

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

ROSIANE RIBEIRO DOS SANTOS

Associação entre marcadores genéticos (HLA) e o carreamento nasal de  
*Staphylococcus aureus* em pacientes renais

Maringá  
2012

ROSIANE RIBEIRO DOS SANTOS

Associação entre marcadores genéticos (HLA) e o carregamento nasal de  
*Staphylococcus aureus* em pacientes renais

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde. Área de concentração: Saúde Humana.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sueli Donizete Borelli

Maringá  
2012

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

R237a Santos, Rosiane Ribeiro dos  
Associação entre marcadores genéticos (HLA) e o  
carreamento nasal de Staphylococcus aureus em pacientes  
renais/ Rosiane Ribeiro dos Santos. -- Maringá, 2012.  
45 f., tabs.

Orientadora: Prof.a. Dr.a. Sueli Donizete Borelli.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de  
Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-  
Graduação em Ciências da Saúde, 2012.

1. Staphylococcus aureus. 2. Carreamento nasal. 3. HLA.  
4. Haplótipos. 5. Pacientes renais. I. Borelli, Sueli  
Donizete, orient. II. Universidade Estadual de Maringá.  
Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação  
Ciências da Saúde. III. Título.

CDD 22.ed. 616.0792

JLM-000731

# FOLHA DE APROVAÇÃO

ROSIANE RIBEIRO DOS SANTOS

Associação entre marcadores genéticos (HLA) e o carreamento nasal de  
*Staphylococcus aureus* em pacientes renais

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

## COMISSÃO JULGADORA

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Sueli Donizete Borelli  
Universidade Estadual de Maringá (Presidente)

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Luiza Tamie Tsuneto  
Universidade Estadual de Maringá

Prof. Dr. Sergio Seiji Yamada  
Universidade Estadual de Maringá

Aprovada em: 17 de dezembro de 2012.

Local de defesa: Sala 01, Bloco 126, *campus* da Universidade Estadual de Maringá.

Dedico este trabalho à minha família, imprescindível em todos os momentos. Por sempre incentivar meus sonhos e compartilhar de minhas conquistas.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por Sua presença em todos os momentos de minha vida. Muito obrigada, Senhor, por me permitir mais esta conquista!

Aos meus pais, Paulo e Ilma, pelo apoio incondicional e por me ensinarem a lutar por meus sonhos, através do exemplo de vida e de trabalho. Amo muito vocês!

Aos meus irmãos: Elton, Josi, Alex e Kríssley e às cunhadas Elaine e Letícia, por me apoiarem, e por sempre estarem por perto nos momentos mais importantes.

Aos meus sobrinhos: Paulo José, Elton Júnior, Maria e Guilherme, pelos momentos de carinho e descontração que só as crianças nos proporcionam. Vocês são os meus amores!

Às amigas: Sayuri, Luciana, Aline, Kelly, Gisele e Eloana, por compreenderem a minha ausência em certas ocasiões, pelo incentivo, apoio e momentos de diversão durante mais essa etapa da minha vida.

À amiga Luciana Giarola, que dividiu comigo sua trajetória de mestranda, quando eu ainda era apenas uma aluna de Pibic. Vivemos momentos muito especiais de aprendizado científico e amizade. Lu, você tem uma inegável participação nesta minha conquista!

Aos amigos de mestrado e laboratório: Fabiane Shehadeh, Patrícia Keiko, Roger Haruki, Laiane Denski, Jocimara Costa, Alessandra Gobbi, Angélica Takemoto, Patricia Okubo, Marina Raduy, Ana Cândida Grossi, Regiane Cucolete, pelo aprendizado em conjunto, pelas dificuldades divididas e superadas. Tenho certeza de que essa amizade se estenderá por muito tempo.

À professora Sueli Borelli, minha orientadora, por compartilhar comigo seus conhecimentos e sua amizade. Por sua orientação segura, competência e compromisso, pelos constantes diálogos que me motivam sempre a aprender, por ter me acolhido em um momento difícil no início do mestrado, e por tantos outros motivos que tornam a minha admiração por você cada vez maior, muito obrigada!

Ao professor João Bedendo, que foi quem me mostrou os primeiros passos da pesquisa científica e o maior incentivador para que eu fizesse mestrado. Para mim, o senhor é e sempre será um mestre e amigo. Muito obrigada pelo incentivo, dedicação, generosidade ao ensinar, e também pelas valiosas contribuições como membro da banca de Qualificação e Defesa.

Ao professor Waldir Veríssimo, pela dedicação e prontidão com que colaborou na análise estatística deste trabalho.

Aos professores da banca de Qualificação e Defesa: Luiza Tamie Tsuneto, Sergio Seiji Yamada e Benício Alves de Abreu Filho, pela disponibilidade em participar e colaborar com este trabalho. As valiosas contribuições, certamente, resultaram e resultarão no aprimoramento dessa Dissertação.

Aos professores e funcionários do Laboratório de Microbiologia e Imunologia Básica, pelo acolhimento, colaboração e pelo conhecimento compartilhado.

Aos funcionários do Laboratório Histogene, em especial Erika Noda Noguti, pela colaboração neste trabalho.

A todos os docentes e funcionários do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Maringá. Em especial, à coordenadora Maria Dalva de Barros Carvalho e à Olívia, pelo acolhimento carinhoso e colaboração durante todo o mestrado.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

## EPÍGRAFE

Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota.

(Madre Teresa de Calcutá)

## Associação entre marcadores genéticos (HLA) e o carreamento nasal de *Staphylococcus aureus* em pacientes renais

### RESUMO

O carreamento nasal de *Staphylococcus aureus* é um evento complexo, com distribuição mundial, multifatorial e dependente de variáveis associadas à bactéria e ao hospedeiro, com grande repercussão econômica e na área da saúde. Embora seja assintomático, o carreamento nasal de *S. aureus* tem grande importância clínica e epidemiológica, sendo considerado o principal fator de risco para a aquisição de infecções endógenas. Infecção é a segunda maior causa de morte em pacientes com insuficiência renal crônica, e o *S. aureus* é o principal microrganismo envolvido na morbimortalidade infecciosa neste grupo. Pacientes submetidos a tratamento dialítico e transplantados renais estão particularmente vulneráveis às infecções devido a constante submissão a fatores de risco e a imunossupressão. O desenvolvimento de uma infecção está diretamente relacionado com a resposta imune individual, na qual as moléculas do Complexo Principal de Histocompatibilidade que, no homem, recebe a denominação de Sistema HLA, do inglês *Human Leucocyte Antigens*, desempenham um papel central para a compreensão de mecanismos associados à suscetibilidade ou proteção a determinadas doenças. O envolvimento das moléculas HLA na patogênese de doenças tem sido investigado em várias doenças infecciosas e não-infecciosas, entretanto, pouco se sabe sobre a associação entre as moléculas HLA e o carreamento nasal de *S. aureus*. O presente estudo teve por objetivo principal investigar a associação entre os marcadores genéticos HLA, de classe I (HLA-A, -B, -C) e classe II (HLA-DR, -DQ), de pacientes em diálise e transplantados renais, e a condição de carreador ou não-carreador nasal de *S. aureus*. A população desta pesquisa foi composta por 166 pacientes em diálise e 70 pacientes transplantados renais. A identificação das amostras de *S. aureus*, isoladas dos vestibulos nasais dos pacientes, foi realizada pela coloração de Gram e teste da coagulase em tubo. O DNA genômico foi extraído da camada leucocitária pelo método Biopur e a genotipagem das moléculas HLA foi realizada pela metodologia SSO-Luminex. Entre os 166 pacientes em diálise, 31,33% eram carreadores nasais de *S. aureus*, enquanto que, nos 70 pacientes transplantados renais a taxa de carreamento nasal foi de 52,86%. Em nosso estudo, o carreamento nasal de *S. aureus* não diferiu quanto ao sexo, etnia, idade, tempo de diálise ou de transplante, em ambos os grupos de pacientes. Nossos resultados sugerem o envolvimento

de alguns alelos HLA no carreamento nasal de *S. aureus*: nos pacientes em diálise, o alelo *HLA-B\*44* (p=0,0331; OR: 2,37; IC95%: 1,01- 5,60) tendendo à suscetibilidade para o carreamento nasal e, nos pacientes transplantados renais, o envolvimento do alelo *HLA-DRB1\*03* (p= 0,0052; OR: 11,2; IC95%: 1,55- 494,7) na suscetibilidade e dos alelos *HLA-B\*40* (p= 0,0263; OR: 8,66; IC95%: 1,04- 72,39) e *HLA-C\*03* (p=0,0307; OR: 3,85; IC95%: 1,09- 17,30) na proteção para o carreamento nasal da bactéria. Ainda no grupo de pacientes transplantados foi observado que o haplótipo *HLA-DRB1\*03, -DQA1\*05, -DQB1\*02* (p= 0,0074; OR: 11,85; IC95%: 1,42- 98,59) foi o mais significativo para a suscetibilidade do carreamento nasal de *S. aureus*. Este estudo pode contribuir para um melhor entendimento dos mecanismos envolvidos no carreamento desta bactéria, visando o desenvolvimento de estratégias de prevenção e controle.

**Palavras-chave:** *Staphylococcus aureus*. Carreamento nasal. HLA. Haplótipos. Pacientes renais.

## Association among genetic markers (HLA) and nasal carriage of *Staphylococcus aureus* in renal patients

### **ABSTRACT**

The nasal carriage of *Staphylococcus aureus* is a complex, worldwide-present, multifactorial event, depending on variables, associated to the bacteria and the host, with serious repercussions on economy and health care. Even though the nasal carriage of *S. aureus* is asymptomatic, it has great clinic and epidemiological importance, being considered the major risk factor for the acquisition of endogenous infections. Infections are the second major death cause in patients suffering from chronic renal failure and *S. aureus* is the microorganism most commonly involved in the infectious morbidity and mortality in this group. Patients on dialysis and kidney-transplanted patients are particularly vulnerable to acquisition of infections, once they are constantly submitted to risk factors and to immunosuppression. The development of an infection is directly related to the individual immune system response. In this system, the molecules of the Major Histocompatibility Complex which, in humans is named Human Leukocyte Antigens (HLA System), provide a central role for a comprehensive understanding of associated mechanisms of disease resistance and susceptibility. The role of the HLA molecules in the pathogenesis of diseases has been investigated for several infectious and non-infectious diseases. However, little is known. The present study aimed to investigate the association between the HLA molecules, class I (HLA-A, -B, -C) and class II (HLA-DR, -DQ), of dialysis and kidney-transplanted patients, and the condition of the bacteria's nasal carrier or non-carrier. The population of this research consisted of 166 patients on dialysis and 70 kidney-transplanted patients. The identification of *S. aureus* isolated samples from the patients' nasal vestibules was performed by means of Gram-stain and Tube coagulase test. Genomic DNA was extracted from the buffy coat by means of Biopur method and the HLA molecules genotyping was performed by SSO-Luminex methodology. Among the 166 dialysis patients, 31.33% were nasal carriers of *S. aureus* while in 70 kidney-transplanted patients the nasal carriage rate was 52.86%. In our study, the nasal carriage of *S. aureus* did not differ for gender, ethnicity, age, and duration of dialysis or transplantation, in both patient groups. Our results suggest the involvement of some HLA alleles in the nasal carriage of *S. aureus*: in dialysis patients, the allele *HLA-B\*44* ( $p=0.0331$ ; OR: 2.37; IC95%: 1.01- 5.60) tending to the susceptibility for nasal carriage and, in kidney-

transplanted patients, the involvement of the allele *HLA-DRB1\*03* (p= 0.0052; OR: 11.2; IC95%: 1.55- 494.7) in the susceptibility and the alleles *HLA-B\*40* (p= 0.0263; OR: 8.66; IC95%: 1.04- 72.39) and *HLA-C\*03* (p=0.0307; OR: 3.85; IC95%: 1.09- 17.30) in the protection for the nasal carriage of bacteria. Still considering the transplanted patients, it was noticed that the haplotype *HLA-DRB1\*03, -DQA1\*05, -DQB1\*02* (p= 0.0074; OR: 11.85; IC95%: 1.42- 98.59) was the most significant for *S. aureus* nasal carriage susceptibility. This study could contribute for a better understanding of the mechanisms involved in the carriage of these bacteria, aiming at the development of prevention and control strategies.

