



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
IMUNOLOGIA E PARASITOLOGIA APLICADAS**

**COLONIZAÇÃO E INFECÇÃO POR *Staphylococcus aureus*
RESISTENTE (MRSA) E SUSCETÍVEL (MSSA) À METICILINA NO
BERÇÁRIO DE ALTO RISCO DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA.**

HELISÂNGELA DE ALMEIDA SILVA

**UBERLÂNDIA-MG
2003**

SISBI/UFU



1000209174



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
IMUNOLOGIA E PARASITOLOGIA APLICADAS

MON
616.381.23
S719c
TES/MEH

**COLONIZAÇÃO E INFECÇÃO POR *Staphylococcus aureus*
RESISTENTE (MRSA) E SUSCETÍVEL (MSSA) À METICILINA NO
BERÇÁRIO DE ALTO RISCO DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA.**

HELISÂNGELA DE ALMEIDA SILVA

Dissertação de Mestrado apresentada à
Coordenação do Programa de Pós-
Graduação em Imunologia e
Parasitologia Aplicadas como parte das
exigências para obtenção do título de
Mestre em Imunologia e Parasitologia
Aplicadas.

UBERLÂNDIA-MG
2003



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
IMUNOLOGIA E PARASITOLOGIA APLICADAS**

**COLONIZAÇÃO E INFECÇÃO POR *Staphylococcus aureus*
RESISTENTE (MRSA) E SUSCETÍVEL (MSSA) À METICILINA NO
BERÇÁRIO DE ALTO RISCO DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA.**

HELISÂNGELA DE ALMEIDA SILVA

PAULO PINTO GONTIJO FILHO (ORIENTADOR)

Dissertação de Mestrado apresentada à
Coordenação do Programa de Pós-
Graduação em Imunologia e
Parasitologia Aplicadas como parte das
exigências para obtenção do título de
Mestre em Imunologia e Parasitologia
Aplicadas.

**UBERLÂNDIA-MG
2003**

Trabalho realizado no laboratório de Microbiologia da Área de Imunologia, Microbiologia e Parasitologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia, sob orientação do Prof. Dr. Paulo P. Gontijo Filho, com auxílio financeiro do Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq).

*"É preciso ter sonhos e a certeza de
que tudo vai mudar.*

*É necessário abrir os olhos e descobrir
que as coisas boas estão dentro de
nós, onde os sonhos não precisam de
motivos e nem os sentimentos de
razão."*

John Lennon

À Deus

*Devemos tudo àquele que nos deu
sabedoria para descobrirmos nossa
vocação, força para superarmos os
tantos obstáculos tornando um sonho
realidade.*

Aos meus Pais

*A vocês, que me deram vida e me ensinaram a viver
com dignidade.*

*A vocês que iluminaram os meus caminhos obscuros
com afeto e dedicação, para que eu o trilhasse sem
medo e cheia de esperança.*

Quando nascerem as flores

Quando crescerem as matas

Quando colhirmos os frutos

Sintam o gosto também.”

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Paulo, pela paciência, sabedoria e valiosa orientação para que este trabalho se realizasse da melhor maneira possível.

Ao Dr. Orlando César Mantese e Dr^a Maria de Lourdes Ribeiro de Souza da Cunha por terem aceito participar na apresentação desta dissertação.

A minha grande amiga Cristina Madeira, "A sua amizade com certeza foi um dos melhores presente que Deus poderia ter me dado, Adoro você".

Aos professores Geraldo Melo e Denise Brito, pelos ensinamentos e companheirismo, tornando a minha convivência no laboratório a mais agradável possível.

Aos técnicos do laboratório de Microbiologia, Claudete e Ricardo, pela colaboração e amizade para que este trabalho pudesse ser realizado.

Aos amigos Geraldo Sadoyama e Rosineide Ribas, pela preciosa amizade que construímos ao longo do tempo.

Às minhas amigas Dayane e Renata, companheiras de laboratório e de curso, pelos bons e maus momentos que juntas passamos durante este curso, nunca me esquecerei de vocês.

Ao meu inesquecível amigo Cláudio, pelas boas horas (principalmente no almoço) que passamos juntos.

Aos colegas do laboratório: Érica, Karine, Karicielle, Noraísa, Fabiana, Michele, Daniela, Juliane, Elias, Gláucia, Lidianne pela agradável convivência durante todo este tempo.

À Dr^a Claudia Lucia Teixeira e Dr^a Vânia Abdallah pela valiosa colaboração para que este trabalho pudesse ser concluído da melhor forma possível.

Às crianças do Berçário de Alto Risco incluídas no meu estudo, extensivo aos seus familiares em respeito a sua dor, sem as quais este trabalho não poderia ser efetivado.

Aos profissionais do Berçário de Alto Risco e da Secretaria de Controle de Infecção Hospitalar do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, que muito colaboraram para a realização deste trabalho.

Aos amigos João Martins Neto e Lucileide pela insuperável colaboração, paciência e amizade de todos os dias.

A todos os demais que porventura não foram listados, mas que fazem parte deste cotidiano, meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

Lista de tabelas	xi
Lista de Anexos	xii
Lista de abreviaturas	xiii
Resumo	xiv
Abstract	xv
1- Introdução	07
2- Objetivos	08
3- Casuística e Métodos	09
3.1- Hospital	09
3.2- Berçário de Alto Risco	09
3.3- Desenho do estudo	09
3.3.1- Definição de Infecção Hospitalar	10
3.3.2- Vigilância	10
3.3.3- Colonização	10
3.4- Técnicas microbiológicas	11
3.4.1- Coleta de espécimes	11
3.4.2- Cultivo primário	11
3.4.3- Identificação das amostras	11
3.4.4- Estocagem das amostras	11
3.4.5- Teste de suscetibilidade aos antimicrobianos	12
3.4.5.1- Difusão em gel	12
3.4.5.2- Agar de triagem	12
3.5- Análise estatística	13
3.6- Aprovação do comitê de ética	13
4- Resultados	14
5- Discussão	26
6- Conclusões	32

7- Referências Bibliográficas	33
8- Anexos	
8.1- Anexo I: Ficha de Colonização	44
8.2- Anexo II: Diagrama da Unidade	45
8.3- Anexo III: Parecer da Comissão de Ética	46
8.4- Anexo IV: Artigo enviado para publicação	47

LISTA DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1: Colonização de neonatos por MRSA e MSSA em quatro inquéritos de prevalência realizados no BAR do HC-UFU, de 01/2000 a 12/2002	15
Tabela 2: Frequências de colonização por MRSA e MSSA de diferentes sítios Anatômicos em neonatos internados no BAR do HC-UFU, definidos em quatro Inquéritos de prevalência	16
Tabela 3: Colonização em um ou mais sítios anatômicos em neonatos internados no BAR do HC-UFU, definidos em quatro inquéritos de prevalência.	16
Tabela 4: Fatores de risco para colonização por <i>S.aureus</i> em neonatos internados no BAR do HC-UFU no período de 01/2000 a 12/2002.	18
Tabela 5: Fatores de risco para colonização por MRSA e MSSA em neonatos internados no BAR do HC-UFU no período de 01/2000 a 12/2002.	19
Tabela 6: Colonização de neonatos por <i>S.aureus</i> (MRSA e MSSA) nos diferentes setores do BAR do HC-UFU; média de quatro inquéritos de prevalência realizados no período de 01/2000 a 12/2002.	20
Tabela 7: Uso de antibióticos e colonização por MRSA nos diferentes setores do BAR do HC-UFU; média de quatro inquéritos de prevalência realizados no período de 01/2000 a 12/2002.	21

Tabela 8: Incidência anual de infecções estafilococcicas no BAR do HC-UFU, no período de Janeiro/2000 –dezembro/2002. 22

Tabela 9: Incidência de infecções estafilococcicas por MRSA e MSSA em neonatos internados no BAR do HC-UFU no período do primeiro semestre/2000 ao segundo semestre /2002 23

Tabela 10: Avaliação da multiresistência das amostras de MRSA e MSSA pela técnica de difusão em gel frente a vários antimicrobianos 24

Tabela 11: Avaliação da resistência das amostras de MRSA e MSSA pela técnica de difusão em gel frente à vários antimicrobianos 25

LISTA DE ANEXO

	Pág
Anexo I- Diagrama da Unidade	44
Anexo II- Ficha de Colonização	45
Anexo III- Aceite de Comissão de Ética	46
Anexo IV- Artigo Enviado para publicação	47

LISTA DE ABREVIATURAS

ATCC= American Typical Culture Control

BAR= Berçário de alto risco

BE= Berçário externo

CDC= “Centers for Disease Control and Prevention”

DNA-se= Desoxiribonuclease

EUA= Estados Unidos da América

HC-UFU= Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia

IH= Infecção Hospitalar

INTER= Intermediário

MRSA= *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina/oxacilina

MSSA= *Staphylococcus aureus* suscetível à meticilina/oxacilina

NCCLS= “National Committee for Clinical Laboratory Standards”

NNISS= “National Nosocomial Infections Surveillance System”

SCIH= Secretaria de Controle de Infecção Hospitalar

TSA= “Trypticase Soy Agar”

TSB= “Trypticase soy Broth”

UTI= Unidade de Terapia Intensiva

UTIN= Unidade de Terapia Intensiva Neonatal

RESUMO

Foi realizado um estudo de incidência de infecção e prevalência de colonização, respectivamente por *Staphylococcus aureus* no Berçário de Alto Risco (BAR) do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU). Os casos de infecções estafilocócicas foram detectados através de consultas aos registros da Secretaria de Controle de Infecção Hospitalar (SCIH) e ao BAR. Adicionalmente foram realizados quatro inquéritos de prevalência pontual de colonização por *S. aureus*, no período de 01/2000 a 12/2002. A frequência de neonatos colonizados nos quatro inquéritos foi de 48,95%, sendo o MSSA mais prevalente (57,15%) do que o MRSA (42,85%), excetuando-se o segundo inquérito quando o MRSA foi mais frequente (78,94%). O intestino foi o sítio mais usual de colonização com uma taxa média de 34,87%, com predominância do MRSA (63,90%). O tempo de internação foi a única variável que apresentou significância para os neonatos colonizados por *S. aureus* e os fatores de risco associados com a aquisição do MRSA foram o baixo peso e o uso de antimicrobianos. Verificou-se diferenças nas taxas de neonatos colonizados por *S. aureus* nos diferentes setores do BAR, particularmente entre o Berçário Externo (BE) e UTI. A exemplo do verificado com o MRSA com uma maior frequência de neonatos no BE do que no Inter. O uso de antimicrobianos também foi mais significativo no BE do que no Inter. A incidência de infecções por *S. aureus* nos três anos foi de 3,62%, sendo nove casos (5,66%) por MRSA e 150 (94,34%) por MSSA. As estafilococcias invasivas corresponderam a 31,44% e os demais (conjuntivites, cutâneas) a 68,56%. A associação do fenótipo MRSA com infecções foi baixa quando comparada com amostras suscetíveis a oxacilina, embora as taxas de colonização por *S. aureus*, MRSA e MSSA tenham sido altas.

