

Maria Fernanda Bádue Pereira

**Colonização por *Staphylococcus*
aureus em pediatria**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-
Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da
Santa Casa de São Paulo para obtenção do título
de Mestre em Medicina

São Paulo

2011

Maria Fernanda Bádue Pereira

Colonização por *Staphylococcus aureus* em pediatria

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Medicina

Área de concentração: Ciências da Saúde

Orientador: Prof. Dr. Eitan Naaman Berezin

Co-orientador: Prof. Dr. Marcelo Jenne Mimica

São Paulo

2011

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca Central da
Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo

Pereira, Maria Fernanda Bádue

Colonização por *Staphylococcus aureus* em pediatria./ Maria
Fernanda Bádue Pereira. São Paulo, 2011.

Tese de Mestrado. Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa
de São Paulo – Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.

Área de Concentração: Ciências da Saúde

Orientador: Eitan Naaman Berezin

Co-orientador: Marcelo Jenne Mimica

1. Staphylococcus aureus 2. Staphylococcus aureus resistente à
metilina 3. Portador sadio 4. Criança

BC-FCMSCSP/90-11

Dedicatória

Aos meus pais, pela vida e educação. Em especial, ao meu pai Nataniel
Marcos Bádue, pela honestidade.

Aos meus familiares, especialmente meus irmãos (Gabriel, Tobias,
Edgar, Nataniel e Tiago) e vó Norma.

Ao meu querido Eliel.

A todos os meus professores.

Aos meus amigos.

Agradecimentos

A Deus.

Aos pacientes e pais.

Aos orientadores: Prof. Dr. Eitan Naaman Berezin e Prof. Dr. Marcelo Jenne Mimica, Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, pelos ensinamentos.

A Professora Dra. Rozane de Lima Bigelli Carvalho, Faculdade de Ciência Médicas da Santa Casa de São Paulo, pelo apoio técnico.

A Probac do Brasil Produtos Bacteriológicos Ltda., pelo apoio financeiro.

A equipe do Laboratório de Microbiologia - Departamento de Patologia – Faculdade de Ciência Médicas da Santa Casa de São Paulo.

Ao corpo clínico e administrativo do Departamento de Pediatria – Hospital da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo.

A equipe da Pediatria do Centro de Saúde Escola – “Dr Alexandre Vranjac”.

A equipe da Pós-graduação e Biblioteca - Faculdade de Ciência Médicas da Santa Casa de São Paulo.

A CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.

ABREVIATURAS:

MRSA: *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina.

MSSA: *Staphylococcus aureus* sensível à meticilina.

CA-MRSA: *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina associados à comunidade.

HA-MRSA: *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina associados aos cuidados de saúde.

SCC*mec*: Staphylococcal Cassette Chromosome *mec*.

PVL: Leucocidina de Panton Valentine.

ST: sequence type.

MLST: multilocus sequence typing.

CIM: concentrações inibitórias mínimas.

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO	5
1.1- Revisão da literatura	8
2- OBJETIVO	15
3- CASUÍSTICA E MÉTODOS	16
4- RESULTADOS	18
5- DISCUSSÃO	21
6- CONCLUSÃO	23
7- ANEXOS	24
8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28
RESUMO	33
ABSTRACT	34

1-Introdução

Os *Staphylococcus aureus* são cocos Gram positivos, imóveis, coagulase positivos, anaeróbios facultativos e possuem proteína que se liga ao fibrinogênio (fator clumping). Seus principais fatores de virulência são os componentes da superfície celular (cápsula, proteína A), as toxinas (hemolisinas, leucocidina, enterotoxina e outros) e as enzimas (coagulase livre, catalase, estafiloquinase) ⁽¹⁾.

Os *Staphylococcus aureus* colonizam a pele e mucosas dos seres humanos e podem causar infecções. As infecções estafilocócicas podem ser limitadas a pele, como impetigo e furúnculos, ou invasivas, como artrite, osteomielite, pneumonia, meningite, endocardite e sepse. Os *Staphylococcus aureus* também podem causar doenças mediadas por secreção de toxinas. Síndrome do choque tóxico e síndrome da pele escaldada são exemplos de doenças causadas por liberação de toxinas de bactérias do próprio indivíduo. Intoxicação alimentar é exemplo de doença causada por toxinas (enterotoxinas) produzidas por bactérias que colonizam alimentos, apesar da destruição bacteriana no processo de cozimento, as toxinas não são desnaturadas com o calor ⁽¹⁾.

Diversos antibióticos, como oxacilina, cefalosporinas, macrolídeos, tetraciclina, sulfametoxazol e trimetoprim, vancomicina e linezolida, possuem atividade contra os *Staphylococcus aureus*. Porém a bactéria tem elevada capacidade de desenvolver resistência a todos eles ^(2,3).

Mutações genéticas e/ou aquisição de genes de resistência de outras

bactérias determinam resistência a antimicrobianos em *Staphylococcus aureus* ⁽²⁾. Desde a benzilpenicilina, utilizada nos anos 1940 e 1950, a resistência bacteriana aos antibióticos é um problema crescente. Com o surgimento das cepas de *Staphylococcus aureus* produtoras de betalactamase, em meados da década de 1950 a maioria das cepas de *Staphylococcus aureus* era resistente a benzilpenicilina ⁽⁴⁾. Depois da síntese da metilpenicilina (metecilina), derivado da penicilina que não sofre ação da betalactamase, em 1959, apareceram as cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a metecilina (MRSA). A resistência à metecilina é conferida pelo gene *mecA*, que expressa proteína ligadora de penicilina alterada (PBP2a), cuja característica é possuir baixa afinidade pela metecilina. ^(2,4).

Durante muitos anos, estas cepas de MRSA causaram infecções somente em indivíduos com fatores de risco para as infecções relacionadas aos cuidados da saúde e eram restritas ao ambiente hospitalar ⁽⁵⁾.

Na última década houve mudança na epidemiologia das infecções por *Staphylococcus aureus* ⁽⁶⁾. As cepas de *Staphylococcus aureus* resistente à metecilina (MRSA), que eram restritas ao ambiente hospitalar, foram identificadas na comunidade, causando doença em indivíduos sem fatores de risco para infecção relacionada aos cuidados de saúde, com aumento na incidência das infecções estafilocócicas principalmente em grupos específicos de pessoas, como crianças, militares, jogadores de times esportivos e nativos do Alaska. ⁽⁷⁻⁹⁾.

Estas cepas de *Staphylococcus aureus* resistente à metecilina associadas à comunidade (CA-MRSA) têm características particulares de resistência e virulência ^(10,11). Os genes de resistência em *Staphylococcus*

aureus estão localizados em plasmídeos ou em elemento genético móvel. O gene *mecA*, que confere resistência à meticilina, está localizado em um elemento genético móvel, o Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* (SCC*mec*). Onze tipos de SCC*mec* são conhecidos ^(12,13). Os SCC*mec* tipo IV e V são os menores tipos de SCC*mec*, pois carregam poucos genes de resistência e têm sido relacionados com as cepas de CA-MRSA. Estas cepas expressam resistência a poucos antimicrobianos, como β -lactâmicos e eritromicina, e são muito eficientes na transferência de seus genes de resistência a outras bactérias. Já as cepas de MRSA associadas aos cuidados de saúde (HA-MRSA) carregam muitos genes de resistência, possuem SCC*mec* tipo I, II ou III e podem expressar multi-resistência ⁽⁷⁾.

Em relação à virulência, além dos fatores de virulência comuns a maioria dos *Staphylococcus aureus* como: os componentes de superfície celular (cápsula e proteína A), moléculas de adesão (fibronectina e proteína ligadora de fibrinogênio), toxinas (hemolisinas, enterotoxinas) e enzimas (coagulase, catalase e estafiloquinase), as cepas CA-MRSA, em geral, produzem outras toxinas como a leucocidina de Pantón Valentine (PVL), cuja atividade provoca lise e destruição leucocitária, além de atividade inflamatória intensa e necrose tecidual ^(1,14,15).

Apesar de a maioria dos indivíduos colonizados não desenvolverem infecção, colonização por *Staphylococcus aureus* pode ser um fator de risco para infecção, principalmente em estados de imunossupressão, quebra das barreiras naturais (cirurgia) ou em pacientes com dispositivos como cateter venosos e próteses ⁽¹⁶⁾. von Eiff et al observaram relação positiva entre colonização nasal e infecção por *Staphylococcus aureus* em pacientes

internados ⁽¹⁷⁾. Miller et al não encontraram associação entre colonização nasal por *Staphylococcus aureus* e infecção de pele grave ⁽¹⁸⁾.