**Keywords:** *Staphylococcus aureus*. Nasal carriage. HLA. Haplotypes. Renal patients.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

|          |                                                                                                                                                                                           |    |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 | Caracterização dos pacientes em diálise quanto ao carreamento nasal de <i>Staphylococcus aureus</i> .....                                                                                 | 37 |
| Tabela 2 | Caracterização dos pacientes transplantados renais quanto ao carreamento nasal de <i>Staphylococcus aureus</i> .....                                                                      | 38 |
| Tabela 3 | Frequências alélicas (HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQA1 e HLA-DQB1) dos pacientes em diálise, carreadores e não-carreadores nasais de <i>Staphylococcus aureus</i> .....            | 39 |
| Tabela 4 | Frequências alélicas (HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQA1 e HLA-DQB1) dos pacientes transplantados renais, carreadores e não-carreadores nasais de <i>Staphylococcus aureus</i> ..... | 42 |

Dissertação elaborada e formatada conforme as  
normas da ABNT (Capítulo I) e da publicação  
científica (Capítulo II): *Nephrology Dialysis Transplantation*  
disponível em:

<[http://www.oxfordjournals.org/our\\_journals/ndt/for\\_authors/index.html](http://www.oxfordjournals.org/our_journals/ndt/for_authors/index.html)>

## SUMÁRIO

|       |                                                                                                                           |    |
|-------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1     | CAPÍTULO I                                                                                                                | 14 |
| 1.1   | Revisão bibliográfica                                                                                                     | 14 |
| 1.1.1 | <i>Staphylococcus aureus</i>                                                                                              | 14 |
| 1.1.2 | Carreamento nasal de <i>Staphylococcus aureus</i>                                                                         | 16 |
| 1.1.3 | Sistema HLA                                                                                                               | 18 |
| 1.2   | Justificativa                                                                                                             | 20 |
| 1.3   | Objetivos                                                                                                                 | 21 |
| 1.3.1 | Objetivo geral                                                                                                            | 21 |
| 1.3.2 | Objetivos específicos                                                                                                     | 21 |
| 1.4   | Referências                                                                                                               | 21 |
| 2     | CAPÍTULO II                                                                                                               | 24 |
| 2.1   | Artigo: <i>HLA-DRB1*03</i> e suscetibilidade para o carreamento nasal de <i>Staphylococcus aureus</i> em pacientes renais | 25 |
| 3     | CAPÍTULO III                                                                                                              | 45 |
| 3.1   | Conclusões                                                                                                                | 45 |
| 3.2   | Perspectivas futuras                                                                                                      | 45 |

## 1. CAPÍTULO I

### 1.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 1.1.1 *Staphylococcus aureus*

O gênero *Staphylococcus*, pertencente à família *Micrococcaceae*, é constituído de espécies que se apresentam na forma de cocos Gram-positivos, com 0,5 a 1,5 µm de diâmetro, imóveis, não-esporuladas e geralmente não-encapsuladas. Os microrganismos desse gênero formam arranjos irregulares semelhantes a cachos de uva, cuja divisão celular ocorre em três planos perpendiculares, mas também podem apresentar-se isolados, aos pares ou em cadeias curtas. Suas colônias, em meio ágar simples em placa, apresentam de 1 a 3 mm de diâmetro, após 24 horas de incubação, são convexas, cremosas, apresentando coloração que varia do branco a diversas tonalidades de amarelo, dependendo da espécie (KONEMAN *et al.*, 2008).

São microrganismos mesófilos, apresentando temperatura de crescimento na faixa de 4°C a 46°C, sendo a temperatura ótima de 35°C a 37°C, e são tolerantes a concentrações de 10% a 20% de cloreto de sódio (FRAZIER & WESHOFF, 2000). Apresentam capacidade de crescer dentro de uma escala compreendida entre os valores de pH 4,0 e 9,8, sendo o pH ótimo para crescimento compreendido entre 6,0 e 7,0 (FRANCO & LANDGRAFF, 2000). São anaeróbios facultativos, catalase-positivos e coagulase-positivos ou negativos, dependendo da espécie, sendo a maioria coagulase-negativa (KONEMAN *et al.*, 2008).

A primeira descrição do *Staphylococcus* em pus de abscessos cirúrgicos foi em 1880, realizada pelo cirurgião escocês Alexandre Ogston (SANTOS *et al.*, 2007). Atualmente, o gênero *Staphylococcus* possui 33 espécies, sendo que, 17 delas podem ser encontradas em amostras clínicas humanas. Em infecções humanas, as principais espécies envolvidas são o *Staphylococcus aureus* (coagulase-positivo), o *Staphylococcus epidermidis* e o *Staphylococcus saprophyticus* (coagulase-negativos) (KONEMAN *et al.*, 2008).

O *S. aureus* é a espécie de maior importância entre os estafilococos e também a mais estudada, pois se trata de um patógeno altamente versátil, causador de infecções comunitárias e hospitalares, tanto em indivíduos saudáveis como em imunocomprometidos. Tem aproximadamente 0,5 a 1,5 µm de diâmetro, cresce em meios comuns, caldo ou ágar simples, pH = 7,0, a temperatura ótima de 37°C. As colônias, após 18-24 horas de incubação, apresentam-se arredondadas, lisas e brilhantes, com coloração variando desde o acinzentado até o amarelo-ouro. Em placas de ágar sangue, um halo de hemólise desenvolve-se em torno das colônias formadas. Outro meio importante para a identificação do *S. aureus* é o ágar

manitol-salgado, que atua como meio seletivo para essa espécie, o que se deve à característica apresentada pelo *S. aureus* de fermentação do manitol e produção do ácido lático. Essa espécie se desenvolve também na presença de 7,5% de NaCl, meio que estimula a produção de coagulase (KONEMAN *et al.*, 2008).

A detecção da enzima coagulase é a característica que possibilita a identificação do *S. aureus*. O teste convencional da coagulase pode ser realizado em lâmina ou em tubo, sendo o último procedimento o mais recomendado. A coagulase é secretada extracelularmente e reage com uma substância denominada fator de reação à coagulase, presente no plasma, formando um complexo que, por sua vez, reage com o fibrinogênio, formando fibrina, tornando possível a visualização do coágulo (KONEMAN *et al.*, 2008).

Embora faça parte da microbiota normal do corpo humano, o *S. aureus* é uma bactéria causadora de inúmeras infecções, desde as localizadas e superficiais até as disseminadas e graves. Na maioria das vezes, está relacionado a infecções superficiais e discretas, mas em indivíduos debilitados por imunossupressão, doenças crônicas, queimaduras e traumas físicos, *S. aureus* pode causar infecções mais graves e até fatais, sendo considerado um dos principais patógenos oportunistas (TEIXEIRA *et al.*, 2008).

As infecções superficiais são representadas pelos abscessos cutâneos e infecções de feridas, caracterizadas pela invasão direta dos tecidos, através de soluções de continuidade, por amostras de *S. aureus* existentes na pele ou nas mucosas. As infecções profundas, com exceção da pneumonia por aspiração, decorrem de bacteremias que se originam nos focos de infecção superficiais. Portanto, é necessário que a bactéria atravesse a parede vascular para alcançar o tecido a ser infectado. São representadas pelas endocardites, osteomielites, artrites, miosite tropical e pneumonia. Há, ainda, os quadros tóxicos de infecção por *S. aureus*: síndrome do choque tóxico, síndrome da pele escaldada e a intoxicação alimentar (TEIXEIRA *et al.*, 2008).

Indivíduos sadios são colonizados por *S. aureus* desde o início da vida, e embora seu principal sítio de colonização seja as narinas anteriores (de 20 – 40% dos adultos), o *S. aureus* também é comumente encontrado nas regiões perineal e umbilical, axilas, intestino, pele e mucosas (KONEMAN *et al.*, 2008; CAVALCANTI *et al.*, 2005). As infecções estafilocócicas podem ser de natureza endógena ou exógena, ocorrendo a transmissão por contato direto ou indireto (TEIXEIRA *et al.*, 2008).

A patogenicidade do *S. aureus* é multifatorial e envolve os componentes da superfície celular, toxinas e algumas enzimas, que atuam como fatores de virulência, desempenhando um importante papel na instalação, desenvolvimento e manutenção no tecido do hospedeiro.

O mecanismo de invasão ocorre em etapas: aderência da bactéria à pele ou à mucosa, rompimento das barreiras do epitélio, comprometimento estrutural de ligações intercelulares, seguidas de estratégias de sobrevivência e proliferação no tecido do hospedeiro, tais como a opsonização do complemento, a neutralização da fagocitose e a inibição das respostas imunes, celular e humoral (SANTOS *et al.*, 2007).

A produção de moléculas que se ligam ao fibrinogênio, fibronectina e colágeno, coletivamente conhecidas como MSCRAMM (*microbial surface components recognising adhesive matrix molecules*) funcionam como adesinas, promovendo a colonização dos tecidos pelo *S. aureus*. O peptideoglicano e os ácidos teicóicos induzem uma resposta imunológica no hospedeiro, e também promovem a ligação da bactéria às células epiteliais da mucosa nasal do hospedeiro. Fatores de virulência que atuam como mecanismos de evasão antifagocitária incluem os polissacarídeos capsulares, a proteína A, a  $\alpha$ -toxina, a leucocidina e hemolisinas. Há ainda as toxinas que atuam como superantígenos, como as diversas enterotoxinas estafilocócicas (SEs A-E, G-J, K, L, M, O e P) e a toxina da síndrome do choque tóxico (TSST) e também as toxinas esfoliatinas, que degradam as moléculas de adesão do epitélio cutâneo, responsáveis pela síndrome da pele escaldada (TEIXEIRA *et al.*, 2008; SANTOS *et al.*, 2007).

O alto potencial infeccioso do *S. aureus* não se limita à sua capacidade de multiplicação e disseminação nos tecidos, mas também está relacionado à expressão de moléculas que lhe conferem grande patogenicidade, que incluem as betalactamases, coagulases, hialuronidases, catalases, DNAses, lipases, proteases e esterases (SANTOS *et al.*, 2007).

### **1.1.2 Carreamento nasal de *Staphylococcus aureus***

Historicamente, o carreamento nasal de *S. aureus* tem sido classificado em três categorias: carreamento persistente (20% dos indivíduos), carreamento intermitente (30%) e não-carreamento (50%) (WERTHEIM *et al.*, 2005). A prevalência do carreamento nasal de *S. aureus* é maior em crianças, homens, caucasianos, pacientes hospitalizados, destacando-se determinados grupos de pacientes, como os diabéticos, pacientes em tratamento dialítico e pacientes portadores do vírus da imunodeficiência adquirida (VAN BELKUM *et al.*, 2009; KLUYTMANS; VAN BELKUM; VERBRUGH, 1997).

Estudo recente propõe a reclassificação dos tipos de carreamento nasal de *S. aureus*, sugerindo a existência de apenas dois tipos, carreamento persistente e outros, pois demonstra

que carreadores intermitentes e não-carreadores não diferem quanto à cinética de eliminação intranasal e quanto aos perfis de anticorpos antiestafilococos produzidos (VAN BELKUM *et al.*, 2009) e, igualmente, apresentam baixo risco de infecção por *S. aureus*, ao contrário dos portadores persistentes, para os quais o risco é elevado (VON EIFF *et al.*, 2001; WERTHEIM *et al.*, 2004).

Embora seja crescente o número de estudos que abordam o carreamento nasal de *S. aureus*, desde os fatores inerentes à bactéria e àqueles relacionados ao hospedeiro, ainda permanece desconhecido como o carreamento nasal é estabelecido e mantido e quais são os determinantes para que um indivíduo seja um carreador persistente ou intermitente ou não-carreador.