SUMMARY

It was accomplished an infection incidence and colonization prevalence study for *Staphylococcus aureus* in the High Risk Nursery of the Clinics Hospital, Federal University of Uberlândia. Staphylococcal infections were observed by analyzing medical records in HICS (Hospital Infection Control Service) and the HRN. Additionally four inquiries of punctual colonization prevalence were accomplished for *S. aureus*, from january/2000 to december/2002. The frequency of neonates colonized by *S. aureus* was 48.95%. MSSA was more prevalent (57.15%) than MRSA (42.85%). MRSA was more prevalent in the second inquiry (78,94%). Intestine was the most usual site colonization by *S. aureus* (34,87%); MRSA was the most prevalent phenotype (63,90%). Statistically significant difference was observed in the different sections of HRN, especially between Extern Nursery (EN) and UTI by analyzing neonates colonized by *S. aureus*. In relation to MRSA it was more frequently observed in EN than in Inter. Antibiotic use was statistically significant in BE than Inter, as well. Risk factors related to acquisition of MRSA were: low weight and antibiotic use. In relation to colonization by *S. aureus*, hospital stay was the only significant variable observed. The incidence of infections by *S. aureus* in the last three years was of 3.62% (159 cases). Nine of them (5.66%) were associated to MRSA and 150 (94.34%) to MSSA. Staphylococcal infections were considered as invasive (sepsis) and non-invasive (conjunctivitis, cutaneous), corresponding to 31.44% and 68.56%, respectively. MRSA phenotype presence in infection was low when compared with methicillin-susceptible samples although *S.aureus*, MRSA and MSSA colonization rates had been high.

1-INTRODUÇÃO

As infecções hospitalares (IHs) são uma das principais causas do aumento nas taxas de morbidade, mortalidade e custos relacionados à hospitalização (KAWAGOE, 2001), principalmente em países em desenvolvimento, como o Brasil, onde poucos hospitais possuem comissões ativas de Controle de Infecções (PONCE DE LEON, 1991).

Os pacientes neonatos, particularmente os prematuros, são muito suscetíveis as IHs em decorrência da imaturidade do sistema imune, anomalias congênitas, hospitalização prolongada e utilização de dispositivos invasivos (SIEGEL, 1998). As taxas de IHs em UTINs são elevadas variando de 7 a 25% (KHAN et al., 1997). O “National Nosocomial Infections Surveillance System” (NNISS) do “Centers for Disease Control and Prevention” (CDC) relata uma alta taxa de bacteremias hospitalares em UTINs, especialmente em neonatos de baixo peso, comparando com outras unidades de Terapia Intensiva, com exceção da unidade de queimados (SIEGEL, 1998).

No Brasil calcula-se que os pacientes mantidos em UTINs/ Berçário têm as taxas mais altas de todos os pacientes pediátricos que geralmente variam de 6 a 30 infecções por 100 altas. Entre as unidades hospitalares o berçário é uma das quais onde ocorrem mais infecções bem como surtos

(STARLING, PINHEIRO, COUTO, 1993).

As infecções neonatais são classificadas em fetais, perinatais e pós-parto; sendo as últimas onde se incluem as infecções hospitalares. Infecções fetais resultam em morte fetal com aborto, nascimento de uma criança morta, reabsorção fetal, má formação congênita, prematuridade, retardo mental e numerosas complicações resultantes de infecções crônicas pós-parto. As infecções perinatais são as que ocorrem durante o trabalho de parto, apresentando uma aquisição vertical, podendo resultar em doenças sistêmicas com morte, infecções persistentes ou seqüelas crônicas. As infecções pós-parto podem ser de natureza nosocomial e familiar. A pele e as mucosas do feto não apresentam microrganismos, mas tornam-se contaminados a partir das mãos de profissionais de saúde logo após o nascimento. Os microrganismos que normalmente colonizam os neonatos são potencialmente invasivos, em um hospedeiro com a imunidade comprometida, resultando em riscos de infecções (WAGGONER-FOUNTAIN, DONOWITZ, 1995).

Os fatores de risco que predis põem infecções hospitalares em UTINs podem ser divididos em: intrínsecos, ou seja, inerentes ao próprio paciente, como idade, sistema imune imaturo, proteção diminuída no que se refere a barreiras naturais como a pele, ausência de microbiota endógena, baixo peso, prematuridade e gravidade da doença de base; e extrínsecos, que incluem as intervenções cirúrgicas, presença de dispositivos invasivos representados, sobretudo, por cateteres intravasculares periféricos e centrais, tubos endotraqueais, respiradores, sondas nasogástricas, vesicais e drenos (SIEGEL, 1998; SINGH-NAZ, 1996).

Os sítios de infecção nosocomial em recém-nascidos diferem daqueles presentes em adultos. Infecções sanguíneas primárias são responsáveis por 30 a 50% dos episódios em neonatos, dependendo do peso; e infecções de ferida cirúrgica e do trato urinário são raras. Em contraste, mais de 40% das infecções em adultos são do trato urinário e 20% de ferida cirúrgica (GOLDMANN, SANDS, 1998).

O gênero *Staphylococcus* possui 32 espécies, dentre as quais, quinze fazem parte da microbiota normal do homem, sendo o *Staphylococcus aureus* a espécie coagulase-positiva de maior importância clínica (KLOOS, BANNERMAN, 1995). Os estafilococos crescem bem em condições anaeróbicas ou microaerófilas e mais rapidamente a 37°C. São relativamente resistentes ao ressecamento, ao calor (suporta 50 °C durante 30 minutos) e ao cloreto de sódio (9%). O *Staphylococcus aureus* no indivíduo sadio é considerado um microrganismo comensal das narinas anteriores, pele úmida, boca e intestino. O *S.aureus* apresenta propriedades que lhe permitem uma rápida colonização e posterior invasão através de pequenas lesões na pele e mucosas (MURRAY, 1998; AYLIFFE et al., 1998).

Os *Staphylococcus aureus* podem causar doença devido a sua capacidade de multiplicar e disseminar amplamente nos tecidos e órgãos e também através da produção de muitas substâncias extracelulares (enzimas e toxinas). A supuração focal (abscessos) é típica de infecção estafilocócica. A partir de qualquer foco, os microrganismos podem propagar-se através dos vasos linfáticos e da corrente sanguínea para outras partes do corpo, podendo causar pneumonia, meningite, empiema,

endocardite, osteomielite, bacteremia, septicemia entre outras (GONÇALVES et al., 1985).

Nos EUA, *Staphylococcus aureus* é um dos três agentes mais freqüentes de infecções hospitalares, respondendo, sobretudo pela etiologia das infecções pós-cirúrgicas, bacteremias primárias e secundárias (GOLDMAN, PLATT, HOPKINS, 1992). Em hospitais onde este microrganismo torna-se prevalente ou endêmico ele pode contribuir com 10 a 15 % de todas as infecções adquiridas no hospital (BOYCE, WHITE, SPRUILL, 1983).

Na era pré-antibiótica, o prognóstico de tratamento para as infecções estafilocócicas severas era extremamente pobre. Após a introdução da penicilina na terapêutica em 1941, uma reversão dramática neste quadro foi observada, entretanto devido ao uso inapropriado e excessivo de antibióticos, aliado a medidas inadequadas de controle, favoreceu o rápido aparecimento de amostras resistentes à penicilina e em 1948 cerca de 60,00% das amostras de *S. aureus* eram resistentes a este antimicrobiano (EMMERSON, 1994).

O *S. aureus*, dominante no ambiente hospitalar na década de 50, caracterizou-se pela resistência à penicilina através da produção de penicilinasas (betalactamases). A introdução de outros antibióticos como estreptomicina, tetraciclina, cloranfenicol e macrolídeos (eritromicina), foi similarmente acompanhada pelo aparecimento de microrganismos resistentes a estes antibióticos (LYON, SKURRAY, 1987).

A primeira penicilina semi-sintética resistente à penicilinase, a meticilina, foi introduzida no tratamento de *S. aureus* em 1959, porém dois

anos depois, foram isoladas as primeiras amostras resistentes a este antimicrobiano (BRUMFITT, HAMILTON-MILLER, 1989).

Durante os anos 60 houve relatos do aumento da frequência de isolados de *S. aureus* resistentes a meticilina (MRSA) em hospitais americanos, ingleses e de toda a Europa, com relatos alarmantes na Suécia e Dinamarca, onde 30,00% a 50,00% de todos os isolados nosocomiais de *S. aureus* exibiam resistência a este antimicrobiano (PEACOCK, MARSIK, WENZEL, 1980).

A emergência de *S. aureus* com resistência a oxacilina a partir dos anos 80, particularmente em hospitais de grande porte, vem representando um problema no tratamento das estafilococcias hospitalares. O termo MRSA é usualmente utilizado para designar as amostras com resistência não só à meticilina e oxacilina, mas também aos demais beta -lactâmicos (KLOOS, BANNERMAN, 1995) .

O MRSA emergiu como um patógeno hospitalar no início dos anos 60, quando surtos de infecção foram relatados em hospitais Britânicos e em outros países da Europa. Até 1976 apenas dois surtos foram relatados nos EUA e após este período de acordo com os critérios do NNIS a taxa de amostras que apresentam resistência a meticilina aumentou de 2,4% em 1976 para 29,0% em 1991 (KORN et al., 2001). Em Nova Iorque o MRSA é responsável por aproximadamente 30% das infecções hospitalares, e 50% daquelas associadas à mortalidade (SHOPSIN et al., 2000).

As taxas de prevalência de MRSA variam muito particularmente em função do tamanho e tipo de instituição (BOYCE, 1992). A relação entre *Staphylococcus aureus* suscetíveis (MSSA) e resistentes (MRSA) à

oxacilina varia não só de hospital para hospital mas também de unidade para unidade. Em algumas áreas geográficas elas permanecem baixas e em outras áreas até 50% de todos os isolados de pacientes são de MRSA (PANLILIO et al., 1992). No Brasil, calcula-se que a frequência de resistência a oxacilina seja alta entre as amostras de *S aureus* principalmente em hospitais de grande porte / universitários. Estudos realizados no hospital São Paulo da Escola Paulista de Medicina (WEY, 1990) e no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia descreveram taxas da ordem de 50% (LEAL, 1998).

Os microrganismos mais frequentemente envolvidos em infecções em UTINs são os Gram positivos, com destaque para o *Staphylococcus aureus* considerado o mais importante agente, tanto de infecções endêmicas quanto de surtos, seguido pelo *Staphylococcus epidermidis*, este relacionado a episódios de sepse associados a neonatos com cateter venoso central (DREWS et al., 1995, GAYNES et al., 1996). Ao contrário dos surtos, estas infecções não têm origem num reservatório comum podendo estar usualmente associadas a microbiota do próprio paciente ou de profissionais de saúde contaminados no exercício da profissão ou serem adquiridas por transmissão indireta através de equipamento instrumental contaminado (STILLMAN, WENZEL, DONOWITZ, 1987).

O MSSA está entre os microrganismos mais associados à berçários e UTINs (STARLING, PINHEIRO, COUTO, 1993), enquanto que o MRSA é comumente encontrado em adultos, principalmente em idosos (BOYCE, 1992). As taxas de infecções neonatais por MRSA variam de 15 a 26% e em pacientes mantidos em UTINs estas podem atingir frequências de até

50,00% (HRYNIEWICZ, ZAREBA, JELJAAZEWICS, 1993).

