

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Instituto de Ciências Biomédicas

Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas

Infecção de corrente sanguínea de natureza hospitalar associada ao cateter venoso central: impacto
da adoção de um pacote de medidas de prevenção e controle e
patogenia de infecções por *Staphylococcus epidermidis* em neonatos críticos.

Daiane Silva Resende

Uberlândia – MG

Junho-2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Instituto de Ciências Biomédicas
Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas

Infecção de corrente sanguínea de natureza hospitalar associada ao cateter venoso central: impacto
da adoção de um pacote de medidas de prevenção e controle e
patogenia de infecções por *Staphylococcus epidermidis* em neonatos críticos.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Imunologia e Parasitologia Aplicadas da Universidade
Federal de Uberlândia como requisito parcial para
obtenção do título de Doutor

Daiane Silva Resende (Doutoranda)

Prof. Dr. Paulo P. Gontijo Filho (Orientador)
Prof. Dra. Rosineide Marques Ribas (Co-orientadora)

Uberlândia – MG
Junho 2015

Daiane Silva Resende

**“Infecção de corrente sanguínea de natureza hospitalar associada ao cateter venoso central:
impacto da adoção de um pacote de medidas de prevenção e controle e patogenia de infecções
por *S. epidermidis* em neonatos críticos”**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação
em Imunologia e Parasitologia Aplicadas da
Universidade Federal de Uberlândia, para a
obtenção do título de Doutor(a).

Área de concentração: Imunologia e
Parasitologia Aplicadas.

Banca Examinadora:

Uberlândia, 25 de junho de 2015.

Natalia Lopes Pontes
Profa. Dra. Natalia Lórios Lopes Pontes
UFF

Cristina Oliveira
Profa. Dra. Cristina Cunha H. B. de Oliveira
UFTM

Helisângela de Almeida Silva
Profa. Dra. Helisângela de Almeida Silva
ICBIM/UFU

Cristiane S. Brito
Dra. Cristiane Silveira de Brito
ICBIM/UFU

Paulo Pinto Gontijo Filho
Prof. Dr. Paulo Pinto Gontijo Filho – orientador
ICBIM/UFU

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

R433i Resende, Daiane Silva, 1986-
2015 Infecção de corrente sanguínea de natureza hospitalar associada ao cateter venoso central: impacto da adoção de um pacote de medidas de prevenção e controle e patogenia de infecções por *Staphylococcus epidermidis* em neonatos críticos / Daiane Silva Resende. - 2015.
66 f. : il.

Orientador: Paulo Pinto Gontijo Filho.

Coorientadora: Rosineide Marques Ribas.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas.

Inclui bibliografia.

1. Imunologia - Teses. 2. Neonatologia - Teses. 3. Unidade de tratamento intensivo - Teses. 4. Sangue - Doenças - Teses. I. Gontijo Filho, Paulo Pinto. II. Ribas, Rosineide Marques, 1974-. III. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas. IV. Título.

*“Sua tarefa é descobrir o seu trabalho e, então, com
todo o coração, dedicar-se a ele.”*

Buda

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a **Deus**, por estar presente em minha vida, me iluminando e amparando a cada passo dado.

Agradeço aos **meus pais Eurípedes e Antônio**, pelo amor, pela dedicação, pelo apoio incondicional. São a base da minha educação, do meu caráter e responsáveis pela pessoa que me tornei. Agradeço pelo incentivo a minha vida acadêmica e por acreditarem em mim, principalmente nas vezes que eu não acreditava. Obrigada por estarem comigo a todo momento (mesmo de longe), por não deixarem eu desistir.

Agradeço a **meu amado esposo Guilherme**, pela gentileza de dividir comigo seus dias, pelo amor, pelo companheirismo, por fazer meus dias coloridos (foram cinza muita vezes, né?). Você sempre foi meu esteio, minha fortaleza. É com certeza a melhor pessoa que eu conheço! Obrigada por me ensinar tanto! Você é o exemplo de profissional que quero ser. Obrigada por fazer de mim uma pessoa muito melhor.

Agradeço a **minha linda filha Helena** por ser meu anjo da guarda. Tudo que eu faço é por você minha filha. Obrigada pelo amor incondicional, por alegrar meus dias! Obrigada por compreender minha ausência. Não foi fácil, mas conseguimos! Obrigada por cada sorriso, por cada beijo por cada abraço! Sempre farei o meu melhor pensando em ser uma pessoa melhor pra você. Te amo!

Agradeço a toda minha **família** por me acolher e estar presentes em cada momento da minha vida, principalmente os mais difíceis.

Agradeço ao meu orientador **Prof. Dr. Paulo Gontijo**, pela valiosa oportunidade e por me orientar com tanta sabedoria e experiência. Tenho um carinho muito grande e muita admiração pelo grande profissional que é. Não é atoa que chamamos de pai. Tenho muito orgulho te ter passado tantos anos como sua orientada, e onde eu for farei questão de dizer quem foi meu orientador. Obrigada pelos grandes ensinamentos e por confiar em mim.

Agradeço a minha co-orientadora **Profa. Dra. Rosineide Marques Ribas** por sua disponibilidade e incentivo que foram fundamentais para realização desse trabalho. Agradeço por me acolher quando eu mais precisei, por acreditar no meu trabalho, principalmente quando tudo ficou difícil. Sou muito

grata pelo conhecimento compartilhado e por acreditar no meu trabalho. Obrigada pela convivência e amizade.

Agradeço ao Prof. **Dr. Jonny Yokosawa**, e a todos do **Laboratório de Virologia**, em especial a Thlema, por disponibilizar equipamentos e pela ajuda ao longo do trabalho.

Agradeço a **Profa. Dra. Daise Aparecida Rossi** e a todos do **Laboratório de Biotecnologia Animal** por todo auxílio prestado, sempre disponíveis e receptivos comigo.

Agradeço aos meus amigos do Laboratório de Microbiologia Molecular, **Melina, Ana Luiza, Bruna, Deivid, Iara, Raquel, Sabrina, Paola, Ana Paula**, pela convivência, por ajudar em tudo que foi preciso. Vocês foram muito importantes nessa caminhada. Obrigada pelos momentos agradáveis que passamos. Trabalhar com amigos é maravilhoso.

Agradeço especialmente a amiga **Melina**, por me acolher na sua casa, e por me ajudar tanto com meus experimentos. O que você fez por mim não tem preço! Mil vezes obrigada!

Agradeço com saudade aos meus amigos de Uberlândia, **Loiane, Saulo, Paula, Maca, Norival, Cláudia, Hugo, Priscila, Michelle, Serginho** que foram tão importantes nessa caminhada, foram minha família em Uberlândia! Obrigada pela torcida, pelo apoio e pela amizade.

Agradeço a todos os **professores do PPIPA** que contribuíram para minha formação.

Agradeço às secretárias do PIPPA, **Lucélia e Lucileide** pela assistência e pela disponibilidade

Aos técnicos do Laboratório de Microbiologia **Claudete, Ricardo, Samuel, Lícia Ludendorff** e especialmente a **Cristiane Brito** por todo apoio técnico e amizade.

Agradeço as alunas **Anna Laura, Márcia, Jéssika e Bárbara** (Hoje professora da ESTES) que me ajudaram com a vigilância epidemiológica e processamento de amostras, vocês foram fundamentais para o desenvolvimento do trabalho.

Agradeço a **Profa. Dra. Vânia Abdallah** e a toda equipe da UTIN do HC-UFU por apoiar sempre o trabalho da Microbiologia na UTIN. Agradeço em especial a enfermeira **Jane**, pela coleta do material da patogênese e pela amizade. Sem você esse trabalho não seria realizado.

Agradeço a todos os **neonatos e seus responsáveis** pela contribuição e pela convivência diária. Minha sincera gratidão e respeito pelo momento tão delicado de estar em uma UTIN. Sempre acreditei na grandeza do meu trabalho pensando no bem estar de vocês. Dedico meu trabalho a cada um de vocês.

Agradeço aos membros da banca examinadora: **Profa. Dra. Natália Iório Lopes Pontes (UFF-Nova Friburgo), Profa. Dra. Cristina da Cunha Hueb Barata de Oliveira (UFTM - Uberaba), Prof. Dra. Helisângela de Almeida (UFU - Uberlândia), Dra. Cristiane Silveira de Brito (UFU - Uberlândia) e Dr. Deivid Willian da Fonseca Batistão (UFU - Uberlândia)**, por aceitarem com presteza nosso convite e pela contribuição na concretização deste trabalho.

Agradeço às agências de fomento **FAPEMIG, CNPq e CAPES** pela disponibilização de verba que permitiu desde a aquisição de materiais diversos até o custeio de inscrições e viagens a eventos científicos, que possibilitaram a realização e divulgação deste trabalho.

Muita coisa acontece nesses longos 4 anos de doutorado. Gostaria de agradecer a cada um que de alguma forma me auxiliou para a conclusão desse trabalho. Vocês tem minha sincera gratidão.

MUITO OBRIGADA!

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ATCC: “American Type Culture Collection”
- BHI: “Brain Heart Infusion”
- CEP: Comitê de Ética em Pesquisa
- CLSI: “Clinical and Laboratory Standards Institute”
- CVC: Cateter vascular central
- DNA: Ácido Desoxirribonucléico
- EDTA: “Ethylenediamine Tetraacetic Acid”
- HCl: Ácido Clorídrico
- HC-UFG: Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia
- IH: Infecção Hospitalar
- ICS: Infecção de Corrente Sanguínea
- ICSH: Infecção de Corrente Sanguínea Hospitalar
- *ica*: “Intercellular Adhesion Locus”
- *mec*: “Methicillin Resistance”
- MRSA: *Staphylococcus aureus* Resistente a Meticilina
- MRSE: *Staphylococcus epidermidis* Resistente a Meticilina
- NCCLS: “ National Committee for Clinical Laboratory Standards”
- NHSN : “National Healthcare Safety Network”
- PICC: “Peripherally Inserted Central Catheter”
- PFGE: “ Pulsed Field Gel Electrophoresis”
- SCC*mec*: “Staphylococcal Cassette Chromosome”
- SCN: *Staphylococcus* Coagulase Negativa
- TSA: “Trypticase Soy Agar”

- TSB: “Trypticase Soy Broth”
 - UFC/ mL: Unidades Formadoras de Colônia por mililitro
 - UTIN: Unidade de Terapia Intensiva Neonatal
 - μ g: Micrograma
- OMS: Organização Mundial da Saúde

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Sequência dos primers, e tamanho do produto amplificado nas reações de PCR para identificação dos genes <i>icaAD</i> associados a formação de biofilme em <i>S. epidermidis</i>	29
Tabela 2. Indicadores epidemiológicos de infecções de corrente sanguínea, no período de outubro/2010 a agosto/2012.....	33
Tabela 3. Fatores de risco e características gerais dos pacientes com e sem infecção de corrente sanguínea e fatores de risco para estas infecções no período de outubro/2010 a agosto/2012.....	34
Tabela 4. Microrganismos isolados de infecções de corrente sanguínea com critério microbiológico de origem hospitalar no período de outubro/2010 a agosto/2012.....	35
Tabela 5. Comparaçao das taxas de incidência de ICSH durante os meses de janeiro, relocação da unidade e intervenção.....	38
Tabela 6. Microrganismos isolados de neonatos incluídos no estudo da patogênese de infecção de corrente sanguínea por <i>S. epidermidis</i>	40
Tabela 7. Colonização da ponta, canhão, sítio de inserção e mucosas nasal e intestinal isoladas de 19 de neonatos com hemocultura positiva incluídos no estudo da patogênese de <i>S. epidermidis</i> no período de janeiro/2011 a agosto/2012.....	41
Tabela 8. Patogênese, perfil clonal e presença dos genes <i>icaAD</i> de <i>S. epidermidis</i> isoladas de neonatos com infecção de corrente sanguínea de neonatos internados na unidade de terapia intensiva neonatal do HC-UFU.....	45

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Curva endêmica de infecções de corrente sanguínea de origem hospitalar, no período de outubro/2010 a agosto/2012.....	37
Figura 2.	Dendograma dos perfis genotípicos de amostras de <i>Staphylococcus epidermidis</i> após fragmentação pela enzima de restrição <i>SmaI</i> e análise por PFGE através da análise computadorizada.....	43
Figura 3.	Relação temporal/espacial entre os pacientes incluídos no estudo da patogênese no período de outubro/2010 a agosto/2012.....	44

SUMÁRIO

RESUMO	14
ABSTRACT	15
1. INTRODUÇÃO	16
2. JUSTIFICATIVA	21
3. OBJETIVOS	22
3.1. OBJETIVO GERAL	22
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
4. MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1. INSTITUIÇÃO	23
4.2. DESENHO DO ESTUDO	23
4.3. DEFINIÇÕES:	23
4.4. PRÉ-INTERVENÇÃO	24
4.5. INTERVENÇÃO	24
4.6. PÓS-INTERVENÇÃO	25
4.7. ESTUDO DA PATOGÊNESE	26
4.8. TÉCNICAS MICROBIOLÓGICAS	26
4.8.1. PELE NO SÍTIO DE INSERÇÃO DO CVC	26
4.8.2. CANHÃO DO CATETER	26
4.8.3. MUCOSA NASAL E INTESTINAL	26
4.8.4. PONTA DO CVC	27
a) SEMI-QUANTITATIVA “ROLL-PLATE” (MAKI)	27
b) TÉCNICA DO “VORTEXING”	27
4.8.5. HEMOCULTURAS	27
4.8.6. ESTOCAGEM DAS AMOSTRAS	28
4.8.7. CARACTERIZAÇÃO DO GÊNERO <i>Staphylococcus</i>	28
a) PRESENÇA DA ENZIMA CATALASE	28
b) ÓXIDO-FERMENTAÇÃO DA GLICOSE	28
c) SUSCETIBILIDADE À BACITRACINA	28
d) COAGULASE LIGADA (FATOR “CLUMPING”)	29
e) COAGULASE LIVRE	29
4.8.8. IDENTIFICAÇÃO DAS ESPÉCIES DE <i>Staphylococcus coagulase-negativa</i> E OUTROS COCOS GRAM POSITIVOS	29
4.9. TESTE DE SUSCETIBILIDADE À OXACILINA	30
4.10. TÉCNICAS MOLECULARES	30
4.10.1. EXTRAÇÃO DO DNA GENÔMICO	30
4.10.2. DETECÇÃO DOS GENES <i>icaAD</i> ASSOCIADOS A FORMAÇÃO DE BIOFILME	30
4.10.3. TIPAGEM MOLECULAR POR PFGE “PULSED FIELD GEL ELETROPHORESIS”	31
5. RESULTADOS	34
6. DISCUSSÃO	48
7. CONCLUSÕES	56
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57
ANEXO I	63
ANEXO II	64
APÊNDICE II	66