A influência da colonização na infecção não é bem compreendida e depende de fatores do hospedeiro e da bactéria. Em relação aos fatores do hospedeiro, Verkaik et al encontraram ampla variação na resposta humoral de 57 lactentes, com níveis de anticorpos antiestafilocócicos maiores nos lactentes colonizados por *Staphylococcus aureus* ⁽¹⁹⁾. Em relação à bactéria, as cepas de MSSA e MRSA têm características diferentes ^(20,21), Fritz et al, em estudo longitudinal, encontraram taxa de infecção de pele e tecidos moles três vezes maior em crianças colonizadas por MRSA, enquanto que a taxa de infecção em colonizados por *Staphylococcus aureus* sensível à meticilina (MSSA) foi semelhante a dos não colonizados ⁽²⁰⁾.

Além disso, os indivíduos colonizados são fonte de transmissão da bactéria para outras pessoas ^(20,22). Desta forma, o conhecimento dos dados epidemiológicos a respeito dos colonizados por *Staphylococcus aureus* em nosso meio é importante na elaboração de estratégias de prevenção de infecções e disseminação bacteriana no ambiente hospitalar e na comunidade.

1.1- Revisão da literatura

O objetivo desta revisão foi levantar as taxas de colonização por *Staphylococcus aureus* e MRSA em crianças a partir do nascimento até 18 anos de vida, em diferentes países, em estudos realizados nos anos de 2000 a 2010, em periódicos indexados no banco de dados Medline ⁽²³⁾.

A revisão foi não sistemática em banco de dados Medline ⁽²³⁾ cruzando as seguintes palavras chave, publicadas em “Medical Subject Headings” ⁽²⁴⁾: “Carrier state”; “Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*” (MRSA); “nose”, “oropharynx”; “*Staphylococcus aureus*”.

Selecionamos estudos originais que estimaram a taxa de colonização por *Staphylococcus aureus* e/ou MRSA em crianças com até 18 anos, realizados nos anos de 2000 a 2010, os artigos de revisão foram excluídos.

Incluímos os artigos publicados em língua inglesa e espanhola. Estudos realizados exclusivamente em sujeitos internados em Unidade de Terapia Intensiva ou com as seguintes patologias foram excluídos: doença cardíaca, doença renal, doença respiratória em ventilação mecânica, tuberculose, fibrose cística, doença neoplásica, dermatite atópica, queimadura, diabetes mellitus ou infecções estafilocócicas. Estudos realizados exclusivamente em sujeitos com mais de 18 anos também foram excluídos.

Oitocentos e trinta artigos apareceram quando as palavras chave descritas acima foram digitadas no campo de busca do banco de dados Medline. Quinhentos e sessenta e um artigos foram publicados nos anos de 2000 a 2010. Trinta e dois destes artigos preencheram os critérios de inclusão e exclusão.

As fossas nasais anteriores são consideradas principal sítio de colonização para *Staphylococcus aureus*. Outros locais, como pele, orofaringe e períneo também são sítios de colonização relevantes ⁽²⁵⁾.

Lautenbach et al coletaram swabs em narinas, axilas, orofaringe, virilha e períneo de 56 pacientes sabidamente colonizados por MRSA a fim de avaliar a sensibilidade nos diferentes sítios de colonização. O sítio de colonização

mais freqüente foi a fossa nasal anterior, porém a coleta em múltiplos sítios anatômicos aumentou a sensibilidade para detecção dos MRSA em mais de 90% ⁽²⁶⁾.

Publicações recentes mostram que a orofaringe é um importante sítio de colonização. Em estudo mexicano, com 1243 indivíduos saudáveis, incluindo crianças, a taxa de colonização por *Staphylococcus aureus* foi 59,3% (743/1243), sendo 22,7% (282/1243) colonizados somente em orofaringe, 13,3% (165/1243) colonizados exclusivamente nas narinas e 23,8% colonizados em ambos (296/1243). A taxa de colonização por MRSA foi 8,6% (107/1243), sendo 2,8% (35/1243) colonizados somente em orofaringe, 2,7% (34/1243) apenas em narinas e 3,1% (38/1243) em ambos ⁽²⁷⁾.

Hewlett et al, em estudo com 104 crianças de uma creche, com idade entre seis meses e cinco anos, observaram 22 crianças colonizadas por MSSA (21,15%), 14 colonizadas em narinas (64%) e 10 colonizadas em orofaringe (45%). Sete crianças estavam colonizadas por MRSA (6,7%), a sensibilidade da cultura nasal e orofaríngea isoladamente foi semelhante, porém três casos de colonizados por MRSA não teriam sido identificados se apenas um sítio fosse analisado ^(28,29).

A duração e o estado de colonização dependem de fatores do hospedeiro e da bactéria ^(20,30). A colonização por *Staphylococcus aureus* é transitória para a maioria dos indivíduos. Hamdan-Partida et al acompanharam 108 indivíduos durante seis anos (1998-2003) para verificar persistência de *Staphylococcus aureus* em orofaringe. Os resultados mostraram que 13% (14/108) dos sujeitos nunca foram colonizados, 74% (80/108) dos indivíduos

apresentaram colonização intermitente e 13% (14/108) nunca estiveram colonizados ⁽²⁷⁾.

Lebon et al pesquisaram colonização nasal por *Staphylococcus aureus* em 443 lactentes em três momentos: 1,5 meses, 6 meses e 14 meses; colonização persistente aconteceu em 13 casos (2,9%), 161 crianças (36,3%) nunca estiveram colonizadas e 269 lactentes (60,8%) apresentaram colonização transitória ⁽³⁰⁾.

Fritz et al, em estudo longitudinal em 66 crianças, mostraram que colonização nasal por cepas de CA-MRSA foi transitória (18% persistiram colonizados após 12 meses), enquanto que colonização nasal por cepas de MSSA foi persistente (56% persistiram colonizados após 12 meses) ⁽²¹⁾.

A maioria dos artigos estima a taxa de colonização por *Staphylococcus aureus* e MRSA a partir de coleta de amostra de secreção nasal ⁽³¹⁻⁵²⁾.

Em estudo na cidade de Nashville [Tennessee, Estados Unidos das Américas (EUA)], em 2004, com 475 crianças saudáveis, com menos de 15 anos, a taxa de colonização nasal por *Staphylococcus aureus* foi 36,6% e por MRSA foi 9,4% ⁽³¹⁾.

Em estudos de vigilância na população dos EUA nos anos de 2001 a 2004 a prevalência de colonização nasal por *Staphylococcus aureus* no grupo de 1 a 19 anos em 2001-2002 foi 36,9% (IC95%: 34,8%-39,1%), em 2003-2004 foi 34,6% (IC95%: 31,9%-37,3%). No mesmo estudo, a prevalência de colonização por MRSA na mesma faixa etária foi 0,6% (IC95%: 0,1%-1,5%) em 2001-2002 e 1,3% (IC-95%: 0,8%-1,9%) em 2003-2004, sendo que 65,3% (IC95%: 37,5%-87,0%) dos MRSA tinham SCCmec tipo IV ^(32,33).

Em outro estudo realizado nos EUA, em 2005-2006, com 1300 crianças da cidade de St. Louis (Missouri-EUA), a prevalência de colonização nasal por MSSA e MRSA foi 25,5% e 2,5%, respectivamente. Das 32 cepas de MRSA, nove (28%) tinham SCCmec II (HA-MRSA) e 21 (66%) tinham SCCmec IV (CA-MRSA), em dois casos a tipagem do SCCmec não foi possível, apesar da presença do gene *mecA*. O gene da PVL esteve presente em 16 (76%) cepas de CA-MRSA. Nenhuma cepa de HA-MRSA apresentou o gene da PVL ⁽³⁴⁾.

Em estudo com 1163 crianças, realizado em creches dos estados Carolina do Norte e Virginia, EUA, a taxa de colonização nasal por *Staphylococcus aureus* e MRSA foram 18,1% (210/1163) e 1,3% (15/1163), respectivamente ⁽³⁵⁾.