Os sítios de colonização mais freqüentes incluem: narinas, orofaringe, ferida cirúrgica ou queimadura, úlcera de decúbito, períneo, reto e sítios de traqueostomia ou gastrostomia. No tocante à epidemiologia, os pacientes colonizados ou infectados são os principais reservatórios de MRSA nos hospitais (THOMPSON, CABEZUDO, WENZEL, 1982). A transmissão do MRSA de um paciente para outro ocorre usualmente através das mãos de profissionais de saúde, por contato direto (VINCENT et al., 1995).

Entre as medidas recomendadas para o controle de infecções por MRSA, incluem-se: inquéritos de prevalência/incidência, monitoramento microbiológico de pacientes quando da admissão, lavagem de mãos, isolamento de coorte, tratamento de profissionais de saúde e pacientes colonizados /infectados com MRSA (BOYCE, 1992).

2-OBJETIVOS

Foram avaliados os seguintes aspectos relacionados a infecções e/colonização por *S. aureus* (MRSA e MSSA) nos neonatos mantidos no BAR do HC-UFU:

- A taxa de incidência de infecções endêmicas no período estudado;
- As taxas de prevalência de colonização por estes microrganismos em quatro inquéritos;
- As frequências de colonização em diferentes sítios anatômicos;
- Os fatores de risco intrínsecos e extrínsecos associados à colonização;
- A relação entre a colonização por estes microrganismos, o setor do BAR bem como o uso de antimicrobianos.

3-CASUÍSTICA E MÉTODOS

1. Hospital

O estudo foi realizado no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU) que é uma instituição de ensino com aproximadamente 500 leitos, que oferece assistência de nível terciário.

2-Berçário de Alto Risco (BAR)

O trabalho foi realizado no BAR do HC-UFU que compreende 45 leitos. A unidade é dividida em UTI Neonatal e Alto Risco (estas duas unidades serão denominadas durante todo o trabalho de UTI), Intermediários 1 e 2 (Inter) e Berçário Externo (BE), isolamento e admissão (anexo 1).

3.Desenho do estudo

3.1. Definição de IH

Infecção hospitalar é aquela que não está presente ou incubada no momento da admissão do neonato no Berçário, mas que se manifesta durante a hospitalização ou após 48 horas da transferência do neonato de

uma outra unidade (EMORI et al., 1991). Não são consideradas hospitalares aquelas infecções adquiridas por via transplacentária (herpes simplex, toxoplasmose, rubéola, citomegalovírus e sífilis) e tornam-se evidentes após o nascimento (GARNER et al., 1988).

3.2. Vigilância:

A vigilância de infecções hospitalares por *S. aureus* foi realizada através de consultas ao livro de registro de infecções do BAR e ao arquivo da secretaria do Serviço de Controle de Infecção Hospitalar (SCIH) do HC-UFU, através de visitas periódicas (mensais) a este serviço.

3.3. Colonização:

Foram realizados quatro inquéritos de prevalência pontual de colonização por *S. aureus* (25/10/2000, 11/09/2001, 05/02/2002 e 23/08/2002) durante o período de estudo. Foram coletados espécimes clínicos de todos os neonatos presentes na unidade sendo preenchida uma ficha individual com os dados demográficos, clínicos, e fatores de risco intrínsecos e extrínsecos para cada criança (anexo 2).

4 .Técnicas microbiológicas

4.1. Coleta

As coletas foram realizadas com swabs, a partir da cavidade anal, boca e narina e transportados ao laboratório de microbiologia em tubos contendo TSB ("Trypticase Soy Broth").

4.2. Cultivo

Os espécimes clínicos foram inoculados em agar manitol salgado, pela técnica de esgotamento, seguido de incubação à 37°C por 24 a 48 horas.

4.3. Identificação das amostras

As colônias foram caracterizadas como do gênero *Staphylococcus* através da coloração de Gram e do teste da catalase e no nível de espécie, *Staphylococcus aureus*, através da fermentação do manitol no meio utilizado no cultivo primário, atividade DNase e presença de coagulase.

4.4. Estocagem

As amostras de *S. aureus* foram estocadas em tubos de ágar estoque com glicerol (20%) e congeladas (-20°C) até a realização dos testes de atividade "in vitro" dos antimicrobianos.

4.5. Teste de suscetibilidade aos antimicrobianos

4.5.1 Método de difusão em Agar:

As amostras estocadas foram cultivadas em agar TSA ("Trypticase Soy Agar") a partir do qual 3 a 5 colônias foram inoculadas em 5 mL de caldo TSB. A suspensão foi incubada a 37°C até atingir uma turvação equivalente a escala 0,5 de McFarland, que corresponde a uma concentração de aproximadamente $1-2 \cdot 10^8$ UFC/ml, e semeada em placas de agar Mueller Hinton com auxílio de swab de modo a obter um crescimento confluyente. Os discos de antimicrobianos foram aplicados sobre a superfície das placas e estas foram incubadas a 37° por 24-48 horas (NCCLS, 1997a). Foram utilizados os seguintes antimicrobianos: cefalotina, ceftriaxona, ciprofloxacina, clindamicina, cloranfenicol, gentamicina, oxacilina, rifampicina e tetraciclina. Foi utilizada como controle a amostra de *S. aureus* ATCC - 25923.

4.5.2 Agar de triagem

Para a realização desta técnica foi utilizado o Agar Mueller-Hinton suplementado com 6µg de oxacilina e 4% de NaCl (Agar de triagem) para a detecção de amostras resistentes de *S. aureus* (MRSA). Foi inoculado um volume de 5µL ($5 \cdot 10^6$ UFC/mL) de uma suspensão bacteriana padronizada segundo a escala 0,5 de McFarland, utilizando-se uma placa para testar seis isolados. As culturas foram

observadas após incubação por 24 horas a 37⁰C. A presença de crescimento de uma única colônia era indicativo de resistência (NCCLS, 1997b).

5. Análise estatística

Foi realizada uma análise univariada na avaliação dos fatores de risco para a aquisição de colonização por *S.aureus*, MRSA e MSSA. Os testes utilizados foram o χ^2 e exato de Fisher para analisar proporções e *t* de Student para analisar a média de variáveis quantitativas entre as duas populações, sendo considerado um $\alpha=0,05$. O teste do χ^2 é realizado para comparação entre variáveis qualitativas com n maior que 5, o teste exato de Fisher para analisar as variáveis qualitativas com n menor ou igual a 5. O *t* de Student para a análise de variáveis quantitativas. Os dados epidemiológicos foram analisados utilizando-se o programa Epi-Info, versão 5.0 (DEAN, 2000).

6. Ética

Este trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (Anexo 3).

4-RESULTADOS

Foram realizados quatro inquéritos de prevalência de colonização por *Staphylococcus aureus* no BAR do HC-UFU, correspondendo a um total de 143 neonatos, no período compreendido entre Janeiro/2000 a Dezembro/2002, nos dias 25/10/2000, 11/09/2001, 05/02/2002 e 23/08/2002, respectivamente. A frequência de colonização por este microrganismo foi de 48,95% (70/143), sendo o MSSA (57,15%) mais prevalente que o MRSA (42,85%). A presença do MRSA foi mais freqüente apenas no segundo inquérito (78,94%) (tabela 1).

Tabela 1: Colonização de neonatos por MRSA e MSSA em quatro inquéritos de prevalência realizados no BAR do HC-UFU de Janeiro/2000 a Dezembro/2002.

Ano/Data	Neonatos		Neonatos		Prevalência/Colonização			
	pesquisados		Colonizados		MRSA		MSSA	
	N		N	%	N	%	N	%
2000								
25/10/2000	35		13	37,14	3	23,07	10	76,93
2001								
11/09/2001	35		19	54,28	15	78,94	4	21,06
2002								
05/02/2002	36		20	55,55	4	20,00	16	80,00
2002								
23/08/2002	37		18	48,64	8	44,44	10	55,56
Total	143		70	48,95	30	42,85	40	57,15

O intestino foi o sítio mais usual de colonização por *S.aureus* (MRSA e MSSA), apresentando uma positividade de 34,87%, com predomínio de amostras de MRSA (63,90%), sendo o MSSA mais isolado de narinas (42,46%) (tabela 2). Os neonatos que apresentaram-se colonizados em mais de sítio foram contados quantas vezes fossem o número de sítios encontrados. Devido a este fato observa-se na tabela 2 um total de 109 amostras, provenientes de 70 neonatos colonizados, sendo que

28 estavam multicolonizados (2 ou 3 sítios).Foi verificada uma alta taxa de colonização em dois e três sítios, com 24,28% e 15,72%, respectivamente (tabela 3).

Tabela 2: Frequências de colonização por MRSA e MSSA de diferentes sítios anatômicos em neonatos internados no BAR do HC-UFU.

Amostras	Sítios de Colonização							
	Boca		Narina		Intestino		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%
MRSA	8	22,22	5	13,88	23	63,90	36	33,02
MSSA	27	36,98	31	42,46	15	20,56	73	66,98
<i>S. aureus</i>	35	32,02	36	32,02	38	34,87	109	100,00

Tabela 3: Colonização em um ou mais sítios anatômicos em neonatos internados no BAR do HC-UFU.

Crianças	Número de Sítios de Colonização					
	1 Sítio		2 Sítios		3 Sítios	
	N	%	N	%	N	%
MRSA	26	86,66	2	6,67	2	6,67
MSSA	16	40,00	15	37,50	9	22,50
<i>S. aureus</i>	42	60,00	17	24,28	11	15,72

A análise dos fatores de risco associados à colonização pelo *S.aureus* versus aqueles sem a presença deste microrganismo (grupo controle) e entre os neonatos colonizados por MRSA e MSSA, estão nas tabelas 4 e 5. O tempo de internação foi a única variável associada à colonização por *S.aureus* ($p<0,05$) (tabela 4). O peso inferior a 1500 gramas e o uso de antibióticos foram mais frequentes ($p<0,05$) no grupo com MRSA do que nos neonatos colonizados por MSSA (tabela 5).

Tabela 4: Fatores de risco para colonização por *S.aureus* em neonatos internados no BAR do HC-UFU.

Fatores de risco	COLONIZADOS		NÃO COLONIZADOS		p	OR ¹ (IC) ²
	(n=70)		(n=73)			
	N	%	N	%		
Sexo						
Masculino	44	62,85	36	49,31	0,143	1,74 (1,85-3,59)
Peso						
<1500g	25	35,71	21	28,76	0,477	1,38 (0,64-2,96)
Apgar						
0-4	5	7,15	4	5,47	0,948	1,33 (0,29-6,21)
5-7	51	72,85	44	60,27	0,156	1,77 (0,83-3,81)
8-10	14	20,00	25	34,26	0,084	0,48 (0,21-1,09)
Idade						
gestacional						
≤36semanas	39	55,71	37	50,68	0,663	1,22 (0,60-2,49)
Antibióticos	22	32,85	25	34,24	0,856	0,88 (0,41-1,88)
Tempo de						
hospitalização ³						
≥ 7 dias	57	81,43	47	64,39	0,035*	2,43 (1,05-5,64)
Incubadora	30	42,85	32	43,33	0,959	0,96 (0,47-1,96)
Terapia com						
oxigênio	11	15,71	10	13,69	0,917	1,17 (0,42-3,26)
Dispositivo						
Invasivo	35	50,00	38	52,05	0,937	0,92 (0,45-1,87)

¹OR: Razões de chance, ²IC: intervalo de confiança, ³ Tempo entre a internação do paciente a coleta do espécime clínico.

