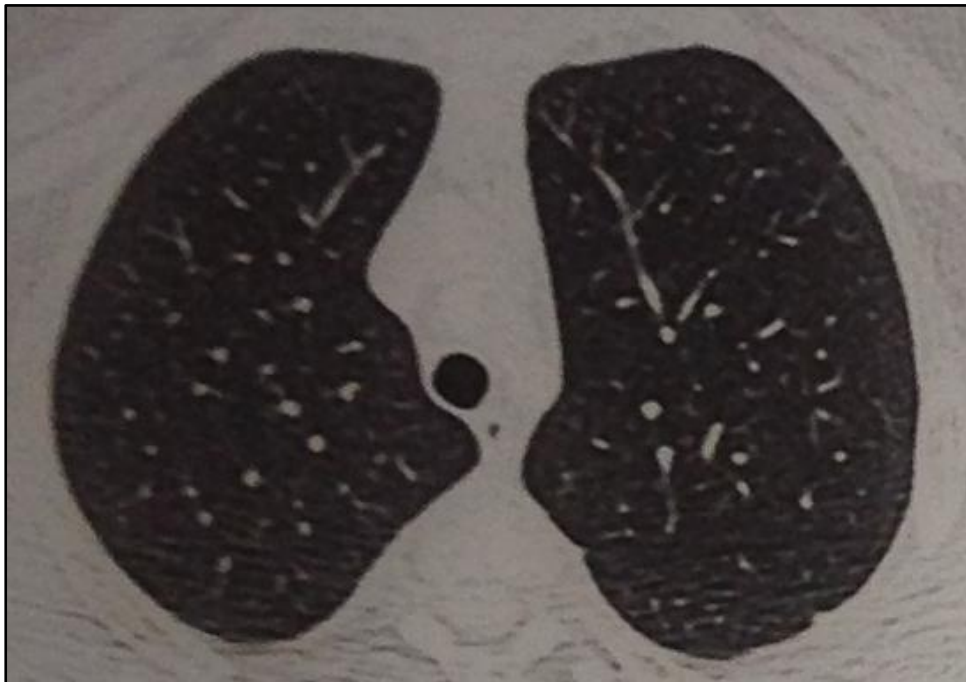
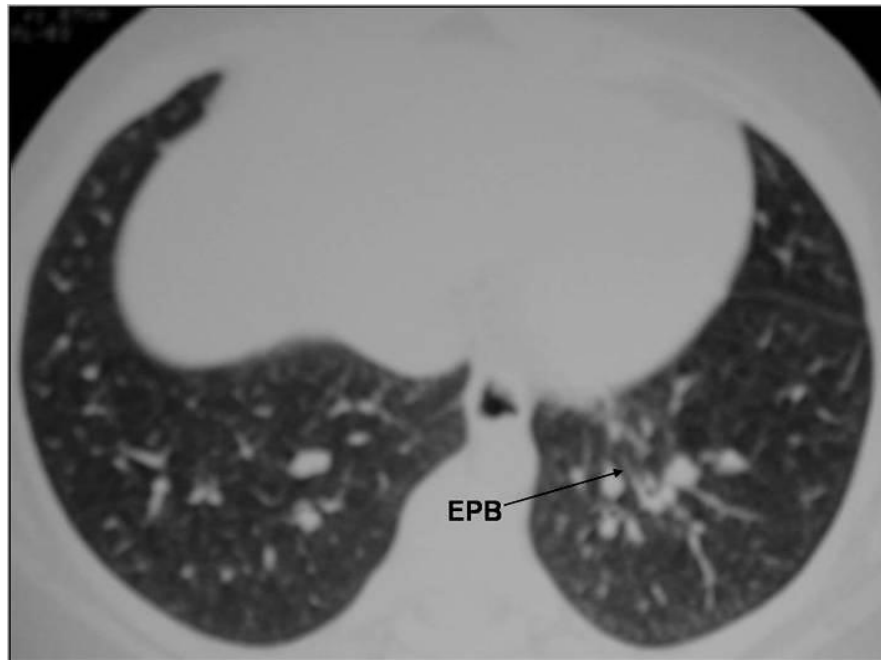
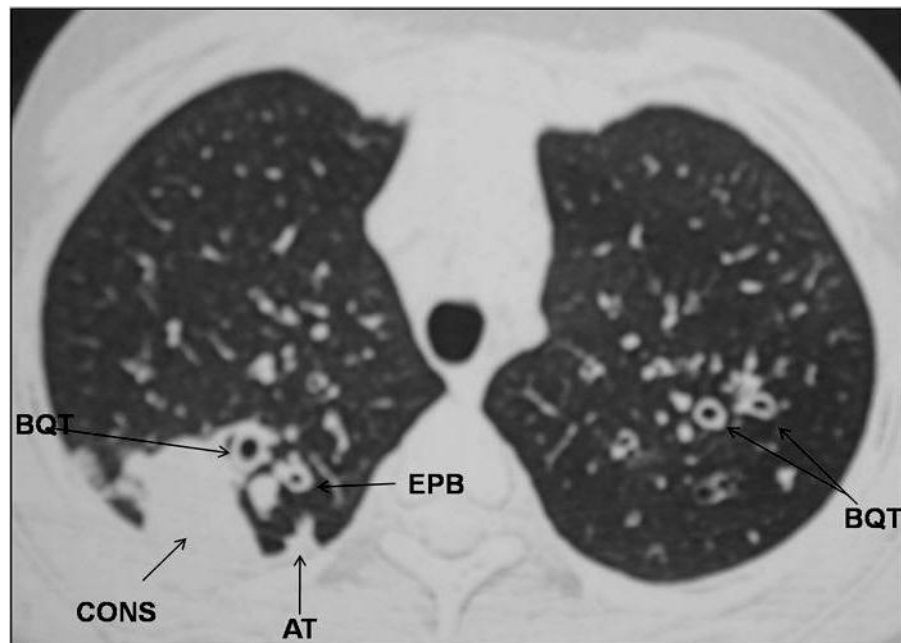


Figura 3 – Imagem tomográfica (TCAR)



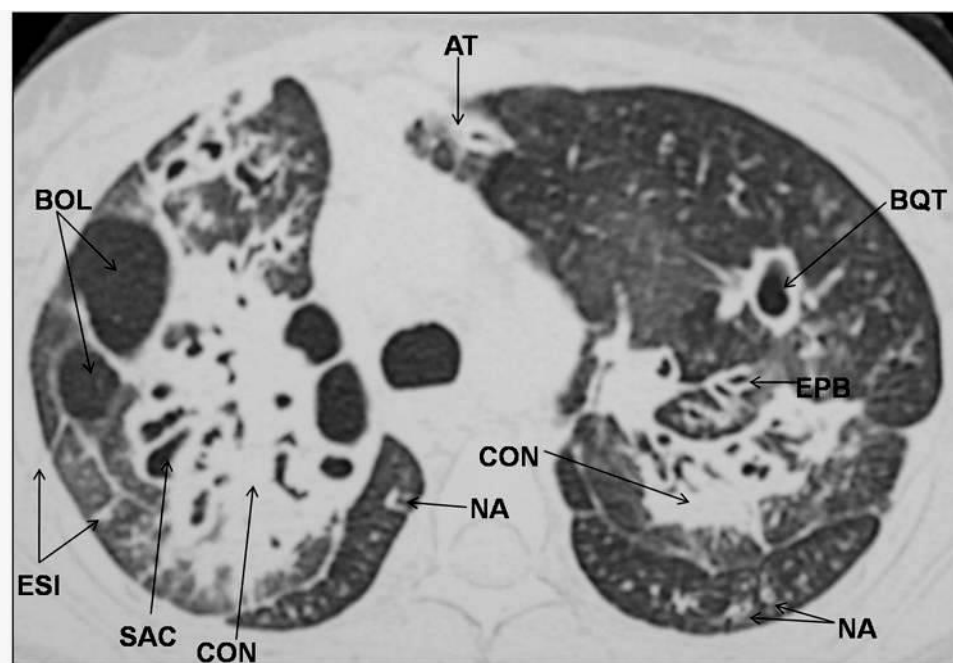
Legenda: EPB – espessamento peribrônquico.

Figura 4 – Imagem tomográfica (TCAR)



Legenda: AT – atelectasia, BQT – bronquiectasia, CONS – consolidação, EPB – espessamento peribrônquico.

Figura 5 – Imagem tomográfica (TCAR)



Legenda: AT – atelectasia; BOL – bolha / cisto; BQT – bronquiectasia; CON – consolidação; EPB – espessamento peribrônquico; NA – nódulo acinar; SAC – saculação.

O comprometimento de vias aéreas é avaliado a partir da gravidade e extensão das bronquiectasias e do espessamento peribrônquico, pela presença de tampões mucosos e pelo número de gerações brônquicas envolvidas.

De acordo com o escore de Bhalla modificado, o valor total do escore do paciente é obtido a partir da soma das pontuações em relação à gravidade e/ou extensão de cada uma das alterações morfológicas. Este valor pode variar de zero (indicando ausência de anormalidades) a 37 (indicando anormalidades graves em todos os parâmetros).

Os observadores não tiveram conhecimento dos dados clínicos e laboratoriais dos pacientes.

