

**Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”**

**Faculdade de Medicina**

**EDSON CARVALHO DE MELO**

**FATORES DE RISCO PARA AQUISIÇÃO DE ISOLADOS  
MULTIRRESISTENTES DE *Staphylococcus aureus* E *Pseudomonas  
aeruginosa* EM PACIENTES DO HOSPITAL ESTADUAL BAURU.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais da Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Magno C. B. Fortaleza

**Botucatu – 2009**

**Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”**

**Faculdade de Medicina**

**EDSON CARVALHO DE MELO**

**FATORES DE RISCO PARA AQUISIÇÃO DE ISOLADOS  
MULTIRRESISTENTES DE *Staphylococcus aureus* E *Pseudomonas  
aeruginosa* EM PACIENTES DO HOSPITAL ESTADUAL BAURU.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais da Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof.Dr. Carlos Magno C. B. Fortaleza

**Botucatu – 2009**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO  
DA INFORMAÇÃO  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
*BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: Selma Maria de Jesus*

Melo, Edson Carvalho de.

Fatores de risco para aquisição de isolados multirresistentes de  
*Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* em pacientes do Hospital  
Estadual Bauru / Edson Carvalho de Melo. – Botucatu : [s.n.], 2009.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de  
Medicina de Botucatu, 2009.

Orientador: Carlos Magno C. B. Fortaleza

Assunto CAPES: 40101096

1. Infecção hospitalar - Fatores de risco
2. *Staphylococcus aureus*
3. *Pseudomonas aeruginosa*

CDD 616.92

Palavras-chave: Infecção hospitalar; Infecção relacionada à assistência em  
saúde; microrganismos multirresistentes; *Pseudomonas aeruginosa*;  
*Staphylococcus aureus*.

## Dedicatória

À Raimunda Carvalho, minha mãe. Por toda sua vida, minha maior admiração.

Aos meus filhos Andrew, Matheus e Heitor. Que dão sentido às minhas conquistas e a quem procuro inspirar.

À Adriana Paulossi, minha esposa. Por tornar forte, meu frágil mundo, com seu amor.

## **Agradecimentos especiais**

**Ao meu orientador e amigo Carlos Magno. Em quem a capacidade de ensinar emociona. Muito obrigado!**

## Agradecimentos

Aos amigos Taylor e Lygia sem os quais esta dissertação não existiria.

Aos amigos da CCIH- HEB, pelo incentivo, colaboração e compreensão.

Aos residentes da MIP que desempenham arduamente a tarefa de coleta dos swabs.

Aos docentes do departamento de MIP por sempre me incentivarem e acreditarem na minha capacidade profissional.

Às minhas irmãs, Elizabeth, Eliani e Carla, meu irmão Elmison e meus sobrinhos Kevim e Alam - pelo amor e incentivo.

À minha Família " botucatuense": Domingos, Laura, Viviane, Zuel, Tatiana e Anderson, sem os quais não sobreviveria longe de casa.

A todo o pessoal da microbiologia do HEB, pela inestimável e competente ajuda.

À Solange, secretária da Pós e amiga, por tantas e tantas ajudas.

**“O dever mais alto da medicina é salvar vidas humanas.”**

**Ignaz Philipp Semmelweis**

## SUMÁRIO

RESUMO.....	13
ABSTRACT.....	15
INTRODUÇÃO.....	17
1. Infecção relacionada à assistência em saúde: definição e relevância.....	17
2. Microrganismos multirresistentes em serviços de saúde.....	20
3. Infecção e microrganismos multirresistentes em pacientes críticos.....	22
4. Microrganismos relevantes em serviços de saúde (I): <i>Staphylococcus aureus</i> .....	24
5. Microrganismos relevantes em serviços de saúde (II): <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	27
6. Medidas de controle para microrganismos multirresistentes.....	29
7. Justificativa dos estudos.....	30
OBJETIVOS.....	31
MÉTODOS.....	32
1. Local dos estudos.....	32
2. Estudos realizados.....	33
3. Fatores de risco para colonização de nasofaringe por MRSA na UTI clínico-cirúrgica do HEB (Estudo 1).....	34
4. Fatores de risco para aquisição de MRSA em pacientes queimados admitidos no HEB (Estudo 2).....	37
5. Fatores de risco para colonização de orofaringe por <i>P. aeruginosa</i> na UTI clínico-cirúrgica do HEB (Estudo 3).....	39



RESULTADOS.....	41
1. Estudo 1.....	41
2. Estudo 2.....	46
3. Estudo 3.....	51
DISCUSSÃO.....	55
CONCLUSÕES.....	65
REFERÊNCIAS.....	66
ANEXO.....	79

## Lista de abreviaturas

<b>Aids</b>	Síndrome da imunodeficiência adquirida (a sigla para a grafia de língua inglesa, <i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i> , foi incorporada ao português como palavra. 2001).
<b>APACHE</b>	Pontuação de avaliação fisiológica aguda e crônica para pacientes críticos (do inglês, <i>Acute Physiological and Chronic Health Evaluation</i> )
<b>CA-MRSA</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina, adquirido na comunidade (do inglês, <i>community-acquired Methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i> ).
<b>CCIH</b>	Comissão de controle de infecção hospitalar
<b>CDC</b>	Centros para controle e prevenção de doenças ( <i>Centers for Disease Control and Prevention</i> ), órgão de saúde governamental Norte-Americano.
<b>CID 10</b>	Classificação estatística internacional de doenças e problemas relacionados à saúde, décima revisão.
<b>CLSI</b>	Instituto de padronização clínica e laboratorial (do inglês, <i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i> )
<b>EUA</b>	Estados Unidos da América.
<b>FAMESP</b>	Fundação para o desenvolvimento médico e hospitalar.
<b>FMB-UNESP</b>	Faculdade de medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.
<b>HA-MRSA</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina, adquirido no hospital (do inglês, <i>hospital-acquired Methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i> ).
<b>HEB</b>	Hospital Estadual Bauru.
<b>HIV</b>	Vírus da Imunodeficiência Humana (do inglês, <i>Human Immunodeficiency Virus</i> ).
<b>IRAS</b>	Infecção relacionada à assistência em saúde.
<b>ISC</b>	Infecção de sítio cirúrgico.
<b>MR</b>	Multirresistentes.
<b>MRSA</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina (do inglês, <i>Methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i> ).
<b>MSSA</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> sensível à meticilina (do inglês, <i>Methicillin-susceptible Staphylococcus aureus</i> ).
<b>NHSN</b>	Rede nacional de segurança em cuidados com a saúde (do inglês, <i>National Healthcare Safety Network</i> ).
<b>NNISS</b>	Sistema Norte-americano de Vigilância Epidemiológica das Infecções Hospitalares ( <i>National Nosocomial Infection Surveillance System</i> )
<b>SENIC</b>	Estudo da eficácia do controle de infecção hospitalar (do inglês, <i>Study on the Efficacy of Nosocomial Infection Control</i> ).
<b>UQ</b>	Unidade de Queimados
<b>UTI</b>	Unidade de Terapia Intensiva
<b>VRSA</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> com resistência completa à vancomicina (do inglês, <i>Vancomycin-resistant S. aureus</i> ).
<b>VISA</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> com suscetibilidade intermediária à vancomicina (do inglês, <i>Vancomycin intermediate susceptible S. aureus</i> ).

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Diagrama dos resultados do estudo Caso-caso-controle de fatores de risco para colonização por MRSA em pacientes da UTI clínico-cirúrgica do HEB.....	42
<b>Figura 2.</b> Diagrama dos resultados do estudo Caso-caso-controle de fatores de risco para aquisição de MRSA em pacientes queimados.....	47
<b>Figura 3.</b> Sítios em que houve o isolamento inicial de MRSA ou MSSA em pacientes incluídos no estudo 2.....	47
<b>Figura 4.</b> Diagrama dos resultados do estudo de Coorte de fatores de risco para colonização de orofaringe por <i>Pseudomonas aeruginosa</i> em pacientes da UTI clínico-cirúrgica do HEB.....	52
<b>Figura 5.</b> Perfil de resistência a antimicrobianos dos isolados de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> identificados em colonização de orofaringe no estudo 3.....	52

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Microorganismos relevantes na etiologia de IRAS e relevância da resistência aos antimicrobianos.....	21
<b>Tabela 2.</b> Resultados de análise univariada de fatores de risco para colonização nasal por MRSA em pacientes da UTI clínico-cirúrgica.....	43
<b>Tabela 3.</b> Resultados de análise univariada de fatores de risco para colonização nasal por MSSA em pacientes da UTI clínico-cirúrgica.....	44
<b>Tabela 4.</b> Resultados de análise multivariada de fatores de risco para colonização nasal por MRSA e MSSA em pacientes da UTI clínico-cirúrgica.....	45
<b>Tabela 5.</b> Resultados de análise univariada de fatores de risco para aquisição de MRSA em pacientes queimados.....	48
<b>Tabela 6.</b> Resultados de análise univariada de fatores de risco para aquisição de MSSA em pacientes queimados.....	49
<b>Tabela 7.</b> Resultados de análises multivariadas de fatores de risco para aquisição de MRSA e MSSA em pacientes queimados.....	50
<b>Tabela 8.</b> Análise univariada de fatores de risco para colonização de nasofaringe por <i>P. aeruginosa</i> em pacientes da UTI clínico-cirúrgica.....	53
<b>Tabela 9.</b> Análise multivariada de fatores de risco para colonização de nasofaringe por <i>P. aeruginosa</i> em pacientes da UTI clínico-cirúrgica.....	54

## RESUMO

A emergência e disseminação de microrganismos multirresistentes em serviços de saúde é um evento preocupante em todo o mundo. Dois agentes são especialmente relevantes: (1) *Staphylococcus aureus*, principalmente quando resistente à Meticilina (*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*, MRSA); e (2) *Pseudomonas aeruginosa*, freqüentemente resistente a múltiplos antimicrobianos. Foram realizados três estudos observacionais retrospectivos para identificar fatores de risco para aquisição desses agentes em pacientes de um hospital de ensino (285 leitos). O **Estudo 1** utilizou delineamento “caso-caso-controle” para analisar fatores de risco para colonização nasofaríngea por MRSA em uma unidade de terapia intensiva (UTI) clínico-cirúrgica. O **Estudo 2** aplicou metodologia semelhante para analisar fatores associados à aquisição de MRSA por pacientes queimados. Por outro lado, o **Estudo 3** (uma coorte retrospectiva) procurou identificar fatores de risco para colonização orofaríngea por isolados de *P. aeruginosa*. Nos **Estudo 1 e 3** casos e controles foram selecionados entre os pacientes internados na UTI clínico-cirúrgica entre Março de 2005 e Maio de 2006. Casos foram pacientes que adquiriram colonização por MRSA (**Estudo 1**) e *P. aeruginosa* (**Estudo 3**) durante a estadia na UTI. Controles foram selecionados entre pacientes não colonizados. Estratégia semelhante foi utilizada no **Estudo 2**, para seleção de casos e controles entre pacientes da Unidade de queimados. Em todos os estudos, foram analisados dados demográficos, comorbidades, realização de procedimentos, inserção de dispositivos e uso de antimicrobianos. Os resultados foram ajustados para gravidade dos pacientes (pontuações de APACHE II e Charlson) e para o

tempo de exposição ao ambiente hospitalar. Análises univariadas e multivariadas (regressão logística) foram utilizadas. No **Estudo 1** foram identificados 27 (22,1%) colonizados por MRSA em 122 pacientes incluídos. Fatores de risco foram o uso de ciprofloxacina (Odds Ratio[OR]=5,05, Intervalo de Confiança[IC]95%=1,38-21,90, p=0,015) e tempo de permanência na UTI (OR= 1,12, IC95%=1,06-1,19, p<0,001). Por outro lado, o uso de Levofloxacina (OR=0,08, IC95%=0,01-0,55, p=0,01) foi um fator protetor. No **Estudo 2**, de 143 pacientes incluídos, 75(52,4%) adquiriram MRSA. O número de debridamentos cirúrgicos (OR=1,83, IC95%=1,27-2,63, p=0,001) e queimadura envolvendo cabeça (OR=3,43, IC95%=1,50-7,81, p=0,003) foram fatores de risco para sua aquisição. No **Estudo 3**, foram identificados 30(26,3%) pacientes colonizados por *P. aeruginosa* em um universo de 114. Neoplasia sólida (OR=12,04, IC95%=1,93-75,09, p=0,008), Aids (OR=7,09, IC95%=1,11-45,39, p=0,04), Doença do Sistema Nervoso Central (OR=4,51, IC95%=1,52-13,39, p=0,007) e inserção de cateter venoso central (OR=7,76, IC95%=1,68-35,79, p=0,009) foram fatores de risco. Por outro lado, o uso de quinolonas (OR=0,13, IC95%=0,03-0,47, p=0,002) teve efeito protetor. Tomados em conjunto, os estudos demonstram que doenças de base, internação prolongada, realização de procedimentos e uso de antimicrobianos são elementos essenciais na epidemiologia de microrganismos multirresistentes no hospital. Esses itens devem ser contemplados em intervenções preventivas.

**Palavras-chave:** Infecção hospitalar; Infecção relacionada à assistência em saúde, microrganismos multirresistentes, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

## ABSTRACT

The emergence and spread of multidrug-resistant microorganism in healthcare settings is a worldwide concern. Two bacteria are specially relevant: (1) Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and (2) *Pseudomonas aeruginosa* (usually resistant to multiple antimicrobials). We conducted three observational studies to identify risk factors for MRSA and *P. aeruginosa* acquisition in a teaching hospital with 285 beds. **Study #1** employed a “case-control” design to analyze risk factors for nasopharyngeal colonization with MRSA in a medical-surgical Intensive Care Unit (ICU). **Study #2** used a similar design to identify risk factors for MRSA acquisition in burn patients. **Study #3** (a retrospective cohort) aimed to identify risk factors for oropharyngeal colonization with *P. aeruginosa*. **Studies #1 and 3** selected subjects among patients admitted to the medical-surgical ICU from March 2005 through May 2006. Cases were defined as individuals who acquired colonization with MRSA and *P. aeruginosa*, respectively, in the ICU. Controls were selected among non-colonized individuals. A similar strategy was used to select cases and controls for **Study #2** among patients from the burn unit. In all studies, several data were analyzed: demographic information, comorbidities, procedures, inserted devices and antimicrobial use. Data were adjusted for severity-of-illness (APACHE II and Charlson scores) and for time of exposure to hospital environment. In **Study #1**, 27 out of 122 patients included acquired MRSA colonization. Significant risk factors were: use of Ciprofloxacin (Odds Ratio[OR]=5.05, 95% Confidence Interval[CI]=1.38-21.90,  $p=0.015$ ) and time of ICU stay (OR= 1.12, 95%CI=1.06-1.19,  $p<0.001$ ). On the other hand, the use of Levofloxacin had a protective effect (OR=0.08, 95%CI=0.01-0.55,  $p=0.01$ ). In **Study #2**, 75 out of

143 burn patients acquired MRSA. The number of burn wound excisions (OR=1.83, IC95%=1.27-2.63, p=0.001) and burn involving head (OR=3.43, 95%CI=1.50-7.81, p=0.003) were significant risk factors for the acquisition. In **Study #3**, we identified 30 patients colonized with *P. aeruginosa* among 114 patients included. Presence of Solid malignancy (OR=12.04, 95%CI=1.93-75.09, p=0.008), AIDS (OR=7.09, 95%CI=1.11-45.39, p=0.04), Central Nervous System disease (OR=4.51, 95%CI=1.52-13.39, p=0.007) and the placement of Central Venous Catheter (OR=7.76, 95%CI=1.68-35.79, p=0.009) were risk factors for colonization. On the other hand, the use of Quinolones (OR=0.13, 95%CI=0.03-0.47, p=0.002) had a protective effect. Taken together, these results point out to the importance of length-of-stay, procedures, invasive devices and antimicrobials in the epidemiology of multidrug-resistant organisms. These issues must be addressed in preventive strategies.

**Key-words:** Nosocomial Infection, Healthcare-acquired infections, Multidrug-resistant microorganisms, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.



## INTRODUÇÃO

### 1. Infecção relacionada à assistência em saúde: definição e relevância.

A Infecção hospitalar ou Infecção Relacionada à Assistência em Saúde (IRAS) não é um fenômeno novo, tendo sido motivo crescente de preocupação para as autoridades de saúde. Seu reconhecimento remonta a Semmelweis, que em 1847 percebeu a importância da higienização das mãos para prevenção da Febre puerperal.<sup>1</sup>

O problema ganhou a atenção necessária nos anos 1950, quando surtos de infecção levaram ao estabelecimento das primeiras Comissões de Controle de Infecção Hospitalar (CCIHs). Nas décadas de 1970 e 1980, a realização do estudo SENIC (*Study on the Efficacy of Nosocomial Infection Control*) permitiu a primeira avaliação sobre o impacto humano e financeiro das IRAS.<sup>2</sup>

Na mesma época, o CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*) desenvolveu o sistema NNIS (*National Nosocomial Infection Surveillance*) para padronizar a vigilância epidemiológica das IRAS. O NNIS e seu sucessor, o NHSN (*National Healthcare Safety Network*) uniformizaram os critérios diagnósticos para IRAS, facilitando assim sua vigilância e consequente controle.<sup>3,4</sup>

O NNIS e o NHSN definem IRAS como uma condição localizada ou sistêmica que resulte da presença de agente infeccioso ou suas toxinas que não estavam presentes ou em período de incubação no momento da admissão no serviço de assistência à saúde. Para infecções bacterianas isto corresponde a 48h após admissão ou alta hospitalar. Exceções são feitas em relação às

infecções de canal de parto e infecções de sítio cirúrgico (ISC). As ISC devem ser consideradas IRAS até 30 dias após o procedimento, em procedimento sem implante de próteses ou órteses. Na presença destas, ISC podem manifestar-se até um ano após o procedimento.<sup>4</sup>

A necessidade de um controle rigoroso das IRAS é insofismável, uma vez que estas infecções geram enormes prejuízos financeiros e de qualidade de assistência à saúde, tanto no setor público quanto privado.<sup>5</sup> Nos EUA (Estados Unidos da América), as IRAS respondem por dois milhões de infecções ao ano com cerca de noventa mil mortes, aumentando o custo do atendimento hospitalar em \$4,5 bilhões ao ano.<sup>6</sup>

No Brasil o controle das IRAS é regulamentado por portarias ministeriais desde 1983. A legislação vigente baseia-se na lei 9.431 de 1997 e na Portaria Ministerial 2.616 de 1998. Ambas determinam a obrigatoriedade de instituição de Programas de Controle de Infecção Hospitalar e de CCIH em hospitais. Entretanto, a legislação ainda é omissa em relação a serviços de saúde não hospitalares.<sup>7</sup>

A preocupação com IRAS deve permear todas as etapas da assistência, desde antes da construção de um serviço de saúde. A arquitetura hospitalar, situando ambientes como central de material esterilizado, centro cirúrgico, unidades de terapia intensiva (UTI), lavanderias, laboratórios, quartos de isolamentos, postos de enfermagem, pias e outros, facilita o desenvolvimento posterior de regras e protocolos que auxiliam as CCIHs.<sup>8</sup> No entanto, é enganoso acreditar que aspectos ambientais sejam predominantes na

epidemiologia das IRAS. De fato, estas resultam de características intrínsecas do processo de trabalho, ou seja, da assistência em saúde.

A sobrevivência prolongada de pacientes graves, procedimentos cirúrgicos, dispositivos invasivos (sondas vesicais, cateteres vasculares, tubos orotraqueais) – todos esses fatores contribuem para o estabelecimento de uma população altamente suscetível a eventos adversos de natureza infecciosa. Por esta razão, medidas de controle de infecção envolvem recomendações sobre a realização de procedimentos e o manejo adequado de dispositivos.<sup>9,10,11</sup>

Um fenômeno recente é a realização de assistência em saúde de alta complexidade em instituições não hospitalares. Entre estas, incluem-se clínicas de hemodiálise, hospitais-dia e serviços de atendimento domiciliar (*“home care”*).<sup>12</sup> O reconhecimento de que o risco de infecção nesses serviços assemelha-se ao observado em instituições hospitalares está na raiz de uma mudança de conceito: as classicamente denominadas “Infecções hospitalares” passam a ser denominadas “relacionadas a serviços de saúde” ou “relacionadas à assistência em saúde”. É esta a nomenclatura que empregaremos.<sup>13</sup>

## 2. Microrganismos multirresistentes em serviços de saúde.

No contexto do controle de infecção, o surgimento de microrganismos multirresistentes (MR) é um problema mundial alarmante. Políticas para o controle da disseminação destes agentes são extremamente necessárias, pois a velocidade em que eles emergem é superior à capacidade de desenvolvimento de alternativas de tratamento.<sup>14</sup> Os principais microrganismos multirresistentes identificados em serviços de saúde estão listados na **tabela 1**.

Recente pesquisa do NHSN mostrou que em 463 hospitais avaliados, ocorreram mais de 28.000 IRAS, sendo *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* coagulase negativa, *Pseudomonas sp.*, *Candida sp* e *Enterococcus sp* os principais agentes isolados, causando principalmente Infecções como Pneumonias, Infecções do trato urinário, Infecções de corrente sanguínea e de sítio cirúrgico, sendo também, as mais comumente encontradas no ambiente hospitalar. Todos os patógenos citados apresentavam tendência de piora no seu perfil de resistência.<sup>15</sup> É digno de nota que cerca de 46% dos *Staphylococcus aureus* isolados em hospitais americanos e 43% nos brasileiros são resistentes à meticilina: os chamados MRSA (*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*).<sup>15,16</sup>

Os dados apresentados acima dão uma idéia da necessidade de medidas para reduzir a incidência de agentes MR em ambientes hospitalares.

**Tabela 1.** Microorganismos relevantes na etiologia de IRAS e importância da resistência aos antimicrobianos.

<b>Microorganismos</b>	<b>Principais sítios de infecção</b>	<b>Relevância da resistência</b>
<b>Cocos Gram-positivos</b>		
<i>Staphylococcus aureus</i>	Infecções de Sítio Cirúrgico, Infecções de Corrente Sangüínea, Pneumonias	Cepas resistentes à Meticilina (e, por conseqüência, a todos os antimicrobianos beta-lactâmicos) são altamente prevalentes em hospitais de todo o mundo. Preocupa a emergência de cepas com resistência intermediária ou completa à Vancomicina.
<i>Staphylococcus coagulase-negativa</i>	Infecções de Sítio Cirúrgico, Infecções de Corrente Sangüínea	Maior parte dos isolados hospitalares são resistentes à Meticilina.
<i>Enterococcus sp.</i>	Infecções de Sítio Cirúrgico, Infecções do Trato Urinário	Cepas resistentes à Vancomicina disseminam-se rapidamente em hospitais terciários.
<b>Bacilos Gram-negativos</b>		
Enterobactérias	Infecções do Trato Urinário, Pneumonias	<i>Escherichia coli</i> e espécies de <i>Klebsiella</i> produtoras de beta-lactamases de espectro estendido tornam-se resistentes à maior parte dos antimicrobianos utilizados na prática clínica. Espécies de <i>Enterobacter</i> adquiridas no hospital também apresentam tendência a aumento da resistência.
Não-fermentadores	Pneumonias, Infecções do Trato Urinário	Isolados de pan-resistentes (ou seja, resistentes a quase todos os antimicrobianos) de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Acinetobacter sp.</i> têm incidência crescente em todo o mundo.
<b>Fungos</b>		
<i>Candida sp.</i>	Infecções do Trato Urinário, Infecções da Corrente Sangüínea	O uso indiscriminado de agentes antibacterianos aumentou a incidência de IRAS causada por fungos. Espécies de <i>Candida</i> resistentes a Fluconazol são cada vez mais identificadas.

### **3. Infecção e microrganismos multirresistentes em pacientes críticos.**

As IRAS são mais freqüentes em pacientes graves. Há diversas explicações para esse fato: (1) a doença de base pode aumentar por si só a suscetibilidade a microrganismos que não seriam patogênicos para pacientes saudáveis; (2) os procedimentos, os dispositivos invasivos, o uso de imunossupressores e antimicrobianos podem fornecer condições ecológicas para invasão do organismo por agentes infecciosos; e (3) os processos de trabalho intensivo em unidades para pacientes graves favorecem a transmissão cruzada de bactérias e fungos.<sup>17</sup>

Sob esse aspecto, dois ambientes são especialmente relevantes: as UTI e as Unidades de Queimados (UQ). As primeiras variam de forma importante de acordo com a população a que atendem, sendo classificadas como: clínico-cirúrgicas de adultos, pediátricas, coronarianas, cirúrgicas, neurológicas e de trauma.<sup>3</sup> Embora as UQ sejam freqüentemente classificadas entre as UTI, é comum que estas internem pacientes com necessidade de cuidados intensivos e também aqueles com quadros mais leves.

Em uma recente revisão, Eggimann & Pittet<sup>18</sup> enfatizam que, enquanto as IRAS acometem 5 a 15% dos pacientes internados em um hospital, essa cifra pode atingir 33% para a população admitida em UTI. Nessas unidades, a incidência de IRAS tem significativo impacto sobre custos, tempo de internação e mortalidade. O uso de dispositivos é reconhecido como o principal fator de risco para aquisição de infecções em UTI.

As síndromes infecciosas mais incidentes são: infecções do trato urinário (relacionadas ao uso de sondas vesicais de demora), infecções de corrente

sangüínea (associadas a cateteres venosos centrais) e pneumonias (associadas à ventilação mecânica). Não por acaso, os sistemas de vigilância NNIS/NHSN coletam e agrupam dados de incidência destes três sítios de Infecção em UTI de hospitais Norte-americanos.<sup>3,4</sup>

Pacientes queimados estão sujeitos às já citadas infecções relacionadas a dispositivos invasivos. No entanto, sua característica principal é a grande porta de entrada representada pelo tegumento danificado. Assim, a infecção de área queimada é o principal evento adverso relacionado à internação em UQ. Três tipos de infecção são identificados: impetigo, celulite e infecção relacionada a procedimentos cirúrgicos em área queimada. Todas elas podem evoluir com gravidade, contribuindo para a piora no prognóstico.<sup>19</sup>

A alta incidência de Infecção, o uso de antimicrobianos e o trabalho intenso dos profissionais em UTI e UQ são condições propícias para a circulação de microrganismos MR nestas unidades. Em ambas, são abundantes os quadros de IRAS causados por MRSA, *Enterococos* resistentes à vancomicina e bacilos Gram-negativos MR (como *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*). Este fato não afeta apenas pacientes internados nessas unidades. UTI e UQ são conhecidos reservatórios de patógenos MR, e contribuem para disseminação desses agentes para outras unidades do hospital.<sup>18,19,20</sup> Por essa razão, a compreensão da epidemiologia de patógenos-problema em unidades de pacientes críticos pode fornecer subsídios para estratégias de controle que abranjam o hospital como um todo.