*p≤0,05 (estatisticamente sigificante)

Tabela 5: Fatores de risco para colonização por MRSA e MSSA em neonatos internados no BAR do HC-UFU.

Fatores de risco	MRSA (n=30)		MSSA (n=40)		p	OR ¹ (IC) ²
	N	%	N	%		
Sexo						
Masculino	16	53,33	28	70,00	0,238	0,49 (0,16-1,47)
Peso						
<1500g	16	53,33	10	25,00	0,029*	3,43 (1,11-10,78)
Apgar						
0-4	4	13,33	1	2,50	0,203	6,00 (0,57-149,37)
5-7	21	70,00	30	75,00	0,846	0,78 (0,24-2,55)
8-10	5	16,67	9	22,50	0,762	0,69 (0,17-2,66)
Idade						
gestacional						
<36semanas	19	63,33	20	50,00	0,385	1,73 (0,59-5,10)
Antibióticos	14	46,66	8	20,00	0,034*	3,50 (1,08-11,58)
Tempo de hospitalização ³						
≥ 7 dias	27	90,00	30	75,00	0,198	0,33 (0,06-1,52)
Incubadora	15	50,00	15	37,50	0,422	1,67 (0,57-4,88)
Terapia com oxigênio	4	13,33	7	17,5	0,886	0,73 (0,16-3,20)
Dispositivo Invasivo	19	63,33	16	40,00	0,090	2,59 (0,88-7,76)

¹OR: Razões de chance, ²IC: intervalo de confiança, ³Tempo entre a internação do paciente a coleta do espécime clínico

*p≤0,05 (estatisticamente sigificante)

Adicionalmente, as crianças foram analisadas quanto à colonização segundo internação nos diferentes setores do BAR: UTI, Inter e BE, verificando-se mais neonatos colonizados por *S.aureus* no BE (65,00%) do que na UTI (38,00%) ($p < 0,05$). A frequência de crianças com MRSA também foi mais alta no BE (45,00%) diferindo significativamente ($p < 0,05$) daquelas internadas no Inter (15,07%) (tabela 6).

Tabela 6: Colonização de neonatos por *S.aureus* (MRSA e MSSA) nos diferentes setores do BAR do HC-UFU; média de quatro inquéritos de prevalência realizados no período de 01/2000 a 12/2002.

<i>S.aureus</i>	SETOR							
	UTI (50)		INTER (73)		BE (20)		TOTAL (143)	
	N	%	N	%	N	%	N	%
MRSA	10	20,00	11	15,07	9	45,00	30	20,97
MSSA	9	18,00	27	36,98	4	20,00	40	27,97
TOTAL	19	38,00	38	52,05	13	65,00	70	48,94

Os dados da análise do uso de antibióticos como fator de risco para colonização por MRSA nos diferentes setores do BAR estão na tabela 7. Embora a maioria dos neonatos (53,34%) não estivesse em uso de

antimicrobianos, entre aqueles em tratamento com estes medicamentos (46,66%) verificou-se uma relação ($p < 0,05$) com o isolamento de MRSA quando da comparação entre as crianças do BE e o Inter.

Tabela 7: Uso de antibióticos e colonização por MRSA nos diferentes setores do BAR do HC-UFU; média de quatro inquéritos de prevalência realizados no período de 01/2000 a 12/2002.

Uso de antibióticos	SETOR							
	UTI (10)		INTER (11)		BE (09)		TOTAL (30)	
	N	%	N	%	N	%	N	%
SIM	5	50,00	02	18,18	7	77,77	14	46,66
NÃO	5	50,00	09	81,82	2	22,23	16	53,34

A incidência de infecções por *S. aureus* nos neonatos mantidos no BAR do HC-UFU no período investigado foi de 3,62% correspondendo a 159 casos, (tabela 8), sendo nove casos (5,66%) de estafilococcias associadas ao fenótipo MRSA e 150 (94,34%) ao MSSA (tabela 9)

Tabela 8: Incidência anual de infecções estafilococcicas no BAR do HC-UFU, no período de Janeiro/2000 –dezembro/2002.

Ano	Internações ¹	Casos ²	
	N	N	%
2000	1390	41	2,95
2001	1551	68	4,38
2002	1449	50	3,45
Total	4390	159	3,62

¹Número de neonatos internados na unidade durante o ano, ²Número de infecções por *S.aureus*.

As formas clínicas de estafilocóccias foram subgrupadas em infecções invasivas; incluindo os casos diagnosticados como sepse, e não invasivas, englobando as demais infecções, com predomínio de conjuntivite e infecção cutânea, correspondendo a 31,44% (50/159) e 68,56% (109/159), respectivamente (tabela 9).

Tabela 9: Incidência de infecções estafilocóccicas por MRSA e MSSA em neonatos internados no BAR do HC-UFU no período do primeiro semestre/2000 ao segundo semestre /2002.

Semestre/ Ano	Total de estafilocóccicas		Infecção							
			MRSA		MSSA		Invasiva		Não invasiva	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
1º/2000	14	1,94	2	14,28	12	85,72	6	42,85	8	57,15
2º/2000	27	4,05	6	22,22	21	77,78	9	33,33	18	66,67
1º/2001	35	4,39	-	-	35	100,00	4	11,42	31	88,58
2º/2001	33	4,37	1	3,03	32	96,97	8	24,24	25	75,76
1º/2002	32	4,25	-	-	32	100,00	15	46,87	17	53,13
2º/2002	18	2,59	-	-	18	100,00	8	44,44	10	55,56
Total	159	3,62	9	5,66	150	94,34	50	31,44	109	68,56

A análise do espectro de resistência aos antimicrobianos dos isolados de MRSA (36) e MSSA (73) pela técnica de difusão em gel evidenciou que a resistência à dois ou três antimicrobianos foi mais observada entre as amostras de MRSA (77,77%), do que de MSSA (8,22%) (tabela 10).

Tabela 10: Avaliação da multiresistência das amostras de MRSA e MSSA pela técnica de difusão em gel frente a vários antimicrobianos.

	MRSA (36)		MSSA (73)	
	N	%	N	%
≥ 3 antimicrobianos	28	77,77	6	8,22
≤ 3 antimicrobianos	8	22,23	67	91,78

Na tabela 11, verifica-se que as freqüências mais altas de resistência, independente do fenótipo, foram em relação à clindamicina, rifampicina e cefalotina. Entre os resultados que devem ser salientados estão que entre as amostras de MRSA verificou-se uma certa suscetibilidade à ciprofloxacina, ceftriaxona e a tetraciclina

Tabela 11: Avaliação da resistência das amostras de MRSA e MSSA pela técnica de difusão em gel frente à vários antimicrobianos.

ANTIMICROBIANOS	MRSA (36)		MSSA (73)	
	N	%	N	%
Ciprofloxacina	01	2,77	-	-
Clindamicina	29	80,55	10	13,69
Cefalotina	23	63,88	07	9,58
Ceftriaxona	07	19,44	03	4,10
Cloranfenicol	18	50,00	04	5,47
Gentamicina	09	25,00	02	2,73
Rifampicina	26	72,22	08	10,95
Tetraciclina	02	5,54	-	-

A epidemiologia de infecções hospitalares por *S.aureus* suscetíveis e resistentes a oxacilina apresenta vários aspectos distintos. A infecção por MRSA é mais freqüente em pacientes adultos, particularmente naqueles com os seguintes fatores de risco: hospitalização prolongada, uso de antibióticos, presença de dispositivos invasivos, cirurgias e pacientes submetidos à hemodiálise ou diálise peritoneal (TALON et al., 2002). A presença do MSSA, sobretudo em neonatos apresentando fatores predisponentes como: prematuridade, baixo peso, síndrome respiratória, imunodeficiências, uso de antimicrobianos, hospitalização prolongada, procedimentos invasivos e cirúrgicos (ESCOBAR et al., 2000, LOUREIRO et al., 2000).

A exemplo do que ocorre com a maioria dos microrganismos de importância hospitalar, os mesmos fatores de risco para infecção estão também associados à colonização. Esta última representa um dos principais riscos para o adoecimento posterior (KLUYTMANS, VanBELKUM, VERBRUGH, 1997). Os dados de hospitais norte-americanos apontam que cerca de 10-60% dos pacientes colonizados tornam-se infectados (FARRINGTON et al., 1999), mas esta proporção é questionada no Reino

Unido, onde as evidências são de que a relação é bem menor, provavelmente inferior a 10% (BARRET et al., 1999).

Os dados obtidos no BAR do HC-UFG coincidem com as observações realizadas em hospitais na Inglaterra, Escócia e País de Gales (BARRET et al., 1999) com uma taxa de adoecimento inferior a 5% nos neonatos colonizados. No tocante ao MRSA apenas nove (5,66%) pacientes infectados por este microrganismo foram detectados apesar de 42,85% dos neonatos investigados apresentarem-se colonizados. No entanto, independente desta controvérsia a preocupação com o paciente colonizado é a mesma do que com aquele infectado em termos de práticas de prevenção e controle do ponto de vista epidemiológico (COOKSON, 1997).

Embora o controle do MRSA na população hospitalar possa reduzir o risco de infecções hospitalares por este microrganismo. Muitos pesquisadores sugerem que este controle é improdutivo nos hospitais onde a sua endemicidade é muito alta devido à impossibilidade prática de implantação de medidas de controle, bem como a dificuldade de documentar de forma clara os benefícios deste controle (BARRET et al., 1998).

Neste estudo a frequência de neonatos colonizados por *Staphylococcus aureus* foi alta (48,95%), sendo o MSSA (57,15%) mais freqüente do que o MRSA (42,85%). Uma proporção semelhante de neonatos colonizados por MRSA (50,00%) foi descrita por Loureiro et al. (2000) em um BAR, de um hospital público do Rio de Janeiro. Adock et al. (1998) nos EUA, encontrou uma taxa de resistência inferior (27,00%) à encontrada em nosso estudo.

Apesar da origem do microrganismo poder ser a mãe, as evidências são de que os profissionais de saúde são os responsáveis pela disseminação dos mesmos através da transmissão pelas mãos destes profissionais de paciente para paciente (COUTO, 2000, SAFDAR, MAKI 2002). A prevalência do fenótipo MRSA na população em geral é baixa, variando entre 1-3%, sendo mais alta entre os profissionais de saúde, podendo também comportar como reservatórios assintomáticos e contaminar o ambiente hospitalar ou diretamente o paciente (MITSUDA et al., 1999).