Sivaraman, Venkataraman e Cole (2009), em um estudo de revisão, listaram os fatores ligados ao hospedeiro e à bactéria que estão associados ao carreamento/colonização nasal de *S. aureus*. No primeiro grupo foram incluídos: HLA-DR3, receptor Fc $\gamma$ , receptor da vitamina D, interleucina 4, protease inibidor de C1, receptor do glucocorticóide, peptídeos antimicrobianos, beta-defensina 3, TLR-2, entre outros. Entre os fatores associados à bactéria foram citados: fator clumping B, *sdrE* (proteínas MSCRAMM), *fnbA* (fibronectina ligada à proteína), *se* [*ceg*] (enterotoxinas), *isdA* (Siderophore), Type 7 SS (Complexo TraG / FtsK presente em cepa carreadora).

Ruimy *et al* (2010) ao estudar uma população indígena (eticamente homogênea), sugeriram que, polimorfismos genéticos do hospedeiro desempenham um papel central na suscetibilidade para a colonização nasal persistente de *S. aureus*, não havendo, em seu estudo, associação significativa para fatores de risco relacionados às características epidemiológicas, geográficas e à exposição antimicrobiana.

Nouwen *et al* (2004), usando um modelo de inoculação nasal em carreadores persistentes e não-carreadores também demonstraram a importância do fator humano para o carreamento nasal de *S. aureus*, uma vez que a maioria dos pesquisados retornou ao seu estado original de carreamento, após a inoculação artificial.

Burian, Wolz e Goerke (2010), a partir da análise de locos reguladores da adaptação de *S. aureus* durante a colonização nasal, propuseram que este evento caracteriza-se pela expressão de genes mediadores da adesão, bem como da dinâmica/remodelagem da superfície celular, pela expressão de genes responsáveis pela evasão imune e pela falta de transcrição de toxinas, e ainda que, o *S. aureus* é capaz de adaptar-se especificamente para diversos nichos no hospedeiro humano.

Frank *et al* (2010), ao estudar em microbiota nasal humana, obtiveram como resultado uma associação negativa entre *S. aureus* e outras bactérias, incluindo o *S. epidermidis*, sugerindo competição durante a colonização das narinas, seja pela produção de metabólitos específicos bacterianos que interferem com a colonização, pela competição por recursos locais, pela atividade antibacteriana ou pela ligação competitiva na mucosa.

O carreamento nasal de *S. aureus* é um evento complexo, com distribuição mundial, multifatorial e dependente de variáveis associadas à bactéria e ao hospedeiro, com importante repercussão econômica e na área da saúde (SIVARAMAN; VENKATARAMAN; COLE, 2009). Ainda que o carreamento nasal de *S. aureus* seja assintomático, o mesmo tem grande importância clínica e epidemiológica, uma vez que é um fator de risco para infecções endógenas, e o indivíduo portador nasal de *S. aureus* também pode atuar como fonte de contaminação para outros indivíduos (BURIAN; WOLZ; GOERKE, 2010; SANTOS *et al.*, 2007; SIVARAMAN; VENKATARAMAN; COLE, 2009). Aproximadamente 80% das infecções invasivas por *S. aureus* são causadas por cepas disseminadas a partir da nasofaringe de carreadores (VON EIFF *et al.*, 2001; WERTHEIM *et al.*, 2004).

### 1.1.3 Sistema HLA

O Complexo Principal de Histocompatibilidade (CPH), no homem, é representado pelo sistema HLA (do inglês *Human Leucocyte Antigen*), um complexo poligênico situado no braço curto do cromossomo 6, em 6p21.31 (PEAKMAN; VERGANI, 1999). Este complexo possui mais de 220 locos, sendo quase 50 locos localizados nas regiões denominadas de classe I e II, os quais somam 8.496 alelos, segundo o banco de dados de sequências HLA do Instituto Europeu de Bioinformática.

As moléculas clássicas do sistema HLA são classificadas em moléculas classe I (HLA-A, -B e -C) e classe II (HLA-DR, -DQ e -DP). Atualmente, são descritos 2.132 alelos para o loco A, 2.798 para o loco B, 1.672 para o loco C, 1.196 para o loco DRB1, 49 para o loco DQA1 e 179 para o loco DQB1 (EUROPEAN BIOINFORMATICS INSTITUTE, 2012).

Tais moléculas são glicoproteínas altamente polimórficas, e se diferenciam entre si quanto à localização em tecidos e funções. As moléculas classe I são localizadas na superfície de todas as células nucleadas do organismo, e têm como função apresentar peptídeos endógenos às células T citotóxicas (CD8+). As moléculas classe II possuem distribuição mais restrita no organismo, sendo localizadas na superfície de células apresentadoras de antígenos

que têm como função apresentar peptídeos exógenos às células T auxiliares (CD4+). (TURNER, 2004; ALVES *et al.*, 2006).

A principal função do sistema HLA está relacionada ao processo de autotolerância aos antígenos próprios e de apresentação de antígenos estranhos, uma vez que, o reconhecimento de antígenos por linfócitos T ocorre em associação com as moléculas HLA (SHANKARKUMAR, 2004).

Quanto à sua estrutura, as moléculas HLA são glicoproteínas de superfície, constituídas por três porções: uma citosólica, voltada para o interior da célula, responsável pela transdução de sinais intracelulares; outra transmembrana, que mantém a molécula ligada à camada bilipídica; e a extracelular, responsável pela apresentação de peptídeos citosólicos às células T (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2005).

As moléculas HLA de classe I são heterodímeros, compostas por uma cadeia pesada  $\alpha$ , contendo os domínios  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  e  $\alpha 3$ , em associação não covalente com a  $\beta 2$ -microglobulina, não polimórfica, codificada por gene situado no cromossomo 15. O grande polimorfismo dessas moléculas deve-se a diferenças nas sequências de aminoácidos da cadeia  $\alpha 1$  e  $\alpha 2$ . As moléculas de classe II são também heterodiméricas, compostas por uma cadeia  $\alpha$  e uma cadeia  $\beta$ , unidas não covalentemente, ambas codificadas pelos genes do CPH. O polimorfismo das moléculas HLA-DQ e DP é determinado por ambas as cadeias, enquanto que, para as moléculas HLA-DR, todo o polimorfismo deriva dos genes da cadeia  $\beta$ , sendo a cadeia  $\alpha$  considerada como monomórfica (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2005).

A tipificação das moléculas HLA pode ser realizada através de técnicas sorológicas, cultura e de biologia molecular. O método sorológico clássico é o da microlinfocitotoxicidade de Terasaki, no qual a citotoxicidade mediada por anticorpos e dependente do complemento possibilita a detecção de antígenos leucocitários e, a partir daí, a definição de antígenos HLA. A cultura mista de linfócitos utiliza células com fenótipo conhecido, para chegar à definição de especificidades HLA. Já os métodos de biologia molecular avaliam fragmentos de DNA extraídos de células nucleadas, e amplificados pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR, do inglês, *Polimerase Chain Reaction*). São exemplos dessa técnica o SSP (*sequence specific primers*), que utiliza reações de amplificação com par de iniciadores capazes de reconhecer alelos ou grupos de alelos, e o SSOP (*sequence specific oligonucleotide probes*), no qual o DNA amplificado é hibridizado com sondas de oligonucleotídeos para reconhecer os alelos ou grupos de alelos (ALVES *et al.*, 2006; CHOO, 2007).

O sistema HLA foi descoberto há mais de 50 anos, com a descrição da molécula HLA-A2, por Jean Dausset, em 1958. Inicialmente, os estudos se concentravam na elucidação das

bases biológicas dos transplantes de órgãos e tecidos. Entretanto, nos últimos 30 anos, diversos estudos têm demonstrado que as moléculas HLA, devido à sua importante participação na resposta imune, estão envolvidas na suscetibilidade/resistência a uma série de doenças (PORTO; PONTES, 2007). Certas especificidades HLA podem ser mais frequentes em determinadas doenças, e a caracterização destas moléculas pode ter importantes implicações clínicas, sendo um exemplo clássico a associação fortemente positiva entre a espondilite anquilosante e o HLA-B27 (SCHLOSSTEIN *et al.*, 1973).

A tipificação das moléculas HLA é importante para a compreensão de mecanismos associados à suscetibilidade ou resistência a determinadas doenças (CAILLAT-ZUCMAN, 2008), porém, os mecanismos envolvidos nessa associação não são totalmente compreendidos (CHOO, 2007), havendo duas hipóteses principais. A primeira defende a existência de um desequilíbrio de ligação entre o gene HLA identificado e o gene de suscetibilidade/resistência diretamente envolvido no processo da doença, ou seja, o gene da suscetibilidade pode estar fora ou não do CPH. A segunda hipótese envolve a participação direta da proteína HLA na etiologia da doença, o que pode ser explicado por seu papel na apresentação de peptídeos antigênicos de um patógeno, podendo apresentar um desempenho insatisfatório nessa apresentação ou até mesmo funcionar como receptor para alguns agentes etiológicos. Outra hipótese plausível é o mimetismo molecular entre antígenos HLA e antígenos dos microrganismos, induzindo uma tolerância das células T a estes patógenos (ALVES *et al.*, 2006; SHANKARKUMAR, 2004; PORTO; PONTES, 2007).

O envolvimento das moléculas HLA, na patogênese de doenças, tem sido investigado em várias doenças infecciosas e não infecciosas. Contudo, pouco se conhece sobre a associação entre as moléculas HLA e a condição de carreamento nasal de *S. aureus* (KINSMAN; McKENNA; NOBLE, 1983; GIAROLA *et al.*, 2012).

## 1.2 JUSTIFICATIVA

Infecção é a segunda maior causa de morte em pacientes com insuficiência renal crônica em diálise, (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2001; UNITED STATES RENAL DATA SYSTEM, 2006) e o *S. aureus* é o principal microrganismo envolvido na morbimortalidade infecciosa desse grupo de pacientes (VANDECASTEELE; BOELAERT; De VRSIESE, 2009). O carreamento nasal de *S. aureus* atua como fator de risco para o desenvolvimento de infecções, sendo que pacientes em diálise

e transplantados renais são particularmente vulneráveis às infecções, o que implica na implementação de medidas de prevenção e controle.

Estudos sobre a associação de moléculas HLA com doenças infecciosas demonstram a importância destes marcadores genéticos no que se refere à suscetibilidade ou proteção contra a infecção e suas complicações (ALVES *et al.*, 2006).

Diante do exposto, bem como a carência de trabalhos relacionados ao tema, apresentamos como proposta estudar o envolvimento das moléculas HLA no carreamento nasal de *S. aureus* em pacientes com insuficiência renal nos serviços de diálise em nosso meio, esperando contribuir para uma melhor compreensão da resposta imune frente a este microrganismo.

### 1.3 OBJETIVOS

#### 1.3.1 GERAL

Investigar a associação entre o marcador genético (HLA) e a condição de carreamento nasal por *Staphylococcus aureus*, em pacientes em diálise e transplantados renais.

#### 1.3.2 ESPECÍFICOS

Identificar a ocorrência de carreamento nasal de *S. aureus* entre pacientes submetidos a tratamento dialítico e transplantados renais;

Investigar a associação entre variáveis demográficas e fatores de risco para o carreamento nasal de *S. aureus* entre os pacientes renais (em diálise e transplantados renais);

Tipificar os genótipos HLA classe I (HLA-A, -B, -C) e classe II (HLA-DR, -DQ) dos pacientes em diálise e transplantados renais;

Investigar a associação entre os marcadores genéticos HLA, classe I e classe II, dos pacientes em diálise e transplantados renais, e o carreamento nasal de *S. aureus*;

Investigar a associação entre os haplótipos HLA e o carreamento nasal de *S. aureus*.

### 1.4 REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia Celular e Molecular**, 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005.

ALVES, C. *et al.* Immunogenetics and Infectious Diseases: Special Reference to the Major Histocompatibility Complex. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Salvador, v. 10, n. 2, p. 122-131, 2006.

BURIAN, M.; WOLZ, C.; GOERKE, C. Regulatory Adaptation of *Staphylococcus aureus* during Colonization of Humans. Nasal. **PLoS ONE**, v. 5, n. 4, 2010.

CAILLAT-ZUCMAN, S. Molecular mechanisms of HLA association with autoimmune diseases. **Tissue Antigens**, Copenhagen, v. 73, p. 1-8, 2008.