2.4 Avaliação nutricional

A avaliação nutricional foi realizada por meio do monitoramento do índice de massa corporal (IMC) obtido por medidas antropométricas em cada consulta. O cálculo do IMC é calculado pela relação entre peso (em quilos) dividido pelo quadrado da altura (em metros). Foram selecionados os melhores valores anuais para cada paciente. Tais resultados foram utilizados para cálculo dos percentis correspondentes para idade de cada paciente utilizando a ferramenta disponível em www.cdc.gov/healthyweight/assessing/bmi. A avaliação dos percentis de IMC é possível em pacientes de 2 a 19 anos.

2.5 Avaliação bacteriológica

A avaliação inicial foi feita através de estudo dos laudos bacteriológicos. Os testes moleculares foram realizados no laboratório 02 da Disciplina de Microbiologia, Imunologia da Faculdade de Ciências Médicas (DIMI-UERJ).

Os espécimes clínicos são rotineiramente processados no LABAC-HUPE, de acordo com protocolos específicos e padronizados para o acompanhamento de pacientes com FC. Os microrganismos são identificados por métodos fenotípicos (KLOSS & BANNERMAN, 2007).

2.6 Análise estatística

Análises estatísticas descritivas foram feitas por meio da construção de tabelas e gráficos e também de medidas-resumo apropriadas às escalas de mensuração das variáveis.

A fim de se estudar a tendência das diversas variáveis ao longo do tempo, estimou-se a taxa de variação anual por regressão linear simples para cada paciente.

Para as análises das significâncias estatísticas das diferenças entre os pares de indivíduos, bem como das variações entre dois tempos foi utilizado o teste não-paramétrico de Wilcoxon.

O software estatístico utilizado foi o Statistical Package for the Social Sciences (SPSS 17.0 for Windows).

3 RESULTADOS

3.1 População em estudo

A partir dos 170 pacientes, vinculados ao Serviço de Pneumologia do Departamento de Pediatria do IFF/FIOCRUZ, foram selecionados os pacientes que preenchiam critérios de colonização crônica por MRSA (mais de 3 culturas de secreção respiratória com isolamento de MRSA em 12 meses) e que não apresentavam nenhum dos critérios de exclusão, totalizando 20 pacientes neste grupo.

O grupo controle foi selecionado a partir do total de pacientes colonizados cronicamente por MSSA (n=70 pacientes). Foi feito pareamento segundo sexo, idade, momento da cronificação por *S. aureus* e presença de co-infecção crônica por *P. aeruginosa*, totalizando 20 pares caso-controle.

Dos 20 pares que compõem o estudo (tabela 1), 40% são do sexo feminino (8 pares), 95% dos pacientes apresentavam insuficiência pancreática (19 pares) e 25% apresentavam co-infecção por *P. aeruginosa* (5 pares).

A tabela 2 demonstra as características dos 20 pares do estudo, quanto a idade do diagnóstico de FC (em anos) e tempo de acompanhamento clínico a partir deste (em anos). A média de idade ao diagnóstico de fibrose cística nos casos MRSA e nos controles MSSA era de 2,5 e 2,1 anos, respectivamente. Sete pacientes (17,5%) do estudo tiveram diagnóstico pelo rastreamento neonatal (dosagem de TIR). A média do tempo de acompanhamento foi semelhante nos dois grupos (6,7 e 7 anos).

Tabela 1- Pareamento de casos e controles incluídos no estudo

	Par	Gênero	Data de Nascimento	Data da cronificação por <i>S. aureus</i>	Colonização por <i>P. aeruginosa</i>
1	Caso (MRSA)	F	21/05/2007	2009	Não
	Controle (MSSA)	F	17/12/2007	2009	Não
2	Caso (MRSA)	F	11/07/2003	2009	Não
	Controle (MSSA)	F	03/11/2003	2010	Não
3	Caso (MRSA)	F	04/09/2009	2012	Não
	Controle (MSSA)	F	09/03/2008	2011	Não
4	Caso (MRSA)	M	27/10/1997	2007	Não
	Controle (MSSA)	M	10/12/1996	2008	Não
5	Caso (MRSA)	M	24/05/2011	2012	Não
	Controle (MSSA)	M	20/07/2011	2012	Não
6	Caso (MRSA)	F	15/01/1996	2006	Sim
	Controle (MSSA)	F	18/02/1998	2007	Sim
7	Caso (MRSA)	M	28/11/2007	2009	Não
	Controle (MSSA)	M	15/02/2007	2009	Não
8	Caso (MRSA)	F	07/10/1998	2010	Sim
	Controle (MSSA)	F	31/07/1998	2007	Sim
9	Caso (MRSA)	M	13/07/2006	2011	Não
	Controle (MSSA)	M	02/07/2006	2012	Não
10	Caso (MRSA)	M	23/09/2006	2011	Não
	Controle (MSSA)	M	28/06/2006	2010	Não
11	Caso (MRSA)	M	29/08/1995	2008	Não
	Controle (MSSA)	M	06/11/1997	2010	Não
12	Caso (MRSA)	F	30/11/2006	2008	Não
	Controle (MSSA)	F	15/09/2008	2010	Não
13	Caso (MRSA)	M	20/08/1995	2009	Não
	Controle (MSSA)	M	07/08/1996	2009	Não
14	Caso (MRSA)	M	02/04/2008	2009	Não
	Controle (MSSA)	M	20/02/2009	2010	Não
15	Caso (MRSA)	M	12/05/2000	2010	Sim
	Controle (MSSA)	M	28/11/2000	2008	Sim
16	Caso (MRSA)	M	11/01/2006	2007	Não
	Controle (MSSA)	M	07/07/2004	2007	Não
17	Caso (MRSA)	M	27/02/2009	2010	Não
	Controle (MSSA)	M	09/02/2009	2010	Não
18	Caso (MRSA)	F	03/12/2011	2012	Não
	Controle (MSSA)	F	14/07/2011	2012	Não
19	Caso (MRSA)	F	28/12/2001	2008	Sim
	Controle (MSSA)	F	01/06/2000	2007	Sim
20	Caso (MRSA)	M	01/09/1996	2011	Sim
	Controle (MSSA)	M	10/11/1996	2007	Sim

Legenda: MRSA: *S. aureus* resistente a meticilina; MSSA: *S. aureus* sensível a meticilina;

Tabela 2 - Caracterização da população do estudo

Par	Sexo (do par)	Idade do diagnóstico (anos)		Tempo de acompanhamento (anos)	
		Caso (MRSA)	Controle (MSSA)	Caso (MRSA)	Controle (MSSA)
1	F	1,5	0,4	3,4	4,8
2	F	0,1	1,7	9,9	7,7
3	F	2,0	2,3	1,6	2,9
4	M	1,0	9,7	9,8	6,7
5	M	0,2	0,4	2,1	2,0
6	F	2,2	0,7	15,0	11,1
7	M	0,2	0,3	4,9	6,2
8	F	0,5	0,1	14,3	14,9
9	M	0,8	4,7	4,7	1,9
10	M	0,3	0,8	6,9	5,9
11	M	9,0	5,9	9,0	9,6
12	F	0,8	0,1	6,1	5,0
13	M	7,7	7,9	9,9	9,1
14	M	0,2	1,1	5,2	2,9
15	M	5,0	1,3	8,2	11,1
16	M	0,8	0,6	6,9	7,9
17	M	1,5	0,1	3,0	3,5
18	F	0,1	0,4	1,9	1,9
19	F	3,0	2,8	8,1	9,8
20	M	12,6	0,4	4,0	15,5
Média		2,5	2,1	6,7	7,0

Legenda: MRSA- *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina;

MSSA- *Staphylococcus aureus* sensível a meticilina

3.2 Função respiratória

A avaliação da função respiratória foi feita através de espirometria, que pressupõe capacidade cognitiva presente em crianças a partir de 6 anos de idade. Por esta restrição etária, apenas 10 dos 20 pares de pacientes apresentavam dados de função respiratória. Para avaliação evolutiva, 1 paciente MRSA não possuía espirometrias com critérios de aceitabilidade e, portanto, 1 par foi excluído do estudo.

A tabela 3 evidencia que a média do VEF₁% é mais baixa no grupo MRSA no momento da cronificação (68,6%), com significância estatística (p-valor 0,005). Com relação a taxa de variação anual do VEF₁ após a cronificação, nota-se que há, em média, uma queda de 3,2% ao

ano no grupo MRSA e de 2,3% no grupo MSSA, porém esta diferença não foi estatisticamente significativa (p-valor 0,374).

Tabela 3 - Volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF₁%) no momento da cronificação e sua evolução ao longo do estudo em casos (MRSA) e controles

Estatísticas descritivas	VEF ₁ % na cronificação			Taxa de variação anual do VEF ₁ % após a cronificação		
	MRSA (n=10)	MSSA (n=10)	Diferença entre os pares	MRSA (n=9)	MSSA (n=9)	Diferença entre os pares
Média	68,6	91,1	-22,5	-3,2	-2,3	-1,0
Desvio-padrão	22,7	11,6	15,3	1,8	1,8	2,2
P-valor do teste de Wilcoxon	0,005			0,374		

Legenda: MRSA- *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina;

MSSA- *Staphylococcus aureus* sensível a meticilina

Com relação ao percentual de CVF (tabela 4), o grupo MRSA apresentou valor médio menor que o MSSA (81,6 e 95,4, respectivamente) na cronificação. A queda anual do CVF% também é maior do grupo MRSA (3,2% ao ano) do que no grupo MSSA (1,8% ao ano), com diferença estatisticamente significativa (p-valor 0,038).