A colonização por *S.aureus* pode ser intermitente ou persistente, sendo influenciada tanto por fatores do hospedeiro ou do microrganismo. Em adultos, as membranas de mucosas das narinas anteriores são os principais sítios de colonização, seguido pela axila e ocasionalmente o trato gastro intestinal. Em neonatos o cordão umbilical, o perineo e a virilha são os sítios mais comuns de colonização, sendo a colonização destes sítios muco-cutâneos considerado um importante fator de risco para aquisição de infecções (COUTO et al., 2000). No presente estudo o intestino foi o sítio que apresentou maior taxa de colonização (34,87%).

Como mencionado anteriormente os fatores de risco para colonização e infecção são usualmente os mesmos (JOLLEY, 1993), incluindo: prematuridade, imunodeficiências, hospitalização prolongada, uso de antimicrobianos, procedimentos invasivos e cirúrgicos (LOUREIRO et al., 2000). Nos BARs e UTIs existentes no Brasil merece ainda ser considerada a existência freqüente de uma lotação excessiva, facilitando infecções cruzadas (MARIA, 1999). Como a internação de neonatos nestas unidades é usualmente mais prolongada maior é a probabilidade de

colonização por microrganismos como o MRSA (ANDERSEN, 2001; NAGATA, BRITO, MATSUO, 2002). Nas crianças avaliadas na nossa investigação o tempo de hospitalização foi a única variável que apresentou significância quando da comparação dos neonatos colonizados por *S.aureus* (MRSA/MSSA) com os não colonizados.

A presença de bactérias resistentes em UTIs é mais significativa (HANBERGER et al., 2001) do que nas demais unidades hospitalares em função da maior concentração de fatores de risco e a densidade de uso de antibióticos ser maior (MacGOWAN, TENOVER 1997; MONNET 1998). Entre as variáveis analisadas, o baixo peso (<1500g) e uso de antimicrobianos foram mais observadas no grupo com MRSA quando comparados com o grupo suscetível.

As freqüências de estafilococcias por MRSA variam consideravelmente nos hospitais em diferentes regiões geográficas (OLIVEIRA, TOMASZ, LENCASTRE, 2002). Nos estados Unidos a taxa de infecção por este microrganismo pela casuística NNIS é de 54,5% (WEINSTEIN, 2001). Na Europa as taxas de resistência diferem entre os países, variando de 80% na Itália e França, 77% na Grécia e freqüências abaixo de 10% em hospitais na Dinamarca, Suécia e Noruega (HANBERGER et al., 2001). Em um estudo realizado pelo programa SENTRY foi encontrada uma taxa de 33,7% de resistência entre as amostras de hospitais brasileiros (DIEKEMA et al., 2001). No Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia em estudo realizado por Leal (1999) foi relatada uma taxa de 50%.

O *S.aureus* é o segundo microrganismo na etiologia de infecções em UTINs (STOOL et al., 1996), sendo estas mais associadas a amostras de MSSA (SIEGEL, 1998), e representadas predominantemente por casos de sepse, pneumonia, infecções cutâneas e conjuntivite (GAYNES et al., 1996). A taxa relatada em estudo realizado no Rio de Janeiro (5,0%) por Loureiro et al. (2002) é semelhante a observada no nosso estudo (2,18%), e bem inferior a verificada no México (23,8%) por Tapia-Rombo et al. (2001). A maioria das infecções observadas (70,14%) foram classificadas como não invasivas (cutâneas, conjuntivites), sendo que entre os casos de sepse (29,36%) o fenótipo MRSA contribuiu com apenas 10%.

O uso prévio de antibióticos é considerado um fator de risco para colonização por bactérias multiresistentes (CALIL et al., 2001). A sua utilização em BARs é significativa, sendo agravada pela dificuldade no diagnóstico clínico de sepse e alta mortalidade (MULLET, COOK, GALLAGHER, 1998; NAGATA et al., 2002). Aproximadamente 75% dos neonatos em UTIN recebem antibióticos até o terceiro dia de vida, sendo a frequência ainda maior naqueles de baixo peso (FONSECA, EHRENKRANZ, BALTIMORE, 1999).

Nagata et al. (2002), em Londrina- PR , verificaram que 46,00% dos neonatos estavam em uso de antibióticos, proporção maior de que aquelas exibidas em nosso trabalho (34,24%), ressaltando que entre os neonatos colonizados pelo MRSA 46,66% estavam em uso destes medicamentos contra apenas 20,00% no grupo colonizado por MSSA ($p<0,05$). A relação entre colonização tanto por *S.aureus* tanto pelo fenótipo MRSA e uso de antimicrobianos foi mais evidente nos neonatos internados no BE do BAR

do HC-UFU, sugerindo ser esta a porta de entrada destes microrganismos na unidade.

Na participação do MRSA em infecções hospitalares é preciso levar em consideração a multiresistência deste fenótipo resultando numa limitação quando da escolha da terapêutica (WEINSTEIN, 2001). Os isolados de MRSA no nosso trabalho apresentaram multiresistência em cerca de 80,00% destes.

O controle de MRSA é motivo de preocupação na maioria dos hospitais do hemisfério norte (SAFDAR, MAKI, 2002), sendo de difícil solução em inúmeras instituições de saúde em função de sua alta frequência e custos financeiros (TALON et al., 2002)

No controle de infecção/colonização por bactérias multiresistentes em unidades de neonatologia deve-se considerar a associação entre uma política de restrição do uso de antibióticos juntamente com implantação de medidas educacionais (CALIL et al., 2001), sendo importante assinalar que os métodos mais efetivos na redução de infecções nem sempre são os mais caros, como é o caso da lavagem de mãos, considerado o procedimento mais importante na prevenção das infecções hospitalares (NAGATA et al., 2002).

Os resultados obtidos refletem de um lado a política de restrição do uso de antimicrobianos, medidas educacionais e práticas de prevenção e controle com um rigor na lavagem de mãos adotado na Unidade, resultando na baixa frequência de neonatos infectados por MRSA, mas por outro lado; reflete a complexidade da epidemiologia hospitalar com cerca da metade das crianças apresentando-se colonizados por *S.aureus*.

6-CONCLUSÕES

- A taxa de incidência de infecções hospitalares por *S.aureus* foi de 3,62%, sendo o MSSA o microrganismo mais freqüentemente isolado (94,34%) .
- A taxa de prevalência de colonização por *S. aureus* foi de 48,95%, com o MSSA correspondendo a 57,15% dos isolados dos recém-nascidos colonizados.
- O fenótipo MRSA foi mais freqüente no intestino e o MSSA na narina.
- O tempo de hospitalização foi o único fator de risco significativo entre os colonizados versus não colonizados por *S.aureus* e os fatores de risco de colonização por MRSA foram o uso de antibióticos e o baixo peso.
- O BE foi o setor do BAR com as maiores taxas de colonização por *S. aureus* (65,00%) e MRSA (45%), e de uso de antibiótico (77,77%).

7-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADOCK, P. M. et al. Methicillin - resistant *Staphylococcus aureus* in two child care centers. **Journal of Infectious Diseases**, v. 178, p. 577-580, 1998.

ANDERSEN, B. M. Spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a neonatal intensive unit associated with understaffing, overcrowding and mixing of patients. **Journal of Hospital Infection**, v.50, p.18-24, 2001.

AYLIFFE, G. A. J.et.al. Revised guidelines for the control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in hospitals. **Journal of Hospital Infection**, v. 39, p. 253-290, 1998.

BARRET, S. P.; MUMMERY, R. V.; CHATTOPADHYAY, B. Trying to control MRSA causes more problems than it solves. **Journal of Hospital Infection**, v. 39, p. 85-93, 1998.

BARRET, S. P.; MUMMERY, R. V.; CHATTOPADHYAY, B. Controlling MRSA. **Journal of Hospital Infection**, v. 41, p.252-254, 1999.

BOYCE, J. M.; WHITE, R. L.; SPRUILL, E. Y. Impact of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on the incidence of nosocomial staphylococcal infections. **Journal infect disease**, v. 148, p. 763, 1983.

BOYCE, J. M. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Hospitals and Long-Term Care Facilities: Microbiology, Epidemiology, and preventive Measures. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v. 13, p. 725-737, 1992.

BRUMFITT, W.; HAMILTON-MILLER, J. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. **The New England Journal of Medicine**, v.320, p.1188-1196, 1989.

CALIL, R. et al. Reduction in colonization and nosocomial infection by multiresistant bacteria in a neonatal unit after institution of educational measures and restriction in the use of cephalosporines. **American Journal Infect Control**, v. 29, p. 133-138, 2001.

COOKSON, B. Is it time to stop searching for MRSA? **British Medical Journal**, v. 314, p. 664-665, 1997.

COUTO, R. C. et al. The effect of post-discharge surveillance and control strategies on the course of a *Staphylococcus aureus* outbreak in a newborn

Nursery. **The Brazilian Journal of Infectious diseases**, v.4, p.296-300, 2000.

DAVIES, E. A. et al. An outbreak of infection with a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a special care baby unit: Value of topical mupirocin and of traditional methods of infection control. **Journal of Hospital Infection**, v.10, p.187-197, 1987.

DEAN, A. G et al. Epi-Info, versão 5.0: **A word processing, database and statistics program for Epidemiology on microcomputers**. Stone Mountain G.A.: USD, Inc: 2000.

DIEKEMA, D. J. et al. Survey of infections Due to *Staphylococcus* Species: Frequency of occurrence and Antimicrobial Susceptibility of isolates Collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific Region for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999. **CID**, Supplem.2, 2001.

DREWS, M. B. et al. Low birth weight and nosocomial infection in a neonatal intensive care unit. **Journal of Hospital Infection**, v. 30, p.65-71, 1995.

EMORI, T. G. National Nosocomial Infections Surveillance System (NNIS): Description of Surveillance methods. **American Journal of Infection Control**, v.19, p.19-35, 1991.

- EMMERSON, M. Nosomial Staphylococcal outbreaks. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, supl.93, p.47-54, 1994.
- ESCOBAR, G. J. et al. Neonatal sepsis work ups in Infants ≥ 2000 grams at birth: a population-based study. **Pediatrics**, v. 106, p.256-265, 2000.
- FARRINGTON, M. et al. Controlling MRSA. **Journal of Hospital Infection**, v. 41, p.251-254, 1999.
- FONSECA, S. N. S.; EHRENKRANZ, R. A.; BALTIMORE, R. S. Epidemiology of antibiotic use in a neonatal intensive care unit. **Infection Control Hospital Epidemiology**, v. 15, p. 156-162, 1994.
- GAYNES, R. P. et al. Nosocomial infections among neonates in high-risk nurseries in the United States. **Pediatrics**, v. 98, p.357-361, 1996.
- GARNER, J. S. et al. CDC Definitions for nosocomial infections, 1988. **American Journal of Infection Control**, v. 16, p.128-140, 1988.
- GOLDMAN, D. A.; PLATT, R.; HOPKINS, C. Control of hospital acquired infections. In: GORBACH, S.L.; BARLETT, J.G. & BLAVKLOW (Eds). **Infectious diseases**. CO Boston: Saunders, cap. 4, p.378-390.

GOLDMAN, D. A.; SANDS, K. E. F. Epidemiology of *Staphylococcus* and Group A *Streptococci*. In: BENNETT, J.V.; BRACHMAN, P.S. (Eds). **Hospital Infections**. 4^a ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1998, p.621-636.