RESUMO

As infecções de corrente sanguínea de natureza hospitalar são as mais frequentes em unidades de terapia intensiva neonatal (UTIN), aumentando consideravelmente o tempo de permanência na unidade e os custos hospitalares, além de contribuírem para pior prognóstico do paciente, principalmente em hospitais de países em desenvolvimento. Os objetivos do estudo foram: avaliar o impacto de um pacote de medidas relativo aos cuidados e manutenção de Cateter Venoso Central (CVC) na redução das infecções de corrente sanguínea de origem hospitalar (ICSh), e definir a patogênese e epidemiologia molecular dessas infecções causadas por *S. epidermidis* em uma UTIN de um hospital universitário brasileiro. O estudo incluiu os neonatos admitidos na unidade do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, durante o período de outubro/2010 a agosto/2012. A vigilância epidemiológica utilizada para busca ativa de ICSh foi a do “National Healthcare Safety Network” (NHSN), e um protocolo de inserção e manutenção do cateter venoso baseado nas diretrizes do “Center for Disease Control” (CDC) foi adotado na unidade. No estudo da patogênese das ICSh por *S. epidermidis*, foram realizadas culturas da pele no sítio de inserção e do canhão do CVC, assim como das mucosas nasal e intestinal dos neonatos, a partir de 48 h até 14 dias da utilização do procedimento invasivo, ou sua positivação, e da ponta do CVC após sua retirada. O trabalho obteve a aprovação do comitê de ética em pesquisa da UFU (protocolo 464/10). No total, 112 recém-nascidos desenvolveram ICSh (20,3%) totalizando 178 episódios (32,3%), com 139 (25,2%) definidos como de natureza hospitalar. As taxas de incidência durante a investigação de ICSh foram de 16,1/1000 pacientes-dia e 23,0/1000 CVC-dia, com variações significativas durante o período de investigação, sendo maiores (59,6/1000 pacientes-dia) nos meses de janeiro de 2011 e 2012 quando comparadas com as taxas dos outros meses (16,6/1000 pacientes-dia, IRR:3,59; $P<0,001$). Adicionalmente, também houve uma redução significativa nas taxas destas infecções no período de relocação da Unidade para uma unidade provisória, com taxa de 10,3/1000 pacientes-dia vs 26,7/1000 pacientes-dia, no período anterior de vigilância (IRR=2,59; $P=0,007$). A adoção do protocolo de prevenção e controle dessas infecções, resultou na redução significativa da incidência de ICSh de 23,4/1000 pacientes-dia durante a pré-intervenção para 14,7/1000 pacientes-dia (IRR=1,59; $P=0,04$). O *S. epidermidis* foi o agente etiológico mais frequente, respondendo por 38,3% dos episódios de sepse, seguido pelo *Staphylococcus aureus* (12,5%). Na avaliação por análise molecular das amostras de 8 casos de ICSh por *S. epidermidis*, 50,0% foram relacionadas ao CVC e a contaminação do canhão (68,4%), colonização da pele no sítio de inserção (57,8%), e mucosas nasal e intestinal (73,6%) dos neonatos foram elevadas. Todos os isolados de *S. epidermidis* dos 19 neonatos incluídos no estudo da patogênese foram resistentes a oxacilina, com 63,1% mostrando perfil de multirresistência. Foram encontrados 7 perfis genotípicos distintos de MRSE, diferenciados por um coeficiente de similaridade de 80,0%, com a presença de um clone dominante na unidade (clone A), incluindo 77,8% das amostras, sugestivo de transmissão horizontal através das mãos de profissionais da unidade. Na metade das infecções de corrente sanguínea por *S. epidermidis* analisadas por técnica molecular, os resultados foram sugestivos de sua disseminação através da translocação da mucosa intestinal. A continuidade nessas investigações utilizando população maior de neonatos é necessária para uma melhor definição da origem de *S. epidermidis*, de forma a possibilitar a adoção de medidas mais efetivas na prevenção destas infecções em neonatos.

Palavras-chave: Neonatos, Infecção de Corrente Sanguínea, “Bundle”

ABSTRACT

Nocomial bloodstream infections (BSI) are most frequent infection in neonatal intensive care units (NICU), increasing considerably the length of stay in the unit and hospital costs besides contributing to poor prognosis, mainly in hospitals developing countries settings. The aims of the study were to assess the impact of a care bundle for management of Central Venous Catheter (CVC) to reduce nosocomial bloodstream infection, and to describe the pathogenesis and molecular epidemiology of infections due to *S. epidermidis* in a NICU of a Brazilian university hospital. The study included newborns admitted to the unit of Clinical Hospital of Federal University of Uberlândia from October / 2010 to August / 2012. Epidemiological surveillance used to follow BSI was the "National Healthcare Safety Network" (NHSN), and an insertion protocol for insertion and maintenance of central venous catheter based on Center for Disease Control (CDC) guidelines was adopted in unit. For the study of the pathogenesis of these infections due to *S. epidermidis*, cultures of the skin in the insertion site and CVC hub, as well as the nasal and intestinal mucosa of neonates were performed from 48 hrs to 14 days using the invasive procedure, or positive hemoculture, and the tip of the CVC after its withdrawal. The study was approved by the ethics committee in research of the UFU (protocol 464/10). A total of 112 infants developed BSI (20.3%) totaling 178 episodes (32.3%), 139 (25.2%) defined as hospital acquired. Incidence rates of BSI during the study research were 16.1 /1000 patient-days and 23.0/1000 CVC-days, but with significant variations during the investigation period, with increasing rates (59.6 / 1000 patient-days) in January 2011 and 2012 when compared with the rates of other months (16.6/1000 patient-days; IRR 3.59; $P <0.001$) In addition, there was also a significant reduction in the rate of these infections during the relocation of the unit for a provisory site, with rate of 10.3/1000 patient-days vs 26.7 / 1000 patient-days in the previous monitoring period (IRR= 2.59; $P=0.007$). The adoption the bundle resulted in significant reduction of BSI incidence of 23.4/1000 patient-days during the pre-intervention period to 14.7 / 1000 patient-days (IRR = 1.59; $P = 0.04$). *S. epidermidis* was the most frequent etiologic agent, accounting for 38.3% of the episodes of sepsis, followed by *Staphylococcus aureus* (12.5%). When analyzed by molecular techniques 8 cases of BSI due *S. epidermidis* 50,0% were related to CVC. The contamination of hub (68.4%), and skin at the insertion site colonization (57.8%), and nasal and intestinal mucosa (73.6%) of neonates was high. All isolates of *S. epidermidis* of 19 newborns in the study of the pathogenesis were resistant to oxacillin and 63.1% with multidrug resistance profile. 8 distinct genotypic profiles of MRSE were found by a 80.0% similarity coefficient, with the presence of a dominant clone in the unit (clone A), including 77.8% of the samples, suggesting horizontal transmission through the hands of unit staff. Half of bloodstream infections by *S. epidermidis* analyzed by molecular techniques were indicative as acquired by intestinal translocation. It is necessary to continue these investigations using a larger population of neonates for a better definition of the origin of *S. epidermidis*, to enable adoption of effective measures to prevent these infection in newborns.

1. INTRODUÇÃO

As infecções hospitalares (IHs) são responsáveis por taxas significativas de morbidade em Unidades de Terapia Intensiva Neonatal (UTIN) (PITTET et al., 2008; POSFAY-BARBE; PITTET, 2008) resultando em hospitalização prolongada e aumento nos custos hospitalares (WEI et al., 2005). Elas são consideradas um grave problema de saúde pública principalmente em países em desenvolvimento como o Brasil, devido à maior limitação de recursos humanos e financeiros (PITTET et al., 2008).

O “Center for Disease Control and Prevention” (CDC) estima que de 5,0 a 10,0% dos pacientes desenvolvem IHs (YOKOE et al., 2008). Muitos estudos identificam que neonatos são mais suscetíveis às IHs quando comparados com pacientes adultos (COUTO et al., 2007; ORSI et al., 2009), em virtude da combinação de dispositivos invasivos e sistema imune imaturo.

A vigilância epidemiológica de IHs representa um dos componentes mais importantes a ser implementado por serviços de controle de infecção, pois proporciona o monitoramento destas infecções, os fatores de risco associados e os agentes etiológicos (GASTMEIER et al., 2006). O sistema adotado nos Estados Unidos denominado “*The National Healthcare Safety Network*” (NHSN) desenvolvido pelo CDC é o mais conhecido e utilizado. Ele relaciona as infecções à dispositivos inseridos (Cateter Venoso central, prótese ventilatória e sonda vesical), uso de antimicrobianos, procedimentos/infecções e sítio cirúrgico (NHSN, 2008).

Há variações nos indicadores epidemiológicos de IHs entre UTINs em todo o mundo. Um estudo americano mostrou que 11,4% dos pacientes em UTINs desenvolveram IH, destes, 45,7% com extremo baixo peso ao nascer (<1000g) (STOVER et al., 2001) enquanto Geffers et al, (2008) em um estudo realizado na Alemanha, mostraram taxas de IH superiores a 40% em neonatos com extremo baixo peso.

As Infecções de Corrente Sanguínea (ICSSs) são as mais comuns em neonatos (CANTEY; MILSTONE, 2015), sendo responsáveis por 30 a 50% das IHs em UTINs. No Brasil, as

informações disponíveis sobre taxas de infecções de corrente sanguínea hospitalares (ICS_H) por pacientes-dia ou dispositivo-dias são limitadas. A incidência destas infecções em estudos realizados em UTINs brasileiras (BRITO et al., 2010; COUTO et al., 2007; PESSOA-SILVA et al., 2007; RESENDE et al., 2011) é mais elevada do que as observadas em unidades nos Estados Unidos ou Europa (DUDECK et al., 2013; PITTET et al., 2008).

A maioria destas infecções está relacionada ao uso de cateteres venosos centrais (ICS-AC). O CVC está entre um dos recursos mais importantes utilizados no atendimento de excelência ao neonato crítico. Sua utilização em UTINs é frequente com a finalidade de administração de nutrientes e medicamentos por longos períodos de tempo, além do acesso direto ao sistema vascular (PERLMAN; SAIMAN; LARSON, 2007; SERRANO et al. 2007). Entretanto o uso destes dispositivos também está associado com um risco considerável de infecção, sendo mais alto em unidades de países em desenvolvimento, com taxa média de 16,1 por 1000 CVC-dias em unidades localizadas em cinco países em desenvolvimento(SAFDAR; MAKI, 2004). Já em países desenvolvidos, como os Estados Unidos, a taxa é de 6,6 por 1000 CVC- dias (PITTET et al., 2008). Em um estudo realizado em sete unidades localizadas em cidades brasileiras, esta taxa chegou a 22,7 por 1000 CVC-dias (PESSOA-SILVA et al., 2007).

O principal patógeno responsável por ICS, independente de ser associado ou relacionado ao CVC, em países desenvolvidos é o grupo dos *Staphylococcus* coagulase negativa (SCN), seguido do *S. aureus* (AZIZ et al., 2005; BRADY, 2005). Entre os SCN, destaca-se a espécie *S. epidermidis*, devido a prevalência deste microrganismo na microbiota da pele e o potencial de formar biofilme. Este microrgansimo coloniza mucosas, incluindo as do intestino, narina e garganta e podem translocar destes sítios para a corrente sanguínea (OTTO, 2009, 2012). Como a pele do recém-nascido é mais fina e não totalmente queratinizada, o SCN pode atravessá-la mais facilmente do que a maioria dos demais pacientes. Além disso, os prematuros têm permeabilidade intestinal maior que juntamente com a ausência de flora normal estabelecida, podem levar a translocação deste

microrganismo do lúmen intestinal para a corrente sanguínea (CHEUNG; OTTO, 2010; DONNELL et al., 2002).

Além do SCN, outros agentes etiológicos importantes incluindo espécies de *Candida* e Bacilos Gram negativos (BGNs) da família Enterobacteriaceae e não fermentadores como *Pseudomonas aeruginosa* são prevalentes (BENJAMIN et al., 2010; SMITH et al., 2010; SRIVASTAVA; SHETTY, 2007). Os fatores de risco envolvidos na aquisição de ICS neonatal incluem fatores intrínsecos como: prematuridade, fragilidade da pele, baixa idade gestacional, peso inferior a 1000 g e, extrínsecos como: uso e técnica de inserção de cateter venoso central (CVC) e infusão de emulsão lipídica quando uso de nutrição parenteral (BARBADORO et al., 2011; GEFFERS et al., 2008; STOLL et al., 2002; YUMANI; VAN DEN DUNGEN; VAN WEISSENBRUCH, 2013).

Independentemente da fonte dos *microrganismos* que colonizam os cateteres, vários fatores podem determinar o desenvolvimento da infecção de corrente sanguínea: a habilidade do patógeno de produzir biofilme, o diagnóstico da infecção, o tipo do cateter, o material, além do tempo de uso do cateter intravascular, o procedimento na inserção do dispositivo, a paramentação da equipe, o sítio de inserção do cateter intravascular, as infusões utilizadas e a frequência de manipulação (PASCUAL, 2002).

A patogênese das infecções associadas aos CVC é multifatorial e complexa (BRITO et al., 2014). Os cateteres venosos podem ser colonizados por via hematogênica, a partir de infecções em outros sítios, nas bactерemias secundárias, translocação da mucosa intestinal ou através da infusão de fluidos (EGGIMANN; PITTEL, 2002; GARLAND et al., 2008). Os dados disponíveis sugerem que a maioria das infecções resultam da colonização da pele no sítio de inserção (75-90,0%) e do canhão do cateter (66,0%) e, migração destes microrganismos por vias extralúmen e intralúmen nos CVCs de curta (≤ 7 dias) e longa duração (> 7 dias), respectivamente (CRUMP; COLLIGNON, 2000). Entretanto, em pacientes com ICS, o fluido infundido contaminado, também pode funcionar como fonte de colonização da ponta do cateter nas bactерemias primárias (GARLAND et al., 2008).

Para melhor conhecimento da patogênese das ICS-AC é fundamental determinar a similaridade das linhagens de microrganismos isolados das pontas de cateteres e das hemoculturas, assim como de outros sítios também importantes, como o canhão e sítio de inserção do CVC, além das mãos dos profissionais de saúde. Os testes bioquímicos e o perfil de resistência aos antimicrobianos podem determinar o gênero e a espécie do microrganismo em questão, auxiliando não só no tratamento das ICS-AC, mas também no diagnóstico dessas infecções. Porém estes testes nem sempre são precisos e suficientes (MARTÍN-LOZANO et al., 2002).

O uso de técnicas moleculares representa um potencial discriminatório adicional, principalmente em infecções onde o patógeno pode fazer parte da microbiota normal (SEYBOLD et al., 2009). Além de possuírem especificidade e sensibilidade mais refinadas, são capazes de estabelecer relações genéticas entre os isolados obtidos durante a pesquisa da patogênese das ICS-AC (O'GRADY et al., 2002). O “Pulsed Field Gel Electrophoresis” (PFGE) é considerado o padrão ouro em estudos epidemiológicos, devido ao seu alto padrão discriminatório (MIRAGAIA et al., 2002).

Estratégias de prevenção de infecções de corrente sanguínea associadas a CVCs são baseadas no conhecimento da patogênese dessas infecções e medidas que diminuem o risco de colonização da pele e do canhão do cateter, têm impacto na redução das taxas das mesmas (CICALINI; PALMIERI; PETROSILLO, 2004). Nos últimos anos em função de sua maior simplicidade e dos resultados favoráveis obtidos, a utilização de “bundles” é recomendada para controle e prevenção de ICS (LEVY et al., 2004; POWERS; WIRTSCHAFTER, 2010). O “bundle” é um grupo de intervenções que, quando executadas em conjunto, obtém-se melhores resultados, do que quando implementada uma medida individual (LACHMAN; YUEN, 2009). Devem incluir: higiene mãos, utilização de precauções com barreiras mais estritas durante a inserção de CVCs, anti-sepsia da pele com clorexidina, a não utilização do sítio femural e a remoção de CVC desnecessários (BORGHESI; STRONATI, 2008; PRONO VOST et al., 2010).