#### **4. Microrganismos relevantes em serviços de saúde (I): *Staphylococcus aureus*.**

O *S. aureus* é um dos mais freqüentes agente de IRAS em todo o mundo.<sup>21</sup> Ele é um coco Gram-positivo, comensal na maioria das pessoas saudáveis. Nestas, ele pode residir em pele e mucosas, principalmente a nasal. Ao fenômeno da presença do *S. aureus*, ou outro microrganismo qualquer, em tegumento sem evidência de doença clínica ou interação imunológica dá-se o nome de “colonização”.<sup>22</sup> Um estudo clássico de Payne *et al*<sup>23</sup> demonstrou que a colonização por *S. aureus* tem início pouco após o nascimento, desaparecendo e recorrendo várias vezes ao longo da vida.

Estima-se que até um terço dos indivíduos saudáveis apresentem colonização de nasofaringe pelo *S. aureus*.<sup>24</sup> Um inquérito de base populacional nos estimou que cerca de 87 milhões de norte-americanos carregam essa bactéria.<sup>25</sup> Esses indivíduos mantêm o microrganismo circulando na comunidade. Se condições ecológicas permitirem a invasão do organismo humano pela bactéria, a colonização progredirá à infecção.<sup>22</sup>

Em serviços de saúde, as doenças de base e os procedimentos propiciam condições para a colonização e infecção por *S. aureus*. Como foi anteriormente enfatizado, preocupa o crescimento de resistência bacteriana – especialmente o fenótipo MRSA.<sup>26</sup>

Os primeiros relatos da ocorrência de MRSA datam de 1961. Em 1999, dados do NNIS já demonstravam que mais de 50% dos *S. aureus* nas UTI eram MRSA.<sup>27</sup> Isso se deve à grande capacidade do MRSA de transmitir-se entre pacientes. Esse fenômeno conhecido como “transmissão cruzada” é



agravado pela falha em implementar medidas de barreira, como a higienização das mãos e a utilização de precauções de isolamento.<sup>28</sup>

O mecanismo de resistência do MRSA está ligado à alteração da proteína ligadora de penicilina (*Penicillin-binding protein*, PBP). A presença do gene *mecA* determina a produção da PBP2, que tem a afinidade reduzida pelos beta-lactâmicos: penicilinas, cefalosporinas, monobactams e carbapenêmicos. Com o tempo, outros mecanismos de resistência não relacionados foram acumulados em cepas de MRSA, tornando os glicopeptídeos uma opção quase isolada para seu tratamento.<sup>29</sup>

Em 1996 surgiram os *Staphylococcus aureus* com suscetibilidade intermediária à vancomicina (*Vancomycin intermediate susceptible S. aureus*, VISA). Um ano depois, cepas de VISA foram relatadas em diversos hospitais nos Estados Unidos, isoladas de vários sites anatômicos e sem resposta ao tratamento com os glicopeptídeos.<sup>30</sup> No Brasil, cepas de VISA foram descritas em 2000 em unidades de queimados e ortopédicas.<sup>31</sup> O mecanismo de resistência dos VISA parece estar ligado ao espessamento da parede celular, com aumento da ligação de glicopeptídeos a receptores inativos.<sup>32</sup>

Em 2001, foi identificado em Michingam (Estados Unidos) isolados de *S. aureus* com resistência completa à vancomicina (*Vancomycin-resistant S. aureus*, VRSA). Cepas de VRSA descritas até o momento carregam o gene *vanA*, sugerindo que a resistência foi adquirida a partir de *Enterococcus* (*Vancomycin-resistant Enterococci*, VRE). O mecanismo de resistência é a alteração do alvo dos glicopeptídeos: as terminações d-alanil-d-alanina presentes nas unidades de peptidoglicano da parede bacteriana.<sup>33</sup>

Felizmente, cepas de VISA e VRSA não sofreram ainda disseminação global semelhante à do MRSA. Por outro lado, há tempos o MRSA deixou de ser uma preocupação exclusiva em pacientes internados. Desde o final da década de 1990 tem sido relatada a ocorrência de infecções por MRSA adquirido na comunidade (*Community-acquired MRSA*, CA-MRSA). Muitas delas ocorrem em pacientes sem qualquer história prévia de hospitalização, e são causadas por clones geneticamente distintos daqueles causadores de IRAS.<sup>34</sup> Um estudo norte-americano de doenças invasivas demonstrou que 86% das infecções por MRSA são adquiridas em hospitais (*Hospital-acquired MRSA*, HA-MRSA), e as demais na comunidade.<sup>35</sup>

A incidência de IRAS causada por MRSA é alta em UTI.<sup>18</sup> Em seguimento prospectivo de 249 pacientes admitidos em uma UTI na Turquia, Oztoprak et al<sup>36</sup> identificaram o desenvolvimento de IRAS em 8,4%, sendo infecção da corrente sanguínea (ICS) o sítio mais comum, seguido pelas pneumonias. O mesmo trabalho identificou a colonização como fator predisponente para desenvolvimento de infecção: de 59 pacientes colonizados, 12 (20,33%) progrediram para IRAS. Também em UQ o MRSA é altamente incidente, causando Infecções em tegumento e outros sítios. Essas Infecções têm impacto importante sobre o prognóstico dos pacientes queimados.<sup>19</sup>

## 5. Microrganismos relevantes em serviços de saúde (II): *Pseudomonas aeruginosa*.

Dentre os microrganismos implicados na etiologia de IRAS em serviços de saúde, Bacilos Gram negativos são de extrema importância. Destaca-se, entre eles, a *Pseudomonas aeruginosa*. É um patógeno oportunista, encontrado amplamente em solo, água e material orgânico. O fato de requerer poucos nutrientes para sua sobrevivência facilita ampla disseminação ambiental. A colonização humana na comunidade é rara e geralmente está ligada à diminuição da imunidade ou dano a tegumento.<sup>37</sup> No entanto, em serviços de saúde ela encontra condições favoráveis para colonizar e infectar pacientes - em especial aqueles imunodeprimidos, oncológicos, neutropênicos e queimados. Neste ambiente *P. aeruginosa* é responsável por infecções graves, como pneumonias, infecções do trato urinário e de corrente sanguínea, além de infecções em feridas abertas.<sup>38</sup>

*P. aeruginosa* é intrinsecamente resistente a muitos antibióticos. Parte desta resistência se deve à produção da enzima ampC beta-lactamase, capaz de inativar a maior parte das penicilinas e cefalosporinas. No entanto, outros mecanismos, como a redução de permeabilidade, por alterações nas porinas da membrana celular externa, e transporte ativo de antimicrobianos para fora da célula bacteriana (efluxo) podem ocorrer, determinando resistência simultânea à diversas classes de antimicrobianos.<sup>39</sup>

A epidemiologia de *P. aeruginosa* em serviços de saúde ainda apresenta vários pontos não elucidados. Ao contrário do que ocorre com *S. aureus*, a importância da transmissão cruzada não está tão bem estabelecida. De fato,

alguns autores sugerem o predomínio de fontes endógenas na fisiopatologia das IRAS causadas por *P. aeruginosa*.<sup>40,41</sup> Isso pode responder pelo encontro simultâneo de diversos clones não relacionados causando infecção no mesmo hospital ou enfermaria.<sup>41,42</sup>

Estudos demonstram que a maior parte dos antimicrobianos usualmente empregados para tratar infecções por *P. aeruginosa* está perdendo sua atividade.<sup>43,44</sup> Um recente relatório do NHSN identificou *P. aeruginosa* como agente de 8,0% das IRAS notificadas em hospitais norte-americanos. Dos isolados identificados, 30,7% eram resistentes a fluoroquinolonas, 11,2% à cefepima e 25,3% aos carbapenêmicos.<sup>15</sup> Esses achados apontam para a necessidade urgente de medidas para controle da disseminação de cepas MR.

## 6. Medidas de controle para microrganismos multirresistentes.

O controle de microrganismos MR em serviços de saúde envolve ação sobre aspectos essenciais de sua cadeia de transmissão. Um recente documento do CDC propõe a distribuição das ações de controle em vários níveis: (1) suporte administrativo; (2) educação; (3) uso prudente de antimicrobianos; (4) medidas de vigilância de multirresistência; (5) utilização de precauções de isolamento; (6) controle ambiental; e (7) descolonização.<sup>45</sup>

Em termos práticos, dois aspectos do controle sobressaem-se: a instituição de medidas de precaução/isolamento para evitar a transmissão por contato e as políticas de uso racional de antimicrobianos. É geralmente assumido que as primeiras são de vital importância no combate ao MRSA e outros cocos Gram-positivos, como os *Enterococos*.<sup>46</sup> Quando o foco da atenção são os bacilos Gram-negativos, esta ênfase é menos clara.<sup>47</sup>

Na ausência de um consenso sobre medidas de controle, tornam-se necessários estudos que apontem para aspectos relacionados à aquisição de microrganismos MR nos hospitais e outros serviços de saúde.

## 7. Justificativa dos estudos.

É importante notar que a epidemiologia dos microrganismos MR pode variar entre diferentes serviços. Fatores como o tipo de paciente admitido, os procedimentos realizados, além dos aspectos quantitativos e qualitativos da equipe de profissionais de saúde, afetam o modo como os agentes infecciosos se disseminam.

Nesse contexto, encontrar oportunidades de intervenção é essencial. Estudos têm sido realizados com a finalidade de identificar “fatores de risco” para aquisição de microrganismos MR em hospitais e outros serviços de saúde. Muitos desses estudos têm especial interesse na relação entre uso de antimicrobianos e resistência.<sup>48,49</sup>

Dada a impossibilidade prática de abordar esse tema por meio de ensaios clínicos, estudos observacionais têm predominado. Estes podem ter base coletiva (estudos “ecológicos”), buscando identificar associações de causa e efeito em populações de diferentes hospitais ou enfermarias.<sup>49</sup> Mais freqüentemente, estudos que abordam exposições e efeitos em indivíduos têm sido empregados. Estes são delineamentos de “coorte” ou “caso-controle”.<sup>48</sup>

Este é o ponto de partida dos estudos aqui apresentados: a utilização de técnicas observacionais para identificar fatores associados à aquisição e carreamento de MRSA e isolados de *P. aeruginosa* em pacientes de UTI e UQ de um hospital de ensino.

## OBJETIVOS

### Objetivo geral:

- Identificar fatores de risco para aquisição de *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA) e de isolados de *Pseudomonas aeruginosa* em pacientes graves internados no Hospital Estadual Bauru (HEB) da Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (FMB- UNESP).

### Objetivos específicos:

- Identificar fatores de risco para colonização nasofaríngea por MRSA em pacientes internados na Unidade de Terapia Intensiva (UTI) clínico-cirúrgica do HEB.
- Identificar fatores de risco para aquisição de MRSA em pacientes queimados internados no HEB.
- Identificar fatores de risco para colonização orofaríngea por *P. aeruginosa* em pacientes internados na UTI clínico-cirúrgica do HEB.

## MÉTODOS

### 1. Local dos Estudos

O HEB é um hospital de ensino pertencente à Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo e administrado pela FMB-UNESP, através de uma fundação (Fundação para o desenvolvimento médico e hospitalar, FAMESP).

O HEB tem 285 leitos ativos, divididos em:

- Seis unidades de internação (enfermarias) para pacientes clínicos, cirúrgicos e pediátricos.
- Uma UQ, dividida em ala para pacientes não críticos (12 leitos) e UTI (4 leitos) para queimados.
- Uma UTI clínico-cirúrgica de adultos (11 leitos).
- Uma UTI coronariana (11 leitos).
- Uma UTI pediátrica (11 leitos).

Desde sua inauguração, o HEB conta com CCIH constituída com base nas diretrizes legais vigentes. A CCIH realiza vigilância ativa de IRAS em todo o hospital, com ênfase especial em UTI e UQ. O HEB também dispõe de laboratório de microbiologia próprio.

Deve-se enfatizar que o HEB faz parte do complexo de hospitais-escola da FMB-UNESP, sendo palco de ensino para alunos de graduação em Medicina e Enfermagem, Residência Médica e Pós-Graduação *strictu sensu*.



## 2. Estudos realizados.

Foram realizados três estudos com delineamento observacional, retrospectivo, baseados em coleta de dados de prontuário e arquivos de exames laboratoriais.

- **Estudo 1:** Fatores de risco para colonização de nasofaringe por MRSA em paciente da UTI clínico-cirúrgica do HEB.
  - Delineamento: Estudo de Caso-caso-controle.
  
- **Estudo 2:** Fatores de risco para aquisição de MRSA em pacientes queimados admitidos no HEB.
  - Delineamento: Estudo de Caso-caso-controle.
  
- **Estudo 3:** Fatores de risco para colonização de orofaringe por *P. aeruginosa* em pacientes da UTI clínico-cirúrgica do HEB.
  - Delineamento: Estudo de Coorte retrospectiva.

### **3. Fatores de risco para colonização de nasofaringe por MRSA em pacientes da UTI clínico-cirúrgica do HEB (Estudo 1).**

Este estudo baseou-se em revisão de prontuário de pacientes admitidos na UTI clínico-cirúrgica de adultos do HEB entre março de 2005 e maio de 2006. Todos os pacientes tinham sido submetidos a culturas de vigilância (“swabs” de nasofaringe) para identificação de colonização por *S. aureus* à admissão e semanalmente durante a internação. Resumidamente, culturas eram colhidas e transportadas em meio de Stuart. Eram então inoculadas em meios de cultura: Manitol e Agar-sangue. A identificação de *S. aureus* era feita pelo teste da coagulase. A resistência à Meticilina era determinada em teste de difusão com discos de Oxacilina e Cefoxitina, conforme padrões do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI).<sup>50</sup> Todos os procedimentos microbiológicos foram realizados pelos profissionais do laboratório de microbiologia do próprio hospital.

#### **3.1. Delineamento do estudo.**

Foi utilizado um desenho de estudo tipo “Caso-caso-controle”, conforme descrito por Kaye *et al.*<sup>51</sup> Nesse desenho, dois estudos caso-controle são realizados. Num deles, os casos são representados por indivíduos portadores de um isolado bacteriano resistente a determinado antimicrobiano. No outro, os casos são indivíduos com isolados suscetíveis ao antimicrobiano de interesse. Para ambos os estudos, os controles são selecionados entre indivíduos da mesma população que não apresentam colonização ou infecção pela bactéria.

Nas duas etapas deste estudo, utilizamos alternativamente como casos indivíduos que adquiriram colonização nasal por MRSA ou por *S. aureus* suscetível à Meticilina (*Methicillin-susceptible S. aureus*, MSSA) após admissão na UTI. Nas duas etapas, o grupo controle foi constituído por pacientes cujas culturas de vigilância foram negativas para *S. aureus*.

Critérios de exclusão foram: (1) ausência de cultura de vigilância colhida à admissão; (2) Culturas positivas para *S. aureus* nas primeiras 48h após admissão; (3) permanência na UTI por menos de 48h.

### 3.2. Investigação de fatores de risco.

Dados colhidos dos pacientes incluíram:

- Dados demográficos (sexo, idade);
- Doença de base e co-morbidades, descritas em conformidade com a Classificação Internacional de Doenças, 10<sup>a</sup> revisão (CID10);<sup>52</sup>
- Gravidade do paciente à admissão, medida pelo *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II* (APACHE II);<sup>53</sup>
- Admissões no HEB e em outros hospitais no último ano;
- Tempo sob risco, definido como:
  - Número de dias entre admissão no hospital e primeira cultura positiva, para os casos;
  - Número de dias entre admissão no hospital e a última cultura negativa, para os controles;

- Tempo em UTI, definido de forma semelhante ao “Tempo sob risco”, mas contando a partir da admissão na UTI;
- Dados da internação (durante o “tempo sob risco”):
  - Cirurgias e demais procedimentos;
  - Uso de dispositivos invasivos;
  - Uso de esteróides e outras medicações imunossupressoras;
  - Uso de antimicrobianos.

### 3.3. Análise estatística.

Dados foram analisados em dois programas computacionais: EPI INFO *for windows* v3.2 (© *Centers for Disease Control and Prevention*) e SPSS v.15 (© SPCC inc.). Cada variável foi submetida a análise univariada. Utilizamos os Testes do Chi-quadrado e Exato de Fischer para variáveis binomiais, e o Teste T de Student ou Mann-Whitney para variáveis numéricas.

Para análise multivariada, todas as variáveis para as quais se obteve um nível de significância (p-valor) inferior a 0,2 foram incluídas em modelos de regressão logística. Nós utilizamos um processo de seleção por avanços (*stepwise forward*).<sup>54</sup> As variáveis foram incluídas conforme a magnitude do seu efeito. Um p-valor menor que 0,05 foi exigido para permanência nos modelos. O mesmo limite foi utilizado para significância no modelo final.

#### **4. Fatores de risco para aquisição de MRSA em pacientes queimados admitidos no HEB (Estudo 2).**

Este estudo teve desenho semelhante ao anterior. Foi realizado com pacientes admitidos na UQ do hospital entre dezembro de 2004 e dezembro de 2006. Estes pacientes eram submetidos à triagem para colonização por *S. aureus* à admissão e semanalmente durante a internação. A triagem não incluía somente coleta de “swab” da nasofaringe, mas também de axilas, períneo e de área queimada. Os procedimentos microbiológicos eram os mesmos descritos no item anterior.

##### 4.1. Delineamento do Estudo.

Assim como no estudo anterior, utilizamos desenho “Caso-caso-controle”. Nas duas etapas, utilizamos como casos pacientes com culturas de vigilância ou clínicas positivas para MRSA e MSSA, respectivamente. Os controles foram indivíduos que não apresentaram positividade para *S. aureus* em qualquer cultura durante a internação. Critérios de exclusão foram os mesmos anteriormente referidos.

##### 4.2. Investigação dos fatores de risco:

Utilizamos os mesmos fatores de risco do “Estudo 1”, com algumas modificações. Não utilizamos a medida de gravidade pelo APACHE II, pois essa medida não era feita de rotina à admissão na UQ. Por outro lado, incluímos novas variáveis de estudo:

- Medida da carga de co-morbidades, pela pontuação de Charlson;<sup>55</sup>
- Dados sobre abuso de álcool e tabagismo;
- Localização dos pacientes na UQ (se na unidade semi-intensiva ou na UTI de queimados);
- Natureza da queimadura: se exposição direta à chama, escaldado ou por eletricidade.
- Caracterização da queimadura: profundidade, áreas atingidas e percentual de superfície corpórea afetada, conforme escala de Lund & Browder;<sup>56</sup>
- Realização de procedimentos específicos: fasciotomia, debridamentos e enxertos.
- Número de pacientes carreando MRSA ao qual cada indivíduo havia sido exposto.

#### 4.3. Análise estatística.

A análise foi realizada com os mesmos programas computacionais do Estudo 1. Foram utilizados os mesmos testes para análise univariada, e os modelos de regressão logística foram construídos de forma semelhante.

## **5. Fatores de risco para colonização de orofaringe por *P. aeruginosa* em pacientes da UTI clínico-cirúrgica do HEB (Estudo 3).**

Este estudo baseou-se em revisão de prontuário de pacientes admitidos na UTI clínico-cirúrgica de adultos do HEB entre março de 2005 e maio de 2006. Os pacientes haviam sido submetidos semanalmente (mas não à admissão) a coleta de “swabs” de orofaringe. Eram transportados em meio de Stuart, semeados em meio de McConkey. A identificação de *P. aeruginosa* era feita em kit para não-fermentadores (NF II, PROBAC inc.). Testes de difusão de disco para suscetibilidade a antimicrobianos eram feitos de acordo com normas do CLSI.<sup>50</sup>

### **5.1. Delineamento do estudo.**

Trata-se de um estudo de “coorte retrospectiva”. Pacientes admitidos na UTI durante o período do estudo que apresentaram culturas de vigilância positivas para *P. aeruginosa* foram selecionados como casos. Os demais pacientes constituíram o grupo controle. Critérios de exclusão foram: culturas positivas para *P. aeruginosa* nas primeiras 48h de internação e permanência na UTI por período inferior a 48h.

### **5.2. Investigação dos fatores de risco.**

Os fatores de risco investigados foram os mesmos descritos para o Estudo 1.

### 5.3. Análise estatística.

Os mesmos programas computacionais anteriormente descritos foram utilizados. A análise univariada lançou mão de testes referidos nos Estudos 1 e 2: Testes do Chi-quadrado e Exato de Fischer para variáveis binomiais e Testes T de Student e Mann-Whitney para variáveis numéricas. Na análise multivariada empregamos uma estratégia diferente: a seleção de variáveis por recuo (*stepwise backward*). Todas as variáveis com p-valor inferior a 0,2 foram incluídas em um modelo, sendo retiradas conforme a magnitude de seu efeito. Uma significância final de 0,05 foi exigida para permanência nos modelos.

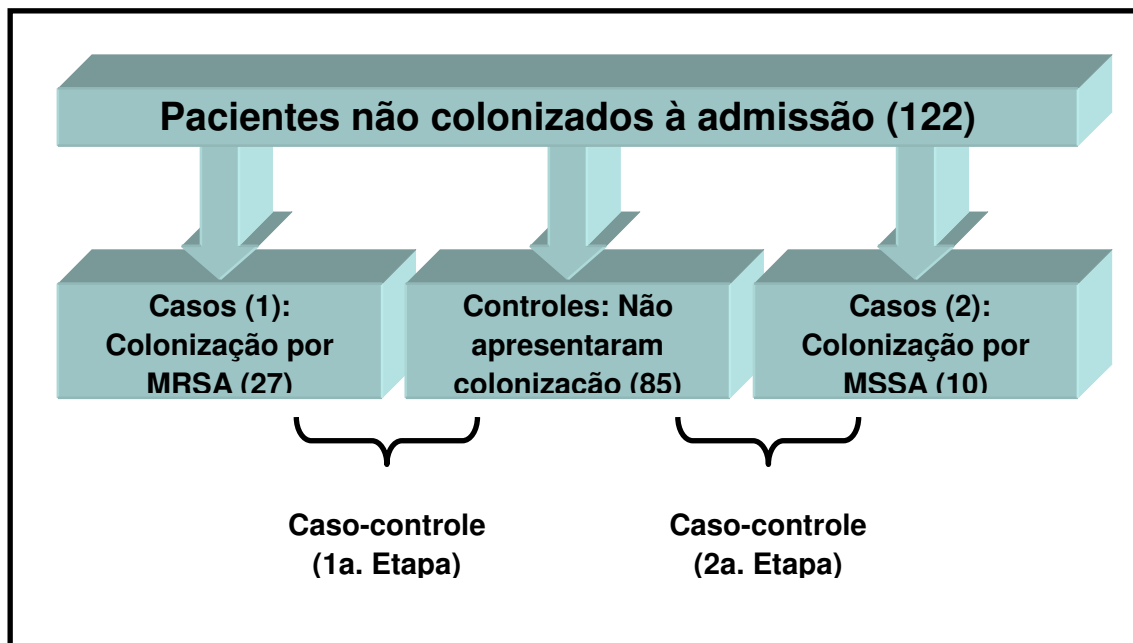


## RESULTADOS

### 1. Fatores de risco para colonização de nasofaringe por MRSA em pacientes da UTI clínico-cirúrgica do HEB (Estudo 1).

Ao todo, 122 pacientes apresentaram critério de inclusão nesse estudo. MRSA e MSSA foram identificados em 27(22,1%) e 10(8,2%) pacientes, respectivamente (**Figura 1**).

Os fatores de risco para colonização nasal por MRSA e MSSA identificados em análise univariada são apresentados nas **Tabelas 2 e 3**. Na análise multivariada, o tempo na UTI e uso de ciprofloxacina foram fatores de risco independentes para colonização por MRSA. Por outro lado, o uso de levofloxacina foi fator protetor. A análise multivariada mostrou que a colonização por MSSA se associava positivamente à presença de doença do sistema nervoso central e negativamente à idade. Os resultados dos modelos multivariados finais são mostrados na **Tabela 4**.



**Figura 1.** Diagrama dos resultados do estudo Caso-caso-controle de fatores de risco para colonização por MRSA em pacientes da UTI.

**Tabela 2.** Resultados de análise univariada de fatores de risco para colonização nasal por MRSA em pacientes da UTI clínico-cirúrgica.

