UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA

Camila de Almeida Silva

Avaliação da transmissão de *Staphylococcus aureus* em unidade de terapia intensiva neonatal

São Paulo

2022

Camila de Almeida Silva

Avaliação da transmissão de *Staphylococcus aureus* em unidade de terapia intensiva neonatal

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa de Doenças Infecciosas e Parasitárias

Orientadora: Profa. Dra. Silvia Figueiredo Costa

São Paulo

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Silva, Camila de Almeida
Avaliação da transmissão de Staphylococcus aureus em unidade de terapia intensiva neonatal / Camila de Almeida Silva. -- São Paulo, 2022.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Doenças Infecciosas e Parasitárias.
Orientadora: Silvia Figueiredo Costa.

Descritores: 1.Staphylococcus aureus 2.Unidade de terapia intensiva neonatal 3.Recém-nascido 4.Fatores de risco 5.Clorexidina 6.Mupirocina 7.Testes de sensibilidade microbiana

USP/FM/DBD-518/22

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Nome: Silva, Camila de Almeida

Título: Avaliação da transmissão de Staphylococcus aureus em unidade de terapia intensiva neonatal.

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Aprovado em:

Banca Examinadora

Profa. Dra. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Profa. Dra. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Profa. Dra. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Aos meus filhos, Theo e Marina, que são a razão da minha vida e da minha felicidade.

Ao meu esposo Leonardo, meu parceiro de vida, desde sempre e para sempre.

Aos meus pais Ricardo e Lívia e à minha irmã Isabella, pelo apoio incondicional.

Agradecimentos

Agradeço às equipes da UTI neonatal do Hospital e Maternidade Santa Joana, que contribuíram para que esse estudo fosse realizado.

Agradeço à minha orientadora Dra. Silvia Costa e, especialmente, à Ana Paula Rosin que foi minha parceira em todos os sentidos e uma amizade que ganhei.

Agradeço à toda equipe do SCIH, principalmente à Mariana Tobara, Pollyanna Martins e Elaine Morgado. Aos meus colegas Lívio Dias e Rosana Richtmann que estão comigo desde o início da minha jornada.

Agradeço ao Dr. Eduardo Amaro e Dr. Antônio Amaro que tornaram tudo isso possível.

RESUMO

Silva, C. A. **Avaliação da transmissão de *Staphylococcus aureus* em unidade de terapia intensiva neonatal** [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2022.

Introdução: O *S. aureus* é o segundo agente infeccioso mais prevalente em unidades de terapia intensiva neonatais (UTIN), causando morbidade significativa. Nas UTIN estudadas, tornou-se endêmico, causando surtos esporádicos, a despeito de vigilância e descolonização com clorexidina e mupirocina. **Objetivos:** Avaliar o impacto de uma nova estratégia de banho com clorexidina para descolonização e mudança na precaução de contato na densidade de infecção por *S. aureus.* Determinar os fatores associados à colonização por *S. aureus*, avaliar a eficácia da descolonização, determinar o perfil de sensibilidade à clorexidina e mupirocina e clonalidade dos isolados de *S. aureus* na UTIN. **Metodologia:** Este estudo de intervenção quasi-experimental avaliou uma nova rotina de banho com toalha umedecida com clorexidina 2% nos recém-nascidos (RN) colonizados com *S. aureus*, iniciada em janeiro/2018. Precauções de contato para *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA) foram mantidas até a alta hospitalar. Estas mudanças substituíram o banho com solução líquida de clorexidina 2% e a suspensão da precaução baseada em culturas. A densidade de infecção (DI) por *S. aureus* foi comparada antes (janeiro/2016 – dezembro/2017) e pós-intervenção (janeiro/2018 – dezembro/2020). Foi realizado seguimento prospectivo de uma coorte de RN, seus pais e profissionais de saúde (PS) durante o ano de 2018. Para avaliação de fatores de risco, análises bivariadas e multivariadas foram utilizadas. Testes fenotípicos e genotípicos foram realizados para caracterização dos isolados de *S.aureus*. A presença de genes de virulência e do *Staphylococcal Cassette Chromosome mec* (SCC*mec*) foi determinada por PCR multiplex. A Eletroforese em gel de campo pulsado foi utilizada para análise do perfil clonal. A avaliação da sensibilidade à clorexidina foi realizada através de ágar diluição e à mupirocina pelo método de disco difusão. **Resultados:** A análise de série temporal demonstrou tendência à redução da DI após as novas intervenções realizadas. Durante o seguimento da coorte, 13,2% dos RN apresentaram colonização por *S. aureus,* 5,12% MRSA e 8%

S. aureus sensível à meticilina (MSSA). Os pais foram mais colonizados por MSSA (24,6%) que as mães (10%). Uma mãe (0,34%) e um pai (0,40%) estavam colonizados por MRSA. Dentre os PS, 50% estavam colonizados por MSSA e 6,5% por MRSA. O único fator independente na análise multivariada para colonização dos RN por MRSA foi o uso de nutrição parenteral (OR, 3,5; 95% IC, 1,07-11,39; P < 0,045). Não houve fatores de risco associados para pais e PS. Para as mães, a idade foi relacionada. Nos RN descolonizados, a taxa de sucesso foi de 81,2% para MSSA e 90% para MRSA. A incidência de infecção por MSSA foi superior a MRSA, sendo sepse a mais prevalente. A taxa de infecção por *S. aureus* nos RN colonizados foi de 15% e 0,9% nos não colonizados. Os dois pais e 82% dos PS foram descolonizados para MRSA com sucesso. Identificamos 16 tipos de Pulsed Field Types (PFT) de MRSA e 67 PFT de MSSA circulando na UTIN. Não houve similaridade entre isolados de MRSA de PS e RN, mas de isolados de pais e RN, que não seus filhos. Entre MSSA, não houve similaridade entre RN e seus pais, mas isolados de PS e RN foram relacionados. Foram identificados clusters distintos entre os RN e PS. Os SCC*mec* tipo I e V predominaram entre os RN. Dentre os PS, encontramos um SCC*mec* tipo V e dois SCC*mec* tipo IVa. O gene de virulência *LukDE* foi encontrado em 86% dos MRSA. Não houve efeitos colaterais associados a descolonização. Nenhum dos isolados de *S. aureus* apresentou resistência à mupirocina. Não houve suscetibilidade reduzida à clorexidina entre os MRSA. Dois MSSA isolados de RN apresentaram suscetibilidade reduzida com concentração inibitória mínima (CIM) de 8µg/ml e redução de CIM após adição de inibidor de bomba de efluxo (CCCP). **Conclusão:** Um programa de vigilância e descolonização parece ser importante mesmo em cenários endêmicos. Observamos que a transmissão contínua de *S. aureus* foi secundária à introdução constante de novas cepas na UTIN e fontes não comuns são focos de persistência na unidade. A formação de clusters entre os RN sugere disseminação através das mãos de PS. A descolonização foi segura e eficaz e, apesar da preocupação com a resistência, encontramos baixa taxa de suscetibilidade reduzida à clorexidina, sem resistência à mupirocina.

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus*. Unidade de terapia intensiva neonatal. Recém-nascido. Fatores de risco. Clorexidina. Mupirocina. Testes de Sensibilidade Microbiana.

ABSTRACT

Silva, C. A. **Evaluation of *Staphylococcus aureus* transmission in neonatal intensive care unit.** [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2022.

Introduction: *S. aureus* is the second most frequent pathogen in neonatal intensive care units (NICU), causing significant morbidity. In the studied NICU, it became endemic, causing sporadic outbreaks despite surveillance and decolonization with chlorhexidine and mupirocin. **Objectives:** Evaluate the impact of a new chlorhexidine bath strategy for decolonization and change in contact precaution on *S. aureus* infection density. Determine factors associated with colonization by *S. aureus,* evaluate the effectiveness of decolonization, determine the sensitivity profile to chlorhexidine and mupirocin and clonality of *S. aureus* isolates in the NICU. **Methodology:** This quasi-experimental intervention study evaluated a new bathing routine with 2% chlorhexidine gluconate cloths in *S. aureus* colonized newborns (NB), starting in January/2018. Contact precautions for methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) were maintained until discharge. These changes replaced the 2% chlorhexidine bath in liquid solution and the discontinuation of culture-based precaution. The incidence density (ID) of *S. aureus* infection was compared before (January/2016 – December/2017) and after the intervention (January/2018 – December/2020). A prospective cohort of NB, their parents and healthcare workers (HCW) was conducted in 2018. For evaluation of risk factors, bivariate and multivariate analysis were used. Phenotypic and genotypic tests were performed to characterize the *S. aureus* isolates. The presence of virulence genes and Staphylococcus Cassette Chromosome mec (SCCmec) was determined by multiplex PCR. Pulsed field gel electrophoresis was used to characterize the clonal profile. The evaluation of sensitivity to chlorhexidine was performed by agar dilution and mupirocin using the disk diffusion method. **Results**: The time-series analysis showed a trend to reduce ID of *S. aureus* infection after the new interventions. During the follow-up of the cohort, 13.2% of the NB had *S. aureus* colonization, 5.12% MRSA and 8% methicillin-sensitive *S. aureus* (MSSA). Fathers were more colonized with

MSSA (24.6%) than mothers (10%). One mother (0.34%) and one father (0.40%) were colonized with MRSA. Among HCW, 50% were colonized with MSSA and 6.5% with MRSA. Multivariate analysis identified parenteral nutrition as an independent risk factor for NICU-acquired *S. aureus* colonization (odds ratio, 3,5; 95% CI, 1,07-11,39; P < 0,045). There were no associated risk factors for parents and HCW. For mothers, age was related. Success rates on decolonized newborns were 81.2% and 90% for both MSSA and MRSA respectively. The incidence of MSSA infection was higher than MRSA, and sepsis was the most prevalent. The *S. aureus* infection rate in colonized NB was 15% and 0.9% in non-colonized. Both parents and 82% of the HCW were successfully decolonized for MRSA. We identified 16 MRSA Pulsed Field Types (PFT) and 67 MSSA PFT circulating in the NICU. There was no similarity between MRSA isolates from HCW and NB, while isolates from parents and NB from other parents were similar. Among MSSA, there was no similarity between NB and their parents, while HCW and NB isolates were related. Distinct clusters were identified between the NB and HCW. SCCmec type I and V predominated among NB. Among HCW, we found one SCCmec type V and two SCCmec type IVa. The virulence gene *LukDE* was found in 86% of MRSA. There was no side effect associated with decolonization. No isolates were mupirocin resistant. There was no detection of reduced susceptibility to chlorhexidine among MRSA. Two MSSA NB isolates showed reduced susceptibility with minimum inhibitory concentration (MIC) of 8µg/ml which was reduced after the use of efflux pump inhibition (CCCP). **Conclusion:** A surveillance and decolonization program seems to be important even in endemic settings. This study identified that the continuous transmission of *S. aureus* was secondary to the constant introduction of new strains in the NICU and possible acquisition from unusual sources. The finding of clusters among the NB suggests dissemination by the HCW hands. Decolonization was safe and effective and despite concerns about resistance, we found a low rate of reduced susceptibility to chlorhexidine without mupirocin resistance.

Keywords: *Staphylococcus aureus*. Neonatal intensive care unit. Newborn. Risk factors. Chlorhexidine. Mupirocin. Microbial Sensitivity Tests.

Lista de Figuras

Figura 1. Estratégias utilizadas para descolonização dos RN nas UTIN2/3 do HMSJ e precaução para MRSA no P1 e P2 ……...29

Figura 2. Fluxo de vigilância para S. aureus e seguimento da coorte de RN admitidos na UTIN 2/3 do HMSJ no ano de 2018 ……...31

Figura 3. Série temporal de densidade de infecção por MRSA por 1.000 RN/dia pré e pós-intervenção nas UTIN2/3 do HMSJ, entre janeiro de 2016 e dezembro de 2020 ……53

Figura 4. Série temporal de densidade de infecção por MSSA por 1.000 RN/dia pré e pós-intervenção nas UTIN2/3 do HMSJ, entre janeiro de 2016 e dezembro de 2020 ……54

Figura 5. Série temporal de densidade de infecção por S. aureus por 1.000 RN/dia pré e pós-intervenção nas UTIN2/3 do HMSJ, entre janeiro de 2016 e dezembro de 2020 …….. 55

Figura 6. Dendrograma gerado a partir dos diferentes perfis eletroforéticos gerados por PFGE de 29 isolados de MRSA de RN, pais e profissionais de saúde ……65

Figura 7. Dendrograma com os perfis eletroforéticos gerados por PFGE de 76 isolados de MSSA de RN, pais e profissionais da saúde ……...68

Figura 8. Dendrograma gerado a partir dos diferentes perfis eletroforéticos gerados por PFGE de 7 isolados de MSSA de RN e pais ……69

Lista de Tabelas

Tabela 1. Sequência de primers utilizados na PCR para determinação dos tipos de SCCmec (VAN DER HEIJDEN, et al, 2016) …… 43

Tabela 2 - Oligonucleotídeos utilizados nas reações de amplificação multiplex para detecção de genes de virulência de isolados de MRSA ……...44

Tabela 3. Caracterização dos grupos pré (P1) e pós intervenção (P2) por faixa de peso nas UTIN2/3 do HMSJ …… 49

Tabela 4. Distribuição das infecções por S. aureus (73) nas UTIN 2/3 do HMSJ entre janeiro de 2016 e dezembro de 2020 ……. 50

Tabela 5. Perfil de infecção por S. aureus por peso de nascimento nas UTIN 2/3 entre janeiro de 2016 e dezembro de 2020 …… 51

Tabela 6. Densidade de infecção por S. aureus dos grupos pré (P1) e pós-intervenção (P2) nas UTIN 2/3 do HMSJ ……..51

Tabela 7. Avaliação dos fatores potencialmente associados à colonização por MRSA em RN (507) internados na UTIN 2/3 do HMSJ no ano de 2018 …….57

Tabela 8 - Análise multivariada para o desfecho colonização por MRSA em RN UTIN 2/3 do HMSJ no ano de 2018 ……58

Tabela 9. Características das mães (290) pesquisadas quanto a colonização por S. aureus de RN internados nas UTIN2/3 do HMSJ em 2018 ……...59

Tabela 10. Características dos pais (244) pesquisados quanto a colonização por S. aureus de RN internados nas UTIN2/3 do HMSJ em 2018 ……...60

Tabela 11. Resultados das amostras de swab para pesquisa de S. aureus identificadas pelo geneXpert e cultura convencional nos profissionais de saúde (170) das UTIN2/3 do HMSJ em janeiro/18 …… 61

Tabela 12. Características dos profissionais de saúde (154) da UTIN2/3 do HMSJ pesquisados quanto a colonização por S. aureus em janeiro/19 …… 62

Lista de Abreviaturas e Siglas

ATM	Antimicrobiano
BHI	Infusão cérebro e coração
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CCCP	Inibidor de bomba de efluxo
CHG	Clorexidina
CLSI	Clinical Laboratory Standards Institute
CMHCA	Caldo Mueller-Hinton Cátion Ajustado
CVC	Catéter venoso central
CVP	Catéter venoso periférico
EGB	*Streptococcus agalactiae* do grupo B
HMSJ	Hospital e Maternidade Santa Joana
IG	Idade Gestacional ao nascimento
IPCSL	Infecção primária corrente sanguínea laboratorial
ISCSL	Infecção secundária corrente sanguínea laboratorial
IRAS	Infecções relacionadas à assistência à saúde
MRSA	*Staphylococcus aureus* resistente à meticilina
MSSA	*Staphylococcus aureus* sensível à meticilina
MUP	Mupirocina
NPP	Nutrição parenteral
PBP	Proteínas Ligantes de Penicilina
PCR	Cadeia da polimerase
PFGE	Eletroforese em gel de campo pulsado
PFT	Pulsed Field Type
PVL	Panton Valentine Leukocidin
PS	Profissional de saúde
RN	Recém-nascidos
RPMO	Rotura de membranas ovulares

SAM	Síndrome aspiração de mecônio
SCCmec	Staphylococcal Cassette Chromosome mec
TBE	Tris-Borato-EDTA
TSB	Soja-tripticaseína
TSST	Toxina da síndrome do choque tóxico
USA	United States of America
UTIN	Unidade de Terapia Intensiva neonatal
VM	Ventilação mecânica
VPP	Ventilação com Pressão Positiva

Sumário

1. Introdução 17

2. Justificativa 22

3. Objetivos 24

3.1 Objetivo geral 25

3.2 Objetivos específicos 25

4. Metodologia 26

4.1 Desenho do estudo 27

4.2 Local, período e população 27

4.3. Estudo de Intervenção 28

4.4 Estudo de seguimento da coorte 29

4.5 Pesquisa de colonização dos profissionais de saúde 31

4.6 Protocolo de descolonização dos recém-nascidos 32

4.7 Avaliação da eficácia do protocolo de descolonização no RN 33

4.8 Descolonização dos pais e profissionais de saúde 34

4.9 Desfechos 34

4.10 Variáveis avaliadas para os RN, mães e pais 35

4.11 Variáveis avaliadas para profissional de saúde 38

4.12 Procedimento de Coleta de Dados 39

4.13 Coleta de Material para análise microbiológica 39

4.14 Métodos Laboratoriais 40

4.15 Métodos Microbiológicos 40

4.16 Detecção do Gene mecA e do Gene da Coagulase 41

4.17 Extração do DNA Genômico 41

4.18 Reação de Amplificação 42

4.19 Análise da clonalidade por Eletroforese em gel de campo pulsado 42

4.20 Detecção dos genes codificadores do SCCmec 43

4.21 Detecção de genes relacionados a virulência pela técnica Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) ……43

4.22 Perfil de sensibilidade a clorexidina pelo método de ágar diluição ……...44

4.23 Perfil de sensibilidade a mupirocina ……...45

4.24 Metodologia de PCR Real Time - GeneXpert ……...45

4.25 Aspectos Éticos ……..46

4.26 Análise Estatística dos Dados ……46

5. Resultados ……...48

Infecções no período de janeiro de 2016 a dezembro de 2020 ……. 49

Avaliação da coorte de RN, pais e profissionais de saúde, seguidos durante o ano de 2018 ……. 55

Perfil de colonização por S. aureus nos pais ……59

Perfil de colonização por S. aureus nos profissionais de saúde …… 61

Avaliação das cepas de MRSA dos RN, pais e profissionais de saúde ……62

Análise do polimorfismo do DNA por PFGE dos isolados de MRSA ……63

Pesquisa de genes de resistência e virulência dos isolados de MRSA …… 63

Perfil de sensibilidade a clorexidina e mupirocina dos isolados de MRSA ……...63

Avaliação das cepas de MSSA …… 66

Análise do polimorfismo do DNA por PFGE dos isolados de MSSA ……66

Perfil de sensibilidade a clorexidina e mupirocina dos isolados de MSSA ……...67

6. Discussão ……70

Limitações ……79

Conclusões ……..80

Referências …….. 82

Apêndices ……94

1. Introdução

1. Introdução

As infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) continuam a ser uma causa importante de morbidade e mortalidade nas unidades de terapia intensiva neonatais (UTIN) em todo o mundo. As IRAS na população neonatal contribuem para desfechos de crescimento e neurodesenvolvimento desfavoráveis, principalmente em prematuros (KLEVEN *et al*, 2002; DE MELLO FREITAS, *et al,* 2021).

O *Staphylococcus aureus* é atualmente um dos principais agentes causadores de IRAS nas UTIN, causando infecções graves na população neonatal, com morbidade significativa, hospitalizações prolongadas, tratamentos agressivos e potenciais complicações a longo prazo (VERSTRAETE *et al*, 2014; BOGHOSSIAN *et a*l, 2013, AKINBOYO *et al*, 2020; BALAMOHAN *et al* 2021; CDC, 2020). Embora o *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) tenha sido foco dos esforços de prevenção na UTIN devido à dificuldade de erradicá-lo, estudos demonstraram que o *Staphylococcus aureus* sensível à meticilina (MSSA) tem morbimortalidade igual ao MRSA e ocorre com mais freqüencia em recém-nascidos (RN) nas UTIN (CAREY *et al*, 2010; ERICSON *et al*, 2015, CHO *et al*, 2020).

Apesar das medidas para prevenção das infecções por MRSA nas UTIN, a incidência deste agente ainda permanece elevada nessa população (SILVA *et al*, 2003; GARCIA *et al*, 2014; VIEIRA *et al*, 2014; SALGUEIRO *et al*, 2019); Vigilância ativa e programas de descolonização foram introduzidos como complemento às estratégias básicas de controle de infecção, visando reduzir o risco individual e populacional associado à colonização (KHOURY *et al*, 2005; GERBER *et al*, 2006; VICTOR *et al*, 2016). Os dados de intervenções ainda são limitados para MSSA, porém a redução de infecções tem sido observada após implantação de programas de prevenção. Nos estudos, a diferença em relação às estratégias utilizadas para MRSA, implica na não utilização de precaução de contato em colonizados/infectados (O'CONNELL *et al*, 2012; ERICSON *et al*, 2015).

Diversos fatores de riscos predispõem a colonização do RN por *S. aureus*, como baixo peso ao nascimento, prematuridade, uso de dispositivos invasivos, intubação orotraqueal, ventilação mecânica, presença de cateter venoso central, uso

de nutrição parental, hospitalização prolongada, procedimentos cirúrgicos, prática do canguru e pressão de colonização dentro na unidade (HUANG *et al*, 2006; SEYBOLD *et al* 2008; SAKAKI *et al*, 2009). Entender quais fatores de risco podem ser modificados é de suma importância para avaliar medidas para prevenção da transmissão do *S. aureus* na UTIN.

A dinâmica da colonização do RN por *S. aureus* dentro da UTIN continua sendo estudada e a importância dos profissionais de saúde, pais e do ambiente hospitalar na transmissão do agente é variável (EVEILLARD *et al*, 2004; LESSA *et al*, 2009; BEHARI *et al*, 2004; AL-TAWFIQ *et al*, 2006). Fatores adicionais, como superlotação e escassez de pessoal na UTIN e pressão de colonização dentro na unidade estão associados com maior risco de transmissão, colonização e ocorrência de surtos (ANDERSEN *et al*, 2002; BALAMOHAN *et al*, 2021).

A transmissão direta de MRSA de mães e pais para o RN já foi descrita. Várias formas de transmissão foram relatadas, pelo contato pele a pele, transmissão vaginal durante o parto e pelo aleitamento materno (MOREL *et al* ,2002; GASTELUM *et al*, 2005; AL-TAWFIQ *et al*, 2006; PIMENTEL *et al*,2009).

Estudos brasileiros demonstraram taxa de colonização por MRSA entre profissionais de saúde 3,4% (GARCIA *et al*, 2014), 7,1% (MOURA *et al*, 2011) e 16,8% (SILVA *et al*, 2020)**.** A taxa de colonização entre os profissionais variou de acordo com a instituição, especialidade de trabalho e da investigação ter ocorrido ou não em situação de surto.

A colonização neonatal por *S. aureus* é um precursor importante para o desenvolvimento de infecções. Estudos demonstraram que RN colonizados apresentaram maior taxa de infecção comparados aos não colonizados (HUANG *et al*, 2006; DELANEY *et al*, 2013; HUANG *et al*, 2016).

A descolonização de RN colonizados por *S. aureus,* visa reduzir o risco de infecção individual e também reduzir a transmissão cruzada para outros RN na UTIN (AKINBOYO *et al,* 2020). Os agentes de descolonização ideal permanecem ainda como uma questão não resolvida, porém o uso da mupirocina nasal em associação ou não ao banho de clorexidina, são as substâncias mais utilizadas (CDC, 2020). As principais preocupações com o uso destas substâncias em prematuros são: a

absorção sistêmica, efeitos adversos cutâneos e a resistência, no entanto, estes efeitos adversos têm sido pouco encontrados (BOZZELLA *et al*, 2019; WISGRILL *et al* 2017; RISTAGNO *et al* 2018; POPOOLA *et al*, 2016; VOSKERTCHIAN *et al*, 2018; HUANG *et al* 2015). Em relação à absorção de substâncias, a pele dos prematuros menores de 28 semanas de idade gestacional é formada por apenas uma fina camada de células. Após 2 semanas de vida, a pele torna-se semelhante à de um RN termo *(*ALBAHRANI, *et al,* 2019). Estudos detectaram níveis séricos de clorexidina em prematuros após administração cutânea; porém não se sabe o significado clínico desta informação e não existem valores estabelecidos do que é considerado uma concentração segura. Até o momento não há relatos de efeitos adversos como resultado da absorção sistêmica de clorexidina em RN (CHAPMAN, *et al,* 2012).

Estratégias de descolonização direcionadas a RN colonizados são mais estudadas que estratégias universais de descolonização em todos RN na UTIN (WISGRILL *et al*, 2017; RISTAGNO *et al*, 2018).

O surgimento da resistência antimicrobiana reflete um sério problema dentro da UTIN. As cepas de MRSA exibem resistência à meticilina devido a uma proteína ligadora de penicilina codificada pelo gene *mecA,* transportado por um elemento genético móvel chamado cassete cromossômico estafilocócico *mec* (SCC*mec*). Diversos tipos de SCC*mec* surgiram por meio da transferência horizontal de *mecA* e, até a presente data, quatorze tipos de SCCmec foram descritos em *S. aureus* (URUSHIBARA *et al*, 2019). Um artigo de revisão descreveu a circulação de MRSA no Brasil e, em todas as regiões do país, o SCCmec tipo IV foi o mais prevalente, seguido do III, II e I, demonstrando que clones que normalmente circulam na comunidade, também circulam no ambiente hospitalar (ANDRADE *et al*, 2020). Os fatores de virulência produzidos por *S. aureus* também são importantes ferramentas para colonização, formação de biofilme, invasão e disseminação dessas cepas. Fatores de virulência incluem as toxinas hemolíticas, nucleases, proteases, lipases, hialuronidase e colagenase (CARFORA *et al*, 2015).