No Texas, EUA, a taxa de colonização nasal por *Staphylococcus aureus*, em crianças dentro das primeiras 48 horas de admissão hospitalar, foi 36% (125/350) e por MRSA foi 22% (76/350); estas crianças tinham os seguintes antecedentes: 26% hospitalização recente, 46% consulta recente em Pronto Socorro, 35% alguma doença crônica e 21% cirurgia recente ⁽³⁶⁾.

Em estudos com 3200 crianças em Taiwan, a prevalência de colonização nasal por *Staphylococcus aureus* diminuiu de 28,1% (IC95%:25,9%-30,3%) entre 2004 e 2006 para 23,3% (IC95%:21,2%-25,4%) no período de 2007 a 2009 e a prevalência de colonização por MRSA aumentou de 8,1% (IC95%:6,8%-9,4%) entre 2004 e 2006 para 15,1% (IC95%:13,3%-16,8%) de 2007 a 2009. Na análise molecular, 33,2% das cepas de MRSA carregavam o gene da PVL e 27,2% tinham o SCCmec V_t; o sequence type (ST) mais comum, determinado por multilocus sequence typing (MLST), foi o ST59 (86,3%), ST mais comum na Ásia-Pacífico ^(37,38).

Chen et al, também em Taiwan, em estudo com 6057 crianças presentes em consultas de rotina, entre 2005 e 2008, observaram taxa de colonização nasal por *Staphylococcus aureus* e MRSA de 23,1% e 7,8%, respectivamente. Na análise molecular de 294 cepas de MRSA, o ST59 foi o mais freqüente (82%), sendo que 59,2% destas cepas foram caracterizadas como tipo C, em pulsed-field gel electrophoresis (PFGE), SCCmec IV e gene da PVL ausente e 22,8% como tipo D, SCCmec V e gene da PVL presente ⁽³⁹⁾.

Em estudo com 296 crianças em Seoul, Korea, as taxas de colonização por *Staphylococcus aureus* e MRSA foram 32,1% (95/296) e 6,0% (18/296), respectivamente; o elemento SCCmec IVA foi encontrado em nove cepas de MRSA correspondentes ao ST72, duas cepas de MRSA foram caracterizadas como ST5-MRSA-II ⁽⁴⁰⁾.

Em estudo japonês, em creches das cidades de Miyagi, Kyoto e Saga, 818 crianças saudáveis foram avaliadas quanto à colonização em sítio nasal, sendo que 28,2% (231/818) estavam colonizadas por *Staphylococcus aureus* e 4,3% (35/818) colonizadas por MRSA. Trinta cepas carregavam o SCCmec II e catorze cepas o SCCmec IV ⁽⁴¹⁾.

Na Suíça, em 2006, a taxa de colonização nasal por *Staphylococcus aureus* e MRSA foi 41.3% (562/1337) e 0.18% (1/1337), respectivamente. O único MRSA isolado tinha SCCmec IV e não carregava o gene da PVL ⁽⁴²⁾.

Em estudo grego, com 123 crianças saudáveis, a taxa de colonização nasal por *Staphylococcus aureus* foi 59,4% e por MRSA foi 3,2%. As quatro cepas de MRSA pertenciam ao ST80 e três cepas carregavam o gene da PVL ⁽⁴³⁾.

Na Turquia, no ano 2000, em estudo com 115 crianças entre um e dezesseis anos, a taxa de colonização nasal por *Staphylococcus aureus* foi 19,1%. Nenhum MRSA foi encontrado ⁽⁴⁴⁾. Em 2005, no mesmo país, 1134 crianças saudáveis foram avaliadas, 28,4% estavam colonizadas por *Staphylococcus aureus* e 0,3% por MRSA ⁽⁴⁵⁾. Em outro estudo turco, com 200 crianças saudáveis, entre cinco e sete anos, Oguzkaya-Artan et al encontraram 18% de colonização nasal por *Staphylococcus aureus* e 1% por MRSA ⁽⁴⁶⁾. Kilic et al estudaram colonização nasal em 4050 crianças em Ankara, Turquia, 1001 (24,7%) crianças estavam colonizadas por *Staphylococcus aureus* e três crianças estavam colonizadas por MRSA (0,07%); as três cepas de MRSA carregavam o SCCmec IV e nenhuma cepa tinha o gene da PVL ⁽⁴⁷⁾.

Em estudo com 1562 crianças indianas saudáveis, a taxa de colonização nasal por *Staphylococcus aureus* foi 6,3% e por MRSA foi 1,0% ⁽⁴⁸⁾. Em outro estudo realizado na Índia, com 489 crianças saudáveis, em que 228 moravam em área rural, 161 em área urbana e 100 em favelas, a taxa de colonização por *Staphylococcus aureus* foi 52,5% e por MRSA foi 3,9%, não houve diferença estatisticamente significativa entre as populações ⁽⁴⁹⁾.

Na Venezuela, em 2007, a taxa de colonização nasal por *Staphylococcus aureus* foi 56% (141/250) em 250 crianças saudáveis, entre dois e cinco anos ⁽⁵⁰⁾. Na Colômbia, as taxas de colonização por *Staphylococcus aureus* e MRSA foram 33% e 9%, respectivamente ⁽⁵¹⁾.

Em estudo brasileiro, em Goiânia, no ano de 2005, a prevalência de colonização nasal por *Staphylococcus aureus* e MRSA em 1192 crianças foi 31.1% (IC95%:28.50-33.84) e 1.2% (IC95%:0.64-1.96), respectivamente. Dos

quatorze colonizados por MRSA, nove tinham SCCmec IIIA, quatro SCCmec IV e um SCCmec V. Nenhuma cepa carregava o gene da PVL ⁽⁵²⁾.

A incidência de colonização por *Staphylococcus aureus* é maior em lactentes e adolescentes ⁽⁵³⁾. Em estudo transversal com 790 crianças com até 40 meses, a taxa de colonização mais alta (30%) foi em lactentes com menos de três meses ⁽⁵⁴⁾. Em estudo de coorte, com 553 crianças saudáveis, em cinco consultas de rotina por criança, entre dois e doze meses de idade, a taxa de colonização por MSSA foi 30% (167/553) aos dois meses de idade e 10% (55/553) aos doze meses de idade ⁽⁵⁵⁾.

Lee et al estudaram colonização nasal por *Staphylococcus aureus* em 1968 crianças, com menos de sete anos de idade, e encontraram distribuição em formato de U, com picos de colonizados nos menores de seis meses (16.8% colonizados) e nos maiores de cinco anos (25.4% colonizados) (56). Pico de incidência aos 10 anos de idade (50% colonizados) foi observado em estudo com 3097 crianças holandesas saudáveis entre um e dezenove anos de idade ⁽⁵⁷⁾.

As taxas de colonização por *Staphylococcus aureus* e MRSA, nos estudos citados nesta revisão, variaram de 6,3% a 59,0% e de zero a 22,0%, respectivamente. Tabela 1.

2- OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi estimar a taxa de colonização nasal e orofaríngea por *Staphylococcus aureus* em crianças da comunidade, na cidade de São Paulo, Brasil.

3- CASUÍSTICA E MÉTODOS

As seguintes crianças participaram do estudo: aquelas internadas no Departamento de Pediatria do Hospital da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo (HSCM-SP), nas primeiras 48 horas da admissão hospitalar (crianças não saudáveis) e as crianças atendidas no Centro de Saúde Escola – “Dr Alexandre Vranjac”, em consulta pediátrica de rotina (crianças saudáveis).

O HSCM-SP é um hospital universitário, com 129 leitos pediátricos e o Centro de Saúde Escola – “Dr Alexandre Vranjac” é uma unidade de atenção primária acadêmica. Tanto o HSCM-SP quanto o Centro de Saúde Escola – “Dr Alexandre Vranjac” estão localizados na região central da cidade de São Paulo e atende pessoas com nível sócio econômico baixo.

Para o cálculo amostral consideramos a prevalência de crianças colonizadas por *Staphylococcus aureus* de 40% e um erro amostral de cinco pontos percentuais para mais ou para menos, ou seja, uma proporção de 35% a 45% de pacientes colonizados por *Staphylococcus aureus*. A fim de garantir esta proporção, foi necessário incluir no mínimo 160 sujeitos.

Os critérios de exclusão foram os seguintes: pacientes que estavam em uso de antibióticos há mais de 72 horas no momento da coleta ou que estiveram internados no ano anterior à coleta.