Fatores de Risco	Casos (n=27)	Controles (n=85)	OR (CI95%)	p
<i>Dados demográficos</i>				
Sexo masculino	17 (63,0)	50 (58,8)	1,19 (0,49-2,90)	0,7
Idade (média)	61,8	65,1	...	0,38
<i>Comorbidades</i>				
Doença cardíaca	6 (22,2)	15 (21,8)	1,06 (0,34-3,03)	0,91
Doença pulmonar	4 (14,8)	27 (32,1)	0,37 (0,12-1,17)	0,08
Doença renal	3 (11,1)	7 (8,2)	1,39 (0,33-5,81)	0,7
Doença Hepática	4 (14,8)	13 (15,3)	0,96 (0,29-3,25)	1,00
Diabetes mellitus	9 (33,3)	28 (32,9)	1,02 (0,41-2,55)	0,97
Doença do Sistema Nervoso Central	6 (22,2)	33 (38,8)	0,45 (0,17-1,23)	0,12
Neoplasia sólica	1 (3,7)	9 (10,6)	0,33 (0,04-2,69)	0,45
Aids	2 (7,4)	5 (5,9)	1,28 (0,23-7,01)	0,67
Trauma	0	2 (2,4)	...	1,00
APACHE II (mediana)	24	23	...	0,38
<i>Dados da internação</i>				
Internação prévia no hospital*	11 (42,3)	44 (51,8)	0,68 (0,28-1,66)	0,4
Internação prévia em outros hospitais*	5 (18,5)	31 (36,5)	0,42 (0,14-1,21)	0,1
Tempo no hospital (mediana)	24	11	...	<0,001**
Tempo na UTI (mediana)	19	8	...	<0,001**
<i>Imunidade</i>				
Neutropenia	1 (3,7)	0	...	0,24
Uso de esteróides	14 (51,9)	39 (45,9)	1,27 (0,53-3,02)	0,59
Uso de outros imunossupressores	1 (3,7)	0	...	0,24
<i>Procedimentos e dispositivos</i>				
Cirurgia	9 (34,6)	12 (14,1)	3,22 (1,17-8,87)	0,04**
Ventilação mecânica	25 (92,6)	68 (80,0)	2,12 (0,67-14,51)	0,15
Sonda vesical de demora	27 (100)	79 (92,9)	...	1,00
Cateter venoso central	23 (85,2)	63 (74,1)	2,01 (0,63-6,45)	0,24
Nutrição parenteral	3 (11,1)	5 (5,9)	2,00 (0,35-8,98)	0,7
Sonda nasogástrica/nasoenteral	24 (88,9)	73 (85,9)	1,31 (0,34-5,06)	0,4
Úlcera de Pressão	19 (70,4)	41 (48,2)	2,55 (1,01-6,46)	0,045**
<i>Uso de antimicrobianos</i>				
Oxacilina	10 (37,0)	13 (15,3)	3,26 (1,22-8,67)	0,02**
Ampicilina	2 (7,4)	2 (1,4)	3,32 (0,45-24,79)	0,25
Ampicilina-sulbactam	0	1 (1,2)	...	1,00
Amoxicilina-clavulanato	5 (18,5)	30 (35,3)	0,42 (0,14-1,21)	0,1
Piperacilina-tazobactam	6 (22,2)	9 (10,6)	2,41 (0,77-7,55)	0,19
Cefazolina	0	3 (3,5)	...	0,32
Cefalotina	1 (3,7)	3 (3,5)	1,05 (0,11-10,55)	1,00
Ceftriaxona	2 (7,4)	5 (5,9)	1,28 (0,23-7,01)	0,67
Ceftazidima	2 (7,4)	3 (3,5)	2,18 (0,35-13,83)	0,59
Cefepima	19 (70,4)	30 (35,3)	4,36 (1,70-11,13)	0,001**
Imipenem	6 (22,2)	6 (7,1)	3,76 (1,10-12,87)	0,04**
Meropenem	2 (7,4)	2 (2,4)	3,32 (0,45-24,79)	0,25
Ciprofloxacina	10 (37,0)	8 (9,4)	5,67 (1,95-16,47)	0,002**
Levofloxacina	3 (11,1)	28 (32,9)	0,25 (0,07-0,92)	0,03**
Amicacina	1 (3,7)	4 (4,7)	0,78 (0,08-7,28)	1
Gentamicina	1 (3,7)	2 (2,4)	1,59 (0,14-18,32)	0,57
Clindamicina	6 (22,2)	11 (12,9)	1,92 (0,64-5,81)	0,35
Metronidazol	8 (29,6)	16 (18,8)	1,82 (0,68-4,88)	0,23
Vancomicina	11 (40,7)	11 (12,9)	4,02 (1,71-12,51)	0,002**

Dados em número(%), exceto quando especificado. OR, Odds ratio; IC, intervalo de confiança; APACHE II, Acute physiology and chronic health evaluation; UTI, Unidade de Terapia Intensiva.  
\* Internações no último ano. \*\* Dados estatisticamente significantes.

**Tabela 3.** Resultados de análise univariada de fatores de risco para colonização nasal por MSSA em pacientes da UTI clínico-cirúrgica.

Fatores de risco	Casos (n=10)	Controles (n=85)	OR (95%CI)	p
<i>Dados demográficos</i>				
Sexo masculino	5 (50,0)	50 (58,8)	0,70 (0,188-2,60)	0,74
Idade (média)	50,8	65,1		0,008**
<i>Comorbidades</i>				
Doença cardíaca	3 (30,0)	15 (21,8)	1,60 (0,38-6,80)	0,69
Doença pulmonar	1 (10,0)	27 (32,1)	0,24 (0,03-1,95)	0,27
Doença renal	0	7 (8,2)	...	1,00
Doença Hepática	0	13 (15,3)	...	0,35
Diabetes mellitus	2 (20,0)	28 (32,9)	0,51 (0,10-2,56)	0,5
Doença do Sistema Nervoso Central	8 (80,0)	33 (38,8)	6,30 (1,26-31,52)	0,02**
Neoplasia sólica	0	9 (10,6)	...	0,59
Aids	2 (20,0)	5 (5,9)	4,00 (0,67-24,05)	0,16
Trauma	0	2 (2,4)	...	1,00
APACHE II (mediana)	17,5	23	...	0,047**
<i>Dados da internação</i>				
Internação prévia no hospital*	3 (30,0)	44 (51,8)	0,40 (0,10-1,65)	0,32
Internação prévia em outros hospitais*	1 (10,0)	31 (36,5)	0,19 (0,02-1,60)	0,16
Tempo no hospital (mediana)	11	11	...	0,82
Tempo na UTI (mediana)	9,5	8	...	0,94
<i>Imunidade</i>				
Neutropenia	0	0	...	...
Uso de esteróides	3 (30,0)	39 (45,9)	0,51 (0,12-2,09)	0,5
Uso de outros imunossupressores	0	0	...	...
<i>Procedimentos e dispositivos</i>				
Cirurgia	0	12 (14,1)	...	0,35
Ventilação mecânica	9 (90,0)	68 (80,0)	2,25 (0,27-19,00)	0,68
Sonda vesical de demora	10 (100)	79 (92,9)	...	1,00
Cateter venoso central	5 (50,0)	63 (74,1)	0,35 (0,09-1,32)	0,14
Nutrição parenteral	0	5 (5,9)	...	1,00
Sonda nasogástrica/nasoenteral	9 (90,0)	73 (85,9)	1,48 (0,17-12,76)	1,00
Úlcera de Pressão	3 (30,0)	41 (48,2)	,46 (0,11-1,90)	0,33
<i>Uso de antimicrobianos</i>				
Oxacilina	0	13 (15,3)	...	0,35
Ampicilina	0	2 (1,4)	...	1,00
Ampicilina-sulbactam	0	1 (1,2)	...	1,00
Amoxicilina-clavulanato	2 (20,0)	30 (35,3)	,46 (0,00-2,30)	0,49
Piperacilina-tazobactam	1 (10,0)	9 (10,6)	0,94 (0,11-8,29)	1,00
Cefazolina	0	3 (3,5)	...	1,00
Cefalotina	0	3 (3,5)	...	1,00
Ceftriaxona	1 (10,0)	5 (5,9)	1,78 (0,19-16,95)	0,5
Ceftazidima	0	3 (3,5)	...	1,00
Cefepima	3 (30,0)	30 (35,3)	0,79 (0,19-3,27)	1,00
Imipenem	0	6 (7,1)	...	1,00
Meropenem	0	2 (2,4)	...	1,00
Ciprofloxacina	1 (10,0)	8 (9,4)	1,07(0,12-9,56)	1,00
Levofloxacina	1 (10,0)	28 (32,9)	0,23 (0,03-1,86)	0,27
Amicacina	0	4 (4,7)	...	1,00
Gentamicina	0	2 (2,4)	...	1,00
Clindamicina	1 (10,0)	11 (12,9)	0,25 (0,09-6,49)	1,00
Metronidazol	1 (10,0)	16 (18,8)	0,48 (0,06-4,06)	0,69
Vancomicina	2 (20,0)	11 (12,9)	1,68 (0,32-8,97)	0,62

Dados em número(%), exceto quando especificado. OR, Odds ratio; IC, intervalo de confiança; APACHE, Acute physiology and chronic health evaluation; UTI, unidade de terapia intensiva. \* Internações no último ano. \*\* Dados estatisticamente significantes.

**Tabela 4.** Resultados de análise multivariada de fatores de risco para colonização nasal por MRSA e MSSA em pacientes da UTI clínico-cirúrgica.

Fator de risco	OR (IC95%)	P
<b>MRSA</b>		
Ciprofloxacina	5,05 (1,38-21,90)	0,015
Levofloxacina	0,08 (0,01-0,55)	0,01
Tempo na UTI	1,12 (1,06-1,19)	<0,001
<b>MSSA</b>		
Idade	0,94 (0,90-0,99)	0,01
Doença do Sistema Nervoso Central	7,45 (1,33-41,74)	0,02

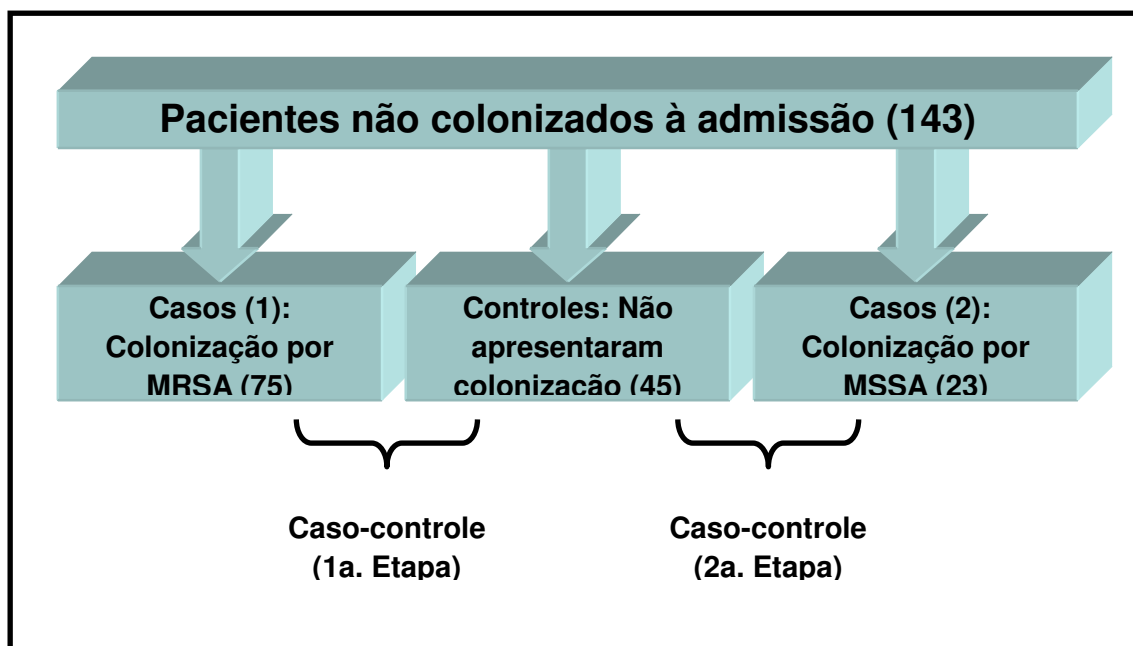
MRSA, *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (*Staphylococcus aureus* resistente à metilina). MSSA, *Methicillin-susceptible Staphylococcus aureus* (*Staphylococcus aureus* suscetível à metilina). OR, Odds ratio; IC, intervalo de confiança. UTI, unidade de terapia intensiva.

## 2. Fatores de risco para aquisição de MRSA em pacientes queimados admitidos no HEB (Estudo 2).

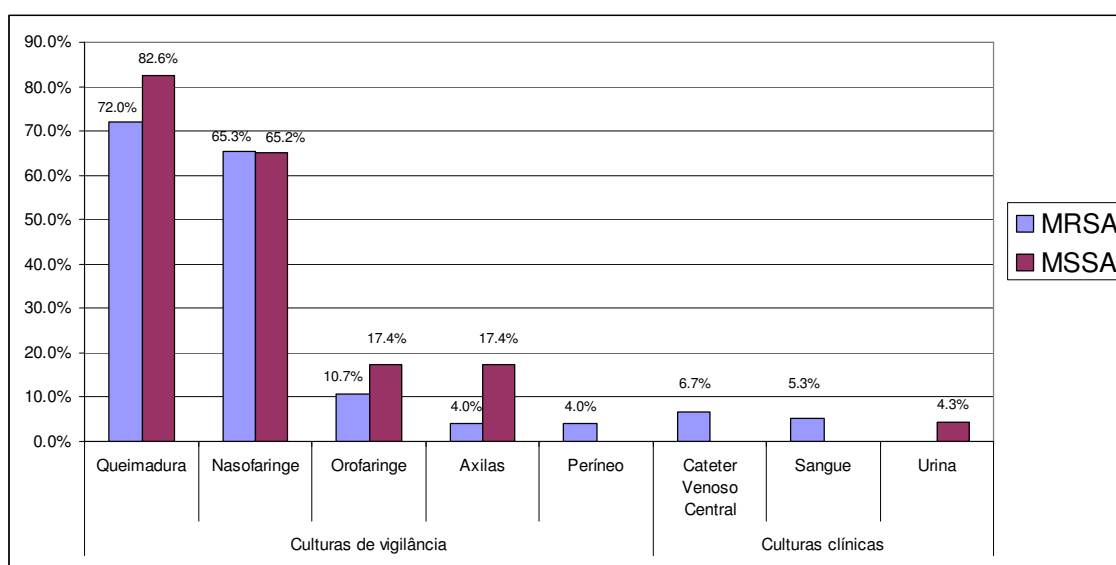
De 143 pacientes incluídos no estudo, 75(52,4%) adquiriram MRSA durante a internação (**Figura 2**). Os sítios de isolamento são demonstrados na **Figura 3**. Nove pacientes apresentaram culturas clínicas positivas para MRSA anteriormente ou simultaneamente à recuperação deste agente em culturas de vigilância. Nestes, MRSA foi cultivado de cateteres vasculares (cinco pacientes) e hemocultura (quatro pacientes).

Outros 23(16,1%) pacientes adquiriram MSSA. A **Figura 3** mostra os principais sítios de isolamento. Um paciente teve MSSA isolado de cultura de urina previamente a seu aparecimento em culturas de vigilância.

Dados da análise univariada de fatores de risco para MRSA e MSSA são mostrados nas **Tabelas 5 e 6**, respectivamente. Em análises multivariadas (**Tabela 7**), queimaduras envolvendo a cabeça e o número de debridamentos cirúrgicos de área queimada foram fatores de risco significativos para MRSA. Nenhum fator de risco para MSSA foi identificado. No entanto, queimadura envolvendo períneo foi negativamente associada à aquisição de MSSA em culturas.



**Figura 2.** Diagrama dos resultados do estudo Caso-caso-controle de fatores de risco para aquisição de MRSA em pacientes queimados.



**Figura 3.** Sítios em que houve o isolamento inicial de MRSA ou MSSA em pacientes incluídos no estudo 2. Em diversos casos, houve isolamento simultâneo em culturas de diversos locais.

**Tabela 5.** Resultados de análise univariada de fatores de risco para aquisição de MRSA em pacientes queimados.

Fatores de risco	Casos (n = 75)	Controles (n = 45)	OR (95% CI)	p
<i>Dados demográficos</i>				
Idade, mediana (variação)	26 (1-77)	19 (1-68)	...	0,05
Sexo masculino	48 (64)	34 (75,6)	0,58 - (0,25-1,32)	0,19
<i>Comorbidades</i>				
Doença cardíaca	2 (2,7)	0	...	0,53
Doença pulmonar	8 (10,7)	1 (2,2)	5,25 (0,64-43,48)	0,15
Diabetes mellitus	3 (4)	1 (2,2)	1,83 (0,19-18,18)	1,0
Doença renal	0	0	...	...
Doença hepática	2 (2,7)	1 (2,2)	1,21 (0,11-13,69)	1,0
Doença do Sistema Nervoso Central	3 (4)	3 (6,7)	0,58 (0,11-3,02)	0,67
Neoplasia sólida	1 (1,3)	0	...	1,0
Abuso de álcool	16 (21,3)	6 (13,3)	1,76 (0,64-4,90)	0,27
Uso de drogas ilícitas	2 (2,7)	3 (6,7)	0,38 (0,06-2,39)	0,36
Tabagismo	21 (28)	8 (17,8)	1,80 (0,72-4,49)	0,21
Asma	2 (2,7)	2 (4,4)	0,59 (0,08-4,33)	0,63
Hipertensão arterial	12 (16)	3 (6,7)	2,67 (0,71-10,02)	0,16
Índice de comorbidades de Charlson, mediana (variação)	0 (0-3)	0 (0-3)	...	0,16
<i>Dados da internação</i>				
Tempo sob risco, mediana (variação)	11 (2-70)	12 (3-55)	...	0,47
Internações no ano anterior	1 (1,3)	0	...	1,0
Internação na UTI	27 (36)	7 (15,6)	3,05 (1,20-7,77)	0,02*
Transferência de outro hospital	18 (24)	11 (24,4)	0,98 (0,41-2,31)	0,96
Número de contactantes carreando MRSA, mediana (variação)	5 (0-15)	4 (2-10)	...	0,19
Uso de esteróides	8 (10,7)	1 (2,2)	5,25 (0,64-43,48)	0,15
Transfusão sanguínea	35 (46,7)	18 (40)	1,31 (0,62-2,78)	0,48
Hiperglicemia	22 (29,3)	7 (15,6)	2,25 (0,87-5,81)	0,09
<i>Características da queimadura</i>				
Tempo desde a queimadura, mediana (variação)	12 (3-70)	13 (3-62)	...	0,55
Porcentagem de superfície acometida, mediana (variação)	26 (3-96)	11,5 (1,5-88,5)	...	<0,001*
Queimadura por exposição direta à chama	58 (77,3)	21 (46,7)	3,90 (1,76-8,65)	0,001*
Queimadura por escaldamento	10 (13,3)	19 (42,2)	0,21 (0,09-0,51)	<0,001*
Queimadura de 3o. Grau	36 (48)	15 (33,3)	1,85 (0,86-3,98)	0,12
Envolvimento da cabeça	50 (66,7)	19 (42,2)	2,74 (1,28-5,86)	0,01*
Envolvimento de membros superiores	67 (89,3)	30 (66,7)	4,19 (1,60-10,94)	0,002*
Envolvimento de tronco	64 (85,3)	30 (66,7)	2,91 (1,19-7,09)	0,02*
Envolvimento de períneo	16 (21,3)	17 (37,8)	0,45 (0,20-1,01)	0,05
Envolvimento de membros inferiores	50 (66,7)	29 (64,4)	1,1 (0,51-2,40)	0,80
<i>Procedimentos</i>				
Número de debridamentos, mediana (variação)	2 (0-5)	1 (0-5)	...	0,004*
Fasciotomia	8 (10,7)	4 (8,9)	1,22 (0,35-4,32)	1,0
Enxerto de pele	14 (18,7)	9 (20)	0,92 (0,36-2,33)	0,86
Amputação	2 (2,7)	3 (6,7)	0,38 (0,06-2,39)	0,36
Ventilação mecânica	17 (22,7)	8 (17,8)	1,36 (0,53-3,46)	0,52
Cateter venoso central	30 (40)	11 (24,4)	2,06 (0,91-4,69)	0,08
Dissecção venosa	6 (8)	1 (2,2)	3,83 (0,45-32,86)	0,25
Nutrição enteral	19 (25,3)	7 (15,6)	1,84 (0,71-4,81)	0,21
Sonda nasogástrica	3 (4)	1 (2,2)	1,83 (0,19-18,18)	1,0
Sonda vesical de dmeora	44 (58,7)	15 (33,3)	2,84 (1,31-6,14)	0,01*
Dreno de tórax	0	2 (4,4)	...	0,14
<i>Uso de antimicrobianos</i>				
Oxacilina	44 (58,7)	17 (37,8)	2,34 (1,10-4,99)	0,03*
Amoxicilina-clavulanado	15 (20)	6 (13,3)	1,63 (0,58-4,55)	0,35
Piperacilina-tazobactam	3 (4)	1 (2,2)	1,83 (0,19-18,18)	1,0
Cefalotina	2 (2,7)	1 (2,2)	1,21 (0,11-13,69)	1,0
Ceftazidima	1 (1,3)	0	...	1,0
Cefepime	26 (34,7)	9 (20)	2,12 (0,89-5,87)	0,09
Clindamicina	6 (8)	1 (2,2)	3,83 (0,45-32,86)	0,25
Ciprofloxacina	19 (25,3)	4 (8,9)	3,48 (1,10-10,99)	0,03*
Levofloxacina	2 (2,7)	1 (2,2)	1,21 (0,11-13,69)	1,0
Gentamicina	6 (8)	4 (8,9)	0,89 (0,24-3,35)	1,0
Amicacina	5 (6,7)	3 (6,7)	1,0 (0,23-4,40)	1,0
Imipenem	4 (5,3)	1 (2,2)	2,48 (0,27-22,90)	0,65
Vancomicina	7 (9,3)	3 (6,7)	1,44 (0,35-5,88)	0,74
Metronidazol	2 (2,7)	1 (2,2)	1,21 (0,11-13,69)	1,0

Dados em número(%), exceto quando especificado. OR, Odds ratio. IC, Intervalo de Confiança. MRSA, *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (*Staphylococcus aureus* resistente à meticilina). UTI, unidade de terapia intensiva. \* Estatisticamente significativa.



**Tabela 6.** Resultados de análise univariada de fatores de risco para aquisição de MSSA em pacientes queimados.

Fatores de risco	Casos (n = 23)	Controles (n = 45)	OR (95% CI)	P
<i>Dados demográficos</i>				
Idade, mediana (variação)	27 (1-78)	19 (1-68)	...	0,40
Sexo masculino	19 (82,6)	34 (75,6)	1,54 (0,43-5,50)	0,51
<i>Comorbidades</i>				
Doença cardíaca	2 (8,7)	0	...	0,11
Doença pulmonar	0	1 (2,2)	...	1,0
Diabetes mellitus	1 (4,3)	1 (2,2)	2,00 (0,12-33,51)	1,0
Doença renal	1 (4,3)	0	...	0,34
Doença hepática	1 (4,3)	1 (2,2)	2,00 (0,12-33,51)	1,0
Doença do Sistema Nervoso Central	0	3 (6,7)	...	0,55
Neoplasia sólida	0	0	...	0,0,0
Abuso de álcool	3 (13)	6 (13,3)	0,98 (0,22-4,31)	1,0
Uso de drogas ilícitas	0	3 (6,7)	...	0,55
Tabagismo	5 (21,7)	8 (17,8)	1,29 (0,37-4,49)	0,75
Asma	0	2 (4,4)	..	0,55
Hipertensão arterial	3 (13)	3 (6,7)	2,10 (0,39-11,34)	0,40
Índice de comorbidades de Charlson, mediana (variação)	0 (0-3)	0 (0-3)	...	0,32
<i>Dados da internação</i>				
Tempo sob risco, mediana (variação)	8 (2-49)	12 (3-55)	...	0,003*
Internações no ano anterior	0	0	...	0,0,0
Internação na UTI	4 (17,4)	7 (15,6)	1,14 (0,30-4,40)	1,0
Transferência de outro hospital	1 (4,3)	11 (24,4)	0,14 (0,02-1,17)	0,05
Número de contactantes carreando MRSA, mediana (variação)	5 (1-13)	4 (2-10)	...	0,96
Uso de esteróides	0	1 (2,2)	...	1,0
Transfusão sangüínea	6 (26,1)	18 (40)	0,53 (0,18-1,60)	0,26
Hiperglicemia	4 (17,4)	7 (15,6)	1,14 (0,30-4,39)	1,0
<i>Características da queimadura</i>				
Tempo desde a queimadura, mediana (variação)	8 (2-49)	13 (3-62)	...	0,002*
Porcentagem de superfície acometida, mediana (variação)	15 (3-55)	11,5 (1,5-88,5)	...	0,36
Queimadura por exposição direta à chama	13 (56,5)	21 (46,7)	1,49 (0,54-4,08)	0,44
Queimadura por escaldado	6 (26,1)	19 (42,2)	0,48 (0,16-1,46)	0,19
Queimadura de 3o, Grau	6 (26,1)	15 (33,3)	0,71 (0,23-2,16)	0,54
Envolvimento da cabeça	17 (73,9)	19 (42,2)	3,88 (1,29-11,68)	0,01*
Envolvimento de membros superiores	18 (78,3)	30 (66,7)	1,80 (0,56-5,79)	0,32
Envolvimento de tronco	15 (65,2)	30 (66,7)	0,94 (0,33-2,70)	0,91
Envolvimento de períneo	2 (8,7)	17 (37,8)	0,16 (0,03-0,75)	0,01*
Envolvimento de membros inferiores	13 (56,5)	29 (64,4)	0,72 (0,26-2,00)	0,53
<i>Procedimentos</i>				
Número de debridamentos, mediana (variação)	1 (0-7)	1 (0-5)	...	0,84
Fasciotomia	0	4 (8,9)	...	0,29
Enxerto de pele	2 (8,7)	9 (20)	0,38 (0,08-1,93)	0,31
Amputação	0	3 (6,7)	...	0,55
Ventilação mecânica	4 (17,4)	8 (17,8)	0,97 (0,26-3,65)	1,0
Cateter venoso central	4 (17,4)	11 (24,4)	0,65 (0,18-2,33)	0,51
Dissecção venosa	0	1 (2,2)	...	1,0
Nutrição enteral	3 (13)	7 (15,6)	0,81 (0,19-3,50)	1,0
Sonda nasogástrica	1 (4,3)	1 (2,2)	2,00 (0,12-33,51)	1,0
Sonda vesical de dmeora	5 (21,7)	15 (33,3)	0,56 (0,17-1,79)	0,32
Dreno de tórax	0	2 (4,4)	...	0,31
<i>Uso de antimicrobianos</i>				
Oxacilina	5 (21,7)	17 (37,8)	0,46 (0,14-1,46)	0,18
Amoxicilina-clavulanado	4 (17,4)	6 (13,3)	1,37 (0,35-5,43)	0,72
Piperacilina-tazobactam	0	1 (2,2)	...	1,0
Cefalotina	0	1 (2,2)	...	1,0
Ceftazidima	1 (4,3)	0	...	0,34
Cefepime	2 (8,7)	9 (20)	0,38 (0,08-1,93)	0,31
Clindamicina	0	1 (2,2)	...	1,0
Ciprofloxacina	1 (4,3)	4 (8,9)	0,47 (0,05-4,43)	0,66
Levofloxacina	0	1 (2,2)	...	1,0
Gentamicina	1 (4,3)	4 (8,9)	0,47 (0,05-4,43)	0,66
Amicacina	0	3 (6,7)	...	0,55
Imipenem	1 (4,3)	1 (2,2)	2,00 (0,12-33,51)	1,0
Vancomicina	0	3 (6,7)	...	0,55
Metronidazol	0	1 (2,2)	...	1,0

Dados em número(%), exceto quando especificado. OR, Odds ratio. IC, Intervalo de Confiança. MRSA, *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (*Staphylococcus aureus* resistente à meticilina). UTI, unidade de terapia intensiva. \* Estatisticamente significativa.

**Tabela 7.** Resultados de análises multivariadas de fatores de risco para aquisição de MRSA e MSSA em pacientes queimados.