Tabela 4 - Capacidade vital forçada (CVF%) no momento da cronificação e sua evolução ao longo do estudo em casos (MRSA) e controles (MSSA)

Estatísticas descritivas	CVF% na cronificação			Taxa de variação anual do CVF% após a cronificação		
	MRSA (n=10)	MSSA (n=10)	Diferença entre os pares	MRSA (n=9)	MSSA (n=9)	Diferença entre os pares
Média	81,6	95,4	-13,8	-3,2	-1,8	-1,5
Desvio-padrão	20,4	14,0	18,5	1,9	1,7	1,8
P-valor do teste de Wilcoxon	0,047			0,038		

Legenda: MRSA- *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina;

MSSA- *Staphylococcus aureus* sensível a meticilina

3.3 Escore de Bhalla - Tomografia computadorizada de alta resolução de tórax (TCAR)

A tabela 5 apresenta os valores individuais de escore de Bhalla no momento da cronificação. Avaliando todos os exames tomográficos disponíveis para cada paciente, foi calculada, através de regressão linear, a taxa de variação anual do escore de Bhalla. Nota-se que, no momento da cronificação, os valores do escore de Bhalla são maiores em 16 pacientes MRSA quando comparados com seus pares MSSA. A taxa de variação anual do escore é maior em pacientes MRSA em 19 pares, demonstrando progressão mais rápida do comprometimento pulmonar na tomografia computadorizada de tórax dos pacientes MRSA quando comparados a seus controles.

Tabela 5 - Evolução individual do escore de Bhalla em casos (MRSA) e controles (MRSA)

PAR	Escore de Bhalla na cronificação		Taxa de variação anual do escore	
	Caso (MRSA)	Controle (MSSA)	Caso (MRSA)	Controle (MSSA)
1	14	4	1,4	0,3
2	4	2	0,8	0,1
3	8	10	3,0	0,0
4	5	5	0,6	0,2
5	4	6	2,4	-0,6
6	9	8	0,4	0,5
7	3	1	2,8	0,7
8	10	4	1,2	0,7
9	8	1	1,7	0,0
10	4	3	1,8	0,2
11	7	6	2,0	0,6
12	3	0	2,0	1,1
13	4	0	0,8	0,2
14	4	2	0,8	0,3
15	5	6	1,8	0,6
16	4	0	2,4	1,0
17	4	0	2,5	0,4
18	4	0	1,9	0,5
19	14	4	1,1	0,5
20	12	3	2,4	0,6

Legenda: MRSA- *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina;
MSSA- *Staphylococcus aureus* sensível a meticilina

No momento da cronificação, a média do escore de Bhalla no grupo MRSA é duas vezes maior que a média do escore no grupo MSSA (6,5 e 3,3, respectivamente), com diferença estatisticamente significativa (p-valor 0,002). Da mesma forma, a taxa de variação anual é, em

média, 1,7 no grupo MRSA e 0,4 no MSSA, com diferença estatisticamente significativa (p-valor<0,001) (Tabela 6).

Tabela 6 - Escore de Bhalla no momento da cronificação e sua evolução ao longo do estudo em casos (MRSA) e controles (MSSA)

Estatísticas descritivas	Escore de Bhalla na cronificação			Taxa de variação anual do escore de Bhalla após a cronificação		
	MRSA (n=20)	MSSA (n=20)	Diferença entre os pares	MRSA (n=20)	MSSA (n=20)	Diferença entre os pares
Média	6,5	3,3	3,3	1,7	0,4	1,3
Desvio-padrão	3,6	2,9	3,6	0,8	0,4	0,8
P-valor do teste de Wilcoxon	0,002			< 0,001		

Legenda: MRSA- *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina;

MSSA- *Staphylococcus aureus* sensível a meticilina

Foram avaliados os tempos decorridos entre a tomografia no momento da cronificação até um novo exame tomográfico. Os resultados da tabela 7 evidenciam que o tempo médio decorrido entre os exames dos pacientes dos grupos MRSA e MSSA foi de 4,5 e 4,4 anos, sem diferenças estatisticamente significativas entre eles (p-valor: 0,351).

Tabela 7 -Tempo, em anos, entre as tomografias de tórax no momento e após a cronificação em casos (MRSA) e controles (MSSA) (n=20 pares)

Estatísticas descritivas	Tempo entre as duas tomografias		
	MRSA (n=20)	MSSA (n=20)	Diferença entre o par
Média	4,5	4,4	0,1
Desvio-padrão	2,2	2,2	1,0
P-valor do teste de Wilcoxon	0,351		

Legenda: MRSA- *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina; MSSA- *Staphylococcus aureus* sensível a meticilina

A tabela 8 evidencia os resultados evolutivos dos escores de Bhalla obtidos em TCAR na cronificação e cerca de 4,5 anos após esta. O grupo MRSA, já na cronificação, apresentava valores maiores de escore que o MSSA (6,5 e 3,3, respectivamente). Na avaliação subsequente, os resultados demonstraram escores ainda maiores para MRSA do que para MSSA (13 e 5,2,

respectivamente), com diferença estatisticamente significativa ($p\text{-valor} < 0,001$). O gráfico 1 ilustra estes resultados.

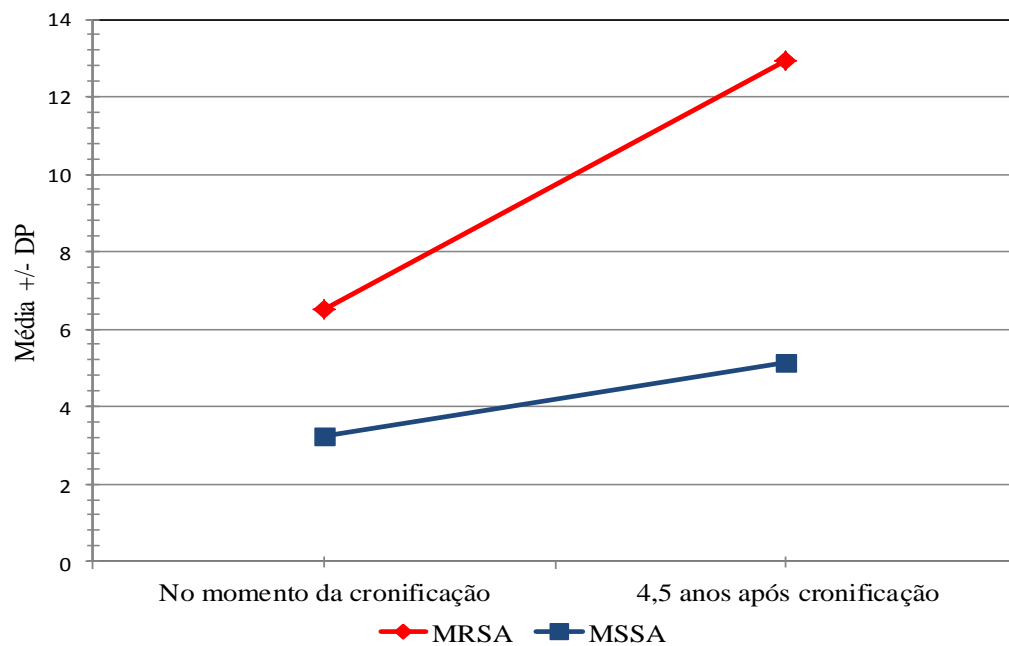
Tabela 8 - Avaliação do escore de Bhalla em casos (MRSA) e controles (MSSA) em dois momentos

Momento da avaliação da TCR	PAR (n=20)						Diferença entre os pares (MRSA-MSSA)			
	Caso MRSA			Caso MSSA			Média	Desvio	Mediana	P-valor do teste de Wilcoxon
	Média	Mediana	Desvio-padrão	Média	Mediana	Desvio-padrão				
Na cronificação	6,5	4,5	3,6	3,3	3,0	2,9	3,3	2,5	3,6	0,002
Após a cronificação**	13,0	11,5	4,5	5,2	4,5	3,5	7,8	8,5	4,5	< 0,001
Diferença (Δ)	6,5	6,0	3,1	1,9	1,0	2,0	4,6	5,0	3,0	< 0,001
P-valor do teste de Wilcoxon	< 0,001			0,001			< 0,001			

*Legenda: MRSA- *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina; MSSA- *Staphylococcus aureus* sensível a metilicina

** Média de aproximadamente 4,5 anos.

Gráfico 1 - Avaliação do escore de Bhalla em dois momentos



Ao fazer uma análise discriminada de cada parâmetro que compõe o escore de Bhalla no momento da cronificação, a presença de bronquiectasias e extensão da formação de tampões

mucosos têm diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Os demais parâmetros não têm diferença estatisticamente significativa entre os grupos neste momento (tabela 9).