Nós incluímos crianças saudáveis ou com doenças não graves, com idade entre um mês e catorze anos. Pacientes internados em Unidade de Terapia Intensiva não foram incluídos.

A seleção dos pacientes foi feita por amostra de demanda. Na unidade de atenção primária selecionamos todas as crianças, que preenchiam os critérios de inclusão e exclusão, presentes em consulta pediátrica em duas

manhãs por semana. No hospital selecionamos duas crianças, que preenchem os critérios de inclusão e exclusão, por dia, duas vezes por semana, uma das crianças internada na enfermaria das crianças “grandes” (quartos onde as crianças com mais de dois anos ficam internadas) e a outra criança internada na enfermaria das crianças “pequenas” (quartos onde ficam internadas as crianças com menos de dois anos).

Este Projeto foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética das Instituições envolvidas. Os pais ou responsáveis de cada criança assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido antes da coleta e responderam a um questionário.

O período de coleta foi de março a novembro do ano de 2009. Dois pediatras treinados colheram todas as amostras. Para cada criança usamos três swabs, um para cada narina e um para orofaringe.

Os swabs foram acondicionados em Meio Stuart (Probac do Brasil®, São Paulo, Brasil) e encaminhados ao laboratório de Microbiologia da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo.

As amostras foram semeadas em placas de ágar sangue e em meios seletivos para *Staphylococcus aureus*, ágar manitol e meio cromogênico para MRSA (Probac do Brasil®, São Paulo, Brasil).

As placas semeadas foram incubadas durante 18 a 24 horas a uma temperatura entre 35,5 °C +-1 °C. Após esse período de incubação, realizamos a leitura das placas. As colônias típicas de *Staphylococcus aureus* foram selecionadas e semeadas novamente em ágar sangue e incubadas por 18 a 24 horas a 35,5 °C +-1 °C para os seguintes testes de identificação de *Staphylococcus aureus*: catalase, DNase, coagulase e coloração de Gram.

Susceptibilidade aos antimicrobianos foi mensurada por teste em disco de difusão (Oxoid® disks, Inglaterra), de acordo com as recomendações do CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) ⁽⁵⁸⁾, além Etest e disco de difusão (5 e 200 µg) para mupirocina. Seis cepas de *Staphylococcus aureus* de região nasal e cinco cepas de orofaringe não estavam viáveis para os testes de susceptibilidade.

As taxas de colonização por *Staphylococcus aureus* e MRSA e os intervalos de confiança a 95% correspondentes foram calculados. Para a comparação entre as duas populações e verificação dos fatores de risco para colonização por *Staphylococcus aureus* e MRSA nós usamos o teste do Qui-quadrado ou o teste exato de Fischer. Análise multivariada (regressão logística) foi realizada para investigar associação entre fatores de risco e colonização.

As análises estatísticas foram feitas usando o Epi info 3.4.3 and Statistical Package for the Social Sciences (SPSS for Windows, version 13.0; SPSS, Inc.). O nível de significância foi considerado 0,05.

4- RESULTADOS

Nós avaliamos 207 crianças, 10 foram excluídas devido à internação hospitalar no ano anterior à coleta. Cento e noventa e sete crianças foram incluídas no estudo (101 crianças não saudáveis e 96 crianças saudáveis). A mediana da idade das crianças foi 67 meses (percentil 25: 28.5 meses e percentil 75: 109 meses).

As características das crianças saudáveis e não saudáveis foram heterogêneas, exceto por gênero, contato domiciliar com profissional da saúde e história de hospitalização prévia (> 1 ano). Tabela 2.

Cento e vinte oito crianças estavam colonizadas por *Staphylococcus aureus*, resultando em uma taxa de colonização global por *Staphylococcus aureus* de 65% (95%IC: 57,9%-71,6%). Não houve diferença estatisticamente significativa entre as crianças saudáveis e não saudáveis ($p=0,627$). Tabela 3.

Colonização somente em orofaringe ocorreu em 42 casos (21,3%; 95%IC: 15,8%-27,7%). Em 35 casos (17,7%; 95%IC: 12,7%-23,8%) encontramos *Staphylococcus aureus* somente nas narinas. Nós observamos *Staphylococcus aureus* em narinas e em orofaringe em 51 crianças (25,9%; IC95%: 19,9%-32,6%). Tabela 3.

A taxa de colonização por MRSA foi 5,9% (95%IC: 3,0%-10,3%), sendo encontrado em 11 crianças. Não houve diferença entre as crianças saudáveis e não saudáveis ($p=0,899$). Seis (3,2%; 95%IC: 1,2%-6,9%) MRSA isolados foram encontrados somente em orofaringe e três (1,6%; 95%IC: 0,3%-4,6%) MRSA isolados foram encontrados somente nas narinas. Tabela 3.

Em relação à susceptibilidade aos demais antibióticos destas 11 cepas de MRSA, quatro foram sensíveis aos demais antibióticos testados, três cepas apresentaram resistência a eritromicina, duas cepas apresentaram resistência a eritromicina e ciprofloxacino, uma cepa apresentou resistência a eritromicina, clindamicina e ciprofloxacino e uma cepa apresentou resistência a eritromicina, clindamicina, tetraciclina, cloranfenicol e rifampicina.

Todas as cepas de *Staphylococcus aureus* foram sensíveis a mupirocina. As concentrações inibitórias mínimas (CIM) para mupirocina nas cepas testadas variaram de 0.064 a 1 µg/ml, sendo que as CIM entre 8 µg/ml e 256 µg/ml são consideradas baixo grau de resistência e as CIM maior ou igual

a 512 µg/ml são consideradas alto grau de resistência. As zonas de diâmetro de inibição de crescimento bacteriano nos discos de difusão de mupirocina 5-µg foram 20 a 31mm (ponto de corte para resistência é zona de diâmetro menor ou =14mm) e mupirocina 200-µg foram 26-40 mm (qualquer zona de inibição é considerada sensível) ^(58,59).

Nós investigamos os seguintes fatores de risco para colonização por *Staphylococcus aureus* e MRSA: idade, hospitalização prévia, frequência em creche ou escola, uso de antibiótico seis meses antes da coleta, doença crônica, contato domiciliar com profissional da saúde e uso de vacina pneumocócica. Tabela 4.

A relação entre colonização por *Staphylococcus aureus* e idade apresentou associação significativa nas análises univariada e multivariada da seguinte forma: as crianças com idade entre 13 e 60 meses apresentaram um risco diminuído (razão de chances=0,321) em serem colonizadas quando comparadas com crianças com menos de 12 meses. Já as crianças maiores de 60 meses apresentaram risco igual ao daquelas com menos de 12 meses ($p=0,035$). As demais variáveis não estiveram associadas à colonização por *Staphylococcus aureus* nas análises univariada e multivariada.

Associação entre colonização por MRSA e idade menor que 13 meses foi observada na análise univariada, mas não na multivariada. As crianças que não freqüentavam creche ou escola apresentaram chance 6,3 vezes maior de serem colonizadas por MRSA do que as crianças que freqüentavam creche ou escola ($p=0,005$). Nenhuma outra variável esteve associada à colonização por MRSA nas análises univariada e multivariada.

5- DISCUSSÃO

Nós encontramos taxa de colonização por *Staphylococcus aureus* (65%) e MRSA (5,9%) mais alta que estudos publicados anteriormente (32-35,41-50,52,55,56).

Nós achamos que o principal motivo para isso foi a coleta de swab em mais de um sítio de colonização, nasal e orofaringe. A maioria dos estudos coleta apenas um swab (31-57). A coleta de amostra em mais de um sítio de colonização aumenta a chance de detecção da bactéria. Lautenbach et al observaram que a coleta em múltiplos sítios anatômicos (narinas, axilas, orofaringe, virilha e períneo) aumentou a sensibilidade da detecção de MRSA em mais de 90% (26). Hewlett et al notaram aumento na sensibilidade da identificação de MRSA com a pesquisa da bactéria em região nasal e orofaríngea (29). Estudos em adultos também mostram aumento na detecção de *Staphylococcus aureus* quando a orofaringe é avaliada, Mertz et al, em estudo com 2966 sujeitos, observaram aumento em 25,7 % na identificação de colonizados por *Staphylococcus aureus* quando, além da fossa nasal anterior, a orofaringe foi pesquisada e sugerem que a pesquisa em orofaringe é necessária quando se deseja identificar colonizados por *Staphylococcus aureus* (60). Nilsson et al encontraram taxa de colonização por *Staphylococcus aureus* orofaríngea mais alta que a nasal (61).