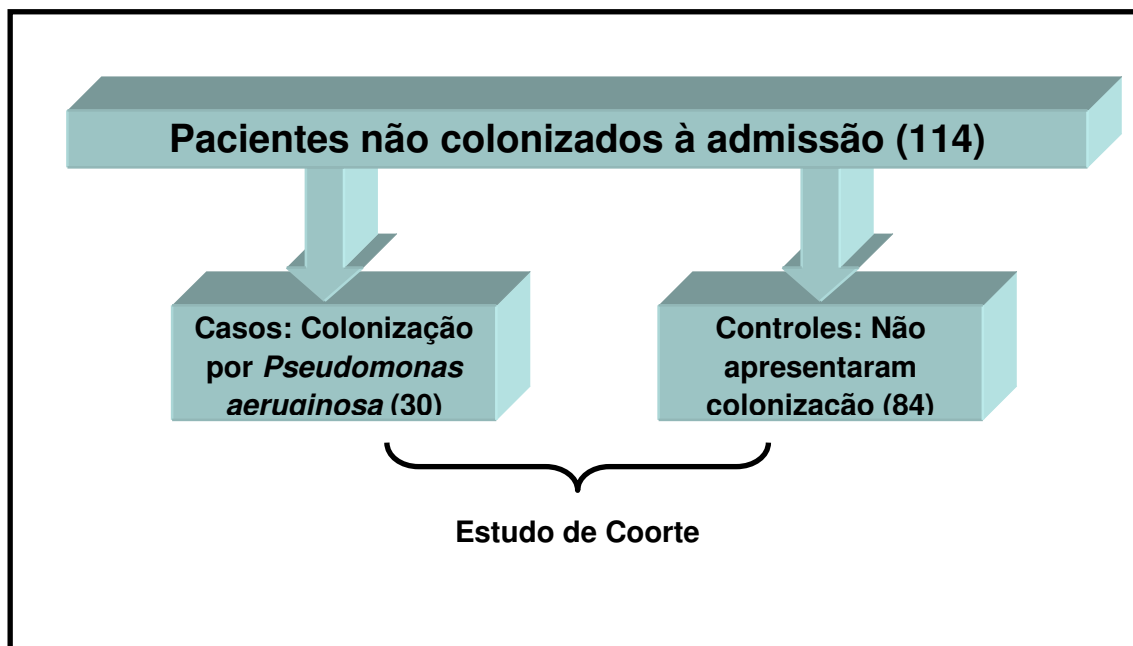
<b>Fatores de risco</b>	<b>OR (IC95%)</b>	<b>P</b>
<b>MRSA</b>		
Número de debridamentos	1,83 (1,27-2,63)	0,001
Envolvimento de cabeça	3,43 (1,50-7,81)	0,003
<b>MSSA</b>		
Envolvimento de períneo	0,16 (0,03-0,75)	0,02

MRSA, *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (*Staphylococcus aureus* resistente à metilina). MSSA, *Methicillin-susceptible Staphylococcus aureus* (*Staphylococcus aureus* suscetível à metilina). OR, Odds ratio; IC, intervalo de confiança.

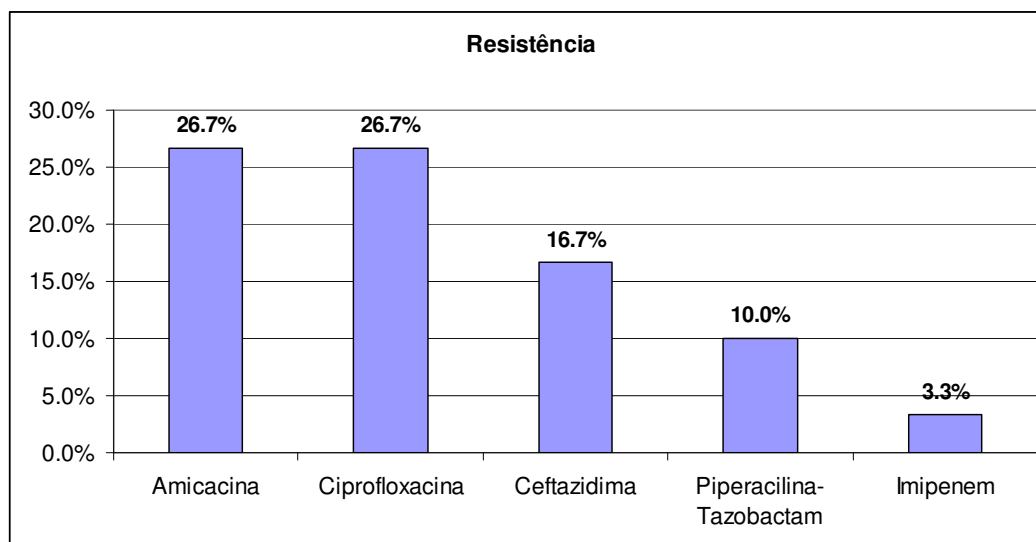
### **3. Fatores de risco para colonização de orofaringe por *P. aeruginosa* em pacientes da UTI clínico-cirúrgica do HEB (Estudo 3).**

No período avaliado, 114 pacientes preencheram os critérios de inclusão do estudo. *P. aeruginosa* foi isolada em 30(26,31%) deles (**Figura 4**). Taxas de resistência para os agentes antipseudomonas são mostradas na **Figura 5**.

Resultados da análise univariada de fatores de risco para carreamento de *P. aeruginosa* são listados na **Tabela 8**. A **Tabela 9** apresenta os resultados da análise multivariada. Foram positivamente associados à colonização a presença de Neoplasia Sólida, Aids, Doença do Sistema Nervoso Central e inserção de Cateter Venoso Central. Por outro lado, o uso de quinolonas (ciprofloxacina e levofloxacina) foi um fator protetor contra a colonização oral por *P. aeruginosa*.



**Figura 4.** Diagrama dos resultados do estudo de Coorte de fatores de risco para colonização de orofaringe por *Pseudomonas aeruginosa* em pacientes da UTI.



**Figura 5.** Perfil de resistência a antimicrobianos dos isolados de *Pseudomonas aeruginosa* identificados em colonização de orofaringe.

**Tabela 8.** Análise univariada de fatores de risco para colonização de orofaringe por *P. aeruginosa* em pacientes da UTI.

Fatores de Risco	Casos (n=30)	Controles (n=84)	OR (IC95%)	P
<b>Características demográficas</b>				
Idade, média	60,5	64,2	...	0,27
Sexo masculino	21 (70,0)	46 (54,8)	1,92 (0,79-4,69)	0,11
<b>Co-morbidades</b>				
Doença cardíaca	6 (20,0)	19 (22,6)	0,86 (0,30-2,39)	0,49
Doença pulmonar	7 (23,3)	21 (25,3)	0,89 (0,33-2,39)	0,52
Doença renal	1 (3,3)	8 (9,5)	0,32 (0,03-2,74)	0,26
Doença hepática	7 (23,3)	10 (11,9)	2,25 (0,77-6,58)	0,12
Doença do Sistema Nervoso Central	15 (50,0)	28 (33,3)	2,00 (0,86-4,67)	0,06
Diabetes mellitus	9 (30,0)	27 (32,1)	0,90 (0,37-2,24)	0,51
Aids	4 (13,3)	4 (4,8)	3,07 (0,72-13,18)	0,12
Neoplasia sólida	4 (13,3)	4 (4,8)	3,07 (0,72-13,18)	0,12
Trauma	0	2 (2,4)	...	0,54
APACHE II, mediana (variação)	20 (6-41)	23,5 (2-46)	...	0,41
<b>Dados relacionados à internação</b>				
Internações no ano anterior	13 (44,8)	42 (50,0)	0,82 (0,35-1,89)	0,39
Transferência de outro hospital	23 (76,7)	68 (81,0)	0,77 (0,28-2,11)	0,39
Cirurgia	5 (17,2)	16 (19,0)	0,89 (0,29-2,68)	0,53
Neutropenia	0	1 (1,2)	...	0,74
Uso de esteróides	12 (40,0)	40 (47,6)	0,73 (0,31-1,71)	0,31
Uso de outros imunossupressores	0	1 (1,2)	...	0,74
Cateter venoso central	27 (90,0)	59 (70,2)	3,81 (1,06-13,73)	0,02*
Sonda vesical de demora	29 (96,7)	80 (95,2)	1,45 (0,16-13,51)	0,6
Ventilação Mecânica	29 (96,7)	66 (78,6)	7,91 (1,01-62,09)	0,02*
Sonda nasogástrica	28 (93,3)	71 (84,5)	2,56 (0,54-12,09)	0,18
Nutrição parenteral	5 (16,7)	3 (3,6)	5,40 (1,20-24,20)	0,03*
Úlcera de pressão	18 (60,0)	43 (51,2)	1,43 (0,61-3,33)	0,26
<i>Tempo sob risco</i>				
Tempo no hospital, média	20,4	18,1	...	0,52
Tempo na UTI, média	16,9	13,1	...	0,23
<b>Uso de antimicrobianos</b>				
<i>Agentes com atividade anti-pseudomonas</i>				
Carbapenems	5 (16,7)	11 (13,1)	1,33 (0,42-4,19)	0,41
Cefalosporinas**	15 (50,0)	36 (42,9)	1,33 (0,58-3,08)	0,32
Piperacilina-tazobactam	2 (6,7)	14 (16,7)	0,36 (0,08-1,67)	0,14
Aminoglicosídeos	2 (6,7)	6 (7,1)	0,93 (0,18-4,87)	0,65
Quinolonas***	6 (20,0)	36 (42,9)	0,33 (0,12-0,90)	0,02*
<i>Agentes sem atividade anti-pseudomonas</i>				
Cefalosporinas****	5 (16,7)	9 (10,7)	1,67 (0,51-5,44)	0,28
Penicilinas*****	16 (53,3)	40 (47,6)	1,26 (0,55-2,89)	0,37
Glicopeptídeos	8 (27,6)	16 (19,0)	1,55 (0,58-4,09)	0,65
Clindamicina	3 (10)	15 (17,9)	0,51 (0,14-1,91)	0,24
Metronidazol	5 (16,7)	19 (22,6)	0,68 (0,23-2,03)	0,34

Dados em número(%), exceto quando especificado. OR, Odds ratio. IC, Intervalo de Confiança. UTI, unidade de terapia intensiva. \* estatisticamente significativa. \*\*cefepime e ceftazidima; \*\*\* ciprofloxacina e levofloxacina;\*\*\*\* ceftriaxone, cefuroxima, cefazolina e cefalotina ;\*\*\*\*\* ampicilina, ampicilina-sulbactam, amoxicilina, amoxicilina-clavulanado, oxacilina.

**Tabela 9.** Análise multivariada de fatores de risco para colonização de orofaringe por *P. aeruginosa* em pacientes da UTI.

<b>Fatores de risco</b>	<b>OR (IC95%IC)</b>	<b>P</b>
Neoplasia sólida	12,04 (1,93-75,09)	0,008
Aids	7,09 (1,11-45,39)	0,04
Doença do sistema nervoso central	4,51 (1,52-13,39)	0,007
Cateter venoso central	7,76 (1,68-35,79)	0,009
Uso de quinolonas*	0,13 (0,03-0,47)	0,002

OR, Odds ratio; IC, Intervalo de Confiança; \* ciprofloxacina e/ou levofloxacina.

## DISCUSSÃO

O surgimento e a disseminação de microrganismos MR em serviços de saúde e mais recentemente na comunidade é o resultado da ação combinada de vários fatores. Alguns são intrínsecos dos microrganismos, como a grande capacidade de mutação e adaptação. Outros dizem respeito aos indivíduos colonizados ou infectados: doença de base, gravidade e exposição ao ambiente hospitalar. Outras ainda são inerentes a processos de trabalho dos serviços de saúde, como a realização de procedimentos e o uso de dispositivos e antimicrobianos. Estes fatores determinam ou facilitam a transmissão cruzada.<sup>57,58</sup>

Em epidemiologia hospitalar, é comum o emprego de estudos observacionais, de coorte e caso-controle, para identificar fatores de risco e, portanto, oportunidades de intervenção que evitam colonização e infecção por agentes MR.<sup>47</sup> Chama atenção a semelhança de resultados obtidos em estudos que abordam microorganismos resistentes.<sup>59</sup> De um modo geral, fatores de risco enquadram-se em uma das seguintes categorias: (1) doença de base e gravidade; (2) múltiplas internações; (3) cirurgias e outros procedimentos invasivos; (4) uso de antimicrobianos; (5) permanência, geralmente prolongada, em UTI.<sup>59,60</sup>

Os aspectos referidos são bem evidentes nos estudos que, como o nosso, avaliam o risco para aquisição de MRSA. Estes estudos são geralmente realizados com pacientes de UTI – um grupo especialmente afetado por microrganismos MR. Embora seja difícil comparar a incidência e relevância do MRSA em diferentes UTI - devido a falta de padronização de vigilância e

estratificação de gravidade – é inegável o papel exercido por essas unidades como disseminadores de cepas resistentes para outras enfermarias e mesmo outros hospitais.<sup>61</sup>

Para a correta compreensão da epidemiologia do MRSA em UTI, resultados de culturas de vigilância devem ser analisados. A prática de coleta destas culturas, principalmente de secreções nasofaríngeas, embora dispendiosa, tem sido defendida como maneira de identificar precocemente pacientes colonizados com a finalidade de aplicar medidas de prevenção, como precauções e isolamentos.<sup>45</sup>

Um estudo de Huang *et al*<sup>62</sup> avaliou a importância dessas medidas. Um acompanhamento de 16 meses de estratégia de busca ativa de colonizados permitiu redução em 75% da incidência de bacteremias por MRSA em uma UTI. Além disso, os autores identificaram redução de 40% dessa incidência em unidades não intensivas. Este estudo corrobora achados de outros autores. Nestes , estima-se que entre 30 e 60% dos pacientes colonizados pelo MRSA desenvolverão infecção sintomática.<sup>63,64</sup> As conseqüências são significativas para mortalidade, morbidade, tempo de permanência e custos hospitalares. Cosgrove *et al*<sup>65</sup> identificaram que infecções por MRSA aumentam em U\$ 6 000 o custo médio das internações.

O estudo 1 não foi delineado para avaliar a eficácia da estratégia de identificação por culturas de vigilância e aplicação de medidas de precaução e isolamento. No entanto, os achados reforçam esse conceito. A identificação de tempo de permanência em UTI, como um importante fator de risco para



aquisição do MRSA é um achado comum em estudos observacionais e sugere a ocorrência de transmissão cruzada nesta unidade.<sup>66,67,68</sup>

A pressão seletiva por antimicrobianos também tem sido descrita como fator associado à disseminação de cepas resistentes. Sob esse aspecto, três estudos identificaram relação entre uso de quinolonas e aquisição de MRSA. Harbarth *et al*<sup>69</sup> acompanharam 102 pacientes colonizados por MRSA e submetidos randomizados para aplicação (ou não) de Mupirocina tópica. Identificaram uma associação importante (*Hazard Ratio*=1.8, Intervalo de Confiança [IC]95%=1.0-3.3) entre uso de quinolonas e persistência da colonização.

Em outro estudo, Weber *et al*<sup>70</sup> compararam pacientes que adquiriram MRSA e MSSA com controles negativos para ambos os agentes. Na sua análise multivariada, a presença de MRSA correlacionou-se fortemente com uso prévio de ciprofloxacina (OR=2,5, p=0,005) e levofloxacina (OR=3,4, p<0,001).

Achados similares foram relatados por Ernst *et al*<sup>71</sup>, quando utilizaram portadores de cepas sensíveis (MSSA) como grupo controle. Entretanto, os mesmos autores não identificaram a associação quinolonas-MRSA quando os controles foram selecionados de base populacional.

Este último achado merece análise detalhada. Recentemente, autores têm atribuído importância primordial à seleção do grupo controle em estudos de fatores de risco para resistência. A crítica está centrada em estudos que, como os anteriormente citados, selecionam os controles entre portadores de cepas sensíveis ao antimicrobiano de interesse. Sabe-se que essa abordagem tende

a amplificar, erroneamente, a relação entre uso de antimicrobianos e incidência de microrganismos MR. A sugestão é de que controles sejam selecionados de base populacional: ou seja, entre indivíduos internados no mesmo serviço, ao mesmo tempo em que os casos.<sup>72,73</sup>

Todos os estudos utilizaram controles selecionados com base populacional. Mesmo assim, identificaram associação entre uso de ciprofloxacina e carregamento nasal de MRSA em pacientes de UTI. No entanto, o uso de levofloxacina foi um fator protetor contra a colonização. É possível que a maior atividade da levofloxacina contra cocos Gram-positivos e seu maior efeito pós-antibiótico expliquem nossos achados. Dois autores definem estes fatores de forma muito clara.<sup>74,75</sup>

Vale salientar que a associação quinolonas-MRSA é biologicamente plausível. Bisognano *et al*<sup>76</sup> demonstraram aumento na adesividade de cepas de *S. aureus* quando expostas a concentrações sub-inibitórias de ciprofloxacina. Como a maior parte dos MSSA é inibida pela ciprofloxacina, o efeito observado é maior para cepas de MRSA.

A razão que justifica a escolha do estudo tipo Caso-caso-controle foi que fatores de risco identificados para ambos MRSA e MSSA, poderiam ser preditores gerais para aquisição de *S. aureus*. Contudo, não houve concordância entre os dois estudos. Idade foi negativamente associada com aquisição de MSSA. Pode-se especular que pacientes idosos foram expostos a fatores que previnem a colonização por MSSA e que não foram avaliados neste estudo, tal como uso de antibióticos antes da hospitalização ou competição ecológica de outros patógenos. Em tempo, razões para o achado de Doença

do sistema nervoso central como fator de risco para colonização por MSSA permanecem obscuras. Ainda assim, devemos enfatizar que o pequeno número de pacientes colonizados por MSSA limitou o poder estatístico do estudo.

Outros dois fatores de risco têm sido freqüentemente relatados em artigos sobre aquisição de MRSA em UTI: a gravidade dos pacientes e o uso de dispositivos invasivos.<sup>60,61</sup> Nenhum desses achados foi identificado neste estudo.

Estudos sobre aquisição de MRSA em UTI clínico-cirúrgicas são relativamente freqüentes na literatura. Por outro lado, poucos autores abordaram de forma detalhada a epidemiologia do MRSA em pacientes queimados. Este fato é curioso, já que sua incidência nesta população é reconhecidamente elevada. As unidades de queimados têm sido reconhecidas não só como enfermarias com aumento na transmissão de MRSA, mas também como um reservatório que contribui para a disseminação desse agente por todo o hospital.<sup>77,78</sup>

Estudos sobre a epidemiologia do MRSA em UQ são freqüentemente baseados em análise descritiva de séries de casos, às vezes acompanhada por tipagem molecular dos isolados.<sup>81,82,83</sup> A ausência de um grupo controle torna difícil inferir fatores de risco a partir dessas análises. Os estudos, que incluem análise univariada de dados individuais ou agregados, identificaram algumas características associadas ao maior risco da aquisição de MRSA: idade elevada, extensão da queimadura, tempo de permanência na UTI e uso prévio

de antimicrobianos.<sup>81,82</sup> Tomados em conjunto, esses resultados não diferem daqueles relatados em UTI.<sup>61</sup>

No estudo 2 o intuito foi analisar o maior número possível de variáveis. Assim, dados relacionados ao paciente, à queimadura (extensão, profundidade, áreas acometidas, tempo desde o evento), aos procedimentos e uso de antimicrobianos foram coletados. A gravidade foi medida pela pontuação de Charlson – freqüentemente utilizada em estudos de fatores de risco para microorganismos MR.<sup>55</sup> O tempo de exposição também foi analisado. Dessa forma, procuramos evitar os vieses inerentes a estudos observacionais.

O número de debridamentos foi significativamente associado ao maior risco de aquisição do MRSA. Este achado pode ter vários significados, implicando em maior gravidade, maior tempo de exposição à UQ e manipulação de tecidos. Outro achado interessante foi a relação entre envolvimento de cabeça na queimadura e aquisição do MRSA.

Por outro lado, pacientes com queimadura envolvendo períneo tiveram menos chance de adquirir MSSA. Nossa hipótese é de que a competição com enterobactérias possa inibir o crescimento de *S. aureus* nesse sítio, uma vez que este mostra-se mau competidor, mesmo em temperaturas diferentes para crescimento.<sup>84</sup>

Sabemos que o MRSA é endêmico em grandes hospitais brasileiros – inclusive em UQ.<sup>83,85</sup> Uma possível razão para a elevada incidência nestas unidades é o fenômeno do subdimensionamento de pessoal – diretamente associado a menor adesão a medidas de barreira e a aumento da transmissão cruzada.<sup>86,87</sup>

Finalmente, devemos enfatizar que poucos pacientes adquiriram MSSA no hospital. A maior contagiosidade do MRSA em relação ao MSSA tem sido relatada na literatura.<sup>88</sup> Ela pode dever-se ao efeito ecológico do uso de antimicrobianos. No entanto, neste estudo, antimicrobianos não foram associados ao maior risco de aquisição do MRSA entre pacientes queimados. Ao contrário, os achados sugerem a necessidade de maior atenção durante a realização de procedimentos, circunstância que parece facilitar a transmissão cruzada deste agente.

Os Estudos 1 e 2 abordaram, por metodologia semelhante, fatores associados à aquisição de MRSA em pacientes graves. Seus resultados apresentam interessantes contrastes com os achados do Estudo 3.

A permanência dos pacientes em ambiente hospitalar, com conseqüente realização de procedimentos e administração de antimicrobianos, têm profundo impacto sobre a flora de mucosas. Fillius *et al*<sup>89</sup> descreveram um aumento contínuo de taxas de colonização por bacilos Gram-negativos ao longo da internação. De forma interessante, esses autores descrevem a persistência de altas taxas de colonização até três meses após a alta hospitalar.

De um modo geral, a colonização de orofaringe por *P. aeruginosa* pode ser afetada pela suscetibilidade individual dos pacientes e por alterações nas condições ecológicas da boca. Tubos orotraqueais e sondas nasogástricas têm sido implicados nessas alterações, pois fornecem um meio adequado para a formação de biofilmes.<sup>90,91</sup>

O potencial clínico e implicações epidemiológicas da colonização por *P. aeruginosa* ainda não estão bem elucidados. Leibovitz *et al*<sup>90</sup> enfatizam que pacientes idosos carreadores orais de *P. aeruginosa*, são de especial risco para desenvolvimento de pneumonias aspirativas e infecções sistêmicas. O mesmo pode ser dito sobre os pacientes de UTI que habitualmente apresentam riscos adicionais para desenvolvimento de infecções.

Tem-se afirmado que a orofaringe pode ser um “reservatório de resistência” e fonte de transmissão cruzada.<sup>47,90</sup> A implementação da cultura de vigilância em nosso hospital direcionou-se para identificação e isolamento de pacientes colonizados com cepas resistentes à Ceftazidima e ao Imipenem. No entanto, as taxas de resistência identificadas foram baixas. Isso pode explicar o achado do uso de quinolonas como fator protetor contra a colonização por *P. aeruginosa* em nosso estudo.

Os fatores de risco identificados no Estudo 3 merecem algum destaque. Pacientes com Neoplasias sólidas eram internados em nossa UTI em estágio avançado. O mesmo pode-se dizer dos indivíduos com Aids, que eram internados com doenças oportunistas graves. Uma relação entre Aids e colonização/infecção por *P. aeruginosa* foi proposta.<sup>92</sup> No entanto, há os que afirmam que a verdadeira razão para a alta incidência dessa bactéria é o número de internações, e não a doença de base.<sup>93</sup> Imunossupressão, doenças oportunistas e uso de antimicrobianos, profiláticos e terapêuticos, por pacientes com Aids são fatores que podem ter impacto sobre a ecologia da orofaringe.

As Doenças do Sistema Nervoso Central também foram identificadas como fatores de risco para *P. aeruginosa*. Sabemos que elas interferem de forma importante com os processos de mastigação e deglutição – essenciais para a redução numérica de bactérias na orofaringe. Não é de se espantar, portanto, que estejam associadas a maior propensão para colonização oral por esse agente.

A relação entre presença de cateter venoso central e colonização por *P. aeruginosa* não é clara. Provavelmente, a inserção de cateter é um indicador indireto da gravidade dos pacientes. No entanto, devemos enfatizar que a pontuação rotineiramente empregada para avaliar gravidade de pacientes em UTI (o APACHE II) não encontrou diferença entre casos e controles.

Ao contrário do que se observou com o MRSA, o tempo de permanência, no hospital ou na UTI, não foi associado a maior risco de colonização por *P. aeruginosa*. Este achado reforça a hipótese, defendida por vários autores, de que a transmissão cruzada desempenha papel menor na epidemiologia da *P. aeruginosa*.<sup>40,41,42</sup>

Analisados em conjunto, nossos estudos compõem um panorama amplo da epidemiologia de microorganismos-problema em um hospital de ensino. Enquanto a aquisição do MRSA parece estar ligada a transmissão cruzada e procedimentos tanto na UTI quanto na UQ, com certa participação facilitadora do uso de antimicrobianos, a colonização por *P. aeruginosa* está principalmente associada a fatores intrínsecos dos pacientes, doenças de base, por exemplo.

Devemos enfatizar alguns detalhes dos estudos. Em todos eles, busca-se seguir as recomendações mais atuais para estudos de coorte e caso-controle: (1) seleção correta de grupo controle; (2) ajuste dos resultados por meio de indicador de gravidade; (3) ajuste dos resultados por indicador de tempo de exposição (permanência no ambiente hospitalar).<sup>48</sup> Além disso, tentou-se avaliar tantos fatores quanto era possível em estudos retrospectivos.

Há, portanto, algumas limitações. Em primeiro lugar, o delineamento retrospectivo impede a análise de fatores não explicitados no prontuário. Além disso, os estudos carecem de complementação por meio da tipagem molecular dos isolados – técnica que permitiria uma avaliação mais completa da epidemiologia dos microorganismos estudados.

Acredita-se, no entanto, que o emprego de metodologia rigorosa permita superar as limitações inerentes aos estudos de coorte e caso-controle. Acima de tudo, os resultados permitiram a identificação de oportunidades de intervenção preventiva e de populações de maior risco para aquisição de MRSA e *P. aeruginosa*. Contribuem, assim, para o desenvolvimento de políticas efetivas para controle de MR em hospitais.