Tabela 9 - Parâmetros do escore de Bhalla no momento da cronificação (n=20 pares)

Parâmetro	Escore do caso (MRSA)	Total	Escore do controle (SA)				P-valor*
			0	1	2	3	
Gravidade das bronquiectasias	0	10	10	0	0	0	0,063
	1	8	3	5	0	0	
	2	2	2	0	0	0	
	3	0	0	0	0	0	
	Total	20	15	5	0	0	
Espessamento peribrônquico	0	2	1	1	0	0	0,092
	1	16	6	9	1	0	
	2	2	1	1	0	0	
	3	0	0	0	0	0	
	Total	20	8	11	1	0	
Extensão das bronquiectasias	0	10	10	0	0	0	0,031
	1	5	1	4	0	0	
	2	4	3	1	0	0	
	3	1	1	0	0	0	
	Total	20	15	5	0	0	
Extensão da formação de tampões mucosos	0	10	9	1	0	0	0,035
	1	7	5	2	0	0	
	2	3	1	2	0	0	
	3	0	0	0	0	0	
	Total	20	15	5	0	0	
Gerações de divisões brônquicas	0	10	10	0	0	0	0,063
	1	6	2	4	0	0	
	2	3	2	0	1	0	
	3	1	1	0	0	0	
	Total	20	15	4	1	0	
Colapso/consolidação	0	8	5	0	3		0,212
	1	9	9	0	0		
	2	3	2	1	0		
	Total	20	16	1	3		
Perfusão em mosaico	0	4	2	2	0		0,146
	1	14	7	6	1		
	2	2	0	2	0		
	Total	20	9	10	1		
Aprisionamento de ar	0	4	2	2	0		0,146
	1	14	7	6	1		
	2	2	0	2	0		
	Total	20	9	10	1		

*P-valor pelo teste Wilcoxon

Nota: Os itens "Saculações/abscessos", "Enfisema", "Espessamento de septos intralobulares", "Nódulo acinar", "Vidro fosco" e "Número de bolhas" não foram analisados por apresentarem muita concentração no escore "0".

A análise discriminada de cada parâmetro que compõe o escore de Bhalla após a cronificação (em média 4,5 anos) evidenciou que todos os parâmetros foram piores no grupo MRSA, tendo havido diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo MSSA (tabela 10). Cabe destacar que todos os pacientes do grupo MRSA apresentam, após a cronificação, aprisionamento de ar, perfusão em mosaico, espessamento peribrônquico e tampões mucosos e 90% destes, bronquiectasias.

Tabela 10- Parâmetros do escore de Bhalla após* cronificação (n=20 pares)

Parâmetro	Escore do caso (MRSA)	Total	Escore do controle (SA)				P-valor**
			0	1	2	3	
Gravidade das bronquiectasias	0	2	2	0	0	0	< 0,001
	1	8	5	2	1	0	
	2	3	2	0	1	0	
	3	7	2	4	1	0	
	Total	20	11	6	3	0	
Espessamento peribronquico	0	0	0	0	0	0	0,004
	1	8	0	7	1	0	
	2	9	1	7	1	0	
	3	3	0	3	0	0	
	Total	20	1	17	2	0	
Extensão das bronquiectasias	0	2	2	0	0	0	0,001
	1	7	5	1	1	0	
	2	4	1	0	3	0	
	3	7	3	3	1	0	
	Total	20	11	4	5	0	
Extensão da formação de tampões mucosos	0	0	0	0	0	0	0,001
	1	12	6	5	1	0	
	2	4	4	0	0	0	
	3	4	1	2	1	0	
	Total	20	11	7	2	0	
Gerações de divisões brônquicas	0	3	3	0	0	0	< 0,001
	1	4	2	2	0	0	
	2	5	4	0	1	0	
	3	8	3	3	2	0	
	Total	20	12	5	3	0	
Colapso/consolidação	0	4	4	0	0		< 0,001
	1	12	10	2	0		
	2	4	2	2	0		
	Total	20	16	4	0		
Perfusão em mosaico	0	0	0	0	0		< 0,001
	1	10	3	7	0		
	2	10	3	6	1		
	Total	20	6	13	1		
Aprisionamento de ar	0	0	0	0	0		< 0,001
	1	10	3	7	0		
	2	10	3	6	1		
	Total	20	6	13	1		

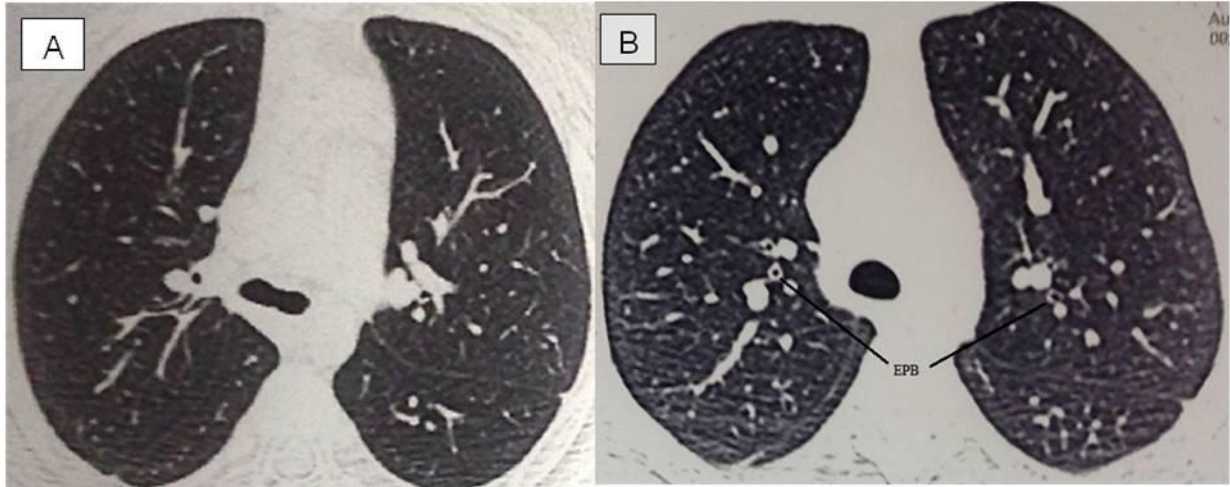
*Média de aproximadamente 4,5 anos. Tempos mínimo e máximo iguais a 2,1 e 10,7 anos, respectivamente.

**P-valor pelo teste Wilcoxon

Nota: Os itens "Saculações/abscessos", "Enfisema", "Espessamento de septos intralobulares", "Nódulo acinar", "Vidro fosco" e "Número de bolhas" não foram analisados por apresentarem muita concentração no escore "0".

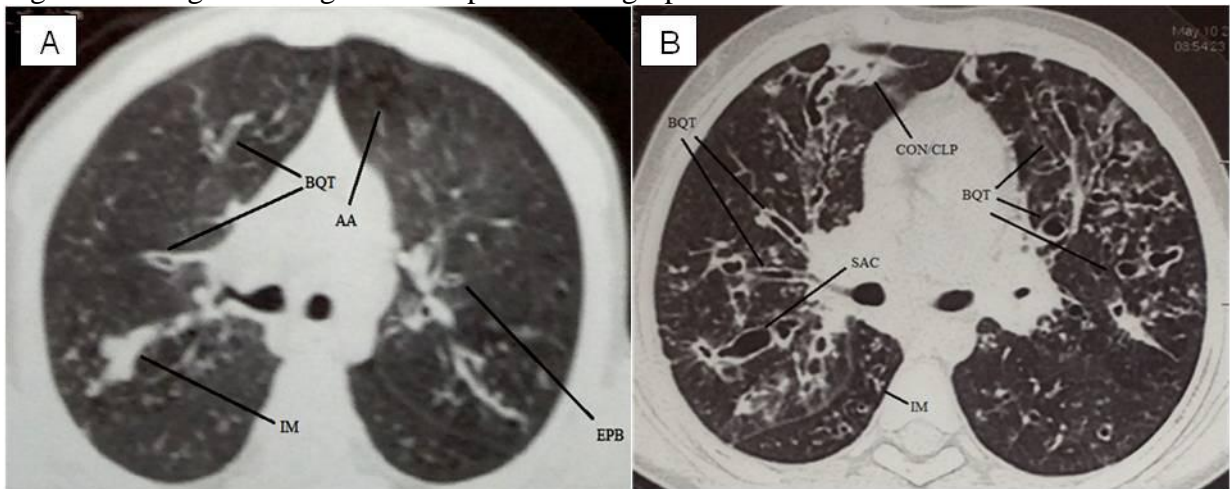
As figuras 6 e 7 representam a evolução tomográfica de paciente do grupo MSSA e MRSA, respectivamente.

Figura 6 – Imagens tomográficas de paciente do grupo MSSA



Legenda: A) imagem tomográfica no momento da consolidação por MSSA. B) imagem tomográfica do mesmo paciente, 4 anos após a consolidação. EPB – Espessamento peribronquico.

Figura 7 - Imagens tomográficas de paciente do grupo MRSA



Legenda: A) imagem tomográfica no momento da consolidação por MRSA. B) imagem tomográfica do mesmo paciente, 4 anos após a consolidação. BQT – bronquiectasia, IM- impação mucóide, AA- aprisionamento aéreo, EPB – espessamento peribronquico, CON/CLP – consolidação/colapso, SAC- saculação.

3.4 Estado nutricional

Em relação ao índice de massa corporal (IMC), as médias dos valores obtidos na cronificação foram semelhantes nos grupos MRSA (15,5 Kg/m²) e MSSA (15,6 Kg/m²), sem diferença estatisticamente significativa (tabela 11). Quando analisada a taxa de variação anual do IMC após a colonização crônica por MRSA ou MSSA, observou-se que também não houve diferença estatisticamente significativa na evolução deste parâmetro nos dois grupos.