O uso da mupirocina e clorexidina (CHG) como agentes utilizados para descolonização tem levantado preocupações sobre o possível surgimento de cepas resistentes (WALKER *et al*, 2003, SEPTIMUS *et al*, 2016). A mupirocina induz um

efeito bactericida frente o *S. aureus* e os mecanismos de resistência estão principalmente codificados por três genes (*mupA, mupB, ileS)* que inibem a síntese bacteriana. Os genes *mupA/B* são carreados por plasmídeos, permitindo sua disseminação. Outro mecanismo é resultante de mutações no gene cromossômico nativo da isoleucil-tRNA-sintetase, sendo tipicamente estáveis e intransferíveis (BARAKAT *et al*, 2016). A clorexidina é uma biguanida com atividade antibacteriana, que promove o rompimento da membrana da bactéria. A resistência à clorexidina é mediada por três genes: *qacA, qacB* que conferem resistência mediada por bomba de efluxo, com função de transporte transmembrana e *qacC/smr* que está implicada na resistência a compostos de quaternário de amônio e brometo de etídio (BJORLAND *et al*, 2001).

O controle da transmissão de *S. aureus* na UTIN permanece desafiador, seja em situação de surto ou em cenário endêmico. Técnicas laboratoriais como polimorfismo do DNA por eletroforese em campo pulsado (PFGE), sugerem que cepas relacionadas são responsáveis pela maior proporção de eventos de transmissão em UTIN. A disseminação pode ocorrer de forma direta entre pacientes ou pelo contato indireto, porém, várias cepas não relacionadas podem ser transmitidas simultaneamente em paralelo, sendo introduzidas com frequência nas unidades. (MADIGAN *et al*, 2018).

Existe uma escassez de estudos sobre a epidemiologia dos clones de *S. aureus* em UTIN brasileiras. A caracterização desses clones é importante para que sejam formuladas terapêuticas locais e o desenvolvimento de estratégias mais efetivas para o controle da propagação deste agente. Avaliar o papel dos pais e profissionais de saúde como transmissores de *S. aureus* ao RN é fundamental na dinâmica de uma unidade neonatal.

2. Justificativa

2. Justificativa do estudo

No ano de 2012, houve um surto de MRSA nas UTIN do Hospital e Maternidade Santa Joana (HMSJ). Posteriormente, a circulação do MSSA também tornou- se presente, levando à colonização e infecção dos RN.

O *S. aureus* tornou-se endêmico nas UTIN, causando infecções invasivas e surtos esporádicos. Entre os anos de 2013 a 2015, a densidade de incidência de sepse por *S. aureus* foi de 2,6/1.000 CVC-dia. No ano de 2015, instituímos como rotina a vigilância ativa e descolonização, o que refletiu inicialmente na redução da densidade de incidência de infecções. Porém, a despeito destas estratégias, o *S. aureus* continuou a circular nas UTIN, tornando-se o segundo agente responsável pelas IRAS.

Avaliar o impacto das estratégias utilizadas nas UTIN nas taxas de infecção é fundamental para direcionamento de novas políticas para controle deste agente.

Compreender a dinâmica da transmissão do *S. aureus* dentro na UTIN e estabelecer se pais e profissionais de saúde são fontes de colonização ao RN é de extrema importância, pensando nas estratégias de prevenção.

A avaliação das cepas circulantes de MRSA e MSSA em relação à resistência à clorexidina e mupirocina deve ser uma preocupação, dada a exposição prolongada dos RN à descolonização, o que pode ocasionar redução na eficácia desta estratégia.

3. Objetivos

3. Objetivos

3.1 Objetivo geral

Avaliar o impacto de uma nova estratégia de banho com clorexidina para descolonização e mudança na precaução de contato na densidade de infecção por *S. aureus*, em duas UTIN do HMSJ.

Descrever o perfil de colonização e infecção por *S. aureus* em uma coorte de recém-nascidos destas UTIN e a prevalência de colonização por este agente em seus pais e profissionais de saúde.

3.2 Objetivos específicos

1. Determinar os fatores associados à colonização por MRSA nos RN, pais e profissionais de saúde;
2. Avaliar a eficácia do protocolo de descolonização para *S. aureus* em recém-nascidos;
3. Determinar o perfil de sensibilidade à clorexidina e mupirocina e clonalidade dos isolados de *S. aureus* na UTIN.

4. Metodologia

4. Metodologia

4.1 Desenho do estudo

Estudo de intervenção quasi-experimental em que foi padronizado, em janeiro de 2018, o banho com toalha umedecida com gluconato de clorexidina 2% em base não alcoólica, sem enxágue, para RN colonizados com *S. aureus* e manutenção da precaução de contato até alta hospitalar para colonizados com MRSA. Estas mudanças ocorreram em substituição ao banho com solução de clorexidina líquida 2%, com enxágue do produto e suspensão da precaução de contato baseada em culturas, que era a rotina utilizada.

A densidade de infecção por *S. aureus* foi comparada em dois períodos: "pré-intervenção - P1" (janeiro/2016 – dezembro/2017) e “pós-intervenção - P2" (janeiro/2018 – dezembro/2020).

Estudo de coorte em 2018, foi realizado seguimento prospectivo de uma coorte de RN admitidos nas UTIN, dos pais e profissionais de saúde envolvidos na assistência direta destes RN.

4.2 Local, período e população

O Hospital e Maternidade Santa Joana é uma maternidade privada, referência para gestações de alto risco, localizada na cidade de São Paulo. Possui 350 leitos de internação e média de 1.000 partos/mês, dispõe de três unidades de terapia intensiva neonatal com diferentes características (UTIN1, UTIN2, UTIN3) e uma unidade para RN nascidos na própria maternidade e com necessidade de longa permanência (UTNI4), totalizando 110 leitos de UTIN. Nas UTIN como rotina, não são admitidos RN provenientes de outras instituições.

O estudo foi realizado em duas UTIN consideradas de maior risco para circulação de *S. aureus.* A UTIN2, referência para RN com patologias cirúrgicas de pequeno, médio e grande portes e malformações e a UTIN3, referência para internação de prematuros extremos, ambas com 25 leitos de internação cada.

Os profissionais de saúde (médicos diaristas, equipe de enfermagem e fisioterapeutas) possuem escala fixa em cada UTIN, porém, realizam coberturas em

outras unidades. As demais equipes, como fonoaudiologia, nutrição, serviço de imagem, laboratório e médicos especialistas (como, por exemplo, cirurgiões) atendem a todas as UTIN.

Nas UTIN, os pais têm livre acesso para visitar seus filhos. A prática do "canguru" é permitida para os RN prematuros, em geral menores de 1.700 gramas, que tenham condições clínicas. O canguru consiste no contato pele a pele, no qual o RN, vestindo apenas fralda, é colocado em decúbito ventral, ereto, contra o peito da mãe entre os seios. O RN é contido por uma faixa que o prende à sua mãe (BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017). O pai também tem permissão de realizar o canguru. Existe uma rotina de orientação para os pais quanto à importância da higienização das mãos e a técnica adequada na sua primeira visita na UTIN.

4.3. Estudo de Intervenção

Foram comparadas as densidades de infecção por *S. aureus* no período de janeiro/2016 a dezembro/2017 (P1) com o período pós intervenção de janeiro/2018 a dezembro/2020 (P2). As estratégias utilizadas foram:

P1 – Descolonização nasal com pomada de mupirocina (20mg) 2% e solução oral não alcoólica de gluconato de clorexidina 0,12% (periogard®) por 5 dias. Banho com solução líquida de gluconato de clorexidina degermante 2% com enxágue posterior. Os RN com colonização ou infecção por MRSA foram mantidos em precaução de contato e gotícula até resultados de duas culturas de vigilância consecutivas negativas com intervalo de 1 semana;

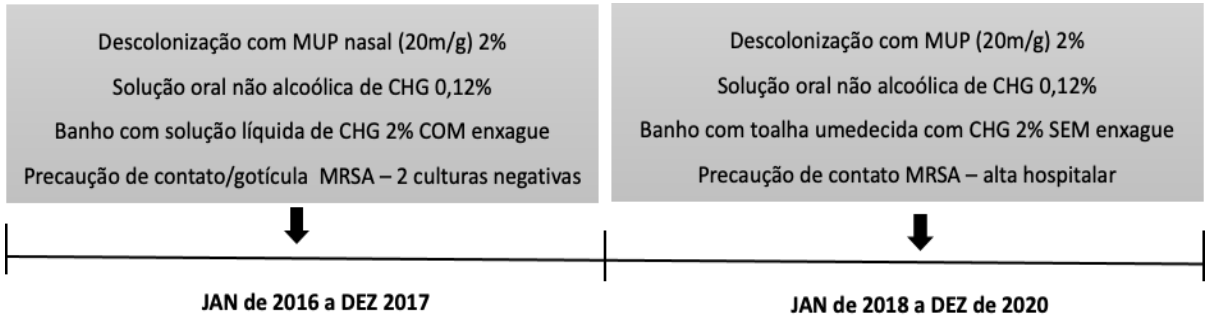
P2 – Mantida a mesma rotina para descolonização com mupirocina nasal e periogard®, por 5 dias. Mudança na rotina de banho para uso de toalha umedecida com gluconato de clorexidina 2%, sem enxágue posterior. Os RN com colonização ou infecção por MRSA foram mantidos em precaução de contato até alta hospitalar.

Durante os períodos P1 e P2, a estratégia de vigilância por swab nasal *para S. aureus* foi utilizada. A frequência da coleta variou entre os anos, sendo realizada conforme o aparecimento de infecção em algum RN na UTIN. A padronização de coleta semanal foi realizada durante a avaliação da coorte realizada durante o ano de 2018.

As estratégias de descolonização e precaução utilizadas nos períodos P1 e P2 estão descritas na Figura 1.

Como medida de prevenção para infecção de corrente sanguínea nas UTIN, após a admissão do RN, independente do status de colonização, todos foram submetidos ao banho com solução líquida de gluconato de clorexidina degermante 2%, com enxágue posterior. Esta rotina foi implantada no ano 2000 e seguiu sem mudanças durante todo período do estudo.

Figura 1. Estratégias utilizadas para descolonização dos RN nas UTIN2/3 do HMSJ e precaução para MRSA no P1 e P2.



MUP - Mupirocina ; CHG - Clorexidina

4.4 Estudo de seguimento da coorte

De janeiro/2018 a dezembro/2018, nas UTIN2 e UTIN3, foi realizado, seguimento de uma coorte de RN e seus pais. No mês de janeiro de 2018 e 2019, os profissionais de saúde diretamente envolvidos na assistência, foram pesquisados quanto à colonização por *S. aureus*.

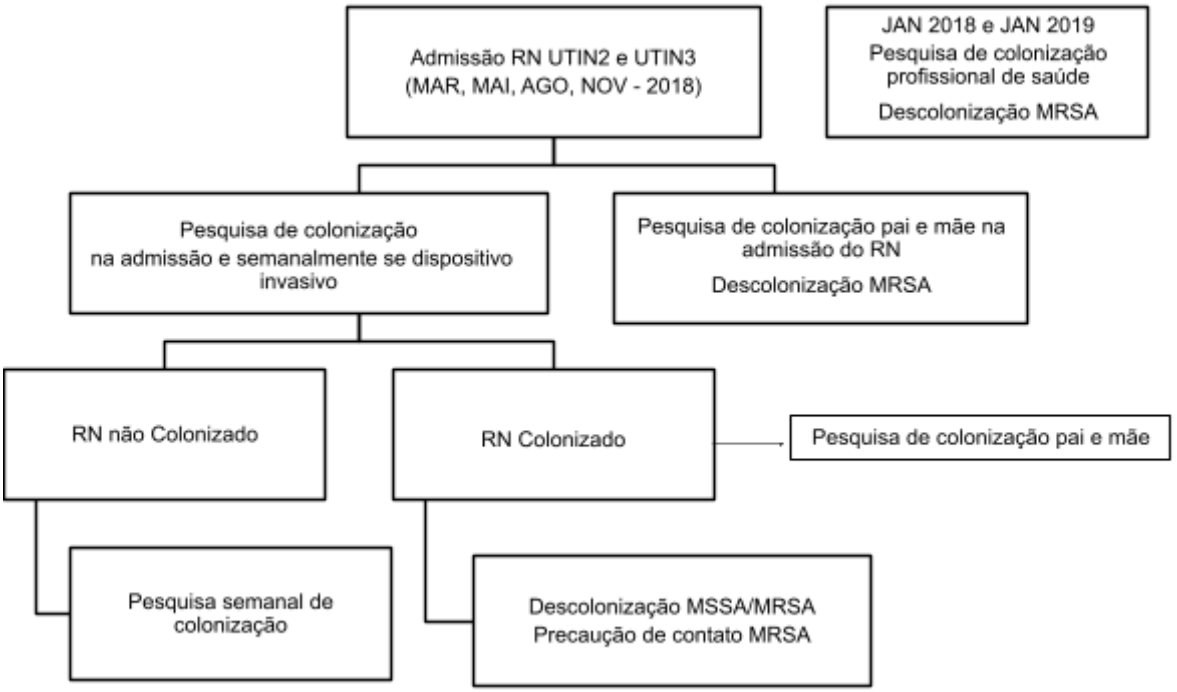
Durante o seguimento da coorte no ano de 2018, como rotina de vigilância foi estabelecido um dia fixo na semana para coleta semanal em cada unidade. Todos os RN que estavam na unidade e tinham dispositivos invasivos na data da pesquisa, foram investigados por meio de cultura de swab nasal. Não foi realizada coleta do RN com programação de alta da UTIN nas próximas 48 horas da data de coleta.

Foram considerados dispositivos invasivos: acesso venoso central, intubação orotraqueal, presença de dreno tórax, derivação externa em sistema nervoso central e cateter de tenckhoff.

Durante os meses de março, maio, agosto e novembro, foram pesquisados todos os RN no momento de sua admissão, independente de invasão e seus respectivos pais. Estes meses do ano foram escolhidos na tentativa de se estabelecer alguma sazonalidade relacionada a colonização dos RN. Entre a coleta logo após o nascimento (admissão na UTIN) e a coleta semanal foi respeitado intervalo de 72 hs. Se a coleta semanal estivesse agendada com intervalo inferior, era transferida para a próxima semana programada. A primeira pesquisa de colonização foi realizada após estabilização do RN na UTIN em até 12 horas de sua admissão.

A coleta dos pais foi realizada no mesmo dia da admissão do RN na UTIN. Pais de RN admitidos durante o final de semana foram pesquisados na segunda-feira seguinte, devido à disponibilidade da equipe que realizou a coleta. Pais que não foram investigados quanto à colonização durante os meses estipulados, foram pesquisados caso seu filho apresentasse cultura de vigilância positiva ou infecção por *S. aureus* em qualquer momento do seguimento. Não houve critérios de exclusão para a pesquisa de colonização nos RN ou seus pais. O fluxo de vigilância estabelecido nas UTIN, está descrito na figura 1.

Figura 2. Fluxo de vigilância para *S. aureus* e seguimento da coorte de RN admitidos na UTIN 2/3 do HMSJ no ano de 2018.



4.5 Pesquisa de colonização dos profissionais de saúde

Os profissionais de saúde das UTIN2/3, foram avaliados em dois momentos, no início e final do seguimento da coorte. Foram pesquisados profissionais do diurno e noturno, aleatoriamente de acordo com a escala de plantão.

Em janeiro/2018, os profissionais de saúde que prestavam assistência direta ao RN foram pesquisados através de swab nasal para pesquisa de colonização de *S. aureus.* Os médicos especialistas não foram pesquisados. A identificação do agente foi realizada por técnica de biologia molecular, Xpert ® SA Nasal, Cepheid, EUA e em paralelo através de culturas.

Em janeiro/2019 foi realizada nova pesquisa de colonização dos profissionais. No momento da coleta de cultura, foi realizada entrevista utilizando questionário padronizado e inspeção visual da presença de lesões e/ou ressecamento nas mãos.

Não houve critérios de exclusão para a pesquisa de colonização nos profissionais de saúde.

4.6 Protocolo de descolonização dos recém-nascidos

Rotina de banho com clorexidina 2% - RN colonizados por *S. aureus*, com IG superior a 28 semanas e peso de nascimento maior que 1.000 gramas, receberam banho com clorexidina. RN com menos de 28 IG e menores de 1000 gramas, receberam banho com água e sabão até completarem 28 dias de vida, após esse período receberam banho com clorexidina.

O banho ocorreu conforme protocolo da instituição, sendo realizado pela técnica de enfermagem, no período noturno, em dias alternados (segunda-feira, quarta-feira, sexta-feira e domingo). RN menores de 1.500g de peso de nascimento, receberam banho somente após o terceiro dia de vida, devido protocolo de manipulação mínima.

A rotina de banho seguiu os seguintes passos:

Durante o P1 (pré -intervenção):

a) Após realizar higiene das mãos, a profissional de saúde preenchia uma almotolia (que era submetida a desinfecção de alto nível) com água morna não estéril, calçava as luvas de procedimento, abria as portinholas da incubadora e colocava uma toalha seca abaixo do RN;

b) Retirava a fralda;

c) Realizava a higiene ocular com algodão umedecido em água morna, no sentido de dentro para fora e higiene do restante do rosto do RN suavemente com a mão umedecida;

d) Realizava higiene através de leve fricção de toda superfície corporal com algodão umedecido em solução líquida de gluconato de clorexidina degermante 2%. A solução era totalmente enxaguada com a água armazenada na almotolia. Era realizada higiene da genitália. Após o procedimento o RN era enrolado em toalha e seco com movimentos de compressão suaves, especialmente nas dobras;

e) Posteriormente a higiene do coto umbilical era realizada com cotonete e álcool 70%.

Durante o P2 (pós -intervenção):

O banho com toalha umedecida com gluconato de clorexidina 2% em base não alcoólica, também foi realizado pela técnica de enfermagem, no período noturno, em dias alternados. A toalha era aquecida e administrada morna no RN.

Uma leve fricção da toalha impregnada com clorexidina ocorria em toda a superfície corporal, no sentido céfalo-caudal, exceto na cabeça e nas genitálias, sem enxágue do produto.

Aplicação mupirocina - A aplicação intranasal da pomada de mupirocina (20mg/g) 2% foi realizada com movimentos suaves circulares em ambas as narinas com cotonete ou swab de menor tamanho no caso de prematuros extremos, duas vezes ao dia, por 5 dias.

Higiene oral - A higiene oral foi realizada com suave fricção em toda cavidade oral e língua com gaze estéril embebida em solução não alcoólica de gluconato de clorexidina 0,12% (periogard ®), três vezes ao dia durante 5 dias. Os mesmos critérios de peso e IG descritos para o banho de clorexidina foram utilizados para uso da solução oral de clorexidina.

Os critérios de exclusão para administração ou descontinuação do banho com clorexidina foram: presença de lesões cutâneas, reações alérgicas ou reação adversa (hiperemia no local de aplicação, aparecimento de lesões de pele, rash cutâneo, irritação no local de aplicação). Reações alérgicas generalizadas, *rash* cutâneo generalizado, urticária e angioedema. Para solução oral: presença de lesões em mucosa oral, descamação ou sangramento de mucosa oral.

Exclusão para administração ou descontinuação da mupirocina: hiperemia ou ressecamento no local de aplicação, aparecimento de lesões de pele, irritação no local de aplicação, edema em mucosa nasal ou epistaxe. Reações alérgicas generalizadas, *rash* cutâneo generalizado, urticária e angioedema.

4.7 Avaliação da eficácia do protocolo de descolonização no RN

Foi considerado como sucesso da descolonização o RN que apresentou pesquisa negativa do swab nasal para *S. aureus* após uma semana do término da

descolonização e em todas as pesquisas posteriores. Um segundo ciclo de descolonização foi realizado, caso a pesquisa de colonização ainda estivesse positiva após o primeiro ciclo.

4.8 Descolonização dos pais e profissionais de saúde

Os pais e profissionais de saúde que apresentaram colonização por MRSA foram descolonizados com pomada de mupirocina (20mg/g) intranasal 2 x/dia e banho com solução líquida de clorexidina 2% por 5 dias. Não foi realizada descolonização para MSSA.

Após uma semana da descolonização, nova cultura foi realizada. Nos casos ainda positivos, procedeu-se a um segundo ciclo de descolonização.

4.9 Desfechos

Os desfechos analisados foram:

(a) Infecção relacionada à assistência à saúde por *S. aureus*, segundo manual de critérios diagnósticos de infecção associada à assistência à Saúde em Neonatologia (BRASIL, ANVISA, 2017).

Foram realizadas as seguintes adaptações :

Infecção secundária da corrente sanguínea (ISCSL) - Uma ou mais hemoculturas positivas por *S. aureus*, com foco de infecção primário identificado.

A cultura de aspirado traqueal, além de hemocultura, foi utilizada para definição do agente etiológico de pneumonia associada à ventilação mecânica (PAV). Foi considerado como PAV por *S.aureus,* cultura de secreção traqueal quantitativa com crescimento maior ou igual a 10^{6} UFC.

(b) Colonização por *S. aureus* definida como cultura positiva em swab nasal; na ausência de processo infeccioso.

(c) Eficácia do protocolo de descolonização – definido como cultura negativa para *S. aureus*, em swab nasal, após 7 dias do término da descolonização.

4.10 Variáveis avaliadas para os RN, mães e pais

Recém- nascidos:

- Unidade de internação: UTIN2 ou UTIN3;
- Gênero: definido como masculino, feminino, indefinido;
- Peso ao nascimento: em gramas;
- Idade gestacional RN: data da última menstruação da mãe, método New Ballard (BALLARD *et al,* 1991) ou Capurro (CAPURRO *et al*, 1978) definida pelo neonatologista;
- Escala de Apgar de 1° e 5° minutos: variando de 0 a 10, segundo escala (APGAR *et al*, 1953) definida pelo neonatologista;
- Uso de cateter venoso central (CVC): durante a internação na UTIN até o término de seguimento; Dias de uso de CVC antes da colonização ou infecção por *S. aureus*;
- Uso de nutrição parenteral (NPP) durante a internação na UTIN, até o término de seguimento; Dias de uso de NPP antes da colonização ou infecção por *S. aureus*;
- Uso de ventilação mecânica (VM): durante a internação na UTIN, até o término de seguimento. Dias de uso de VM antes da colonização ou infecção por *S. aureus*;
- Uso de drenos/derivação: durante a internação na UTIN, até o término de seguimento. Dias de uso de drenos/derivação antes da colonização ou infecção por *S. aureus*;
- Utilização de antimicrobianos: durante a internação na UTIN, até o término de seguimento e dias de uso antecedentes a colonização ou infecção por *S. aureus*;
- Utilização de corticóide: durante a internação na UTIN, até o término de seguimento e dias de uso antecedentes a colonização ou infecção por *S. aureus*;

- Transfusão de hemoderivados: durante a internação na UTIN, até o término de seguimento e dias de uso antecedentes a colonização ou infecção por *S. aureus;*
- Utilização de diálise: durante a internação na UTIN, até o término de seguimento e dias de uso antecedentes a colonização ou infecção por *S. aureus;*
- Realização de cirurgia: durante a internação na UTIN até o término de seguimento. Dias de cirurgia antecedentes a colonização ou infecção por *S. aureus;*
- Dieta recebida: leite materno cru, leite materno ou de doadora pasteurizado ou uso de fórmulas lácteas, durante permanência na UTIN e antecedentes a colonização ou infecção por *S. aureus;*
- Colonização do recém-nascido por MRSA ou MSSA: definida como presente ou ausente; resistência à meticilina da cepa isolada;
- Colonização da mãe/paterna por MRSA ou MSSA: definida como presente ou ausente; resistência à meticilina da cepa isolada;
- Dias de vida no momento da colonização ou infecção por *S. aureus;*
- Apresentou IRAS por MRSA, MSSA ou outro agente, durante a internação. Definido com sim ou não e qual sítio;
- Realização da descolonização com prescrição de todos os componentes: mupirocina, clorexidina oral e banho com clorexidina por 5 dias: definido como sim ou não;
- Sucesso após primeiro ciclo de descolonização: definido como cultura negativa após descolonização em todas as pesquisas posteriores. Definido como sim ou não;
- Realizou o segundo ciclo de descolonização quando após a primeira descolonização o resultado da cultura para *S. aureus* permaneceu positivo. Definido como sim ou não.