## CONCLUSÕES

- Tempo de permanência em UTI e uso de ciprofloxacina foram fatores de risco para colonização nasofaríngea por MRSA em pacientes de UTI. Por outro lado, o uso de levofloxacina foi um fator protetor contra a colonização.
- Em pacientes queimados, somente o número de debridamentos cirúrgicos e as queimaduras envolvendo cabeça foram significativamente associados à aquisição de MRSA. O uso de antimicrobianos não exerceu influência significativa sobre a incidência deste agente.
- Entre os fatores de risco para colonização orofaríngea por isolados de *P. aeruginosa* em pacientes de UTI, predominaram as co-morbidades: neoplasia sólida, aids e doença do sistema nervoso central. A inserção de cateter venoso central também se associou ao maior risco de colonização, enquanto o uso de quinolonas foi um fator protetor.

## REFERÊNCIAS

1. Céline LF. A vida e obra de Semmelweis. São Paulo: Companhia das Letras. 1998 (Trad. Rosa Freire d’Aguiar).
2. Hughes JM. Study on the efficacy of nosocomial infection control (SENIC Project): results and implications for the future. *Chemotherapy*. 1988; 34: 553-61.
3. Emori TG, Edwards JR, Culver DH, Sartor C, Stroud LA, Gaunt EE, Horan TC, Gaynes RP. Accuracy of reporting nosocomial infections in intensive-care-unit patients to the National Nosocomial Infections Surveillance System: a pilot study. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 1998; 19: 308-16.
4. Horan TC, Andrus M, Dudeck MA. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Control*. 2008; 36: 309-32.
5. Graves N, Halton K, Lairson D. Economics and preventing hospital-acquired infection: broadening the perspective. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2007; 28: 178-84.
6. Ostrowsky B. Epidemiology of healthcare-associated infections. In: Jarvis W. Bennet & Brachman’s Hospital Infeções (5th edition). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 2007: 3-24.
7. Far FE, Marino CG, Medeiros EA. The organization of hospital infection control committees and their importance in Brazil. *Braz J Infect Dis*. 2001; 5: 290-3.

8. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Guideline for environmental infection control in healthcare facilities. Atlanta: CDC. 2003.
9. Wong ES, Hooton TM. Guideline for prevention of catheter-associated urinary tract infection. Atlanta: CDC. 1981.
10. O'Grady NP, Alexander M, Dellinger EP, Gerberding JL, Heard SO, Maki DG, Mansur H, McCormick RD, Mermel LA, Pearson ML, Raad II, Randolph. Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. *MMWR*. 2002; 51 (RR-10): 1-31.
11. Tablan OC, Anderson LJ, Besser R, Bridges C, Hajjeh R. Guidelines for preventing healthcare-associated Pneumonia, 2003. *MMWR*. 2004; 53 (RR-03): 1-36.
12. Jarvis WR. Infection control and changing health-care delivery systems. *Emerg Infect Dis*. 2001; 7: 170-3.
13. Fortaleza CMCB. Infecção Hospitalar. In: Lopes AC. *Tratado de Clínica Médica* (1ª. ed.). São Paulo: Rocca. 2006: 4191-8.
14. Leone M, Martin C. How to break the vicious circle of antibiotic resistances? *Curr Opin Crit Care*. 2008; 14: 587-92.
15. Hidron AI, Edwards JR, Patel J, Horan TC, Sievert DM, Pollock DA, Fridkin SK; National Healthcare Safety Network Team; Participating National Healthcare Safety Network Facilities. NHSN annual update: antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006-2007. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2008; 29: 996-1011.

16. Sader HS, Gales AC, Pfaller MA, Mendes RE, Zoccoli C, Barth A, Jones RN. Pathogen frequency and resistance patterns in Brazilian hospitals: summary of results from three years of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Braz J Infect Dis.* 2001; 5: 200-14.
17. Smith RL, Sawyer RG, Pruett TL. Hospital-acquired infections in the surgical intensive care: epidemiology and prevention. *Zentralbl Chir.* 2003; 128: 1047-61.
18. Eggimann P, Pittet D. Infection control in the ICU. *Chest.* 2001; 120: 2059-93.
19. Church D, Elsayed S, Reid O, Winston B, Lindsay R. Burn wound infections. *Clin Microbiol Rev.* 2006; 19: 403-34.
20. Kollef MH, Fraser VJ. Antibiotic resistance in the intensive care unit. *Ann Intern Med.* 2001; 134: 298-314.
21. Chambers HF. The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*? *Emerg Infect Dis.* 2001; 7: 178-82.
22. Jarvis WR. The epidemiology of colonization. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1996; 17: 47-52.
23. Payne MC, Wood HF, Karakawa W, Gluck L. A prospective study of staphylococcal colonization and infections in newborns and their families. *Am J Epidemiol* 1966; 82: 305-16.
24. Gorwitz RJ, Kruszon-Moran D, McAllister SK, McQuillan G, McDougal LK, Fosheim GE, Jensen BJ, Killgore G, Tenover FC, Kuehnert MJ. Changes in the Prevalence of Nasal Colonization with *Staphylococcus aureus* in the United States, 2001–2004. *The Journal of Infectious Diseases.* 2008; 197:1226 –34.

25. Kuehnert MJ, Kruszon-Moran D, Hill HA, McQuillan G, McAllister SK, Fosheim G, McDougal LK, Chaitram J, Jensen B, Fridkin SK, Killgore G, Tenover FC. Prevalence of *Staphylococcus aureus* nasal colonization in the United States, 2001-2002. *J Infect Dis.* 2006 15; 193: 172-9.
26. Ratnaraja NV, Hawkey PM. Current challenges in treating MRSA: what are the options? *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2008; 6: 601-18.
27. Kreiswirth B, Kornblum J, Arbeit RD, Eisner W, Maslow JN, McGeer A. Evidence for a clonal origin of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Science.* 1993; 259:227-30.
28. Harbarth S. Control of endemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*--recent advances and future challenges. *Clin Microbiol Infect.* 2006; 12: 1154-62.
29. Pantosti A, Sanchini A, Monaco M. Mechanisms of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *Future Microbiol.* 2007; 2: 323-34.
30. Fridkin SK. Vancomycin-intermediate and -resistant *Staphylococcus aureus*: what the infectious disease specialist needs to know. *Clin Infect Dis.* 2001; 32: 108-15.
31. Andrade-Baiocchi S, Tognim MC, Baiocchi OC, Sader HS. Endocarditis due to glycopeptide-intermediate *Staphylococcus aureus*: case report and strain characterization. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2003; 45: 149-52.
32. Boyle-Vavra S, Labischinski H, Ebert CC, Ehlert K, Daum RS. A spectrum of changes occurs in peptidoglycan composition of glycopeptide-intermediate clinical *Staphylococcus aureus* isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001; 45: 280-7.

33. Severin A, Tabei K, Tenover F, Chung M, Clarke N, Tomasz A. High level oxacillin and vancomycin resistance and altered cell wall composition in *Staphylococcus aureus* carrying the staphylococcal mecA and the enterococcal vanA gene complex. *J Biol Chem*. 2004 Jan 30;279(5):3398-407.
34. Saïd-Salim B, Mathema B, Kreiswirth BN. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an emerging pathogen. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2003; 24: 451-5.
35. Klevens RM, Morrison MA, Nadle J, Petit S, Gershman K, Ray S, Harrison LH, Lynfield R, Dumyati G, Townes JM, Craig AS, Zell ER, Fosheim GE, McDougal LK, Carey RB, Fridkin SK; Active Bacterial Core surveillance (ABCs) MRSA Investigators. Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the United States. *JAMA*. 2007; 298: 1763-71.
36. Oztoprak N, Cevik MA, Akinci E, Korkmaz M, Erbay A, Eren SS, Balaban N, Bodur H. Risk factors for ICU-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *Am J Infect Control*. 2006; 34: 1-5.
37. Flaherty JP, Stosor V. Nonfermentative Gram-negative bacilli. In: Mayhall CG. *Hospital Epidemiology and Infection Control*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 2004; 575-602.
38. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). National Nosocomial Infection Surveillance (NNIS) system report, October 1986-April 1996. *Am J Infect Control*. 1996; 24: 380-8.

39. McGowan JE Jr. Resistance in nonfermenting gram-negative bacteria: multidrug resistance to the maximum. *Am J Infect Control*. 2006; 34 (5 Suppl 1): S29-37.
40. Kropec A, Huebner J, Riffel M, Bayer U, Benzing A, Geiger K, Daschner FD. Exogenous or endogenous reservoirs of nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* infections in a surgical intensive care unit. *Intensive Care Med*. 1993; 19: 161-5.
41. Fortaleza CMCB. Aplicação da reação em cadeia de polimerase baseada em elemento repetitivo ERIC à caracterização de clones de *Pseudomonas aeruginosa*. Dissertação de Mestrado. Botucatu: Unesp. 1999.
42. Olson B, Weinstein RA, Nathan C, Chamberlin W, Kabins SA. Epidemiology of endemic *Pseudomonas aeruginosa*: why infection control efforts have failed. *J Infect Dis*. 1984; 150:808-16.
43. Kiffer C, Hsiung A, Oplustil C, Sampaio J, Sakagami E, Turner P, Mendes C; MYSTIC Brazil Group. Antimicrobial susceptibility of Gram-negative bacteria in Brazilian hospitals: the MYSTIC Program Brazil 2003. *Braz J Infect Dis*. 2005; 9: 216-24.
44. Gales AC, Jones RN, Turnidge J, Rennie R, Ramphal R. Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* Isolates: Occurrence Rates, Antimicrobial Susceptibility Patterns, and Molecular Typing in the Global SENTRY. *Clinical Infectious Diseases*. 2001; 32(Suppl 2):S146–55.

45. Siegel JD, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L. Management of multidrug-resistant organisms in healthcare settings, 2006. Atlanta: CDC. 2006.
46. Muto CA, Jernigan JA, Ostrowsky BE, Richet HM, Jarvis WR, Boyce JM, Farr BM; SHEA. SHEA guideline for preventing nosocomial transmission of multidrug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus*. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2003; 24: 362-86.
47. Bonten MJ, Bergmans DC, Speijer H, Stobberingh EE. Characteristics of polyclonal endemicity of *Pseudomonas aeruginosa* colonization in intensive care units. Implications for infection control. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999; 160: 1212-9.
48. Harris AD, Karchmer TB, Carmeli Y, Samore MH. Methodological principles of case-control studies that analyzed risk factors for antibiotic resistance: a systematic review. *Clin Infect Dis*. 2001; 32:1055-61.
49. Rogues AM, Dumartin C, Amadéo B, Venier AG, Marty N, Parneix P, Gachie JP. Relationship between rates of antimicrobial consumption and the incidence of antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates from 47 French hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2007; 28: 1389-95.
50. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; approved standard, 8th ed. Pennsylvania: CLSI. 2003.
51. Kaye KS, Harris AD, Samore M, Carmeli Y. The case-case-control study design: addressing the limitations of risk factor studies for antimicrobial resistance. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2005; 26: 346-51.



52. World Health Organization (WHO). International Classification of Diseases. 10th revision, 2005 update. Geneva, Switzerland: WHO. 2005.
53. Knaus WA, Draper EA, Wagner DR, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med*. 1985; 13: 818-29.
54. Greenland S. Modeling and variable selection in epidemiologic analysis. *Am J Public Health*. 1989; 79: 340-9.
55. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis*. 1987; 40: 373-383.
56. Miller SF, Finley RK, Waltman M, Lincks J. Burn size estimate reliability: a study. *J Burn Care Rehabil*. 1991; 12: 546-59.
57. Courvalin P. Antimicrobial drug resistance: "Prediction is very difficult, especially about the future". *Emerg Infect Dis*. 2005; 11: 1503-6.
58. Agodi A, Barchitta M, Cipresso R, Giaquinta L, Romeo MA, Denaro C. *Pseudomonas aeruginosa* carriage, colonization, and infection in ICU patients. *Intensive Care Med*. 2007; 33: 1155-61.
59. Safdar N, Maki GD. The commonality of risk factors for nosocomial colonization and infection with antimicrobial-resistant *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus*, Gram-negative bacilli, *Clostridium difficile* and *Candida*. *Ann Internal Med*. 2002; 136:834-44.
60. Tenover FC. Development and spread of bacterial resistance to antimicrobial agents: an overview. *Clinical Infectious Diseases*. 2001; 33 (Suppl 3): S108–15.

61. Hardy KJ, Hawkey PM, Gao F, Oppenheim FB. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in the critically ill. Br J Anaesth. 2004; 92: 121-30.
62. Huang SS, Yokoe DS, Hinrichsen VL, Spurchise LS, Datta R, Miroshnik I, Platt R. Impact of routine Intensive Care Unit Surveillance cultures and resultant barrier precautions on hospital-wide Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. Clin Infect Dis. 2006; 43:971–8.
63. Estevez IJ, Concha MD, Molina DC. Comparison of different methodological approaches to identify risk factors of nosocomial infection in intensive care units. Intensive Care Med. 2001; 27: 1254-62.
64. Davis KA, Stewart JJ, Crouch HK, Florez CE, Hospenthal DR. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) nares colonization at hospital admission and its effect on subsequent MRSA infection. Clin Infect Dis. 2004; 39: 776–82.
65. Cosgrove SE, Qi Y, Kaye KS, Harbarth S, Karchmer AW, Carmeli Y. The Impact of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* bacteremia on patient outcomes: mortality, length of stay, and hospital charges. Infection Control and Hospital Epidemiology. 2005.
66. Marshall C, Wolfe R, Kossmann T, Wesselingh S, Harrington G, Spelman D. Risk factors for acquisition of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) by trauma patients in the intensive care unit. J Hosp Infect. 2004; 57: 245-52.
67. Marshall C, Harrington G, Wolfe R, Fairley CK, Wesselinh S, Spelman D. Acquisition of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a large Intensive Care Unit. Infect Control Hosp Epidemiol. 2003; 24: 322-6.

68. Warren DH, Guth RM, Coopersmith CM, Merz LM, Zack JE, Fraser VJ. Epidemiology of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in a surgical Intensive Care Unit. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2006; 27: 1032-40.
69. Harbarth S, Liassine M, Dharan S, Herrault P, Auckenthaler R, Pittet D. Risk factors for persistent carriage of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis.* 2000; 31: 1380-5.
70. Weber SG, Gold HS, Hooper DC, Karchmer AW, Carmeli Y. Fluoroquinolones and the Risk for Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Hospitalized Patients. *Emerg Infect Dis.* 2003; 9: 1415-22.
71. Ernst EJ, Raley G, Herwaldt LA, MD; Diekema DJ. Importance of control group selection for evaluating antimicrobial use as a risk factor for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2005; 26: 634-7.
72. Harris AD, Samore MH, Lipsitch M, Kaye KS, Perencevich E, Carmeli Y. Control-group selection importance in studies of antimicrobial resistance: examples applied to *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococci*, and *Escherichia coli*. *Clin Infect Dis.* 2002; 34:1558–63
73. D'Agata E. Methodologic issues of case-control studies: a review of established and newly recognized limitations. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2005; 26: 338-41.
74. Hooper DC. Quinolones. In: Mandell LG, Bennett JE, Dolin R. Principles and Practices of Infectious Diseases. ( 6<sup>a</sup> edição ). 2005; 451-471.

75. Licata L, Smith CE, Goldschmidt RM, Barrett JF, Frosco M. Comparison of the Postantibiotic and Postantibiotic Sub-MIC Effects of Levofloxacin and Ciprofloxacin on *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1997; 950–955.
76. Bisognano C, Vaudaux P, Rohner P, Lew DP, Hooper DC. Induction of fibronectin-binding proteins and increased adhesion of Quinolone-resistant *Staphylococcus aureus* by subinhibitory levels of Ciprofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000; 44: 1428-37.
77. Boyce JM, White RL, Causey WA, Lockwood WR. Burn units as a source of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *JAMA*. 1983; 249: 2803-2807.
78. Rashid A, Solomon LK, Lewis HG, Khan K, Outbreak of epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a regional burns unit: management and implications. *Burns*. 2006; 32: 452-7.
79. Sheridan RL, Weber J, Benjamin J, Pasternack MS, Tompkins RG. Control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a pediatric burn unit. *Am J Infect Control*. 1994; 22: 340-5.
80. Fuchs PC, Kopp J, Häfner H, Kleiner U, Pallua N. MRSA – retrospective analysis of an outbreak in the burn center Aachen. *Burns*. 2002; 28: 575-8.
81. Bagdonas R, Tamelis A, Rimdeika R. *Staphylococcus aureus* infection in the surgery of burns. *Medicina (Kaunas)*. 2003; 11: 1078-1081.
82. Ransjö U, Malm M, Hambræus A, Artursson G, Hedlund A. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in two burn units: clinical significance and epidemiological control. *J Hosp Infect*. 1989; 13: 355-65.

83. Oliveira GA, Faria JB, Levy CE, Mamizuka EM. Characterization of the Brazilian endemic clone of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from hospitals throughout Brazil. *Braz J Infect Dis.* 2001; 5: 163-70.
84. Digiacinto JV, Frazier WC. Effect of Coliform and Proteus Bacteria on Growth of *Staphylococcus aureus*. *Appl Microbiol.* 1966; 14:124-9.
85. Macedo JL, Santos JB. Nosocomial infections in a Brazilian burn unit. *Burns.* 2006; 32: 477-81.
86. Vicca AF. Nursing staff workload as a determinant of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* spread in an adult intensive therapy unit. *J Hosp Infect.* 1999; 43: 109-13.
87. Clements A, Halton K, Graves N, Pettitt A, Morton A, Looke D. Overcrowding and understaffing in modern health-care systems: key determinants in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* transmission. *Lancet Infect Dis.* 2008; 8: 427-34.
88. Vriens MR, Fluit C, Troelstra A, Verhoef J, van der Werken C. Is methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* more contagious than methicillin-susceptible *S. aureus* in a surgical Intensive Care Unit? *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2002; 23: 491-4.
89. Filius PM, Gyssens IC, Kershof IM, Roovers PJ, Ott A, Vulto AG, Verbrugh HA, Endtz HP. Colonization and resistance dynamics of Gram-negative bacteria in patients during and after hospitalization. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005; 49: 2879-2886.
90. Leibovitz A, Dan M, Zinger J, Carmeli Y, Habor B, Segal R. *Pseudomonas aeruginosa* and the oropharyngeal ecosystem of tube-fed patients. *Emerg Infect Dis.* 2003, 9: 956-959.

91. Berthelot P, Grattard F, Mahul P, Pain P, Jospé R, Venet C, Carricajo A, Aubert G, Ros A, Dumont A, Lucht F, Zéni F, Auboyer C, Bertrand JC, Pozzetto B. Prospective study of nosocomial colonization and infection due to *Pseudomonas aeruginosa* in mechanically ventilated patients. *Intensive Care Med.* 2000; 27: 503-512.
92. Asboe D Gant V, Aucken HM. Persistence of *Pseudomonas aeruginosa* strains in respiratory infection in AIDS patients. *AIDS.* 1998; 12: 1771-1775.
93. Sorvillo F, Beall G, Turner PA. Incidence and determinants of *Pseudomonas aeruginosa* infection among persons with HIV: association with hospital exposure. *Am J Infect Control.* 2001; 29: 79-84.

**ANEXO: Artigos enviados para publicação.**

**Artigo 1:** Risk factors for *Staphylococcus aureus* colonization in an Intensive Care Unit.

- Enviado para Revista de Saúde Pública (Internacional Qualis B).
- Aguardando parecer.

**Artigo 2:** Risk factors for acquisition of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among patients from a burn unit in Brazil.

- Enviado para Revista *Burns* (Internacional Qualis A)
- Aprovado para publicação (pequenas revisões pendentes).

**Artigo 3:** Risk factors for oropharyngeal carriage of *Pseudomonas aeruginosa* among patients from a medical-surgical Intensive Care Unit.

- Enviado para *Brazilian Journal of Infectious Diseases* (Internacional Qualis C).
- Aprovado para publicação.

**ARTIGO 1:**

**TITLE:** Risk factors for *Staphylococcus aureus* colonization in an Intensive Care Unit.

**TÍTULO:** Fatores de risco para colonização por *Staphylococcus aureus* em Unidade de Terapia Intensiva.

**CONCISE TITLE:** *S. aureus* colonization in Intensive Care Unit.

**AUTHORS:** Melo, Edson Carvalho de ; Fortaleza, Carlos Magno Castelo Branco

**AUTHORS AFFILIATIONS:** Authors' affiliations:

(1) Hospital Estadual Bauru (Bauru State Hospital), Bauru City, São Paulo State, Brazil.

(2) Faculdade de Medicina de Botucatu (Botucatu School of Medicine), Universidade Estadual Paulista (UNESP). Botucatu City, São Paulo State, Brazil.

**CORRESPONDING AUTHOR:**

Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza, M.D., Ph.D

Departamento de Doenças Tropicais

Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (UNESP).

Distrito de Rubião Júnior

Botucatu city, São Paulo State, Brazil. CEP: 18618-970.



**ABSTRACT**

**OBJECTIVE:** To identify risk factors for nasopharyngeal colonization with Methicillin-resistant (MRSA) or Methicillin-susceptible (MSSA) *Staphylococcus aureus* among patients from a medical-surgical Intensive Care Unit (ICU). **METHODS:** We conducted a retrospective study with chart review of 122 patients admitted to the ICU from March 2005 through May 2006. All patients had been screened with cultures of nasopharyngeal secretions to detect colonization with *S. aureus*. Cultures were collected on admission and weekly thereafter. Our study used a “case-case control” design. Two case-control studies were performed, using as cases patients who acquired nasopharyngeal colonization with MRSA and MRSA, respectively. For both case-control studies, those patients in whom *S. aureus* colonization was not detected during ICU stay were selected as control subjects. Several potential risk factors were assessed, including demographic data, comorbid conditions, severity-of-illness, length of stay, procedures, use of invasive devices and use of antimicrobials. Data were submitted to univariate and multivariable analysis (Logistic Regression). **RESULTS:** In the study period, MRSA and MSSA were recovered from 27 and 10 patients, respectively. Risk factors for MRSA colonization were: length of stay in the ICU (Odds Ratio[OR]=1.12, 95% Confidence Interval[CI]= 1.06-1.19,  $p<0.001$ ) and use of Ciprofloxacin (OR=5.05, 95%CI=1.38-21.90,  $p=0.015$ ). The use of Levofloxacin had protective effect (OR=0.08, 95%CI=0.01-0.55,  $p=0.01$ ). Colonization with MSSA was positively associated with the presence of Central Nervous System disease (OR=7.45, 95%CI=1.33-41.74,  $p=0.02$ ) and negatively associated with age (OR=0.94, 95%CI=0.90-0.99,  $p=0.01$ ). **CONCLUSIONS:** The incidence of *S. aureus* colonization in the study ICU was high. Our findings suggest a role for both cross-transmission and selective pressure of antimicrobials in the spread of drug-resistant strains.

**DESCRIPTORS (MeSH):** *Staphylococcus aureus*. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. Intensive Care Units . Infection Control.

## RESUMO

**OBJETIVO:** Identificar fatores de risco para colonização de nasofaringe com *Staphylococcus aureus* resistente (SARM) ou suscetível (SASM) à Meticilina em pacientes internados em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI) clínico-cirúrgica.

**MÉTODOS:** Foi realizado estudo retrospectivo com revisão de prontuários de 122 pacientes internados na UTI entre Março de 2005 e Maio de 2006. Todos os pacientes haviam sido triados por cultura de secreção de nasofaringe para detectar colonização por *S. aureus*. Culturas eram colhidas à admissão e depois semanalmente durante a permanência na UTI. Nós utilizamos um delineamento “caso-caso-controle”. Dois estudos de caso-controle foram realizados, utilizando como casos pacientes que adquiriram colonização nasal com SARM e SASM, respectivamente. Para ambos os estudos, aqueles pacientes que não foram colonizados por *S. aureus* durante a internação na UTI foram selecionados como controles. Vários fatores de risco potenciais foram analisados, incluindo dados demográficos, co-morbidades, gravidade da doença de base, tempo de permanência, procedimentos, dispositivos invasivos e uso de antimicrobianos. Dados foram submetidos a análise univariada e multivariada (Regressão Logística).

**RESULTADOS:** No período do estudo, SARM e SASM foram recuperados de 27 e 10 pacientes, respectivamente. Fatores de risco para colonização por SARM foram: tempo de permanência na UTI (Odds Ratio[OR]=1,12, Intervalo de Confiança[IC]95%=1,06-1,19,  $p < 0,001$ ) e uso de Ciprofloxacina (OR=5,05, IC95%=1,38-21,90,  $p = 0,015$ ). O uso de Levofloxacina teve efeito protetor (OR=0,08, IC95%=0,01-0,55,  $p = 0,01$ ). Colonização por SASM foi positivamente associada à presença de Doença do Sistema Nervoso Central (OR=7,45, IC95%=1,33-41,74,  $p = 0,02$ ) e negativamente associada à idade (OR=0,94, IC95%=0,90-0,99,  $p = 0,01$ ).

**CONCLUSÕES:** A incidência de colonização por *S. aureus* na UTI estudada foi alta. Nossos achados apontam para a participação da transmissão cruzada e da pressão seletiva de antimicrobianos na disseminação de cepas resistentes.

**DESCRITORES (DeCS):** *Staphylococcus aureus*. Unidades de Terapia Intensiva. Infecção Hospitalar.

## INTRODUCTION

*Staphylococcus aureus* emerged as an important agent of healthcare-acquired infections (HAIs) in the early 1950s. Since then, its relevance in hospitals and other healthcare settings has increased.<sup>1</sup> It ranks among the most frequent agents of healthcare-acquired pneumonia, bloodstream and surgical site infections.<sup>2</sup> Also, the worldwide spread of drug-resistant strains has posed a threat for hospitalized patients, seriously limiting therapeutic options.<sup>3</sup>

Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) is a matter of particular concern. Recent studies have shown that more than half of *S. aureus* strains recovered from patients with HAIs are MRSA.<sup>4</sup> This picture is particularly worrisome in Intensive Care Units (ICUs), where severity-of-illness, invasive procedures and the use of antimicrobials render patients specially susceptible to MRSA infections.<sup>5</sup> Also, several characteristics of healthcare assistance in the ICUs, including the necessity of frequent contact with the patient and the failure to implement barrier strategies, largely facilitate the spread of MRSA strains through cross-transmission between patients.<sup>6</sup>

The issue of MRSA control in acute care hospitals has evolved with the increasing knowledge about this pathogen's behavior. It is known that many inpatients without symptoms of infection may actually carry MRSA in their skin or (most frequently) in their nasopharynx.<sup>7</sup> This phenomenon is called colonization, and it may progress to infection in 10 to 30% of cases. More importantly, colonized patients may transmit MRSA to other individuals, thus contributing to the continuous spread of the pathogen all through the hospital.<sup>8</sup> For this reason, practice guidelines have recommended the active search of colonized patients, followed by prompt institution of isolation precautions.<sup>9,10</sup> Studies have documented the great sensibility of surveillance cultures from nasopharyngeal specimens in the detection of MRSA-colonized patients.<sup>11</sup> The strategy of regularly performing surveillance cultures has been largely adopted in hospitals, particularly in the ICUs.