Os “bundles” para ICS-AC foram os primeiros a serem descritos na literatura. Pronovost et al, (2006), mostrou que uma intervenção em 103 UTIs de adultos no estado de Michigan, Estados Unidos, resultou em uma redução nas taxas de IH de mais de 66%. Costello et al, (2009), em um estudo retrospectivo em uma UTI pediátrica cardíaca, conseguiu uma redução de 50% nas taxas de ICS-AC. Em relação a neonatos os dados são bastante limitados, porém há estudos que apontam redução significativa nestas infecções (JEONG et al., 2013; RESENDE et al., 2011; RESENDE et al., 2014).

A importância das mãos na transmissão de infecções hospitalares é mundialmente conhecida, uma vez que elas constituem o modo mais comum de disseminar microrganismos no ambiente hospitalar (ALLEGRANZI; PITTET, 2009). A lavagem das mãos é a medida mais simples e efetiva na prevenção e redução do risco de transmissão de microrganismos de um paciente a outro, que consequentemente contribui com o desenvolvimento de IHs (PITTET, 2001; SILVESTRI et al., 2005). Embora a lavagem das mãos permaneça como uma das principais medidas de prevenção de infecções hospitalares, a adesão dos profissionais de saúde é baixa, raramente excedendo 40% na maioria dos estudos realizados (PESSOA-SILVA et al., 2007) variando entre as diversas unidades do hospital e as condições de trabalho, principalmente em países onde faltam recursos humanos e financeiros (BORGES et al., 2012), fato que favorece a transmissão de microrganismos no ambiente hospitalar.

A redução das taxas de ICS-AC torna-se possível, através da implementação medidas de prevenção e controle destas infecções. No entanto, a sustentabilidade dos resultados favoráveis depende da mobilização de todos os profissionais da unidade à adesão destas medidas, a educação continuada, além da retroalimentação dos dados encontrados na unidade.

2.JUSTIFICATIVA

A UTIN do HC-UFG atende a uma população física e imunologicamente debilitada, necessitando de cuidados intensivos e uso de diferentes procedimentos invasivos, com destaque para o CVC, procedimento diretamente relacionado a um maior risco de ICS.

Existe uma grande experiência da equipe executora na área de IH em neonatologia. Vários trabalhos foram publicados referindo-se à ICS como principal síndrome infecciosa e CVC como principal fator de risco (BRITO et al, 2007; BRITO et al., 2010; RESENDE et al., 2011; BRITO et al., 2014; RESENDE et al, 2015). Atualmente, a freqüência de ICS associadas ao uso de CVC é alta na UTIN, mesmo após reforma da unidade (VON DOLINGER DE BRITO et al., 2007), desta forma há a necessidade da implementação de medidas de controle e prevenção destas infecções.

Um estudo recente realizado na unidade (RESENDE et al., 2011) utilizando um pacote de medidas para controle e prevenção de ICS-AC, mostrou bons resultados na redução das taxas destas infecções. Porém, tal resultado não se manteve após seu término, provavelmente devido ao fato de se tratar de um estudo com enfoque educativo de curto prazo envolvendo os profissionais de saúde da unidade. A nossa proposta atual é baseada em medidas de controle e prevenção de ICS-AC previamente discutidas e elaboradas pela equipe executora do projeto, juntamente com os profissionais da unidade, incluindo a chefia, que sejam implementadas como rotina na unidade em relação aos cuidados com o CVC, não sendo apenas um trabalho educativo.

Os estudos quanto à patogênese das ICS em neonatos são muito limitados. Devido ao fato do *Staphylococcus epidermidis* ser o principal agente de ICS-AC na nossa unidade, este grupo de microrganismo foi priorizado, com investigações no que se refere a sua identificação em espécie, resistência aos antimicrobianos, e tipagem molecular.

Tendo em vista todos estes importantes aspectos, este trabalho destaca-se por sua finalidade e abrangência sendo justificável sua execução.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar o impacto de um pacote de medidas dirigido aos cuidados e manutenção do CVC, na redução das ICS-AC, bem como a patogênese destas infecções, em uma Unidade de Terapia Intensiva Neonatal do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar as taxas de incidência das ICS hospitalares em neonatos críticos;
- Caracterizar os fatores de risco associados ao desenvolvimento de infecção de corrente sanguínea.
- Comparar as taxas de ICS hospitalares, antes e após a intervenção na unidade;
- Verificar o papel potencial da colonização da pele no sítio de inserção do CVC, do canhão, das pontas do cateter e da mucosa intestinal na patogênese das ICS-AC por *S. epidermidis*;
- Analisar a suscetibilidade à oxacilina de *S. epidermidis* isolados do canhão; ponta do CVC; da pele no sítio de inserção do CVC e das mucosas nasal e intestinal.
- Identificar a presença dos genes da adesina intercelular polissacarídea *icaAD* nos isolados de sangue.
- Verificar a similaridade clonal entre os isolados de *S. epidermidis* isolados do canhão; ponta do CVC; da pele no sítio de inserção do CVC e das mucosas nasal e intestinal

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. INSTITUIÇÃO

O Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU) é um hospital de assistência terciária, de ensino, com 530 leitos. A UTIN compreende 15 leitos e faz parte do Berçário de Alto Risco da instituição.

4.2. DESENHO DO ESTUDO

O modelo de estudo foi prospectivo quanto à avaliação da adesão dos profissionais de saúde da unidade aos procedimentos incluídos no “bundle”, visando os cuidados e manutenção do CVC e, de coorte prospectiva para busca de pacientes em uso de CVC com e sem infecções de corrente sanguínea associada ao CVC, e caso controle para avaliação dos fatores de risco. O estudo foi dividido em três etapas, a saber: pré-intervenção (outubro/2010 a janeiro/2012), intervenção (fevereiro/2012) e pós-intervenção (março/2012 a agosto/2012), além do estudo da patogênese (janeiro a agosto 2011).

A vigilância epidemiológica foi realizada pelo sistema NHSN para avaliação da ocorrência de ICSH em neonatos críticos, no período de outubro/2010 a agosto/2012. Os neonatos foram monitorados diariamente, com o preenchimento de uma ficha individual com dados pessoais, demográficos, fatores de risco e diagnósticos clínicos (ANEXO I), sendo incluídos apenas aqueles com autorização dos respectivos responsáveis através de termo de consentimento livre e esclarecido (APÊNDICE I).

4.3. DEFINIÇÕES:

- “**Bundle**”: pacote de medidas com potencial no controle das infecções hospitalares que, quando executadas em conjunto, resultam em melhores resultados, do que quando implementada uma medida individual (LACHMAN; YUEN, 2009).

- **Infecção de corrente sanguínea hospitalar:** uma ou mais hemoculturas apresentando o mesmo microrganismo, após 48-72 horas de vida, e suspeita clínica de infecção (NHSN, 2008).
- **Infecção sanguínea primária:** bacteremia ou candidemia sem documentação de infecção em sítio conhecido (EGGIMANN et al., 2004).
- **Infecção de corrente sanguínea associada ao cateter:** bacteremia com critério microbiológico, com cultura de sangue periférico, manifestações clínicas de sepse, mas sem a realização ou confirmação laboratorial da colonização da ponta do CVC (ONCÜ et al., 2003).
- **Infecção relacionada ao cateter definida:** bacteremia primária com cultura de sangue periférico positiva para o mesmo organismo encontrado no canhão ou na ponta do cateter (GARLAND et al., 2008).
- **Sistema NHSN:** sistema de vigilância epidemiológico proposto pelo “Centers for Disease Control and Prevention” com a participação de 300 hospitais gerando um banco de dados de infecção hospitalar nacional nos Estados Unidos.
- **Infecção de corrente sanguínea /1000 pacientes-dia:** número total de infecção de corrente sanguínea / número pacientes-dia x 1000.
- **Infecção de corrente sanguínea /1000 CVC-dia:** número total de infecção de corrente sanguínea / número CVC-dia x 1000.

4.4. PRÉ-INTERVENÇÃO

Foi realizado entre os meses de outubro/2010 e janeiro/2012, através de vigilância epidemiológica pelo sistema NHSN, com busca de ICS-AC.

4.5. INTERVENÇÃO

O pacote de medidas para controle e prevenção das ICSH foi discutido e elaborado pela equipe executora do projeto, juntamente com profissionais da unidade, dentre eles a médica responsável pela unidade, e incluiu os procedimentos para inserção, cuidados e manutenção do CVC, adaptados

do “guideline” do “Centers for Disease Control and Prevention” (O’GRADY et al., 2011) listados abaixo:

- Evitar a contaminação e colonização do CVC enfatizando a importância da higiene adequada das mãos e técnica asséptica durante a inserção e manipulação do CVC, utilizando precauções com barreira máxima envolvendo campo estéril longo, uso de avental e luvas estéreis, além de máscara e gorro;
- Preparar a pele antes da inserção do CVC usando clorexidina como antisséptico antes do acesso vascular;
- Substituir dos equipos a cada 48/72 hs e 24h quando da infusão de lipídios;
- Realizar o curativo, incluindo o uso de gaze estéril nas primeiras 24h, e após o curativo oclusivo transparente permeável para cobrir o sítio de inserção do CVC, com troca apenas quando apresentar-se frouxo ou sujo, ou quando houver perda do acesso venoso;
- Remoção do CVC quando não for mais necessário.

O período de intervenção foi dividido em duas etapas: higiene das mãos e cuidados e manutenção do CVC. Nestas oportunidades houve a retroalimentação dos profissionais com os indicadores epidemiológicos das ICSH da unidade. A intervenção foi realizada em fevereiro/2012, com reuniões semanais, com a duração de 30 minutos, nos períodos matutino, vespertino e noturno.

Adicionalmente, cartazes coloridos em tamanho A3 foram afixados em áreas estratégicas da UTI, com ênfase na importância da higiene das mãos, além de cuidados e manutenção do CVC no controle de infecções de corrente sanguínea associadas ao CVC. Estes foram trocados semanalmente.

4.6. PÓS-INTERVENÇÃO

A vigilância epidemiológica de ICSH foi continuada no período de março a agosto de 2012, e um “check list” foi elaborado para monitorar a adesão dos profissionais aos procedimentos incluídos no “bundle”. (APÊNDICE II).

4.7. ESTUDO DA PATOGÊNESE

No estudo da patogênese foram incluídos 94 neonatos, escolhidos aleatoriamente, e em uso de CVC. Foram coletadas amostras dos sítios listados abaixo antes da positivação da cultura de sangue.

4.8. TÉCNICAS MICROBIOLÓGICAS

A coleta de material para a realização das culturas microbiológicas para o estudo da patogênese foi realizada a partir dos seguintes sítios:

4.8.1. Pele No Sítio De Inserção do CVC

Foram realizadas coletas com 48h, no sétimo e após quatorze dias da inserção do dispositivo, ou até positivação da hemocultura, com utilização de um campo fenestrado delimitando uma área de 20 cm² através de um swab pré-umedecido em salina, e posteriormente colocado em um tubo contendo 1mL de salina estéril. Os tubos foram agitado em vortex 0,1mL da suspensão resultante foi inoculado em placas de Ágar Sangue e Manitol Salgado, seguindo-se incubação à 37°C por 24h. As culturas foram consideradas como positivas quando de um crescimento de ≥ 200 UFC/ 20 cm² de camada córnea (MAKI; RINGER; ALVARADO, 1991).

4.8.2. Canhão Do Cateter

Foram realizadas coletas com 48h, no sétimo e após quatorze dias da inserção do dispositivo, ou até positivação da hemocultura, com uso de um swab, colocado em um tubo contendo 1mL salina estéril. No laboratório, o tubo foi agitado em vortex e, cerca de 0,1mL do líquido, inoculado em placas de Ágar Sangue e Manitol Salgado incubadas a 37°C por 24h.

4.8.3. Mucosa Nasal E Intestinal

Foram realizadas coletas com 48h, no sétimo e após quatorze dias da inserção do dispositivo, ou até positivação da hemocultura. Foram coletados material na narina e na região perianal com auxílio de swab estéril e transportados rapidamente para o Laboratório de Microbiologia em tubos

contendo 1,0 mL de solução salina estéril. O tubo foi agitado em vortex e um inóculo de 0,1 mL semeado em placas de Agar Manitol Salgado e “*Trypticase Soy Agar*” (TSA), seguindo-se incubação a 37°C por 48 horas.

4.8.4. Ponta do CVC

O cateter foi removido em condições assépticas, sua ponta foi cortada com tesoura estéril e transportada para o laboratório de microbiologia em tubo estéril. As culturas foram realizadas através das seguintes técnicas:

a) Semi-Quantitativa “Roll-Plate” (Maki)

Um segmento de 5cm da ponta do cateter foi utilizado para o cultivo em Ágar Sangue e Manitol Salgado, através da sua rolagem por quatro a cinco vezes sobre a superfície das placas, seguindo-se incubação à 35°C por 48h. O crescimento de ≥ 15 colônias foi indicativo de colonização/infecção e considerada como uma cultura semi-quantitativa positiva (MAKI; WEISE; SARAFIN, 1977).

b) Técnica do “Vortexing”

As culturas das pontas de cateter foram realizadas quantitativamente (BRUN-BUISSON et al., 1987), com modificações: um segmento de aproximadamente 5cm da ponta de cateter foi colocado em um tubo contendo 10mL de solução salina fosfatada tamponada (PBS) acrescido de 0,1% de Tween 80 e agitado em vortex por 1 minuto. Uma alíquota de 0,1mL da suspensão resultante foi semeada em placa de Ágar Sangue seguindo incubação à 35°C por 48 horas. A cultura foi considerada positiva quando o crescimento foi $\geq 10^3$ UFC/mL.

4.8.5. Hemoculturas

O agente etiológico das hemoculturas positiva foi identificado no laboratório de Hospital de Clínicas pelo sistema automatizado Vitek 2® (Biomérieux, França).

4.8.6. Estocagem das Amostras

As culturas provenientes dos diversos sítios descritos anteriormente foram estocadas em tubos contendo o meio “Brain Heart Infusion” (BHI) acrescido de glicerol 20%, e mantidos no freezer a -20°C até a realização dos testes fenotípicos e genotípicos.