Mães e pais:

- Idade materna/paterna: em anos;
- Profissão materna e paterna;
- Escolaridade: avaliada em anos;
- Número de gestação/parto e abortamentos maternos;

- Gemelaridade: concepto múltiplo ou único;
- Reprodução assistida: definida como sim ou não;
- Parto de urgência: definido como sim ou não, definido pelo obstetra;
- Tempo de rotura de membranas amnióticas: em horas;
- Tipo de parto: vaginal, cesariana ou fórceps;
- Procedimento invasivo materno/fetal durante a gestação: sim ou não e data;
- Tempo de internação da mãe prévia ao parto;
- Uso materno de cerclagem ou pessário: definido como sim ou não;
- Colonização materna por *Streptococcus agalactiae* no parto: definido como sim ou não;
- Presença de corioamnionite materna - definida pelas seguintes alterações (FISHMAN *et al,* 2012) : febre materna, taquicardia materna ou fetal, odor fétido do líquido amniótico, fisometria e leucocitose;
- Comorbidades maternas: registrada em prontuário materno ou do recém-nascido. Avaliadas: doença hipertensiva da gestação, diabetes gestacional, diabetes mellitus, doenças: cardiológica, hepática, renal, neurológica, hematológica, neoplásica, reumatológica, endocrinológica, infecciosa, pulmonar e vascular;
- Comorbidades paternas: realizada por entrevista. Avaliadas: cardiológica, doença hipertensiva, hepática, renal, neurológica, hematológica, neoplásica, reumatológica, endocrinológica, infecciosa, pulmonar e vascular;
- Uso de antibiótico pela mãe ou pai em até 30 dias antes do parto;
- Presença de infecção materna/paterna durante a permanência do RN na UTIN, foco e agente;
- Realização da descolonização com prescrição de todos os componentes: mupirocina e banho com clorexidina por 5 dias: definido como sim ou não;
- Sucesso após primeiro ciclo de descolonização: definido como cultura negativa após descolonização em todas as pesquisas posteriores. Definido como sim ou não;
- Realizou o segundo ciclo de descolonização quando após a primeira descolonização o resultado da cultura para *S. aureus* permaneceu positivo. Definido como sim ou não;

- Mãe ou pai com presença de infecções de pele (caracterizada como abscesso, furúnculo, hidradenite, piodermite, erisipela, celulite, ferida infectada) segundo informação do entrevistado;
- Mãe ou pai com presença de rinossinusite crônica ou infecção de vias aéreas superiores no momento da coleta do swab, definido como sim ou não;
- Mãe ou pai com internação hospitalar ou realização de procedimentos invasivos (relacionados a assistência hospitalar) no período de 1 ano, definido como sim ou não;
- Número de pessoas que residem no mesmo domicílio;
- Tabagismo materno ou paterno; considerado tabagista quem informou fumar ou ter fumado em algum período da vida, definido como sim ou não;
- Etilismo materno ou paterno - considerado elitista quem informou ingestão de álcool durante algum período da vida, definido como sim ou não;
- Uso de drogas endovenosas materno ou paterno - considerado usuário de drogas quem informou usar drogas ou ter usado em algum período da vida, definido como sim ou não.

4.11 Variáveis avaliadas para profissional de saúde:

- Categoria profissional;
- Idade: em anos;
- Unidade em que trabalha: UTIN2 ou UTIN3;
- Sexo: masculino ou feminino;
- Presença de infecções de pele (caracterizada como abscesso, furúnculo, hidradenite, piodermite, erisipela, celulite, ferida infectada) em localização segundo informação do próprio profissional;
- Presença de Onicomicose, definido como sim ou não;
- Presença de lesão ou ressecamento nas mãos, definido como sim ou não;
- Presença de rinossinusite crônica ou infecção de vias aéreas superiores, no momento da coleta do swab, segundo informação do profissional, definido como sim ou não;
- Comorbidades: realizada por entrevista. Avaliadas: cardiológica, doença hipertensiva, hepática, renal, neurológica, hematológica, neoplásica, reumatológica, endocrinológica, infecciosa, pulmonar e vascular;
- Uso antimicrobiano nos últimos 30 dias, definido como sim ou não;

- Trabalha em outro serviço de saúde, definido como sim ou não;
- Prestou assistência a algum RN sabidamente colonizado por *S. aureus*, definido com sim ou não;
- Número de pessoas que residem no mesmo domicílio;
- Tabagismo materno ou paterno; considerado tabagista quem informou fumar ou ter fumado em algum período da vida, definido como sim ou não;
- Etilismo materno ou paterno - considerado elitista quem informou ingestão de álcool durante algum período da vida, definido como sim ou não;
- Uso de drogas endovenosas materno ou paterno - considerado usuário de drogas quem informou usar drogas ou ter usado em algum período da vida, definido como sim ou não;
- Colonização por MRSA ou MSSA: definida como presente ou ausente, resistência à meticilina da cepa isolada;
- Realização da descolonização com prescrição de todos os componentes: mupirocina e banho com clorexidina por 5 dias, definido como sim ou não;
- Sucesso após primeiro ciclo de descolonização: definido como cultura negativa após descolonização em todas as pesquisas posteriores. Definido como sim ou não;
- Realizou o segundo ciclo de descolonização quando após a primeira descolonização o resultado da cultura para *S. aureus* permaneceu positivo. Definido como sim ou não.

4.12 Procedimento de Coleta de Dados

A coleta de dados foi realizada nos prontuários do RN e mães. Para a coleta de informações de pais e profissionais de saúde foi elaborado um questionário e realizada entrevista no momento da coleta da amostra do swab nasal para análise microbiológica (Anexos A, B,C e D). Os anexos utilizados para mãe e RN, foram adaptados do estudo de Garcia e colaboradores (GARCIA *et al*, 2014).

4.13 Coleta de Material para análise microbiológica

Todas as coletas foram realizadas com swabs estéreis na narina anterior. As amostras dos RN foram coletadas pelos profissionais de enfermagem da UTIN. As

amostras dos pais e profissionais de saúde foram coletadas pelo pesquisador executante e enfermeiras do serviço de controle de infecção hospitalar do HMSJ.

4.14 Métodos Laboratoriais

Após a coleta, o material foi imediatamente enviado ao laboratório de microbiologia do HMSJ, para identificação do *S. aureus* e sensibilidade à oxacilina. As amostras positivas foram armazenadas em meio de transporte Stuart, acondicionadas sob refrigeração e encaminhadas ao LIM 49, laboratório de pesquisa do HC/FMUSP, semanalmente. O transporte foi realizado pelo pesquisador executante em caixa de isopor lacrada. Os isolados foram guardados no banco de cepas a -80º C do LIM 54 em meio caldo BHI acrescido de 10% de glicerol.

A caracterização dos fatores de virulência, sensibilidade a clorexidina, mupirocina e a clonalidade dos isolados foram realizados no LIM 49.

As amostras de profissionais de saúde realizadas em 2018, foram coletadas e processadas no laboratório do HMSJ por meio da técnica de PCR Real Time realizada no aparelho GeneXpert, e também por cultura convencional.

4.15 Métodos Microbiológicos

Os aspectos microbiológicos, detecção do gene *mec*A e do gene da coagulase, Extração do DNA genômico reação de amplificação seguiram as mesmas etapas laboratoriais realizadas e já descritos por Garcia e colaboradores.

Segundo a técnica descrita por Baquero e colaboradores (BAQUERO *et al*,1998), os swabs foram adicionados ao meio líquido caldo infusão cérebro e coração e incubados a 37^0 C, por 24 horas, para enriquecimento da amostra, posteriormente foram semeados em ágar sal-manitol e incubados a 35°C por até 48 horas. Após o período de incubação, as colônias características foram repicadas e isoladas em ágar-sangue de carneiro e incubadas a 35ºC por 24 horas. As colônias características obtidas foram submetidas à coloração de Gram e aos testes de catalase e DNAse para identificação fenotípica presuntiva. O controle de qualidade foi realizado utilizando-se a cepa ATCC® 29213. Os isolados de *S. aureus* foram submetidos a teste de triagem para detecção de resistência a oxacilina em ágar Mueller-Hinton contendo 4% de cloreto de sódio e 6 mg/L de oxacilina. O controle de

qualidade foi realizado utilizando-se as cepas ATCC® 29213 (sensível) e NCTC® 10442 (resistente). As cepas consideradas *S. aureus* pelos testes fenotípicos foram submetidas à confirmação por detecção do gene da coagulase, que confirma a identificação de *S. aureus* e o gene *mec*A, que confirma a resistência a beta-lactâmicos, por meio da reação em cadeia da polimerase (GARCIA *et al*, 2014).

4.16 Detecção do Gene *mec*A e do Gene da Coagulase

A detecção do gene mecA, foi realizada através de primers para PCR multiplex, sintetizados pela Invitrogen (KEARNS *et al*, 1999) como se segue: SA-1 (5'CGG TAA CAT TGA TCG CAA CGT TCA 3') e SA-2 (5' CTT TGG AAC GAT GCC TAA TCT CAT 3'), SA-3 (5' GTA GAT TGG GCA ATT ACA TTT TGG AGG 3') e SA-4 (5' CGC ATC AGC TTT GTT ATC CCA TGT A 3') e um DNA molde para controle interno de reação. Os primers SA-1 e SA-2 são responsáveis pela amplificação de uma região de 214bp do gene mecA, enquanto SA-3 e SA-4, por uma região conservada de 117bp do gene da coagulase. Assim, pode-se realizar a diferenciação entre *S. aureus* (coagulase positiva) e estafilococos coagulase negativa. O DNA utilizado para controle interno de reação foi co-amplificado com os primers SA- 1 e SA-2, formando um produto de amplificação de 150bp, detectando resultados falso-negativos (GARCIA *et al*, 2014). A amplificação dos genes foi realizada e analisada, posteriormente fotografado no *Alphalmager 2200, Imaging System* (Alpha *Innothec Corp,* USA).

4.17 Extração do DNA Genômico

A extração do DNA genômico foi utilizada através da técnica de fervura, adaptada de Keames (KEAMES *et al*, 1999). Foi adicionado a cada amostra um mix de extração contendo EDTA 0,1M, Tris HCl 1M (pH 7,5), lisostafina 20000 U/mL e água livre de nucleases. As amostras foram cultivadas em ágar sangue por 24h a 35º +2º C e após o período de incubação, uma alçada foi transferida para 100 µl do mix de extração, em eppendorf de 1,5mL. A extração foi realizada em dois intervalos de temperatura: 30 min a 37º C e 10 min a 100º C. Aguardou-se o resfriamento e foram adicionados 900 µl de água livre de nucleases a cada amostra. As amostras foram agitadas em vortex, centrifugadas por 10 min a 13000 rpm, e o sobrenadante

foi então aspirado e congelado a -20º C até o momento de uso (GARCIA *et al*, 2014).

4.18 Reação de Amplificação

Para a reação de amplificação, foi preparada uma mistura de reação contendo Tris-HCl 10mM (pH8,8), MgCl2 4mM, KCl 50mM, 0,1% de Triton X- 100, 200µM de cada dNTP, 25pmol de cada primer e 1U de Taq DNA polimerase. Subsequentemente, foram adicionados 1µl da amostra a 49µl da mistura de reação. A reação de amplificação foi realizada no termociclador PTC200 (MJ Research), utilizando o seguinte programa: 1 min 94ºC, seguido por 15 ciclos de 30s a 94ºC, 30s a 68ºC e 30s a 72ºC. Após, mais 20 ciclos de 30s a 94ºC, 30s a 60ºC e 30s a 72ºC. E mais uma extensão adicional de 2 min a 72ºC. Após, os tubos foram mantidos a 40°C até o momento da eletroforese. Como controles positivo e negativo para a amplificação do fragmento de 214bp do gene mecA, foram utilizados os DNAs extraídos das cepas de *S. aureus* NCTC1044215 (KATAYAMA *et al*, 2000) e *S. aureus* ATCC29213, respectivamente. Como controles positivo e negativo para a amplificação do fragmento de 117bp do gene da coagulase, foram utilizados os DNAs extraídos das cepas de *S. aureus* NCTC10442 e *Staphylococcus epidermidis*, respectivamente. Em todas as reações, foi utilizada como controle negativo água destilada deionizada estéril (GARCIA *et al*, 2014).

4.19 Análise da clonalidade por Eletroforese em gel de campo pulsado (PFGE)

Para análise da clonalidade, os isolados foram submetidos à eletroforese em gel de campo pulsado (PFGE). O DNA genômico foi digerido pela enzima de restrição ApaI nas amostras de *Staphylococcus aureus* e posteriormente submetidos à eletroforese (Chef-III, BioRad). O perfil de restrição foi analisado pelo software Bionumerics, versão 7.5, 2014 (Applied Maths, Kortrig, Bélgica). Os perfis eletroforéticos produzidos foram agrupados, permitindo a geração de um dendrograma pelo método de Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA), empregando o coeficiente de similaridade de Dice onde tolerância e otimização das posições das bandas foram definidas em 0,7%. Foram utilizados três níveis de cutoff para definir os Pulsed Field Types (PFT). Os isolados com similaridade > 80% pelo coeficiente Dice foram considerados idênticos (DE

OLIVEIRA, *et al,* 2015). Uma letra maiúscula foi designada para cada tipo de perfil eletroforético. Foram considerados como clusters, o agrupamento de quatro ou mais PFT similares.

4.20 Detecção dos genes codificadores do SCC*mec*

A caracterização do tipo de SCC*mec* foi realizada nas amostras identificadas como MRSA. Para caracterização molecular do SCC*mec*, foi utilizado o método descrito por Zhang, de reação de cadeia de polimerase multiplex (PCR-multiplex), (ZHANG *et al*, 2005). Os iniciadores apresentados abaixo na Tabela 1.

Tabela 1. Sequência de *primers* utilizados na PCR para determinação dos tipos de SCC*mec* (VAN DER HEIJDEN, *et al,* 2016).

Primer	Sequência de oligonucleotídeos (5´-3´)	Tamanho do amplicon	Especificidade (tipo de SCCmec)
Type I-F	GCTTTAAAGAGTGTCGTTACAGG	613	SCCmec I
Type I-R	GTTCTCTCATAGTATGACGTCC		
Type II-F	CGTTGAAGATGATGAAGCG	398	SCCmec II
Type II-R	CGAAATCAATGGTTAATGGACC		
Type III-F	CCATATTGTGTACGATGCG	280	SCCmec III
Type III-R	CCTTAGTTGTCGTAACAGATCG		
Type IVa-F	GCCTTATTCGAAGAAACCG	776	SCCmec IVa
Type IVa-R	CTACTCTTCTGAAAAGCGTCG		
Type IVb-F	TCTGGAATTACTTCAGCTGC	493	SCCmec IVb
Type IVb-R	AAACAATATTGCTCTCCCTC		
Type IVc-F	ACAATATTTGTATTATCGGAGAGC	200	SCCmec IVc
Type IVc-R	TTGGTATGAGGTATTGCTGG		
Type IVd-F5	CTCAAAATACGGACCCCAATACA	881	SCCmec IVd
Type IVd-R6	TGCTCCAGTAATTGCTAAAG		
Type V-F	GAACATTGTTACTTAAATGAGCG	325	SCCmec V
Type V-R	TGAAAGTTGTACCCTTGACACC		

4.21 Detecção de genes relacionados a virulência pela técnica Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

A determinação da presença de genes de virulência foi determinada por PCR multiplex, conforme descrito no estudo de Van Der Heidjen e colaboradores (VAN DER HEIJDEN, *et al,* 2016). Os iniciadores utilizados para detectar estes genes estão descritos na tabela 2 (Baba-Moussa *el al,* 2008). A amplificação de genes de

virulência foi realizada e os produtos analisados com SYBR Safe - DNA gel strain (Invitrogen, USA) e visualizados no *Alphalmager 2200, Imaging System* (Alpha *Innothec Corp,* USA).

Tabela 2 - Oligonucleotídeos utilizados nas reações de amplificação *multiplex* para detecção de genes de virulência de isolados de MRSA.

Fator de Virulência	Iniciador	Sequência dos Oligonucleotídeos	Fragmento amplificado (pb)
LukE-LukD	LUKDE-1	5- TGAAAAAGGTTCAAAGTTGATACGAG-3	269
	LUKDE-2	5- TGTATTCGATAGCAAAAGCAGTGCA-3	
PVL	PVL-1	5-ATCATTAGGTAAAATGTCTGGACATGATCCA-3	433
	PVL-2	5- GCATCAASTGTATTGGATAGCAAAAGC-3	
TSST-1	TST-1	5-TTCACTATTTGTAAAAGTGTCAGACCCACT-3	180
	TST-2	5-TACTAATGAATTTTTTTATCGTAAGCCCTT-3	

Adaptado de VAN DER HEIJDEN, *et al,* 2016.

4.22 Perfil de sensibilidade a clorexidina pelo método de ágar diluição

O teste de ágar diluição para determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) para Clorexidina foi realizado conforme descrito por Mendes e colaboradores (MENDES *et al*, 2016). Foram incluídos em cada experimento os controles Klebsiella pneumoniae ATCC13883 (CIM de clorexidina 16µg/ml), Escherichia coli ATCC25922 (CIM de clorexidina 2µg/ml) e *Staphylococcus aureus* 8N previamente sequenciado (CIM de clorexidina 8µg/ml). As concentrações testadas foram: 0.5, 1, 2, 4, 8, 16, 32 e 64 e foram adaptadas conforme proposto por Kampf e colaboradores (KAMPF *et al*, 2016), onde foi definido como resistência para *Staphylococcus aureus*, o ponto de corte para Clorexidina de 8µg/ml. Cada experimento foi realizado em triplicata e o experimento foi considerado válido nas seguintes condições: Crescimento na placa controle sem clorexidina; se os resultados dos isolados ATCC variaram no máximo uma diluição do valor padronizado, se pelo menos duas CIM obtidas foram concordantes e a terceira variou em uma diluição.

O papel da bomba de efluxo na resistência a clorexidina foi avaliado nos isolados com CIM ≥4 µg/ mL onde o inibidor Carbonil Cianeto m-clorofenilhidrazona (CCCP; Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA). Segundo técnica de Abuzaid e colaboradores (ABUZAID *et al*, 2012), o produto foi diluído em 1 ml de água

destilada, e adicionado às placas de Muller Hilton na concentração final de 10mg/l. Uma diminuição de no mínimo 4 diluições da CIM das amostras indicou a presença de alguma bomba de efluxo (MENDES et al, 2016).

4.23 Perfil de sensibilidade a mupirocina

A suscetibilidade à mupirocina foi avaliada pelo método de disco difusão, conforme recomendação do Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI, 2017) e os isolados que não apresentaram nenhuma formação de halo de inibição, foram considerados com alto nível de resistência à mupirocina.

4.24 Metodologia de PCR Real Time - GeneXpert

Os GeneXpert Instrument Systems, Cepheid, EUA, automatizam e integram a purificação das amostras, a amplificação dos ácidos nucleicos e a detecção das sequências-alvo em amostras simples ou complexas, utilizando ensaios de PCR e RT-PCR (transcriptase reversa-PCR) em tempo real. Os sistemas são constituídos por um instrumento, um computador e software pré-instalado para análise de resultados. Foram utilizados cartuchos descartáveis que contém os reagentes de PCR. Os cartuchos são autônomos, eliminando a contaminação cruzada entre amostras. Os primers e as sondas presentes no ensaio GeneXpert SA Nasal Complete, detectaram sequências patenteadas da proteína estafilocócica A (spa), o gene da resistência à meticilina/oxacilina (mecA) e a cassete no cromossoma estafilocócico (SCCmec).

Os resultados foram interpolados pelo sistema GeneXpert Instrument Systems, Cepheid, EUA, a partir dos sinais de fluorescência medidos e dos algoritmos de cálculo incorporados, sendo apresentados na janela "View Results". Os resultados positivos foram: MRSA POSITIVE/SA POSITIVE - Detectadas sequências-alvo de DNA de MRSA/detectada sequência-alvo de DNA de SA; MRSA POSITIVE (MRSA POSITIVO) — todos os alvos MRSA têm um limite de ciclo (Ct) dentro do intervalo válido e endpoint acima do valor mínimo; MRSA NEGATIVE/SA POSITIVE (MRSA NEGATIVO/SA POSITIVO); Não foram detectadas sequências-alvo de DNA de MRSA/detectada sequência-alvo de DNA de SA; MRSA NEGATIVE/SA NEGATIVE (MRSA NEGATIVO/SA NEGATIVO; não foi detectada sequência-alvo de DNA do SA; NEGATIVO - não foi detectado DNA alvo do SA.

4.25 Aspectos Éticos

Este projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de ética em pesquisa do HMSJ e pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo sob número 3.555.585.

Foi solicitada a assinatura de um termo de consentimento para as mães, pais e profissionais de saúde a respeito dos procedimentos que seriam realizados após apresentação e esclarecimento (Anexos 1, 2 e 3).

4.26 Análise Estatística dos Dados

Para armazenamento das informações, manejo e organização do banco de dados foi utilizado o programa Microsoft Excel 2010. Os dados foram resumidos usando tabelas de frequência, estatísticas de resumo, intervalos de confiança e valores p.

Para a análise temporal, cada mês foi usado como unidade de análise. As densidades foram calculadas por 1.000 recém-nascidos-dia para todos os grupos e por 1.000 cateter-dia em CVC relacionado à sepse. Para variáveis contínuas com distribuição distorcida, o teste U não paramétrico de Mann-Whitney foi usado para comparar dois grupos (pré e pós-intervenção). Para o grupo (peso ao nascer), o teste de Kruskall-Wallis foi realizado, seguido por análises usando o teste de Dunn. Variáveis categóricas entre os grupos foram contrastadas usando o teste Qui-quadrado (x2) e o teste exato de Fisher quando os dados eram esparsos. A significância foi estabelecida em $\propto = 5\%$, usando comparação bicaudal. Os dados foram agregados em intervalos de tempo iguais (meses) e foi utilizado o modelo de média móvel integrada autoregressiva (ARIMA). Portanto, avaliamos a tendência secular (coeficiente $\beta 1$). Verificamos as suposições necessárias para os modelos ARIMA usando os testes Phillips-Perron, Kwiatkowski-Phillips-Schmidt-Shin (KPSS) e Augmented Dickey-Fuller. A autocorrelação foi verificada por inspeção visual de autocorrelogramas e autocorrelogramas parciais da série e seus resíduos. A análise estatística foi realizada por meio do Statistic 12, pacote R e do SPSS 22.0, IBM®, EUA.

Para análise da coorte, os dados foram resumidos usando tabelas de frequência, estatísticas resumidas, intervalos de confiança e valores de p. Os dados demográficos foram expressos como mediana e IQR para variáveis contínuas, e frequências e porcentagens para variáveis categóricas. As suposições do modelo paramétrico foram avaliadas usando o gráfico normal e o teste de Levene para verificar a homogeneidade das variâncias. Para variáveis contínuas com distribuição assimétrica, o teste não paramétrico U de Mann-Whitney foi usado para comparar dois grupos. Variáveis categóricas entre os grupos foram contrastadas usando o teste Qui-quadrado (x2), embora o teste exato de Fisher tenha sido usado quando os dados eram esparsos. As variáveis com Risco Relativo significativos para cada um dos dois desfechos foram incluídas no modelo de regressão logística para ajustar o risco independente de cada um. A significância foi fixada em $\propto$=5%, usando comparação bicaudal. Todos os valores de P relatados são arredondados para até três casas decimais. A análise estatística foi realizada por meio dos programas EPI INFO CDC Versão 7.2.4) e Statistical Package for the Social Sciences (SPSS versão 22.0, IBM®, EUA).

5. Resultados

5. Resultados

No P1 (JAN/16 - DEZ/17) ocorreram 31.043 partos, com um total de 31.783 nascidos vivos. Foram 2.901 RN admitidos nas UTIN2 e UTIN3, gerando 38.040 RN/dia. O número de CVC/dia foi 11.290 e VM/dia 6.230.

Durante o P2 (JAN/18 - DEZ/20) foram realizados 37.320 partos, com 37.809 nascidos vivos e 3.677 admissões nas UTIN, gerando 56.027 RN/dia; O número de CVC/dia foi 17.155 CVC/dia e 9.838 VM/dia.

A tabela 3 descreve a caracterização por faixa de peso dos RN dos grupos P1 e P2. O grupo foi homogêneo em relação às faixas de peso entre os períodos estudados, havendo diferença para os subgrupos dos pesos 750 - 999g e > 2.500g. Os diagnósticos mais comuns de admissão na UTIN foram prematuridade e síndrome do desconforto respiratório em ambos os períodos.

Tabela 3. Caracterização dos grupos pré (P1) e pós intervenção (P2) por faixa de peso nas UTIN2/3 do HMSJ.

Variável	Subgrupo	P1 Mediana (IQR)	P2 Mediana (IQR)	*p*
RN/dia	< 750g	173 (96)	190.5 (159.5)	0,455
	750 - 999g	234 (116.5)	134.5 (117.5)	**0,021**
	1,000 -1,499g	251.5 (118.5)	244.5 (156)	0,678
	1,500 - 2499g	517 (169)	459.5 (170.5)	0,100
	> 2,500g	432.5 (103.5)	488 (133)	**0,012**
	Total RN/dia	1,588.5 (262)	1,580 (357)	0,571
CVC/dia		483 (163.5)	476.5 (142)	0,673

* *P-value* <0.05 (Dunn test).

Infecções no período de janeiro de 2016 a dezembro de 2020

De janeiro de 2016 a dezembro de 2020, ocorreram 73 infecções por *S. aureus,* sendo 67,1 % por MSSA e 32,9 % por MRSA. A densidade de infecção de *S. aureus* foi de 0,83 RN/dia.

A IPCSL associada ao CVC, foi a infecção mais prevalente, sendo 70,4% causadas por MSSA com densidade de incidência 0,66 CVC/dia . Dentre as causas de infecção secundária da corrente sanguínea laboratorial (ISCSL) os sítios foram:

PAV - 4 casos (2 MRSA e 2 MSSA) e 7 infecções de pele e partes moles (2 MRSA / 5 MSSA).

As infecções classificadas como outros sítios foram: 14 casos de conjuntivite (5 MRSA / 9 MSSA); 10 casos de BCP (3 MRSA / 7 MSSA); 5 casos de infecção de pele e partes moles (0 MRSA/ 5 MSSA), 4 infecções de sítio cirúrgico (2 MRSA / 2 MSSA) e duas peritonites associadas a diálise (2 MRSA).