GONÇALVES, A. J. R. et al. Infecções estafilocóccicas sistêmicas. **Arquivos Brasileiros de Medicina**. v.59, p.217-226, 1985.

JOLLEY, A. E. The value of surveillance cultures on neonatal intensive care units. **Journal of Hospital Infection**, v.25, p.153-159, 1993.

KAWAGOE, J. Y. et al. Risk factors for nosocomial infections in critically ill newborns: A 5-year prospective cohort study. **American Journal of Infect Control**, v.29, p. 109-115, 2001.

KHAN, E. A. et al. *Serratia marcescens* pneumonia, empyema and pneumatocele in a preterm neonate. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v.16, n°10, p.1003-1004, 1997.

KLUYTMANS, J.; VANBELKUM, A.; VERBRUGH, H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: Epidemiology, Underlying mechanisms, and associated risks. **Clinical Microbiologic Reviews**, v. 10, p.505-520, 1997.

KIOOS, W. E.; BANNERMAN, T. L. *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In: MURRAY, P. R. et al (Eds). **Manual of Clinical Microbiology**, 6^o ed.

Washington, D.C.: American Society for Microbiology Press, 1995, p. 282-298.

KONKEWICZ, L.R. **Definição de Infecção Hospitalar em Neonatologia.**
In: Coordenação: Rosana Richtman. São Paulo: Associação Paulista de Estudos e Controle de Infecção Hospitalar, 2002, cap.1, p.1-5.

KORN, G. P. et al. High frequency of colonization and absence of identifiable risk factors for Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Intensive Care Units in Brazil. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v.5, n.1, p.1-7, 2001.

HANBERGER, A., et al Surveillance of antibiotic resistance in European ICUs. **Journal of Hospital Infect**, v. 48, p. 161-176, 2001.

HRYNIEWICZ, W; ZAREBA, T; JELJAAZEWICS, J. Patterns of antibiotic resistance in bacterial strains isolated in Poland. **APUA Newsletter**, v. 11, p. 1-3, 1993.

LEAL, G. S. **Análise das estafilococcias causadas por *Staphylococcus aureus* Resistentes ou Suscetível à oxacilina Isoladas do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia.** 97 f. Dissertação (Mestrado em Imunologia e Parasitologia Aplicadas). Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia da Universidade Federal de Uberlândia, MG.

LOUREIRO, M. M. et al. Molecular Epidemiology of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from newborns in a Hospital in Rio de Janeiro, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.95, p.777-782, 2000.

LOUREIRO, M. M., et al. Study of multi-drug resistant microorganisms isolated from blood cultures of hospitalized newborns in Rio de Janeiro City, Brazil. **Brazilian Journal Microbiology**, v. 33, p. 73-78, 2002.

LYON, B.R.; SKURRAY, R. Antimicrobial resistance on *Staphylococcus aureus*: genetic basis. **Microbiological Reviews**, v.51, p.88-134, 1987.

MARIA, N. Um alerta às autoridades. **Jornal do Conselho Regional de Medicina do Estado do Rio de Janeiro**. Rio de Janeiro, novembro/1999. p.6.

MACGOWAN, J. E.; TENOVER, F. C. Control of antimicrobial resistance in the health care system. **Infectious Diseases Clinics North American**, v. 11, p. 297-311, 1997.

MITSUDA, T. et al. The influence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) carriers in a nursery and transmission of MRSA to their households. **Journal of Hospital Infection**, v.42, p. 45-51, 1999.

MONNET, D. L. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and Its relationships to antimicrobial use: possible implication for control. **Infection Control Hospital Epidemiology**, v. 19, p. 552-558, 1998.

MULLET, M. D.; COOK, E. F.; GALLAGHER, R. Nosocomial sepsis in the neonatal intensive care unit. **Journal Perinatology**, v. 18, p. 112-115, 1998.

MURRAY, P.R. *Staphylococcus*. In: MURRAY, P.R. et al. **Microbiologia Médica**. 20° ed. Rio de Janeiro: Guanabara Coogan, 1998, p. 146-150.

NAGATA, E.; BRITO, A. S. J., MATSUO, T. Nosocomial infections in a neonatal intensive care unit: incidence and risk factors. **American Journal Infect Control**, v. 30, p. 26-31, 2002.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests**, Approved Standard M2. A5 NCCLS, Villanova, P.A, v.17, n°. 01, 1997a.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**. Approved Standard M2. A5 NCCLS, Villanova, P.A, v.17, n°. 02, 1997b.

OLIVEIRA, D. C.; TOMASZ, A.; LENCASTRE, H. Secrets of success of a human pathogen: molecular evolution of pandemic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **The Lancet**, v. 2, p. 180-189, 2002.

PANLILIO, A. L. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in U. S. hospitals, 1975-1991. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v. 13, p. 582-586, 1992.

PEACOCK, J.E.; MARIK, F.J.; WENZEL, R.P. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: introduction and spread within a hospital. **Annals of Internal Medicine**, v.93, p. 526-532, 1980.

PONCE DE LEON, S. The needs of developing countries and resources required. **Journal of Hospital Infection**, v.18, p.376-381, 1991.

SAFDAR, N.; MAKI, D. G. The commonality of risk factors for nosocomial colonization and infection with antimicrobial-resistant *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus*, Gram-negative Bacilli, *Clostridium difficile* and *Candida*. **Annals Internal Medicine**, v.136, p. 834-844, 2002.

SINGH-NAZ, N. Risk factors for nosocomial infection in critically ill children: a prospective cohort study. **Pediatric Critical Care**, v.24, n.5, p. 875-878, 1996.

SHOPSIN, B. et al. Prevalence of Methicillin-Resistant and Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* in the community. **The Journal of Infectious Diseases**, v.182, p.359-362, 2000.

STARLING, C.E.; PINHEIRO, S. M. C.; COUTO, B. R. M. G. **Vigilância Epidemiológica das Infecções Hospitalares na Prática Diária (Ensaio)**, p. 443-469. Cuatiara, Belo Horizonte, 1993.

SIEGEL, J. D. The newborn nursery. In: BENNETT J.V., BRACHMAN P.S. eds. **Hospital Infections**. 4^a ed., Philadelphia: Lippincott-Raven, 1998, p. 403-420.

STILLMAN R. I.; WENZEL, R. P.; DONOWITZ, L.G. Emergence of coagulase negative staphylococci as major nosocomial bloodstream pathogens. **Infect Control**, v. 8, p. 108-112, 1987.

STOOL, B. J. et al. Late-onset sepsis in very low birth weight neonates: a report from the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. **Journal Pediatrics**, v. 129, p. 63-71, 1996.

TAPIA-ROMBO, C. A. et al. Risk factors for intrahospital infections in Newborns. **Archives Medical Research**, v. 32, p. 304-311, 2001.

TALON, D., et al. The impact of resistance to methicillin in *Staphylococcus aureus* bacteremia on mortality. **European Journal Internal Medicine**, v. 13, p. 31-36, 2002.

THOMPSON, R. L.; CABEZUDO, I.; WENZEL, R. P. Epidemiology of nosocomial infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Annals of Internal Medicine**, v. 97, p. 309-317, 1982.

VINCENT, J. L. et al. The prevalence of nosomial infection in intensive care Units in Europe. **JAMA**, v.274, p. 639-644, 1995.

WAGGONER-FOUNTAIN, L. A.; DONOWITZ, L. G. Infection in the Newborn. In: WENZEL, R. P. (Eds). **Prevention and Control of Nosomial Infections**. 3^o ed. Virginia. Williams & Wilkins 1995, p.1019-1031.

WEINSTEIN, R. A. Controlling Antimicrobial Resistance in Hospitals: Infection Control and Use of Antibiotics. **Emerging Infectious Diseases**, v.7, p. 188-192, 2001.

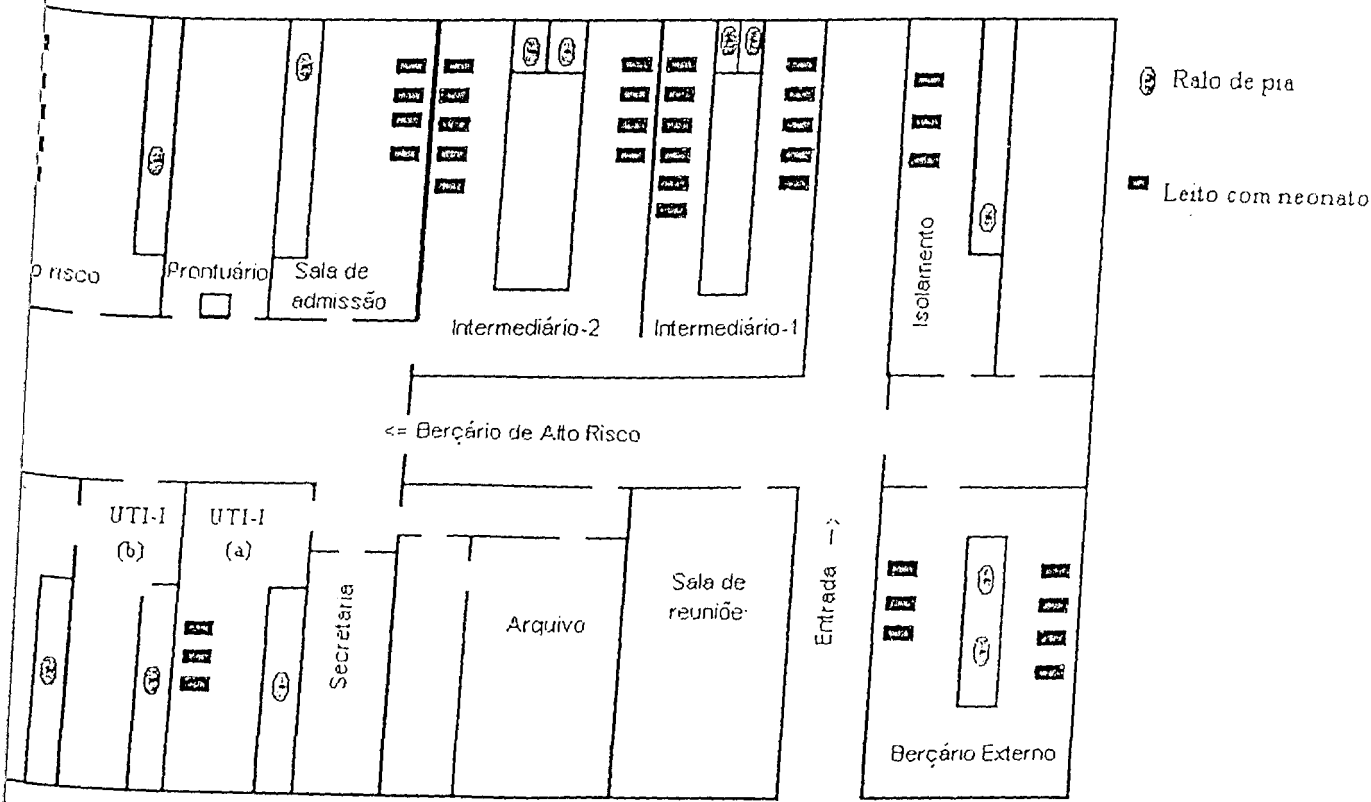
WEY, S. B. et al. Distribution and analysis of 8.268 nosocomial infections at the Hospital São Paulo: 1985 to 1989. **Revista do Hospital de São Paulo**, v. 01, p. 169-174, 1990.