4.8.7. Caracterização do Gênero *Staphylococcus*

As amostras foram coradas pelo método de Gram, objetivando-se a observação das características morfotintoriais. Após a confirmação dessas características, elas foram submetidas aos testes de catalase, coagulase, óxido-fermentação da glicose e suscetibilidade à bacitracina, realizados segundo Bannerman (2003) e MacFaddin (1976).

a) Presença da Enzima Catalase

Foi verificada em lâmina de microscopia pela mistura da suspensão bacteriana com solução de peróxido de hidrogênio a 3%. A formação de bolhas foi indicativo da presença da enzima. As amostras padrão *S. epidermidis* ATCC-12228 (*American Type Culture Collection*) e *Enterococcus faecalis* ATCC -29212 foram utilizadas como controles positivo e negativo, respectivamente.

b) Óxido-Fermentação da Glicose

O metabolismo fermentativo ou oxidativo foi verificado em meio OF acrescido de 1% de glicose. A amostra foi sub-cultivada em dois tubos contendo o meio de OF, sendo um deles coberto com uma camada de óleo mineral. Em seguida, os tubos foram incubados por 48 hs à 37°C, e a mudança de cor, quando presente em ambos foi indicativa de metabolismo fermentativo, enquanto a observação de alteração de cor apenas no tubo sem o óleo de metabolismo oxidativo. As amostras controle utilizadas foram as de *Staphylococcus aureus* ATCC-25923 (fermentador) e *P. aeruginosa* ATCC-25853 (oxidativo).

c) Suscetibilidade à Bacitracina

O inóculo foi feito a partir de uma suspensão bacteriana em salina estéril padronizada segundo a turvação correspondente ao tubo 0,5 da escala McFarland ($\approx 10^8$ UFC/mL). Foi semeada com

auxílio de swab em Ágar Mueller-Hinton e incubada a 37°C por 24h, após a aplicação de um disco contendo 0,04U de bacitracina na superfície do meio. As amostras que apresentaram halos de inibição menores ou iguais a 10mm foram consideradas resistentes a bacitracina, utilizando-se como controle positivo (bacitracina resistente) uma amostra de *Staphylococcus* sp. e como controle negativo *Micrococcus luteus* ATCC 10240.

d) Coagulase Ligada (Fator “Clumping”)

Foi realizado sobre uma lâmina de microscopia pela adição de uma gota de plasma de coelho e outra de uma suspensão bacteriana preparada em salina. O controle do teste foi realizado utilizando-se apenas a suspensão bacteriana. A leitura do teste foi feita após 60 segundos pela visualização da formação de grumos. A amostra padrão utilizada como controle positivo foi *S. aureus* ATCC 25923 e a de *S. epidermidis* ATCC 12228 como controle negativo.

e) Coagulase Livre

A partir de colônias isoladas em Agar sangue, uma alça microbiológica contendo a cultura foi transferida para tubo com plasma de coelho diluído 1:4 (v:v) em solução salina. A leitura foi feita após 4 hs. e a confirmação do resultado negativo realizada em 24 h, após a incubação à 37°C em estufa. As amostras padrão de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *S. epidermidis* ATCC 12228 foram utilizadas como controles positivo e negativo, respectivamente.

4.8.8. Identificação Das Espécies De *Staphylococcus Coagulase-Negativa* e Outros Cocos Gram Positivos

As amostras de SCN e outros cocos Gra-positivos isolados foram identificadas quanto à espécie no Laboratório de Microbiologia do HC-UFG pelo sistema automatizado Vitek 2® (Biomérieux, França).

4.9. TESTE DE SUSCETIBILIDADE Á OXACILINA

As amostras foram subcultivadas em “Trypticase Soy Agar” (TSA) pela técnica de esgotamento e incubadas à 37°C por 24 horas. Em seguida, cerca de 3 a 5 colônias foram semeadas em tubos contendo 3mL de caldo BHI, incubando-se à 37°C. A suspensão resultante foi padronizada quanto a turvação segundo a escala 0,5 de MacFarland, que corresponde a uma concentração de aproximadamente $1,2 \times 10^8$ UFC/mL, e, com o auxílio de um swab estéril semeou-se em placas de Agar Mueller-Hinton acrescida de 6 μ g de oxacilina, segundo a metodologia do “Clinical and Laboratory Standards Institute” - CLSI (2010). As leituras foram realizadas após a incubação a 37°C, por 18h.

4.10. TÉCNICAS MOLECULARES

4.10.1. EXTRAÇÃO DO DNA GENÔMICO

As amostras de *S. epidermidis* foram cultivadas em ágar BHI a 37°C por 24h. Colônias bacterianas isoladas de cada amostra foram ressuspensas em 1mL de tampão Tris-EDTA 1x (TE, 10 mM Tris HCl, 1 mM EDTA [pH 8,0]) e centrifugadas por 2 minutos a 12000xg. O “pellet” bacteriano foi ressuspensido novamente em 1mL de tampão TE e centrifugadas por 2 minutos a 12000xg e posteriormente ressuspensido em 1mL de tampão TE e fervidos 10 minutos em termobloco. Os tubos foram novamente centrifugados por 2 minutos a 12000xg e 500 μ L do sobrenadante foi recuperado. O DNA extraído foi quantificado por espectrofotometria (Nanodrop®).

4.10.2. DETECÇÃO DOS GENES *ICAAD* ASSOCIADOS A FORMAÇÃO DE BIOFILME

A detecção dos genes associados com a produção de biofilme em *S. epidermidis* foi realizada para os gene *icaAD* (ARCIOLA; BALDASSARRI; MONTANARO, 2001). A reação foi preparada para um volume final de 25 μ L utilizando os seguintes reagentes: 10 ng de DNA bacteriano Mix de dNTP a 0,2mM, RED Taq® DNA Polimerase (Sigma-Aldrich, Estados Unidos) com MgCl₂ a 0,05U/ μ L, tampão da Taq 1X e 0,5 μ M de cada primer e água ultrapura estéril para completar o volume total da reação. As condições de amplificação tanto para *icaA* e *icaD* foram as seguintes:

desnaturação inicial a 94°C durante 5 minutos, seguidos de 50 ciclos com desnaturação a 94°C por 30s, anelamento a 55,5°C por 30 segundos, extensão a 72°C por 30s, e extensão finala 72°C por 1 minuto, após a conclusão dos 50 ciclos. Após os primeiros 30 ciclos, mais 0,05U de RED Taq® DNA Polimerase foi adicionada. A sequência dos primers utilizados e o tamanho do produto amplificado de cada gene estão descritas na **Tabela 1**. A eletroforese foi realizada a 100V por aproximadamente 60 minutos em agarose 1,5% preparada em Tris-borato-EDTA (TBE) 0,5X. Após eletroforese, o gel foi corado com SYBR® Safe (Invitrogen, Brasil) e então fotografado utilizando o sistema de fotodocumentação L-Pix EX (Loccus Biotecnologia, Brasil). O *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984 PCR foi utilizado como controle positivo para o ensaio.

Tabela 1: Sequência dos primers, e tamanho do produto amplificado nas reações de PCR para identificação dos genes *icaAD* associados a formação de biofilme em *S. epidermidis*

Gene alvo	Primer	Sequências (5'-3')	Produto Amplificado (pares de base)
<i>icaA</i>	<i>icaA</i> _F	TCTCTTGCAGGAGCAATCAA	188
	<i>icaA</i> _R	TCAGGCACTAACATCCAGCA	
	<i>icaD</i> _F	ATGGTCAAGCCCAGACAGAG	
<i>icaD</i>	<i>icaD</i> _R	CGTGTTTCAACATTAAATGCAA	198
	F: “Forward”; R: “Reverse”		

4.10.3. TIPAGEM MOLECULAR POR PFGE “PULSED FIELD GEL ELETROPHORESIS”

O protocolo experimental utilizado nesse estudo para tipagem molecular pela técnica de PFGE foi formulado a partir das metodologias propostas por Goering (2010) e McDougal et al. (2003). Uma única colônia de cada amostra teste de *S. epidermidis* foi inoculada em 3mL de caldo TSB e incubada *overnight* (16-18 horas) a 37°C, sob agitação vigorosa a 200rpm. Após o período de incubação, a medida da densidade óptica (OD) da suspensão bacteriana resultante foi ajustada para

0,9 - 1,10 (OD_{640nm}). Uma alíquota de 200 µL da suspensão celular foi transferida para um tubo *eppendorf*, centrifugada a 12.000xg, 4°C por 2 minutos e o sobrenadante completamente descartado.

O precipitado foi gentilmente ressuspendido em 200µL do tampão de lise - EC (6mM Tris HCl, 1M NaCl, 100 mM EDTA, Brij 58 0,5%, deoxicolato de sódio 0,2%, lauril sarcosinato de sódio 0,5%). Imediatamente, 200 µL de Agarose *low melting point* (Ludwig Biotecnologia, Brasil) 2% (p/v) preparada em tampão EC e previamente equilibrada a 55°C foram adicionadas a suspensão celular, seguido por 30 µL de lisostafina (solução estoque a 1mg/mL em 20 mM de tampão acetato de sódio [pH 4,5], Sigma Aldrich, Estados Unidos). A solução foi rapidamente homogeneizada, dispensada em moldes e mantida à temperatura ambiente por aproximadamente 15 minutos até a solidificação.

Os blocos de Agarose foram removidos e transferidos para tubos contendo 10mL de tampão EC e incubados a 37° C, sob leve agitação (50rpm), durante 1h. Após a incubação, o tampão EC foi substituído por tampão Tris-EDTA (TE, 10mM Tris HCl, 1mM EDTA [pH 8,0]) e os tubos novamente incubados a 55°C, sob agitação a 50rpm por 1h. O TE foi então descartado, substituído por uma nova solução do tampão e os tubos incubados *overnight*, a 37°C, sob agitação a 50rpm. A etapa de lavagem se repetiu por pelo menos mais 2 vezes, a 37°C, sob agitação a 50rpm durante h cada. Os blocos foram então estocados a 4°C, em tampão TE, até a digestão enzimática.

Para digestão do DNA, uma pequena parte do bloco de Agarose (~2 mm) foi incubada em 4 µL da solução tampão da enzima *Sma*I 1X (Sigma-Aldrich, Estados Unidos) e mantida a 25° C por 4h. Essa solução foi desprezada, e uma nova solução acrescida de 30U da enzima de restrição *Sma*I foi adicionada em cada tubo. A reação foi incubada a 25° C por 10h.

A eletroforese foi realizada em gel de Agarose 1% (Agarose Campo Pulsado, Agargen, Brasil) preparado em TBE 0,5X. Os blocos de Agarose já digeridos foram dispostos no pente e o peso molecular (Lambda Ladder PFG Marker, New England Biolabs) carregado diretamente nos poços somente após a solidificação do gel. A corrida eletroforética foi realizada no aparelho CHEF DR®III (BioRad, Estados Unidos), utilizando-se a solução tamponante TBE 0,5X, nas seguintes

condições: pulso inicial de 5 segundos e final de 40 segundos, ângulo de 120°, 200 V (6V/cm), a temperatura de 12° C durante 21 horas. Após a eletroforese, o gel foi corado com brometo de etídio 1µg/mL sob leve agitação por 45 minutos, e decorado em água destilada pelo mesmo período de tempo.

O perfil eletroforético de macrorrestricção foi analisado utilizando o software GelCompar II versão 6.6 (Applied Maths, Bélgica). A similaridade genética dos isolados foi determinada pelo índice de similaridade de Dice e o dendrograma foi construído segundo o método UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averages*). Isolados com similaridade genética superior a 80% foram considerados do mesmo perfil clonal, os parâmetros de tolerância e otimização foram de 1,25 e 0,5%, respectivamente.

4.11. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística dos fatores de risco para desenvolvimento de ICSH foi realizada utilizando-se o teste χ^2 para comparação entre as variáveis qualitativas, o teste exato de Fisher para analisar as variáveis com o n menor ou igual a 5. Os números de pacientes que apresentavam determinado fator de risco foram comparados individualmente contra uma variável resposta (análise univariada) através de tabelas de contingência do tipo dois por dois (2 x 2). Para comparação das taxas de ICSH nos meses de janeiro foram avaliadas as taxas destes meses específicos com os outros meses do período de estudo, excluindo período de relocação. As taxas de incidência de ICSH no período de relocação foram calculados também para três períodos: meses anteriores (outubro de 2010 a março de 2011), relocação (abril de 2011 a outubro de 2011) e meses posteriores (março-agosto de 2012). As taxas de incidência de ICSH no período de intervenção foi calculada no período pré intervenção (outubro de 2010 a janeiro de 2012) e pós-intervenção (fevereiro 2012 a agosto de 2012), também excluindo período de relocação. Foi calculado o “incidence rate ratio” (IRR) para cada evento. O gráfico para a avaliação da curva endêmica de ICSH por 1000 pacientes-dia e 1000 CVC-dia foi calculado baseado na distribuição probabilística de Poisson segundo Arantes et al., (2003). O

Software utilizado para estes testes foi o GraphPad Prism, versão 4.0 (San Diego, Estados Unidos). Para a análise multivariada foi utilizado o modelo de regressão logística (análise multivariada) através do programa BioStat versão 5.0 (Belém, Brasil). A significância estatística foi definida por um valor de $P \leq 0,05$.

4.12. COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HC-UFU sob análise final nº para 033/11 e protocolo registro CEP/UFU 464/10 (Anexo II).

5. RESULTADOS

No total, 551 recém-nascidos foram internados na UTIN durante o período de outubro/2010 a agosto/ 2012. 112 recém-nascidos desenvolveram ICS (20,3%) totalizando 178/551 episódios (32,3%), com 139/551 (25,2%) definidas como de origem hospitalar, e apenas 39/551 (6,8%) como sepse de origem materna. Nas de origem hospitalar, 76,9% dos episódios tiveram hemocultura positiva (Tabela 2). Setenta e oito (69,6%) crianças tiveram um único episódio de sepse e trinta e quatro (38,3%) crianças tiveram dois ou mais episódios. Das ICS, 53,0% ocorreram em crianças com baixo peso ao nascer ($<1500g$). A taxa de incidência global de ICS no estudo foi de 16,1/1000 pacientes-dia e 23,0/1000 CVC-dia. O tempo médio de permanência foi de 18,8 dias e a taxa de densidade de utilização do CVC foi de 0,7 (**Tabela 2**).

Tabela 2. Indicadores epidemiológicos de infecções de corrente sanguínea na unidade de terapia intensiva neonatal do HC-UFG, no período de outubro/2010 a agosto/2012

Indicadores epidemiológicos	N (%)
Infecção de corrente sanguínea	178 (32,3)
Materna	39 (6,8)
Critério Clínico	36 (92,3)
Critério Microbiológico	3 (7,6)
Hospitalar	139 (25,2)
Critério Clínico	32 (23,2)
Critério Microbiológico	107 (76,9)
Infecção de corrente sanguínea /1000 pacientes-dia	16,1
Infecção de corrente sanguínea /1000 CVC-dia	23,0
Tempo médio de permanência (dias)	18,8
Densidade de utilização	0,7

* CVC: Cateter venoso central

As características gerais dos pacientes e os resultados da análise univariada e multivariada dos fatores de risco potenciais para o desenvolvimento de ICSH são apresentadas na **tabela 3**. Pela análise univariada, a idade gestacional <37 semanas ($P = 0,01$), peso ao nascer <1500 g ($P = 0,001$), o uso de CVC ($P < 0,001$), nutrição parenteral ($P < 0,001$) e ventilação mecânica ($P < 0,001$) foram apontados como fatores de risco significantes. Os seguintes fatores de risco permaneceram independentemente associados com ICSH: o uso de CVC ($P < 0,001$), tempo de permanência maior que 7 dias ($P < 0,001$) e ventilação mecânica ($P < 0,001$) pela análise multivariada (**Tabela 3**).

Tabela 3. Fatores de risco e características gerais de pacientes com e sem infecção de corrente sanguínea hospitalar internados na unidade de terapia intensiva neonatal do HC-UFG, no período de outubro/2010 a agosto/2012.