Na tabela 4 , estão descritas as distribuições das infecções por *S. aureus* nas UTIN2/3 e na tabela 5, o perfil das densidades de incidência de infecção, CVC/dia e RN/dia por faixas de peso. Houve uma maior densidade de ISCL por MSSA dentre os < 750g comparado aos demais (p =0,012) , assim como na densidade de ISCL por MRSA entre a faixa de peso de 750-999g (p = 0,027).

Tabela 4. Distribuição das infecções por *S. aureus* (73) nas UTIN 2/3 do HMSJ entre janeiro de 2016 e dezembro de 2020.

Variáveis	Subgrupo	N(%)	Densidade incidência
IPCSL associada a CVC (CVC/dia)	MSSA	19 (70,4)	0,66
	MRSA	8 (29,6)	0,28
ISCSL (RN/dia)	MSSA	7 (63,6)	0,07
	MRSA	4 (36,4)	0,04
Infecções em outros sítios (RN/dia)	MSSA	23 (65,7%)	0,24
	MRSA	12 (34,3%)	0,12
Total de todas as Infecções *S. aureus*	**MSSA**	**49 (67,1)**	**0,87**
	MRSA	**24 (32,9)**	**0,42**

IPCSL - Infecção primária corrente sanguínea laboratorial ; ISCSL- Infecção secundária corrente sanguínea laboratorial.

Tabela 5. Perfil de infecção por *S. aureus* por peso de nascimento nas UTIN 2/3 entre janeiro de 2016 e dezembro de 2020.

Variável			N (Densidade de incidência)					
			< 750g	750 -999g	1.000-1.499g	1.500-2.499g	≥ 2.500g	*P*
ICS	ISCSL (RN/dia)	MSSA	5 (0.48) *	1 (0.09)	1 (0.07)	0 (0) *	0 (0) *	**0,012**
		MRSA	0 (0) *	3 (0.28) *	1 (0.07)	0 (0) *	0 (0) *	**0,027**
		S. aureus	5 (0.48) *	4 (0.38)	2 (0.13)	0 (0) *	0 (0) *	**0,040**
	IPCSL (CVC/dia)	MSSA	5 (0.48)	4 (0.38)	3 (0.20)	4 (0.14)	3 (0.11)	0,668
		CVC/dia	(0.98)	(0.87)	(0.57)	(0.60)	(0.40)	0,659
		MRSA	2 (0.19)	1 (0.09)	1 (0.07)	1 (0.03)	3 (0.11)	0,731
		CVC/dia	(0.39)	(0.22)	(0.19)	(0.15)	(0.40)	0,737
		S. aureus	7 (0.67)	5 (0.47)	4 (0.27)	5 (0.17)	6 (0.21)	0,722
		CVC/dia	(1.37)	(1.08)	(0.76)	(0.75)	(0.81)	0,748
Todas as infecções		MSSA	14 (1.35)	10 (0.94)	10 (0.67)	10 (0.34)	5 (0.18)	0,305
		MRSA	4 (0.38)	5 (0.47)	6 (0.40)	4 (0.14)	5 (0.18)	0,956
		S. aureus	18 (1.73)	15 (1.42)	16 (1.07)	14 (0.48)	10 (0.35)	0,293

* *P-value* <0.05 (Dunn test).; ISCSL- Infecção secundária corrente sanguínea laboratorial IPCSL - Infecção primária corrente sanguínea laboratorial ;

Na tabela 6, estão descritas as densidades de infecção por *S. aureus* dos grupos pré (P1 - JAN/16 - DEZ/17) e pós-intervenção (P2 - JAN/18 - DEZ/20) . Não houve diferença entre as densidades de incidência dos subgrupos para nenhum tipo de infecção por *S. aureus,* independente do perfil de sensibilidade à meticilina.

Tabela 6. Densidade de infecção por *S. aureus* dos grupos pré (P1) e pós-intervenção (P2) nas UTIN 2/3 do HMSJ.

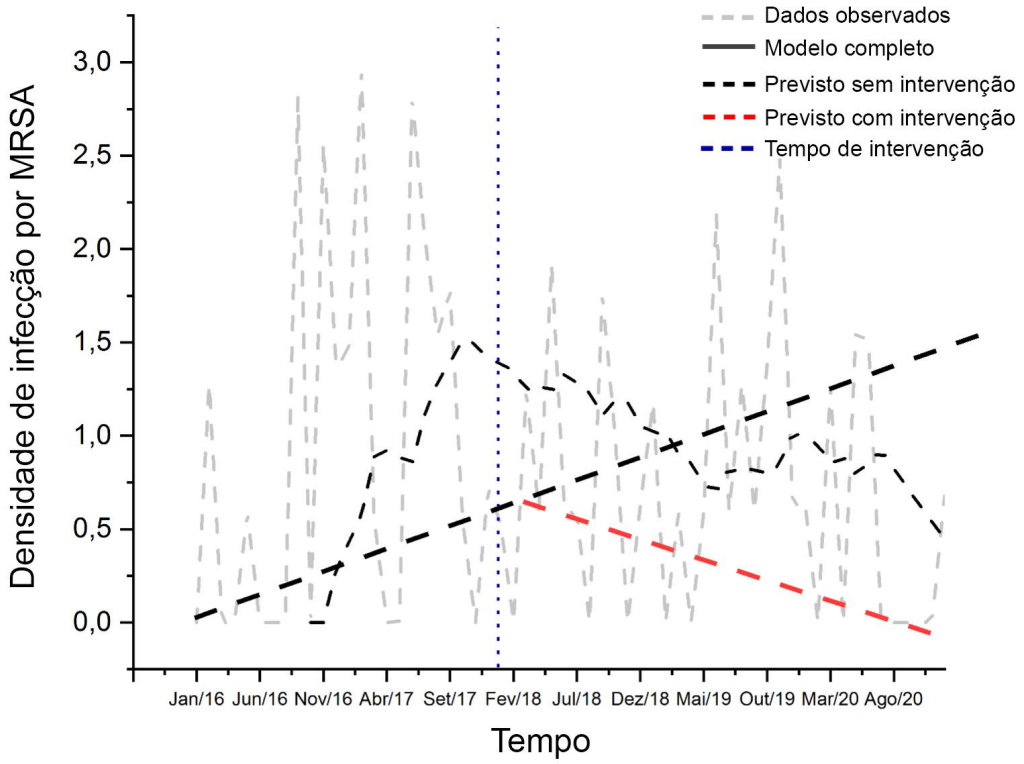
Variável		Subgrupo	P1 N (DI)	P2 N (DI)	*p*
ICS	ISCSL (RN/dia)	MSSA	4 (0.11)	3 (0.05)	0,540
		MRSA	3 (0.08)	1 (0.02)	0,217
		S. aureus	7 (0.19)	4 (0.07)	0,160
	IPCSL (CVC/dia)	MSSA	11 (0.29)	8 (0.14)	0,290
		(CVC/dia)	(0.92)	(0.46)	0,323
		MRSA	4 (0.11)	4 (0.07)	0,726
		(CVC/dia)	(0.33)	(0.23)	0,788

	S. aureus	15 (0.40)	12 (0.21)	0,196
	(CVC/dia)	(1.27)	(0.69)	0,270
Infecção todos os sítios	MSSA	23 (0.61)	26 (0.46)	0,258
	MRSA	15 (0.40)	9 (0.16)	0,114
	S. aureus	38 (1.01)	35 (0.62)	0,082

* *P-value* <0.05 (Dunn test). ISCSL- Infecção secundária corrente sanguínea laboratorial IPCSL - Infecção primária corrente sanguínea laboratorial ; DI - densidade de incidência.

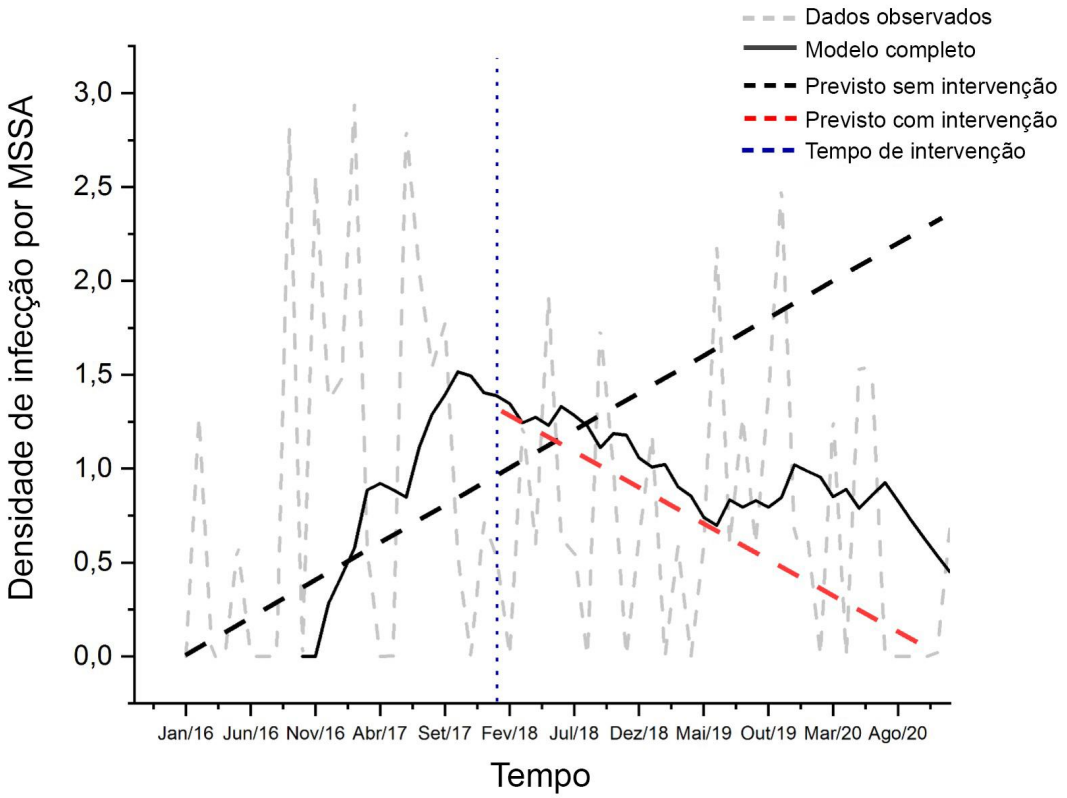
Os resultados da análise temporal das densidades de incidência de infecção por *S. aureus* nos períodos pré e pós-intervenção estão demonstrados nas figuras 3, 4 e 5. A figura 3 demonstra a distribuição da densidade de incidência de infecção por MRSA nas UTIN2/3, mostrando queda na incidência de infecção após intervenção, porém sem significância (p: 0,09). A mesma tendência foi observada na densidade de incidência de infecção por MSSA (p: 0,17). Quando avaliado o total das infecções por *S. aureus* houve redução na densidade de infecção de forma mais expressiva (p: 0,01) após início da intervenção.

Figura 3. Série temporal de densidade de infecção por MRSA por 1.000 RN/dia pré e pós-intervenção nas UTIN2/3 do HMSJ, entre janeiro de 2016 e dezembro de 2020.



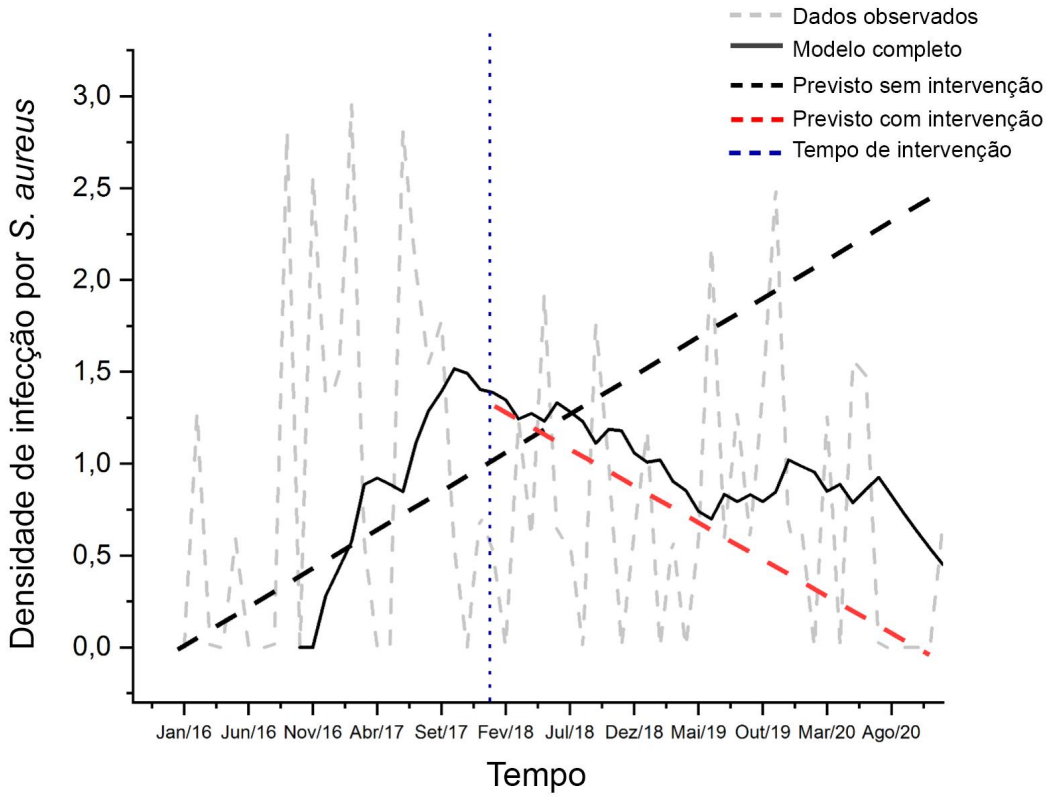
	β	SE	t	*P-value*
Constante	0,258	0,091	2,825	0,006
Intervenção 1 β_1	-0,576	0,343	-1,680	0,099

Figura 4. Série temporal de densidade de infecção por MSSA por 1.000 RN/dia pré e pós-intervenção nas UTIN2/3 do HMSJ, entre janeiro de 2016 e dezembro de 2020.



	β	SE	t	*P-value*
Constante	0,772	0,131	5,873	0,000
Intervenção 1 β_1	0,183	0,134	1,363	0,1783

Figura 5. Série temporal de densidade de infecção por *S. aureus* por 1.000 RN/dia pré e pós-intervenção nas UTIN2/3 do HMSJ, entre janeiro de 2016 e dezembro de 2020.



	β	SE	t	*P-value*
Constante	0,503	0,099	5,070	0,000
Intervenção 1 β_1	0,265	0,107	2,475	0,015

Avaliação da coorte de RN, pais e profissionais de saúde, seguidos durante o ano de 2018.

Foram incluídos na coorte, seguida durante o ano de 2018, 507 RN internados nas UTIN2/3, 244 pais, 290 mães e 324 profissionais de saúde.

Um total de 2.479 swabs para pesquisa de *S. aureus* foram coletados, sendo 1.620 swabs em RN, 290 swabs de mães, 245 swabs de pais e 324 dos profissionais de saúde.

Foram incluídos 291 RN da UTIN2 e 216 RN da UTIN3, totalizando 507 RN que tiveram ao menos uma coleta de swab nasal em algum momento de sua internação. Foram seguidos 340 RN a partir da data de seu nascimento e 167 RN já estavam internados na UTIN quando incluídos na coorte.

Durante o período de seguimento, 67 (13,2%) RN apresentaram colonização por *S. aureus,* sendo 26 (5,12%) MRSA e 41 (8%) MSSA. Dentre os colonizados por *S. aureus,* o MSSA representou 61% e o MRSA 39%. Nenhum RN apresentou colonização para *S. aureus* na pesquisa de admissão nas UTIN. Não foi observada relação de sazonalidade com aumento de colonização por *S. aureus.*

Na UTIN2, 15 (5,15%) dos RN apresentaram colonização por MRSA e 14 (4,8%) por MSSA. Na UTIN3 foram 11 (5,09%) de colonização por MRSA e 27 (12,5%) de MSSA.

A média de dias para colonização por *S. aureus* foi 28,3 dias, sendo 26 dias para MSSA e 32 dias para MRSA.

Dos 507 RN seguidos na coorte durante o ano de 2018, ocorreram 14 IRAS por *S. aureus,* sendo o segundo agente mais prevalente, atrás do *Staphylococcus* Coagulase-Negativa (CoNS).

Oito (57%) das IRAS foram causadas por MSSA: 1 infecção de sítio cirúrgico, 2 conjuntivites e 5 IPCSL. Seis (43%) foram causadas por MRSA: 1 infecção de sítio cirúrgico, 2 conjuntivites , 2 IPCSL, 1 abscesso cutâneo.

Dentre os dez RN colonizados que evoluíram para infecção, sete (70%) apresentaram falha na descolonização (4 IPCSL MSSA; 1 IPCSL por MRSA; 2 conjuntivite MSSA) e três haviam sido descolonizados.

Dos 7 RN que apresentaram IPCSL associada ao CVC, três evoluíram para óbito (2 MRSA e 1 MSSA). O intervalo entre o diagnóstico da sepse e o óbito foi de 2, 59 e 75 dias de vida. Dos quatro sobreviventes, todos tiveram quadro de bacteremia persistente. Não houve óbitos entre os RN com outros tipos de IRAS.

A taxa de infecção por *S. aureus* entre os não colonizados foi de 0,9% e de 15% entre os RN colonizados.

Os fatores potencialmente associados à colonização por MRSA nos RN , estão descritos na tabela 7. Foram associados a colonização, a idade gestacional, peso de nascimento, apgar baixo no primeiro minuto, ventilação com pressão positiva em sala de parto, uso de NPP, realização de cirurgia, uso de corticóide, antimicrobianos, transfusão de hemoderivados, leite pasteurizado e ter realizado canguru. Na análise multivariada somente o uso de NPP foi encontrado como fator independente para colonização.

Tabela 7. Avaliação dos fatores potencialmente associados à colonização por MRSA em RN (507) internados na UTIN 2/3 do HMSJ no ano de 2018.

Variável	Subgrupo	Colonizados por MRSA N 26	Não colonizados N 481	Risco Relativo	Intervalo de confiança	*p*
Sexo, Masculino, N	Masculino	16	229	1,2	0,80 – 1,80	0,30
IG, dias, média	–	228,3	241,7			**0,03**
Gemelaridade, N	Sim	6	85	1,01	0,96 – 1,08	0,43
Tipo de parto, N	Vaginal	0	24	0,94	0,92 – 0,96	0,38
	Cesareana	26	413			
RPMO, horas, média	–	2,15	6,55	–	–	0,60
Peso de Nascimento, média		1.823g	2.304g	–	–	**0,01**
Apgar 1º min, média	–	6,5	7,3	–	–	0,04
Apgar 5º min, média	–	8,5	8,7	–	–	0,31
SAM, N	Sim	1	6	1,1	0,81 – 1,52	0,30
Reanimação Neonatal, N	Sim	3	23	1,07	0,93 – 1,23	0,14
IOT, N	Sim	10	129	1,03	0,97 – 1,08	0,25
VPP, sala de parto, N	Sim	10	97	1,05	0,99 – 1,12	0,29
NPP, N	Sim	20	176	1,09	1,03 – 1,14	**0,0001**
Leite materno cru , N	Sim	22	435	0,96	0,88 – 1,05	0,30
Leite pasteurizado, N	Sim	5	34	1,09	0,96 – 1,23	**0,04**
Fórmula láctea, N	Sim	25	462	1	0,90 – 1,10	1,00
Humanização, N	Canguru	12	121	1,05	0,99 – 1,11	0,02
	Colo materno	25	458	1,01	0,92 – 1,10	1,00
Infecção, N	Sim	5	76	1,01	0,95 – 1,07	0,58
Dispositivos invasivos, N	Sim	23	369	1,03	0,99 – 1,07	0,22
Cirurgia, N	Sim	14	114	1,08	1,02 – 1,15	**0,01**
Corticóide, N	Sim	11	74	1,1	1,01 – 1,20	**0,001**

Transfusão, N	Sim	14	128	1,07	1,01 – 1,13	**0,005**
Antibiótico, N	Sim	18	165	1,08	1,02 – 1,13	**0,005**
Colonização paterrna, N	Sim	0	1	0,94	0,92 – 0,96	1,00
Colonização materna, N	Sim	0	2	0,94	0,92 – 0,96	1,00
Internação UTI2, N	Sim	15	276	0,99	0,95 – 1,04	1,00
Internação UTI3, N	Sim	11	205			

IC: intervalo de confiança; IG - Idade gestacional ; RPMO - rotura de membranas ovulares; SAM - síndrome aspiração de mecônio; IOT - intubação orotraqueal ;VPP - ventilação com pressão positiva; NPP - nutrição parenteral.

Tabela 8 - Análise multivariada para o desfecho colonização por MRSA em RN UTIN 2/3 do HMSJ no ano de 2018.

Variável	Odds Ratio	95% CI	p
Idade Gestacional	-	0,90 – 1,03	0,26
NPP	3,50	1,07 – 11,39	**0,045**
VPP	1,27	0,51 – 3,15	0,60
Canguru	0,85	0,31 – 2,31	0,76
Cirurgia	2,10	0,89 – 5,30	0,08
Corticóide	1,70	0,62 – 4,90	0,63
Transfusão	0,70	0,20 – 2,30	0,56
Antibiótico	2,04	0,69 – 5,99	0,19
Leite Pasteurizado	1,21	0,36 – 4,00	0,75

IC- intervalo de confiança; VPP - ventilação com pressão positiva; NPP - nutrição parenteral.

Dentre os RN colonizados por *S. aureus*, 52 (77,6%) foram submetidos a um ciclo completo de descolonização e avaliados em relação ao sucesso da descolonização. Destes 44 (84,6%) apresentaram pesquisa de colonização negativa até alta. A taxa de sucesso após 1 ciclo de descolonização foi de 81,2% para MSSA e 90% para MRSA.

Oito (15,4%) RN permaneceram colonizados após o primeiro ciclo. Destes, 1 RN (MSSA) descolonizou após o segundo ciclo e 7 RN (5 MSSA/ 2 MRSA) voltaram a apresentar colonização positiva durante a internação mesmo após o segundo ciclo.

Não foram observados efeitos adversos secundários ao uso da mupirocina ou da clorexidina em nenhum dos RN descolonizados.

Perfil de colonização por *S. aureus* nos pais

Trezentos e quarenta RN tiveram pelo menos um de seus pais pesquisados quanto à colonização no momento de sua admissão. Foram avaliados 290 mães e 244 pais, sendo positivos para MSSA 29 (10%) das mães e 60 (24,6%) dos pais e colonização por MRSA somente uma mãe (0,34%) e um pai (0,40%).

Os pais colonizados por MRSA foram descolonizados e ambos apresentaram pesquisa negativa após uma semana da descolonização. Entre os pais, 13 casais estavam colonizados, 12 casais ambos com MSSA e 1 casal com colonização discordante.

Durante o seguimento, dos 67 RN que se colonizaram com *S. aureus*, somente 5 RN tinham um dos pais colonizados, todos por MSSA.

Na tabela 8 estão descritas as características das mães (290) com pesquisa de colonização para *S. aureus*.

Tabela 9. Características das mães (290) pesquisadas quanto a colonização por *S. aureus* de RN internados nas UTIN2/3 do HMSJ em 2018.

	Negativas (260)			Colonizadas S.aureus (30)		
	Média	**(Intervalo)**	**Mediana**	**Média**	**(Intervalo)**	**Mediana**
Idade (anos)	32,7	(20-44)	33	34,6	(22-42)	34
Número de gestações	1,85	(1-7)	2	1,67	(1-3)	2
Número de abortos	0,34	(0-6)	0	0,2	(0-1)	0
Dias de internação antes do parto	3,33	(0-68)	0	5,27	(0-64)	0
Nº de pessoas residentes no domicílio	2,73	(2-5)	3	2,6	(2-5)	2
		N	**%**		**N**	**%**
Parto Urgência		159	61,15%		24	80%
Gestação natural		249	95,77%		29	96,67%
Fertilização in vitro		11	4,23%		1	3,33%
Cesariana		241	92,69%		28	93,33%
Lesão de pele		18	6,92%		4	13,33%
Cerclagem		8	3,08%		0	0%
Pessário		6	2,31%		0	0%
Corioamnionite		9	3,46%		0	0%
Rinossinusite		60	23,08%		8	26,67%

Procedimento invasivo materno/fetal antes do parto	13	5,00%	2	6,67%
Tempo RMO ≥18 horas	8	3,08%	2	6,67%
Colonização EGB parto positiva	25	9,62%	5	16,67%
Uso de ATM até 30 dias do parto	24	9,23%	1	3,33%
Internação hospitalar até 1 ano do parto	47	18,08%	7	23,33%
Tabagismo	1	0,38%	0	0%
Etilismo	1	0,38%	0	0%
Presença de Comorbidades	62	23,85%	6	20%

A comorbidade mais prevalente entre as mães foi DHEG (33,45%) e algumas possuíam mais de 1 comorbidade. Nenhuma das mães era positiva para HIV. Todas negaram uso de drogas endovenosas. A única variável identificada como fator de risco para colonização da mãe foi a idade (p = 0,04) .

Na tabela 9, estão descritas as características dos pais pesquisados quanto a colonização para *S. aureus*.