Na população do nosso estudo, 42 (21,3%; 95%IC: 15,8%-27,7%) crianças colonizadas por *Staphylococcus aureus* não teriam sido identificadas se só tivéssemos colhido secreção nas narinas. Além disso, seis dos onze MRSA isolados foram encontrados exclusivamente na orofaringe.

Evidentemente a pesquisa em orofaringe aumentou a identificação de colonizados.

Outra possível razão para as altas taxas de colonização por *Staphylococcus aureus* e MRSA neste estudo foi a baixa condição sócio econômica da população estudada. Lamaro-Cardoso et al observaram que nível educacional materno alto foi fator de proteção para colonização por *Staphylococcus aureus* ⁽⁵²⁾. Chen et al encontraram que um número maior de crianças na família foi fator de risco para colonização por MRSA ⁽³⁹⁾.

O uso de meios seletivos para *Staphylococcus aureus* e MRSA, ágar manitol e ágar cromogênico para MRSA, além do ágar sangue, pode ter contribuído na identificação bacteriana ⁽⁶²⁾.

Em relação à sensibilidade a mupirocina, todas as nossas cepas foram sensíveis a mupirocina. Dados do estudo SENTRY, programa de vigilância antimicrobiana, mostram que a taxa de resistência à mupirocina na América Latina (1,3%), comparada com EUA (6.8%), Canadá (4.3%) e Europa (8.7%), é a mais baixa do mundo ⁽⁶³⁾.

Assim como em estudos anteriores, o risco para colonização por *Staphylococcus aureus* em nosso estudo foi mais baixo nas crianças entre 13 e 60 meses, do que nas menores que 12 meses e maiores que 60 meses ^(39,56,57).

Nós encontramos, na análise multivariada, risco seis vezes maior de colonização por MRSA nas crianças que não freqüentavam creche ou escola do que naquelas que freqüentavam creche ou escola. Associação entre freqüência em creche e colonização por MRSA tem sido controverso na

literatura, alguns estudos encontraram associação positiva ^(52,64), Regev-Yochay et al, assim como em nosso estudo, observaram associação negativa ⁽⁵⁴⁾, outros pesquisadores não encontraram associação alguma ^(34,56).

Hospitalização prévia e contato domiciliar com profissional da saúde são fatores de risco para colonização por *Staphylococcus aureus* e MRSA bem documentados na literatura ⁽³³⁾, mas em nosso estudo estes fatores não foram significantes, provavelmente pelo pequeno tamanho da amostra.

Uma das limitações do nosso estudo foi que as coletas foram feitas em crianças com condição sócio econômica semelhante, impossibilitando a comparação das taxas de colonização por *Staphylococcus aureus* e MRSA nas diferentes classes sociais na cidade de São Paulo. Outra limitação deste estudo foi que não analisamos as características moleculares das cepas de MRSA, e a emergência de novos clones de MRSA na comunidade, em São Paulo, Brasil, pode ser uma das justificativas para a alta taxa de colonização por MRSA neste estudo ^(52,65-68).

Outros estudos de vigilância em infecção e colonização por *Staphylococcus aureus* e caracterização molecular das cepas de MRSA devem ser realizados em nosso meio, a fim de compreendermos melhor o processo de colonização e infecção e identificarmos a situação epidemiológica atual.

6- CONCLUSÃO

A taxa de colonização nasal e orofaríngea por *Staphylococcus aureus* em crianças da comunidade, na cidade de São Paulo, foi 65% (95%IC: 57.9%-71.6%).

7- ANEXOS

Tabela 1: Principais características e resultados de estudos sobre colonização por *Staphylococcus aureus* e MRSA em crianças nos anos 2000-2010.

Autor	Local	Ano	Nº crianças	Idade (anos)	Sítio de colonização	População	S. aureus	MRSA
Hewlett et al ^{28,29}	Texas	2009	104	0,5-5	Nasal, orofaringe, axila e períneo	Creche	27,8%	6,7%
Creech et al ³¹	Nashville, EUA	2004	475	0.04-14	Nasal	Sem doença aguda	36,6%	9,4%
Kuehnert et al ³²	EUA	2001-2002	4772	1-19	Nasal	NHANES*	36.9%	0.6%
Gorwitz et al ³³	EUA	2003-2004	4338	1-19	Nasal	NHANES*	34.6%	1.3%
Fritz et al ³⁴	St. Louis, EUA	2005-2006	1300	1-18	Nasal	Ambulatório	27,9%	2,5%
Miller et al ³⁵	Carolina do Norte e Virginia, EUA	2007-2009	1163	0-5	Nasal	Creche	18,1%	1,3%
Alfaro et al ³⁶	Texas, EUA	2005	350	0-18	Nasal	Admissão hospitalar	36%	22%
Lo et al ³⁷	Taiwan	2004-2006	1615	0-14	Nasal	Sem doença aguda	28,1%	8.1%
Lo et al ³⁸	Taiwan	2007-2009	1585	0-14	Nasal	Sem doença aguda	23,3%	15,1%
Chen et al ³⁹	Taiwan	2005-2008	6057	0-5	Nasal	Sem doença aguda	23.1%	7,8%
Ko et al ⁴⁰	Korea	2005-2006	296	1-11	Nasal	Ambulatório	32,1%	6,0%
Hisata. et al ⁴¹	Japão	2001-2002	818	NI**	Nasal	Creche	28,2%	4,3%
Heininger et al ⁴²	Suíça	2006	1337	1-18	Nasal	Admissão hospitalar	41.3%	0.18%
Sdougkos et al ⁴³	Grécia	2005-2006	123	0-14	Nasal	Ambulatoriais	59%	3.2%
Erdenizmenli et al ⁴⁴	Turquia	2000	115	1-16	Nasal	Ambulatório	19,1%	0
Ciftci et al ⁴⁵	Turquia	2005	1134	4-6	Nasal	Saudáveis	28.4%	0,3%
Oguzkaya-Artan et al ⁴⁶	Turquia	2006	200	5-7 anos	Nasal	Ambulatório	18%	1%
Kilic et al ⁴⁷	Turquia	2007	4050	7-12	Nasal	Escola	24,7%	0,07%
Pathak. et al ⁴⁸	Índia	2007-2009	1562	0-5	Nasal	Saudáveis	6.3%	1%
Chatterjee et al ⁴⁹	Índia	2005	489	5-15	Nasal	Escola	52,5%	3,9%
Quintero et al ⁵⁰	Venezuela	2007	250	2-5	Nasal	Escola	56%	NA***
Castro-Orozco et al ⁵¹	Colômbia	2008	100	3-16	Nasal	Escola	33%	9%
Lamaro-Cardoso et al ⁵²	Goiânia, Brasil	2005	1192	0-5 anos	Nasal	Creche	31,1%	1,2%
Regev-Yochay et al ⁵⁴	Israel	2002	790	0-3,3	Nasal	Ambulatório	10,1%	NA***
Adler et al ⁵⁵	Israel	2005-2006	553	2-12 meses	Nasal	Ambulatório	54,2%	5,7%
Lee et al ⁵⁶	Boston, EUA	2004	588	0,2-6	Nasal	Saudáveis	14,6%	0,2%
Lee et al ⁵⁶	Boston, EUA	2007	974	0,2-6	Nasal	Saudáveis	14,1%	0,9%
Bogaert et al ⁵⁷	Holanda	2003	3097	1-19	Nasal	Saudáveis	36%	NA***

*NHANES: The National Health and Nutrition Examination Survey. **NI: não informado.***NA: não avaliado.

Tabela2: Comparação das características as crianças não saudáveis (CnS) e saudáveis (CS).