CAVALCANTI, S. M. M. et al. Prevalence of *Staphylococcus aureus* into Intensive Care Units of a University Hospital. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Salvador, v. 9, n. 1, p. 56-63, 2005.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Recommendations for preventing transmission of infections among chronic hemodialysis patients**, Morbidity and Mortality Report 50, Atlanta, p. 1-63, 2001.

CHOO, S. Y. The HLA System: Genetics, Immunology, Clinical Testing, and Clinical Implications. **Yonsei Medical Journal**, v. 48, n. 1, p. 11-23, 2007.

EUROPEAN BIOINFORMATICS INSTITUTE (EBI). **The IMGT/HLA Database: statistics**. Disponível em: <<http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla/stats.html>>. (Acesso em: 30 nov. 2012)

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAFF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2000.

FRANK, D. N. et al. The Human Nasal Microbiota and *Staphylococcus aureus* Carriage. **PLoS ONE**, v. 5, n. 5, 2010.

FRAZIER, W. C.; WESHOFF, D. C. **Microbiologia de los alimentos**. 4. ed. Zaragoza: Acribia, 2000.

GIAROLA, L. B. et al. HLA molecules and nasal carriage of *Staphylococcus aureus* isolated from dialysis and kidney transplant patients at a hospital in Southern Brazil. **BMC Research Notes**, v. 5, n. 90, 2012.

KINSMAN, O. S.; McKENNA, R.; NOBLE, W. C. Association between histocompatibility antigens (HLA) and nasal carriage of *Staphylococcus aureus*. **Journal of Medical Microbiology**, Washington, D. C., v. 16, n. 2, p. 215-220, 1983.

KLUYTMANS, J.; VAN BELKUM, A.; VERBRUGH, H. Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus*: Epidemiology, Underlying Mechanisms, and Associated Risks. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 10, n. 3, p. 505-520, 1997.

KONEMAN, E.W. et al. **Diagnóstico Microbiológico: texto e atlas colorido**. 6. ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2008.

NOUWEN et al. Human Factor in *Staphylococcus aureus* Nasal Carriage. **Infection and Immunity**, v. 72, n. 11, p. 6685-6688, 2004.

PEAKMAN, M.; VERGANI, D. **Imunologia Básica e Clínica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 1999.

PORTO, L.C.M. S; PONTES, L. F. S. **Estudos de associação HLA x Doenças: extratos do I Simpósio brasileiro**. Rio de Janeiro: UERJ, 2007.

RUIMY, R. et al. Are Host Genetics the Predominant Determinant of Persistent Nasal *Staphylococcus aureus* Carriage in Humans? **The Journal of Infectious Diseases**, v. 202, n. 6, p. 924–934, 2010.

SANTOS, A. L.; SANTOS, D. O.; FREITAS, C. C. et al. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 43, n. 6, p. 413-423, 2007.

SCHLOSSTEIN, L. et al. High association of an HL-A antigen, w27, with ankylosing spondylitis. **The New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 288, n. 14, p. 704-706, 1973.

SHANKARKUMAR, U. The human leukocyte antigen (HLA) system. **International Journal of Human Genetics**, v. 4, n. 2, p. 91-103, 2004.

SIVARAMAN, K.; VENKATARAMAN, N.; COLE, A. M. *Staphylococcus aureus* Nasal Carriage and its Contributing Factors. **Future Microbiology**, v. 4, p. 999–1008, 2009.

TEIXEIRA, L. M. et al. *Staphylococcus aureus*. In: TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 5. ed. São Paulo: Atheneu, 2008.

TURNER, D. The human leukocyte antigen (HLA) system. **Vox Sanguinis**, Basel, p. 87-90, 2004. Supplement 1.

UNITED STATES RENAL DATA SYSTEM (USRDS). **Annual Data Report: Atlas of End-Stage Renal Disease in the United States**. National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Bethesda, MD, 2006.

VAN BELKUM, A. et al. Reclassification of *Staphylococcus aureus* nasal carriage types. **The Journal of infectious diseases**, v. 199, p. 1820-1826, 2009.

VANDECASTEELE, S. J.; BOELAERT, J. R.; De VRSIESE, A. S. *Staphylococcus aureus* infections in hemodialysis: What a nephrologist should know. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**, v. 4, n. 8, p. 1388-1400, 2009.

VON EIFF, C.; BECKER, K.; MACHKA, K. et al. Nasal carriage as a source of *Staphylococcus aureus* bacteremia. Study Group. **New England Journal Medicine**, Boston, v. 344, n. 1, p. 11-16, 2001.

WERTHEIM, H. F.; MELLES, D. C.; VOS, M. C. et al. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. **Lancet Infectious Diseases**, New York, v. 5, p. 751-762, 2005.

WERTHEIM, H. F.; VOS, M. C.; OTT, A. et al. Risk and outcome of nosocomial *Staphylococcus aureus* bacteremia in nasal carriers versus non-carriers. **Lancet**, Minneapolis, v. 364, p. 703-705, 2004.

## **1. CAPÍTULO II**

### **2.1.1 Artigo: “*HLA-DRB1\*03* E SUSCETIBILIDADE PARA O CARREAMENTO NASAL DE *Staphylococcus aureus* EM PACIENTES RENAIIS.”**

***HLA-DRB1\*03* E SUSCETIBILIDADE PARA O CARREAMENTO NASAL DE  
*Staphylococcus aureus* EM PACIENTES RENAIIS**

Rosiane Ribeiro dos Santos<sup>1</sup>, Sueli Donizete Borelli<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mestranda no Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Maringá (UEM); <sup>2</sup> Doutora em Imunologia, Docente do Departamento de Ciências Básicas da Saúde da UEM.

Endereço para correspondência: Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Ciências Básicas da Saúde (DBS) – Av. Colombo 5790 CEP 87020-900, Maringá, Paraná, Brasil.

## **RESUMO**

**Introdução.** Devido ao seu papel central na resposta imune do indivíduo, o envolvimento das moléculas HLA na patogênese de doenças tem sido demonstrado em várias doenças infecciosas e não-infecciosas. Contudo, pouco se conhece sobre a associação entre as moléculas HLA e o carreamento nasal de *Staphylococcus aureus*. Este estudo teve por objetivo investigar a associação entre as moléculas HLA de classe I (HLA-A, -B, -C) e II (HLA-DR, -DQ), de pacientes em diálise e transplantados renais, com e sem carreamento nasal de *S. aureus*.

**Métodos.** A identificação das amostras de *S. aureus* isoladas dos vestíbulos nasais dos pacientes foi realizada pela coloração de Gram e teste da coagulase em tubo. A genotipagem HLA foi realizada pela metodologia PCR-SSO-Luminex.

**Resultados.** A taxa de carreamento nasal de *S. aureus* foi de 31,33% entre os 166 pacientes em diálise e de 52,86% entre os 70 transplantados renais. Entre os pacientes carreadores de *S. aureus* observou-se que: o alelo *HLA-B\*44* (13,46% versus 6,14%; p= 0,0331; OR: 2,37; IC95%: 1,01- 5,60) foi o mais frequente entre os pacientes em diálise; o alelo *HLA-DRB1\*03* (14,86% versus 1,52%; p= 0,0052; OR: 11,2; IC95%: 1,55- 494,7) e o haplótipo *HLA-DRB1\*03, -DQA1\*05, -DQB1\*02* (27,03% versus 3,03%; p= 0,0074; OR: 11,85; IC95%: 1,42- 98,59) foram mais frequentes nos transplantados. Nos pacientes não-carreadores, os

alelos *HLA-B\*40* (10,61% versus 1,35%;  $p= 0,0263$ ; OR: 8,66; IC95%: 1,04- 72,39) e *HLA-C\*03* (18,18% versus 5,41%;  $p= 0,0307$ ; OR: 3,85; IC95%: 1,09- 17,30) foram os mais frequentes.

**Conclusão.** Nos pacientes em diálise, o *HLA-B\*44* sugere suscetibilidade ao carreamento nasal de *S. aureus*, enquanto que, nos pacientes transplantados, o *HLA-B\*40* e *HLA-C\*03* sugerem proteção. O alelo *HLA-DRB1\*03* bem como o haplótipo *HLA-DRB1\*03, -DQA1\*05, -DQB1\*02* podem ser considerados possíveis marcadores de suscetibilidade para o carreamento nasal desta bactéria.

**Palavras-chave:** carreamento nasal; haplótipos; HLA; pacientes renais; *Staphylococcus aureus*

## INTRODUÇÃO

Infecção é a segunda maior causa de morte entre pacientes com insuficiência renal crônica em diálise, só perdendo para patologias cardiovasculares, sendo a infecção bacteriana a mais frequente complicação infecciosa entre pacientes em hemodiálise [1,2]. *Staphylococcus aureus* é um microrganismo prevalente, tanto em indivíduos saudáveis como em imunocomprometidos, e considerado a principal causa de morbimortalidade infecciosa em pacientes submetidos a tratamento dialítico [3]. Embora vários locais do corpo possam ser colonizados por este patógeno, a nasofaringe representa o principal sítio de colonização [4].

O carreamento nasal de *S. aureus* é um evento complexo, com distribuição mundial, multifatorial e dependente de variáveis associadas à bactéria e ao hospedeiro, com importante repercussão econômica e na área da saúde [5]. Ainda que o carreamento nasal de *S. aureus* seja assintomático, o mesmo tem grande importância clínica e epidemiológica, pois tem sido considerado o principal fator de risco para infecções endógenas. O indivíduo portador nasal de *S. aureus* também pode atuar como fonte de contaminação para outros indivíduos [5, 6, 7, 8]. Aproximadamente 80% das infecções invasivas por *S. aureus* são causadas por cepas disseminadas, a partir da nasofaringe de carreadores [4,9].

Pacientes em diálise e transplantados renais estão potencialmente sujeitos à aquisição de infecção, devido à constante submissão a fatores de risco, tais como: uso prolongado de cateter vascular, uso de antimicrobianos, equipamentos para filtração sanguínea, manipulação por profissionais da saúde, constante permanência em ambiente hospitalar, submissão a procedimentos invasivos e cirurgias, imunossupressão [1, 3, 10, 11]. O desenvolvimento de uma infecção está diretamente relacionado à imunidade do indivíduo. Dentre os vários mecanismos envolvidos nesta imunidade, encontram-se as moléculas do Complexo Principal de Histocompatibilidade (CPH) que, no homem, recebem a denominação de sistema HLA, (*Human Leukocyte Antigens*) [12].

As moléculas clássicas do sistema HLA são agrupadas em moléculas classe I (HLA-A, -B e -C) e classe II (HLA-DR, -DQ e -DP). Tais moléculas são glicoproteínas altamente polimórficas, e se diferenciam entre si quanto à localização em tecidos e funções. A principal função do sistema HLA está relacionada ao processo de autotolerância aos antígenos próprios e de apresentação de antígenos estranhos, uma vez que, o reconhecimento de antígenos por linfócitos T ocorre em associação às moléculas HLA [13].

Certas especificidades HLA podem ser mais frequentes em indivíduos com determinadas doenças, e a caracterização destas moléculas pode ter importantes implicações

clínicas, sendo um exemplo clássico a associação fortemente positiva entre a espondilite anquilosante e o HLA-B27 [14].

Estudos sobre a associação de moléculas HLA com doenças infecciosas demonstram a importância destes marcadores genéticos, no que se refere à suscetibilidade ou proteção contra a infecção e suas complicações [15]. Embora seja crescente o número de estudos que abordam o carregamento nasal de *S. aureus*, muitos deles, destacando os fatores relacionados ao hospedeiro, como determinantes para a suscetibilidade ao carregamento [5, 6, 16, 17, 18], pouco se conhece sobre a associação entre as moléculas HLA e a condição de carregamento nasal de *S. aureus*. Apenas dois estudos encontrados na literatura investigaram essa associação, ambos sugerindo a participação do *HLA-DRB1\*03* (equivalente sorológico HLA-DR3) na suscetibilidade para o carregamento nasal de *S. aureus* [19, 20].

Considerando a carência de trabalhos relacionados ao tema, o presente estudo teve por objetivo confirmar a participação do alelo *HLA-DRB1\*03*, bem como investigar o envolvimento de outras moléculas HLA no carregamento nasal de *S. aureus*, em pacientes em diálise e transplantados renais.