Tabela 10. Características dos pais (244) pesquisados quanto a colonização por *S. aureus* de RN internados nas UTIN2/3 do HMSJ em 2018.

	Não colonizados (183)		**Colonizados S.aureus (61)**	
Presença de barba	48	26,23%	19	31,15%
Rinossinusite	36	19,67%	13	21,31%
Comorbidades	24	13,11%	8	13,11%
Lesões de pele	18	9,84%	8	13,11%
Uso de ATM até 30 dias antes do parto	11	6,01%	5	8,20%
Internação hospitalar até 1 ano do parto	4	2,19%	2	3,28%
Tabagismo	26	14,21%	8	13,11%
Etilismo crônico	18	9,84%	9	14,75%

ATM - Antimicrobiano

Não houve nenhuma variável associada com colonização por *S. aureus* nos pais.

Perfil de colonização por *S. aureus* nos profissionais de saúde

No mês de janeiro de 2018, foram pesquisados quanto à colonização 170 profissionais de saúde através de biologia molecular por PCR para *S. aureus* pelo Xpert SA Nasal Complete. Concomitantemente foram realizadas culturas de todas as amostras. Os resultados por ambas metodologias estão descritos na tabela 10.

Tabela 11. Resultados das amostras de swab para pesquisa de *S. aureus* identificadas pelo geneXpert e cultura convencional nos profissionais de saúde (170) das UTIN2/3 do HMSJ em janeiro/18.

Resultado	PCR gene Xpert	Cultura convencional
Negativo	74 (43,5%)	106 (62,3%)
MSSA	85 (50%)	55 (32,3%)
MRSA	11 (6,5%)	9 (5,2%)

Foram pesquisados 80 profissionais da UTIN2, sendo a taxa de colonização para MRSA de 6,3% e MSSA 42,5%. Na UTIN3 foram avaliados 90 profissionais sendo 6,7% colonizados por MRSA e 56,7% para MSSA.

Os 11 profissionais colonizados por MRSA foram descolonizados. Nove (82%) foram descolonizados após um ciclo e dois somente após o segundo ciclo.

No ano de 2019 foram pesquisados 154 profissionais de saúde, por meio de cultura para *S. aureus*. Foram positivos 3 (2%) profissionais para MRSA e 38 (24,6%) para MSSA.

Foram avaliados 72 profissionais da UTIN2 com 2,7% de colonizados por MRSA e 19,5% colonizados por MSSA. Na UTIN3 do total de 82 pesquisados houve 1,2 % de colonização por MRSA e 29,3% por MSSA.

A avaliação das características dos profissionais de saúde pesquisados em 2019, estão descritas na tabela 11.

Tabela 12. Características dos profissionais de saúde (154) da UTIN2/3 do HMSJ pesquisados quanto a colonização por *S. aureus* em janeiro/19.

	Não colonizado (113)		Colonizado S.aureus (41)	
Comorbidades	11	9,73%	7	17,07%
Rinite	41	36,28%	10	24,39%
Doença de pele	9	7,96%	1	2,44%
Lesão nas mãos/ressecamento	1	0,88%	1	2,44%
Tabagismo	1	0,88%	1	2,44%
Etilismo	1	0,88%	21	51,22%
Assistência RN colonizado	47	41,59%	1	2,44%
Uso de antimicrobiano últimos 30 dias	8	7,08%	1	2,44%
Internação hospitalar último ano	10	8,85%	3	7,32%
Trabalha em outra instituição	20	17,70%	11	26,83%

Entre os profissionais colonizados, a média foi de 2,9 pessoas habitando o mesmo domicílio, com mediana 3 pessoas (1-6). Não houve nenhuma variável associada com colonização por *S. aureus* entre os profissionais de saúde.

Os três profissionais colonizados por MRSA tiveram pesquisa negativa em cultura para *S. aureus*, após 1 ciclo de descolonização.

Oitenta e sete profissionais participaram de ambas pesquisas de 2018 e 2019. Dentre os colonizados por MRSA, 2 técnicos de enfermagem tiveram pesquisa positiva em 2018; um manteve a colonização positiva em 2019 e outro apresentou colonização por MSSA. Entre os colonizados por MSSA, 15 foram positivos em ambos os anos.

Avaliação das cepas de MRSA dos RN, pais e profissionais de saúde

Foram analisadas 29 amostras de MRSA, sendo 19 amostras de RN, uma de pai, uma de mãe e oito de profissionais de saúde. Todas foram positivas para a presença do gene mecA. Das amostras avaliadas dos RN, uma foi correspondente a infecção (sangue) e 18 amostras de swab nasal.

Em relação a determinação do tipo de SCCmec, foi possível a identificação em 18/29 (62%) dos isolados. O SCCmec mais prevalente foi o tipo I.

Entre a população neonatal, sete (37%) dos isolados evidenciaram SCCmec tipo I, quatro (21%) tipo V , dois (10,5%) tipo IVa, um (5,2%) tipo III, cinco (26,3%) não tipado. O isolado materno correspondeu ao SCCmec tipo V e o do pai não foi tipado. Entre as oito amostras dos profissionais de saúde, foram duas (25%) SCCmec tipo IVa, uma (12,5%) tipo V e cinco (62,5%) não tipadas.

Análise do polimorfismo do DNA por PFGE dos isolados de MRSA

Um total de 29 amostras de 37 isolados de MRSA foram incluídos na análise do PFGE. Foram identificados 16 tipos de pulsed field type (PFT) cada um identificado por uma letra maiúscula. Definimos com cluster o grupo de PFT com mais de quatro amostras. Circularam 3 clusters predominantes de MRSA: A (4 amostras), B (4 amostras) e E (5 amostras). Dos 16 PFT circulantes, 14 foram identificados entre os RN e três (A,B e J) foram isolados em ambas as UTIN.

A amostra da mãe colonizada, apresentou PFT (A) similar a outros três RN, com a amostra de seu filho negativa. A amostra do pai colonizado apresentou PFT (F) similar a um RN, também com amostra de seu filho negativa.

Entre os oito profissionais de saúde, foram identificados 3 PFT diferentes: cinco PFT (E) , dois PFT (C) e um PFT (G). Os diferentes PFT dos PS não foram similares a de nenhum RN.

Pesquisa de genes de resistência e virulência dos isolados de MRSA

Das 29 amostras de MRSA, 25 (86,2%) foram positivas para LukDe, uma foi positiva para toxina da síndrome do choque tóxico (TSST) e todas negativas para Panton Valentine (PVL).

Perfil de sensibilidade a clorexidina e mupirocina dos isolados de MRSA

Dentre as cepas de MRSA isoladas de RN, pais e PS, não houve nenhuma amostra com resistência a clorexidina. A CIM das amostras variou de 1 a 4 µg/ml. Dentre as cepas estudadas, a CIM das amostras variou de 1- 4 µg/ml, sendo 10

amostras com CIM 1 µg/ml ; 15 com CIM 2 µg/ml e 4 com CIM 4 µg/ml. Das cepas com CIM 4 µg/ml, três foram isoladas nos RN e 1 em profissional de saúde.

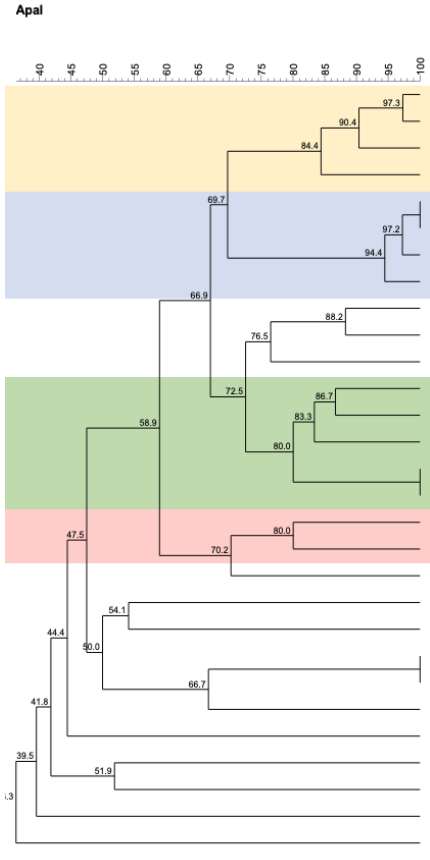
Nas quatro amostras, com CIM de 4 µg/ml, após adição de CCCP, os isolados tiveram redução de CIM de 4 para 0,25 µg/ml.

Nenhum dos 29 isolados de MRSA foi resistente à mupirocina.

Dentre os profissionais de saúde colonizados por MRSA, 1 técnico de enfermagem teve pesquisa positiva em 2018 e 2019. Em ambas as ocasiões a CIM para clorexidina das amostras foi de 2 µg/mL, sem resistência à mupirocina. Ambos apresentaram o mesmo perfil de PFT.

A Figura 6, mostra a distribuição dos padrões de PFGE das amostras de MRSA, descritas entre os RN, pais e profissionais de saúde.

Figura 6. Dendrograma gerado a partir dos diferentes perfis eletroforéticos gerados por PFGE de 29 isolados de MRSA de RN, pais e profissionais de saúde.



Isolado	PFT	Amostra	Unidade	Data	Infecção	Colonização	Clorexidna (µg/mL)	Clorexidina + CCCP (µg/mL)	Mupirocina (mm)	Sccmec	Virulência *Luk* DE	*TSST*	*PVL*
5247	A	RN3	UTI3	05/03/18	-	Swab Nasal	1	-	37	NT	1	0	0
5230	A	RN6	UTI2	12/03/18	-	Swab Nasal	1	-	35	I	1	0	0
5330	A	MÃE	UTI2	17/05/18	-	Swab Nasal	1	-	41	V	0	0	0
5394	A	RN8	UTI3	06/08/18	-	Swab Nasal	2	-	41	NT	1	0	0
5221	B	RN2	UTI3	14/03/18	-	Swab Nasal	1	-	30	I	1	0	0
5220	B	RN1	UTI3	14/03/18	-	Swab Nasal	1	-	32	I	1	0	0
5417	B	RN3	UTI3	20/08/18	-	Swab Nasal	2	-	40	III	1	0	0
5576	B	RN4	UTI2	15/11/18	-	Swab Nasal	2	-	22	V	1	0	0
5597	C	TE	UTI2	08/01/19	-	Swab Nasal	4	<0,25	17	V	1	0	0
5599	C	TE	UTI3	08/01/19	-	Swab Nasal	2	-	31	IVa	1	0	0
5237	D	RN5	UTI3	05/03/18	-	Swab Nasal	2	-	16	I	1	0	0
5596	E	TE	UTI2	08/01/19	-	Swab Nasal	2	-	31	NT	1	0	0
5161	E	FS	UTI2	10/01/18	-	Swab Nasal	2	-	30	NT	1	0	0
5173	E	FS	UTI3	10/01/18	-	Swab Nasal	2	-	30	NT	1	0	0
5169	E	TE	UTI2	10/01/18	-	Swab Nasal	2	-	26	NT	1	0	0
5215	E	TE	UTI2	10/01/18	-	Swab Nasal	2	-	30	NT	1	0	0
5387	F	RN9	UTI2	06/08/18	-	Swab Nasal	1	-	41	NT	1	0	0
5388	F	PAI	UTI2	01/08/18	-	Swab Nasal	1	-	40	NT	1	0	0
5177	G	TE	UTI3	10/01/18	-	Swab Nasal	2	-	40	IVa	1	0	0
5350	H	RN11	UTI2	09/05/18	-	Swab Nasal	1	-	42	NT	0	1	0
5236	I	RN10	UTI3	05/03/18	-	Swab Nasal	2	-	18	I	0	0	0
5546	J	RN13	UTI2	15/11/18	-	Swab Nasal	2	-	22	V	1	0	0
5233	J	RN12	UTI3	05/03/18	Sangue	-	1	-	33	I	1	0	0
5430	K	RN14	UTI3	06/08/18	-	Swab Nasal	2	-	42	V	1	0	0
5389	L	RN15	UTI2	13/08/18	-	Swab Nasal	4	<0,25	37	IVa	1	0	0
5419	M	RN18	UTI2	06/08/18	-	Swab Nasal	2	-	40	IVa	1	0	0
5243	N	RN17	UTI2	05/03/18	-	Swab Nasal	4	<0,25	35	I	1	0	0
5241	O	RN16	UTI2	05/03/18	-	Swab Nasal	4	<0,25	36	NT	0	0	0
5245	P	RN19	UTI3	05/03/18	-	Swab Nasal	1	-	29	V	1	0	0

1. O valor de cut-off para perfis e clusters de PFGE foi fixado em 80% de similaridade; tolerância e otimização de 0,7%; método de clusterização: UPGMA.
2. Perfil de genes de virulência detectados pelo método qualitativo PCR – genes luKDE, TSST, PVL.
3. Valor de CIM para Clorexidina.
4. Resistência à mupirocina - halo disco difusão.
5. TE – técnicos de enfermagem; FISIO – fisioterapeuta.

Cluster (A) - circulação entre mãe (filho não colonizado) e diferentes RN
Cluster (B) - circulação entre RN
Cluster (E) - circulação entre profissionais de saúde
PFT (F) - similaridade entre pai (filho não colonizado) e RN

Avaliação das cepas de MSSA

Foram analisadas 112 amostras de MSSA, sendo 32 de RN, 4 amostras de pais e 76 de profissionais de saúde. Somente as amostras de mãe e pai, cujo seu RN também era colonizado foram analisadas.

Na UTIN2 foram analisadas: 7 amostras de RN, 2 amostras de mães, 1 de pai e 32 de profissionais de saúde. Na UTIN3, foram 25 amostras de RN, 1 amostra de mãe e 44 profissionais de saúde.

Entre os RN, cinco foram amostras de infecção (sangue) e 27 de swab nasal foram analisadas. Um RN com IPCSL teve 2 amostras isoladas, sendo 1 de sangue periférico e 1 sangue de cateter.

Análise do polimorfismo do DNA por PFGE dos isolados de MSSA

Foram identificados 67 PFT diferentes entre as 112 amostras de MSSA avaliadas. Dentre os RN foram identificados 2 clusters predominantes de MSSA. Cluster H (4 amostras) e Cluster P1 (4 amostras).

A circulação do clone P1 foi identificada no mês de março , configurando um surto na UTIN3, porém não houve persistência da circulação deste clone na UTIN ao longo de um ano do seguimento.

Entre os profissionais de saúde, foram identificados 3 clusters principais, Cluster E (5 amostras), Cluster K (4 amostras) e Cluster M (4 amostras).

Somente 2 amostras de PFT dos profissionais de saúde foram as mesmas identificadas em RN. Um de técnico da UTIN2 e RN da UTIN3 , PFT (A) e uma enfermeira da UTIN3 com dois RN, um da UTIN2 e um da UTIN3 PFT (G).

A figura 7, mostra a distribuição dos padrões de PFGE das amostras de MSSA, descritas entre os RN, pais e profissionais de saúde.

Dentre todos os RN que se colonizaram com *S. aureus*, 5 RN tinham um dos pais colonizados, todos por MSSA. Foram recuperados para análise 3 amostras de MSSA. Os RN foram classificados como RN 1, 2 e 3. Todos os RN tiveram PFT

diferente de seus próprios pais. Houve correspondência entre os PTF de amostras de pais e mães que não formavam casais.

A distribuição dos padrões de PFGE das amostras de MSSA, coletadas de pais e RN podem ser observadas na Figura 8.

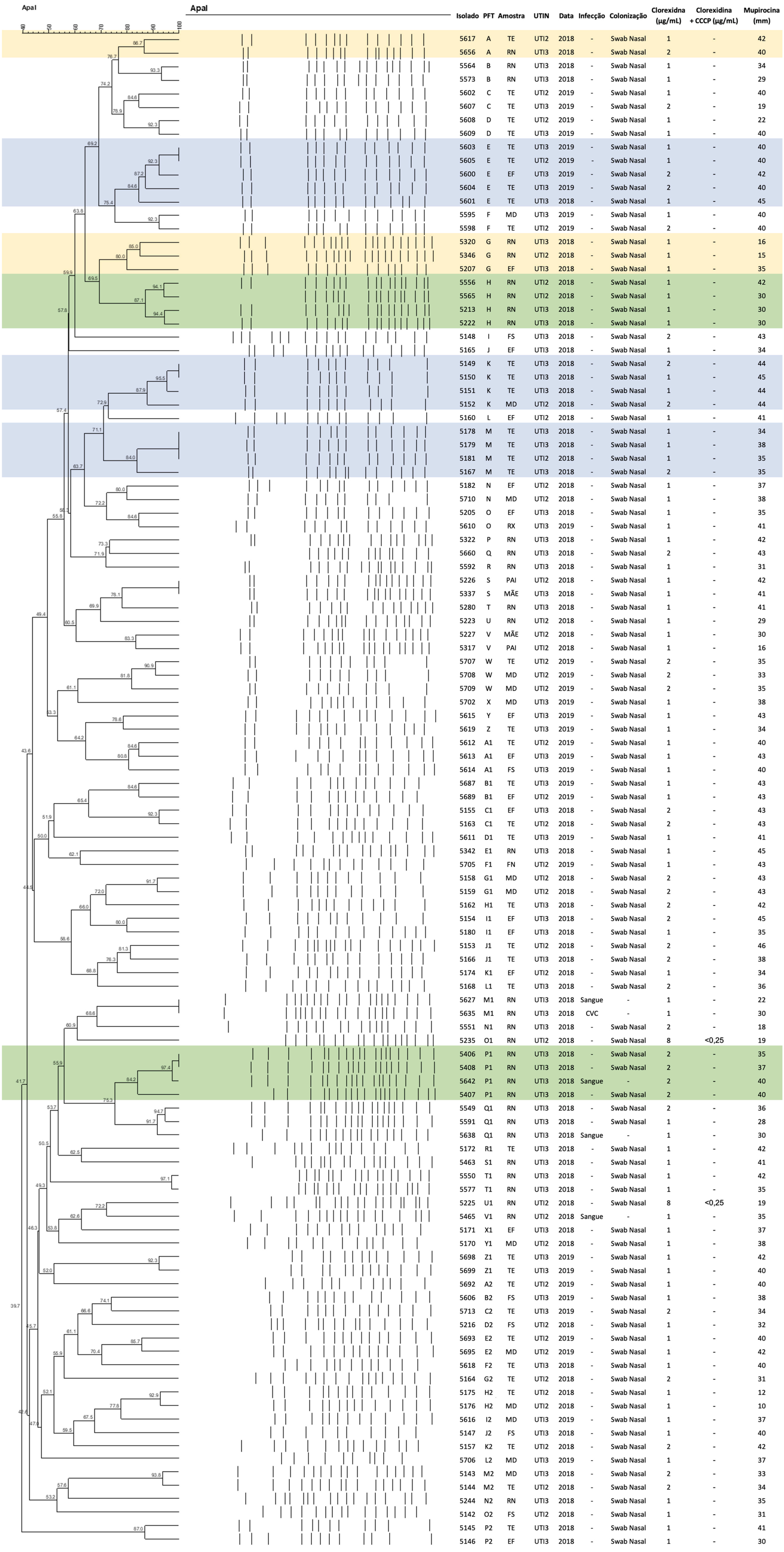
Perfil de sensibilidade a clorexidina e mupirocina dos isolados de MSSA

Dentre as cepas de MSSA isoladas, a CIM das amostras variou de 1- 8 µg/ml, sendo 77 amostras com CIM 1 µg/ml ; 33 com CIM de 2 µg/ml e duas com CIM 8 µg/ml. Ambas as cepas com CIM 8 µg/ml, consideradas resistentes para clorexidina, foram isoladas em RN.

Após adição de CCCP às amostras com CIM 8 µg/ml, ambas tiveram redução de CIM de 8 para 0,25 µg/ml. Entre os profissionais de saúde colonizados por MSSA, 15 foram positivos em ambos os anos. Porém os PFT foram diferentes. Somente 1 médico , apresentou mesmo PFT em ambos os anos.

Nenhum dos isolados de MSSA dos RN, pais e profissionais de saúde foi resistente à mupirocina.

Figura 7. Dendrograma com os perfis eletroforéticos gerados por PFGE de 76 isolados de MSSA de RN, pais e profissionais da saúde.

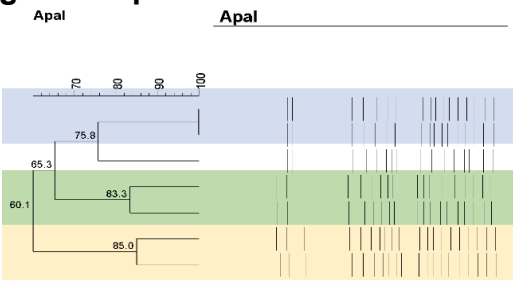


Isolado	PFT	Amostra	UTIN	Data	Infecção	Colonização	Clorexidna (µg/mL)	Clorexidina + CCCP (µg/mL)	Mupirocina (mm)
5617	A	TE	UTI2	2018	-	Swab Nasal	1	-	42
5656	A	RN	UTI3	2018	-	Swab Nasal	2	-	40
5564	B	RN	UTI3	2018	-	Swab Nasal	1	-	34
5573	B	RN	UTI3	2018	-	Swab Nasal	1	-	29
5602	C	TE	UTI2	2019	-	Swab Nasal	1	-	40
5607	C	TE	UTI3	2019	-	Swab Nasal	2	-	19
5608	D	TE	UTI2	2019	-	Swab Nasal	1	-	22
5609	D	TE	UTI3	2019	-	Swab Nasal	1	-	40
5603	E	TE	UTI3	2019	-	Swab Nasal	1	-	40
5605	E	TE	UTI2	2019	-	Swab Nasal	1	-	40
5600	E	EF	UTI3	2019	-	Swab Nasal	2	-	42
5604	E	TE	UTI3	2019	-	Swab Nasal	2	-	40
5601	E	TE	UTI3	2018	-	Swab Nasal	1	-	45
5595	F	MD	UTI3	2019	-	Swab Nasal	1	-	40
5598	F	TE	UTI2	2019	-	Swab Nasal	2	-	40
5320	G	RN	UTI3	2018	-	Swab Nasal	1	-	16
5346	G	RN	UTI2	2018	-	Swab Nasal	1	-	15
5207	G	EF	UTI3	2018	-	Swab Nasal	1	-	35
5556	H	RN	UTI2	2018	-	Swab Nasal	1	-	42
5565	H	RN	UTI2	2018	-	Swab Nasal	1	-	30
5213	H	RN	UTI3	2018	-	Swab Nasal	1	-	30
5222	H	RN	UTI3	2018	-	Swab Nasal	1	-	30
5148	I	FS	UTI3	2018	-	Swab Nasal	2	-	43
5165	J	EF	UTI3	2018	-	Swab Nasal	1	-	34
5149	K	TE	UTI3	2018	-	Swab Nasal	2	-	44
5150	K	TE	UTI3	2018	-	Swab Nasal	1	-	45
5151	K	TE	UTI3	2018	-	Swab Nasal	1	-	44
5152	K	MD	UTI2	2018	-	Swab Nasal	2	-	44
5160	L	EF	UTI2	2018	-	Swab Nasal	1	-	41
5178	M	TE	UTI3	2018	-	Swab Nasal	1	-	34
5179	M	TE	UTI3	2018	-	Swab Nasal	1	-	38
5181	M	TE	UTI2	2018	-	Swab Nasal	1	-	35
5167	M	TE	UTI3	2018	-	Swab Nasal	2	-	35
5182	N	EF	UTI2	2018	-	Swab Nasal	1	-	37
5710	N	MD	UTI2	2018	-	Swab Nasal	1	-	38
5205	O	EF	UTI3	2018	-	Swab Nasal	1	-	35
5610	O	RX	UTI3	2019	-	Swab Nasal	1	-	41
5322	P	RN	UTI3	2018	-	Swab Nasal	1	-	42
5660	Q	RN	UTI3	2018	-	Swab Nasal	2	-	43
5592	R	RN	UTI3	2018	-	Swab Nasal	1	-	31
5226	S	PAI	UTI2	2018	-	Swab Nasal	1	-	42
5337	S	MÃE	UTI3	2018	-	Swab Nasal	1	-	41
5280	T	RN	UTI3	2018	-	Swab Nasal	1	-	41
5223	U	RN	UTI2	2018	-	Swab Nasal	1	-	29
5227	V	MÃE	UTI2	2018	-	Swab Nasal	1	-	30
5317	V	PAI	UTI2	2018	-	Swab Nasal	1	-	16
5707	W	TE	UTI2	2019	-	Swab Nasal	2	-	35
5708	W	MD	UTI2	2019	-	Swab Nasal	2	-	33
5709	W	MD	UTI2	2019	-	Swab Nasal	2	-	35
5702	X	MD	UTI3	2019	-	Swab Nasal	1	-	38
5615	Y	EF	UTI3	2019	-	Swab Nasal	1	-	43
5619	Z	TE	UTI3	2019	-	Swab Nasal	1	-	34
5612	A1	TE	UTI2	2019	-	Swab Nasal	1	-	40
5613	A1	EF	UTI3	2019	-	Swab Nasal	1	-	43
5614	A1	FS	UTI3	2019	-	Swab Nasal	1	-	40
5687	B1	TE	UTI3	2019	-	Swab Nasal	1	-	43
5689	B1	EF	UTI2	2019	-	Swab Nasal	1	-	43
5155	C1	EF	UTI3	2018	-	Swab Nasal	2	-	43
5163	C1	TE	UTI2	2018	-	Swab Nasal	2	-	43
5611	D1	TE	UTI3	2019	-	Swab Nasal	1	-	41
5342	E1	RN	UTI3	2018	-	Swab Nasal	1	-	45
5705	F1	FN	UTI2	2019	-	Swab Nasal	1	-	43
5158	G1	MD	UTI2	2018	-	Swab Nasal	2	-	43
5159	G1	MD	UTI2	2018	-	Swab Nasal	2	-	43
5162	H1	TE	UTI3	2018	-	Swab Nasal	2	-	42
5154	I1	EF	UTI3	2018	-	Swab Nasal	2	-	45
5180	I1	EF	UTI3	2018	-	Swab Nasal	1	-	35
5153	J1	TE	UTI2	2018	-	Swab Nasal	2	-	46
5166	J1	TE	UTI3	2018	-	Swab Nasal	2	-	38
5174	K1	EF	UTI2	2018	-	Swab Nasal	1	-	34
5168	L1	TE	UTI3	2018	-	Swab Nasal	2	-	36
5627	M1	RN	UTI3	2018	Sangue	-	1	-	22
5635	M1	RN	UTI3	2018	CVC	-	1	-	30
5551	N1	RN	UTI3	2018	-	Swab Nasal	2	-	18
5235	O1	RN	UTI2	2018	-	Swab Nasal	8	<0,25	19
5406	P1	RN	UTI3	2018	-	Swab Nasal	2	-	35
5408	P1	RN	UTI3	2018	-	Swab Nasal	2	-	37
5642	P1	RN	UTI3	2018	Sangue	-	2	-	40
5407	P1	RN	UTI3	2018	-	Swab Nasal	2	-	40
5549	Q1	RN	UTI3	2018	-	Swab Nasal	2	-	36
5591	Q1	RN	UTI3	2018	-	Swab Nasal	1	-	28
5638	Q1	RN	UTI3	2018	Sangue	-	1	-	30
5172	R1	TE	UTI3	2018	-	Swab Nasal	1	-	42
5463	S1	RN	UTI3	2018	-	Swab Nasal	1	-	41
5550	T1	RN	UTI3	2018	-	Swab Nasal	1	-	42
5577	T1	RN	UTI3	2018	-	Swab Nasal	1	-	35
5225	U1	RN	UTI2	2018	-	Swab Nasal	8	<0,25	19
5465	V1	RN	UTI2	2018	Sangue	-	1	-	35
5171	X1	EF	UTI3	2018	-	Swab Nasal	1	-	37
5170	Y1	MD	UTI2	2018	-	Swab Nasal	1	-	38
5698	Z1	TE	UTI3	2019	-	Swab Nasal	1	-	42
5699	Z1	TE	UTI3	2019	-	Swab Nasal	1	-	40
5692	A2	TE	UTI2	2019	-	Swab Nasal	1	-	40
5606	B2	FS	UTI3	2019	-	Swab Nasal	1	-	38
5713	C2	TE	UTI3	2019	-	Swab Nasal	2	-	34
5216	D2	FS	UTI2	2018	-	Swab Nasal	1	-	32
5693	E2	TE	UTI2	2019	-	Swab Nasal	1	-	40
5695	E2	MD	UTI2	2019	-	Swab Nasal	1	-	42
5618	F2	TE	UTI3	2018	-	Swab Nasal	1	-	40
5164	G2	TE	UTI2	2018	-	Swab Nasal	2	-	31
5175	H2	TE	UTI2	2018	-	Swab Nasal	1	-	12
5176	H2	MD	UTI2	2018	-	Swab Nasal	1	-	10
5616	I2	MD	UTI3	2019	-	Swab Nasal	1	-	37
5147	J2	FS	UTI3	2018	-	Swab Nasal	1	-	40
5157	K2	TE	UTI2	2018	-	Swab Nasal	2	-	42
5706	L2	MD	UTI3	2019	-	Swab Nasal	1	-	37
5143	M2	MD	UTI3	2018	-	Swab Nasal	2	-	33
5144	M2	TE	UTI2	2018	-	Swab Nasal	2	-	34
5244	N2	RN	UTI3	2018	-	Swab Nasal	1	-	35
5142	O2	FS	UTI2	2018	-	Swab Nasal	1	-	31
5145	P2	TE	UTI3	2018	-	Swab Nasal	1	-	41
5146	P2	EF	UTI3	2018	-	Swab Nasal	1	-	30