Tabela 11- Índice de massa corporal (IMC) no momento da cronificação e sua evolução ao longo do estudo em casos (MRSA) e controles (MSSA)

Estatísticas descritivas	IMC na cronificação			Taxa de variação anual do IMC após a cronificação		
	MRSA (n=20)	MSSA (n=20)	Diferença entre os pares	MRSA (n=20)	MSSA (n=20)	Diferença entre os pares
Média	15,5	15,6	-0,1	0,22	0,19	0,03
Desvio-padrão	2,2	3,6	3,9	0,49	0,44	0,49
P-valor do teste de Wilcoxon	0,823			0,852		

Legenda: MRSA- *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina;

MSSA- *Staphylococcus aureus* sensível a meticilina; IMC- índice de massa cororal (em kg/m2)

Com relação ao percentil de IMC, notou-se que não há diferença estatisticamente significativa (p-valor 0,936) entre os grupos no momento da cronificação por MRSA (média 39,6) e MSSA (média 39,8). Na avaliação das taxas de variação anual do percentil de IMC, foram excluídos 2 pares de pacientes, por estarem fora da faixa etária de cálculo de percentil de IMC, e, portanto, não foram obtidos dados que permitissem o cálculo da taxa de variação anual. De forma semelhante, não houve diferença estatística nas médias das taxas de variação anual do percentil do IMC nos dois grupos (p-valor 0,913), conforme tabela 12.

Tabela 12- Percentil do índice de massa corporal no momento da cronificação e sua evolução ao longo do estudo em casos (MRSA) e controles (MSSA)

Estatísticas descritivas	Percentil IMC na cronificação			Taxa de variação anual do percentil IMC após a cronificação		
	MRSA (n=20)	MSSA (n=20)	Diferença entre os pares	MRSA (n=18)	MSSA (n=18)	Diferença entre os pares
Média	39,6	39,8	-0,3	2,0	1,1	0,9
Desvio-padrão	32,3	33,1	43,2	8,0	6,6	8,4
P-valor do teste de Wilcoxon	0,936			0,913		

Legenda: MRSA- *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina;

MSSA- *Staphylococcus aureus* sensível a meticilina

4 DISCUSSÃO

Na maioria dos pacientes com FC, o diagnóstico é feito a partir de manifestações clínicas como história prévia de fezes volumosas, baixo ganho pondero-estatural e infecções respiratórias recorrentes (MCCORMICK *et al.*, 2002). Em concordância com esses dados, no presente estudo, a maior parte dos pacientes teve o diagnóstico de FC a partir do quadro clínico e, em média, a idade do diagnóstico foi semelhante no grupo caso e no controle (2,5 e 2,1 anos, respectivamente).

O rastreamento neonatal vem sendo feito em vários países do mundo, permitindo a suspeita diagnóstica de FC mais precocemente. No Brasil, a triagem neonatal incluindo a dosagem de tripsina imunorreativa (TIR) está sendo implementada. No Estado do Rio de Janeiro, a inclusão desta dosagem na triagem neonatal só foi estabelecida pela portaria nº 983, de 27 de dezembro de 2011 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011). Esse cenário se reflete no presente estudo, em que apenas sete pacientes (17,5%) foram diagnosticados a partir da alteração de TIR no período neonatal.

Com relação a fatores prognósticos, sabe-se que a sobrevida para pacientes do gênero feminino com FC é menor que para indivíduos do gênero masculino (MEHTA *et al.*, 2010). Além disso, a infecção crônica por *P. aeruginosa* leva a resposta inflamatória prolongada, a qual acredita-se ser causadora de lesão tecidual respiratória e subsequente perda de função pulmonar (DÖRING *et al.*, 2012), afetando negativamente a sobrevida (EMERSON *et al.*, 2002). Diante deste contexto, na presente análise, foi feito pareamento considerando idade, gênero e colonização crônica por *P. aeruginosa* a fim de eliminar fatores de confundimento e mensurar efetivamente o impacto da colonização por MRSA.

Apesar do aumento da prevalência e da morbidade potencialmente associada ao MRSA em pacientes com FC, pouco se sabe sobre seus efeitos na função pulmonar. Não é definido se a colonização por MRSA é simplesmente um marcador de doença pulmonar mais grave (SAWICKI *et al.*, 2008) ou contribuinte independente para declínio da função pulmonar (DASENBROOK *et al.*, 2008). No presente estudo, obtivemos dados que demonstraram que os parâmetros espirométricos (CVF% e VEF₁%) são piores no grupo MRSA já no momento da cronificação. Evolutivamente, os pacientes MRSA apresentaram uma queda de CVF% anual 78% maior do que seus controles (3,2% ao ano no MRSA e 1,8% ao ano no MSSA; p-valor 0,038).

Em relação ao VEF₁%, o declínio anual foi 39% maior no grupo MRSA, revelando uma tendência de piora mais acelerada, porém sem diferença estatisticamente significativa, provavelmente pelo tamanho amostral. Esses resultados destacam o impacto da colonização por MRSA na obstrução ao fluxo aéreo em pacientes com FC. Esses achados são consistentes com outros estudos que demonstraram o impacto negativo do MRSA na função pulmonar (DASENBROOK *et al.*, 2008; REN *et al.*, 2007). A coorte longitudinal de 10 anos conduzida por Dasenbrook, com 17.357 pacientes dos EUA, reportou declínio mais acelerado da função pulmonar em pacientes com colonização crônica por MRSA após ajuste estatístico para possíveis variáveis confundidoras. Nessa coorte, a média de declínio do VEF% foi 43% maior em pacientes MRSA do que em pacientes sem MRSA (2,06% ao ano e 1,44% ao ano, respectivamente; p-valor<0,001) (DASENBROOK *et al.*, 2008). Ren et al, usando um grande banco de dados de pacientes com FC, analisou 1834 pacientes com *S. aureus* nas culturas de secreções respiratórias. Esse estudo demonstrou que os pacientes menores de 18 anos e que tinham isolado MRSA apresentavam significativamente mais obstrução ao fluxo aéreo, medida pelo VEF₁%, do que os pacientes com apenas MSSA (REN *et al.*, 2007). No entanto, este estudo não realizou pareamento dos pacientes de acordo com idade e gênero, que são sabidamente variáveis confundidoras que podem ter influenciado o desfecho. Além disso, sabe-se que o isolamento de MRSA nas secreções respiratórias pode ser transitória em até 69% dos pacientes com FC (DASENBROOK *et al.*, 2008) e, apesar disso, este estudo incluiu no grupo MRSA pacientes com apenas uma cultura positiva para esta bactéria. O presente estudo demonstra dados consistentes apenas de pacientes com colonização crônica, promovendo um melhor entendimento das repercussões desta bactéria na função pulmonar.

Um dos maiores desafios em FC é identificar marcadores sensíveis e adequados para as faixas etárias, capazes de acessar respostas às intervenções terapêuticas propostas. Os exames de função respiratória (notadamente o VEF₁%) e as taxas de exacerbação pulmonar tem sido as medidas mais utilizadas, porém, como os avanços no tratamento em FC tem sido capazes de retardar a perda de função pulmonar, outras medidas tem sido evidenciadas como importantes no acompanhamento destes pacientes, incluindo índices nutricionais como o índice de massa corporal (IMC) (ZEMANICK *et al.*, 2010). A análise do registro de pacientes com FC, feita pela CFF, em 2012, evidenciou melhora evolutiva do IMC e do VEF₁% em relação a dados de 1990 (CFF PATIENT REPORT, 2012). A associação de bom *status* nutricional com melhora da

função pulmonar é bem estabelecida, enquanto a desnutrição tem sido associada a declínio na função pulmonar. Dados do registro alemão de FC (1995-2005) referem que $IMC < 19 \text{ kg/m}^2$ e $VEF_1 < 80\%$ tem correlação com mortalidade. No entanto, não se sabe se a queda de IMC precede o declínio de VEF_1 . A identificação de fatores de risco que possam contribuir para as reduções dessas taxas é importante no acompanhamento de pacientes com FC (ZEMANICK *et al.*, 2010). Um estudo retrospectivo conduzido por McPhail *et al* (2008) comparou função pulmonar e quadro nutricional em 2 coortes de FC de acordo com a idade. Os autores encontraram melhora nos parâmetros em pacientes de 6-12 anos e a redução da taxa de declínio estava associada ao percentil de IMC basal mais alto.

Poucos estudos discutem a repercussão da colonização por MRSA nos índices nutricionais em pacientes com FC. Um estudo retrospectivo sobre o impacto clínico da colonização por MRSA em pacientes pediátricos identificou 12 pacientes colonizados entre 2003 e 2007. Após 1 ano de colonização por MRSA, somente um paciente apresentou queda de percentil de IMC (FERMEIRO *et al.*, 2010). Ressalta-se que no referido estudo foi puramente descritivo e, portanto, os pacientes com MRSA não foram comparados com um grupo controle e não foi feita análise estatística dos dados. No presente estudo, no que concerne o aspecto nutricional, não houve diferença entre os grupos cronicamente colonizados por MRSA ou MSSA com relação ao IMC ou percentil de IMC nem no momento da cronificação nem na evolução anual destes parâmetros.