Since colonization precedes infection, the finding of positive surveillance culture is an early marker of MRSA acquisition. Hence, the identification of risk factors for nasopharyngeal colonization may help in the development of strategies to prevent MRSA spread in healthcare settings.<sup>10</sup> These factors may be addressed in observational studies.

The methodological design of epidemiological studies that aim to identify risk factors for the acquisition of multidrug-resistant pathogens (such as MRSA) has been a matter of intense debate. In a systematic review, Harris et al (2001)<sup>12</sup> observed that most studies on this subject had their validity limited for one of the following reasons: (1) incorrect selection of the control group; (2) no adjustment for severity-of-illness; and (3) no adjustment for time of exposure to the risk.

The primary objective of our study was to identify risk factors for MRSA colonization in a medical-surgical ICU where this pathogen maintains hyperendemic levels. The study design (which is explained in the METHODS section) also allowed us to identify predictors of colonization with Methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA) strains. In order to avoid biases, we strictly followed current methodological recommendations, with special attention to the three issues cited in the previous paragraph.

## **METHODS**

### *Study setting*

The study was conducted in a small teaching hospital (285 active beds) that serves an area with approximately one million inhabitants. The hospital has a microbiology laboratory, and an active Infection Control Committee (ICC).

There are four ICUs in the hospital, that care for medical-surgical, pediatric, coronary and burn patients, respectively. Our study was conducted in the medical-surgical ICU, which has 11 beds.

#### *Surveillance of S. aureus colonization*

Since 2005, the ICC performs surveillance cultures to detect MRSA colonization among patients admitted to the medical-surgical ICU. Those cultures are collected on admission and weekly thereafter. Briefly, nasopharyngeal secretions are collected with swabs and transported in Stuart media. Later they are inoculated in Mannitol Salt Agar and Blood Agar plates. The identification of *S. aureus* is performed through Coagulase test. Resistance to Methicillin is confirmed in disk diffusion tests (using Oxacillin and Cefoxitin disks) according to standards from the Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly the National Committee for Clinical Laboratory Standards).<sup>13</sup>

### *Study design*

The study had a retrospective, case-case-control design, as described by Kaye et al (2005).<sup>14</sup> In this design, two case-control studies are performed. In the first, patients carrying drug-resistant strains (e.g., MRSA) are selected as cases. In the other, case patients are those individual that carry drug-susceptible strains (e.g., MSSA). For both studies, control subjects are selected among individuals from the source population, which do not harbour neither susceptible nor resistant strains. The rationale of this design is the possibility of simultaneously identifying risk factors for acquisition of the organism as a whole and for resistant strains in particular.

We retrospectively analyzed results from surveillance cultures performed from March 2005 through May 2006. Patients were included in our study if they had been admitted to the ICU for at least 48 hours during the study period and had surveillance cultures (nasopharyngeal swabs) collected during their stay. Exclusion criteria were: a stay of less than 48 hours; no surveillance culture collected; positive cultures for *S. aureus* before or in the first 48 hours after admission to the ICU.

For case-control study #1, case patients were defined as individuals who had at least one MRSA-positive surveillance culture while staying in the ICU. For case-control study #2, case patients' definition included the presence of at least one MSSA positive surveillance culture during ICU stay. For both studies, the control group was formed by all individuals from the study period in which *S. aureus* was not recovered from any surveillance culture.

### *Investigation of Risk Factors*

Patient data were recovered from medical charts and laboratory files. Underlying conditions were defined following the guidelines in International Classification of Diseases.<sup>15</sup> Severity of illness was assessed using the Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE) II score.<sup>16</sup> Hospital admissions in the previous year and transfer from other hospitals were also recorded. All other data were analyzed from the day of admission to our hospital up to the isolation of *S. aureus* for case patients and up to the last negative culture for control subjects. Data included performance of surgery or other invasive procedure; use of steroids or other immune-suppressing drugs and use of antimicrobials. Time at risk was assessed using two different variables: "time in the hospital" (defined as time from admission to the hospital up to the isolation of *S. aureus* for case patients and up to the last negative culture for control subjects) and "time in the ICU" (defined in a similar fashion, but counted from the day of admission to the ICU).

### *Statistical analysis*

Data were analyzed with epidemiological softwares: EPI INFO for Windows, version 3.2 (Centers for Disease Control and Prevention) and SPSS version 15.0 (SPSS inc). Each variable was submitted to univariate analysis. Fischer's exact test (for binomial variables) and Student's T test or the Mann-Whitney test (for numeric variables) were used. For multivariable analysis, we used a stepwise forward selection process. All variables for which  $p < 0.2$  were included in a first model. Variables were excluded from the model based on the magnitude of their effect. A p-value of 0.05 was required for staying in the models. The same limit was set for significance in the final model.

### *Ethical issues*

Our study was fully approved by the hospital Scientific Committee and by the reference Research Ethics Committee.

## **RESULTS**

A total number of 122 patients met the inclusion criteria for our study. MRSA and MSSA strains were recovered from nasopharyngeal swabs from 27 and 10 patients, respectively.

Results from univariate analysis of risk factors for MRSA (case-control #1) and MSSA (case-control #2) are listed in Tables 1 and 2, respectively. Table 3 presents results from multivariable analysis. We found out that length of stay in the ICU and the use of Ciprofloxacin were significant risk factors for colonization with MRSA, while the use Levofloxacin had a protective effect. On the other hand, MSSA colonization was positively associated with the presence of central nervous system disease, but had a negative association with age.



## DISCUSSION

Containing the spread of multidrug-resistant pathogens in healthcare settings is a major challenge for infection control practitioners. Most studies on the field address the importance of cross-transmission and/or selective pressure of antimicrobials as major contributors to the emergence and spread of resistant strains. Determining which one of these factors is predominant in the epidemiology of a specific pathogen is primary for designing strategies for its control.<sup>17</sup>

Recent evidence has pointed out to a predominance of cross-transmission in the nosocomial spread of MRSA, and this has led to recommendations that emphasize the use of barrier methods, such as hand hygiene and isolation precautions. A minor role has been attributed to selective effect of antimicrobials.<sup>9,10</sup>

Previous studies that identified antimicrobials (mostly Fluoroquinolones) as risk factors for MRSA acquisition could be challenged on the basis of using patients with susceptible strains (MSSA) as controls.<sup>18,19</sup> This strategy is believed to overestimate the effect of antimicrobial use.<sup>12</sup> This is why we chose to assess risk factors for MRSA and MSSA in different case-control studies, selecting control subjects among the population at risk. We also tried to avoid biases by assessing patients severity-of-illness (through APACHE II scores) and time of exposure to the risk.

The length of ICU stay was a significant risk factor for MRSA acquisition. This finding has been reported by others, and it's an important marker of the occurrence of cross-transmission within the unit.<sup>20,21,22</sup> On the other hand, we also detected effects of antimicrobial use in the epidemiology of MRSA in our institution.

A previous study found a significant role for two Quinolones (Ciprofloxacin and Levofloxacin) as risk factors for MRSA carriage.<sup>18</sup> Our findings are not quite the same. While the use of Ciprofloxacin increased the risk for MRSA acquisition, Levofloxacin had a protective effect. These results are worth our attention. First, the finding of Quinolones (instead of other drugs with anti-staphylococcal effect, such as beta-

lactams) as risk factors is quite interesting. Evidence from experimental studies suggests that sub-inhibitory levels of Quinolones may enhance *S. aureus* colonization ability, specially for MRSA strains.<sup>18,23</sup> Still, we need to explain why Ciprofloxacin and Levofloxacin had opposite effect. We can only hypothesize that the much greater activity of Levofloxacin against gram-positive pathogens was sufficient to inhibit MRSA colonization.

The rationale that supported the choice for case-case-control design was that risk factors identified for both MRSA and MSSA could be general predictors for *S. aureus* acquisition. However, we found no agreement among findings of the two case-control studies. Age was negatively associated with MSSA carriage. We may speculate that elder patients were exposed to factors that prevented MSSA colonization and that were not assessed in our study, such as the use of antimicrobials previously to hospital admission or ecological competition of other pathogens. Reasons for the finding of Central Nervous System disease as a risk factor for MSSA acquisition remain obscure. Above all, it must be stressed that the small number of MSSA cases certainly limited the study statistical power.

Additional risk factors for MRSA acquisition in ICUs have been identified by other authors: severity-of-illness and use of invasive (particularly intravascular) devices.<sup>24</sup> Even though these variables were included in our analysis, they were not significant predictors for colonization with neither MSSA nor MRSA.

Certain aspects of MRSA epidemiology may vary from one ICU to another. We have sought to identify risk factors that are amenable to interventions for containing its spread among critical patients. Limiting ICU stay, reinforcing the adoption of barrier precautions and restricting the use of Ciprofloxacin may have an impact on the incidence of MRSA colonization – and, ultimately, on MRSA infection and mortality in our hospital.

**REFERENCES**

1. Chambers HF. The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*? *Emerg Infect Dis.* 2001; 7(2): 178-82.
2. Richards MJ, Edwards JR, Culver DH, Gaynes RP. Nosocomial infections in medical intensive care units in the United States. National Nosocomial Infections Surveillance System. *Crit Care Med.* 1999; 27(5):887-92.
3. Deurenberg RH, Vink C, Kalenic S, Friedrich AW, Bruggeman CA, Stobberingh EE. The molecular evolution of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Infect.* 2007;13(3):222-35.
4. Hidron AI, Edwards JR, Patel J, Horan TC, Sievert DM, Pollock DA et al. NHSN annual update: antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006-2007. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2008; 29 (11): 996-1011.
5. Moreira M, Freitas MR, Martins ST, Castelo A, Medeiros EA. Efficacy of a program of prevention and control for Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* infections in an Intensive-Care Unit. *Braz J Infect Dis.* 2007; 11(1): 57-62.
6. Humphreys H. Can we do better in controlling and preventing Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in the intensive care unit (ICU)? *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2008 ; 27(6) ; 409-13.
7. Salgado CD, Farr BM. What proportion of hospital patients colonized with Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* are identified by clinical microbiological cultures? *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2006; 27(2): 116-21.
8. Jarvis WR. The epidemiology of colonization. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1996; 17(1): 47-52.

9. Muto CA, Jernigan JA, Ostrowsky BE, Richet HM, Jarvis WR, Boyce JM et al. SHEA guideline for preventing nosocomial transmission of multidrug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and enterococcus. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2003; 24(5); 362-86.
10. Calfee DP, Salgado CD, Classen D, Arias KM, Podgorny K, Anderson DJ et al. Strategies to prevent transmission of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in acute care hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2008; 29 (suppl.): S62-80.
11. Singh K, Gavin PJ, Vescio T, Thomson Jr RB Jr, Deddish RB, Fisher A et al. Microbiologic surveillance using nasal cultures alone is sufficient for detection of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates in neonates. *J Clin Microbiol.* 2003;41(6):2755-7.
12. Harris AD, Karchmer TB, Carmeli Y, Samore MH. Methodological principles of case-control studies that analyzed risk factors for antibiotic resistance: a systematic review. *Clin Infect Dis.* 2001; 32(7): 1055-61.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; approved standard, 8th ed. Pennsylvania: CLSI; 2003.
14. Kaye KS, Harris AD, Samore M, Carmeli Y. The case-case-control study design: addressing the limitations of risk factor studies for antimicrobial resistance. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2005; 26(4):346-51.
15. World Health Organization. International Classification of Diseases. 10<sup>th</sup> revision, 2005 update. Geneva, Switzerland: WHO; 2005.
16. Knaus WA, Draper EA, Wagner DR, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med.* 1985; 13(10): 818-29.
17. Siegel JD, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L; Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Management of multidrug-resistant organisms in health care settings, 2006. *Am J Infect Control.* 2007; 35(10 Suppl 2): S165-93.

18. Weber SG, Gold HS, Hooper DC, Karchmer AW, Carmeli Y. Fluoroquinolones and the risk for Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in hospitalized patients. *Emerg Infect Dis.* 2003; 9(11):1415-22.
19. Ernst EJ, Raley G, Herwaldt LA, Diekema DJ. Importance of control group selection for evaluating antimicrobial use as a risk factor for Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2005;26(7):634-7.
20. Marshall C, Harrington G, Wolfe R, Fairley CK, Wesselingh S, Spelman D. Acquisition of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a large intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2003; 24(5): 322-6.
21. Marshall C, Wolfe R, Kossmann T, Wesselingh S, Harrington G, Spelman D. Risk factors for acquisition of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) by trauma patients in the intensive care unit. *J Hosp Infect.* 2004; 57(3):245-52.
22. Oztoprak N, Cevik MA, Akinci E, Korkmaz M, Erbay A, Eren SS et al. Risk factors for ICU-acquired Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *Am J Infect Control.* 2006; 34(1):1-5.
23. Bisognano C, Vaudaux P, Rohner P, Lew DP, Hooper DC. Induction of fibronectin-binding proteins and increased adhesion of Quinolone-resistant *Staphylococcus aureus* by subinhibitory levels of Ciprofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000; 44(6): 1428-37.
24. Hardy KJ, Hawkey PM, Gao F, Oppenheim BA. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in the critically ill. *Br J Anaesth.* 2004; 92(1): 121-30.

**Table 1.** Univariate analysis of risk factors for nasopharyngeal colonization with Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA).

Risk Factors	Cases (n=27)	Controls (n=85)	OR (95%CI)	p
<i>Demographic data</i>				
Male sex	17 (63.0)	50 (58.8)	1.19 (-.49-2.90)	0.7
Age (mean)	61.8	65.1	...	0.38
<i>Comorbidities</i>				
Cardiac disease	6 (22.2)	15 (21.8)	1.06 (0.34-3.03)	0.91
Pulmonary disease	4 (14.8)	27 (32.1)	0.37 (0.12-1.17)	0.08
Renal disease	3 (11.1)	7 (8.2)	1.39 (0.33-5.81)	0.7
Liver disease	4 (14.8)	13 (15.3)	0.96 (0.29-3.25)	1.00
Diabetes mellitus	9 (33.3)	28 (32.9)	1.02 (0.41-2.55)	0.97
Central Nervous System disease	6 (22.2)	33 (38.8)	0.45 (0.17-1.23)	0.12
Solid malignancy	1 (3.7)	9 (10.6)	0.33 (0.04-2.69)	0.45
Aids	2 (7.4)	5 (5.9)	1.28 (0.23-7.01)	0.67
Trauma	0	2 (2.4)	...	1.00
APACHE II (median)	24	23	...	0.38
<i>Data related to admission</i>				
Previous admission to our hospital*	11 (42.3)	44 (51.8)	0.68 (0.28-1.66)	0.4
Previous admission to other hospitals*	5 (18.5)	31 (36.5)	0.42 (0.14-1.21)	0.1
Time in the hospital (median)	24	11	...	<0.001**
Time in the ICU (median)	19	8	...	<0.001**
<i>Immunity</i>				
Neutropenia	1 (3.7)	0	...	0.24
Use of steroids	14 (51.9)	39 (45.9)	1.27 (0.53-3.02)	0.59
Use of other immune suppressing drugs	1 (3.7)	0	...	0.24
<i>Procedures and invasive devices</i>				
Surgery	9 (34.6)	12 (14.1)	3.22 (1.17-8.87)	0.04**
Mechanical ventilation	25 (92.6)	68 (80.0)	2.12 (0.67-14.51)	0.15
Urinary catheter	27 (100)	79 (92.9)	...	1.00
Central venous catheter	23 (85.2)	63 (74.1)	2.01 (0.63-6.45)	0.24
Parenteral nutrition	3 (11.1)	5 (5.9)	2.00 (0.35-8.98)	0.7
Nasogastric/Nasoenteral tube	24 (88.9)	73 (85.9)	1.31 (0.34-5.06)	0.4
Pressure ulcer	19 (70.4)	41 (48.2)	2.55 (1.01-6.46)	0.045**
<i>Use of antimicrobials</i>				
Oxacillin	10 (37.0)	13 (15.3)	3.26 (1.22-8.67)	0.02**
Ampicillin	2 (7.4)	2 (1.4)	3.32 (0.45-24.79)	0.25
Ampicillin-sulbactam	0	1 (1.2)	...	1.00
Amoxicillin-clavulanate	5 (18.5)	30 (35.3)	0.42 (0.14-1.21)	0.1
Piperacillin-tazobactam	6 (22.2)	9 (10.6)	2.41 (0.77-7.55)	0.19
Cephazolin	0	3 (3.5)	...	0.32
Cephalotin	1 (3.7)	3 (3.5)	1.05 (0.11-10.55)	1.00
Ceftriaxone	2 (7.4)	5 (5.9)	1.28 (0.23-7.01)	0.67
Ceftazidime	2 (7.4)	3 (3.5)	2.18 (0.35-13.83)	0.59
Cefipime	19 (70.4)	30 (35.3)	4.36 (1.70-11.13)	0.001**
Imipenem	6 (22.2)	6 (7.1)	3.76 (1.10-12.87)	0.04**
Meropenem	2 (7.4)	2 (2.4)	3.32 (0.45-24.79)	0.25
Ciprofloxacin	10 (37.0)	8 (9.4)	5.67 (1.95-16.47)	0.002**
Levofloxacin	3 (11.1)	28 (32.9)	0.25 (0.07-0.92)	0.03**
Amikacin	1 (3.7)	4 (4.7)	0.78 (0.08-7.28)	1
Gentamycin	1 (3.7)	2 (2.4)	1.59 (0.14-18.32)	0.57
Clindamycin	6 (22.2)	11 (12.9)	1.92 (0.64-5.81)	0.35
Metronidazole	8 (29.6)	16 (18.8)	1.82 (0.68-4.88)	0.23
Vancomycin	11 (40.7)	11 (12.9)	4.02 (1.71-12.51)	0.002**

te. Data are in number(%), unless otherwise specified.

OR, Odds Ratio; CI, Confidence Interval; APACHE, Acute Physiology And Chronic Health Evaluation; ICU, Intensive Care Unit. \*Admissions in the past year. \*\* Statistically significant.

**Table 2.** Univariate analysis of risk factors for nasopharyngeal colonization with Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA).

Risk Factors	Cases (n=10)	Controls (n=85)	OR (95%CI)	p
<i>Demographic data</i>				
Male sex	5 (50.0)	50 (58.8)	0.70 (0.188-2.60)	0.74
Age (mean)	50.8	65.1		0.008**
<i>Comorbidities</i>				
Cardiac disease	3 (30.0)	15 (21.8)	1.60 (0.38-6.80)	0.69
Pulmonary disease	1 (10.0)	27 (32.1)	0.24 (0.03-1.95)	0.27
Renal disease	0	7 (8.2)	...	1.00
Liver disease	0	13 (15.3)	...	0.35
Diabetes mellitus	2 (20.0)	28 (32.9)	0.51 (0.10-2.56)	0.5
Central Nervous System disease	8 (80.0)	33 (38.8)	6.30 (1.26-31.52)	0.02**
Solid malignancy	0	9 (10.6)	...	0.59
Aids	2 (20.0)	5 (5.9)	4.00 (0.67-24.05)	0.16
Trauma	0	2 (2.4)	...	1.00
APACHE II (median)	17.5	23	...	0.047**
<i>Data related to admission</i>				
Previous admission to our hospital*	3 (30.0)	44 (51.8)	0.40 (0.10-1.65)	0.32
Previous admission to other hospitals*	1 (10.0)	31 (36.5)	0.19 (0.02-1.60)	0.16
Time in the hospital (median)	11	11	...	0.82
Time in the ICU (median)	9.5	8	...	0.94
<i>Immunity</i>				
Neutropenia	0	0	...	...
Use of steroids	3 (30.0)	39 (45.9)	0.51 (0.12-2.09)	0.5
Use of other immune suppressing drugs	0	0	...	...
<i>Procedures and invasive devices</i>				
Surgery	0	12 (14.1)	...	0.35
Mechanical ventilation	9 (90.0)	68 (80.0)	2.25 (0.27-19.00)	0.68
Urinary catheter	10 (100)	79 (92.9)	...	1.00
Central venous catheter	5 (50.0)	63 (74.1)	0.35 (0.09-1.32)	0.14
Parenteral nutrition	0	5 (5.9)	...	1.00
Nasogastric/Nasoenteral tube	9 (90.0)	73 (85.9)	1.48 (0.17-12.76)	1.00
Pressure ulcer	3 (30.0)	41 (48.2)	.46 (0.11-1.90)	0.33
<i>Use of antimicrobials</i>				
Oxacillin	0	13 (15.3)	...	0.35
Ampicillin	0	2 (1.4)	...	1.00
Ampicillin-sulbactam	0	1 (1.2)	...	1.00
Amoxicillin-clavulanate	2 (20.0)	30 (35.3)	.46 (0.00-2.30)	0.49
Piperacillin-tazobactam	1 (10.0)	9 (10.6)	0.94 (0.11-8.29)	1.00
Cephazolin	0	3 (3.5)	...	1.00
Cephalotin	0	3 (3.5)	...	1.00
Ceftriaxone	1 (10.0)	5 (5.9)	1.78 (0.19-16.95)	0.5
Ceftazidime	0	3 (3.5)	...	1.00
Cefipime	3 (30.0)	30 (35.3)	0.79 (0.19-3.27)	1.00
Imipenem	0	6 (7.1)	...	1.00
Meropenem	0	2 (2.4)	...	1.00
Ciprofloxacin	1 (10.0)	8 (9.4)	1.07(0.12-9.56)	1.00
Levofloxacin	1 (10.0)	28 (32.9)	0.23 (0.03-1.86)	0.27
Amikacin	0	4 (4.7)	...	1.00
Gentamycin	0	2 (2.4)	...	1.00
Clindamycin	1 (10.0)	11 (12.9)	0.25 (0.09-6.49)	1.00
Metronidazole	1 (10.0)	16 (18.8)	0.48 (0.06-4.06)	0.69
Vancomycin	2 (20.0)	11 (12.9)	1.68 (0.32-8.97)	0.62

Note. Data are in number(%), unless otherwise specified.

OR, Odds Ratio; CI, Confidence Interval; APACHE, Acute Physiology And Chronic Health Evaluation; ICU, Intensive Care Unit. \*Admissions in the past year. \*\* Statistically significant.

**Table 3.** Multivariable analysis of risk factors for nasopharyngeal colonization with Methicillin-resistant (MRSA) and Methicillin-susceptible (MSSA) *Staphylococcus aureus*.

<b>Risk factor</b>	<b>OR (95%CI)</b>	<b>P</b>
<i>MRSA</i>		
Ciprofloxacin	5.05 (1.38-21.90)	0.015
Levofloxacin	0.08 (0.01-0.55)	0.01
Time in the ICU	1.12 (1.06-1.19)	<0.001
<i>MSSA</i>		
Age	0.94 (0.90-0.99)	0.01
Central Nervous System disease	7.45 (1.33-41.74)	0.02

Note. OR, Odds Ratio; CI, Confidence Interval; ICU, Intensive Care Unit.



**ARTIGO 2:****Title Page**

*Title of the article:* **Risk factors for acquisition of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among patients from a burn unit in Brazil.**

*Authors' names:* Taylor Endrigo Toscano Olivo, MD (1,2); **Edson Carvalho de Melo**, MD (1,2); Cristiane Rocha, MD (1); Carlos Magno C. B. Fortaleza, MD, PhD (1,2).

*Authors' initials:* Olivo TE; Melo EC; Rocha C; Fortaleza CM.

*Authors' affiliations:*

(3) Hospital Estadual Bauru (Bauru State Hospital), Bauru City, São Paulo State, Brazil.

(4) Faculdade de Medicina de Botucatu (Botucatu School of Medicine), Universidade Estadual Paulista (UNESP). Botucatu City, São Paulo State, Brazil.

*Institution to which the work should be attributed:*

Departamento de Doenças Tropicais

Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (UNESP).

Botucatu, Brazil.

*Corresponding author:*

Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza, M.D., Ph.D

Departamento de Doenças Tropicais

Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (UNESP).

Distrito de Rubião Júnior

Botucatu city, São Paulo State, Brazil. CEP: 18618-970.

Phone: 55-14-3811 6212; Fax: 55-14-3815 9898. e-mail: cmfortaleza@uol.com.br

**ABSTRACT**

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is an important agent of colonization and infection in burn units. In order to identify risk factors for MRSA acquisition in a Brazilian burn unit, we performed two retrospective studies. In the first (“cohort” study), 175 patients who were not colonized with MRSA on admission were followed to assess risk factors for MRSA acquisition. In the second (“case-case-control” study), 143 individuals from the previous study who were negative for both MRSA and Methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA) on admission were followed. Case-control studies were performed to investigate risk factors for MRSA and MSSA acquisition. MRSA and MSSA were recovered from 75 and 23 patients, respectively. In the “cohort” study, only the number of wound excisions (Odds Ratio [OR]=1.55, 95% Confidence Interval [CI]=1.21-1.98,  $P=.001$ ) was associated to MRSA acquisition. In the “case-case-control” study, burn involving head (OR=3.43, 95%CI=1.50-7.81,  $P=.003$ ) and the number of wound excisions (OR=1.83, 95%CI=1.27-2.63,  $P=.001$ ) were significant risk factors for MRSA. Patients who acquired MSSA were less likely to have a burn involving perineum (OR=0.16, 95%CI=0.03-0.75,  $P=.02$ ). In conclusion, the acquisition of MRSA was related to the site of the burn and to surgical manipulation of tissues, but not to the use of antimicrobials.

**KEY WORDS:** Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*; MRSA ;Burn wound infections;Colonization.

## **Text**

### **1. Introduction**

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) emerged as a important pathogen in burn units in the late 1970s [1]. Since then, there was an increasing report of MRSA outbreaks in those settings [2-4]. Also, this pathogen has reached endemic levels worldwide [5,6]. The relevance of MRSA colonization in burn patients is a matter of concern. Staphylococcal colonization may progress to infection, with a significant impact on morbidity and mortality [7]. It has been suggested that inpatients colonized with MRSA are more predisposed to development of infection than those carrying Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) [8]. One study found that 14% of MRSA colonized burned patients developed bacteremia [1].

Early articles have focused on risk factors for acquisition of MRSA [9,10]. However, methodological issues limit the interpretation of their findings. Those issues have been emphasized in the literature: relying only in results from univariate analysis; inadequate control group selection; no adjustment for severity-of-illness or length of exposure to hospital environment [11,12]; no assessment of colonization pressure [13].