PFT (A, G) - similaridade entre RN e profissionais de saúde
Cluster (E,K,M) - circulação entre profissionais de saúde
Cluster (H,P1) - circulação entre RN

1. O valor de cut-off de perfis e clusters de PFGE foi fixado em 80% de similaridade, tolerância e otimização de 0,7%; método de clusterização: UPGMA.
2. Perfil de genes de virulência detectados pelo método qualitativo PCR – genes luKDE, TSST, PVL.
3. Valor de CIM para Clorexidina.
4. Valor de CIM para Clorexidina + CCCP (µg/mL)
5. Resistência à mupirocina – halo disco difusão.
6. Sangue: amostra de sangue periférico; sangue CVC: amostra de sangue coletada pelo acesso venoso central.
7. TE: técnicos de enfermagem; FISIO: fisioterapeuta; ENF: enfermagem; MD: Médico; FS: Fisioterapeuta; EF; Enfermeiro; FN: Fonoaudiólogo.

Figura 8. Dendrograma gerado a partir dos diferentes perfis eletroforéticos gerados por PFGE de 7 isolados de MSSA de RN e pais.



Isolado	PFT	Amostra	Data	Colonização	Clorexidna (µg/mL)	Clorexidina + CCCP (µg/mL)	Mupirocina (mm)
5226	A	Pai RN 1	13/03/18	Swab Nasal	1	-	42
5337	A	Mãe RN 3	09/05/18	Swab Nasal	1	-	41
5223	B	RN 1	05/03/18	Swab Nasal	1	-	29
5227	C	Mãe RN 1	13/03/18	Swab Nasal	1	-	30
5317	C	Pai RN 2	21/05/18	Swab Nasal	1	-	16
5320	D	RN 3	06/05/18	Swab Nasal	1	-	16
5346	D	RN 2	30/05/18	Swab Nasal	1	-	15

PFT (A) - similaridade entre pai e mãe de diferentes RN
PFT (C) - similaridade entre pai e mãe de diferentes RN
PFT (D) - similaridade entre RN

1. O valor de cut-off para definir perfis e clusters de PFGE foi fixado em 80% de similaridade; tolerância e otimização de 0,7%; método de clusterização: UPGMA).
2. Valor de CIM para Clorexidina.
3. Resistência à mupirocina – halo disco difusão.

6. Discussão

6. Discussão

Neste estudo, houve uma tendência à significância na redução da densidade de infecção para *S. aureus*, após mudança na rotina de banho com clorexidina 2% e a manutenção das precauções de contato para MRSA durante toda a internação.

Uma hipótese é que a aplicação da clorexidina através da toalha, implicou em uma concentração mais homogênea no corpo contribuindo para redução da flora transitória e a não remoção através de enxágue, garantiu um efeito residual na pele do RN. Um estudo randomizado em uma UTIN de Bangladesh, comparou através de culturas quantitativas de pele a atividade da clorexidina. Os RN que receberam banho com água, apresentaram colonização da pele após 2 horas. Nos que receberam banho com toalha embebida com clorexidina 0,25%, as taxas positivas de cultura de pele permaneceram significativamente mais baixas do que as taxas basais por 24 horas a 3 dias (DARMSTADT *et al*, 2007). O uso da clorexidina líquida permite variabilidade nas práticas de aplicação pelo profissional de saúde, sem garantia de concentração adequada. A frequência do banho também precisa ser melhor estudada. O uso prolongado de antissépticos em baixas concentrações nas UTIN, pode levar a seleção de cepas com suscetibilidade anti-séptica reduzida e representam uma preocupação (SETHI *et al*, 2021). A principal desvantagem do uso da toalha com clorexidina é o alto custo, comparado a clorexidina líquida.

Outro foco deste estudo, foi a manutenção das precauções de contato para MRSA durante toda internação, ao invés da suspensão baseada em culturas. As precauções de contato são recomendadas como parte de um pacote e podem contribuir evitando a transmissão a partir de pacientes com colonização recorrente. (COOPER *et al*, 2004; AKINBOYO *et al*, 2020). Diversos estudos foram revisados e os critérios que devem ser adotados para a interrupção das precauções de contato para MRSA, é uma questão ainda não resolvida (CDC, 2020).

Dos RN avaliados durante o ano de 2018, a colonização por *S. aureus*, foi identificada em 13,2%, sendo 5,12% MRSA e 8% MSSA. Nenhum RN apresentou colonização na coleta de admissão logo após o nascimento. Os pais foram mais colonizados por MSSA (24,6%) quando comparado às mães (10%). Somente uma mãe (0,34%) e um pai (0,40%) estavam colonizados por MRSA.

No ano de 2018, 50% dos profissionais de saúde estavam colonizados por MSSA e 6,5% por MRSA. O PCR foi mais efetivo para identificar a colonização quando comparado a cultura. Em 2019, 24,6% tiveram colonização por MSSA e 2% por MRSA. O uso do PCR para detecção de colonizados foi mais sensível em relação à cultura tradicional para MSSA. Em uma situação de surto, onde é necessário maior agilidade de resultados para implantação de medidas de controle seu uso pode ser considerado. Uma limitação para implantação deste método diagnóstico na rotina é seu alto custo (PARHIZGAR *et al*, 2013; LUTEIJN *et al*, 2011; MOURA *et al*, 2022).

A prevalência de colonização por MRSA descrita pela literatura é variável entre as UTIN, dependendo de políticas de controle de infecção e prevalências na comunidade. Frequentemente a taxa de colonização em geral é avaliada durante surtos, o que pode distorcer as verdadeiras taxas endêmicas. Os estudos relatam taxas de colonização por MRSA entre 0,6% a 8,4% dos RN da UTIN (GERBER *et al*, 2006; HUANG *et al*, 2006; SAKAKI *et al*, 2009, GREGORY *et al*, 2009). Dados brasileiros mostram taxas de 2% (SALGUEIRO *et al*, 2019), 15% (GARCIA *et al*, 2014), 16,1% (PEREIRA *et al*, 2009) e 43% (VIEIRA *et al*, 2014). Em nossa casuística, a taxa de colonização por MRSA foi de 5,12%, mais baixa que as taxas relatadas no país, porém avaliada em um cenário endêmico com medidas de prevenção e controle já implantadas.

Neste estudo avaliamos também o papel do MSSA na UTIN e este foi o principal agente de colonização e causador de IRAS, sendo a IPCSL a mais prevalente. Outros estudos reportam os mesmos achados (SALGUEIRO *et al*, 2019; POPOOLA *et al*, 2016; ERICSON *et al*, 2015, CHO *et al,* 2020). Medidas agressivas de prevenção também são necessárias em um cenário de circulação de MSSA e

Nenhum RN apresentou colonização para *S. aureus* na pesquisa de admissão na UTIN logo após seu nascimento, mostrando que a transmissão vertical não foi um evento comum. Garcia e colaboradores, encontraram uma taxa de 10% de RN já colonizados por MRSA, logo após o nascimento (GARCIA *et al*, 2014). Um estudo avaliou a taxa de colonização vaginal por MRSA entre gestantes e encontrou 2,8% de colonização, discutindo a potencial fonte de transmissão ao RN (CHEN *et*

al, 2006). A transmissão vertical pode não ter ocorrido em nossa casuística visto o maior percentual de cesarianas em relação a partos vaginais.

Foram associados a colonização por MRSA, idade gestacional, peso de nascimento, apgar baixo no 1º minuto, VPP em sala de parto, uso de NPP, realização de cirurgia, uso de corticóide, antimicrobianos, transfusão de hemoderivados, leite pasteurizado e ter realizado canguru, porém, o único fator independente para colonização foi o uso de NPP. O uso de NPP é amplamente utilizado nas UTIN para manter a nutrição em RN instáveis que não toleram ou estão em progressão de dieta enteral, sendo administrado em geral através de um cateter venoso central. Fatores de risco pré-natal, como tipo de parto, ruptura prolongada de membranas e antibiótico materno não foram associados à colonização. O leite materno pasteurizado foi associado na univariada como fator de risco para colonização, porém os RN além do leite pasteurizado, também receberam outros tipos de leite concomitantemente, principalmente fórmula láctea.

Este estudo identificou fatores de risco para colonização por MRSA, similares aos descritos por outros autores como, prematuridade, idade gestacional, gestação múltipla, uso de VM, cirurgia, uso de CVC, gavagem, NPP e canguru (ZERVOU *et al*, 2014; GIUFFRE, *et al*, 2015). Entretanto, os fatores de risco para colonização são inconsistentes na literatura e divergem entre os estudos (CDC, 2020). Diferente do nosso estudo, idade gestacional, peso, apgar, cirurgias e NPP não foram associados como fator de risco para à colonização por MRSA (LAZENBY *et al*, 2012; KUO *et al*, 2014; WASHAM *et al*, 2018).

Um estudo de revisão sistemática e metanálise encontrou como fatores de risco para MRSA, somente a IG <32 semanas e peso <1.500 g (WASHAM *et al*, 2017).

A prática precoce do canguru pode reduzir o risco de infecção, ao colonizar o RN com a flora da pele materna e evitar a colonização com bactérias que circulam no ambiente da UTIN (BOUNDY *et al*, 2006). Sakaki e colaboradores, também encontraram a prática de canguru como um fator associado à colonização por MRSA, mas sugere que ainda é necessário mais estudos para determinar se este é realmente um fator associado (SAKAKI *et al*, 2009). Os RN colonizados que

realizaram canguru, também foram ao colo de suas mães, alguns realizaram canguru mais tardiamente devido a criticidade no início da vida.

O reconhecimento de fatores de risco são importantes para avaliar o que pode ser modificável e contribuir para recomendações relacionadas à prevenção da colonização e consequente infecção. Fatores intrínsecos a condições do RN como o idade gestacional, peso de nascimento, Apgar no 1º minuto, VPP em sala de parto, estão associadas a um maior tempo de permanência na UTIN, assim como maior necessidade de invasão para suporte. Estes fatores podem ser modificados através de uma melhor assistência ao pré-natal e ao parto.

Dentro das UTIN na assistência ao RN, o uso de corticóide, antimicrobianos, transfusão de hemoderivados, tempo de uso de CVC e NPP podem ser otimizados. O uso do leite materno cru deve ser incentivado, visto suas propriedades anti-infecciosas e benefícios comprovados, em relação ao pasteurizado (KITAJIMA *et al*, 2003).

Neste estudo, além das mães, os pais também foram avaliados em relação a sua colonização por *S. aureus* e apresentaram percentual maior de colonização. Apesar da mãe permanecer mais tempo em contato com seu RN na UTIN, a presença do pai não pode ser menosprezada quando se avalia possíveis fontes de colonização. Um estudo descreveu que os pais foram responsáveis pela transmissão direta de MRSA através do contato direto com seus filhos (AL-TAWFIQ *et al*, 2006). Neste estudo encontramos uma baixa taxa de colonização por MRSA entre os pais e mães. Até o momento a prevalência da colonização por MRSA na comunidade é desconhecida. (BES *et al*, 2018).

Os fatores de risco descritos para colonização por *S. aureus* na população geral, como presença de lesões de pele e uso prévio de antimicrobiano (GUSTAVE *et al*, 2018) não foram encontrados neste estudo. Em relação às mães, a idade foi relacionada. Esse achado, entretanto, precisa ser corroborado por outros estudos. Não houve correlação das variáveis de fatores de risco analisadas para os pais.

A prevalência de profissionais de saúde colonizados por *S. aureus* na literatura mundial varia amplamente, dependendo do país, especialidade e cenário endêmico. Uma revisão sistemática de 169 estudos com 33.318 profissionais de

saúde, descreveu que a taxa de colonização para MSSA foi de 23,7% e 4,6% MRSA (WERNER *et al*, 2008). Estudos brasileiros demonstram taxa de colonização por MRSA entre profissionais de saúde de 3,4% (GARCIA *et al*, 2014), 5,1% (GOMES *et al*, 2014), 7,1% (MOURA *et al*, 2011) e 16,8% (LUCAS *et al*, 2020). Neste estudo encontramos uma alta taxa de colonização para MSSA, entre os profissionais e taxa de MRSA mais próxima a dados reportados pela literatura nacional e internacionalmente. Não encontramos fatores associados à colonização dos profissionais de saúde, o que condiz com outros estudos (JEANES *et al*, 2005; OIE *et al*, 2002).

Diversos estudos demonstraram que protocolos de descolonização foram capazes de reduzir infecções por *S. aureus* (KHOURY *et al*, 2005; GERBER *et al*, 2006; VICTOR *et al*, 2016; HUANG *et al*, 2006; DELANEY *et al*, 2013; POPOOLA *et al*, 2016). Até o momento, entretanto, não foram encontrados estudos que compararam diferentes estratégias de descolonização em UTIN (CDC, 2020). Além da mupirocina e banho com clorexidina, neste estudo também utilizamos a clorexidina oral não alcoólica a 12 % na tentativa de descolonização da orofaringe. Petersen e colaboradores demonstraram que a orofaringe é um sítio importante de colonização além do sítio nasal, porém o uso da clorexidina oral, é uma questão discutível e não definida pela literatura (PETERSEN *et al ,* 2013).

Dentre os RN que foram submetidos a descolonização a taxa de sucesso foi de 81,2% para MSSA e 90% para MRSA. A taxa de infecção por *S. aureus* entre os RN colonizados foi de 15% e 0,9 % entre os não colonizados. Entre os RN que apresentaram falha na descolonização 87,5% apresentaram quadro infeccioso. Nossos dados são similares aos da literatura, que descreve a colonização por *S. aureus* como um precursor importante para a infecção, chegando a 34% a taxa de infecção entre colonizados. (HUANG *et al,* 2006; DELANEY *et al 2013;* HUANG *et al,* 2016, NURJADI *et a*l, 2021). Popoola e colaboradores demonstraram em um estudo que 38% dos RN descolonizados, voltaram a se colonizar durante a internação e que 16% desenvolveram infecção por MRSA (POPOOLA *et al,* 2016). Em nossa casuística observamos menor percentual de recolonização. Quatro RN com colonização negativa apresentaram infecção por *S. aureus*, não sendo possível descartar um falso negativo na cultura ou que a infecção possa ter ocorrido antes da identificação de uma colonização já instalada. Manter um programa de vigilância e

descolonização mesmo em local com baixas taxas de infecção pode reduzir o risco individual de infecções, que levam à alta morbidade nos RN.

Dentre os pais e profissionais de saúde que foram descolonizados para MRSA, ambos os pais e 82 % dos profissionais de saúde tiveram sucesso. A descolonização foi bem tolerada pelos RN, pais e profissionais, não sendo observados efeitos adversos secundários ao uso da mupirocina ou banho de clorexidina. Apesar da preocupação em relação aos protocolos de descolonização no RN , outros estudos também demonstraram eficácia e segurança (MOZZELLA *et al*, 2019; WISGRILL *et al*, 2017; RISTAGNO *et al*, 2018; POPOOLA *et al*, 2016; VOSKERTCHIAN *et al*, 2018; HUANG, 2015).

Em relação à clonalidade dos isolados de MRSA foram identificados 16 tipos diferentes de PFT circulando na UTIN, com circulação de 3 diferentes clusters predominantes entre RN e profissionais de saúde. Não houve similaridade de nenhum isolado de profissional de saúde e RN, evidenciando os profissionais não foram fonte direta de transmissão aos RN. Houve similaridade entre os isolados de MRSA de uma mãe com três RN e um pai com um RN, porém não seus filhos. Uma hipótese é que a vigilância pode ter falhado na identificação da colonização de RN de pais colonizados. Os pais representaram uma fonte indireta de transmissão de MRSA aos RN, possivelmente colonizando o ambiente da UTIN com posterior disseminação através das mãos dos profissionais de saúde.

O resultado deste estudo difere de outros que evidenciaram que os pais foram fonte direta de transmissão aos seus bebês. Em uma investigação de surto de MRSA, a disseminação na UTIN ocorreu devido à transmissão direta do agente da mãe aos seus quadrigêmeos, que se tornaram fontes de *S. aureus* dentro da unidade. (MOREL *et al*, 2002). Um estudo randomizado controlado, demonstrou que 56,8% dos RN colonizados por *S. aureus* tinham cepas idênticas a de seus pais e que a descolonização dos pais, reduziu a colonização por cepas concordantes nos RN. Este estudo sugere que a descolonização dos pais na admissão do RN pode reduzir a circulação do *S. aureus* nas UTIN (MILSTONE *et al*, 2020). É importante que outros serviços avaliem a dinâmica da circulação do *S. aureus* para compreender melhor onde focar esforços na prevenção. Uma estratégia de descolonização dos pais não parece ser útil em nossa UTIN, porém reforçar adesão

às práticas de precaução, garantir adesão à higiene de mãos e limpeza do ambiente fazem sentido em nosso contexto. Outro ponto importante discutido por Zachariah e colaboradores é sobre o impacto que a descolonização dos pais pode gerar de estresse e insegurança, em fazê-los acreditar serem transmissores de *S.aureus* aos seus bebês. Esse fato poderia deixá-los desconfortáveis e com medo de participar do cuidado ao seu filho, prejudicando medidas tão incentivadas nas UTIN como o contato pele a pele e a realização de canguru (ZACHARIAH *et al,* 2020).

Dentre os isolados de MSSA, encontramos um grande número de diferentes PFT circulantes (67), formando clusters distintos entre profissionais de saúde e RN. Não houve similaridade entre os isolados de RN e seus pais. Houve similaridade entre os isolados de profissional de saúde e RN. Estes profissionais podem ter sido fonte direta de transmissão ao RN, visto que a colonização dos profissionais foi identificada antes da admissão dos RN na UTIN. Apesar desta similaridade entre esses isolados, estas cepas não foram foco de disseminação para toda a UTIN, sugerindo outros reservatórios bacterianos adicionais dentro da unidade. Neste estudo identificamos a circulação temporal do PFT P1 entre os RN, o que representou um surto na UTIN3, mas não houve persistência na disseminação desta cepa. Chon e colaboradores, encontraram os mesmos achados em seu estudo, onde a diversidade clonal dentro da UTIN foi maior para MSSA do que MRSA, sugerindo que o MSSA tem uma cadeia de transmissão mais complexa (CHON, *et al,* 2020).

O papel dos profissionais de saúde na cadeia de transmissão de *S. aureus* ainda não está claro e permanece discutível. Em geral, os profissionais são investigados em situações de surto (FACCONE *et al*, 2014; SCHEITHAUER *et al*, 2014; RICHTER *et al*, 2018; KURODA *et al*, 2001; HAWKIN et al, 2011; HALL *et al*, 2012) e quando colonizados, fica a questão se eles são a fonte ou foram colonizados a partir dos pacientes (ALBRICH *et al*, 2008).

Neste estudo, avaliamos um ambiente endêmico para *S. aureus*, a transmissão contínua foi secundária a introdução constante de novas cepas na UTIN e com possíveis por fontes não comuns, porém, a formação de clusters entre os RN sugere disseminação pelas mãos de profissionais de saúde. O ambiente pode ter sido fonte de contaminação, sendo reconhecidamente um reservatório para *S. aureus* indiretamente envolvido na cadeia de transmissão (SEXTON *et al*, 2006;

HARDY *et al*, 2006; FERNANDES *et al*, 2020). Identificamos alguns perfis similares de PFT em RN da UTIN2 e UTIN3, sugerindo que equipamentos médicos-hospitalares também podem ser fontes de colonização, visto que em nossas UTIN, houve a circulação entre as unidades. Uma possível colonização transitória de *S. aureus* entre pais e profissionais de saúde, não detectada através da vigilância, pode ter interferido na dinâmica da circulação do agente dentro das unidades.

Os reservatórios para cepas de *S. aureus* não são ainda completamente compreendidos. Medidas de prevenção e controle relacionadas à disseminação por profissionais de saúde e do ambiente hospitalar podem não ser suficientes para impedir todo tipo de transmissão (MILSTONE *et al*, 2020, NURJADI *et a*l, 2021).

Em nosso estudo, o SCCmec tipo I e V predominaram entre os RN e somente dois RN apresentaram SCCmec tipo IVa. Dentre os profissionais de saúde, somente três foram tipados, sendo um SCCmec tipos V e dois SCCmec tipos IVa. Os isolados de MRSA apresentaram genes de virulência, LukDE, em 86% das amostras. O LukDE é uma leucotoxina que atua formando poros nas membranas das células-alvo.Têm atividade hemolítica e leucotóxica, sendo tão eficaz quanto a PVL para induzir dermonecrose (VASQUEZ *et al*, 2020). A PVL não foi detectada.

Nossas UTIN não foram reflexo da circulação dos tipos SCCmec em outras UTIN e hospitais brasileiros. Um artigo de revisão descreveu a circulação do MRSA no Brasil e o SCCmec tipo IV, *S. aureus* resistente à meticilina associado a comunidade (CA-MRSA) foi o mais prevalente, seguido de III, II e I, demonstrando que os clones que normalmente circulam na comunidade, também circulam no ambiente hospitalar (ANDRADE *et al*, 2020). Um estudo realizado em uma UTIN do Rio de Janeiro, identificou 2% dos RN colonizados com MRSA, sendo todos SCCmec tipo IV e 55,6% com detecção de PVL (SALGUEIRO *et al*, 2019). Uma coorte de RN seguida em uma UTIN de Goiânia, identificou 0,6% de colonização por MRSA e todas as cepas foram relacionadas ao clone brasileiro SCCmec-III, ST239, nenhuma delas apresentava PVL. (VIEIRA *et al*, 2014).