	Total N=551 (%)	Neonatos		Análise Univariada		Análise Multivariada	
		Com ICSH 112 (20,3%)	Sem ICSH 430 (79,6%)	P	OR (95%CI)	P	OR (95%CI)
Características							
Idade Gestacional < 37 semanas	366 (67,5)	86 (76,7)	280 (65,1)	0,01	1,77 (1,07-2,95)	0,04	1,83 (1,03-3,26)
Peso ao nascer < 1500 g	173 (31,9)	60 (53,5)	113 (26,2)	<0,001	3,24 (2,06-5,09)	0,01	2,70 (1,16-3,74)
Apgar em 5 min <5	14 (2,5)	2 (1,7)	12 (2,7)	0,74	0,69 (0,10-2,50)	-	-
SNAPPE II							
0-10	192 (35,4)	28 (25,0)	164 (38,1)	0,01	0,54 (0,33-0,88)	-	-
11-20	119 (21,9)	20 (17,8)	99 (23,0)	0,29	0,73 (0,41-1,27)	-	-
21-30	65 (11,9)	22 (19,6)	43 (10,0)	0,008	2,20 (1,21-4,00)	-	-
31-40	41 (7,5)	11 (9,8)	30 (6,9)	0,41	1,45 (0,66-3,14)	-	-
>40	72 (13,2)	21 (18,7)	51 (11,8)	0,07	1,71 (0,95-3,09)	-	-
Cateter Venoso Central	359 (66,2)	106 (94,6)	253 (58,8)	<0,001	12,36 (5,10-31,93)	<0,001	5,10 (2,32-11,26)
Nutrição Parenteral	223 (41,1)	77 (68,7)	146 (33,9)	<0,001	4,28 (2,68-6,86)	-	-
Ventilação Mecânica	242 (44,6)	76 (67,8)	166 (38,6)	<0,001	3,36 (2,11-5,35)	<0,001	2,72 (1,65-2,42)
Tempo de Permanência > 7 dias	308 (56,8)	90 (80,3)	218 (50,6)	<0,001	3,38 (2,35-6,80)	<0,001	3,13 (1,85-5,31)

ICSh: Infecção de corrente sanguínea hospitalar; OR: “Odds ratio”.

No estudo, foi verificado que 66,3% (71/107) das ICSh com critério microbiológico foram causadas por cocos Gram-positivos, 25,2% (27/107) por bacilos Gram-negativos e 8,4% (9/107) por espécies de *Candida*. O *S. epidermidis* foi o agente etiológico mais frequentemente isolado, correspondendo a 38,3% dos episódios, seguido pelo *S. aureus* (13,0%). Entre os bacilos Gram negativos, *K. pneumoniae* foi a espécie mais frequente (8,4%) (**Tabela 4**).

Tabela 4. Microrganismos isolados de infecções de corrente sanguínea de origem hospitalar com critério microbiológico em pacientes internados na unidade de terapia intensiva neonatal do HC-UFU, no período de outubro/2010 a agosto de 2012.

Microrganismos	Episódios de ICSh N =107 (%)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	41(38,3)
Outros SCN*	7 (6,5)
<i>Staphylococcus aureus</i>	14 (13,0)
<i>Enterococcus faecalis</i>	6 (5,6)
Ourtos CGP**	3 (2,8)
<i>Escherichia coli</i>	8 (7,4)
<i>Enterobacter cloacae</i>	1 (0,9)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9 (8,4)
<i>Citrobacter Koseri</i>	2 (1,8)
<i>Serratia marscecens</i>	2 (1,8)
<i>Stenotrophomonas maltophylia</i>	1(0,9)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	2 (1,8)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 (0,9)
Outros BGN***	1 (0,9)
<i>Candida</i> spp.	9 (8,4)

ICSh: Infecção de corrente sanguínea hospitalar; SCN: *Staphylococcus* coagulase negativa; CGP:Cocos gram positivos; BGN: Bacilo gram negativo. *Outros SCN: *S. haemolyticus* N=3(2,8%); *S. capitis* N=3 9(2,8%); *S. lugdunensis* N=1 (0,9%). **Outros CGP:não identificada a espécie; ***Outros BGN: não identificada a espécie.

As taxas mensais de incidência de ICSH/1000 pacientes-dia revelaram variações importantes durante o período de estudo (**Figura1**), sendo significantemente maiores (59,6/1000 pacientes-dia) nos meses de janeiro de 2011 e 2012 quando comparadas com as taxas dos outros meses estudados (16,6/1000 pacientes-dia) de acordo com a análise do IRR (IRR=3,59; $P<0,001$). Foi verificada também uma redução significativa nas taxas destas infecções no período de relocação da Unidade para uma unidade provisória quando comparada com as taxas dos meses anteriores: 10,3/1000 pacientes-dia e 26,7/1000 pacientes-dia, respectivamente (IRR=2,59; $P=0,007$) (**Tabela 5**).

Adicionalmente, após o início da adoção do pacote de medidas preventivas criado no estudo, foi observada uma redução significativa nas taxas de incidência de ICSH de 23,4/1000 pacientes-dia para 14,7/1000 pacientes-dia, verificadas nos períodos de pré-intervenção e pós-intervenção, respectivamente (IRR=1,59; $P=0,04$) (**Tabela 5**). Não foi verificada quebra nas barreiras de precaução e as medidas foram seguidas conforme o estabelecido no protocolo. Estes dados foram verificados a partir do preenchimento de um “check list” utilizado no mês de março.

Merece registro que não houve diferença significativa nas características: idade gestacional, SNAPPE-II, número de neonatos internados com baixo peso e APGAR<5 em 5 minutos entre estes períodos, descartando a possibilidade de variáveis que pudessem ter impacto na taxa de infecção da unidade.

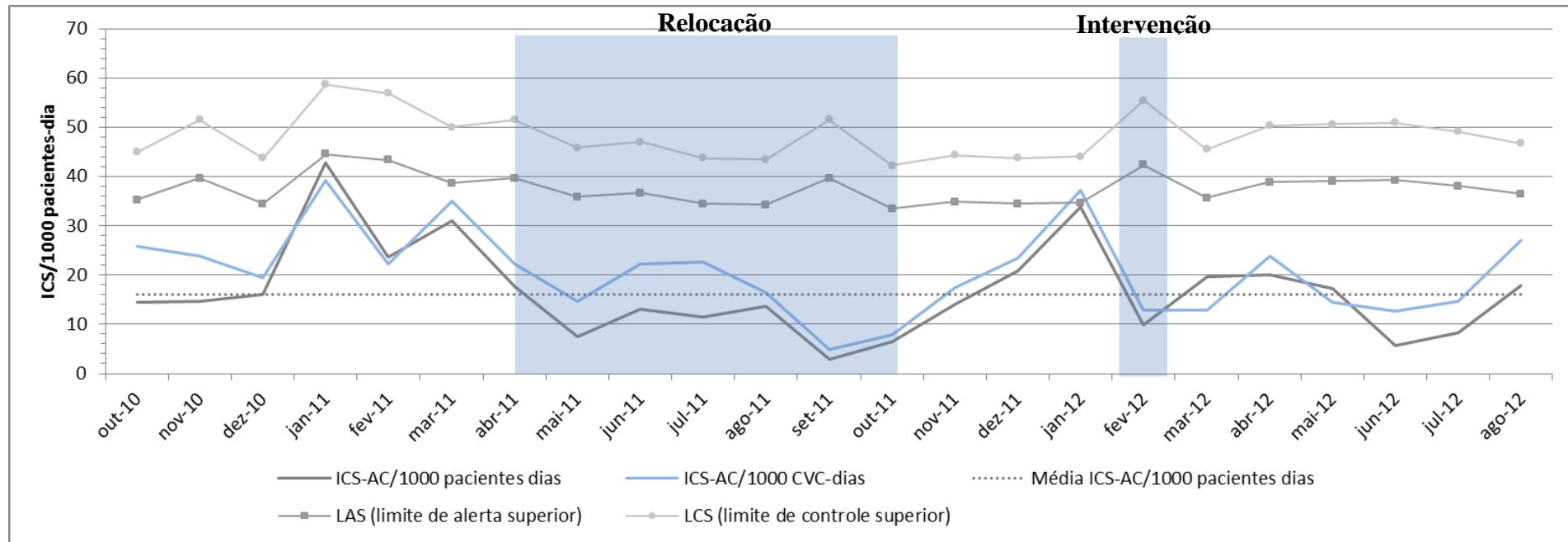


Figura 1. Curva endêmica de infecções de corrente sanguínea de origem hospitalar em neonatos internados na unidade de terapia intensiva neonatal do HC-UFGO, no período de outubro/2010 a agosto/2012.

Tabela 5. Comparação das taxas de incidência de ICSh/1000 pacientes-dia durante os meses de janeiro, relocação da unidade e intervenção.

Eventos	Taxa de incidência		IRR	P (95%CI)
Meses de Janeiro				
Meses de janeiro	59,6	16,6	-	TI (Meses de Janeiro)/ TI (Outros meses) 3,59 <0,001 (1,85-6,60)
Meses anteriores				
Relocação	26,7	10,3	16,7	TI(Meses anteriores)/ TI(Relocação) 2,59 0,007 (1,20-3,66)
Pré-intervenção				
Intervenção	23,4	14,7	-	TI (Pré-intervenção)/ TI (Pós intervenção) 1,59 0,04 (1,01-2,69)

TI: taxa de incidência; IRR: “Incidence rate ratio”

Durante os meses de janeiro a agosto de 2011, foi realizada coleta de amostras do sítio de inserção, canhão e ponta do CVC, além das mucosas intestinal e nasal para determinação da patogênese de ICS-AC em um grupo de 94 pacientes selecionados aleatoriamente. Os microrganismos isolados destes sítios estão detalhados na **Tabela 6**. Neste grupo foram identificadas 19 (20,2%) neonatos com bacteremia primária por *S. epidermidis*, sendo que 84,2% utilizavam o PICC, mantido por tempo superior a 7 dias. Apenas 3 pacientes (15,8 %) tiveram o cateter por tempo menor que 7 dias, sendo um do tipo umbilical, uma flebotomia e apenas 1 PICC. A maioria dos neonatos era de baixo peso (68,4%) e faziam uso de nutrição parenteral (78,9%) (**Tabela 6**).

Tabela 6. Microrganismos isolados de neonatos incluídos no estudo da patogênese de infecção de corrente sanguínea por *S. epidermidis*.

Paciente Infectado	Sítios de Isolamento						Duração	Tipo de CVC
	Sangue Periférico	Ponta	Canhão	Sítio de inserção	Intestinal	Narina		
1	<i>S. epidermidis</i>	-	<i>S. epidermidis</i>	-	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	9	PICC
13	<i>S. epidermidis</i>	-	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. capitis</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. warneri</i>	6	Flebotomia
15	<i>S. epidermidis</i>	-	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	-	1	PICC
20	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	-	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. lugdunensis</i>	<i>S. epidermidis</i>	16	PICC
22	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. capitis</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	12	PICC
26	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	NR	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	48	PICC
29	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	-	<i>S. epidermidis</i>	17	PICC
37	<i>S. epidermidis</i>	-	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. epidermidis</i>	19	PICC
45	<i>S. epidermidis</i>	NR	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	17	PICC
47	<i>S. epidermidis</i>	-	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	NR	NR	24	PICC
49	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. capitis</i>	27	PICC
51	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	9	PICC
52	<i>S. epidermidis</i>	-	<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	5	Umbilical
57	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. capitis</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	11	PICC
62	<i>S. epidermidis</i>	NR	<i>S. epidermidis</i>	NR	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	15	PICC
69	<i>S. epidermidis</i>	-	NR	NR	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	15	PICC
75	<i>S. epidermidis</i>	-	<i>S. epidermidis</i>	<i>E. faecium</i>	-	<i>E. faecalis</i>	34	PICC
82	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	10	PICC
86	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	-	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	7	Umbilical

CVC: Cateter venoso central; PICC: Cateter central de inserção periférica. NR: Não realizada.

Dos 19 pacientes que apresentaram *S. epidermidis* no sangue, a maioria apresentou a mesma espécie em todos os outros sítios avaliados. A taxa de colonização/contaminação dos sítios incluídos na patogênese está descritas na **Tabela 7**. 47,3% dos pacientes com ICSH tiveram a ponta do CVC contaminada pelo *S. epidermidis*. Taxas superiores a 50,0% foram observadas para contaminação do canhão (68,4%), colonização da pele no sítio de inserção (57,8%), e nas mucosas nasal e intestinal (73,6%). Em 3 pacientes, o canhão apresentou outros microrganismos que não o *S. epidermidis* (15,7%). A pele no sítio de inserção foi colonizada por outros microrganismo também em 3 neonatos (15,7%), e 5 pacientes (26,3%) tiveram as mucosas nasal e intestinal colonizada por outros microrganismos.

Tabela 7. Colonização da ponta, canhão, sítio de inserção e mucosas nasal e intestinal isoladas de 19 de neonatos com hemocultura positiva incluídos no estudo da patogênese de *S. epidermidis*.

Microrganismo	Ponta	Canhão	Sítio de Inserção	Intestino	Narina	Total
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	
<i>S. epidermidis</i>	9 (47,3)	13 (67,4)	11 (57,8)	14 (73,6)	14 (73,6)	61
<i>S. capitnis</i>	-	1 (5,2)	2 (10,4)	-	1 (5,2)	4
<i>S. haemolyticus</i>	-	1 (5,2)	-	1 (5,2)	-	2
<i>S. lugdunensis</i>	-	-	-	1 (5,2)	-	1
<i>S. aureus</i>	-	1 (5,2)	-	-	-	1
<i>S. warneri</i>	-	-	-	-	1 (5,2)	1
<i>E. facecalis</i>	-	-	-	-	1 (5,2)	1
<i>E. faecium</i>	-	-	1 (5,2)	-	-	1

O perfil de resistência das amostras de *S. epidermidis* isoladas de sangue dos 19 neonatos incluídos no estudo da patogênese mostrou que 63,1% dos isolados apresentaram perfil de multirresistência, com 89,4% resistentes a gentamicina, 57,8% resistentes a clindamicina e a eritromicina, e 15,7% resistentes a ciprofloxacina e sulfazotrim. Todos os isolados de *S. epidermidis* pertenciam ao fenótipo MRSE. 80,0% dos isolados de sangue apresentaram o gene *icaAD*.

A similaridade genética entre as amostras recuperadas dos diferentes sítios avaliados para o estudo da patogênese foi realizada pela técnica de PFGE, e em função do custo, foram incluídos 32 isolados de *S. epidermidis*. Não foi possível determinar o perfil de macrorestrição para 5 isolados, devido a degradação do DNA. Os resultados obtidos gerando o dendograma de similaridade genética está apresentado na **Figura 2**. No total, foram encontrados 7 perfis genotípicos distintos de MRSE diferenciados entre si por um coeficiente de similaridade acima de 80,0%. Observou-se a disseminação de um clone prevalente na unidade (clone A), detectado em 77,8% das amostras analisadas. Apenas o clone A presentou 4 subtipos (A1, A2, A3 e A4). 60,0% dos isolados de sangue pertencentes ao clone A foram caracterizado como multirresistentes.