ANEXO 1

Descrição do Espaço físico do BAR do HC-UFU.

Unidades	Características dos Pacientes	Nº de Leitos
UTI	a) Neonatos de outros hospitais de Uberlândia	3 leitos
	b) Neonatos do HC-UFU	3 leitos
Alto Risco	Neonatos que requerem maiores cuidados	5 leitos
Intermediário I	Neonatos em recuperação	11 leitos
Intermediário II	Neonatos em recuperação	9 leitos
Isolamento	Neonatos com doença infecto-contagiosa	3 leitos
Admissão	Neonatos que recebem os primeiros cuidados após o parto	4 leitos
Berçário Externo	Neonatos que vieram de cidades próximas de Uberlândia	7 leitos

Diagrama do Bar do HC-UFU



ANEXO 2

Estudo de *Staphylococcus aureus* no BAR do HC-UFU.

Data:

Nº da ficha:

Nome do paciente:

Prontuário:

Alta:

idade:

Coleta:

Sexo: () M () F

IG. . .

Enfermaria:

Leito:

Transferido:

() Sim () Não

Doença de base: _____

Diagnóstico clínico: _____

PESO:

Tempo de Internação () >7 dias () < 7 dias

Antimicrobianos: () Sim () Não

Início: Quais?

1) _____

2) _____

3) _____

4) _____

5) _____

- "Devices Invasivos": () Sim () Não

Espécimes Clínicos: () Narinas () Reto () Boca
(colonização)Espécimes Clínicos:
(infecção)

Obs: _____

ANEXO 3

Universidade Federal de Uberlândia

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Av. João Naves de Ávila, n.º 2160 - Bloco J - Campus Santa Mônica - Uberlândia-MG -
CEP -38400-089 ☎ (034) 239 4131 - 235-2078

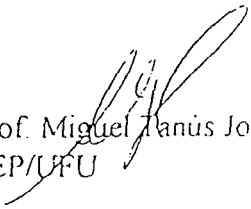
Uberlândia, 30 de novembro de 2001.

Processo nº 080/2001

PROJETO DE PESQUISA: "Colonização e Infecção por MSSA e MRSA no Berçário de Alto Risco do Hospital de Clínicas da UFU".

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Dr. Paulo Pinto Gontijo Filho

O projeto acima identificado, foi aprovado para ser realizado conforme os autores se comprometem.


Prof. Miguel Tanús Jorge
CEP/UFU

ANEXO IV

INFECTION AND COLONIZATION BY *Staphylococcus aureus* IN THE HIGH RISK NURSERY FROM A TEACHING HOSPITAL IN BRAZIL.

Helisângela de Almeida Silva , Vânia Olivetti Steffen Abdallah , Cláudia Lúcia Carneiro , Paulo P. Gontijo Filho

SUMMARY

Neonates are more susceptible to nosocomial infections due to immunological immaturity, prolonged hospital stay and use of invasive procedures. The objectives of this study were to evaluate infections incidence and colonization prevalence by MRSA (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) e MSSA (Methilin-susceptible *Staphylococcus aureus*), as well as colonization risk factors. Staphylococcal infections were observed by analyzing medical records in HICS (Hospital Infection Control Service) and the HRN (High Risk Nursery). Additionally four inquiries of punctual colonization prevalence were accomplished for *S. aureus*, from january/2000 to december/2002. Clinical specimens of nostril, mouth and anus were cultivated in mannitol-salt agar plates and the identification was accomplished through classic methods. The frequency of neonates colonized by *S. aureus* was 48.95%. MSSA was more prevalent (57.15%) than MRSA (42.85%). Risk factors related to acquisition of MRSA were: low weight and antibiotic use. In relation to colonization by *S. aureus*, hospital stay was the only significant variable observed. The incidence of infections by *S. aureus* in the last three years was of 2.18% (159 cases). Nine of them (5.66%) were associated to MRSA and 150 (94.34%) to MSSA. Staphylococcal infections were considered as invasive (sepsis) and non-invasive (conjunctivitis, cutaneous), corresponding to 31.44% and 68.56%, respectively. MRSA phenotype presence in infection was low when compared with methicillin-susceptible samples although *S.aureus*, MRSA and MSSA colonization rates had been high.

Key Word: *Staphylococcus aureus*, neonates, infection, colonization and risk factors.

Introduction

Nosocomial infections result in considerable morbidity and mortality among neonates, especially those in NICU [1-3].

The most frequently found microorganisms involve in these infections are Gram positive *Staphylococcus aureus* is considered the most important agent of endemic infections as well outbreaks, followed by *S. epidermidis* associated with central venous catheter [4,5].

Although susceptible-methicillin *S. aureus* continues to represent the most frequent pathogen in hospitalized neonates, the phenotype MRSA is of great importance, being associated with a lot of outbreaks [6,7].

Cord, the perineum and the groin are the first sites to be colonized by *S. aureus* in neonates, being the colonization of these mucocutaneous sites is an important risk factor for *S. aureus* infections [8]. However the neonate can be colonized through the contact with the mother, many population-based studies provide good evidence that nursery staff usually spreads this microorganism and the hands are the most important routes of transmission [8,9].

Previous colonization is the most important risk factor for staphylococcal infections [10], being followed by premature birth, low weight, immunodeficiency, prolonged hospital stay, antimicrobial use, invasive methods and surgical interventions [7,11,12].

The objectives of this study were to evaluate the rates of infections incidence and colonization prevalence by MRSA and MSSA, as well as colonization risk factors by this microorganism in colonized neonates, from january/2000 to december/2002.

PATIENTS AND METHODS

Hospital

This study was accomplished at the High Risk Nursery (HRH) of the Clinics Hospital, Federal University of Uberlândia (HC-UFU), with approximately 45 beds, that offer attendance at tertiary level. This study was approved by the Commission of Ethics of this University .

Design of Study

S. aureus infections data were obtained by analyzing neonates medical records in Hospital Infection Control Service (HICS) and the HRN.

It was carried out four prevalence inquiries (25/10/2000, 11/09/2001, 05/02/2002 and 23/08/2002) *S. aureus* colonization. It was collected clinical specimens of all neonates in the unit and filled out an individual record with the demographic data, clinical, and intrinsic and extrinsic risk factors.

Microbiologic techniques

Clinical specimens were collected by swabs, from the anus, mouth and nostril. The samples were taken to the laboratory in tubes containing " Trypticase Soy Broth" (TSB). They were cultivated in mannitol-salt agar plates and incubated at 37⁰ C during 24 to 48 hours. The colonies were characterized as *Staphylococcus* genus through the Gram's staining and by catalase test. *Staphylococcus aureus* identification was performed by mannitol-salt agar fermentation. The cultures were kept in stock agar tubes containing glycerol 20% in freezer (-20⁰ C). The sample of *S. aureus* ATCC 25923 were used as control. MRSA samples were characterized through cultivation in screening agar containing 4% of NaCl and 6µg of oxacillin [13].

Statistical analysis: The epidemiological data were analyzed by χ^2 , *t* Student and exact Fisher test by using Epi-Info 5.0 program [14], considering $p < 0.05$ as significant.

RESULTS

During the inquiries, 143 neonates were analyzed. The frequency of colonization by *S. aureus* was of 48.95% (70/143). MSSA was more prevalent than MRSA, with colonization rates of 57.15% and 42.85%, respectively. The presence of MRSA was more frequent just in the second inquiry (78.94%) (Table 1).

Risk factors associated to colonization by MRSA and MSSA, as well as among children colonized by both when compared with children without *S. aureus* (control group) colonization are in the tables 2 and 3.

Hospital stay was the only variable associated to colonization by *S. aureus* ($p < 0.05$) (Table 2). It was verified that weight inferior to 1500 grams and the antibiotics use were more frequent ($p < 0.05$) in group with MRSA than in the neonates colonized by MSSA (Table 3).

The incidence of *S. aureus* infections was of 2.18%, corresponding to 159 cases, with nine cases (5.66%) associated to the MRSA phenotype and 150 (94.34%) to MSSA (Table 4).

The clinical forms of staphylococcal infections were divided in invasive infections (31.44%), including cases of sepsis, and non-invasive (68.56%), as conjunctivitis and cutaneous infection, which were the most prevalent forms (Table 4).

DISCUSSION

The epidemiology of nosocomial infections by methicillin-susceptible and methicillin-resistant *S. aureus* presents several different aspects. Infection by MRSA is more commonly associated with adult patients, particularly in those with the following risk factors: prolonged hospital stay, antimicrobial use, invasive procedures, surgeries and patients submitted to the hemodialysis or dialysis peritoneal [15]. MSSA infections are

more prevalent in neonates, especially those with the following risk factors: premature birth, low weight, breathing syndrome, immunodeficiency, antimicrobial use, prolonged hospital stay, invasive methods and surgical interventions [12].

Risk factors associated with infections are the same to those related to colonization. The latter is considered the most important risk factor for illness [10].

Studies carried out in USA concerning to infection by *S. aureus* show that it causes clinically-significant infections in 10-60% of hospital patients who acquire carriage [16]. On the other hand, studies performed in United Kingdom demonstrated infection rate far less than 60%, and probably less than the lower level of 10% [17,18].

Our results are similar to those verified in UK, less than 5% of infection in colonized patients. In relation to MRSA only nine (6.25%) infected patients were detected, despite of 42.85% of analyzed neonates were colonized. Adock [19] in USA described similar results. Loureiro et al [11] verified 50% of neonates colonized by MRSA in a study realized in a public hospital from Rio de Janeiro.

Brazilians HRN and NICUs are always crowded what contributes to cross infections [20]. Neonates hospital stay is usually prolonged facilitating *S. aureus* colonization. This was an important observation of our study because hospital stay was the only significant variable related to colonization by *S. aureus* [11,21].

The presence of resistant bacteria in ICU is more significant [22] than in other hospital units due to more risk factors and antibiotics use [23,24]. Such fact was here, where low weight and antibiotic use were the most important risk factors observed for colonization by MRSA.

S.aureus is the second etiology microorganism of infections in NICUs [25], being more associated to methicillin-susceptible samples [26]. Such infections are predominantly of sepsis, pneumonia, cutaneous infection and conjunctivitis [4]. Recent study

accomplished in Rio de Janeiro by Loureiro et al [27] verified 5.6% of infection what was similar to our results. On the other hand, Tapia-Rombo et al [2] observed 23.8% of infection in Mexico.

Most of the observed infections in this study (68.56%) were classified as non invasive (cutaneous, conjunctivitis), within the cases of sepsis (31.44%) the phenotype MRSA contributed with only 10%. Loureiro et al. [27] found that 93.3% of the cases of sepsis by *S.aureus* were caused by MRSA.