## MATERIAIS E MÉTODOS

**Caracterização do estudo:** Trata-se de um estudo transversal, realizado com pacientes atendidos em serviços de diálise e transplante em uma população da região Sul do Brasil. Participaram do estudo 166 pacientes submetidos a tratamento dialítico e 70 pacientes transplantados renais, totalizando 236 pacientes. A concordância em participar da pesquisa foi o único critério de inclusão utilizado, não havendo critério de exclusão. Todos os participantes foram avaliados quanto ao carregamento nasal de *S. aureus*, e foram tipificados quanto às moléculas HLA classe I (HLA-A, -B, -C) e classe II (HLA-DR, -DQ). O estudo microbiológico e do polimorfismo genético das amostras foram realizados no Laboratório de Microbiologia e de Imunogenética, respectivamente, da Universidade Estadual de Maringá. A coleta de dados (sexo, etnia, data de nascimento, tipo de diálise, data de início da diálise e da realização do transplante) e do material biológico ocorreu no período de junho de 2009 a março de 2012.

**Isolamento e identificação de *S. aureus*:** O material dos vestibulos nasais dos participantes foi coletado uma única vez, através de swab esterilizado e transferido para um tubo contendo *Tripticase Soy Broth* (TSB) acrescido de 6,5% de NaCl. Após 24 horas de crescimento em estufa bacteriológica, a 37°C, foi semeado na superfície de placas de Petri

(90x15mm), contendo ágar manitol salgado (Becton Dicksenson and Company, BD Diagnostic Systems, USA), acrescido de 6,5% de NaCl. Após 24-48 horas de incubação, a 37°C, as colônias suspeitas de pertencerem a *S. aureus* foram submetidas à coloração de Gram, e à leitura em microscopia de imersão [21]. Aquelas identificadas como cocos Gram-positivos, agrupados em forma de cachos de uva, foram transferidas para tubos contendo TSB adicionado de 6,5% de NaCl.

Após 6-12 horas de incubação, as amostras foram avaliadas quanto à produção de coagulase, através do método em tubo [22], sendo utilizado plasma de coelho liofilizado (Coagulo-Plasma LB, Laborclin produtos para laboratório Ltda., Pinhais, Paraná, Brasil), com a realização de leituras, nos tempos de 30 minutos, 4 horas, 12 horas e 24 horas. Em todas as fases da semeadura para identificação foram utilizadas amostras controle - American Type Culture Collection (ATCC 25923). Após a identificação, as amostras foram estocadas em um meio de TSB enriquecido com 20% de glicerol e congeladas em freezer a - 20° C.

**Polimorfismo genético das moléculas HLA:** Amostras contendo 10 mL de sangue periférico foram obtidas por punção venosa com tubos a vácuo e anticoagulante EDTA, e centrifugadas a 760g, durante 15 minutos, para obter a camada leucocitária. O DNA genômico foi extraído da camada leucocitária, através do método de extração por coluna, Biopur, seguindo as instruções do fabricante (One Lambda®, Canoga Park, CA, EUA).

A genotipagem HLA foi realizada através da metodologia SSO-Luminex (One Lambda®, Canoga Park, CA, EUA), seguindo-se às recomendações do fabricante. Esse método utiliza a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e *primers* biotinizados. O material amplificado passa por um processo de desnaturação, e posterior hibridização com sondas ligadas a microesferas (*beads*), que fazem parte do sistema multianalítico Luminex. Cada *bead* é marcada com uma determinada fluorescência, e possui uma sonda de oligonucleotídeo correspondente a um alelo HLA, ou a um grupo de alelos HLA. Após a etapa de hibridização, as sondas, que hibridizaram com o DNA, foram marcadas com uma solução SAPE (estreptavidina conjugada com ficoeritrina) que reage fortemente com a biotina. A contagem da fluorescência de cada *bead*, foi realizada pelo citômetro de fluxo LABScan® 100. Os dados gerados pelo aparelho foram analisados no software HLA *Fusion*, para a determinação da tipagem HLA.

**Tratamento estatístico.** Para a análise dos dados, os pacientes foram divididos em carreadores e não-carreadores de *S. aureus*. Foi quantificado o número de vezes que um determinado alelo HLA apareceu (*n*) e a frequência alélica (*Fa*) nos dois grupos de pacientes.

O valor de p foi calculado pelo Teste Exato de Fisher (p valor). Quando o valor de p foi menor que 0,05, foi calculado o *odds ratio* (OR) e o Intervalo de Confiança (IC = 95%).

A identificação dos haplótipos mais frequentes na nossa população de estudo foi realizada pelo Programa Arlequin [23], à qual se seguiu a análise da frequência haplotípica e cálculo do valor de p pelo Teste Exato de Fisher. A frequência haplotípica foi estimada utilizando-se o algoritmo de máxima verossimilhança dos multi-locos genotípicos, uma vez que a fase gamética é desconhecida, ou seja, não foram feitos estudos nas famílias para a obtenção dos haplótipos [24]. A amostra representa uma população em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Para a análise das variáveis demográficas também foi usado o Teste Exato de Fisher. Para os fatores de risco, tempo de diálise/transplante e idade, foi utilizado o teste estatístico Teste t-student.

**Aspectos éticos.** Este estudo foi aprovado pelo Comitê Permanente de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos (COPEP) da UEM, sob o parecer 212/2009, conforme a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde. Todos os participantes foram informados sobre os objetivos e métodos da pesquisa e mediante sua concordância em participar foi solicitada a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

## RESULTADOS

### Caracterização da população de estudo quanto ao carregamento nasal de *S. aureus*

Entre os 166 pacientes em diálise, 52 (31,33%) eram carreadores nasais de *S. aureus* e 114 (68,67%) eram não-carreadores. Neste grupo de pacientes, 61,45% (102/166) eram do sexo masculino enquanto que 38,55% (64/166) eram do sexo feminino, sendo em sua maioria caucasianos (68,67%, 114/166), seguidos pelas etnias parda (16,87%, 28/166), negra (11,45%, 19/166) e oriental (3,01%, 5/166). A idade dos pacientes variou de 15 a 89 anos, com média de idade de 51 anos entre os pacientes carreadores nasais da bactéria, e de 54,43 anos entre os pacientes não-carreadores. O tempo de diálise foi de 42,25 meses e de 39,77 meses entre os carreadores e não-carreadores de *S. aureus*, respectivamente. (Tabela 1).

Já entre os 70 pacientes transplantados renais, a taxa do carregamento nasal de *S. aureus* foi de 52,86% (37/70), e o não-carregamento da bactéria ocorreu em 47,14% (33/70) dos pacientes. Os pacientes eram em sua maioria do sexo masculino (61,43%, 43/70) quando comparados ao sexo feminino (38,57%, 27/70). A distribuição dos pacientes quanto à etnia foi

de 64,29% (45/70) caucasianos, 15,71% (11/70) negros, 11,43% (8/70) orientais e 8,57% (6/70) pardos. A idade dos pacientes variou de 13 a 70 anos, sendo de 44,22 anos a média de idade dos pacientes carreadores nasais de *S. aureus*, e de 48,36 anos a dos pacientes não-carreadores. O tempo de transplante foi de 72,22 meses entre os pacientes carreadores, e de 71,67 meses entre os não-carreadores de *S. aureus*. (Tabela 2).

### **Associação entre os alelos HLA e o carregamento nasal de *S. aureus* em pacientes sob tratamento dialítico e transplantados renais**

Analisando a frequência dos alelos classe I (HLA-A, -B, -C) e classe II (HLA-DRB1, -DQA1, -DQB1) e o “status” de carreador ou de não-carreador nasal de *S. aureus*, nos pacientes em diálise, observou-se que a frequência do alelo *HLA-B\*44* entre os carreadores foi maior do que entre os não-carreadores (13,46% versus 6,14%;  $p= 0,0331$ ; OR: 2,37; IC95%: 1,01- 5,60). Neste grupo, não houve diferença estatisticamente significativa na frequência de nenhum dos alelos de classe II entre os pacientes carreadores e não-carreadores. (Tabela 3).

No grupo de pacientes transplantados renais, verificou-se que os alelos *HLA-B\*40* (10,61% versus 1,35%;  $p= 0,0263$ ; OR: 8,66; IC95%: 1,04- 72,39) e *HLA-C\*03* (18,18% versus 5,41%;  $p= 0,0307$ ; OR: 3,85; IC95%: 1,09- 17,30) foram mais frequentes entre os não-carreadores quando comparados com os carreadores. O alelo *HLA-DRB1\*03* foi observado com uma frequência significativamente maior nos pacientes carreadores, quando comparado com os não-carreadores (14,86% versus 1,52%;  $p= 0,0052$ ; OR: 11,2; IC95%: 1,55- 494,7) (Tabela 4).

### **Associação entre os haplótipos HLA e o carregamento nasal de *S. aureus* em pacientes sob tratamento dialítico e transplantados renais**

A análise dos haplótipos HLA demonstrou que, nos pacientes transplantados renais, o haplótipo *HLA-DRB1\*03, -DQA1\*05, -DQB1\*02* esteve mais presente entre os carreadores quando comparado com os não-carreadores (27,03% versus 3,03%;  $p = 0,0074$ ; OR: 11,85; IC95%: 1,42- 98; 59). Entre os pacientes em diálise não houve diferença estatisticamente significativa na frequência de nenhum haplótipo entre os carreadores e não-carreadores.

## DISCUSSÃO

O carreamento nasal de *S. aureus* é considerado o principal fator de risco para aquisição de infecções endógenas [4, 9], sendo uma condição determinada por fatores relacionados ao hospedeiro e à bactéria [5, 25, 26].

Estudos revelam que, cerca de 20% dos adultos saudáveis são carreadores persistentes de *S. aureus*, outros 30% carregam intermitentemente e 50% não são carreadores [27, 28]. Em pacientes em diálise, a taxa de carreamento nasal de *S. aureus* é comprovadamente maior do que a da população em geral [29]. No presente estudo, a taxa de carreamento nasal encontrada no grupo de pacientes em diálise foi de 31,33% enquanto que, nos pacientes transplantados renais foi de 52,86%, sendo estes resultados semelhantes a outros encontrados na literatura. Ghasemian *et al* [10], encontraram uma taxa de carreamento nasal de 36,9% em pacientes de hemodiálise de dois centros de diálise do norte do Irã. Lu *et al* [8], ao realizar um estudo com pacientes em diálise peritoneal e hemodiálise, em Taiwan, obtiveram taxas de carreamento nasal de 43,4% e de 21,8%, respectivamente. Pesquisa prévia realizada por nosso grupo encontrou taxas de carreamento nasal superiores às encontradas neste estudo: 52,8% dos 70 pacientes em diálise, e 74% dos 46 transplantados renais pesquisados eram carreadores nasais de *S. aureus* [20].

A prevalência do carreamento nasal de *S. aureus* é maior em crianças, homens, etnia caucasiana, pacientes hospitalizados, destacando-se determinados grupos de pacientes, como os diabéticos, pacientes em tratamento dialítico e pacientes portadores do vírus da imunodeficiência adquirida [29, 30, 31, 32, 33]. O tempo de duração da terapia renal também está associado com o carreamento nasal de *S. aureus* [10]. Entretanto, em nosso estudo, o carreamento nasal de *S. aureus* não diferiu quanto ao sexo, etnia, idade, tempo de diálise ou de transplante, nos grupos de pacientes sob tratamento dialítico e de transplantados renais.

*S. aureus* é o principal microrganismo envolvido na morbimortalidade infecciosa em pacientes em hemodiálise [3, 34, 35, 36]. Por sua vez, a infecção está diretamente relacionada à resposta imune do indivíduo. Fatores genéticos são os principais determinantes da suscetibilidade à doença infecciosa, uma vez que a resposta imune frente à infecção varia de um indivíduo para outro, em virtude do polimorfismo dos genes que influenciam essa resposta [37, 38]. As moléculas HLA, devido a sua participação na apresentação de peptídeos às células T, desempenham um papel central na resposta imune [12, 38]. O polimorfismo do Sistema HLA contribui para a diversidade genética nas populações, garantindo aos indivíduos heterozigotos maior resistência às doenças infecciosas e minimizando os efeitos de uma

epidemia [39]. Portanto, a tipificação das moléculas HLA e de outros marcadores se faz necessária para a compreensão de mecanismos associados à suscetibilidade ou resistência a determinadas doenças [40].