Características	CnS (n=101)	CS(n=96)	p*
Idade			
>13 m	24 (23.8%)	10 (10.4%)	
13 m – 60 m	27 (26.7%)	30 (31.2%)	0.046 ^a
>61 m - 170 m	50 (49.5%)	56 (58.4%)	
Creche ou escola (%)	67 (66.3%)	83 (86.5%)	0.001 ^a
Uso de antibiótico seis meses antes da coleta (%)	34 (33.7%)	12 (12.5%)	<0.001 ^a
Crianças saudáveis na coleta	4 (4.0%)	88 (91.7%)	<0.001 ^a
Doença crônica	25 (24.8%)	5 (5.2%)	<0.001 ^a
Hospitalização prévia (> 1 ano)	27 (26.7%)	26 (27.1%)	0.956 ^a
Contato domiciliar com profissional da saúde	4 (4.0%)	7 (7.3%)	0.309 ^a
Uso de vacina pneumocócica	7 (6.9%)	0	0.014 ^b

p*= comparação das características entre as crianças saudáveis e não saudáveis -

Significância: 5%. a –Teste do Qui-quadrado; b –Teste exato de Fischer.

Tabela3: Colonização (Col) nasal (N) e orofaríngea (OF) por *S. aureus* e MRSA nas crianças não saudáveis (CnS) e saudáveis (CS).

Col	<i>S. aureus</i> Col (n=128)		MRSA Col (n=11)	
	CnS	CS	CnS	CS
Só N	19 (18.8%)	16 (16.7%)	3 (2.9%)	0
Só OR	22 (21.8%)	20 (20.8%)	2 (1.9%)	4 (4.1%)
N e OR	23 (22.8%)	28 (29.2%)	1 (0.9%)	1 (1.0%)
Total Col*	64 (63.4%)	64 (66.7%)	6 (6.1%)	5 (5.7%)

Não houve diferença estatisticamente significante entre os dois grupos:

colonização por *Staphylococcus aureus* $p=0.627$ and MRSA $p=0.899$.

Tabela4: Colonização por *Staphylococcus aureus* (Sa Col) e MRSA (MRSA col) por variável.

	Sa col		p**	MRSA col		p***
	Sim (n=128)	Não (n=69)		Sim (n=11)	Não (n=175)	
Idade						
<13 m	26 (20.3%)	8 (11.6%)		7 (63.6%)	25 (14.3%)	
13 m – 60 m	30 (23.4%)	27 (39.1%)	0.045 ^a	0	53 (30.3%)	<0.001 ^a
>61 m - 170 m	72 (56.3%)	34 (49.3%)		4 (36.4%)	97 (55.4%)	
Creche ou escola (%)	94 (73.4%)	56 (81.2%)	0.225 ^a	4 (36.4%)	137 (78.3%)	0.005 ^b
Uso de antibiótico seis meses antes da coleta (%)	26 (20.3%)	20 (28.9%)	0.170 ^a	2 (18.2%)	41 (23.4%)	>0.999 ^b
Crianças saudáveis na coleta	62 (48.4%)	30 (43.4%)	0.506 ^a	5 (45.5%)	80 (45.7%)	0.987 ^a
Doença crônica	22 (17.1%)	8 (11.5%)	0.297 ^a	0	29 (16.5%)	0.218 ^b
Hospitalização prévia (> 1 ano)	35 (27.3%)	18 (26.1%)	0.849 ^a	1 (9.0%)	50 (28.5%)	0.294 ^b
Contato domiciliar com profissional da saúde	7 (5.4%)	4 (5.7%)	>0.999 ^b	0	11 (6.2%)	>0.999 ^b
Uso de vacina pneumocócica	4 (3.1%)	3 (4.3%)	0.697 ^b	0	7 (4.0%)	>0.999 ^b

p**= comparação do status de colonização por *Staphylococcus aureus* por variável.

p***= comparação do status de colonização por MRSA por variável.

a – Teste do Qui-quadrado; b – Teste exato de Fischer.

8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Que YA, Moreillon P. *Staphylococcus aureus* (Including Staphylococcal Toxic Shock). In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases. 7th ed. Florida: Churchill Livingstone, Elsevier®; 2010. P. 2543-78.
- 2- Lowell GS, Daum RS. *Staphylococcus aureus*. In: Long SS. Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases. 3rd ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, Elsevier®; 2008. P. 679-93.
- 3- Enright MC, Robinson DA, Randle G, Feil EJ, Grundmann H, Spratt BG. The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). PNAS. 2002; 99:7687-92.
- 4- Stapleton PD, Taylor PW. Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*: mechanisms and modulation. Sci Prog. 2002; 85:57-72.
- 5- Centers for Disease Control and Prevention. National nosocomial infections surveillance (NNIS) system report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. Am J Infect Control. 2004; 32:470-85.
- 6- Chambers HF. The Changing Epidemiology of *Staphylococcus aureus*? Emerging Infectious Diseases 2001; 7:178-82.
- 7- Weber JT. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Clin Infect Dis. 2005; 41:S269-72.
- 8- David MZ, Glikman D, Crawford SE, Peng J, King KJ, Hostetler MA, Boyle-Vavra S, Daum RS. What is community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*? J Infect Dis. 2008; 197:1235-43.
- 9- Kaplan SL, Hultén KG, Gonzalez BE, Hammerman WA, Lamberth L, Versalovic J, et al. Three-year surveillance of community-acquired *Staphylococcus aureus* infections in children. Clin Infect Dis. 2005; 40:1785-91.
- 10- McCaskill ML, Mason EO, Kaplan SL, Hammerman W, Lamberth LB, Hultén KG. Increase of the USA300 clone among community-acquired methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* causing invasive infections. Pediatr Infect Dis J. 2007; 26: 1122-27.
- 11- Nastaly P, Grinholc M, Bielawski KP. Molecular characteristics of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains for clinical medicine. Arch Microbiol. 2010; 192:603-17.
- 12- Deurenberg RH, Stobberingh EE. The Molecular evolution of hospital- and community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Curr Mol Med. 2009; 9:100-15.
- 13- Turlej A, Hryniewicz W, Empel J. Staphylococcal cassette chromosome mec (Sccmec) classification and typing methods: an overview. Pol J Microbiol. 2011; 60:95-103.
- 14- Saïd-Salim B, Mathema B, Braughton K, Davis S, Sinsimer D, Eisner W, Likhoshvay Y, DeLeo FR, Kreiswirth BN. Differential distribution and expression of Pantón-Valentine leucocidin among community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. J. Clin. Microbiol. 2005; 43:3373-79.
- 15- Lina G, Piémont Y, Godail-Gamot F, Bes M, Peter MO, Gauduchon V, Vandenesch F, Etienne J. Involvement of Pantón-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin and pneumoniae. Clin Infect Dis. 1999; 29:1128-32.
- 16- Huang YC, Chou YH, Su LH, Lien RI, Lin TY. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization and its association with infection among

- infants hospitalized in neonatal intensive care units. *Pediatrics* 2006; 118:469-74.
- 17-** von Eiff C, Becker K, Machka K, Holger S, Peters G. Nasal carriage as a source of *Staphylococcus aureus* bacteremia. Study Group. *N Engl J Med*. 2001; 344:11-16.
- 18-** Miller M, Cook HA, Furuya EY, Bhat M, Lee MH, Vavagiakis P, et al. *Staphylococcus aureus* in the community: colonization versus infection. *PLoS ONE* 2009; 4:e6708.
- 19-** Verkaik NJ, Lebon A, de Vogel CP, Hooijkaas H, Verbrugh HA, Jaddoe VW, et al. Induction of antibodies by *Staphylococcus aureus* nasal colonization in young children. *Clin Microbiol Infect*. 2010; 16:1312-17.
- 20-** Fritz SA, Epplin EK, Garbutt J, Storch GA. Skin infection in children colonized with community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Infect*. 2009; 59:394-401.
- 21-** Fritz SA, Krauss MJ, Epplin EK, Burnham CA, Garbutt J, Dunne WM, Hunstad DA, Storch GA. The natural history of contemporary *Staphylococcus aureus* nasal colonization in community children. *Pediatr Infect Dis J*. 2011; 30:349-51.
- 22-** Adcock PM, Pastor P, Medley F, Patterson JE, Murphy TV. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in two child care centers. *J Infect Dis*. 1998; 178:577-80.
- 23-** National Center for Biotechnology Information. U.S. National Library of Medicine. National Institutes of Health. [online] PubMed.gov. [Cited 13 nov 2011]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>
- 24-** U.S. National Library of Medicine. National Institutes of Health. Medical Subject Headings. [online]. MeSH Browser. Online searching of MeSH vocabulary; 2011. [Cited 13 nov 2011]. Available from: http://www.nlm.nih.gov/mesh/2011/mesh_browser/MBrowser.html
- 25-** Williams R E O. Healthy carriage of *Staphylococcus aureus*: its prevalence and importance. *Bacteriol Rev*. 1963; 27:56-71.
- 26-** Lautenbach E, Nachamkin I, Hu B, Fishman NO, Tolomeo P, Prasad P et al. Surveillance Cultures for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: diagnostic yield of anatomic sites and comparison of provider- and patient-collected samples. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2009; 30:380-82.
- 27-** Hamdan-Partida A, Sainz-Espuñes T, Bustos-Martínez J. Characterization and persistence of *Staphylococcus aureus* strains isolated from the anterior nares and throats of healthy carriers in a mexican community. *J Clin Microbiol*. 2010; 48:1701-05.
- 28-** Hewlett AL, Falk OS, Hughes KS, Mayhall, CG. Epidemiology of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* in a university medical center day care facility. *Pediatric Infect Dis J*. 2010; 29:145-47.
- 29-** Hewlett AL, Falk OS, Hughes KS, Mayhall, CG. Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a university medical center day care facility. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2009; 30:985-92.
- 30-** Lebon A, Labout JAM, Verbrugh HA, Jaddoe VWV, Hofman A, van Wamel W et al. Dynamics and determinants of *Staphylococcus aureus* carriage in infancy: the Generation R Study. *J Clin Microbiol*. 2008; 46:3517-21.
- 31-** Creech CB, Kernodle DS, Alsentzer A, Wilson C, Edwards KM. Increasing rates of nasal carriage of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in healthy children. *Pediatr Infect Dis J*. 2005; 24:617-21.