The use of antibiotics in HRNs is significant, being stimulated by the difficulty in the clinical diagnosis of sepsis and high mortality in these unit [22,28]. Approximately 75% of the neonates in NICU receive antibiotics until the third day of life, being more frequent in those of low weight [29].

Nagata et al [21] in Londrina - PR, verified that 46% of the neonates were under antibiotics use, what was superior to those observed in our study (34.24%). Of the neonates colonized by MRSA, 46,66% were under use of these medicine and just 20.00% of MSSA carriage neonates used them.

In infection/colonization control in neonatology units should be considered a restriction politics of antibiotics use with implantation of education measures [29].

It is important to affirm that the most effective methods in reduction of infections are not always the most expensive ones, as washing hands, considered the most important procedure in the prevention the nosocomial infections [21].

The results reflects on a side the antibiotics use politics restriction, education measures, prevention practices and control with a rigidity in the washing hands adopted in the Unit, resulting in the low frequency of neonates infected by MRSA, but on the other hand the complexity of the hospital epidemiology, being about half of the children colonized by *S.aureus*.

REFERENCES

1. Kawagoe J.Y., Segre C.A.M., Pereira C.R. et al. Risk factors for nosocomial infections in critically ill newborns: A 5-year prospective cohort study. *AJIC* **2001**; 29:109-115.
2. Tapia-Rombo C.A., Ugarte-Torres R.G., Alvarez-Vásquez E.A., Salazar-Acuna A.H. Risk factors for intrahospital infections in Newborns. *Arch Med Research* **2001**; 32:304-311.
3. Waggoner-Fontain L.A., Donowitz L.G. Infection in the Newborn. In: Wenzel R.P. eds. *Prevention and Control Nosocomial Infections*. Baltimore: Williams & Wilkins, **1997**.
4. Gaynes R.P., Edwards J.R., Jarvis W.R. et al. Nosocomial infections among neonates in high-risk nurseries in the United States. *Pediatrics* **1996**; 98:357-361.
5. Drews M.B., Ludwig A.C., Leititis J.U., Daschener F.D. Low birth weight and nosocomial infection in a neonatal intensive care unit. *J Hosp Infect* **1995**; 30:65.
6. Davies E.A., Emmerson A.M., Hogg G.M., Patterson M.F., Shields M.D. An outbreak of infection with a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a special care baby unit: Value of topical mupirocin and of traditional methods of infection control. *J Hosp Infect* **1987**; 10: 187-197.
7. Corbell X., Dominguez M.A., Pujol M. et al. *Staphylococcus aureus* nasal carriage as a marker for subsequent staphylococcal infections in intensive care unit patients. *Europ J Clin Microbiol Infect Dis* **1997**; 16: 351-357.
8. Couto R.C., Pedrosa T.M.G., Tupinambás U., Rezende N.A. The effect of post-discharge surveillance and control strategies on the course of a *Staphylococcus aureus* outbreak in a newborn nursery. *Braz J Infect Dis* **2000**; 4:296-300
9. Safdar N., Maki D.G. The commonality of risk factors for nosocomial colonization and infection with antimicrobial-resistant *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus*, Gram-

- negative Bacilli, *Clostridium difficile* and *Candida*. Ann Intern Med **2002**;136: 834-844.
10. Kluytmans J., Vanbelkum A., Verbrugh H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: Epidemiology, Underlying mechanisms, and associated risks. Clin Microbiol Rev **1997**; 10:505-520.
 11. Loureiro M.M., Moraes B.A., Quadra M.R.R. et al. Molecular Epidemiology of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from newborns in a Hospital in Rio de Janeiro, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz **2000**; 95:777-782.
 12. Escobar G.J., Li D.K., Armstrong M.A. et al. Neonatal sepsis work ups in Infants \geq 2000 grams at birth: a population-based study. Pediatrics **2000**; 106:256-265.
 13. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. Seventh ed; Approved Standard. Wayne, P.A.: NCCLS, **2000**.
 14. Dean A.G., Dean J.A., Burton A.H., Dicker R.C. Epi-Info, versão 5.0: a word processing, database and statistics program for Epidemiology on microcomputers. Stone Mountain G.A.: USD, Inc: **2000**.
 15. Talon D., Woronoff-Lemsi M.C., Limat S. Bertrond X. et al. The impact of resistance to methicillin in *Staphylococcus aureus* bacteremia on mortality. Europ J. Intern Med **2002**; 13:31-36.
 16. Farrington M., Redpath C., Trindle C., Brown N. Controlling MRSA. J Hospit Infect **1999**;41: 251-252.
 17. Barret S.P., Mummery R.V., Chattopadhyay B. Controlling MRSA. J Hospit Infect **1999**;41: 252-254.
 18. Barret S.P., Mummery R.V., Chattopadhyay B. Trying to control MRSA causes more problems than it solves. J Hospit Infect **1998**;39:885-93.

19. Adock P.M., Pastor P., Medly F. et al. Methicillin - resistant *Staphylococcus aureus* in two child care centers. *J Infect Dis* **1998**; 178:577-580.
20. Maria N. Um alerta às autoridades. *Jornal do Conselho Regional de Medicina do Estado do Rio de Janeiro* **1999**; novembro: 6.
21. Nagata E., Brito A.S.J., Matsuo T. Nosocomial infections in a neonatal intensive care unit: incidence and risk factors. *AJIC* **2002**; 30:26-31.
22. Hanberger A., Diekema D., Fluit A. et al Surveillance of antibiotic resistance in European ICUs. *J Hospit Infect* **2001**; 48:161-176.
23. Macgowan J.E., Tenover F.C. Control of antimicrobial resistance in the health care system. *Infect Dis Clin North Am* **1997**; 11:297-311.
24. Monnet D.L. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and Its relationships to antimicrobial use: possible implication for control. *Infect Control Hosp Epidemiol* **1998**; 19:5552-558.
25. Stool B.J., Gordon T., Korones S.B. et al. Late-onset sepsis in very low birth weight neonates: a report from the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. *J Pediatr* **1996**; 129:63-71.
26. Siegel J.D. The newborn nursery. In: Bennett J.V., Brachman P.S. eds. *Hospital Infections*. Philadelphia: Lippincott-Raven, **1998**.
27. Loureiro M.M., Moraes B.A., Quadra M.R.R., Pinheiro G.S., Asensi M.D. Study of multi-drug resistant microorganisms isolated from blood cultures of hospitalized newborns in Rio de Janeiro City, Brazil. *Braz J Microbiol* **2002**; 33:73-78.
28. Mullet M.D., Cook E.F., Gallagher R. Nosocomial sepsis in the neonatal intensive care unit. *J Perinatol* **1998**; 18: 112-115.
29. Fonseca S.N.S., Ehrenkranz R.A., Baltimore R.S. Epidemiology of antibiotic use in a neonatal intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol* **1994**; 15:156-162.

Table 1: Colonization by MRSA and MSSA in neonates of four prevalence inquiries accomplished in the period from 01/2000 to 12/2002.

Year/date	Neonates	Colonized		Prevalence/Colonization			
		neonates		MRSA		MSSA	
		N	N	%	N	%	N
2000							
25/10/2000	35	13	37.14	3	23.07	10	76.93
2001							
11/09/2001	35	19	54.28	15	78.94	4	21.06
2002							
05/02/2002	36	20	55.55	4	20.00	16	80.00
2002							
23/08/2002	37	18	48.64	8	44.44	10	55.56
Total	143	70	48.95	30	42.85	40	57.15

Table 2: Risk factors for acquiring *Staphylococcus aureus* colonization in neonates interned in the period from 01/2000 to 12/2002.

Risk factor	Colonized (n=70)		No Colonized (n=73)		p	OR ¹ (IC) ²
	N	%	N	%		
Sex						
Male	44	62.85	36	49.31	0.143	1.74 (1.85-3.59)
Weight						
≤1500g	25	35.71	21	28.76	0.477	1.38 (0.64-2.96)
Apgar						
0-4	5	7.15	4	5.47	0.948	1.33 (0.29-6.21)
5-7	51	72.85	44	60.27	0.156	1.77 (0.83-3.81)
8-10	14	20.00	25	34.26	0.084	0.48 (0.21-1.09)
Weeks of gestation						
≤ 36 weeks	39	55.71	37	50.68	0.663	1.22 (0.60-2.49)
Antibiotic use	22	32.85	25	34.24	0.856	0.88 (0.41-1.88)
Length of Hospitalization ³						
≥ 7 days	57	81.43	47	64.39	0.035*	2.43 (1.05-5.64)
Incubator care	30	42.85	32	43.33	0.959	0.96 (0.47-1.96)
Mechanical ventilation	11	15.71	10	13.69	0.917	1.17 (0.42-3.26)
Invasives devices	35	50.00	38	52.05	0.937	0.92 (0.45-1.87)

¹OR: Odds rates, ²IC: Confidence intervals, ³ Time between hospitalization and pick up samples

* p≤0.05 statistically significant

Table 3: Risk factors for acquiring MRSA and MSSA colonization in neonates interned in the period from 01/2000 to 12/2002.

Risk factor	MRSA (n=30)		MSSA (n=40)		p	OR ¹ (IC) ²
	N	%	N	%		
Sex						
Male	16	53.33	28	70.00	0.238	0.49 (0.16-1.47)
Weight						
<1500g	16	53.33	10	25.00	0.029*	3.43 (1.11-10.78)
Apgar						
0-4	4	13.33	1	2.50	0.203	6.00 (0.57-149.37)
5-7	21	70.00	30	75.00	0.846	0.78 (0.24-2.55)
8-10	5	16.67	9	22.50	0.762	0.69 (0.17-2.66)
Weeks of gestation						
<36weeks	19	63.33	20	50.00	0.385	1.73 (0.59-5.10)
Antibiotic use	14	46.66	8	20.00	0.034*	3.50 (1.08-11.58)
Length of Hospitalization ³						
≥ 7 days	27	90.00	30	75.00	0.198	0.33 (0.06-1.52)
Incubator care	15	50.00	15	37.50	0.422	1.67 (0.57-4.88)
Mechanical ventilation	4	13.33	7	17.50	0.886	0.73 (0.16-3.20)
Invasives devices	19	63.33	16	40.00	0.090	2.59 (0.88-7.76)

¹OR: Odds rates, ²IC: Confidence intervals, ³ Time between hospitalization and pick up samples

* p≤0.05 statistically significant

Table 4: Incidence of infections by MRSA and MSSA and forms of infection observed in neonates interned at the HRN/UFU-HC in the period of the first semester/2000 to second semester/2002.

Semester/ year	Staphylococcal infections		Infection							
			MRSA		MSSA		Invasive		Non invasive	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
1º/2000	14	1.94	2	14.28	12	85.72	6	42.85	8	57.15
2º/2000	27	4.05	6	22.22	21	77.78	9	33.33	18	66.67
1º/2001	35	4.39	-	-	35	100,00	4	11.42	31	88.58
2º/2001	33	4.37	1	3.03	32	96.97	8	24.24	25	75.76
1º/2002	32	4.25	-	-	32	100.00	15	46.87	17	53.13
2º/2002	18	2.59	-	-	18	100.00	8	44.44	10	55.56
Total	159	3.62	9	5.66	150	94.34	50	31.44	109	68.56