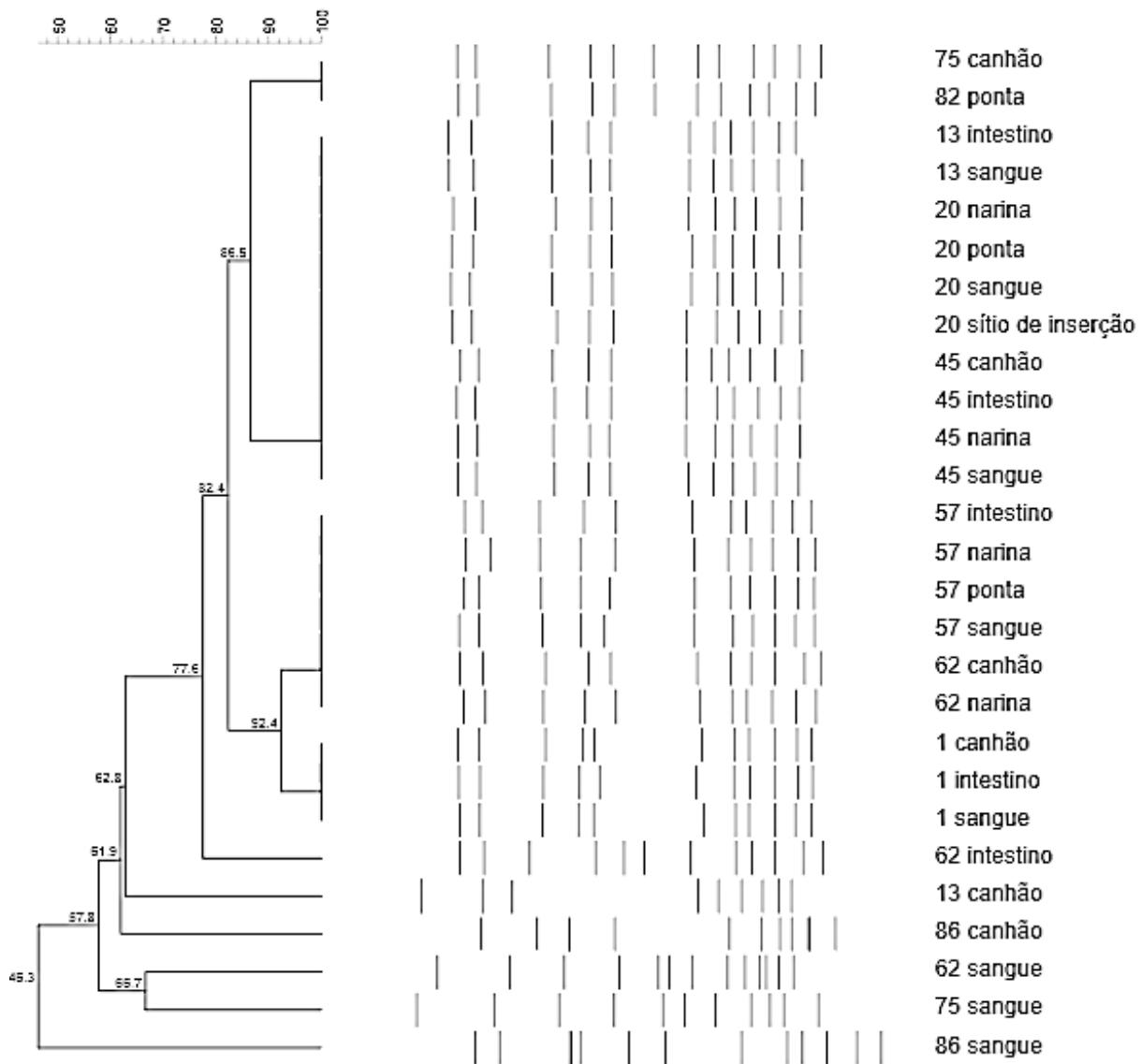


Figura 2. Dendrograma gerado por análise computadorizada de perfis clonais de DNA de amostras clínicas de *S. epidermidis* baseado no PFGE. A análise foi realizada pelo método de Dice/UPGMA (parâmetro de tolerância de 1,25%, otimização 0,5%, similaridade $\geq 80,0\%$).

Observou-se a disseminação do clone A durante todo o período de investigação da patogênese de ICS-AC (janeiro a agosto /2011), de forma mais intensa no mês de janeiro (Figura 3). A Figura 3 mostra relação temporal entre os pacientes infectados, incluindo sua evolução para óbito e aquisição de infecção de corrente sanguínea. Dos 19 pacientes incluídos no estudo da patogênese de ICS-AC, 17 foram colonizados pelo *S. epidermidis* antes de desenvolver a infecção,

considerando uma média de 9,6 dias (variação 2-23) entre a admissão e a colonização. Uma vez colonizado, o paciente desenvolveu a infecção em média 15 dias (variação 1-44) após a colonização. Apenas para dois pacientes não foi possível avaliar a colonização antes da infecção, uma vez que a coleta só pode ser realizada após a identificação do microrganismo no sangue. Foi observado um cluster no mês de janeiro caracterizado pela presença do clone A.

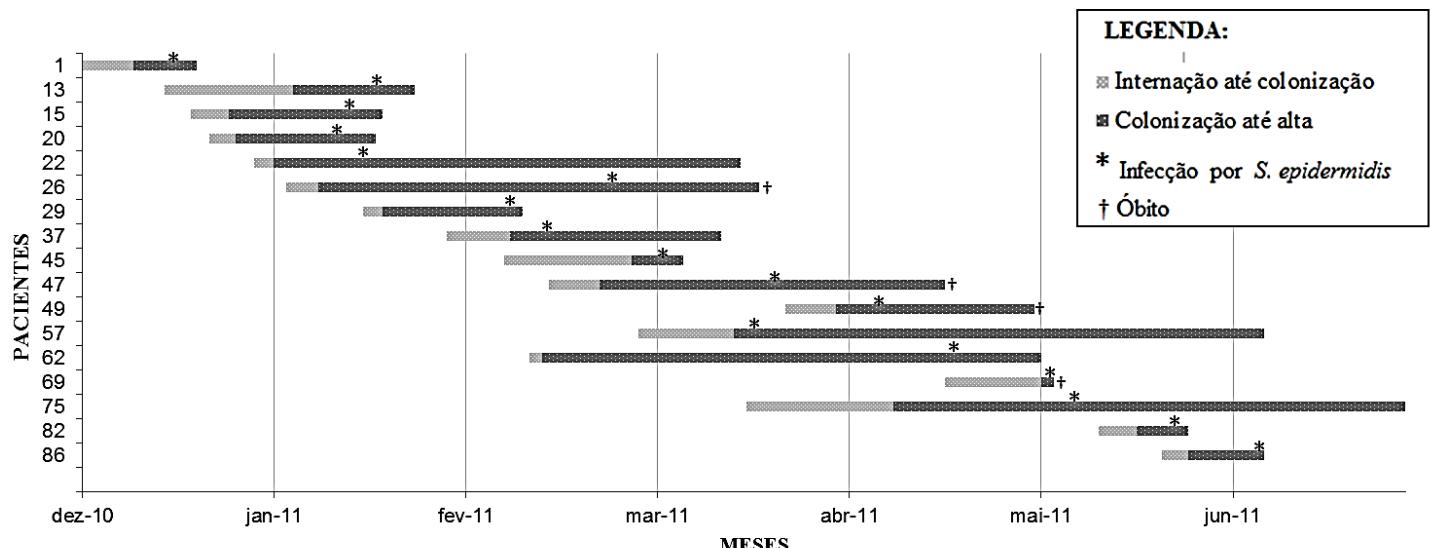


Figura 3. Relação temporal/espacial entre os pacientes incluídos no estudo da patogênese no período de outubro/2010 a agosto/2012. 2 pacientes foram excluídos por ter sangue positivo para *S. epidermidis* antes da primeira coleta.

Adicionalmente, metade dos casos de ICS foram considerados infecção de corrente sanguínea relacionada ao cateter (ICS-RC) de acordo com a definição de Garland e colaboradores (2008). Quanto a via de disseminação do microrganismo, em 50,0% dos casos a infecção foi sugestiva de aquisição por translocação bacteriana a partir da mucosa intestinal, somente um caso foi caracterizada infecção adquirida extraluminalmente 12,5% e em 37,5% não foi possível determinar a via de disseminação. A presença do gene *icaAD* foi frequente (80,0%) nos isolados de sangue pertencentes ao clone A (**Tabela 8**).

Tabela 8. Patogênese, perfil clonal e presença dos genes *icaAD* de *S. epidermidis* isoladas de neonatos com infecção de corrente sanguínea de neonatos internados na unidade de terapia intensiva neonatal do HC-UFG.

Paciente	Sítio	Classificação ICS	Aquisição	Tipo CVC	PFGE	<i>icaAD</i>	Tempo de CVC	Peso ao nascer	Nutrição parenteral	
1	Sangue Canhão Intestino	ICS-RC definida	Translocação Intestinal	PICC	A A A	+	NR NR	9	1155	Sim
13	Sangue Canhão Intestino	ICS-AC	Translocação Intestinal	Flebotomia	A C A	+	NR NR	6	1580	Sim
20	Sangue Ponta Sítio de Inserção Narina	ICS-RC definida	Extraluminal	PICC	A A A	+	NR NR	16	871	Sim
45	Sangue Canhão Intestino Narina	ICS-RC definida	Translocação Intestinal	PICC	A A A A	+	NR NR NR	17	1098	Sim
57	Sangue Ponta Intestino Narina	ICS-RC definida	Translocação Intestinal	PICC	A A A A	-	NR NR NR	11	1130	Sim
62	Sangue Canhão Intestino Narina	ICS-AC	Indeterminada	PICC	E A B A	+	NR NR NR	15	3010	Sim
75	Sangue Canhão	ICS-AC	Indeterminada	PICC	F A	-	NR	34	2970	Sim
86	Sangue Canhão	ICS-AC	Indeterminada	Umbilical	G D	+	NR	7	1160	Sim

CVC: Cateter venoso central; ICS-RC: Infecção de corrente sanguínea relacionada ao cateter; ICS-AC: Infecção de corrente sanguínea associada ao cateter ; PFGE: “Pulsed Field Gel Eletrophoresis”; PICC: Peripherical inserted catheher; NR: não realizada.

6. DISCUSSÃO

As infecções de corrente sanguínea hospitalares em unidades de terapia intensiva neonatal são as mais frequentes, aumentam consideravelmente o tempo de permanência e custos hospitalares, além de contribuírem para o pior prognóstico do paciente, situação ainda mais significativa nas unidades localizadas em hospitais de países em desenvolvimento (HOOVEN; POLIN, 2014). Os nossos resultados mostraram a importância dessas infecções, com indicadores epidemiológicos expressivos de 16,1/1000 pacientes-dia no período avaliado, com taxas muito maiores que aquelas relatadas em países desenvolvidos como os Estados Unidos, que apresentam indicadores de 5,8/1000 pacientes-dia (BIZZARRO et al., 2010). Dados semelhantes aos nossos são relatados na literatura para os países em desenvolvimento, assim como em outros estudos brasileiros. Pessoa-Silva e colaboradores (2004), em São Paulo e Couto e colaboradores (2007), em Belo Horizonte, que encontraram indicadores de ICS de 24,9/1000 pacientes-dia 29,8/1000 pacientes-dia, respectivamente. Incidências de ICS na UTIN do HC-UFU são relatadas desde 2011, como as apontadas por Resende e colaboradores (2011) e Brito e colaboradores (2014) com indicadores de 21,9/1000 pacientes-dia e 15,1/1000 pacientes-dia respectivamente.

As diferenças nas taxas é reflexo da complexidade epidemiológica dessas infecções no mundo todo, e em países em desenvolvimento como o Brasil as diferenças macro e micro regionais são extremamente significativas, bem como as características da população hospitalar. Além disso, há falta de recursos econômicos, e deficiência nas práticas de controle e prevenção de infecções hospitalares, principalmente em hospitais de grande porte (PITTET et al., 2008).

A importância de prevenção e controle destas infecções é evidente, particularmente em países em desenvolvimento, em decorrência principalmente de problemas sociais, precariedade do sistema de saúde e poucos recursos humanos. A utilização de um pacote de medidas como as apresentadas em nosso estudo, aumenta a possibilidade do sucesso de campanhas de prevenção, devido a sua simplicidade e baixo custo (BOYCE; PITTET, 2002).

O uso do CVC, é frequente nestas unidades com a finalidade de acesso direto ao sistema vascular e administração de nutrientes e medicamentos por longos períodos de tempo (PERLMAN et al., 2007; SERRANO et al., 2007). Atualmente, o CVC é o procedimento invasivo mais utilizado no atendimento ao neonato crítico (PERLMAN et al., 2007; SERRANO et al., 2007). Entretanto, o uso deste dispositivo também está associado com um maior risco de infecção, e taxas também elevadas, como as encontradas por Safdar e Maki (2004) em unidades de cinco países em desenvolvimento, com média de 16,1/1000 CVC-dias.

Os fatores de risco associados com o desenvolvimento de ICS incluem além do uso do CVC, a prematuridade, baixa idade gestacional, baixo peso ao nascer, fragilidade da pele, uso de, nutrição parenteral, a hospitalização prolongada e antibioticoterapia de amplo espectro (PERLMAN; SAIMAN; LARSON, 2007; SRIVASTAVA; SHETTY, 2007; STOLL et al., 2002). No nosso estudo, os resultados da análise multivariada identificaram o baixo peso ao nascer, tempo de permanência na unidade > 7 dias, o uso de CVC, ventilação mecânica e nutrição parenteral, como fatores de risco independentes para a ICS, semelhante ao encontrado em outros estudos (GRISARU-SOEN et al., 2012; MAHIEU et al., 2001).

A prematuridade e o baixo peso ao nascer (<1500g) são apontados como um dos principais fatores de risco de IHs em neonatos críticos (ALY et al., 2005). A incidência de prematuridade no Brasil é de 11%, variando entre 10 a 43% na América Latina (MAHIEU et al., 2001). Um estudo americano mostrou que 11,4% dos pacientes em UTINs desenvolveram ICS, com cerca da metade (45,7%) representado por neonatos prematuros, com extremo baixo peso ao nascer (<1000g) (STOVER et al., 2001). No nosso estudo, os resultados foram semelhantes, com 53% das ICS detectadas em crianças com baixo peso ao nascer.

Os micoorganismos que causam infecções neonatais diferem de uma unidade para outra e podem também mudar ao longo do tempo dentro do mesmo hospital (GRAY, 2007). Em unidades de terapia intensiva neonatal de hospitais de países desenvolvidos, o SCN é o principal agente etiológico de ICS, representando 70,0% das infecções estafilocócicas (CHEUNG; OTTO, 2010).

Nossos resultados mostram que o SCN também, com destaque para o *S. epidermidis*, foi o principal agente dessas infecções na unidade. De acordo com a literatura, os BGN e *Candida* spp. também estão entre os agentes mais frequentes de sepse neonatal, sobretudo em países em desenvolvimento (ZAIDI et al., 2005), como evidenciado no estudo multicêntrico realizado por Couto e colaboradores (2007), em Belo Horizonte, com taxas de 51,6% de ICS causadas por BGN, com destaque para a *Klebsiella* sp (26,6%). Os nossos dados demonstram que cerca de um quarto dos episódios de sepse foram causados por BGN, também sendo *Klebsiella pneumoniae*, o agente etiológico mais isolado entre os BGNs.