The objective of our study was to assess risk factors for acquisition of MRSA in a burn unit in which this pathogen maintains hyperendemic levels. We tried to overcome biases by following current methodological recommendations [11].

## 2. Methods

### 2.1. Setting

The study was conducted in Hospital Estadual Bauru (HEB), a 280-bed hospital in Bauru city, Brazil. It is one of the teaching hospitals from Faculdade de Medicina de Botucatu (Botucatu School of Medicine). The hospital has a burn unit with 16 beds. The unit comprises two wards: one for non-critical patients (16 beds, with single and three-patients rooms) and one Intensive Care Unit (4 beds, single rooms). There is also an operating room for small procedures inside the burn unit. The unit was opened in 2003.

Patients admitted to the burn unit are routinely screened for MRSA through surveillance cultures (nasopharyngeal, oropharyngeal, axilar, perineal and burn wound swabs) at the moment of admission and weekly thereafter.

### 2.2. Study design

Risk factors for the acquisition of MRSA were assessed by two different approaches: one cohort and one case-case-control study. Both studies had a retrospective design and enrolled patients admitted from December 2004 through December 2006.

#### 2.2.1. Cohort study

In the first study, a cohort of patients who were negative for MRSA at the moment of admission was followed. A “case” was defined as any patient who presented MRSA on surveillance or clinical culture during hospital stay. All patients who remained negative for MRSA during hospital stay were selected as “control” subjects. Exclusion criteria were: absence of surveillance cultures collected on

admission; a positive culture for MRSA before or in the first 48 hours after admission; a hospital stay of less than 48 hours.

### *2.2.2. Case-case-control study*

The second study used a case-case control design, as described by Kaye et al [14]. Briefly, two case-control studies were performed within the cohort of patients who were negative for both MRSA and MSSA on admission. Patients who presented MRSA on cultures formed the “case” group for the first case-control study. In the second, cases were patients who had positive cultures for MSSA. In both studies, patients who remained negative for both MRSA and MSSA during hospital stay were selected for the control group. Exclusion criteria were similar to those applied in the cohort study, except that we also excluded patients who presented positive cultures for MSSA before or in the first 48 hours after admission.

### *2.3. Investigation of Risk Factors*

Patient data were recovered from medical and laboratory files. Data included the type (direct exposure to flame, scalding, abrasion, chemical or electrical burn), depth and extent of burn wound. The latter was estimated using the Lund and Browder chart [15]. We recorded previous admission to other hospital during present illness (i.e., transfer from other hospital to our burn unit) and any other hospital admission during the past year. Underlying conditions were defined according to guidelines in *International Classification of Diseases* [16]. We assessed the burden of comorbid conditions using the Charlson Comorbidity Index [17]. Previous history of smoking, alcoholism (defined as self report of daily consumption of alcoholic beverages) and illicit drug use was also recorded.

“Time at risk” was defined as the number of days from hospital admission up to the isolation of positive cultures (for MRSA in the cohort study, for MRSA or MSSA in the case-case-control study) for case patients. For control subjects, “time at risk” corresponded to the total number of days of hospitalization. Several data were collected during time at risk. Data included present or past ICU stay; performance of surgical procedures; use of invasive devices; use of steroids or immune-suppressing drugs. Antimicrobial use was considered a risk factor when the drug was administered for at least 48 hours. We also recorded the number of patients carrying MRSA to whom each case patient or control subject was exposed during “time at risk”.

### *2.4. Statistical analysis*

Data were analysed using Epi Info software for Windows, version 3.2 (Centers for Disease Control and Prevention) and SPSS software version 15.0 (SPSS inc.). Variables were submitted to univariate analysis. Dichotomous variables were analyzed using Chi-square or Fischer’s Exact Test. Continuous variables were analyzed using Student’s T Test or the Mann-Whitney U Test.

Variables that reached a P value of less than 0.2 were included in logistic regression models. We used a stepwise forward approach. Variables were gradually inserted in the model according to their effect. A P value of 0.05 was set as a limit for inclusion or removal from the model. It was also set as the final limit for statistical significance.

### *2.5. Ethical issues*

This work is in full compliance with ethical principles and with the guidelines from the scientific committee from Hospital Estadual Bauru (Bauru city, Brazil). It was also fully approved by the ethics committee related to the institution in which it was performed.

## **3. Results**

### *3.1. Incidence of MRSA and MSSA*

During the study period, 199 patients were admitted to the burn unit. We excluded 22 patients from our studies for having MRSA recovered from cultures collected on the moment of admission to our hospital. Two other patients were excluded for not having any surveillance culture collected in the first 48 hours of admission.

Seventy-five patients acquired MRSA during their stay in the burn unit. The incidence rate was 10.8 per 1,000 patients-day. All patients harboring MRSA had positive surveillance cultures. The most frequent sites of isolation were: burn wound (72.0%), nasopharynx (65.3%), oropharynx (10.7%), axile (4.0%) and perineum (4.0%). Eighteen patients (24.0%) had MRSA recovered from clinical cultures: nine of them previously to its recovery from surveillance cultures. Of those, five had positive cultures from Central Venous Catheter specimens and four had positive blood cultures.

On the other hand, only 23 patients had hospital-acquired MSSA (3.31 per 1,000 patients-day). Site of isolation were: burn wound (82.6%), nasopharynx (65.2%), oropharynx (17.4%) and axile swabs (17.4%). One patient had a previous positive urine culture. Of note, 32 patients had positive cultures for MSSA on admission. These patients were included in the “cohort” study, but not in the “case-case-control” study.

### 3.2. “Cohort study”

A total number of 175 patients who were negative for MRSA on admission were considered eligible for the cohort study. As previously cited, 75 patients developed MRSA positive cultures and were selected as cases. The other 100 patients formed the control group. Although several risk factors were identified in univariate analysis (table 1), only the number of burn wound excisions was identified as significant risk factor on multivariable analysis (table 4).

### 3.3. “Case-case-control” study

The 143 patients who were negative for both MRSA and MSSA on admission formed the cohort in which the case-case-control study was nested. The two case-control studies enrolled as cases the 75 patients who turned positive for MRSA and the 23 patients who developed MSSA-positive cultures, respectively. Those were compared to the 45 control subjects.

Univariate analysis for MRSA and MSSA are shown in tables 2 and 3, respectively. On multivariable analysis (table 4), burns involving the head and the number of burn wound excisions were significant risk factors for MRSA. No risk factor for MSSA was identified. However, burn wound involving perineum was negatively associated with the recovery of MSSA.



#### 4. Discussion

Burn units have been recognized not only as wards with increased transmission of MRSA, but also as a reservoir for these bacteria, contributing for their dissemination all through the hospital [1]. However, few studies address specific factors that predispose burned patients to the acquisition of MRSA.

Some authors make assumptions about risk factors for MRSA acquisition on the basis of analysis of case series, often accompanied by molecular strain typing [4,18,19]. The lack of control group makes it hard to validate their inferences. Others, based on univariate analysis of individual or aggregated data, report some characteristics associated with greater propensity of acquiring MRSA: increasing age, burn extent, longer hospital stay, and previous use of antimicrobials [10,20]. Those results are somehow similar to findings from studies performed in medical-surgical Intensive Care Units. In these studies, length-of-stay, severity-of-illness, and the use of antimicrobials (specially Cephalosporins and Quinolones) have been identified as predictors of MRSA acquisition [22-25]. Though valuable, some studies are limited for inappropriate control group selection and/or lack of multivariable analysis [11].

In order to avoid as many methodological flaws as possible, we assessed a great number of potential risk factors, including patients and burn wound characteristics, exposure to MRSA carriers, procedures, invasive devices and antimicrobial therapy. We also attempted to avoid confounding by length-of-stay or severity-of-illness, including "time at risk", the Charlson comorbidity index and burn extent in multivariable models. This might have strengthened our results [11].

The number of burn excision procedures was a risk factor for MRSA in both cohort and case-case-control studies. This finding has several possible interpretations, implying greater severity, time at risk and burn wound manipulation. Interestingly, burns involving the head were related to a greater risk of MRSA acquisition in the case-case-control study.

The rationale behind the case-case-control studies is that variables that are identified as risk factors for both the susceptible and the resistant strains are not true predictors of resistance. In our study, no such result was found. Indeed, we identified burns involving perineum as a protective factor for MSSA. Both MRSA and MSSA were rarely recovered from perineal swabs. We can hypothesize that competitive colonization by enterobacteria could explain this finding.

Healthcare-acquired MRSA is endemic in most Brazilian hospitals [26]. A recent paper outlined the importance of *S. aureus* – either Methicillin-susceptible or resistant - in the etiology of bloodstream and wound infections in a Brazilian burn unit [27]. In our unit, MRSA maintained hyperendemic levels during all the study period. It kept spreading despite all measures implemented, which included contact precautions for every patient with MRSA-positive culture and environmental control. This worrisome finding may be related to understaffing – a well-described cause of failure of MRSA control measures [28,29]. As it happens in most developing countries, understaffing is a great problem in Brazilian hospitals. Our findings also point out to the importance of surgical procedures. In our hospital, most of them were performed in a small operating room placed inside the unit. Though our plastic surgeons were generally experienced, we can not rule out the operating room as a possible source of MRSA cross-transmission.

Finally, more patients acquired MRSA than MSSA in our unit. The greater contagiousness of MRSA as compared to MSSA in hospital settings has been previously reported [30]. That may be due to the pressure of antimicrobial use and also to other adaptative factors that are less well understood. However, our study did not identify antimicrobials as risk factors for MRSA acquisition. This is with concordance with recent reports [31].

In conclusion, our findings suggest that infection control efforts should be directed to the rapid identification and strict adherence to isolation precautions and infection control practices, specially those related to the performance of surgical

procedures. Those measures could not only impact on the incidence of MRSA in the burn unit, but also on the dissemination for other hospital wards.

## **References**

- [1] Boyce JM, White RL, Causey WA, Lockwood WR. Burn units as a source of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. JAMA 1983; 249: 2803-2807.
- [2] Boyce JM, Landry M, Deetz TR, DuPont HL. Epidemiologic studies of an outbreak of nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. Infect Control 1981; 2:110-6.
- [3] Embil JM, McLeod JA, Al-Barrak AM, Thompson GM, Aoki FY, Witwicki EJ et al. An outbreak of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* on a burn unit: potential role of contaminated hydrotherapy equipment. Burns 2001; 27: 681-8.
- [4] Rashid A, Solomon LK, Lewis HG, Khan K, Outbreak of epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a regional burns unit: management and implications. Burns 2006; 32: 452-7.
- [5] Cook, N. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* versus the burn patient. Burns 1998; 24: 91-8.
- [6] Krishnan PU, Miles K, Shetty N. Strain relatedness of endemic MRSA isolates in a burns unit in South India--a five year study. J Hosp Infect. 2002; 52:181-4.
- [7] Davis KA, Stewart JJ, Crouch HK, Florez CE, Hospenthal DR. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) nares colonization at hospital admission and its effect on subsequent MRSA infection. Clin Infect Dis 2004; 39: 776-82.
- [8] Muder RR, Brennen C, Wagener MM, Vickers RM, Rihs JD, Hancock GA et al. Methicillin-resistant staphylococcal colonization and infection in a long-term care facility. Ann Intern Med.1991; 114: 107-12.

- [9] Arnow PM, Allyn PA, Nichols EM, Hill DL, Pezzlo M, Bartlett RH. Control of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a Burn Unit: Role of Nurse Staffing. *The Journal of Trauma* 1982; 22: 954-9.
- [10] Bagdonas R, Tamelis A, Rimdeika R. *Staphylococcus aureus* infection in the surgery of burns. *Medicina (Kaunas)* 2003; 11: 1078-1081.
- [11] Harris AD, Karchmer TB, Carmeli Y, Samore MH. Methodological principles of case-control studies that analyzed risk factors for antibiotic resistance: a systematic review. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 1055-1061.
- [12] Ernst EJ, Raley J, Herwaldt LA, Diekema DJ. Importance of control group selection for evaluating antimicrobial use as a risk factor for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005; 26: 634-7.
- [13] Merrer J, Santoli F, Vecchi CA, Tran B, Jonghe B, Outin H. "Colonization pressure" and risk of acquisition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a medical Intensive Care Unit. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2000; 21: 718-23.
- [14] Kaye KS, Harris AD, Samore M, Carmeli Y. The case-case-control study design: addressing the limitations of risk factor studies for antimicrobial resistance. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005; 26:346-51.
- [15] Miller SF, Finley RK, Waltman M, Lincks J. Burn size estimate reliability: a study. *J Burn Care Rehabil* 1991; 12: 546-59.
- [16] World Health Organization. International Classification of Diseases. tenth revision, 2005 update. Geneva, Switzerland: WHO; 2005.
- [17] Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis* 1987; 40: 373-383.
- [18] Sheridan RL, Weber J, Benjamin J, Pasternack MS, Tompkins RG. Control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a pediatric burn unit. *Am J Infect Control* 1994; 22: 340-5.

- [19] Fuchs PC, Kopp J, Häfner H, Kleiner U, Pallua N. MRSA – retrospective analysis of an outbreak in the burn center Aachen. *Burns* 2002; 28: 575-8.
- [20] Ransjö U, Malm M, Hambræus A, Artursson G, Hedlund A. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in two burn units: clinical significance and epidemiological control. *J Hosp Infect* 1989; 13: 355-65.
- [21] Law MR, Gill ON. Hospital acquired infection with methicillin-resistant and methicillin-sensitive staphylococci. *Epidemiol Infect* 1988; 101: 623-9.
- [22] Marshall C, Harrington G, Wolfe R, Fairley CK, Wesselingh S, Spelman D. Acquisition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a large intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2003; 24: 322-6.
- [23] Thompson DS. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a general intensive care unit. *J R Soc Med* 2004; 97: 521-6.
- [24] Ibelings MM, Bruining HA. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: acquisition and risk of death in patients in the intensive care unit. *Eur J Surg* 1998; 164: 411-8.
- [25] Hill DA, Herford T, Parrat D. Antibiotic usage and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an analysis. *J Antimicrob Chemother* 1998; 22: 377-84.
- [26] Oliveira GA, Faria JB, Levy CE, Mamizuka EM. Characterization of the Brazilian endemic clone of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from hospitals throughout Brazil. *Braz J Infect Dis* 2001; 5: 163-70.
- [27] Macedo JL, Santos JB. Nosocomial infections in a Brazilian burn unit. *Burns* 2006; 32: 477-81.
- [28] Vicca AF. Nursing staff workload as a determinant of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* spread in an adult intensive therapy unit. *J Hosp Infect* 1999; 43:109-13.
- [29] Clements A, Halton K, Graves N, Pettitt A, Morton A, Looke D et al. Overcrowding and understaffing in modern health-care systems: key determinants in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* transmission. *Lancet Infect Dis* 2008; 8:427-34.

- [30] Vriens MR, Fluit C, Troelstra A, Verhoef J, van der Werken C. Is methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* more contagious than methicillin-susceptible *S. aureus* in a surgical Intensive Care Unit? *Infect Control Hosp Epidemiol* 2002; 23: 491-4.
- [31] Muto CA, Jernigan JA, Ostrowsky BE, Richet HM, Jarvis WR, Boyce JM et al. SHEA guideline for preventing nosocomial transmission of multidrug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and enterococcus. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2003; 24:362-86.

**TABLES**

Table 1. Results from univariate analysis of risk factors for MRSA acquisition (“cohort” study).

Risk factors	Cases (n = 75)	Controls (n = 100)	OR (95% CI)	P
<b>Demographic characteristic</b>				
Age, median (range)	26 (1-77)	22.5 (1-90)	...	0.18
Male sex	48 (64)	73 (73)	0.66 (0.35-1.25)	0.2
<b>Diagnosis and Comorbidities</b>				
Cardiac disease	2 (2.7)	2 (2)	1.34 (0.19-9.76)	1
Pulmonary disease	8 (10.7)	1 (1)	11.82 (1.45-96.71)	.005*
Diabetes mellitus	3 (4)	3 (3)	1.35 (0.26-6.87)	1
Renal disease	0	1 (1)	...	...
Liver disease	2 (2.7)	3 (3)	0.89 (0.14-5.44)	1
CNS disease	3 (4)	3 (3)	1.35 (0.26-6.87)	1
Malignancy (solid)	1 (1.3)	1 (1)	1.34 (0.08-21.74)	1
Alcohol abuse	16 (21.3)	9 (9)	2.74 (1.14-6.61)	.02*
Drug abuse	2 (2.7)	5 (5)	0.52 (0.1-2.76)	0.7
Tobacco use	21 (28)	16 (16)	2.04 (0.98-4.26)	0.05
Asthma	2 (2.7)	2 (2)	1.34 (0.19-9.76)	1
Arterial hypertension	12 (16)	10 (10)	1.71 (0.70-4.21)	0.24
Charlson Comorbidity Index, median (range)	0 (0-3)	0 (0-3)	...	0.16
<b>Hospitalization data</b>				
Time at risk, median days (range)	11 (2-70)	13 (3-55)	...	0.14
Hospital admission(s) during past year	1 (1.3)	2 (2)	0.66 (0.06-7.44)	1
Present stay in ICU	27 (36)	17 (17)	2.75 (1.36-5.55)	.004*
Transfer from another hospital	18 (24)	17 (17)	1.54 (0.73-3.24)	0.25
Number of contact patients carrying MRSA, median (range)	5 (0-15)	5 (1-13)	...	0.61
Steroid use	8 (10.7)	2 (2)	5.85 (1.21-28.42)	.02*
Blood-derivates transfusion	35 (46.7)	30 (30)	2.04 (1.09-3.81)	.02*
Hyperglycemia	22 (29.3)	17 (17)	2.03 (0.99-4.17)	0.05
<b>Burn wound characteristics</b>				
Time from burn to MRSA recovery or discharge, median days (range)	12 (3-70)	14.5 (3-62)	...	0.18
Percentage of body surface involved, median (range)	26 (3-96)	12 (0.5-88.5)	...	<.001*
Burn by direct exposure to flame	58 (77.3)	55 (55)	2.79 (1.43-5.45)	.002*
Scalding	10 (13.3)	33 (33)	0.31 (0.14-0.69)	.003*
Third degree burn	36 (48)	26 (26)	2.63 (1.39-4.96)	.003*
Head involvement	50 (66.7)	55 (55)	1.64 (0.88-3.05)	0.12
Upper limbs involvement	67 (89.3)	71 (71)	3.42 (1.46-8.01)	.003*
Trunk involvement	64 (85.3)	65 (65)	3.13 (1.47-6.70)	.002*
Perineal involvement	16 (21.3)	26 (26)	0.77 (0.38-1.57)	0.47
Lower limbs involvement	50 (66.7)	58 (58)	1.45 (0.78-2.70)	0.24
<b>Procedures</b>				
Number of burn wound excisions, median (range)	2 (0-5)	1 (0-7)	...	<.001*
Fasciotomy	8 (10.7)	5 (5)	2.27 (0.71-7.24)	0.16
Skin grafting	14 (18.7)	22 (22)	0.81 (0.39-1.72)	0.59
Amputation	2 (2.7)	3 (3)	0.89 (0.14-5.44)	1
Mechanical ventilation	17 (22.7)	17 (17)	1.43 (0.68-3.03)	0.35
Central venous catheter	30 (40)	19 (19)	2.84 (1.44-5.61)	.002*
Venous dissection	6 (8)	3 (3)	2.81 (0.68-11.63)	0.18
Enteral tube feeding	19 (25.3)	16 (16)	1.78 (0.85-3.76)	0.13
Gastric tube feeding	3 (4)	2 (2)	2.04 (0.33-12.54)	0.65
Indwelling urethral catheter	44 (58.7)	27 (27)	3.84 (2.03-7.26)	<.001*
Chest tube	0	2 (2)	...	...
<b>Antimicrobial use</b>				
Oxacillin	44 (58.7)	38 (38)	2.32 (1.26-4.27)	.007*
Amoxicillin-clavulanate	15 (20)	13 (13)	1.67 (0.74-3.77)	0.21
Piperacillin-tazobactam	3 (4)	1 (1)	4.13 (0.42-40.47)	0.32
Cefalotin	2 (2.7)	3 (3)	0.89 (0.14-5.44)	1
Ceftazidime	1 (1.3)	3 (3)	0.44 (0.05-4.29)	0.64
Cefepime	26 (34.7)	17 (17)	2.59 (1.28-5.25)	.007*
Clindamycin	6 (8)	4 (4)	2.09 (0.57-7.68)	0.33
Ciprofloxacin	19 (25.3)	12 (12)	2.49 (1.12-5.52)	.02*
Levofloxacin	2 (2.7)	1 (1)	2.71 (0.24-30.49)	0.58
Gentamycin	6 (8)	12 (12)	0.64 (0.23-1.79)	0.39
Amikacin	5 (6.7)	3 (3)	2.31 (0.53-9.98)	0.29
Imipenem	4 (5.3)	3 (3)	1.82 (0.40-8.40)	0.46
Vancomycin	7 (9.3)	4 (4)	2.47 (0.70-8.77)	0.21
Metronidazole	2 (2.7)	2 (2)	1.34 (0.19-9.76)	1

Data are in number (%), except when specified.

\* Statistically significant.

MRSA, Methicillin-resistant Staphylococcus aureus; CNS, Central Nervous System; ICU, Intensive Care Unit.

**Table 2. Results from univariate analysis of risk factors for MRSA acquisition (“case-case control” study).**

<b>Risk factors</b>	<b>Cases (n = 75)</b>	<b>Controls (n = 45)</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>
<b>Demographic characteristic</b>				
Age, median (range)	26 (1-77)	19 (1-68)	...	0.05
Male sex	48 (64)	34 (75.6)	0.58 (0.25-1.32)	0.19
<b>Diagnosis and Comorbidities</b>				
Cardiac disease	2 (2.7)	0	...	0.53
Pulmonary disease	8 (10.7)	1 (2.2)	5.25 (0.64-43.48)	0.15
Diabetes mellitus	3 (4)	1 (2.2)	1.83 (0.19-18.18)	1
Renal disease	0	0	...	...
Liver disease	2 (2.7)	1 (2.2)	1.21 (0.11-13.69)	1
CNS disease	3 (4)	3 (6.7)	0.58 (0.11-3.02)	0.67
Malignancy (solid)	1 (1.3)	0	...	1
Alcohol abuse	16 (21.3)	6 (13.3)	1.76 (0.64-4.90)	0.27
Drug use	2 (2.7)	3 (6.7)	0.38 (0.06-2.39)	0.36
Tobacco use	21 (28)	8 (17.8)	1.80 (0.72-4.49)	0.21
Asthma	2 (2.7)	2 (4.4)	0.59 (0.08-4.33)	0.63
Arterial hypertension	12 (16)	3 (6.7)	2.67 (0.71-10.02)	0.16
Charlson Comorbidity Index, median (range)	0 (0-3)	0 (0-3)	...	0.16
<b>Hospitalization data</b>				
Time at risk, median days (range)	11 (2-70)	12 (3-55)	...	0.47
Hospital admission(s) during past year	1 (1.3)	0	...	1
Present stay in ICU	27 (36)	7 (15.6)	3.05 (1.20-7.77)	0.02*
Transfer from another hospital	18 (24)	11 (24.4)	0.98 (0.41-2.31)	0.96
Number of contact patients carrying MRSA, median (range)	5 (0-15)	4 (2-10)	...	0.19
Steroid use	8 (10.7)	1 (2.2)	5.25 (0.64-43.48)	0.15
Blood-derivates transfusion	35 (46.7)	18 (40)	1.31 (0.62-2.78)	0.48
Hyperglycemia	22 (29.3)	7 (15.6)	2.25 (0.87-5.81)	0.09
<b>Burn wound characteristics</b>				
Time from burn to MRSA recovery or discharge, median days(range)	12 (3-70)	13 (3-62)	...	0.55
Percentage of body surface involved, median (range)	26 (3-96)	11.5 (1.5-88.5)	...	<.001*
Burn by direct exposure to flame	58 (77.3)	21 (46.7)	3.90 (1.76-8.65)	.001*
Scalding	10 (13.3)	19 (42.2)	0.21 (0.09-0.51)	<.001*
Third degree burn	36 (48)	15 (33.3)	1.85 (0.86-3.98)	0.12
Head involvement	50 (66.7)	19 (42.2)	2.74 (1.28-5.86)	.01*
Upper limbs involvement	67 (89.3)	30 (66.7)	4.19 (1.60-10.94)	.002*
Trunk involvement	64 (85.3)	30 (66.7)	2.91 (1.19-7.09)	.02*
Perineal involvement	16 (21.3)	17 (37.8)	0.45 (0.20-1.01)	0.05
Lower limbs involvement	50 (66.7)	29 (64.4)	1.1 (0.51-2.40)	0.8
<b>Procedures</b>				
Number of burn wound excisions (range)	2 (0-5)	1 (0-5)	...	.004*
Fasciotomy	8 (10.7)	4 (8.9)	1.22 (0.35-4.32)	1
Skin grafting	14 (18.7)	9 (20)	0.92 (0.36-2.33)	0.86
Amputation	2 (2.7)	3 (6.7)	0.38 (0.06-2.39)	0.36
Mechanical ventilation	17 (22.7)	8 (17.8)	1.36 (0.53-3.46)	0.52
Central venous catheter	30 (40)	11 (24.4)	2.06 (0.91-4.69)	0.08
Venous dissection	6 (8)	1 (2.2)	3.83 (0.45-32.86)	0.25
Enteral tube feeding	19 (25.3)	7 (15.6)	1.84 (0.71-4.81)	0.21
Gastric tube feeding	3 (4)	1 (2.2)	1.83 (0.19-18.18)	1
Indwelling urethral catheter	44 (58.7)	15 (33.3)	2.84 (1.31-6.14)	.01*
Chest tube	0	2 (4.4)	...	0.14
<b>Antimicrobial use</b>				
Oxacillin	44 (58.7)	17 (37.8)	2.34 (1.10-4.99)	.03*
Amoxicillin-clavulanate	15 (20)	6 (13.3)	1.63 (0.58-4.55)	0.35
Piperacillin-tazobactam	3 (4)	1 (2.2)	1.83 (0.19-18.18)	1
Cefalotin	2 (2.7)	1 (2.2)	1.21 (0.11-13.69)	1
Ceftazidime	1 (1.3)	0	...	1
Cefepime	26 (34.7)	9 (20)	2.12 (0.89-5.87)	0.09
Clindamycin	6 (8)	1 (2.2)	3.83 (0.45-32.86)	0.25
Ciprofloxacin	19 (25.3)	4 (8.9)	3.48 (1.10-10.99)	.03*
Levofloxacin	2 (2.7)	1 (2.2)	1.21 (0.11-13.69)	1
Gentamycin	6 (8)	4 (8.9)	0.89 (0.24-3.35)	1
Amikacin	5 (6.7)	3 (6.7)	1.0 (0.23-4.40)	1
Imipenem	4 (5.3)	1 (2.2)	2.48 (0.27-22.90)	0.65
Vancomycin	7 (9.3)	3 (6.7)	1.44 (0.35-5.88)	0.74
Metronidazole	2 (2.7)	1 (2.2)	1.21 (0.11-13.69)	1

Data are in number (%), except when specified.