Com os recentes avanços nas propostas terapêuticas em FC, torna-se fundamental identificar ferramentas que possam monitorar a progressão da doença pulmonar e sua resposta ao tratamento (LOEVE, 2013). Nesse contexto, os exames de imagem têm se mostrado capazes de detectar precocemente a progressão da doença, permitindo melhora na eficácia do tratamento e na qualidade de vida do paciente. A TCAR tem alta sensibilidade e especificidade no diagnóstico da lesão pulmonar e permite também melhor descrição qualitativa do comprometimento respiratório. Neste sentido, este exame tem grande importância na prática clínica, tornando possível uma comparação precisa das alterações anatômicas durante a evolução da doença (MAFFESENTI *et al.*, 1996). A necessidade do uso de escores é decorrente do fato de que o resultado da TCAR se faz através de imagens gráficas as quais devem ser convertidas para um valor de escore a fim de que possam ser usadas em análises da gravidade da doença. O escore de Bhalla modificado, adotado no presente estudo, exhibe critérios de concordância intra e interobservador sugerindo

reprodutibilidade e confiabilidade, independentemente da gravidade das lesões encontradas, sugerindo sua aplicabilidade na prática clínica para a FC (FOLESCU *et al.*, 2012). Estudos comprovam a boa correlação do escore de Bhalla com as provas de função pulmonar confirmando sua utilidade na avaliação e no acompanhamento dos pacientes com FC. Além disso, a TCAR pode ser utilizada tanto em pacientes incapazes de realizar a espirometria quanto para uma análise em conjunto dos dois exames, uma vez que a TCAR mostra alterações precoces em pacientes com espirometrias normais (PEREIRA *et al.*, 2014). Vários estudos têm demonstrado que apesar da estabilidade dos resultados das provas de função respiratória, escores de TCAR evidenciam progressão dos valores totais (LOEVE, 2013). Em concordância, ao longo do presente estudo, foi evidenciada significativa progressão do escore de Bhalla modificado.

Apesar da reconhecida importância de escores de TCAR no acompanhamento de pacientes com FC, poucos estudos fazem referência às diferenças de pontuação de escores tomográficos em grupos microbiológicos distintos (FOLESCU *et al.*, 2012), não havendo estudos publicados a respeito de escores tomográficos em pacientes colonizados por MRSA. Nesse contexto, nosso estudo destaca a importância de escores de TCAR em pacientes cronicamente colonizados por MRSA, contribuindo significativamente para clínicos lidando com estes pacientes.

Os sistemas de escore para TCAR em FC enfatizam a importância de algumas alterações morfológicas pulmonares. A formação de tampões mucosos, por exemplo, é pontuada isoladamente devido ao seu papel crucial na patogênese das bronquiectasias. Da mesma forma, o espessamento peribrônquico reflete a presença de infecção crônica recorrente resultando em inflamação brônquica e peribrônquica e/ou fibrose devendo ser pontuado separadamente. Estas duas anormalidades são de grande importância no manejo da FC, já que podem sugerir necessidade de abordagem terapêutica específica (BHALLA *et al.*, 1991). Paralelamente, a presença de bronquiectasias em FC vem sendo associada à doença brônquica crônica e resulta da inflamação persistente e subsequente enfraquecimento da parede das vias aéreas, levando a dilatação irreversível das paredes brônquicas (TACCONE *et al.*, 1992). A importância dessas considerações se reflete no presente estudo, no qual fica evidente a presença de anormalidades como bronquiectasias, espessamento peribrônquico e formação de tampões mucosos, na quase totalidade dos pacientes cronicamente colonizados por MRSA. Esses resultados estão de acordo com análises de prevalência de outros estudos como Santamaría *et al* (1998), Helbich *et al.*

(1999), Jong *et al.* (2004) e Folescu *et al.* (2012), nos quais as três anormalidades mais prevalentes foram bronquiectasias, que variaram de 86 a 90%, espessamento peribrônquico (53-80%), e formação de tampões mucosos (63-79%). No presente estudo, os valores obtidos no escore de Bhalla demonstram que os pacientes com MRSA já apresentam maior grau de lesão estrutural pulmonar no momento da cronificação. Nesse momento, ao fazer uma análise discriminada de cada parâmetro que compõe o escore, dois destes apresentam diferença estatisticamente significativa entre os grupos (extensão de bronquiectasias e formação de tampões mucosos). Após a cronificação da colonização por MRSA, houve acentuada progressão da lesão estrutural pulmonar, demonstrada não só pelo valor total do escore de Bhalla mas também por todos os seus parâmetros individualmente.

A presença de bronquiectasias na totalidade dos pacientes cronicamente colonizados por MRSA evidencia a gravidade das lesões neste grupo e confirma a associação da colonização por MRSA com a progressão das lesões estruturais pulmonares irreversíveis em FC. As demais lesões mais prevalentes, como espessamento peribrônquico, formação de tampões mucosos e perfusão em mosaico, embora sabidamente reversíveis, também se apresentaram de forma significativamente mais frequente no grupo MRSA. Tais evidências corroboram a hipótese de que a colonização crônica por MRSA suscita resposta inflamatória mais proeminente e leva a lesões estruturais mais precocemente. Os mecanismos propostos para este efeito podem ser semelhantes aos propostos para pneumonia por MRSA. É possível que o MRSA tenha permanência mais prologada nas vias aéreas por causa da sua resistência a antibióticos comumente utilizados ou que a produção de toxinas e outros fatores envolvidos na virulência estejam mediando maior inflamação de via aérea (ZETOLA *et al.*, 2005; GONZALEZ *et al.*, 2005).

CONCLUSÃO

Os pacientes colonizados por MRSA apresentaram no momento da cronificação, dados de maior comprometimento respiratório, tanto no aspecto funcional quanto estrutural. A progressão da doença se mostra também mais rápida em pacientes colonizados por MRSA do que por MSSA, demonstrado através de comparação caso-controle, evitando possíveis variáveis de confundimento.

Em relação ao aspecto estrutural, a TCAR vem se tornando um instrumento indispensável para avaliação de imagens de vias aéreas e parênquima pulmonar. Em FC, esse método tem se mostrado sensível na detecção precoce das lesões, bem como na avaliação da extensão e gravidade de comprometimentos avançados, mesmo antes do aparecimento de alterações clínicas. No presente estudo, fica evidente que os pacientes cronicamente colonizados por MRSA apresentam mais lesões estruturais irreversíveis de vias aéreas. Destaca-se também, a importância da TCAR como ferramenta capaz de detectar precocemente as lesões estruturais, e, portanto, de grande utilidade na prática clínica.

Esta compreensão do impacto da colonização crônica por MRSA nos pacientes com FC reforça os argumentos que defendem o desenvolvimento de medidas de erradicação para MRSA, baseada em evidências científicas.

REFERÊNCIAS

- Aziz ZA, Davies JC, Alton EW, Wells AU, Geddes DM, Hansell DM. Computed tomography and cystic fibrosis: promises and problems. *Thorax*. 2007 Feb; 62(2):181-6.
- Bhalla M, Turcios N, Aponte V, Jenkins M, Leitman BS, Mc Cauley DL. Cystic Fibrosis: Scoring system with Thin-Section CT. *Radiology*. 1991 Jun; 179(3):783-8.
- Boakes E, Kearns AM, Ganner M, Perry C, Hill RL, Ellington MJ. Distinct Bacteriophages Encoding Pantone-Valentine Leukocidin (PVL) among International Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Clones Harboring PVL. *J Clin Microbiol*. 2011 Feb; 49(2):684-92.
- Boyle-Vavra S, Daum RS. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: the role of Pantone-Valentine Leukocidin. *Lab Invest*. 2007 Jan; 87(1):3-9.
- Brody AS, Klein JS, Molina PL, Quann J, Bean JA, Wilmott RW. High-resolution computed tomography in young patients with cystic fibrosis: distribution of abnormalities and correlation with pulmonary function tests. *J Pediatr*. 2004 Jul; 145(1):32-8.
- Budimir A, Deurenberg RH, Plecko V, Vink C, Kalenic S, Stobberingh EE. Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bloodstream isolates from Croatia. *J Antimicrob Chemother*. 2006 Feb; 57(2):331-4.
- Cabello GM, Moreira AF, Horovitz D, Correia P, Santa Rosa A, Llerena J Jr, Greg J, Grody WW, Degraive WM, Fernandes O, Cabello PH. Cystic Fibrosis: low frequency of $\Delta F508$ mutation in 2 population samples of Rio de Janeiro, Brazil. *Human Biol*. 1999 Apr; 71(2):189-96.
- Castile RG, Hayes JR, Flucke RL, Long FR, Mc Coy KS. Correlation of structural and functional abnormalities in the lungs of infants with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*. 2000; 30(S20):295,A427.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). About Child & Teen BMI. Disponível em: <www.cdc.gov/healthyweight/assessing/bmi>. Acesso em: 15/10/2014.
- Champion EA, Miller MB, Popowitch EB, Hobbs MM, Saiman L, Muhlebach MS; Star-CF Study Team. Antimicrobial susceptibility and molecular typing of MRSA in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*. 2014 Mar; 49(3):230-7.
- Conway S, Balfour-Lynn IM, De Rijcke K, Drevinek P, Foweraker J, Havermans T, Heijerman H, Lannefors L, Lindblad A, Macek M, Madge S, Moran M, Morrison L, Morton A, Noordhoek J, Sands D, Vertommen A, Peckham D. European Cystic Fibrosis Society Standards of Care: Framework for the Cystic Fibrosis Centre. *J Cyst Fibros*. 2014 May; 13(1):S3-S22.

Cox DW, Kelly C, Rush R, O'Sullivan N, Canny G, Linnane B. The impact of MRSA infection in the airways of children with cystic fibrosis: a case-control study. *Ir Med J*. 2011 Nov-Dec; 104(10):305-8.

Cystic Fibrosis Foundation. 2012 Annual Data Report. Bethesda, MD: Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry.

Cystic Fibrosis Mutation Database. 2014. Disponível em www.genet.sickkids.on.ca/statisticspage.html. Acesso em: 15/10/2014.

Davis PB. Cystic fibrosis since 1938. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006 Mar; 173(5):475-82.