Em uma primeira etapa do estudo, caracterizamos a alta incidência de ICS na unidade através dos indicadores epidemiológicos além dos fatores de risco para essas infecções em neonatos críticos. A pesquisa permitiu implementar um protocolo de inserção e manutenção do cateter venoso central na unidade.

Embora fatores inesperados foram identificados durante o período de estudo, conseguimos demonstrar uma redução significativa nas taxas de ICSH entre os recém-nascidos após a implementação do pacote de medidas no mês de fevereiro/2012. O estudo mostrou que o trabalho educativo direcionado aos profissionais de enfermagem com os procedimentos recomendados no “bundle” para a inserção e cuidado com o CVC, além do “feedback” dos resultados para a equipe da unidade, resultou em redução significativa nas taxas de ICSH.

Para reforçar a importância do trabalho educativo com o profissionais de saúde da UTIN, merece destaque um estudo realizado em 2008 por nossa equipe, utilizando intervenção simples, caracterizada apenas pela apresentação de medidas para cuidados com a inserção do cateter para o qual permitiu reduzir de forma significativa as taxas de ICS-AC de 24,1/1000 pacientes-dia para 14,9/1000 pacientes-dia no período estudado (RESENDE et al., 2011). Nossos resultados também são consistentes com outros estudos que mostram redução significativa nas taxas de ICS após a implementação de medidas de controle e prevenção, principalmente aquelas associada com o cuidado com o CVC (SHEPHERD et al., 2015; TSAI et al., 2014; ZHOU et al., 2015)

Os programas de intervenção, incluindo aqueles que adotam “bundles” de prevenção e controle de infecções devem ter continuidade, sobretudo nas UTINs de hospitais universitários, onde ocorre frequentemente a admissão de estudantes e profissionais de saúde em busca de treinamento. Além disso, os recursos educacionais existentes para a melhorar adesão só são eficazes quando são contínuos e integrados com medidas que motivam e alteram o comportamento dos profissionais (ERDEI et al., 2015; FARRINGTON, 2007).

Durante o período de estudo foram documentados dois eventos que tiveram impacto na curva endêmica das infecções de corrente sanguínea a saber: período hiperendêmico nos meses de janeiro e redução das taxas endêmicas durante o período de relocação da unidade. Ao nosso ver, uma possível justificativa para a maior incidência nos meses de janeiro (verão) foi uma redução do número de enfermeiras em função de férias anuais. Outros estudos mostram uma forte associação entre aumento dessas taxas de infecções com a quantidade de profissionais de enfermagem disponíveis (CIMIOTTI et al., 2006; LEISTNER et al., 2013; ROGOWSKI et al., 2013). Assim, é importante assegurar que os profissionais recebam treinamento referente a técnicas de controle de infecção, além de garantir que a UTIN possua o número de profissionais adequado com o devido “expertise” (STONE et al., 2008). Essa redução no número de profissionais mais experientes, somada ao aumento da carga de trabalho na unidade de terapia intensiva, pode resultar em menor adesão à higienização das mãos e mais quebra nas técnicas assépticas, aumentando o risco de infecção. Estudos realizados em países do ocidente mostraram relação direta entre a falta de profissionais com treinamento adequado e as taxas de infecção em UTI neonatais (GRAY; OMAR, 2013; ROGOWSKI et al., 2013).

Já durante a relocação da unidade para uma área improvisada, houve uma redução nos indicadores de ICSH. Neste ambiente, o maior isolamento dos pacientes, mais espaço adotado por berço, e a preocupação com medidas de controle e prevenção desta infecções, particularmente quanto a adesão da higiene das mãos durante esse período, justifica a redução nos indicadores epidemiológicos detectados. Estes aspectos também foram abordados em outros estudos, com

impacto significativo sobre as taxas de infecção (JONES et al., 2012; VON DOLINGER DE BRITO et al., 2007).

Estudos de epidemiologia molecular utilizando PFGE evidenciaram a prevalência de clones específicos de *S. epidermidis* em UTIN além de genótipos altamente resistentes aos antimicrobianos, principalmente a oxacilina (HIRA et al., 2007). Uma proporção significativa de infecções por *S. epidermidis* pode ser atribuídas por transmissão cruzada entre pacientes e certos isolados se tornam endêmicas em longos períodos em UTINs (MILISAVLJEVIC et al., 2005). Isto foi observado no nosso estudo quando detectamos a maioria dos isolados de *S. epidermidis* de sangue, mucosa, sítio de inserção e ponta do cateter dos recém nascidos pertencentes ao mesmo clone (77,7%), sugestivo de transmissão cruzada na unidade.

O sucesso desses clones predominantes pode estar associado a fatores não caracterizados até o momento, que favorecem a estes microrganismos vantagens na colonização ou na sua capacidade de infectar pacientes. Um desses fatores pode ser a resistência aos agentes antimicrobianos considerando que em muitas investigações os clones principais foram mais resistentes do que os esporádicos, principalmente a oxacilina (VILLARI; SARNATARO; IACUZIO, 2000). A frequência de isolados resistentes à oxacilina, particularmente em UTIs é usualmente elevada correspondendo a 53,0% na Europa (MIRAGAIA et al., 2002), 70,0% nos Estados Unidos (HIRA et al., 2007), e ainda mais expressivas em relatos brasileiros, destacando-se o estudo de Brito e colaboradores (2014), em investigação na mesma unidade do nosso estudo, com 83,0% dos isolados de sangue resistentes a esse antimicrobiano. Nesses estudos, também foi observado que a maioria desses isolados pertenciam a clones dominantes. Na nossa investigação, verificou-se frequência de MRSE ainda maior, com 100,0% das amostras de *S. epidermidis* identificadas com este fenótipo, 63,1% apresentaram perfil de multirresistência e a maioria pertenciam a um clone dominante (clone A) disseminado em todo o período de estudo. As evidências sugerem que estes clones resistentes a oxacilina e multirresistentes observados no ambiente hospitalar, são transferidos por contaminação cruzada através de mãos colonizadas de profissionais de saúde da unidade (HIRA et al., 2007;

JAMALUDDIN et al., 2008; TERNES et al., 2013). Assim, a falta de adesão as práticas de controle e prevenção de infecções hospitalares, em especial a higiene das mãos é apontada como a principal responsável pela disseminação de microrganismos em hospitais, sendo imprescindível sua aplicação em estratégias educacionais de controle de infecção (ALLEGRANZI; PITTEL, 2009; BOYCE; PITTEL, 2002; ZINGG et al., 2014). Dessa forma, o presente estudo mostrou a importância das técnicas de tipagem molecular na análise de isolados de SCN na UTIN, revelando perfis moleculares idênticos, em períodos de tempo diferentes, confirmando a transmissão microbiana cruzada entre os pacientes. Além disso, permitiu esclarecer aspectos relacionados a origem do microrganismo responsável pela infecção de corrente sanguínea.

Embora a patogenia de infecções de corrente sanguínea associada ao CVC seja essencial para a melhor definição na adoção de estratégias mais efetivas de prevenção e controle, há poucos estudos no que diz respeito a origem e a via de disseminação dos microrganismos até a ponta do cateter e o sangue (BRITO et al., 2014; GARLAND et al., 2008). Em pacientes adultos, a maioria dessas infecções são provenientes da disseminação intraluminal através do cateter, como resultado da contaminação do canhão do cateter devido manipulação pelos profissionais de saúde, principalmente naqueles de permanência prolongada (GARLAND et al., 2005; MAHIEU et al., 2001; SAFDAR; MAKI, 2004). Entretanto, em pacientes internados em UTIs a disseminação hematogênica, com translocação bacteriana a partir do lúmen intestinal pode ser também uma via importante (CRNICH; MAKI, 2002). Adicionalmente, naqueles cateteres de curta duração a disseminação extraluminal, acontece a partir da contaminação da pele no sítio de inserção do cateter e os microrganismos migram a partir do tecido subcutâneo através de mecanismo de capilaridade até a ponta do dispositivo (COOPER; SCHILLER; HOPKINS, 1988; HAUSCHILD; STEPANOVIĆ, 2008; ZINGG et al., 2011).

Os estudos que investigam a patogênese de ICS-AC em neonatos são limitados e os resultados controversos (DE BRITO et al., 2010; LEPAINTEUR et al., 2013). Estes pacientes possuem certas particularidades que podem interferir de maneira significativa nos critérios utilizados para definir o

do papel do CVC nas ICS-AC. Além disso, poucos estudos utilizaram técnicas moleculares para avaliar a origem dos microrganismos que colonizam o cateter (BRITO et al., 2014; HORAN; ANDRUS; DUDECK, 2008; HORBAR et al., 2001). Essas técnicas são ferramentas indispesáveis na análise clonal de isolados clínicos, possibilitando definir a origem do microrganismo (MIRAGAIA et al., 2002).

A análise molecular pela técnica de PFGE de amostras de *S. epidermidis* provenientes de sangue de neonatos foi utilizada na investigação de Garland et al. (2008), que evidenciou que a maioria das infecções em neonatos relacionadas a uso de CVC foi proveniente da contaminação intraluminal do cateter, com as amostras de sangue e canhão pertencentes ao mesmo clone. No entanto, Brito et al. (2014) relataram que a maioria dessas infecções nestes pacientes tem origem desconhecida, semelhante aos resultados observados por Lepainteur et al. (2013), com 70,0% dessas infecções sem uma definição da origem do microrganismo. Esses trabalhos relativos a epidemiologia molecular foram baseados na análise de poucas amostras clínicas, assim como na nossa série. Entretanto, no nosso estudo foi possível determinar a origem do microrganismo na maioria dos casos.

A possibilidade de contaminação do cateter pela via hematogênica, como resultado da translocação bacteriana pela mucosa intestinal, em pacientes críticos pode ser incluída como fonte alternativa de ICS-AC (COSTA; MICELI; ANAISSE, 2004). A colonização de mucosas da narina, garganta e particularmente intestino, somada a atrofia desta última resultante do uso de alimentação parenteral e de medicamentos, além da imaturidade imunológica do neonato prematuro reforçam essa hipótese. No nosso estudo, cerca de 74,0% dos neonatos com ICS tiveram a presença de *S. epidermidis* na mucosa intestinal, a maioria deles utilizando a nutrição parenteral, e com baixo peso ao nascer. Vale ressaltar que a translocação bacteriana a partir mucosa intestinal até a corrente sanguínea foi frequente (50,0%), sendo este o único trabalho que também avaliou a mucosa intestinal além do CVC como origem do microrganismo do sangue.

O cuidado com o cateter é essencial para prevenir infecções associadas a esse dispositivo (PRONOVEST et al., 2006). O uso de novas tecnologias como a antisepsia da pele com clorexidina, curativos impregnados com clorexidina, e cateteres recobertos com soluções antimicrobianas, reduz a colonização cutânea na inserção do cateter, e são mais efetivas na prevenção de infecção adquiridas por disseminação extraluminal, no entanto não tem impacto naquelas adquiridas através da contaminação do lúmen do cateter (SAFDAR; MAKI, 2005).

Assim, intervenções que resultam numa redução da manipulação do canhão do cateter, bem como a sua desinfecção antes do uso, são medidas simples e podem reduzir de forma significativa a incidência de ICS-AC naqueles neonatos em uso de cateteres de longa duração, a exemplo do PICC. Em síntese, estratégias utilizadas para reduzir as ICS-AC devem ser combinadas de modo a prevenir tanto a contaminação extraluminal, com foco no sítio de inserção, quanto intraluminal, com a preocupação quanto o canhão do cateter (GARLAND et al., 2008). A falta de melhor esclarecimento quanto a patogênese de ICS-AC em neonatos limita o direcionamento de medidas específicas de intervenção. No momento, é necessário o uso de intervenções abrangentes que possam controlar todas as possíveis vias que podem levar o microrganismo até a corrente sanguínea.

No nosso trabalho, elaboramos uma intervenção voltada aos cuidados com a inserção e manipulação do cateter a fim de garantir o melhor impacto na redução das taxas de ICS-AC. Verificou-se que foi possível reduzir essas taxas, entretanto não foi possível manter o bom resultado a longo prazo, considerando que a intervenção foi por tempo determinado. Medidas de controle e prevenção devem ser adotadas como rotina em UTINs, e devem ser de forma contínua, com a participação de todos os profissionais da unidade, incluindo a chefia, assim os resultados serão mais consistentes e duradouros.

7. CONCLUSÕES

A incidência de ICS de natureza hospitalar na unidade estudada foi alta (16,1/1000 pacientes-dia), com os indicadores epidemiológicos mostrando aumento significativo das taxas de ICSh nos meses de janeiro, correspondente ao pico das férias da equipe de enfermagem, e reduções significativas no período em que a unidade foi relocada para outra área física, onde o espaço entre os berços era maior e preocupação com higiene das mãos foi mais frequente, assim como após a implementação do protocolo de inserção e manutenção do CVC. Os nossos dados evidenciam a importância e viabilidade de técnicas simples e específicas, de baixo custo que implementadas resultaram na prevenção e redução dessas infecções na UTIN, independente do mecanismo de patogenia.

O *Staphylococcus epidermidis* foi principal agente etiológico isolado das infecções de corrente sanguínea e os fatores de risco associados ao desenvolvimento destas infecções foram semelhantes aos descritos na literatura.

Todos os isolados de *S. epidermidis* recuperados foram resistentes à oxacilina, na maioria com os genes *icaAD* e predominância de um único clone (A), sugestivo de contaminação cruzada na unidade, evidenciando a necessidade de um maior rigor na adesão à higiene das mãos.