Os resultados encontrados, neste estudo, sugerem o envolvimento das moléculas HLA no carregamento nasal de *S. aureus*. Nos pacientes em diálise, o alelo *HLA-B\*44* mostra uma tendência à suscetibilidade para este carregamento. Entre os pacientes transplantados renais, os alelos *HLA-B\*40* e *HLA-C\*03* sugerem proteção para o carregamento nasal da bactéria, bem como, o envolvimento do alelo *HLA-DRB1\*03* e do haplótipo *HLA-DRB1\*03, -DQA1\*05, -DQB1\*02* na suscetibilidade para o carregamento nasal de *S. aureus*.

Há poucos estudos sobre associação do sistema HLA e o carregamento nasal de *S. aureus*. O primeiro realizado em 1983 identificou uma associação positiva entre o antígeno HLA-DR3 e o carregamento nasal de *S. aureus* [19]. Este resultado foi confirmado pelo nosso grupo em 2012, onde se verificou a associação entre o alelo *HLA-DRB1\*03* e o carregamento nasal desta bactéria entre transplantados renais [20].

Considerando que, um percentual importante das infecções estafilocócicas são de origem endógena e que, o portador nasal desempenha um importante papel na epidemiologia destas infecções, é importante o estabelecimento de medidas de prevenção e controle. O monitoramento do paciente através do estudo de associação das moléculas HLA e o carregamento nasal de *S. aureus* pode contribuir para um melhor entendimento dos mecanismos e associações envolvidos neste carregamento. Novos estudos são necessários para se confirmar e compreender o papel destes marcadores genéticos na suscetibilidade e/ou proteção para o carregamento nasal de *S. aureus*.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradecemos à participação dos pacientes e a colaboração dos serviços de diálise/transplante. À Fundação Araucária pelo suporte financeiro.

## **REFERÊNCIAS**

1. Centers For Disease Control and Prevention (CDC). *Recommendations for preventing transmission of infections among chronic hemodialysis patients*. Morbidity and Mortality Report 50. Atlanta: 2001; 1-63.

2. United States Renal Data System (USRDS). *Annual Data Report: Atlas of End-Stage Renal Disease in the United States*. National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. MD, Bethesda: 2006.
3. Vandecasteele SJ, Boelaert JR, De Vrsiese AS. *Staphylococcus aureus* infections in hemodialysis: What a nephrologist should know. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4: 1388-1400.
4. Wertheim HF, Melles DC, Vos MC *et al*. Risk and outcome of nosocomial *Staphylococcus aureus* bacteremia in nasal carriers versus non-carriers. *Lancet* 2004; 364: 703-705.
5. Sivaraman K, Venkataraman N, Cole AM. *Staphylococcus aureus* Nasal Carriage and its Contributing Factors. *Future Microbiol* 2009; 4: 999–1008.
6. Burian M, Wolz C, Goerke C. Regulatory Adaptation of *Staphylococcus aureus* during Nasal Colonization of Humans. *PLoS ONE* 2010; 5.
7. Santos AL, Santos DO, Freitas CC *et al*. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. *J Bras Patol Med Lab* 2007; 43: 413-423.
8. Lu PL, Tsai JC, Chiu YW *et al*. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage, infection and transmission in dialysis patients, healthcare workers and their family members. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23: 1659–1665.
9. Von Eiff C, Becker K, Machka K, Stammer H, Peters G. Nasal carriage as a source of *Staphylococcus aureus* bacteremia. Study Group. *N Engl J Med* 2001; 344: 11-16.
10. Ghasemian R, Najafi N, Makhloogh A, Khademloo, M. Frequency of Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* and Its Antimicrobial Resistance Pattern in Patients on Hemodialysis. *Iran J Kidney Dis* 2010; 4: 218-222.
11. Romanelli RMC, Clemente WT, Lima SSS *et al*. MRSA outbreak at a transplantation unit. *Braz J Infect Dis* 2010; 14: 54-59.
12. Peakman M, Vergani, D. *Imunologia Básica e Clínica*. Guanabara Koogan S.A, Rio de Janeiro: 1999.
13. Shankarkumar U. The human leukocyte antigen (HLA) system. *Int J Hum Genet* 2004; 4: 91-103.
14. Schlosstein L, Terasaki PI, Bluestone R, Pearson CM. High association of an HL-A antigen, w27, with ankylosing spondylitis. *N Engl J Med* 1973; 288: 704-706.
15. Alves C, Souza T, Meyer I, Toralles MBP, Brites C. Immunogenetics and Infectious Diseases: Special Reference to the Mayor Histocompatibility Complex. *Braz J Infect Dis* 2006; 10: 122-131.
16. Ruimy R, Angebault C, Djossou F *et al*. Are Host Genetics the Predominant Determinant of Persistent Nasal *Staphylococcus aureus* Carriage in Humans? *J Infect Dis* 2010; 202: 924–934.

17. Nouwen VJ, Boelens H, Belkum AV, Verbrugh H. Human Factor in *Staphylococcus aureus* Nasal Carriage. *Infect Immun* 2004; 72: 6685–6688.
18. Frank DN, Feazel LM, Bessesen MT, Price CS, Janoff EM, Pacel NR. The Human Nasal Microbiota and *Staphylococcus aureus* Carriage. *PLoS ONE* 2010; 5.
19. Kinsman OS, Mckenna R, Noble WC. Association between histocompatibility antigens (HLA) and nasal carriage of *Staphylococcus aureus*. *J Med Microbiol* 1983; 16: 215-220.
20. Giarola LB, Santos RR, Bedendo J, Silva Júnior WV, Borelli, SD. HLA molecules and nasal carriage of *Staphylococcus aureus* isolated from dialysis and kidney transplant patients at a hospital in Southern Brazil. *BMC Res Notes* 2012; 5.
21. Toledo MRF. *Staphylococcus*. In: Trabulsi L R. *Microbiologia*. Atheneu, Rio de Janeiro: 1989; 105-109.
22. Macfaddin JF. *Biochemical tests for identification of medical bacteria*. Lippincot Williams e Wilkins, Baltimore: 2000; 431-433.
23. Excoffier L, Lischer HEL. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol Ecol Resour* 2010; 10: 564-567.
24. Excoffier L, Slatkin M. Maximum-likelihood estimation of molecular haplotype frequencies in a diploid population. *Mol Biol Evol* 1995; 12: 921-927.
25. Andersen PS, Pedersen JK, Fode P *et al*. Influence of Host Genetics and Environment on Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* in Danish Middle-Aged and Elderly Twins. *J Infect Dis* 2012; 206: 1178–1184.
26. Johannessen M, Sollid JE, Hanssen AM. Host and microbe determinants that may influence the success of *S. aureus* colonization. *Front Cell Infect Microbiol* 2012; 2: 1-14.
27. Boyce JM. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a continuing infection control challenge. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994; 13: 45-49.
28. Wertheim HF, Melles DC, Vos MC *et al*. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis* 2005; 5: 751-762.
29. Kluytmans J, Van Belkum A, Verbrugh H. Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus*: Epidemiology, Underlying Mechanisms, and Associated Risks. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10: 505–520.
30. Van Belkum A, Verkaik NJ, Vogel CP *et al*. Reclassification of *Staphylococcus aureus* nasal carriage types. *J Infect Dis* 2009; 199: 1820-1826.
31. Datta F, Erb T, Heininger U *et al*. A Multicenter, Cross-Sectional Study on the Prevalence and Risk Factors for Nasal Colonization with *Staphylococcus aureus* in Patients Admitted to Children’s Hospitals in Switzerland. *Clin Infect Dis* 2008; 47: 923-926.

32. Paiano M, Bedendo J. Resistência antimicrobiana de amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de recém-nascidos saudáveis. *Rev Eletr Enf* 2009; 11: 841-846.
33. Cole AM, Tahk S, Oren A *et al.* Determinants of *Staphylococcus aureus* Nasal Carriage. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001; 8: 1064-1069.
34. Bedendo J, Giarola LB, Moreira RR, Rossi RM, Borelli SD. Infections in patients with chronic renal failure and kidney transplant recipients in Brazil. *Prog Transplant* 2011; 21: 249-253.
35. Grothe C, Belasco AG, Bittencourt AR, Vianna LA, Sesso RC, Barbosa DA. Incidência de infecção da corrente sanguínea nos pacientes submetidos à hemodiálise por cateter venoso central. *Rev Latino-Am Enf* 2010; 18: 1-8.
36. Nascimento MM, Riella MC. Avaliação de acesso vascular em hemodiálise: um estudo multicêntrico. *J Bras Nefrol* 1999; 21: 22-29.
37. Singh N, Agrawal S, Rastogi AK. Infectious Diseases and Immunity: Special Reference to Major Histocompatibility Complex. *Emerg Infect Dis* 1997; 3: 41-49.
38. Jeffery KJ, Siddiqui AA, Bunce M *et al.* The influence of HLA class I alleles and heterozygosity on the outcome of human T cell lymphotropic virus type I infection. *J Immunol* 2000; 165:7278-7284.
39. Van Rood JJ. The impact of the HLA-system in clinical medicine. *Shweiz Med Wschr* 1993; 123:85-92.
40. Caillat-Zucman S. Molecular mechanisms of HLA association with autoimmune diseases. *Tissue Antigens* 2008; 73: 1-8.

## TABELAS

**Tabela 1: Caracterização dos pacientes em diálise quanto ao carreamento nasal de *Staphylococcus aureus***

| Pacientes | Carreamento nasal |          | Total |
|-----------|-------------------|----------|-------|
|           | Sim               | Não      |       |
|           | 52                | 114      | 166   |
|           | (31,33%)          | (68,67%) |       |

| Sexo      | Carreamento nasal |          | Total    |
|-----------|-------------------|----------|----------|
|           | Sim               | Não      |          |
|           | 33                | 69       | 102      |
| Masculino | (32,35%)          | (67,65%) | (61,45%) |
|           | 19                | 45       | 64       |
| Feminino  | (29,69%)          | (70,31%) | (38,55%) |
| Total     | 52                | 114      | 166      |

valor p =0,7349

| Etnia      | Carreamento nasal |          | Total    |
|------------|-------------------|----------|----------|
|            | Sim               | Não      |          |
|            | 37                | 77       | 114      |
| Caucasiano | (32,46%)          | (67,54%) | (68,67%) |
|            | 10                | 18       | 28       |
| Pardo      | (35,71%)          | (64,29%) | (16,87%) |
|            | 4                 | 15       | 19       |
| Negro      | (21,05%)          | (78,95%) | (11,45%) |
|            | 1                 | 4        | 5        |
| Oriental   | (20,00%)          | (80,00%) | (3,01%)  |
| Total      | 52                | 114      | 166      |

valor p =0,7260

| Carreamento nasal | Idade (anos) |       |               |
|-------------------|--------------|-------|---------------|
|                   | n            | Média | Desvio padrão |
| Sim               | 52           | 51    | 16,16         |
| Não               | 114          | 54,43 | 14,70         |

valor p =0,1785

| Carreamento nasal | Tempo de diálise (meses) |       |               |
|-------------------|--------------------------|-------|---------------|
|                   | n                        | Média | Desvio padrão |
| Sim               | 52                       | 42,25 | 45,99         |
| Não               | 114                      | 39,77 | 39,53         |

valor p =0,7226

**Tabela 2: Caracterização dos pacientes transplantados renais quanto ao carregamento nasal de *Staphylococcus aureus***

| Pacientes | Carreamento nasal |                | Total |
|-----------|-------------------|----------------|-------|
|           | Sim               | Não            |       |
|           | 37<br>(52,86%)    | 33<br>(47,14%) | 70    |

| Sexo      | Carreamento nasal |                | Total          |
|-----------|-------------------|----------------|----------------|
|           | Sim               | Não            |                |
| Masculino | 23<br>(53,49%)    | 20<br>(46,51%) | 43<br>(61,43%) |
| Feminino  | 14<br>(51,85%)    | 13<br>(48,15%) | 27<br>(38,57%) |
| Total     | 37                | 33             | 70             |