- 32-** Kuehnert MJ, Kruszon-Moran D, Hill HA, McQuillan G, McAllister S K, Fosheim E G. Prevalence of *Staphylococcus aureus* nasal colonization in the United States, 2001-2002. *J Infect Dis.* 2006; 193:172-79.
- 33-** Gorwitz R J, Kruszon-Moran D, McAllister S K, McQuillan G, McDougal L K, Fosheim E G, et al. Changes in the prevalence of nasal colonization with a *Staphylococcus aureus* in the United States, 2001-2004. *J Infect Dis.* 2008; 197:1226-34.
- 34-** Fritz SA, Garbutt J, Elward A, Shannon W, Storch GA. Prevalence of and risk factors for Community-Acquired Methicillin-Resistant and Methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* colonization in children seen in a Practice-Based Research Network. *Pediatrics* 2008; 121:1090-98.
- 35-** Miller MB, Weber DJ, Goodrich JS, Popowitch EB, Poe MD, Nyugen V, et al. Prevalence and risk factor analysis for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal colonization in children attending child care centers. *J Clin Microbiol.* 2011; 49:1041.
- 36-** Alfaro C, Mascher-Denem M, Fergier J, Purcell K. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage in patients admitted to Driscoll Children's Hospital. *Pediatric Infect Dis J.* 2006; 25:459-61.
- 37-** Lo W T, Lin W J, Tseng M H, Wang S R, Chu M L, Wang C C. Risk factors and molecular analysis of Panton-Valentine leukocidin-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in healthy children. *Pediatr Infect Dis J.* 2008; 27:713-17.
- 38-** Lo WT, Wang CC, Lin WJ, Wang SR, Teng CS, Huang CF, et al. Changes in the nasal colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in children: 2004-2009. *PLoS ONE* 2010; 5:e15791.
- 39-** Chen CJ, Hsu KH, Lin TYL, Hwang KP, Chen PY, Huang YC. Factors associated with nasal colonization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among healthy children in Taiwan. *J Clin Microbiol.* 2011; 49:131-37.
- 40-** Ko KS, Lee JY, Baek JY, Peck KR, Rhee JY, Kwon KT, et al. Characterization of *Staphylococcus aureus* nasal carriage from children attending an outpatient clinic in Seoul, Korea. *Microb Drug Resist.* 2008; 14:37-44.
- 41-** Hisata K, Kuwahara-Arai K, Yamanoto M, Ito T, Nakatomi Y, Cui L, et al. Dissemination of methicillin-resistant Staphylococci among healthy Japanese Children. *J Clin Microbiol.* 2005; 43:3364-72.
- 42-** Heininger U, Datta F, Gervaix A, Schaad U B, Berger C, Vaudaux B, et al.; PIGS/MRSA study group. Prevalence of nasal colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in children *A Multicenter Cross-sectional Study.* *Pediatr Infect Dis J.* 2007; 26:544-46.
- 43-** Sdougkos G, Chini V, Papanastasiou DA, Christodoulou G, Stamatakis E, Vris A, et al. Community-associated *Staphylococcus aureus* infections and nasal carriage among children: molecular microbial data and clinical characteristics. *Clin Microbiol Infect.* 2008; 14:995-1001.
- 44-** Erdenizmenli M, Yapar N, Senger SS, Ozdemir S, Yuce A. Investigation of colonization with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* in an outpatient population in Turkey. *Jpn J Infect Dis.* 2004; 57:172-75.
- 45-** Ciftci IH, Koken R, Bukulmez A, Ozdemir M, Safak B, Cetinkaya. Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* in 4-6 age groups in healthy children in Afyonkarahisar, Turkey. *Acta Paediatr.* 2007;96:1043-46.

- 46-** Oguzkaya-Artan M, BaykanZ, Artan C. Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* in healthy preschool children. Jpn J Infect Dis. 2008; 61:70-2.
- 47-** Kilic A, Mert G, Senses Z, Bedir O, Aydogan H, Basustaoglu AC et al. Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal isolates from Turkey. Antonie Van Leeuwenhoek. 2008; 94:615-9.
- 48-** Pathak A, Marothi Y, Iyer RV, Singh B, Sharma M, Eriksson B. Nasal Carriage and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* in healthy preschool children in Ujjain, India. BMC Pediatr. 2010; 10:100.
- 49-** Chatterjee SS, Ray P, Aggarwal A, Das A, Sharma M. A community-based study on nasal carriage of *Staphylococcus aureus*. Indian J Med Res. 2009; 130:742-48.
- 50-** Quintero B, Araque M, van der Gaast-de Jongh C, Escalona F, Correa M, Morillo-Puente S, Vielma S, Hermans PWM. Epidemiology of *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus* colonization in healthy Venezuelan children. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2011; 30:7-19.
- 51-** Castro-Orozco R, Villafañe-Ferrer LM, Alvarez-Riviera E, De Arco MM, Rambaut-Donado CI, et al. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in children attending school in Cartagena, Colombia. Rev Salud Publica (Bogota). 2010; 12:454-63.
- 52-** Lamaro-Cardoso J, Lencastre H, Kipnis A, Pimenta F C, Oliveira L S C, Oliveira R M, et al. Molecular epidemiology and risk factors for nasal carriage of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* in infants attending day care centers in Brazil. J Clin Microbiol. 2009; 47:3991-97.
- 53-** Datta F, Erb T, Heininger U, Gervais A, Schaad Ub, Berger C, et al ; PIGS/MRSA study group. A multicenter, cross-sectional study on the prevalence and risk factors for nasal colonization with *Staphylococcus aureus* in patients admitted to children's hospitals in Switzerland. Clin Infect Dis. 2008; 47:923-26.
- 54-** Regev-Yochay G, Dagan R, Raz M, Carmeli Y, Shainberg B, Derazne E, Rahav G, Rubinstein E. Association between carriage of *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus* in children. JAMA. 2004; 292:716-20.
- 55-** Adler A, Givon-Lavi N, Moses AE, Block C, Dagan R. Carriage of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a Cohort of infants in Southern Israel: risk factors and molecular features. J Clin Microbiol. 2010; 48:531-38.
- 56-** Lee G M, Huang S S, Rifas-Shiman S L, Hinrichsen V L, Pelton S I, Kleinman K, et al. Epidemiology and risk factors for *Staphylococcus aureus* colonization in children in the post-PVC7 era. BMC Infectious Diseases 2009; 9:110.
- 57-** Bogaert D, van Belkum A, Sluijter M, Luijendijk A, de Groot R, Rümke H C, et al. Colonisation by *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus* in healthy children. Lancet 2004; 363:1871-72.
- 58-** Clinical and Laboratory Standards Institute. 2010. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twentieth Informational Supplement. CLSI document M100-S20. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA.
- 59-** Finlay JE, Miller LA, Poupard JA. Interpretative criteria for testing susceptibility of Staphylococci to Mupirocin. Antimicrob. Agents Chemother. 1997; 41:1137-39.