A aquisição de resistência à mupirocina e clorexidina é uma preocupação quando se utiliza uma estratégia de descolonização por períodos prolongados. Não

houve resistência à mupirocina em nenhum dos isolados de *S. aureus*. Nossos achados são consistentes com relatos anteriores de baixa prevalência de resistência à mupirocina entre isolados de *S. aureus* em RN em UTIN (POPOOLA *et al*, 2016; HUANG *et al*, 2015; RISTAGNO *et al*, 2018). Delaney e colaboradores relataram descolonização com mupirocina, por um período de 7 anos na UTIN, sem evidência de resistência (DELANEY *et al*, 2013).

Em relação à clorexidina, não houve suscetibilidade reduzida, entre os isolados de MRSA, porém 4/29 (13,7%) apresentaram CIM de 4 µg/ml. São consideradas cepas com sensibilidade reduzida aquelas com CIM ≥ 8µg/ml. Dois isolados de MSSA de RN, apresentaram redução de suscetibilidade com CIM de 8 µg/ml. A redução significativa da CIM após adição de CCCP nas amostras com CIM ≥ 4µg/ml, nos leva a inferir que o provável mecanismo de resistência é por bomba de efluxo. O monitoramento da CIM de clorexidina pode ser interessante em unidades endêmicas que usam a estratégia de descolonização,visto que aumento da CIM ao longo do tempo, pode interferir na efetividade do antisséptico. Outras publicações não identificaram suscetibilidade reduzida à clorexidina em *S. aureus* na UTIN (WANG *et al* 2008; MUNOZ-PRICE *et al*, 2009; KANG *et al*, 2021).

Dentre os profissionais de saúde colonizados por MSSA, somente um permaneceu colonizado após um ano da primeira pesquisa com perfil de PFT. Em ambas pesquisas, a CIM para clorexidina das amostras foi de 2 µg/mL; sem resistência à mupirocina.

Os achados deste estudo demonstram que medidas agressivas de prevenção e controle para *S. aureus* nas UTIN, são fundamentais para redução da alta morbi mortalidade causada por este agente. O padrão de transmissão pode ser diferente em cada UTIN e compreender quais medidas preventivas descritas na literatura se aplicam em cada cenário é de extrema importância.

Limitações

Esse estudo possui entre suas limitações, ter sido realizado em um único centro, apesar de duas UTIN distintas terem sido avaliadas. A vigilância para *S. aureus* incluiu a avaliação de apenas um único local anatômico, o que pode ter reduzido a sensibilidade comparada à amostragem em múltiplos sítios.

Não foi possível investigar todos os pais e profissionais de saúde e não houve pesquisa periódica, limitando a avaliação de seus papéis no potencial de transmissão ao RN.

Não foi possível recuperar todas as amostras de culturas para análise de PFGE. Não foram incluídas na análise de PFGE todas as amostras de MSSA dos pais, somente aquelas cujo o RN também era colonizado. Não foi possível determinar o tipo de SCCmec em parte dos isolados de MRSA.

A CIM para mupirocina não foi realizada, visto que não há disponibilidade desta metodologia no Brasil.

Conclusões

As mudanças no protocolo de banho de clorexidina e a manutenção das precauções de contato nos colonizados por MRSA por toda internação, contribuíram para redução da densidade de incidência de infecções por *S. aureus* na UTIN.

Na coorte avaliada em 2018, a colonização por MRSA foi de 5,12% e 8% MSSA entre os RN. Nenhum RN apresentou colonização na coleta de admissão logo após o nascimento. Os pais foram mais colonizados para MSSA quando comparado às mães. Somente uma mãe e um pai estavam colonizados por MRSA.

No início do seguimento, 50% dos profissionais de saúde estavam colonizados por MSSA e 6,5% por MRSA. O PCR foi mais efetivo para identificar a colonização quando comparado a cultura para MSSA.

O uso de NPP foi encontrado como fator independente para a colonização do RN por MRSA.

A idade materna foi a única variável associada como fator de risco para a colonização das mães. Não foram encontrados fatores associados à colonização dos pais e profissionais.

O protocolo de descolonização foi seguro e eficaz em reduzir a colonização por *S. aureus* no RN, pais e profissionais. Houve uma maior incidência de infecção entre os RN colonizados. Apesar do longo período de uso da descolonização nas

UTIN, não houve resistência à mupirocina entre os isolados de *S. aureus*. Foi detectada baixa prevalência de isolados de MSSA com suscetibilidade reduzida à clorexidina e não houve suscetibilidade reduzida entre os isolados de MRSA.

Os isolados de MRSA apresentaram como fator de virulência a presença de LukDe. Os SCCmec tipo I e V predominaram.

Não foi possível associar os pais como fontes diretas de transmissão de *S. aureus* aos RN, porém estavam envolvidos na cadeia de transmissão. Dois profissionais foram fonte direta de transmissão de MSSA aos RN, porém as diferentes cepas encontradas evidenciam outras fontes de *S. aureus* dentro na UTIN.

Referências

ABUZAID, A.; HAMOUDA, A.; AMYES, S. G. ***Klebsiella pneumoniae* susceptibility to biocides and its association with cepA, qacΔE and qacE efflux pump genes and antibiotic resistance.** J Hosp Infect. 2012;81(2):87-91. 43

Agência Nacional de Vigilância Sanitária 2017. **Série Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de Saúde:** Critérios Diagnósticos de Infecção Associada à Assistência à Saúde Neonatologia. http://portal.anvisa.gov.br/documents.

AL-TAWFIQ, J. A. **Father-to-infant transmission of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a neonatal intensive care unit.** Infect Control Hosp Epidemiol. 2006; 27(6):636–637.

ALBRICH, W. C.; HARBARTH, S. **Health-care workers: source, vector, or victim of MRSA?** *Lancet Infect Dis*. 2008;8(5):289-301.

ALBAHRANI Y, HUNT R. **Newborn skin care.** Pediatr Ann 2019; 48:e11–15.

ANDERSEN, B. M.; LINDEMANN, R.; BERGH, K. *et al*. **Spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a neonatal intensive unit associated with understaffing, overcrowding and mixing of patients.** J Hosp Infect. 2002; 50:18–24.

APGAR, V. **A proposal for a new method of evaluation of the newborn infant.** *Curr Res Anesth Analg.* 1953; 32: 260-267.

AKINBOYO, I. C.; ZANGWILL, K. M.; BERG, W. M. *et al*. **SHEA neonatal intensive care unit (NICU) white paper series: Practical approaches to *Staphylococcus aureus* disease prevention.** *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2020;(11):1251-1257.

BALAMOHAN, A.; BEACHY, J.; KOHN, N.; RUBIN, L. G. **Risk factors for nosocomial methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) colonization in a neonatal intensive care unit: A Case-control study.** Am J Infect Control. 2021;(11):1408-1413.

BALLARD, J. L.; KHOURY, J. C.; WEDIG, K. *et al*. **New Ballard Score, expanded to include extremely premature infants.** J Pediatrics. 1991;119:417-23.

BAQUERO, F.; LÓPEZ, B.; CALDERÓN, C. *et al*. **Soft salt-mannitol agar-cloxacillin test:** a highly specific bedside screening test for detection of colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol. 1998;36:986-9.

BARAKAT, G. I.; NABIL, Y. M. **Correlation of mupirocin resistance with biofilm production in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from surgical site infections in a tertiary centre, Egypt.** J Glob Antimicrob Resist. 2016;4:16-20.

BEHARI, P.; ENGLUND, J.; ALCASID, G. *et al*. **Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to preterm infants through breast milk.** Infect Control Hosp Epidemiol. 2004;25 (9):778-780.

BES, T. M.; MARTINS, R. R.; PERDIGÃO, L. *et al*. **Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in individuals from the community in the city of Sao Paulo, Brazil.** Rev Inst Med Trop São Paulo. 2018 Oct 22;60:e58.

BJORLAND, J.; SUNDE, M.; WAAGE, S. **Plasmid-borne smr gene causes resistance to quaternary ammonium compounds in bovine *Staphylococcus aureus*.** J Clin Microbiol. 2001;39:3999- 4004.

BOGHOSSIAN, N. S.; PAGE, G. P.; BELL, E. F. *et al*. **Late-onset sepsis in very low birth weight infants from singleton and multiple-gestation births.** J Pediatr. 2013;162(6):1120-1124, 1124.e1.

BOUNDY, E. O.; DASTJERDI, R.; SPIEGELMAN, D. *et al*. **Kangaroo Mother Care and Neonatal Outcomes:** A Meta-analysis. *Pediatrics*. 2016;(1):e20152238.

BOZZELLA, M.; SOGHIER, L.; HARRIS, T. *et al*. **Impact of decolonization on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* transmission and infection in a neonatal intensive care unit.** Infection Control & Hospital Epidemiology, 2019; 40 (10):1123-1127.

CAPURRO, H.; KORICHZKY, S.; FONSECA, O. *et al*. **A simplified method for diagnosis of gestational age in the newborn infant.** J Pediatr. 1978;93:120-2.

CAREY, A. J.; DUCHON, J.; DELLA-LATTA, P. *et al*. **The epidemiology of methicillin-susccptible and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a neonatal intensive care unit, 2000-2007.** J Perinatology. 2010;30(2):135-139.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Recommendations for prevention and control of infections in neonatal intensive care unit patients: *Staphylococcus aureus* (2020).** Reviewed September 15, 2020. Accessed December 14, 2020. https://www.cdc.gov/infectioncontrol/guidelines/NICU-saureus

CHAPMAN, A. K.; AUCOTT, S. W,; MILSTONE, A. M. **Safety of chlorhexidine gluconate used for skin antisepsis in the preterm infant**. *J Perinatol*. 2012; 32(1):4-9.

CHEN, K. T.; HUARD, R. C.; DELLA-LATTA, P. *et al*. **Prevalence of methicillin-sensitive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pregnant women.** *Obstetrics and Gynecology.* 2006;108:482–487.

CHO, H. K.; YANG, J. N.; CUNNINGHAM, S. A. et al. **Molecular epidemiology of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* in infants in a neonatal intensive care unit.** *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2020;(12):1402-1408.

CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing.** Nineteenth Edition. Informational Supplement. CLSI document M100-S19, Wayne, Pennsylvania: CLSI, 2009.

COOPER, B. S.; STONE, S. P.; KIBBLER, C. C. *et al*. **Isolation measures in the hospital management of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA):** systematic review of the literature. BMJ 2004; 329:533.

DARMSTADT GL, HOSSAIN MM, CHOI Y, *et al*. **Safety and effect of chlorhexidine skin cleansing on skin flora of neonates in Bangladesh**. *Pediatr Infect Dis J*. 2007;26(6):492-495.

DA SILVA, L. S. C.; ANDRADE, Y. M. F. S.; OLIVEIRA, A. C. *et al*. **Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization among healthcare workers at a tertiary care hospital in northeastern Brazil.** Infection Prevention in Practice. 2020; (2): 100084.

DE MELLO FREITAS, F. T.; VIEGAS, A. P. B.; ROMERO, G. A. S. **Neonatal healthcare-associated infections in Brazil: systematic review and meta-analysis**. Arch Public Health. 2021;79(1):89.

DE OLIVEIRA, L. M.; VAN DER HEIJDEN, I. M.; GOLDING, G. R. et al. ***Staphylococcus aureus* isolates colonizing and infecting cirrhotic and liver-transplantation patients: comparison of molecular typing and virulence factors**. *BMC Microbiol*. 2015;(15):264.

DELANEY, H. M.; WANG, E.; MELISH, M. **Comprehensive strategy including prophylactic mupirocin to reduce *Staphylococcus aureus* colonization and infection in high-risk neonates.** Journal of perinatology: official journal of the California Perinatal Association. 2013;33(4):313-318.

ERICSON, J. E.; POPOOLA, V. O.; SMITH, P. B. *et al*. **Burden of Invasive *Staphylococcus aureus* Infections in Hospitalized Infants.** JAMA pediatrics. 2015;169(12):1105-1111.

EVEILLARD, M.; MARTIN, Y.; HIDRI, N. *et al*. **Carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among hospital employees:** prevalence, duration, and transmission to households. Infect Control Hosp Epidemiol. 2004; 25:114–120.

FACCONE, D.; TOGNERI, A. M.; PODESTA, L. *et al*. MRSA **Pediatric clone expressing ermC plus lnuA genes causing nosocomial transmission and healthcare workers colonization in a neonatal intensive care unit.** Infect Genet Evol. 2014;25:78-80.

FERNANDES, L. F.; SOUZA, G. Á. A. D.; ALMEIDA, A. C., *et al.* **Identification and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus spp*. isolated from surfaces near patients in an intensive care unit of a hospital in southeastern Brazil.** Rev Soc Bras Med Trop. 2020:53:e20200244.

FISHMAN, S. G.; GELBER, S. E. **Evidence for the clinical management of chorioamnionitis.** Semin Fetal Neonatal Med. 2012;(1):46-50.

GARCIA, C. P.; ROSA, J. F.; CURSINO, M. A. *et al*. **Non-multidrug-resistant, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a neonatal unit.** Pediatr Infect Dis J. 2014;33:e252–e259.

GASTELUM, D. T.; DASSEY, D.; MASCOLA, L. *et al*. **Transmission of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from breast milk in the neonatal intensive care unit.** Pediatr Infect Dis J. 2005; 24:1122–1124.

GERBER, S. I.; JONES, R. C.; SCOTT, M. V. *et al*. **Management of outbreaks of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in the neonatal intensive care unit:** a consensus statement. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2006;27:139–145.

GIUFFRE, M; AMODIO, E; BONURA, C. *et al*. **Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* nasal colonization in a level III neonatal intensive care unit: incidence and risk factors.** Am J Infect Control 2015;43:476- 81.

GOMES, I. M.; MARLOW, M. A.; PINHEIRO, M. G. *et al*. **Risk factors for *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant S aureus colonization among health care workers in pediatrics departments.** Am J Infect Control. 2014;42(8):918-920.

GREGORY, M. L.; EICHENWALD, E. C.; PUOPOLO, K. M. **Seven-year experience with a surveillance program to reduce methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in a neonatal intensive care unit.** *Pediatrics.* 2009;123:e790–796

GUSTAVE, C. A.; TRISTAN, A.; MARTINS-SIMÕES, P. *et al*. **Demographic fluctuation of community-acquired antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* lineages:** potential role of flimsy antibiotic exposure. ISME J. 2018;12:1879-94.

HALL, I. M.; BARRASS, I.; LEACH, S. *et al*. **Transmission dynamics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a medical intensive care unit.** J R Soc Interface. 2012; 9(75):2639–2652.

HARDY, K. J.; OPPENHEIM, B. A.; GOSSAIN, S. *et al*. **A study of the relationship between environmental contamination with methicillin-resistant**

***Staphylococcus aureus* (MRSA) and patients' acquisition of MRSA.** Infect Control Hosp Epidemiol 2006; 27: 127–32

HAWKINS, G.; STEWART, S.; BLATCHFORD, O. *et al*. **Should healthcare workers be screened routinely for meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*?** A review of the evidence. J Hosp Infect. 2011 Apr;77(4):285-9.

HOCEVAR, S. N.; EDWARDS, J. R.; HORAN, T. C. *et al*. **Device-associated infections among neonatal intensive care unit patients:** incidence and associated pathogens reported to the National Healthcare Safety Network, 2006–2008. Infect Control Hosp Epidemiol 2012;33:1200–6.

HUANG, Y. C.; CHOU, Y. H.; SU, L. H. *et al*. **Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization and its association with infection among infants hospitalized in neonatal intensive care units.** Pediatrics. 2006; 118:469–474.

HUANG, Y. C.; LIEN, R. I.; LIN, T. Y. **Effect of mupirocin decolonization on subsequent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in infants in neonatal intensive care units.** The Pediatric infectious disease journal. 2015;34(3):241-245

JEANES, A.; RAO, G.; OSMAN, M. *et al*. **Eradication of persistent environmental MRSA.** J Hosp Infect 2005; 61: 85–86

KAMPF, G. **Acquired resistance to chlorhexidine e is it time to establish an 'antiseptic stewardship' initiative?** Journal of Hospital Infection, 2016: 94(3):213-227.

KANG, H. M.; PARK, K. C.; PARK, J. *et al*. **Mupirocin and Chlorhexidine Genotypic Resistance Found in *Staphylococcus aureus* Isolated From Young Infants Below 90 Days Old:** A Genetic Basis for Eradication Failure. Pediatr Infect Dis J. 2021 Jan;40(1):49-54.

KATAYAMA, Y.; ITO, T.; HIRAMATSU, K. **New class of genetic element, *staphylococcus* cassette chromosome mec, encodes methicillin-resistance in *Staphylococcus aureus*.** Antimicrob Agents Chemother. 2000;44:1549-55.

KEARNS, A. M.; SEIDERS, P. R.; WHEELER, J. *et al*. **Rapid detection of methicillin-resistant Staphylococci by multiplex PCR.** J. Hosp Infect. 1999;43:33-7.

KHOURY, J.; JONES, M.; GRIM, A. *et al*. **Eradication of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from a neonatal intensive care unit by active surveillance and aggressive infection control measures.** Infect Control Hosp Epidemiol. 2005; 26:616–621.

KITAJIMA, H. **Prevention of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in neonates.** Pediatr Int 2003;(45):238-45.

KURODA, M.; OHTA, T.; UCHIYAMA, I. *et al*. **Whole genome sequencing of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*.** Lancet. 2001;(9264):1225-1240.

KUO, C. Y.; HUANG, Y. C.; HUANG, D.T. *et al*. **Prevalence and molecular characterization of *Staphylococcus aureus* colonization among neonatal intensive care units in Taiwan**. Neonatology. 2014;(2):142-148

LAZENBY, G. B.; SOPER, D. E.; BEARDSLEY, W.; SALGADO, C. D. **Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization among women admitted for preterm delivery**. *Am J Obstet Gynecol.* 2012;(4):329 e321-325.

LESSA, F. C.; EDWARDS, J. R.; FRIDKIN, S. K. *et al*. **Trends in incidence of late-onset methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in neonatal intensive care units:** data from the National Nosocomial Infections Surveillance System, 1995–2004. Pediatr Infect Dis J. 2009; 28:577–581.

LUTEIJN, J. M.; HUBBEN, G. A.; PECHLIVANOGLOU, P. *et al*. **Diagnostic accuracy of culture-based and PCR-based detection tests for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a meta-analysis.** Clin Microbiol Infect. 2011;17:146-54.

MADIGAN, T.; CUNNINGHAM, S. A.; PATEL, R. *et al*. **Whole-genome sequencing for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) outbreak investigation in a neonatal intensive care unit.** Infection control and hospital epidemiology. 2018;(12):1412-1418.

MENDES, E. T.; RANZANI, O. T.; MARCHI, A. P. *et al*. **Chlorhexidine bathing for the prevention of colonization and infection with multidrug-resistant microorganisms in a hematopoietic stem cell transplantation unit over a 9-year period:** Impact on chlorhexidine susceptibility. Medicine, 2016; (95):1-8.

MILSTONE, A. M.; VOSKERTCHIAN, A.; KOONTZ, D. W. *et al*. **Effect of Treating Parents Colonized With *Staphylococcus aureus* on Transmission to Neonates in the Intensive Care Unit:** A Randomized Clinical Trial. JAMA. 2020 (4):319-328.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção à Saúde Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. **Atenção Humanizada ao Recém-Nascido de Baixo Peso:** Método Canguru. Manual Técnico – 3ª Edição, Brasília – DF. 2017. 340p.:il.

MOREL, A. S.; WU, F.; DELLA-LATTA, P. *et al*. **Nosocomial transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from a mother to her preterm quadruplet infants.** Am J Infect Control. 2002; (3):170–173.

MOURA, J. P.; PIMENTA, F. C.; HAYASHIDA, M. *et al*. **Colonization of nursing professionals by *Staphylococcus aureus*.** Rev. Latino-Am. Enfermagem, 2011 (19); 325-331.

MOURA, M. L.; RIZEK, C. F.; AGUIAR, E. *et al.* **MRSA outbreak in a Neonatal Intensive Care Unit in a developed country: importance of rapid detection of reservoirs and implementation of intervention measures.** Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2022;64:e58.

MUNOZ-PRICE, L. S.; HOTA B.; STEMER, A. **Prevention of bloodstream infections by use of daily chlorhexidine baths for patients at a long-term acute care hospital.** Infect Control Hosp Epidemiol 2009; (30):1031-1035

NURJADI, D.; EICHEL, V. M.; TABATABAI, P. *et al*. **Surveillance for Colonization, Transmission, and Infection with Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* in a Neonatal Intensive Care Unit.** *JAMA Netw Open.* 2021;(9):e2124938

O'CONNELL, K.; GRUNDY, K.; WOOLHEAD, E. *et al*. **A retrospective study of *Staphylococcus aureus* bacteraemia in an Irish neonatal unit.** Journal of Neonatal-Perinatal Medicine. 2012;(4):335-337.

OIE, S.; HOSOKAWA, I.; KAMIYA, A. **Contamination of room door handles by methicillin-sensitive/methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.** J Hosp Infect 2002;(51): 140–43.

PARHIZGAR, F.; COLMER-HAMOOD, J.; SATTERWHITE, J. *et al*. **A Comparative Analysis of GeneXpert Real-Time PCR with Culture for the Detection of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Colonization in Selected Hospital Admission.** International Scholarly Research Notices. 2013;(3): 3-6.

PEREIRA, V. C.; MARTINS, A.; RUGOLO, L. M. S. *et al*. **Detection of Oxacillin Resistance in *Staphylococcus aureus* Isolated from the Neonatal and Pediatric Units of a Brazilian Teaching Hospital.** Clin Med Pediatr. 2009;(3):23-31.

PETERSEN, S; LARSEN L; BRANDELEV L, ET AL. **Close association between oropharyngeal and rhinopharyngeal colonization with Staphylococcus aureus - clues to new insight of MRSA colonization of the oropharynx**. J Hosp Infect. 2013;(3):259-262.

PIMENTEL, J. D.; MEIER, F. A.; SAMUEL, L. P. **Chorioamnionitis and neonatal sepsis from community-associated MRSA.** Emerg Infect Dis. 2009; (15):2069–2071.

POPOOLA, V. O.; COLANTUONI. E.; SUWANTARAT, N. *et al*. **Active Surveillance Cultures and Decolonization to Reduce *Staphylococcus aureus* Infections in the Neonatal Intensive Care Unit.** Infect Control Hosp Epidemiol. 2016; (4):381-7.

RICHTER, A.; EDER, I.; KÖNIG, B. *et al*. **Decolonization of Health Care Workers In a Neonatal Intensive Care Unit Carrying a Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* Isolate.** 2018; (1):54-58.

RISTAGNO, E. H.; BRYANT, K. A.; BOLAND, L. F. *et al*. **Effect of Intranasal Mupirocin Prophylaxis on Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Transmission and Invasive Staphylococcal Infections in a Neonatal Intensive Care Unit**. Infection control and hospital epidemiology. 2018; (6):741-745

SAIMAN, L.; CRONQUIST, A.; WU, F. *et al*. **An outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a neonatal intensive care unit.** Infect Control Hosp Epidemiol. 2003; (5):317–321.

SAKAKI, H.; NISHIOKA, M.; KANDA, K. *et al*. **An investigation of the risk factors for infection with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among patients in a neonatal intensive care unit.** Am J Infect Control. 2009; (37):580–586.

SALGUEIRO, V. C.; SEIXAS, M. D. L.; GUIMARÃES, L. C. *et al*. **High rate of neonates colonized by methicillin-resistant Staphylococcus species in an Intensive Care Unit.** J Infect Dev Ctries 2019;(9):810-816.

SCHEITHAUER, S.; TREPELS-KOTTEK, S.; HÄFNER, H. *et al*. **Healthcare worker-related MRSA cluster in a German neonatologylevel III ICU: A true European story.** *Int J Hyg Environ Health*. 2014;(2-3):307-311.

SEPTIMUS, E. J.; SCHWEIZER, M. L. **Decolonization in Prevention of Health Care-Associated Infections.** Clinical microbiology reviews. 2016; (29):201-222.

SETHI, D. K.; FELGATE, H.; DIAZ, M. *et al*. **Chlorhexidine gluconate usage is associated with antiseptic tolerance in staphylococci from the neonatal intensive care unit.** JAC Antimicrob Resist. 2021;(4):dlab173.

SEXTON, T.; CLARKE, P.; O'NEILL, E. *et al*. **Environmental reservoirs of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in isolation rooms:** correlation with patient isolates and implications for hospital hygiene. J Hosp Infect 2006; (62): 187–94.

SILVA, H. A.; ABDALLAH, V. O. S.; CARNEIRO, C. L. *et al*. **Infection and colonization by *Staphylococcus aureus* in a high risk nursery of a Brazilian teaching hospital.** Braz J Infect Dis, 2003; (7): 381-386.

URUSHIBARA, N.; AUNG, M. S.; KAWAGUCHIYA, M. *et al*. **Novel staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) type XIV (5A) and a truncated SCCmec element in SCC composite islands carrying speG in ST5 MRSA in Japan.** Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2019; (75): 46–50

VAN DER HEIJDEN, I. M.; DE OLIVEIRA, L. M.; BRITO, G. C. *et al*. **Virulence and resistance profiles of MRSA isolates in pre- and post-liver transplantation patients using microarray.** J Med Microbiol. 2016; (10):1060-1073.