**valor p =1,00**

| Etnia      | Carreamento nasal |                | Total          |
|------------|-------------------|----------------|----------------|
|            | Sim               | Não            |                |
| Caucasiano | 23<br>(51,11%)    | 22<br>(48,89%) | 45<br>(64,29%) |
| Pardo      | 2<br>(33,33%)     | 4<br>(66,67%)  | 6<br>(8,57%)   |
| Negro      | 9<br>(81,82%)     | 2<br>(18,18%)  | 11<br>(15,71%) |
| Oriental   | 3<br>(37,50%)     | 5<br>(62,50%)  | 8<br>(11,43%)  |
| Total      | 37                | 33             | 70             |

**valor p =0,1320**

| Carreamento nasal | Idade (anos) |       |               |
|-------------------|--------------|-------|---------------|
|                   | n            | Média | Desvio padrão |
| Sim               | 37           | 44,22 | 13,86         |
| Não               | 33           | 48,36 | 11,58         |

**valor p =0,1816**

| Carreamento nasal | Tempo de transplante (meses) |       |               |
|-------------------|------------------------------|-------|---------------|
|                   | n                            | Média | Desvio padrão |
| Sim               | 37                           | 72,22 | 50,74         |
| Não               | 33                           | 71,67 | 65,89         |

**valor p =0,9687**

**Tabela 3: Frequências alélicas (HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQA1 e HLA-DQB1) dos pacientes em diálise, carreadores e não-carreadores nasais de *Staphylococcus aureus***

| HLA-A* | Carreadores |        | Não-carreadores |        | p valor | OR (IC95%) |
|--------|-------------|--------|-----------------|--------|---------|------------|
|        | n           | Fa     | n               | Fa     |         |            |
| 01     | 9           | 0,0865 | 17              | 0,0746 | 0,6673  |            |
| 02     | 33          | 0,3173 | 54              | 0,2368 | 0,1392  |            |
| 03     | 8           | 0,0769 | 29              | 0,1272 | 0,1940  |            |
| 11     | 7           | 0,0673 | 16              | 0,0702 | 1,0000  |            |
| 23     | 5           | 0,0481 | 11              | 0,0482 | 1,0000  |            |
| 24     | 10          | 0,0962 | 34              | 0,1491 | 0,2235  |            |
| 25     | 2           | 0,0192 | 2               | 0,0088 | 0,5922  |            |
| 26     | 8           | 0,0769 | 9               | 0,0395 | 0,1805  |            |
| 29     | 2           | 0,0192 | 7               | 0,0307 | 0,7253  |            |
| 30     | 5           | 0,0481 | 9               | 0,0395 | 0,7707  |            |
| 31     | 3           | 0,0288 | 9               | 0,0395 | 0,7598  |            |
| 32     | 2           | 0,0192 | 8               | 0,0351 | 0,7303  |            |
| 33     | 2           | 0,0192 | 8               | 0,0351 | 0,7303  |            |
| 34     | 2           | 0,0192 | 1               | 0,0044 | 0,2322  |            |
| 36     | 1           | 0,0096 | 1               | 0,0044 | 0,5290  |            |
| 66     | 0           | 0,0000 | 1               | 0,0044 | 1,0000  |            |
| 68     | 4           | 0,0385 | 9               | 0,0395 | 1,0000  |            |
| 69     | 1           | 0,0096 | 0               | 0,0000 | 0,3133  |            |
| 74     | 0           | 0,0000 | 3               | 0,0132 | 0,5547  |            |

  

| HLA-B* | Carreadores |        | Não-carreadores |        | p valor       | OR (IC95%)               |
|--------|-------------|--------|-----------------|--------|---------------|--------------------------|
|        | n           | Fa     | n               | Fa     |               |                          |
| 07     | 5           | 0,0481 | 18              | 0,0789 | 0,3595        |                          |
| 08     | 4           | 0,0385 | 12              | 0,0526 | 0,7836        |                          |
| 13     | 2           | 0,0192 | 3               | 0,0132 | 0,6503        |                          |
| 14     | 1           | 0,0096 | 8               | 0,0351 | 0,2825        |                          |
| 15     | 8           | 0,0769 | 18              | 0,0789 | 1,0000        |                          |
| 18     | 4           | 0,0385 | 10              | 0,0439 | 1,0000        |                          |
| 27     | 2           | 0,0192 | 8               | 0,0351 | 0,7303        |                          |
| 35     | 8           | 0,0769 | 30              | 0,1316 | 0,1930        |                          |
| 37     | 0           | 0,0000 | 4               | 0,0175 | 0,3134        |                          |
| 38     | 5           | 0,0481 | 7               | 0,0307 | 0,5272        |                          |
| 39     | 4           | 0,0385 | 10              | 0,0439 | 1,0000        |                          |
| 40     | 4           | 0,0385 | 11              | 0,0482 | 0,7837        |                          |
| 41     | 0           | 0,0000 | 5               | 0,0219 | 0,3301        |                          |
| 42     | 3           | 0,0288 | 3               | 0,0132 | 0,3821        |                          |
| 44     | 14          | 0,1346 | 14              | 0,0614 | <b>0,0331</b> | <b>2,37 (1,01- 5,60)</b> |
| 45     | 2           | 0,0192 | 7               | 0,0307 | 0,7253        |                          |
| 47     | 0           | 0,0000 | 1               | 0,0044 | 1,0000        |                          |
| 48     | 0           | 0,0000 | 2               | 0,0088 | 1,0000        |                          |

|           |    |        |    |        |        |
|-----------|----|--------|----|--------|--------|
| <b>49</b> | 5  | 0,0481 | 3  | 0,0132 | 0,1141 |
| <b>50</b> | 2  | 0,0192 | 7  | 0,0307 | 0,7253 |
| <b>51</b> | 15 | 0,1442 | 26 | 0,1140 | 0,4734 |
| <b>52</b> | 4  | 0,0385 | 3  | 0,0132 | 0,2114 |
| <b>53</b> | 1  | 0,0096 | 5  | 0,0219 | 0,6695 |
| <b>55</b> | 3  | 0,0288 | 1  | 0,0044 | 0,0928 |
| <b>57</b> | 3  | 0,0288 | 4  | 0,0175 | 0,6821 |
| <b>58</b> | 2  | 0,0192 | 6  | 0,0263 | 1,0000 |
| <b>67</b> | 2  | 0,0192 | 0  | 0,0000 | 0,0975 |
| <b>71</b> | 0  | 0,0000 | 2  | 0,0088 | 1,0000 |
| <b>73</b> | 1  | 0,0096 | 0  | 0,0000 | 0,3133 |

| <b>HLA-C*</b> | <b>Carreadores</b> |           | <b>Não-carreadores</b> |           | <b>p valor</b> | <b>OR (IC95%)</b> |
|---------------|--------------------|-----------|------------------------|-----------|----------------|-------------------|
|               | <b>n</b>           | <b>Fa</b> | <b>n</b>               | <b>Fa</b> |                |                   |
| <b>01</b>     | 5                  | 0,0481    | 10                     | 0,0439    | 1,0000         |                   |
| <b>02</b>     | 8                  | 0,0769    | 14                     | 0,0614    | 0,6367         |                   |
| <b>03</b>     | 8                  | 0,0769    | 23                     | 0,1009    | 0,5479         |                   |
| <b>04</b>     | 13                 | 0,1250    | 33                     | 0,1447    | 0,7329         |                   |
| <b>05</b>     | 6                  | 0,0577    | 6                      | 0,0263    | 0,2035         |                   |
| <b>06</b>     | 7                  | 0,0673    | 23                     | 0,1009    | 0,4109         |                   |
| <b>07</b>     | 22                 | 0,2115    | 57                     | 0,2500    | 0,4892         |                   |
| <b>08</b>     | 2                  | 0,0192    | 10                     | 0,0439    | 0,3533         |                   |
| <b>12</b>     | 11                 | 0,1058    | 18                     | 0,0789    | 0,6809         |                   |
| <b>14</b>     | 3                  | 0,0288    | 5                      | 0,0219    | 0,7092         |                   |
| <b>15</b>     | 7                  | 0,0673    | 11                     | 0,0482    | 0,6017         |                   |
| <b>16</b>     | 7                  | 0,0673    | 10                     | 0,0439    | 0,4226         |                   |
| <b>17</b>     | 4                  | 0,0385    | 8                      | 0,0351    | 1,0000         |                   |
| <b>18</b>     | 1                  | 0,0096    | 0                      | 0,0000    | 0,3133         |                   |

| <b>HLA-DRB1*</b> | <b>Carreadores</b> |           | <b>Não-carreadores</b> |           | <b>p valor</b> | <b>OR (IC95%)</b> |
|------------------|--------------------|-----------|------------------------|-----------|----------------|-------------------|
|                  | <b>n</b>           | <b>Fa</b> | <b>n</b>               | <b>Fa</b> |                |                   |
| <b>01</b>        | 10                 | 0,0962    | 18                     | 0,0789    | 0,6709         |                   |
| <b>03</b>        | 2                  | 0,0192    | 15                     | 0,0658    | 0,1054         |                   |
| <b>04</b>        | 15                 | 0,1442    | 31                     | 0,1360    | 0,8647         |                   |
| <b>07</b>        | 10                 | 0,0962    | 25                     | 0,1096    | 0,8478         |                   |
| <b>08</b>        | 4                  | 0,0385    | 11                     | 0,0482    | 0,7837         |                   |
| <b>09</b>        | 1                  | 0,0096    | 4                      | 0,0175    | 1,0000         |                   |
| <b>10</b>        | 3                  | 0,0288    | 8                      | 0,0351    | 1,0000         |                   |
| <b>11</b>        | 19                 | 0,1827    | 37                     | 0,1623    | 0,6387         |                   |
| <b>12</b>        | 0                  | 0,0000    | 2                      | 0,0088    | 1,0000         |                   |
| <b>13</b>        | 14                 | 0,1346    | 30                     | 0,1316    | 1,0000         |                   |
| <b>14</b>        | 8                  | 0,0769    | 9                      | 0,0395    | 0,1805         |                   |
| <b>15</b>        | 8                  | 0,0769    | 23                     | 0,1009    | 0,5479         |                   |
| <b>16</b>        | 5                  | 0,0481    | 6                      | 0,0263    | 0,3299         |                   |
| <b>17</b>        | 3                  | 0,0288    | 9                      | 0,0395    | 0,7598         |                   |
| <b>18</b>        | 2                  | 0,0192    | 0                      | 0,0000    | 0,0975         |                   |

| HLA-DQA1* | Carreadores |        | Não-carreadores |        | p valor | OR (IC95%) |
|-----------|-------------|--------|-----------------|--------|---------|------------|
|           | n           | Fa     | n               | Fa     |         |            |
| <b>01</b> | 43          | 0,4135 | 94              | 0,4123 | 1,0000  |            |
| <b>02</b> | 9           | 0,0865 | 25              | 0,1096 | 0,5653  |            |
| <b>03</b> | 17          | 0,1635 | 34              | 0,1491 | 0,7446  |            |
| <b>04</b> | 6           | 0,0577 | 10              | 0,0439 | 0,588   |            |
| <b>05</b> | 28          | 0,2692 | 63              | 0,2763 | 1,0000  |            |
| <b>06</b> | 1           | 0,0096 | 2               | 0,0088 | 1,0000  |            |

  

| HLA-DQB1* | Carreadores |        | Não-carreadores |        | p valor | OR (IC95%) |
|-----------|-------------|--------|-----------------|--------|---------|------------|
|           | n           | Fa     | n               | Fa     |         |            |
| <b>02</b> | 20          | 0,1923 | 48              | 0,2105 | 0,7704  |            |
| <b>03</b> | 36          | 0,3462 | 73              | 0,3202 | 0,7056  |            |
| <b>04</b> | 6           | 0,0577 | 15              | 0,0658 | 1,0000  |            |
| <b>05</b> | 24          | 0,2308 | 41              | 0,1798 | 0,2982  |            |
| <b>06</b> | 18          | 0,1731 | 51              | 0,2237 | 0,3115  |            |

n = número absoluto de alelo; Fa = Frequência alélica; p valor = calculado pelo Teste Exato de Fisher; OR = odds ratio; IC (95%) = Intervalo com 95% de confiança.