Dasenbrook EC. Update on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm Med* 2011 Nov; 17(6):437-41.

Dasenbrook EC, Checkley W, Merlo CA, Konstan MW, Lechtzin N, Boyle MP. Association between respiratory tract methicillin-resistant *staphylococcus aureus* and survival in cystic fibrosis. *JAMA*. 2010 Jun; 303(23):2386-92.

Dasenbrook EC, Merlo CA, Diener-West M, Lechtzin N, Boyle MP. Persistent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and rate of FEV1 decline in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008 Oct; 178(8):814-21.

Döring G, Flume P, Heijerman H, Elborn JS. Consensus Study Group. Treatment of lung infection in patients with cystic fibrosis: current and future strategies. *J Cyst Fibros*. 2012 Dec; 11(6):461-79.

Emerson J, Rosenfeld M, Mcnamara S, Ramsey B, Gibson RL. *Pseudomonas aeruginosa* and other predictors of mortality and morbidity in young children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*. 2002 Aug; 34(2):91-100.

Elizur A, Orscheln RC, Ferkol TW, Atkinson JJ, Dunne WM Jr, Buller RS, Armstrong JR, Mardis ER, Storch GA, Cannon CL. Panton-Valentine leukocidin-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* lung infection in patients with cystic fibrosis. *Chest*. 2007 Jun; 131(6):1718-25.

Farrell PM, Rosenstein BJ, White TB, Accurso FJ, Castellani C, Cutting GR, Durie PR, Legrys VA, Massie J, Parad RB, Rock MJ, Campbell PW 3rd; Cystic Fibrosis Foundation. Guidelines for diagnosis of cystic fibrosis in newborns through older adults: Cystic Fibrosis Foundation consensus report. *J Pediatr*. 2008 Aug; 153(2):S4-S14.

Ferreiro J, Reis P, Castanhinha S, Pereira L, Barreto C. The impact of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonisation on paediatric cystic fibrosis patients' morbidity. *Rev Port Pneumol*. 2010 Jul-Aug; 16(4):527-42.

Folescu TW, Marques EA, Boechat MC, Daltro P, Higa LY, Cohen RWF. High-resolution computed tomography scores in cystic fibrosis patients colonized with *Pseudomonas aeruginosa* or *Staphylococcus aureus*. J Bras Pneumol. 2012 Jan-Feb; 38(1):41-9.

Genetics home reference: Cystic fibrosis. Your guide to understanding genetic conditions. 2014. Disponível em <<http://ghr.nlm.nih.gov/condition/cystic-fibrosis>>. Acesso: em 15/10/2014.

Gibson RL, Burns JL, Ramsey BW. Pathophysiology and management of pulmonary infections in Cystic Fibrosis. Am J Resp Crit Care Med. 2003 Oct; 168(8):918-51.

Gonzalez BE, Hulten KG, Dishop MK, Lamberth LB, Hammerman WA, Mason EO Jr, Kaplan SL. Pulmonary manifestations in children with invasive community-acquired *Staphylococcus aureus* infection. Clin Infect Dis. 2005 Sep 1;41(5):583-90.

Goss CH, Muhlebach MS. Review: *Staphylococcus aureus* and MRSA in cystic fibrosis. J Cyst Fibros 2011 Sep; 10(5): 298–306.

Hansell DM, Bankier AA, Macmahon H, Mccloud TC, Muller N, Remy J. Fleischner Society: Glossary of Terms for Thoracic Imaging. Radiology 2008 Mar; 246(3):697-722.

Helbich TH, Heinz-Peer G, Eichler I, Wunderbaldinger P, Götz M, Wojnarowski C, Brasch RC, Herold CJ. Cystic fibrosis: CT assessment of lung involvement in children and adults. Radiology 1999 Nov; 213(2):537-44.

Jong PA, Ottink MD, Robben SG, Lequin MH, Hop WC, Hendriks JJ, Paré PD, Tiddens HA. Pulmonary disease assessment in cystic fibrosis: comparison of CT scoring systems and value of bronchial and arterial dimension measurements. Radiology. 2004 May; 231(2):434-9.

Judge EP, Dodd JD, Masterson JB, Gallagher CG. Pulmonary abnormalities on high-resolution CT demonstrate more rapid decline than FEV1 in adults with cystic fibrosis. Chest. 2006 Nov; 130(5):1424-32.

Kerem E, Conway S, Elborn S, Heijerman H; Consensus Committee. Standards of care for patients with cystic fibrosis: a European consensus. J Cyst Fibros. 2005 Mar; 4(1):7-26.

Kloss WE, Bannerman TL. *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In: Manual of clinical microbiology. Editor in Chief Murray PR. 9 ed. Washington: ASM Press; 2007.

Knudson RJ, Lebowitz MD, Holberg CJ, Burrows B. Changes in the normal maximal expiratory flow-volume curve with growth and aging. Am Rev Respir Dis 1983 Jun; 127(6):725-34.

Labandeira R, Couzon F, Boisset S, Brown EL, Bes M, Benito Y, Barbu EM, Vazquez V, Höök M, Etienne J, Vandenesch F, Bowden MG. *Staphylococcus aureus* Panton-Valentine Leukocidin Causes Necrotizing Pneumonia. Science. 2007 Feb; 315:1130-3.

Lima DP, Brazão NBV, Folescu TW, Neves FP, Ferreira AG, Santos EA, Marques EA, Leão RS. Panton-Valentine leukocidin (PVL) gene carriage among *Staphylococcus aureus* strains with SCCmec types I, III, IV, and V recovered from cystic fibrosis pediatric patients in Brazil. *Diagn Microbiol Infect Dis*; 2014 Jan; 78(1): 59-62.

Loeve M, Krestin GP, Rosenfeld M, De Bruijne M, Stick SM, Tiddens HA. Chest computed tomography: a validated surrogate endpoint of cystic fibrosis lung disease?. *Eur Respir J*. 2013 Sep; 42(3):844-57.

Lucaya J, Garcia-Pena P, Souza P, Sotil J. Low-dose high-resolution CT of the chest in children and young adults: dose, cooperation, artifact incidence and image quality. *AJR Am J Roentgenol*. 2000 Oct; 175(4): 985-92.

Lucaya J, Le Pointe. High-Resolution CT of the Lung in Children - Technique, Indications, Anatomy, Features of Lung Disease, and clinical application. In: Lucaya J, Strife JL. *Pediatric Chest Imaging: Chest Imaging in Infants and Children*. Berlin: Springer Verlag; 2002. p. 55-92.

Luczak JB, Cannon CL, Pier GB. Lung infections associated with cystic fibrosis. *Clin Microbiol Rev*. 2002 Apr; 15(2):194-222.

Ludwig Neto N. Fibrose cística Enfoque Multidisciplinar, Brasil: primeira edição, 2008. p.212-13.

Maffessanti M, Candusso M, Brizzi F, Piovesana F. Cystic Fibrosis in children: HRCT findings and distribution of disease. *J Thorac Imaging*. 1996;11(1):27-38.

Marques EA. Perfil Microbiológico na fibrose cística. *Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto (Impresso)*. 2011;10: 23-35.

McCormick J, Green MW, Mehta G, Culross F, Mehta A. Demographics of the UK cystic fibrosis population: implications for neonatal screening. *Eur J Hum Genet*. 2002 Oct; 10(10):583-90.

McPhail GL, Acton JD, Fenchel MC, Amin RS, Seid M. Improvements in lung function outcomes in children with cystic fibrosis are associated with better nutrition, fewer chronic *Pseudomonas aeruginosa* infections, and dornase alfa use. *J Pediatr*. 2008 Dec; 153(6):752-7.

Mehta G, Macek M Jr, Mehta A; European Registry Working Group. Cystic fibrosis across Europe: EuroCareCF analysis of demographic data from 35 countries. *J Cyst Fibros*. 2010 Dec; 9 Suppl 2:S5-S21.

Milla CE. Association of nutritional status and pulmonary function in children with cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm Med* 2004 Nov; 10(6):505-9.

Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, Crapo R, Enright P, Van Der Grinten CP, Gustafsson P, Jensen R, Johnson DC, Macintyre N, McKay R, Navajas D,

Pedersen OF, Pellegrino R, Viegi G, Wanger J; ATS/ERS Task Force. Standardisation of spirometry. *Eur Respir J*. 2005 Aug; 26(2):319-38.

Ministério da Saúde (Brasil). Portaria nº 983, de 27 de dezembro de 2011.

Moskowitz SM, Gibson RL, Effman EL. Cystic fibrosis lung disease. *Pediatr Radiol*. 2005 May; 35:739-57.

Nissim–Rafinia M, Kerem B, Kerem E. Molecular biology of cystic fibrosis: CFTR processing and functions, and classes of mutation. In: Hodson M, Geddes D, Bush A. *Cystic Fibrosis*. London, UK: Edward Arnold (Publishers); 2007. p.49-58.

Orenstein DM, Rosenstein BJ, Stern RC. The cystic fibrosis gene and the molecular bases of cystic fibrosis. In: *Cystic Fibrosis Medical Care*. Philadelphia, USA: Lippincott, Williams&Williams. 2000. p.5-19.

Paranjape SM, Mogayzel PJ Jr. Cystic Fibrosis. *Pediatr Rev*. 2014 May;35(5):194-205.

Pereira FLL, Ibiapina CC, Alvim CG, Camargos PAM, Figueiredo R, Pedrosa JF. Correlation between Bhalla score and spirometry in children and adolescents with Cystic Fibrosis. *Rev Assoc Med Bras*. 2014 May-Jun; 60(3):216-21.