VASQUEZ, M. T.; LUBKIN, A.; REYES-ROBLES, T. *et al*. I**dentification of a domain critical for *Staphylococcus aureus* LukED receptor targeting and lysis of erythrocytes**. *J Biol Chem*. 2020; (50):17241-17250.

VERSTRAETE, E.; BOELENS, J.; DE COEN, K. *et al*. **Healthcare-associated bloodstream infections in a neonatal intensive care unit over a 20-year period (1992-2011):** trends in incidence, pathogens, and mortality. Infect Control Hosp Epidemiol. 2014; (5):511-518.

VIEIRA, M. A.; MINAMISAVA, R.; PESSOA-JUNIOR, V. *et al*. **Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal carriage in neonates and children attending a pediatric outpatient clinics in Brazil.** Braz J Infect Dis, 2014; (18): 42-47.

VOSKERTCHIAN, A.; AKINBOYO, I. C.; COLANTUONI, E. *et al*. **Association of an Active Surveillance and Decolonization Program on Incidence of Clinical Cultures Growing *Staphylococcus aureus* in the Neonatal Intensive Care Unit.** Infection control and hospital epidemiology. 2018;(7):882-884.

WALKER, E. S.; VASQUEZ, J. E.; DULA, R. *et al*. **Mupirocin-resistant, methicillin resistant *Staphylococcus aureus*:** does mupirocin remain effective? Infect Control Hosp Epidemiol. 2003; (24):342-346.

WANG, J. T.; SHENG, W. H.; WANG, J. L. *et al*. **Longitudinal analysis of chlorhexidine susceptibilities of nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates at a teaching hospital in Taiwan.** Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2008; (62): 514–517.

WASHAM, M.; WOLTMANN, J.; HABERMAN, B. *et al*. **Risk factors for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in the neonatal intensive care unit: A systematic review and meta-analysis**. Am J Infect Control. 2017;(12):1388-1393.

WASHAM, M. C.; ANKRUM, A.; HABERMAN, B. E.; STAAT, M. A.; HASLAM, D. B. **Risk Factors for Staphylococcus aureus Acquisition in the Neonatal Intensive Care Unit: A Matched Case-Case-Control Study**. Infection control and hospital epidemiology. 2018; (1):46-52.

WISGRILL, L.; ZIZKA, J.; UNTERASINGER, L. *et al*. **Active Surveillance Cultures and Targeted Decolonization Are Associated with Reduced Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* Infections in VLBW Infants.** Neonatology. 2017;(3):267-273.

ZACHARIAH, P.; SAIMAN, L. **Decreasing *Staphylococcus aureus* in the neonatal intensive care unit by decolonizing parents**. *JAMA*. 2020;323(4):313-314.

ZERVOU, N; ZACHARIOUDAKIS, M; ZIAKAS, P; MYLONAKIS, E. **MRSA colonization and risk of infection in the neonatal and pediatric ICU: a meta-analysis.** Pediatrics 2014;133:e1015-23.

ZHANG, K; MCCLURE, J.A.; ELSAYED, S. *et al*. **Novel multiplex PCR assay for characterization and concomitante subtyping of Staphylococcal cassette Chromossome mec Types I to V in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*.** *J Clin Microbiol*. 2005; (10):5026-5033.

Apêndices

APÊNDICE A – Ficha de Coleta - Variáveis Maternas

Nome:_____ UTIN2 ( ) UTIN3 ( )

Atendimento:_____ **Data de nascimento:**_____

Data de internação: _____ **Profissão:**_____

Data do parto: _____ **Internação:** Eletiva ( ) Urgência ( )

Escolaridade em anos:_____ **Número de gestações:**_____

Número de partos:_____ **Número de abortamentos:**_____

Gestação: Natural ( ) Fertilização ( ) **Feto:** Único ( ) Gemelar ( )

Indicação do parto:_____ **Tempo de bolsa rota em horas:**_____

Tipo de parto: ( ) PN ( ) Fórceps ( ) Cesariana

Duração do trabalho de parto em horas:_____

Procedimento invasivo materno/fetal: ( ) Sim ( ) Não
Qual?_____ Data: _____

Cerclagem: ( ) Sim ( ) Não **Pessário:** ( ) Sim ( ) Não

Colonização EGB: ( ) Sim ( ) Não ( ) Desconhecido **Realizou profilaxia?** ( ) Sim ( ) Não

Corioamnionite: ( ) Sim ( ) Não

Cultura positiva: ( ) Sim ( ) Não **Material:**_____

COMORBIDADES

Uso crônico de CE: ( ) Sim ( ) Não

Hepatopatia: ( ) Sim ( ) Não Qual?_____

Cardiopatia: ( ) Sim ( ) Não Qual?_____

Neoplasia: ( ) Sim ( ) Não Qual?_____

Doença reumatológica: ( ) Sim ( ) Não Qual?_____

Doença dermatológica: ( ) Sim ( ) Não Qual?_____

Nefropatia: ( ) Sim ( ) Não Qual?_____

Infecções de pele: ( ) Sim ( ) Não Local:_____

HIV positiva: ( ) Sim ( ) Não **AIDS:** ( ) Sim ( ) Não

DHEG: ( ) Sim ( ) Não **HAS:** ( ) Sim ( ) Não

Rinossinusite crônica: ( ) Sim ( ) Não **Diabetes Mellitus:** ( ) Sim ( ) Não

Tabagismo: ( ) Sim ( ) Não **Drogas injetáveis:** ( ) Sim ( ) Não

Fumou na gestação? ( ) Sim ( ) Não

Consumo de álcool? ( ) Sim ( ) Não

Colonizada com *S. aureus* ( ) Não ( ) MSSA ( ) MRSA
Data:_____ Momento da colonização: ( ) Admissão ( ) Seguimento

Tratamento de infecção durante permanência de RN na UTI? ( ) Sim ( ) Não
Qual?_____ Agente:_____

Infecções de pele: ( ) Sim ( ) Não Qual?_____

Número de pessoas no domicílio:_____

Colonização cônjuge por *S. aureus*: ( ) Sim ( ) Não

Internação hospitalar ou realização de procedimentos invasivos (relacionados a assistência hospitalar) no período de 1 ano: ( ) Sim ( ) Não

APÊNDICE B – Ficha de Coleta - Variáveis Paternas

Nome:_____ UTIN2 ( ) UTIN3 ( )

Data de nascimento:_____ **Escolaridade em anos:**_____

Profissão:_____

COMORBIDADES

Patologias: ( ) Sim ( ) Não Qual?_____

Rinossinusite crônica: ( ) Sim ( ) Não **Tabagismo:** ( ) Sim ( ) Não

Consumo de álcool: ( ) Sim ( ) Não **Uso de drogas injetáveis:** ( ) Sim ( ) Não

Colonizado com *S. aureus*: ( ) Não ( ) MSSA ( ) MRSA
Data:_____ Momento da colonização: ( ) Admissão ( ) Seguimento

Tratamento de infecção durante permanência de RN na UTI? ( ) Sim ( ) Não
Qual?_____ Agente:_____

Presença de lesões na mãos: ( ) Sim ( ) Não

Presença de lesões de pele: ( ) Sim ( ) Não

Infecções de pele em residente do mesmo domicílio: ( ) Sim ( ) Não

Número de pessoas no domicílio:_____

Colonização cônjuge por *S. aureus*: ( ) Sim ( ) Não

Internação hospitalar ou realização de procedimentos invasivos (relacionados a assistência hospitalar) no período de 1 ano: ( ) Sim ( ) Não

APÊNDICE C – Ficha de Coleta dos Profissionais de Saúde

Nome:_____ UTIN2 ( ) UTIN3 ( )

Data de nascimento:_____

Categoria Profissional:
( ) Médico ( ) Enfermeira ( ) Técnico ( ) Fisioterapeuta ( ) Técnico Raio-X

COMORBIDADES

Patologias: ( ) Sim ( ) Não Qual?_____

Rinossinusite crônica: ( ) Sim ( ) Não **Tabagismo:** ( ) Sim ( ) Não

Consumo de álcool: ( ) Sim ( ) Não **Drogas injetáveis:** ( ) Sim ( ) Não

Colonizado com *S. aureus* no momento inicial do estudo: ( ) Não ( ) MSSA ( ) MRSA
Data:_____ Momento da colonização: ( ) Admissão ( ) Seguimento

Prestou assistência a RN colonizado? ( ) Sim ( ) Não

Realizou nova pesquisa: ( ) Sim ( ) Não
Colonizado: ( ) Não ( ) MSSA ( ) MRSA

Presença de lesões na mãos: ( ) Sim ( ) Não

Presença de lesões de pele: ( ) Sim ( ) Não

Tratamento de infecção durante o período do estudo? ( ) Sim ( ) Não
Qual?_____ Agente isolado:_____
Material: _____ Data: _____

Número de pessoas no domicílio:_____

Internação hospitalar ou realização de procedimentos invasivos (relacionados a assistência hospitalar) no período de 1 ano: ( ) Sim ( ) Não

Trabalha em outro serviço de saúde: ( ) Sim ( ) Não

APÊNDICE D – Ficha de Coleta do Recém-Nascido

Nome:_____ UTIN2 ( ) UTIN3 ( )

Atendimento:_____ **Data de nascimento:**_____

Sexo: ( ) F ( ) M **Peso nascimento (gramas):** _____

Idade gestacional ao nascimento (semanas): _____

Apgar no 1º minuto:_____ **Apgar no 5º minuto:**_____

Gemelaridade: ( ) Sim ( ) Não **SAM:** ( ) Sim ( ) Não

Reanimação neonatal: ( ) Sim ( ) Não **Intubação orotraqueal:** ( ) Sim ( ) Não

Medicação endovenosa: ( ) Sim ( ) Não

Ventilação com pressão positiva: ( ) Sim ( ) Não

Cateterização umbilical: ( ) Sim ( ) Não **Síndrome genética:** ( ) Sim ( ) Não

Nefropatia: ( ) Sim ( ) Não **Pneumopatia:** ( ) Sim ( ) Não

Hepatopatia: ( ) Sim ( ) Não **Alterações imunológicas:** ( ) Sim ( ) Não

Uropatia: ( ) Sim ( ) Não **Doenças Metabólicas:** ( ) Sim ( ) Não

Doença de depósito: ( ) Sim ( ) Não **Cardiopatia:** ( ) Sim ( ) Não

Endocrinopatia: ( ) Sim ( ) Não **Doença dermatológica:** ( ) Sim ( ) Não

Doença neurológica: ( ) Sim ( ) Não **Infecção congênita:** ( ) Sim ( ) Não

Malformações: ( ) Sim ( ) Não Qual?_____

Uso de corticoide: ( ) Sim ( ) Não Qual?_____ Data: _____

Hemoderivados/hemocomponentes: ( ) Sim ( ) Não Qual?_____ Data: _____

Nutrição parenteral: ( ) Sim ( ) Não **Seio materno:** ( ) Sim ( ) Não

Leite materno cru: ( ) Sim ( ) Não **Leite pasteurizado:** ( ) Sim ( ) Não

Fórmula láctea: ( ) Sim ( ) Não

Ventilação mecânica invasiva

Início _____/_____/_____ Término _____/_____/_____

Ventilação mecânica não invasiva

Início _____/_____/_____ Término _____/_____/_____

Cateter venoso central (1: PICC / 2: Flebo / 3: Outro)

( ) Início _____/_____/_____ Término _____/_____/_____

( ) Início _____/_____/_____ Término _____/_____/_____

Acesso venoso periférico

Início _____/_____/_____ Término _____/_____/_____

Drenos/ Derivações:

Qual?_____ Local:_____

Início _____/_____/_____ Término _____/_____/_____

Diálise peritoneal

Início _____/_____/_____ Término _____/_____/_____

Cirurgias

Qual?_____ Data:_____

Infecção durante internação: ( ) Sim ( ) Não

Sepse: ( ) Precoce ( ) Tardia

Pneumonia: ( ) Precoce ( ) Tardia

Data:_____

ITU: ( ) Precoce ( ) Tardia Agente:_____

Meningite: ( ) Precoce ( ) Tardia Agente:_____

Pele/partes moles: Agente:_____

Sítio cirúrgico: Agente:_____

IVAS: Agente:_____

Conjuntivite: Agente:_____

Outras: Qual?_____ Agente:_____ Data:_____

Uso de Antimicrobiano: ( ) Sim ( ) Não

Indicação:_____

Esquemas:_____ Início:_____ Término:_____

Indicação:_____

Esquemas:_____ Início:_____ Término:_____

Colonização: ( ) MRSA ( ) MSSA Data:_____

Realizou descolonização por 5 dias? ( ) Sim ( ) Não

Recolonizado: ( ) Sim ( ) Não Data:_____

Realizou segundo esquema de descolonização: ( ) Sim ( ) Não Data:_____

Sucesso da segunda descolonização: ( ) Sim ( ) Não

Contactuante de outro RN colonizado (mesma sala): ( ) Sim ( ) Não

Mesma cepa? ( ) Sim ( ) Não

Realizou canguru? ( ) Sim ( ) Não

APÊNDICE E – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:_____

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº:_____ SEXO: ( ) M ( ) F
DATA DE NASCIMENTO:_____/_____/_____
ENDEREÇO:_____
Nº:_____ BAIRRO:_____
CIDADE:_____ CEP:_____
TELEFONE: (_____) _____

2. RESPONSÁVEL LEGAL:_____
NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador, etc) _____
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº:_____ SEXO: ( ) M ( ) F
DATA DE NASCIMENTO:_____/_____/_____
ENDEREÇO:_____
Nº:_____ BAIRRO:_____
CIDADE:_____ CEP:_____
TELEFONE: (_____) _____

DADOS SOBRE A PESQUISA

1.TÍTULO DE PROTOCOLO DE PESQUISA: Avaliação da transmissão de *S. aureus* em Unidade de Terapia Intensiva Neonatal com níveis endêmicos a despeito de vigilância ativa e descolonização.

2. PESQUISADOR: Dra. Camila de Almeida Silva CRM: 117.837

CARGO/FUNÇÃO: médica infectologista do serviço de controle de infecção do hospital e Maternidade Santa Joana.

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA: RISCO MÍNIMO – quebra de confidencialidade; reação alérgica ao uso da mupirocina nasal.

4. DURAÇÃO DA PESQUISA: 3 anos.

APÊNDICE F – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para Pais e Mães

Nesse estudo, nós avaliaremos a possível presença de uma bactéria, *Staphylococcus aureus*, em você e seu recém-nascido. Essa bactéria pode ser encontrada em nosso corpo e não necessariamente causar doenças, mas em situações em que as defesas estão diminuídas, pode causar infecções. Avaliaremos se esta bactéria está presente no pai e/ou mãe dos recém-nascidos que forem internados na UTI neonatal. Para procurarmos esta bactéria será solicitado a você a coleta de material através do uso de swabs, que são um tipo de cotonete, que serão friccionados no seu nariz. Um profissional treinado fará esta coleta, que pode ocasionar um ligeiro incômodo, é indolor e não traz nenhum risco para você. Pode ser necessária a repetição desta coleta durante o estudo. Esta coleta também será realizada da mesma forma em seu filho (a) semanalmente durante o período de internação, conforme rotina já existente na instituição e bem estabelecida em literatura médica.

Caso o resultado desta pesquisa seja positivo para esta bactéria, será solicitado que você faça uso da pomada de mupirocina em suas narinas 2 x ao dia, por um período de 5 dias. A receita da pomada será fornecida a você por um médico da Instituição e deverá ser adquirida em uma farmácia. Reações de sensibilização local à **mupirocina** são raramente relatadas. A **Mupirocina** é usualmente bem tolerada, mas podem causar reações locais, tais como: coceira, vermelhidão e sensação de ardência. Não deve ser aplicada em caso de lesões ou feridas dentro das narinas. Caso você sinta qualquer desconforto com a pomada, você deverá avisar ao médico do seu bebê, que entrará em contato com o médico pesquisador, que terá a responsabilidade de avaliá-lo e definir se o uso deverá ser interrompido ou não.

Serão realizadas algumas perguntas sobre sua saúde e hábitos de vida. O resultado deste estudo não beneficiará diretamente a você, mas ajudará a compreendermos como esta bactéria age e o que podemos fazer para impedir sua transmissão. Embora esta pesquisa não envolva riscos a você, caso ocorra algum, a responsabilidade será do pesquisador e da Instituição**.**

Caso você decida não participar deste estudo não haverá qualquer prejuízo a você ou ao cuidado com seu filho. Caso aceite participar, sua participação também poderá ser suspensa a qualquer momento. O sigilo é garantido e seu nome não será divulgado em nenhum momento, nem para outras pessoas ou em qualquer publicação.

Em caso de dúvidas em qualquer momento do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis para esclarecimentos. A pesquisadora responsável é a Dra. Camila de Almeida Silva, médica do serviço de controle de infecção hospitalar do Hospital e Maternidade Santa Joana, que pode ser contatada pelo telefone 5080.6145 ou pelo e-mail calmeida@santajoana.com.br. Caso você tenha alguma dúvida sobre a ética desta pesquisa, poderá entrar em contato com o comitê de ética em pesquisa (CEP) na rua Dr. Eduardo Amaro 225, tel: 5080.6068, ou através do e-mail centrodeestudos@santajoana.com.br. A análise microbiológica e genética das bactérias que forem

encontradas será realizada no LIM54, laboratório de pesquisa do HC/FMUSP, que será a instituição coparticipante desta pesquisa, cuja responsável é a Prof. Dra. Sílvia Figueiredo Costa.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que me foram lidas, descrevendo o estudo: "**Avaliação da transmissão de *S. aureus* em Unidade de Terapia Intensiva Neonatal com níveis endêmicos a despeito de vigilância ativa e descolonização".**

Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos que serão realizados em mim e meu filho (a), seus desconfortos e riscos, assim como a garantia da confidencialidade e possibilidade de esclarecer qualquer dúvida que venha surgir. Concordo voluntariamente a participar deste estudo e poderei retirar meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem qualquer penalidade ou prejuízo a mim ou ao meu filho (a).

Assinatura: _____

Data: _____/_____/_____

* Assinatura da testemunha: _____

para casos de menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste participante do estudo.

_____

Assinatura do responsável pelo estudo

APÊNDICE G – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para Profissional de Saúde

Nesse estudo, realizaremos a pesquisa de uma bactéria, *Staphylococcus aureus*, em recém-nascidos. Essa bactéria pode ser encontrada em nosso corpo e não necessariamente causar doenças, mas em situações em que as defesas estão diminuídas, pode causar infecções. Avaliaremos se esta bactéria está presente no pai e/ou mãe dos recém-nascidos internados na UTI neonatal. Será realizada também a pesquisa nos profissionais de saúde que prestam assistência direta aos recém-nascidos. Pessoas saudáveis podem ser colonizadas pelo *S. aureus,* mas como queremos compreender o comportamento desta bactéria na unidade que você trabalha, procuraremos identificá-la em seu corpo.

Para procurarmos esta bactéria será solicitado a você a coleta de material através do uso de swabs, que são um tipo de cotonete, que serão friccionados no seu nariz. Um profissional treinado fará esta coleta, que é indolor e não traz nenhum risco para você. Pode ser necessária a repetição desta coleta durante o estudo. Caso o resultado desta pesquisa seja positivo para esta bactéria, será solicitado que você faça uso da pomada de mupirocina em suas narinas 2 x ao dia, por um período de 5 dias. A receita da pomada será fornecida a você por um médico da Instituição e deverá ser retirada na farmácia do hospital. Reações de sensibilização local à **mupirocina** são raramente relatadas. A **Mupirocina** é usualmente bem tolerada, mas podem causar reações locais, tais como: coceira, vermelhidão e sensação de ardência. Não deve ser aplicada em caso de lesões ou feridas dentro das narinas. Caso você sinta qualquer desconforto com a pomada, deverá entrar em contato com o médico pesquisador, que terá a responsabilidade de avaliá-lo e definir se o uso deverá ser interrompido ou não.

O resultado deste estudo não beneficiará diretamente a você, mas ajudará a compreendermos como esta bactéria age e o que podemos fazer para impedir sua transmissão. Não existirá nenhum tipo de remuneração ou despesa aos participantes do estudo. Embora esta pesquisa não envolva riscos a você, caso ocorra algum, a responsabilidade será do pesquisador e da Instituição**.**

Caso você decida não participar deste estudo não haverá qualquer tipo de prejuízo. Caso aceite participar, sua participação também poderá ser suspensa a qualquer momento. O sigilo é garantido e seu nome não será divulgado em nenhum momento, nem para outras pessoas da Instituição ou em qualquer publicação.

Em caso de dúvidas em qualquer momento do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis para esclarecimentos. A pesquisadora responsável é a Dra. Camila de Almeida Silva, médica do serviço de controle de infecção hospitalar do Hospital e Maternidade Santa Joana, que pode ser contatada pelo telefone 5080.6145 ou pelo e-mail calmeida@santajoana.com.br. A análise microbiológica e genética das bactérias que forem encontradas será realizada no LIM54, laboratório

de pesquisa do HC/FMUSP, que será a instituição coparticipante desta pesquisa, cuja responsável é a Prof. Dra. Sílvia Figueiredo Costa.

Caso você tenha alguma dúvida sobre a ética desta pesquisa, poderá entrar em contato com o comitê de ética em pesquisa (CEP) na rua Dr. Eduardo Amaro 225, tel: 5080.6068, ou através do e-mail centrodeestudos@santajoana.com.br.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que me foram lidas, descrevendo o estudo: "**Avaliação da transmissão de *S. aureus* em Unidade de Terapia Intensiva Neonatal com níveis endêmicos a despeito de vigilância ativa e descolonização.**

Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos que serão realizados e riscos, assim como a garantia da confidencialidade e possibilidade de esclarecer qualquer dúvida que venha surgir.

Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem qualquer penalidade ou prejuízo.

Assinatura: _____

Data: _____/_____/_____

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste participante do estudo.

_____

Assinatura do responsável pelo estudo

APÊNDICE H – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para Recém-Nascido

Nesse estudo, nós avaliaremos a possível presença de uma bactéria, *Staphylococcus aureus*, em seu recém-nascido. Essa bactéria pode ser encontrada em nosso corpo e não necessariamente causar doenças, mas em situações em que as defesas estão diminuídas, pode causar infecções. Avaliaremos se esta bactéria está presente também no pai e/ou mãe dos recém-nascidos internados na UTI neonatal e nos profissionais de saúde.

Para procurarmos esta bactéria será realizada na admissão e semanalmente a coleta de material através do uso de swabs, que são um tipo de cotonete, que serão friccionados no nariz de seu filho (a). Um profissional treinado fará esta coleta, que é indolor e não traz nenhum risco. Caso o resultado da pesquisa desta bactéria seja positivo, seu filho (a) será submetido a banho com uma substância chamada clorexidina conforme rotina já estabelecida na UTI. Será aplicado também a pomada de mupirocina dentro da narina, por 5 dias, na tentativa de eliminar esta bactéria reduzindo assim a possibilidade de infecções. Reações de sensibilização local à **mupirocina** são raramente relatadas. A **Mupirocina** é usualmente bem tolerada, mas podem causar reações locais, tais como: coceira, vermelhidão e sensação de ardência. Não será aplicada em caso de lesões ou feridas dentro das narinas. Caso ocorra qualquer reação alérgica a estas substâncias ou lesões cutâneas ou nasais, o uso será prontamente interrompido. Estas medidas são respaldadas pela literatura médica e já realizadas há muitos anos neste e em outros hospitais.

O resultado deste estudo ajudará a compreendermos como esta bactéria age e o que podemos fazer para impedir sua transmissão nas UTIs neonatais. Não existirá nenhum tipo de remuneração ou despesa aos participantes do estudo. Caso você decida pela não participação do seu filho (a) neste estudo, não haverá qualquer prejuízo a você ou ao cuidado com seu filho (a). Caso aceite participar, a participação do seu filho (a) também poderá ser suspensa a qualquer momento. O sigilo é garantido e o nome do seu filho (a) não será divulgado em nenhum momento, nem para outras pessoas ou em qualquer publicação.

A pesquisadora responsável é a Dra. Camila de Almeida Silva, médica do serviço de controle de infecção hospitalar do Hospital e Maternidade Santa Joana, que pode ser contatada pelo telefone 5080.6145 ou pelo e-mail calmeida@santajoana.com.br. A análise microbiológica e genética das bactérias que forem encontradas será realizada no LIM54, laboratório de pesquisa do HC/FMUSP, que será a instituição coparticipante desta pesquisa, cuja responsável é a Prof. Dra. Sílvia Figueiredo Costa.

Caso você tenha alguma dúvida sobre a ética desta pesquisa, poderá entrar em contato com o comitê de ética em pesquisa (CEP) na rua Dr. Eduardo Amaro 225, tel: 5080.6068, ou através do e-mail centrodeestudos@santajoana.com.br.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que me foram lidas, descrevendo o estudo: "**Avaliação da transmissão de *S. aureus* em Unidade de Terapia Intensiva Neonatal com níveis endêmicos a despeito de vigilância ativa e descolonização.**

Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos que serão realizados em meu filho (a), seus desconfortos e riscos, assim como a garantia da confidencialidade e possibilidade de esclarecer qualquer dúvida que venha surgir. Concordo voluntariamente com participação no meu filho (a) neste estudo e poderei retirar meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem qualquer penalidade ou prejuízo a mim ou ao meu filho (a).

Assinatura: _____

Data: _____/_____/_____

* Assinatura da testemunha: _____

Data: _____/_____/_____

*para casos de menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste participante do estudo

_____

Assinatura do responsável pelo estudo