- 60-** Mertz D, Frei R, Jaussi B, Tietz A, Stebler C, Flückiger, et al. Throat swabs are necessary to reliably detect carriers of *Staphylococcus aureus*. Clin Infect Dis. 2007; 45:475-77.
- 61-** Nilsson P, Ripa T. *Staphylococcus aureus* throat colonization is more frequent than colonization in the anterior nares. J. Clin. Microbiol. 2006; 44: 3334-39.
- 62-** Stoakes L, Reyes R, Daniel J, Lennox G, John MA, Lannigan R et al. Prospective comparison of a new chromogenic medium, MRSASelect, to CHROMagar MRSA and mannitol-salt medium supplemented with oxacillin or cefoxitin for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol. 2006; 44:637-39.
- 63-** Deshpande LM, Fix AM, Pfaller MA, The SENTRY Antimicrobial Surveillance Program Participants Group, Jones RN. Emerging elevated mupirocin resistance rates among staphylococcal isolates in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2000): correlations of results from disk diffusion, Etest and reference dilution methods. Diag. Microbiol. Infect. Dis. 2002;42:283-90.
- 64-** Adcock P M, Pastor P, Medley F, Patterson J E, Murphy T V. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in two child care centers. J Infect Dis. 1998; 178:577-80.
- 65-** Mimica MJ, Berezin EN, Damaceno N, Carvalho RB. SCCmec type IV, PVL-negative, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in cystic fibrosis patients from Brazil. Curr Microbiol. 2011; 62:388-90.
- 66-** Mimica MJ, Berezin EN, Carvalho RB. Healthcare associated PVL negative methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with SCCmec type IV. Pediatr Infect Dis J. 2009; 28:934.
- 67-** CarmoMS, INoue F, Andrade SS, Paschoal L, Silva FM, Oliveira VGS et al. New multilocus sequence typing of MRSA in São Paulo, Brazil. Braz J Med Biol Res. 2011; 44:1013-17.
- 68-** Marra AR, Camargo LFA, Pignatari ACC, Sukiennik T, Behar PRPB, Medeiros EAS, et al; Brazilian SCOPE Study Group. Nosocomial bloodstream infections in Brazilian hospitals: analysis of 2,563 cases from a prospective nationwide surveillance study. J Clin Microbiol. 2011; 49:1866-71.

RESUMO

Título: “Colonização por *Staphylococcus aureus* em pediatria”

Autora: Maria Fernanda Bádue Pereira

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Medicina. São Paulo, 2011.

A emergência de *Staphylococcus aureus* resistente à metilina é um problema crescente. Apesar da maioria dos indivíduos colonizados serem assintomáticos, colonização por *Staphylococcus aureus* pode ser um fator de risco para infecção. Além disso, os colonizados são fonte de transmissão da bactéria para outras pessoas.

O objetivo deste estudo foi estimar a taxa de colonização nasal e orofaríngea por *Staphylococcus aureus* em crianças na cidade de São Paulo, Brasil.

Estudo em crianças internadas no Departamento de Pediatria do Hospital da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, nas primeiras 48 horas da admissão hospitalar, e, atendidos no Centro de Saúde Escola – “Dr Alexandre Vranjac”, em consulta de rotina, no ano 2009. Os critérios de exclusão foram o uso de antibiótico por mais de 72 horas antes da coleta ou internação hospitalar no ano anterior à coleta. Amostras de secreção de fossas nasais anteriores e orofaringe foram coletadas e semeadas em ágar sangue, ágar manitol e meio cromogênico para MRSA (Probac do Brasil®, São Paulo, Brasil). A identificação das cepas de *S. aureus* foi feita por métodos bioquímicos. Avaliação de susceptibilidade aos antimicrobianos recomendados pelo CLSI e mupirocina foi feita por disco de difusão.

Resultados: Duzentos e sete crianças foram avaliadas, dez foram excluídas. A taxa de colonização por *Staphylococcus aureus* foi 65% (95%IC: 57,9%-71,6%). Colonização somente em orofaringe ocorreu em 42 casos (21,3%; 95%IC: 15,8%-27,7%). Em 35 casos (17,7%; 95%IC: 12,7%-23,8%) encontramos *Staphylococcus aureus* somente nas narinas. *Staphylococcus aureus* em narinas e em orofaringe ocorreu em 51 crianças (25,9%; IC95%: 19,9%-32,6%). A taxa de colonização por MRSA foi 5,9% (95%IC: 3,0%-10,3%). Seis (3,2%; 95%IC: 1,2%-6,9%) MRSA isolados foram encontrados somente em orofaringe e três (1,6%; 95%IC: 0,3%-4,6%) MRSA isolados foram encontrados somente nas narinas. Todas as cepas foram sensíveis à mupirocina.

Conclusão: A taxa de colonização nasal e orofaríngea por *Staphylococcus aureus* em crianças da comunidade, na cidade de São Paulo, foi 65% (95%IC: 57.9%-71.6%).

Palavras-chave: Criança, Portador sadio, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA).

Title: “*Staphylococcus aureus* colonization in children”

Abstract

The incidence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections has been increasing worldwide. Carrier state may be a risk factor for *Staphylococcus aureus* infection. The aim of our study was to determine the rate of oropharyngeal and nasal *Staphylococcus aureus* colonization in children from the community, in São Paulo city, Brazil.

Methods: Nasal and oropharynx swabs were collected from children within 48 hours of hospitalization at a tertiary hospital, and children in an outpatient clinic. Patients with a history of hospitalization during the previous 12 months were excluded. The samples were plated in sheep blood agar, mannitol agar and MRSA chromogenic media. Traditional biochemical tests were used for *Staphylococcus aureus* identification. Antimicrobial susceptibilities were determined by disk diffusion tests.

Results: Staphylococcal colonization rate was 65% (95CI: 57.9-71.6). Oropharyngeal colonization without nasal colonization occurred in 21.3% of cases (95CI: 15.8-27.7). *Staphylococcus aureus* only in nares was found in 17.8% of children (95CI: 12.7-23.8). In 25.9% of subjects (95IC: 19.9-32.6), *Staphylococcus aureus* was found in nares and oropharynx. The methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) colonization rate was 5.9% (95CI: 3.0%-10.3%), 3.2% (95CI:1.2-6.9) MRSA cases were found only in the oropharynx and 1.6% (95CI:0.3-4.6) MRSA cases were found only in nares.

Conclusions: The rate of *Staphylococcus aureus* colonization in children from the community, in São Paulo city, Brazil, was 65% (95%IC: 57.9%-71.6%).

Key words: Carrier state; Child, Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA); *Staphylococcus aureus*.



IRMANDADE DA SANTA CASA DE MISERICÓRDIA DE S PAULO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES HUMANOS
Rua Santa Isabel, 305 4º Santa Cecília CEP 01221-010 São Paulo –SP
PABX: 21767000 Ramal: 8061-Telefax-33370188 E-mail:

eticamed@santacasasp.org.br

São Paulo, 29 de abril de 2010.

Projeto nº 005/09
Informe este número para
identificar seu projeto no CEP

Ilmo. (a).Sr. (a).

Dr. (a). **Maria Fernanda Bádue Pereira**

Departamento de Pediatria

O Comitê de Ética e Pesquisa da ISCMSP, em reunião ordinária, dia **28/01/09** e no cumprimento de suas atribuições, após revisão do seu projeto de pesquisa: "**Avaliação das características moleculares e microbiológicas dos *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) em colonizados pediátricos da comunidade**", emitiu parecer enquadrando-o na seguinte categoria:

- Aprovado (Inclusive TCLE);**
- Com pendências** há modificações ou informações relevantes a serem atendida em 60 dias, (enviar as alterações em duas cópias);
- Retirado**, (por não ser reapresentado no prazo determinado);
- Não aprovado:** e
- Aprovado (inclusive o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, versão 1.0 datada de 15-09-09) e na CONEP, projeto aprovado com recomendação, conforme parecer nº 036/10 datado de 28-01-10.**

Prof. Dr. Nelson Keiske Onop

Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa - ISCMSP