Rao S, Grigg J. New insights into pulmonary inflammation in cystic fibrosis. *Arch Dis Child*. 2006 Sep; 91(9):786-88.

Raskin S. Estudo multicêntrico das bases da genética molecular e da epidemiologia da fibrose cística em populações brasileiras (tese doutorado). Curitiba (PR): Universidade Federal do Paraná; 2001.

Registro Brasileiro de Fibrose Cística (REBRAFC), 2011. Disponível em: http://www.gbefc.org.br/gbefc/Registro2011_Portugues_site.pdf>. Acesso em: 15/10/2014.

Ren CL, Morgan WJ, Konstan MW, Schechter MS, Wagener JS, Fisher KA, Regelman WE. Investigators and Coordinators of the Epidemiologic Study of Cystic Fibrosis. Presence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in respiratory cultures from cystic fibrosis patients is associated with lower lung function. *Pediatr Pulmonol* 2007 Jun; 42(6):513-18.

Robinson TE. High-resolution CT scanning: potential outcome measure. *Curr Opin Pulm Med*. 2004 Nov;10(6):537-41.

Rosenstein BJ, Cutting GR. The diagnosis of cystic fibrosis: a consensus statement. Cystic Fibrosis Foundation Consensus Panel. *J Pediatr*. 1998 Apr; 132(4):589-95.

Santamaria F, Grillo G, Guidi G, Rotondo A, Raia V, De Ritis G, Sarnelli P, Caterino M, Greco L. Cystic fibrosis: when should high-resolution computed tomography of the chest be obtained? *Pediatrics*. 1998 May; 101(5):908-13.

Santos GP, Domingos MT, Wittig EO, Riedi CA, Rosário NA. Neonatal cystic fibrosis screening program in the state of Paraná: evaluation 30 months after implementation. *J Pediatr (Rio J)*. 2005 May-Jun; 81(3):240-4.

Sawicki GS, Rasouliyan L, Pasta DJ, Regelman WE, Wagener JS, Waltz DA, Ren CL. The impact of incident methicillin resistant *Staphylococcus aureus* detection on pulmonary function in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*. 2008 Nov; 43(11):1117-23.

Schuenck RP, Nouér SA, Winter CO, Cavalcante FS, Scotti TD, Ferreira AL, Giambiagi-De Marval M, Dos Santos KR. Polyclonal presence of non-multiresistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates carrying SCCmec IV in health care-associated infections in a hospital in Rio de Janeiro, Brazil. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2009 Aug; 64(4):434-41.

Scribel LV, Silva-Carvalho MC, Souza RR, Superti SV, Kvitko CH, Figueiredo AM, Zavascki AP. Clinical and molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying SCCmecIV in a university hospital in Porto Alegre, Brazil. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2009 Dec; 65(4):457-61.

Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 17.0 for Windows.

Taccone A, Romano L, Marzoli A, Girosi D, Dell'acqua A, Romano C. High-resolution computed tomography in cystic fibrosis. *Eur J Radiol*. 1992 Sep; 15(2):125-9.

Tiddens HAWM. Chest computed tomography scans should be considered as a routine investigation in cystic fibrosis. *Paediatr Respir Rev*. 2006 Sep; 7(3):202-8.

Vanderhelst E, De Meirleir L, Verbanck S, Piérard D, Vincken W, Malfroot A. Prevalence and impact on FEV1 decline of chronic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) colonization in patients with Cystic Fibrosis - A single-center, case control study of 165 patients. *J Cystic Fibros*. 2012 Jan; 11(1): 2-7.

Website of International Working Group on the classification of Staphylococcal Cassette Chromosome Elements – IWG-SCC. Disponível em <www.sccmec.org>. Acesso em: 15/10/2014.

World Health Organization. The molecular genetic epidemiology of cystic fibrosis. Report of a joint meeting of WHO/ECFTN/ICF(M)A/ECFS. 2004. Disponível em: <http://www.who.int/genomics/publications/en/HGN_WB_04.02_TOC.pdf>. Acesso em: 21/06/2014.

Zemanick ET, Harris JK, Conway S, Konstan MW, Marshall B, Quittner AL, Retsch-Bogart G, Saiman L, Accurso FJ. Measuring and improving respiratory outcomes in cystic fibrosis lung disease: opportunities and challenges to therapy. *J Cyst Fibros*. 2010 Jan; 9(1):1-16.

Zetola N, Francis JS, Nuermberger EL, Bishai WR. Community-acquired methicillin-resistant *staphylococcus aureus*: an emerging threat. *Lancet Infect Dis*. 2005 May; 5(5):275-86.

Zielenski J. Genotype and phenotype in cystic fibrosis. *Respiration*. 2000;67(2):117–33.

ANEXO - Declaração de aprovação no comitê de ética

INSTITUTO FERNANDES
FIGUEIRA - IFF/ FIOCRUZ - RJ/
MS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Staphylococcus aureus resistente a meticilina: Impacto clínico em pacientes com fibrose cística acompanhados em centro de referência do Rio de Janeiro

Pesquisador: Tania Wrobel Folescu

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 27902814.9.0000.5269

Instituição Proponente: Instituto Fernandes Figueira - IFF/ FIOCRUZ - RJ/ MS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 541.936

Data da Relatoria: 25/02/2014

Apresentação do Projeto:

A fibrose cística (FC) é uma doença autossômica recessiva multisistêmica que atinge 1:2500 nascidos vivos caucasianos. No Rio de Janeiro, os últimos estudos estimam que a incidência esteja em torno de 1:6900. Apesar dos progressos no entendimento da base molecular e fisiopatologia da FC, as infecções respiratórias recorrentes são a maior causa de morbimortalidade da doença. Na última década, houve aumento na prevalência de diversos microorganismos potencialmente patogênicos em pacientes com FC, como Staphylococcus aureus resistente a meticilina (MRSA), alcançando mais de 20%. Diante deste cenário de aumento da prevalência de MRSA e pouca literatura disponível, torna-se essencial um melhor entendimento da repercussão clínica da colonização por esta bactéria nos pacientes com FC para implementação de protocolos de terapêuticos nessa população. O objetivo principal deste estudo é avaliar a repercussão clínica da colonização crônica por MRSA em pacientes com FC acompanhados no Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira - FIOCRUZ. Com base em culturas

Endereço: RUI BARBOSA, 716

Bairro: FLAMENGO

CEP: 22.250-020

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)2554-1730

Fax: (21)2552-8491

E-mail: cepff@ff.fiocruz.br

**INSTITUTO FERNANDES
FIGUEIRA - IFF/ FIOCRUZ - RJ/
MS**



Continuação do Protocolo: 541.936

descreção respiratória realizadas de rotina serão identificados pacientes colonizados cronicamente por MRSA no período entre 2004 e 2013.

Os pacientes serão avaliados, de forma evolutiva, no período entre 2 anos antes da colonização crônica por MRSA até 2 anos após, e comparados

com grupo de pacientes com FC colonizados cronicamente por *S. aureus* sensível a meticilina (MSSA). Os pacientes do estudo serão avaliados

de acordo com os seguintes parâmetros: estado nutricional (relação peso/estatura ou índice de massa corporal - IMC), função pulmonar (VEF1 e

CVF), alterações tomográficas (escore de Bhalia modificado) e número de exacerbações respiratórias. Na FC, é fundamental que se possa monitorar

o perfil bacteriano e a repercussão clínica para que se entenda a história natural das infecções por bactérias MRSA nestes pacientes.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar a repercussão clínica da colonização crônica pelo *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) em pacientes com fibrose cística

Objetivo Secundário:

- Descrever a população envolvida no estudo de acordo com idade, gênero, critérios diagnósticos de FC e existência de insuficiência pancreática,

diabetes e hepatopatia; - Avaliar o perfil de resistência do MRSA analisando 11 antimicrobianos; -

Caracterizar o *Staphylococcal Cassette*

Chromosome mec (SCCmec) dentre as amostras de MRSA; - Detectar os genes *lukS* e *lukF* codificantes da toxina de Pantón-Valentine leukocidín

(PVL) das amostras e associá-lo ao perfil de resistência e SCCmec; - Analisar os pacientes colonizados cronicamente por *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA), de acordo com VEF1, CVF, IMC, alterações tomográficas

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Trata-se de um estudo retrospectivo com consulta a prontuários e imagens radiológicas. em relação a riscos, os pesquisadores comprometem-se a garantir a privacidade dos sujeitos exibindo os resultados sem identificação e somente em meios científicos.

Benefícios relacionados a produção de conhecimento.

Endereço: RUI BARBOSA, 718

Bairro: FLAMENGO

CEP: 22.250-620

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)2554-1730

Fax: (21)2552-8491

E-mail: cepiff@iff.fiocruz.br

INSTITUTO FERNANDES
FIGUEIRA - IFF/ FIOCRUZ - RJ/
MS



Continuação do Parecer: 541.926

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa Retrospectiva

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:
apresentados

Recomendações:

Garantia de confidencialidade dos dados deverá ser mantida pelos pesquisadores

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:
aprovado

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

RIO DE JANEIRO, 26 de Fevereiro de 2014

Assinador por:
maria elisabeth lopes moreira
(Coordenador)

Endereço: RUI BARBOSA, 718

Bairro: FLAMENGO

CEP: 22.250-620

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)2554-1730

Fax: (21)2552-8491

E-mail: cepiff@iff.fiocruz.br