**Tabela 4: Frequências alélicas (HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQA1 e HLA-DQB1) dos pacientes transplantados renais, carreadores e não-carreadores nasais de *Staphylococcus aureus***

| HLA-A* | Carreadores |        | Não-carreadores |        | p valor | OR (IC95%) |
|--------|-------------|--------|-----------------|--------|---------|------------|
|        | n           | Fa     | n               | Fa     |         |            |
| 01     | 9           | 0,1216 | 5               | 0,0758 | 0,4109  |            |
| 02     | 24          | 0,3243 | 16              | 0,2424 | 0,3497  |            |
| 03     | 6           | 0,0811 | 8               | 0,1212 | 0,5743  |            |
| 11     | 1           | 0,0135 | 3               | 0,0455 | 0,3430  |            |
| 23     | 1           | 0,0135 | 2               | 0,0303 | 0,6017  |            |
| 24     | 9           | 0,1216 | 5               | 0,0758 | 0,4109  |            |
| 26     | 2           | 0,0270 | 3               | 0,0455 | 0,6665  |            |
| 29     | 6           | 0,0811 | 2               | 0,0303 | 0,2813  |            |
| 30     | 5           | 0,0676 | 5               | 0,0758 | 1,0000  |            |
| 31     | 2           | 0,0270 | 2               | 0,0303 | 1,0000  |            |
| 32     | 1           | 0,0135 | 5               | 0,0758 | 0,0999  |            |
| 33     | 2           | 0,0270 | 3               | 0,0455 | 0,6665  |            |
| 36     | 1           | 0,0135 | 0               | 0,0000 | 1,0000  |            |
| 66     | 2           | 0,0270 | 0               | 0,0000 | 0,4980  |            |
| 68     | 2           | 0,0270 | 7               | 0,1061 | 0,0838  |            |
| 74     | 1           | 0,0135 | 0               | 0,0000 | 1,0000  |            |

  

| HLA-B* | Carreadores |        | Não-carreadores |        | p valor       | OR (IC95%)                |
|--------|-------------|--------|-----------------|--------|---------------|---------------------------|
|        | n           | Fa     | n               | Fa     |               |                           |
| 07     | 8           | 0,1081 | 1               | 0,0152 | 0,0558        |                           |
| 08     | 6           | 0,0811 | 3               | 0,0455 | 0,5001        |                           |
| 13     | 2           | 0,0270 | 3               | 0,0455 | 0,6665        |                           |
| 14     | 4           | 0,0541 | 2               | 0,0303 | 0,6838        |                           |
| 15     | 6           | 0,0811 | 8               | 0,1212 | 0,5743        |                           |
| 18     | 2           | 0,0270 | 2               | 0,0303 | 1,0000        |                           |
| 27     | 1           | 0,0135 | 1               | 0,0152 | 1,0000        |                           |
| 35     | 9           | 0,1216 | 8               | 0,1212 | 1,0000        |                           |
| 37     | 2           | 0,0270 | 2               | 0,0303 | 1,0000        |                           |
| 38     | 1           | 0,0135 | 0               | 0,0000 | 1,0000        |                           |
| 39     | 2           | 0,0270 | 1               | 0,0152 | 1,0000        |                           |
| 40     | 1           | 0,0135 | 7               | 0,1061 | <b>0,0263</b> | <b>8,66 (1,04- 72,39)</b> |
| 41     | 1           | 0,0135 | 3               | 0,0455 | 0,3430        |                           |
| 42     | 0           | 0,0000 | 1               | 0,0152 | 0,4714        |                           |
| 44     | 6           | 0,0811 | 10              | 0,1515 | 0,2872        |                           |
| 45     | 2           | 0,0270 | 0               | 0,0000 | 0,4980        |                           |
| 47     | 0           | 0,0000 | 1               | 0,0152 | 0,4714        |                           |
| 49     | 4           | 0,0541 | 0               | 0,0000 | 0,1221        |                           |
| 51     | 7           | 0,0946 | 4               | 0,0606 | 0,5399        |                           |
| 52     | 3           | 0,0405 | 1               | 0,0152 | 0,6221        |                           |
| 53     | 1           | 0,0135 | 2               | 0,0303 | 0,6017        |                           |

|                  |          |                    |          |                        |                |                           |
|------------------|----------|--------------------|----------|------------------------|----------------|---------------------------|
| <b>55</b>        | 1        | 0,0135             | 0        | 0,0000                 | 1,0000         |                           |
| <b>57</b>        | 4        | 0,0541             | 3        | 0,0455                 | 1,0000         |                           |
| <b>58</b>        | 1        | 0,0135             | 3        | 0,0455                 | 0,3430         |                           |
|                  |          | <b>Carreadores</b> |          | <b>Não-carreadores</b> |                |                           |
| <b>HLA-C*</b>    | <b>n</b> | <b>Fa</b>          | <b>n</b> | <b>Fa</b>              | <b>p valor</b> | <b>OR (IC95%)</b>         |
| <b>02</b>        | 4        | 0,0541             | 4        | 0,0606                 | 1,0000         |                           |
| <b>03</b>        | 4        | 0,0541             | 12       | 0,1818                 | <b>0,0307</b>  | <b>3,85 (1,09- 17,30)</b> |
| <b>04</b>        | 11       | 0,1486             | 11       | 0,1667                 | 0,8189         |                           |
| <b>05</b>        | 5        | 0,0676             | 6        | 0,0909                 | 0,7558         |                           |
| <b>06</b>        | 7        | 0,0946             | 8        | 0,1212                 | 0,7853         |                           |
| <b>07</b>        | 19       | 0,2568             | 13       | 0,1970                 | 0,4271         |                           |
| <b>08</b>        | 4        | 0,0541             | 2        | 0,0303                 | 0,6838         |                           |
| <b>12</b>        | 4        | 0,0541             | 3        | 0,0455                 | 1,0000         |                           |
| <b>14</b>        | 5        | 0,0676             | 0        | 0,0000                 | 0,0601         |                           |
| <b>15</b>        | 4        | 0,0541             | 2        | 0,0303                 | 0,6838         |                           |
| <b>16</b>        | 4        | 0,0541             | 4        | 0,0606                 | 1,0000         |                           |
| <b>17</b>        | 1        | 0,0135             | 1        | 0,0152                 | 1,0000         |                           |
| <b>18</b>        | 2        | 0,0270             | 0        | 0,0000                 | 0,4980         |                           |
|                  |          | <b>Carreadores</b> |          | <b>Não-carreadores</b> |                |                           |
| <b>HLA-DRB1*</b> | <b>n</b> | <b>Fa</b>          | <b>n</b> | <b>Fa</b>              | <b>p valor</b> | <b>OR (IC95%)</b>         |
| <b>01</b>        | 5        | 0,0676             | 5        | 0,0758                 | 1,0000         |                           |
| <b>03</b>        | 11       | 0,1486             | 1        | 0,0152                 | <b>0,0052</b>  | <b>11,2 (1,55- 494,7)</b> |
| <b>04</b>        | 9        | 0,1216             | 11       | 0,1667                 | 0,4773         |                           |
| <b>07</b>        | 5        | 0,0676             | 9        | 0,1364                 | 0,2592         |                           |
| <b>08</b>        | 2        | 0,0270             | 2        | 0,0303                 | 1,0000         |                           |
| <b>09</b>        | 2        | 0,0270             | 1        | 0,0152                 | 1,0000         |                           |
| <b>10</b>        | 0        | 0,0000             | 2        | 0,0303                 | 0,2205         |                           |
| <b>11</b>        | 14       | 0,1892             | 14       | 0,2121                 | 0,8332         |                           |
| <b>12</b>        | 0        | 0,0000             | 3        | 0,0455                 | 0,1022         |                           |
| <b>13</b>        | 7        | 0,0946             | 5        | 0,0758                 | 0,7691         |                           |
| <b>14</b>        | 7        | 0,0946             | 2        | 0,0303                 | 0,1720         |                           |
| <b>15</b>        | 7        | 0,0946             | 4        | 0,0606                 | 0,5399         |                           |
| <b>16</b>        | 2        | 0,0270             | 6        | 0,0909                 | 0,1482         |                           |
| <b>17</b>        | 2        | 0,0270             | 1        | 0,0152                 | 1,0000         |                           |
| <b>18</b>        | 1        | 0,0135             | 0        | 0,0000                 | 1,0000         |                           |
|                  |          | <b>Carreadores</b> |          | <b>Não-carreadores</b> |                |                           |
| <b>HLA-DQA1*</b> | <b>n</b> | <b>Fa</b>          | <b>n</b> | <b>Fa</b>              | <b>p valor</b> | <b>OR (IC95%)</b>         |
| <b>01</b>        | 26       | 0,3514             | 24       | 0,3636                 | 1,0000         |                           |
| <b>02</b>        | 7        | 0,0946             | 9        | 0,1364                 | 0,5959         |                           |
| <b>03</b>        | 11       | 0,1486             | 12       | 0,1818                 | 0,6520         |                           |
| <b>04</b>        | 4        | 0,0541             | 0        | 0,0000                 | 0,1221         |                           |
| <b>05</b>        | 26       | 0,3514             | 20       | 0,3030                 | 0,5915         |                           |
| <b>06</b>        | 0        | 0,0000             | 1        | 0,0152                 | 0,4714         |                           |

| HLA-DQB1* | Carreadores |        | Não-carreadores |        | p valor | OR (IC95%) |
|-----------|-------------|--------|-----------------|--------|---------|------------|
|           | n           | Fa     | n               | Fa     |         |            |
| <b>02</b> | 20          | 0,2703 | 9               | 0,1364 | 0,0613  |            |
| <b>03</b> | 24          | 0,3243 | 33              | 0,5000 | 0,0524  |            |
| <b>04</b> | 4           | 0,0541 | 0               | 0,0000 | 0,1221  |            |
| <b>05</b> | 13          | 0,1757 | 16              | 0,2424 | 0,4047  |            |
| <b>06</b> | 13          | 0,1757 | 8               | 0,1212 | 0,4783  |            |

n = número absoluto de alelo; *Fa* = Frequência alélica; p valor = calculado pelo Teste Exato de Fisher; OR = *odds ratio*; IC (95%) = Intervalo com 95% de confiança.

## 2. CAPÍTULO III

### 3.1 CONCLUSÕES

O presente estudo teve por objetivo principal investigar o envolvimento das moléculas HLA no carregamento nasal de *S. aureus* em pacientes em diálise e transplantados renais. Os resultados obtidos indicam que:

- a prevalência do carregamento nasal de *S. aureus* nos pacientes em diálise e transplantados renais foi semelhante a outras encontradas na literatura, porém, menor que a encontrada em um estudo anterior realizado pelo nosso grupo, em 2012;

- o carregamento nasal não diferiu quanto ao sexo, etnia, idade, tempo de diálise/transplante nos pacientes em diálise e transplantados renais;

- algumas moléculas HLA podem estar envolvidas na suscetibilidade (*HLA-B\*44*) ou na proteção (*HLA-B\*40* e *HLA-C\*03*) ao carregamento nasal, destacando-se, principalmente, o *HLA-DRB1\*03* e o haplótipo *HLA-DRB1\*03, -DQA1\*05, -DQB1\*02* como possíveis marcadores genéticos da suscetibilidade para o carregamento nasal de *S. aureus*.

### 3.2 PERSPECTIVAS FUTURAS

Novos estudos são necessários para confirmar e compreender o papel das moléculas HLA como marcadores genéticos de suscetibilidade e/ou proteção para o carregamento nasal de *S. aureus*.

Novas técnicas de elucidação estrutural de proteínas por métodos cristalográficos e sua análise através de imagem molecular permitem determinar a estrutura tridimensional das moléculas do CPH e sua associação com peptídeos. Estes avanços têm permitido estabelecer modelos de associação que, com o conhecimento da sequência de aminoácidos de um peptídeo, permitem prever qual dos alelos do CPH melhor se adaptará ao peptídeo em estudo e conseqüentemente auxiliar no desenvolvimento de vacinas.