\* Statistically significant.

MRSA, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; CNS, Central Nervous System; ICU, Intensive Care Unit.



**Table 3. Results from univariate analysis of risk factors for MSSA acquisition (“case-case control” study).**

Risk factors	Cases (n = 23)	Controls (n = 45)	OR (95% CI)	P
<b>Demographic characteristic</b>				
Age, median (range)	27 (1-78)	19 (1-68)	...	0.4
Male sex	19 (82.6)	34 (75.6)	1.54 (0.43-5.50)	0.51
<b>Diagnosis and Comorbidities</b>				
Cardiac disease	2 (8.7)	0	...	0.11
Pulmonary disease	0	1 (2.2)	...	1
Diabetes mellitus	1 (4.3)	1 (2.2)	2.00 (0.12-33.51)	1
Renal disease	1 (4.3)	0	...	0.34
Liver disease	1 (4.3)	1 (2.2)	2.00 (0.12-33.51)	1
CNS disease	0	3 (6.7)	...	0.55
Malignancy (solid)	0	0	...	...
Alcohol abuse	3 (13)	6 (13.3)	0.98 (0.22-4.31)	1
Drug abuse	0	3 (6.7)	...	0.55
Tobacco use	5 (21.7)	8 (17.8)	1.29 (0.37-4.49)	0.75
Asthma	0	2 (4.4)	..	0.55
Arterial hypertension	3 (13)	3 (6.7)	2.10 (0.39-11.34)	0.4
Charlson Comorbidity Index, median (range)	0 (0-3)	0 (0-3)	...	0.32
<b>Hospitalization data</b>				
Time at risk, median days (range)	8 (2-49)	12 (3-55)	...	.003*
Hospital admission(s) during past year	0	0	...	...
Present stay in ICU	4 (17.4)	7 (15.6)	1.14 (0.30-4.40)	1
Transfer from another hospital	1 (4.3)	11 (24.4)	0.14 (0.02-1.17)	0.05
Number of contact patients carrying MRSA, median (range)	5 (1-13)	4 (2-10)	...	0.96
Steroid use	0	1 (2.2)	...	1
Blood-derivates transfusion	6 (26.1)	18 (40)	0.53 (0.18-1.60)	0.26
Hyperglycemia	4 (17.4)	7 (15.6)	1.14 (0.30-4.39)	1
<b>Burn wound characteristics</b>				
Time from burn to MSSA recovery or discharge, median days (range)	8 (2-49)	13 (3-62)	...	.002*
Percentage of body surface involved, median (range)	15 (3-55)	11.5 (1.5-88.5)	...	0.36
Burn by direct exposure to flame	13 (56.5)	21 (46.7)	1.49 (0.54-4.08)	0.44
Scalding	6 (26.1)	19 (42.2)	0.48 (0.16-1.46)	0.19
Third degree burn	6 (26.1)	15 (33.3)	0.71 (0.23-2.16)	0.54
Head involvement	17 (73.9)	19 (42.2)	3.88 (1.29-11.68)	.01*
Upper limbs involvement	18 (78.3)	30 (66.7)	1.80 (0.56-5.79)	0.32
Trunk involvement	15 (65.2)	30 (66.7)	0.94 (0.33-2.70)	0.91
Perineal involvement	2 (8.7)	17 (37.8)	0.16 (0.03-0.75)	.01*
Lower limbs involvement	13 (56.5)	29 (64.4)	0.72 (0.26-2.00)	0.53
<b>Procedures</b>				
Number of burn wound excision (range)	1 (0-7)	1 (0-5)	...	0.84
Fasciotomy	0	4 (8.9)	...	0.29
Skin grafting	2 (8.7)	9 (20)	0.38 (0.08-1.93)	0.31
Amputation	0	3 (6.7)	...	0.55
Mechanical ventilation	4 (17.4)	8 (17.8)	0.97 (0.26-3.65)	1
Central venous catheter	4 (17.4)	11 (24.4)	0.65 (0.18-2.33)	0.51
Venous dissection	0	1 (2.2)	...	1
Enteral tube feeding	3 (13)	7 (15.6)	0.81 (0.19-3.50)	1
Gastric tube feeding	1 (4.3)	1 (2.2)	2.00 (0.12-33.51)	1
Indwelling urethral catheter	5 (21.7)	15 (33.3)	0.56 (0.17-1.79)	0.32
Chest tube	0	2 (4.4)	...	0.31
<b>Antimicrobial use</b>				
Oxacillin	5 (21.7)	17 (37.8)	0.46 (0.14-1.46)	0.18
Amoxicillin-clavulanate	4 (17.4)	6 (13.3)	1.37 (0.35-5.43)	0.72
Piperacillin-tazobactam	0	1 (2.2)	...	1
Cefalotin	0	1 (2.2)	...	1
Ceftazidime	1 (4.3)	0	...	0.34
Cefepime	2 (8.7)	9 (20)	0.38 (0.08-1.93)	0.31
Clindamycin	0	1 (2.2)	...	1
Ciprofloxacin	1 (4.3)	4 (8.9)	0.47 (0.05-4.43)	0.66
Levofloxacin	0	1 (2.2)	...	1
Gentamycin	1 (4.3)	4 (8.9)	0.47 (0.05-4.43)	0.66
Amikacin	0	3 (6.7)	...	0.55
Imipenem	1 (4.3)	1 (2.2)	2.00 (0.12-33.51)	1
Vancomycin	0	3 (6.7)	...	0.55
Metronidazole	0	1 (2.2)	...	1

Data are in number (%), except when specified.

\* Statistically significant.

MSSA, Methicillin-susceptible Staphylococcus aureus; MRSA, Methicillin-resistant Staphylococcus aureus.

**Table 4. Results from multivariable analysis from the “cohort” and the “case-case control” studies.**

<b>Risk factors</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>
<b>Cohort study</b>		
<i>Risk factors for MRSA acquisition</i>		
Number of burn wound excisions	1.55 (1.21-1.98)	.001
<b>Case-case control study</b>		
<i>Risk factors for MRSA acquisition</i>		
Number of burn wound excisions	1.83 (1.27-2.63)	.001
Head involvement	3.43 (1.50-7.81)	.003
<i>Risk factors for MSSA acquisition</i>		
Perineal involvement	0.16 (0.03-0.75)	.02

MRSA, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; MSSA, Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*.

**ARTIGO 3 :****Title Page**

**Title: Risk factors for oropharyngeal carriage of *Pseudomonas aeruginosa* among patients from a medical-surgical Intensive Care Unit.**

**Authors:**

Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza (1)

Lígia Castellon Figueiredo (1)

Carolina Contador Beraldo (2)

**Edson Carvalho de Melo (1,2)**

Patrícia Maria Sales Póla (2)

Valéria Drummond Nagem Aragão (1,2)

(1) Departamento de Doenças Tropicais, Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (UNESP). Botucatu, São Paulo State, Brazil.

(2) Hospital Estadual Bauru. Bauru, São Paulo State, Brazil.

**Running title:** *P. aeruginosa* carriage in the ICU.

**Abstract**

Oropharyngeal carriage of *Pseudomonas aeruginosa* is associated with increased risk for infection and may provide a source for spread of drug-resistant strains. In order to assess the incidence and risk factors for oropharyngeal carriage, we conducted a retrospective cohort study based on results of surveillance cultures (oropharyngeal swabs) from a medical-surgical intensive care unit, collected from March 2005 through May 2006. Variables investigated included demographic characteristics, comorbid conditions, invasive procedures, use of devices and use of antimicrobials. Thirty case patients with *P. aeruginosa* carriage were identified. Other 84 patients with surveillance cultures negative to *P. aeruginosa* were enrolled as control subjects. Case patients were more likely to have a solid malignancy (Odds Ratio [OR] =12.04, 95% Confidence Interval [CI]=1.93-75.09, p=0.008), Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS, OR= 7.09, 95%CI= 1.11-45.39, p=0.04), central nervous system disease (OR= 4.51, 95%CI= 1.52-13.39, p=0.007), or to have a central venous catheter placed (OR=7.76, 95%CI=1.68-35.79, p=0.009). The use of quinolones was a protective factor (OR=0.13, 95%CI=0.03-0.47, p=0.002). The predominance of comorbidities as risk factors points out a group of patient to whom preventive measures should be directed.

**Keywords:** *Pseudomonas aeruginosa*; colonization; oropharyngeal carriage; surveillance cultures; intensive care unit.

## Text

### Introduction

The oropharynx is a reservoir of potentially pathogenic microorganisms, and its colonization has been implicated in the pathogenesis of healthcare acquired pneumonia and other systemic infections.<sup>1,2</sup> Oropharyngeal carriage of *Pseudomonas aeruginosa* is uncommon in the community setting, but it is frequently detected in patients from hospitals and long-term care facilities.<sup>3,4</sup> Besides being associated with infection, *P. aeruginosa* carriage can also provide a continuous source for cross-transmission. This phenomenon is relevant for the hospital spread of multidrug-resistant strains.<sup>5</sup>

Patients in Intensive Care Units are particularly susceptible to *P. aeruginosa* colonization and infection.<sup>6</sup> Patients' severity, specific comorbid conditions, invasive procedures, device use and antimicrobials have been implicated in this phenomenon.<sup>6,7</sup> The identification of specific risk factors can help improve infection control strategies. This was the main purpose of our study.

## Methods

### *Setting*

The study was conducted in a medical-surgical Intensive Care Unit (ICU) from Hospital Estadual Bauru . This is one of the teaching hospitals from “Faculdade de Medicina de Botucatu” (Botucatu School of Medicine). The hospital serves an area with approximately 1 000 000 inhabitants. It has 285 beds and four ICUs. The medical-surgical ICU has 11 beds.

The study was approved by the Reseach Ethics Committee.

### *Surveillance and Microbiology Methods*

During the study period, the Infection Control Committee performed weekly surveillance cultures in ICU patients to identify Gram-negative bacilli. All patients that had a previous stay of at least 48 hours or that were transferred from other hospital setting were eligible for surveillance cultures.

Briefly, oropharyngeal swabs were collected and transported in Stuart media. Latter, they were inoculated in MacConkey media. For *P. aeruginosa* identification, a manual kit for non fermenters (NF II, PROBAC inc.) was employed. Disk diffusion tests for antimicrobial susceptibility were performed according to standards from the Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly the National Committee for Clinical Laboratory Standards).<sup>8</sup>

### *Study design*

The study had a retrospective cohort design. We analysed results from surveillance cultures performed from March 2005 through May 2006. Patients that had at least one culture positive for *P. aeruginosa* were selected as case patients. Those that had all culture results negative for *P. aeruginosa* were selected as controls.

### *Investigation of Risk Factors*

Patient data were recovered from medical charts and laboratory files. Underlying conditions were defined following the guidelines in *International Classification of Diseases*.<sup>9</sup> Severity of illness was assessed using the Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE) II score.<sup>10</sup> Hospital admissions in the previous year and transfer from other hospitals were also recorded. All other data were analyzed from the day of admission to our hospital up to the isolation of *P. aeruginosa* for case patients and up to the last negative culture for control subjects. Data included performance of surgery or other invasive procedure; use of steroids or other immune-suppressing drugs and use of antimicrobials (with or without antipseudomonal activity). Time at risk was assessed using two different variables: “time in the hospital” (defined as time from admission to the hospital up to the isolation of *P. aeruginosa* for case patients and up to the last negative culture for control subjects) and “time in the ICU” (defined in a similar fashion, but counted from the day of admission to the ICU).

### *Statistical analysis*

Data were recorded using EPI INFO software for Windows, version 3.2 (Centers for Disease Control and Prevention) and analysed using the SPSS version 15.0 (SPSS inc). Each variable was submitted to univariate analysis. Fischer’s exact test (for binomial variables) and Student’s T test (for numeric variables) were used to calculate *P* values. For multivariate analysis, we used a stepwise backward selection process. All variables for which  $P < 0.2$  were included in a first model. Variables were excluded from the model based on the magnitude of their effect. A *P* value of 0.05 was required for staying in the models. The same limit was set for significance in the final model. To assess the effect of severity of illness and time at risk, we forced APACHE II and “time in the hospital” into all models, regardless of their significance.

## Results

A total of 263 surveillance cultures (oropharyngeal swabs) were collected from 114 patients in the study period. *P. aeruginosa* was recovered from 30 (26.3%) patients, which were selected as case patients. Resistance rates for commonly used antipseudomonal agents were: amikacin, 26.7%; ciprofloxacin, 26.7%; ceftazidime, 16.7%; piperacillin-tazobactam 10.0%; imipenem, 3.3%.

Eight case patients had one or more clinical cultures positive to *P. aeruginosa* after its recovery from surveillance cultures. The cultured specimens were: urine (three patients), blood (two), central venous catheter (two), tracheal aspirate (quantitative cultures, two) and pleural effusion (one). This finding, altogether with clinical pictures, confirmed the diagnosis of healthcare-acquired infections (HAI) in the following sites: urinary tract (three patients), respiratory tract (two) and bloodstream (two). Time from surveillance cultures detection until HAI diagnosis ranged from four to 28 days (median, 13 days).

Results from the univariate analysis of risk factors for *P. aeruginosa* carriage are listed in Table 1. Table 2 presents result from the multivariate analysis. Case patients were more likely to have a solid malignancy, AIDS, central nervous system (CNS) disease or the placement of central venous catheter (CVC). On the other hand, the use of quinolones (ciprofloxacin and/or levofloxacin) was a protective factor for *P. aeruginosa* carriage.



## Discussion

Oropharyngeal carriage of Gram-negative bacilli is a matter of interest for healthcare epidemiologists. Fillius et al describe a continuous increase in colonization rates during hospitalization.<sup>11</sup> Interestingly, those authors report the maintenance of increased rates three months after discharge. Oropharyngeal colonization may be due to individual patients' susceptibility, as well as to changes in the ecologic conditions of the mouth. Endotracheal and nasogastric tubes have been implicated in those changes, mainly because they provide an ideal environment for bacterial adherence and biofilm formation.<sup>5,12</sup> In our study, however, the presence of nasogastric tubes did not increase the risk for *P. aeruginosa* carriage. Mechanical ventilation, though significantly related to carriage in univariate analysis, lost significance when multivariate models included comorbid conditions. Those conditions are worth our attention.

Patients with solid malignancies were usually admitted to the ICU in an advanced stage. The same applies to AIDS patients – all of whom were admitted due to severe opportunistic diseases. A greater susceptibility to *P. aeruginosa* in AIDS patients has been proposed by some authors.<sup>13</sup> Others suggest that apparent increase in *P. aeruginosa* infections in those patients is in fact due to frequent hospitalization.<sup>14</sup> Immune suppression, AIDS-related disorders and the use of antimicrobials may have impact on oropharyngeal ecology.

Besides contributing to general morbidity burden, central nervous system diseases may impair mechanical cleaning of the mouth through chewing and swallowing. The presence of central venous catheter is possibly a marker for increased patient manipulation.

The potential clinical and epidemiological implications of oropharyngeal colonization with *P. aeruginosa* are yet to be fully elucidated. Leibovitz et al emphasize that elderly patients carrying *P. aeruginosa* in the oropharynx are also a group especially at risk for aspiration pneumonia and systemic infections.<sup>5</sup> The same can be said about ICU patients – who usually have additional risk factors for infection.

It has also been stated that the oropharynx may be a “reservoir of resistance” and a source for cross-transmission.<sup>5,6</sup> The implementation of surveillance cultures in our hospital aimed at the identification and isolation of patients colonized with imipenem or ceftazidime-resistant strains. However, resistance rates to antipseudomonal antimicrobials in colonizing strains were low. This may account for the finding of quinolones use as a protective factor against *P. aeruginosa* carriage.

Two quinolones - ciprofloxacin and levofloxacin - were routinely prescribed in the ICU. We found no protective effect for each particular quinolone – only for the class as a whole. This may reflect some lack of statistical power in our analysis. However, though the spectrum of action of quinolones against *P. aeruginosa* varies, both ciprofloxacin and levofloxacin have some antipseudomonal activity.<sup>16</sup>

It is possible that our study design had some influence over results. The requirements for eligibility for surveillance cultures might have selected a subset of patients with greater severity of illness. It is worth noting that APACHE II scores were similarly high for case patients and control subjects. Also, “time in the hospital” and “time in ICU” did not differ between cases and controls. In a case-control study of factors for acquisition of resistant *P. aeruginosa*, Harris et al compared results using different control groups.<sup>16</sup> Those authors suggest that requiring negative cultures for enrolling patients as controls might lead to underestimation of the impact of specific risk factors. This might have happened in our study, and can account for the absence of significance for mechanical ventilation or other factors. However, allowing only patients with negative surveillance cultures to be enrolled in the control group prevented us from erroneously including individuals with unidentified oropharyngeal carriage of *P. aeruginosa* in that group. Of course, focusing solely on oropharyngeal cultures makes it possible to include in the study control subjects that harbour *P. aeruginosa* in other sites, such as the gastrointestinal tract. Though this may also lead us to underestimate risk factors, this minor bias is not an argument against the validity of our findings. Again, we must emphasize that our study specifically addresses oropharyngeal colonization. Further studies focusing on *P. aeruginosa* carriage in lower respiratory or gastrointestinal tracts

would complement our findings and help elucidate this pathogen's epidemiological behaviour.

Surveillance cultures were not obtained on patients' admission. Thus we cannot rule out previous colonization of case patients. However, neither previous admissions nor transfer from other hospital were significantly associated with *P. aeruginosa* carriage. Besides, as we previously mentioned, colonization uncommon in healthy, non-hospitalised individuals. These findings suggest that most patients acquired *P. aeruginosa* in our ICU.

We conclude that oropharyngeal carriage of *P. aeruginosa* is frequent in our ICU.

This phenomenon is potentially harmful, and the predominance of comorbidities as risk factors points out a group of patient to whom preventive measures should be directed.

## References

1. Garrouste-Orgeas M, Chevert S, Arlet G et al. Oropharyngeal or gastric colonization and nosocomial pneumonia in adult Intensive Care Unit patients. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 1647-1655.
2. Limeback H. Implications of oral infections on systemic diseases in the institutionalized elderly with a special focus on pneumonia. *Ann Periodontol* 1998; 3: 262-275.
3. Morrison AJ Jr, Wenzel RP. Epidemiology of infections due to *Pseudomonas aeruginosa*. *Rev Infect Dis* 1984; 6 (Suppl 3): S627-S642.
4. Murthy SK, Baltch AL, Smith RP et al. Oropharyngeal and fecal carriage of *Pseudomonas aeruginosa* in hospital patients. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 35-40.
5. Leibovitz A, Dan M, Zinger J et al. *Pseudomonas aeruginosa* and the oropharyngeal ecosystem of tube-fed patients. *Emerg Infect Dis* 2003, 9: 956-959.
6. Bonten MJM, Bergmans DCJJ, Speijer H, Strobbering EE. Characteristics of polyclonal endemicity of *Pseudomonas aeruginosa* colonization in Intensive Care Units. *Am J Respir Crit Care Med* 1999, 160: 1212-1219.
7. Ortega B, Groenvald J, Schultsz C. Endemic multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in critically ill patients. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2004, 25: 825-831.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; approved standard, 8<sup>th</sup> ed. Pennsylvania: CLSI; 2003.
9. World Health Organization. International Classification of Diseases. tenth revision, 2005 update. Geneva, Switzerland: WHO; 2005.
10. Knaus WA, Draper EA, Wagner DR, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med* 1985; 13: 818-829.

11. Fillius PMG, Gyssens IC, Kershof IM et al. Colonization and resistance dynamics of Gram-negative bacteria in patients during and after hospitalization. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 2879-2886.
12. Berthelot P, Grattard F, Mahul P et al. Prospective study of nosocomial colonization and infection due to *Pseudomonas aeruginosa* in mechanically ventilated patients. *Intensive Care Med* 200; 27: 503-512.
13. Asboe D Gant V, Aucken HM et al. Persistence of *Pseudomonas aeruginosa* strains in respiratory infection in AIDS patients. *AIDS* 1998; 12: 1771-1775.
14. Sorvillo F, Beall G, Turner PA et al. Incidence and determinants of *Pseudomonas aeruginosa* infection among persons with HIV: association with hospital exposure. *Am J Infect Control* 2001; 29: 79-84.
15. Bonfiglio G. Is Levofloxacin as active as Ciprofloxacin against *Pseudomonas aeruginosa*? *Chemotherapy* 2001; 47: 239-42.
16. Harris AD, Carmeli Y, Samore MH et al. Impact of severity of illness bias and control group misclassification bias in case-control studies of antimicrobial resistant organisms. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005; 26: 342-5.

**Table 1.** Results of univariate analysis of risk factors for oropharyngeal carriage of *Pseudomonas aeruginosa*.

Risk Factor	Case Patients (n=30)	Control Subjects (n=84)	OR (95% CI)	P
<b>Demographic characteristics</b>				
Age, mean	60.5	64.2	-	0.27
Male sex	21 (70.0)	46 (54.8)	1.92 (0.79-4.69)	0.11
<b>Comorbidities</b>				
Cardiac disease	6 (20.0)	19 (22.6)	0.86 (0.30-2.39)	0.49
Pulmonary disease	7 (23.3)	21 (25.3)	0.89 (0.33-2.39)	0.52
Renal disease	1 (3.3)	8 (9.5)	0.32 (0.03-2.74)	0.26
Liver disease	7 (23.3)	10 (11.9)	2.25 (0.77-6.58)	0.12
CNS disease	15 (50.0)	28 (33.3)	2.00 (0.86-4.67)	0.06
Diabetes mellitus	9 (30.0)	27 (32.1)	0.90 (0.37-2.24)	0.51
AIDS	4 (13.3)	4 (4.8)	3.07 (0.72-13.18)	0.12
Tumor (solid)	4 (13.3)	4 (4.8)	3.07 (0.72-13.18)	0.12
Trauma-related disease	0	2 (2.4)	-	0.54
APACHE II, median (range)	20 (6-41)	23.5 (2-46)	-	0.41
<b>Data related to hospitalization</b>				
Admission(s) during previous year	13 (44.8)	42 (50.0)	0.82 (0.35-1.89)	0.39
Transfer from other hospital	23 (76.7)	68 (81.0)	0.77 (0.28-2.11)	0.39
Surgery	5 (17.2)	16 (19.0)	0.89 (0.29-2.68)	0.53
Neutropenia	0	1 (1.2)	-	0.74
use of steroids	12 (40.0)	40 (47.6)	0.73 (0.31-1.71)	0.31
Use of other immunosuppressing drug(s)	0	1 (1.2)	-	0.74
Placement of central venous catheter	27 (90.0)	59 (70.2)	3.81 (1.06-13.73)	0.02 (a)
Placement of urinary catheter	29 (96.7)	80 (95.2)	1.45 (0.16-13.51)	0.6
Mechanical ventilation	29 (96.7)	66 (78.6)	7.91 (1.01-62.09)	0.02 (a)
Nasogastric tube	28 (93.3)	71 (84.5)	2.56 (0.54-12.09)	0.18
Parenteral nutrition	5 (16.7)	3 (3.6)	5.40 (1.20-24.20)	0.03 (a)
Pressure ulcer	18 (60.0)	43 (51.2)	1.43 (0.61-3.33)	0.26
<b>Time at risk</b>				
Time in the hospital, mean	20.4	18.1	-	0.52
Time in the ICU, mean	16.9	13.1	-	0.23
<b>Use of antimicrobials</b>				
<i>Agents with antipseudomonal activity</i>				
Carbapenems	5 (16.7)	11 (13.1)	1.33 (0.42-4.19)	0.41
Cefalosporins(b)	15 (50.0)	36 (42.9)	1.33 (0.58-3.08)	0.32
Piperacillin-Tazobactam	2 (6.7)	14 (16.7)	0.36 (0.08-1.67)	0.14
Aminoglycosides	2 (6.7)	6 (7.1)	0.93 (0.18-4.87)	0.65
Quinolones (c)	6 (20.0)	36 (42.9)	0.33 (0.12-0.90)	0.02 (a)
<i>Agents without antipseudomonal activity</i>				
Cefalosporins (d)	5 (16.7)	9 (10.7)	1.67 (0.51-5.44)	0.28
Penicillins (e)	16 (53.3)	40 (47.6)	1.26 (0.55-2.89)	0.37
Glycopeptides	8 (27.6)	16 (19.0)	1.55 (0.58-4.09)	0.65
Clindamycin	3 (10)	15 (17.9)	0.51 (0.14-1.91)	0.24
Metronidazole	5 (16.7)	19 (22.6)	0.68 (0.23-2.03)	0.34

Note. Data are in number (%), unless otherwise specified. AIDS, acquired immunodeficiency syndrome; APACHE II, acute physiology and chronic health evaluation II; CNS, central nervous system; ICU, intensive care unit; OR, odds ratio; CI, confidence interval.

(a) Statistically significant; (b) Cefipime and Ceftazidime; (c) Ciprofloxacin and Levofloxacin; (d) Ceftriaxone, Cefuroxime, Cefazolin and Cefalotin; (e) Ampicillin, Ampicillin-Sulbactam, Amoxicillin, Amoxicillin-Clavulanate, Oxacillin.

**Table 2. Results of multivariate analysis of risk factors for oropharyngeal carriage of *Pseudomonas aeruginosa*.**

Risk Factor	OR (95%IC)	P
Tumor (solid)	12.04 (1.93-75.09)	0.008
AIDS	7.09 (1.11-45.39)	0.04
CNS disease	4.51 (1.52-13.39)	0.007
Placement of Central Venous Catheter	7.76 (1.68-35.79)	0.009
Use of Quinolones (a)	0.13 (0.03-0.47)	0.002

Note. AIDS, acquired immunodeficiency syndrome; CNS, central nervous system; OR, odds ratio; CI, confidence interval.

(a) Ciprofloxacin and Levofloxacin.