Os dados obtidos sugerem que a maioria das infecções de corrente sanguínea por este microrganismo foi resultante de translocação bacteriana do lúmen intestinal a partir da mucosa e disseminação hematogênica, diferente da patogenia dessas infecções em pacientes adultos. Entretanto, há necessidade de estudos adicionais com maior número de isolados clínicos para melhor definição do mecanismo de patogênese de ICS-AC em neonatos críticos.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEGRAZI, B.; PITTEL, D. Role of hand hygiene in healthcare-associated infection prevention. **Journal of Hospital Infection**, v. 73, n. 4, p.305-15, ago. 2009.
- ALY, H. *et al.* Is bloodstream infection preventable among premature infants? A tale of two cities. **Pediatrics**, v. 115, n. 6, p. 1513-8, jun. 2005.
- ARANTES, A. *et al.* Use of statistical process control charts in the epidemiological surveillance of nosocomial infections. **Revista de Saúde Pública**, v. 37, n. 6, p. 768-74, 2003.
- ARCIOLA, C. R.; BALDASSARRI, L.; MONTANARO, L. Presence of *icaA* and *icaD* genes and slime production in a collection of staphylococcal strains from catheter-associated infections. **Journal of clinical microbiology**, v. 39, n. 6, p. 2151-6, jun. 2001.
- AZIZ, K. *et al.* Variations in rates of nosocomial infection among Canadian neonatal intensive care units may be practice-related. **BMC pediatrics**, v. 5, p. 22, jul. 2005.
- BANNERMAN T. L *Staphylococcus*, *Micrococcus*, and other catalase-positive cocci that grow aerobically. In PR Murray, EJ Baron, JH Jorgensen, MA Pfaller, RH Yolken (eds), **Manual of Clinical Microbiology**, American Society of Microbiology, Washington, p. 384-404, 2003.
- BARBADORO, P. *et al.* Gestational age as a single predictor of health care-associated bloodstream infections in neonatal intensive care unit patients. **American Journal of Infection Control**, v. 39, n. 2, p. 159-162, mar. 2011.
- BENJAMIN, D. K. *et al.* Neonatal candidiasis: epidemiology, risk factors, and clinical judgment. **Pediatrics**, v. 126, n. 4, p. e865-e873, out. 2010.
- BIZZARRO, M. J. *et al.* A quality improvement initiative to reduce central line-associated bloodstream infections in a neonatal intensive care unit. **Infection control and hospital epidemiology**, v. 31, n. 3, p. 241-248, mar. 2010.
- BORGES, L. F. DE A. E. *et al.* Low compliance to handwashing program and high nosocomial infection in a brazilian hospital. **Interdisciplinary perspectives on infectious diseases**, v. 2012, p. 579681, jan. 2012.
- BORGHESI, A.; STRONATI, M. Strategies for the prevention of hospital-acquired infections in the neonatal intensive care unit. **Journal of Hospital Infection**, v. 68, p. 293-300, abr. 2008.
- BOYCE, J. M.; PITTEL, D. Guideline for Hand Hygiene in Health-Care Settings: recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. **Infection control and hospital epidemiology**, v. 23, n. 12 Suppl, p. S3-S40, dez. 2002.
- BRADY, M. T. Health care-associated infections in the neonatal intensive care unit. **American Journal of Infection Control**, v. 33, p. 268-275, jun. 2005
- BRITO, C. S. *et al.* Genotypic study documents divergence in the pathogenesis of bloodstream infection related central venous catheters in neonates. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 18, n. 4, p. 387-393, jul. 2014.
- BRITO, C. S. DE *et al.* Occurrence of bloodstream infection with different types of central vascular catheter in critically neonates. **Journal of Infection**, v. 60, n. 2, p. 128-132, fev. 2010.
- _____. Are there any differences among pathogenesis of catheter-related primary bloodstream infection in adults and neonates patients? **American journal of infection control**, v. 38, n. 6, p. 494-5, ago. 2010.

- BRUN-BUISSON, C. *et al.* Diagnosis of central venous catheter-related sepsis. Critical level of quantitative tip cultures. **Archives of internal medicine**, v. 147, n. 5, p. 873–877, mai.1987.
- CANTEY, J. B.; MILSTONE, A. M. Bloodstream infections: epidemiology and resistance. **Clinics in perinatology**, v. 42, n. 1, p. 1–16, vii, mar. 2015.
- CHEUNG, G. Y. C.; OTTO, M. Understanding the significance of *Staphylococcus epidermidis* bacteremia in babies and children. **Current opinion in infectious diseases**, v. 23, n. 3, p. 208–216, jun. 2010.
- CICALINI, S.; PALMIERI, F.; PETROSILLO, N. Clinical review: new technologies for prevention of intravascular catheter-related infections. **Critical Care**, v. 8, n. 3, p. 157–162, 2004.
- CIMIOTTI, J. P. *et al.* Impact of staffing on bloodstream infections in the neonatal intensive care unit. **Archives of pediatrics & adolescent medicine**, v. 160, n. 8, p. 832–836, 2006.
- COOPER, G. L.; SCHILLER, A. L.; HOPKINS, C. C. Possible role of capillary action in pathogenesis of experimental catheter-associated dermal tunnel infections. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 26, n. 1, p. 8–12, 1 jan. 1988.
- COSTA, S. F.; MICELI, M. H.; ANAISSE, E. J. Mucosa or skin as source of coagulase-negative staphylococcal bacteraemia? **The Lancet. Infectious diseases**, v. 4, n. 5, p. 278–86, maio 2004.
- COUTO, R. C. *et al.* A 10-year prospective surveillance of nosocomial infections in neonatal intensive care units. **American Journal of Infection Control**, v. 35, n. 3, p. 183–189, 2007.
- CRNICH, C. J.; MAKI, D. G. The promise of novel technology for the prevention of intravascular device-related bloodstream infection. I. Pathogenesis and short-term devices. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 34, n. 9, p. 1232–42, 1 maio 2002.
- CRUMP, J. A.; COLLIGNON, P. J. Intravascular catheter-associated infections. **European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology**, v. 19, n. 1, p. 1–8, jan. 2000.
- DOLINGER DE BRITO, D. VON *et al.* Effect of neonatal intensive care unit environment on the incidence of hospital-acquired infection in neonates. **Journal of Hospital Infection**, v. 65, n. 4, p. 314–318, abr. 2007.
- DONNELL, S. C. *et al.* Infection rates in surgical neonates and infants receiving parenteral nutrition: A five-year prospective study. **Journal of Hospital Infection**, v. 52, n. 4, p. 273–280, dez. 2002.
- DUDECK, M. A. *et al.* National Healthcare Safety Network (NHSN) report, data summary for 2012, Device-associated module. **American journal of infection control**, v. 41, n. 12, p. 1148–66, dez. 2013.
- EGGIMANN, P. *et al.* Catheter-related infections. **Microbes and infection / Institut Pasteur**, v. 6, n. 11, p. 1033–42, set. 2004.
- EGGIMANN, P.; PITTEL, D. Overview of catheter-related infections with special emphasis on prevention based on educational programs. **Clinical Microbiology and Infection**, v.8, n.5, p.295–309, mai. 2002.
- ERDEI, C. *et al.* Is Zero Central Line-Associated Bloodstream Infection Rate Sustainable? A 5-Year Perspective. **Pediatrics**, 18 maio 2015.
- FARRINGTON, M. Infection control education: how to make an impact--tools for the job. **The Journal of hospital infection**, v. 65 Suppl 2, p. 128–32, jun. 2007.
- GARLAND, J. S. *et al.* A vancomycin-heparin lock solution for prevention of nosocomial bloodstream infection in critically ill neonates with peripherally inserted central venous catheters: a prospective, randomized trial. **Pediatrics**, v. 116, n. 2, p. e198–205, 1 ago. 2005.

- _____. Cohort study of the pathogenesis and molecular epidemiology of catheter-related bloodstream infection in neonates with peripherally inserted central venous catheters. **Infection control and hospital epidemiology**, v. 29, n. 3, p. 243–249, mar. 2008.
- GASTMEIER, P. *et al.* Effectiveness of a nationwide nosocomial infection surveillance system for reducing nosocomial infections. **Journal of Hospital Infection**, v. 64, n. 1, p. 16–22, set. 2006.
- GEFFERS, C. *et al.* Incidence of healthcare-associated infections in high-risk neonates: results from the German surveillance system for very-low-birthweight infants. **Journal of Hospital Infection**, v. 68, n. 3, p. 214–221, mar. 2008.
- GOERING, R. V. Pulsed field gel electrophoresis: a review of application and interpretation in the molecular epidemiology of infectious disease. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 10, n. 7, p. 866–75, out 2010.
- GRAY, J.; OMAR, N. Nosocomial infections in neonatal intensive care units in developed and developing countries: how can we narrow the gap? **The Journal of hospital infection**, v. 83, n. 3, p. 193–5, mar. 2013.
- GRAY, J. W. Surveillance of infection in neonatal intensive care units. **Early Human Development**, v. 83, n. 3, p. 157–163, mar. 2007.
- GRISARU-SOEN, G. *et al.* Late-onset bloodstream infections in preterm infants: A 2-year survey. **Pediatrics International**, v. 54, n. 6, p. 748–753, dez. 2012.
- HAUSCHILD, T.; STEPANOVIĆ, S. Identification of *Staphylococcus* spp. by PCR-restriction fragment length polymorphism analysis of *dnaJ* gene. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 46, n. 12, p. 3875–3879, dez. 2008.
- HIRA, V. *et al.* Clinical and molecular epidemiologic characteristics of coagulase-negative staphylococcal bloodstream infections in intensive care neonates. **The Pediatric infectious disease journal**, v. 26, n. 7, p. 607–12, jul. 2007.
- HOOVEN, T. A.; POLIN, R. A. Healthcare-associated infections in the hospitalized neonate: A review. **Early Human Development**, v. 90, n. SUPPL.1, p. S4–S6, mar. 2014.
- HORAN, T. C.; ANDRUS, M.; DUDECK, M. A. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. **American journal of infection control**, v. 36, n. 5, p. 309–32, jun. 2008.
- HORBAR, J. D. *et al.* **Collaborative Quality Improvement for Neonatal Intensive CarePEDIATRICS**, 2001.
- JAMALUDDIN, T. Z. M. T. *et al.* Extreme genetic diversity of methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* strains disseminated among healthy Japanese children. **Journal of clinical microbiology**, v. 46, n. 11, p. 3778–83, nov. 2008.
- JEONG, I. S. *et al.* Effect of central line bundle on central line-associated bloodstream infections in intensive care units. **American journal of infection control**, v. 41, n. 8, p. 710–6, ago. 2013.
- JONES, A. R. *et al.* Reduction in late-onset sepsis on relocating a neonatal intensive care nursery. **Journal of paediatrics and child health**, v. 48, n. 10, p. 891–5, out. 2012.
- LACHMAN, P.; YUEN, S. Using care bundles to prevent infection in neonatal and paediatric ICUs. **Current opinion in infectious diseases**, v. 22, n. 3, p. 224–228, jun. 2009.
- LEISTNER, R. *et al.* The impact of staffing on central venous catheter-associated bloodstream infections in preterm neonates - results of nation-wide cohort study in Germany. **Antimicrobial resistance and infection control**, v. 2, n. 1, p. 11, abr. 2013.

- LEPAINTEUR, M. *et al.* Role of the central venous catheter in bloodstream infections caused by coagulase-negative staphylococci in very preterm neonates. **The Pediatric infectious disease journal**, v. 32, n. 6, p. 622–8, jun. 2013.
- LEVY, M. M. *et al.* Sepsis change bundles: converting guidelines into meaningful change in behavior and clinical outcome. **Critical care medicine**, v. 32, n. 11 Suppl, p. S595–7, nov. 2004.
- MCDOUGAL, L. K. *et al.* Pulsed-field gel electrophoresis typing of oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from the United States: establishing a national database. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, n. 11, p. 5113-20, nov 2003.
- MAHIEU, L. M. *et al.* Risk factors for central vascular catheter-associated bloodstream infections among patients in a neonatal intensive care unit. **The Journal of hospital infection**, v. 48, n. 2, p. 108–16, jun. 2001.
- MAKI, D. G.; RINGER, M.; ALVARADO, C. J. Prospective randomized trial of povidone-iodine, alcohol, and chlorhexidine for prevention of infection associated with central venous and arterial catheters. **Lancet**, p. 339–343, ago.1991.
- MAKI, D. G.; WEISE, C. E.; SARAFIN, H. W. A semiquantitative culture method for identifying intravenous-catheter-related infection. **The New England journal of medicine**, v. 296, n. 23, p. 1305–1309, jun.1977.
- MARTÍN-LOZANO, D. *et al.* Comparison of a repetitive extragenic palindromic sequence-based PCR method and clinical and microbiological methods for determining strain sources in cases of nosocomial *Acinetobacter baumannii* bacteraemia. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 12, p. 4571–4575, dez. 2002.
- MILISAVLJEVIC, V. *et al.* Genetic relatedness of *Staphylococcus epidermidis* from infected infants and staff in the neonatal intensive care unit. **American journal of infection control**, v. 33, n. 6, p. 341–7, ago. 2005.
- MIRAGAIA, M. *et al.* Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* clones: evidence of geographic dissemination. **Journal of clinical microbiology**, v. 40, n. 2, p. 430–8, fev. 2002.
- O'GRADY, N. P. *et al.* Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. **American Journal of Infection Control**, v.23, n. 12, p.759-69, dez. 2002.
- O'GRADY, N. P. *et al.* Guidelines for the Prevention of Intravascular Catheter-Related Infections , 2011, Oklahoma Foundation for Medical Quality. **Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC)**, p. 1–83, 2011.
- ONCÜ, S. *et al.* Central venous catheter related infections: risk factors and the effect of glycopeptide antibiotics. **Annals of clinical microbiology and antimicrobials**, v. 2, p. 3, fev. 2003.
- ORSI, G. B. *et al.* Hospital-acquired infection surveillance in a neonatal intensive care unit. **American Journal of Infection Control**, v. 37, n. 3, p. 201–203, abr. 2009.
- OTTO, M. *Staphylococcus epidermidis*--the “accidental” pathogen. **Nature reviews. Microbiology**, v. 7, n. 8, p. 555–567, ago. 2009.
- _____. Molecular basis of *Staphylococcus epidermidis* infections. **Seminars in Immunopathology**, v. 34, n. 2, p. 201-14, mar. 2012.
- PASCUAL, A. Pathogenesis of catheter-related infections: lessons for new designs. **Clinical microbiology** v. 8, n. 5, p. 256–64, mai. 2002.
- PERLMAN, S. E.; SAIMAN, L.; LARSON, E. L. Risk factors for late-onset health care-associated bloodstream infections in patients in neonatal intensive care units. **American Journal of Infection Control**, v. 35, n. 3, p. 177–182, abr. 2007.

- PESSOA-SILVA, C. L. *et al.* **Pediatrics**, v. 120 Reduction of health care associated infection risk in neonates by successful hand hygiene promotion, n. 2, p. e382–e390, ago. 2007.
- PITTET, D. Improving adherence to hand hygiene practice: A multidisciplinary approach. **Emerging Infectious Diseases**, v. 7, n. 2, p. 234-40, mar. 2001.
- PITTET, D. *et al.* Infection control as a major World Health Organization priority for developing countries. **The Journal of hospital infection**, v. 68, n. 4, p. 285–292, abr. 2008.
- POSFAY-BARBE, K. M.; ZERR, D. M.; PITTET, D. Infection control in paediatrics. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 8, n. 1, p.10-31, jan. 2008.
- POWERS, R. J.; WIRTSCHAFTER, D. W. Decreasing central line associated bloodstream infection in neonatal intensive care. **Clinics in Perinatology**, v. 37, v.1, p. 247-7, mar. 2010.
- PRONOVOOST, P. *et al.* An intervention to decrease catheter-related bloodstream infections in the ICU. **The New England journal of medicine**, v. 355, n. 26, p. 2725–2732, dez. 2006.
- PRONOVOOST, P. J. *et al.* Sustaining reductions in catheter related bloodstream infections in Michigan intensive care units: observational study. **BMJ (Clinical research ed.)**, v. 340, p. c309, fev. 2010.
- RESENDE, D. S. *et al.* Late onset sepsis in newborn babies: epidemiology and effect of a bundle to prevent central line associated bloodstream infections in the neonatal intensive care unit. **The Brazilian journal of infectious diseases : an official publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases**, v. 19, n. 1, p. 52–7, jan. 2015.
- _____. Reduction of catheter-associated bloodstream infections through procedures in newborn babies admitted in a university hospital intensive care unit in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 6, p. 731–734, nov. 2011.
- ROGOWSKI, J. A *et al.* Nurse staffing and NICU infection rates. **JAMA pediatrics**, v. 167, n. 5, p. 444–50, mai. 2013.
- SAFDAR, N.; MAKI, D. G. The pathogenesis of catheter-related bloodstream infection with noncuffed short-term central venous catheters. **Intensive Care Medicine**, v. 30, n. 1, p. 62–67, jan. 2004.
- SAFDAR, N.; MAKI, D. G. Risk of catheter-related bloodstream infection with peripherally inserted central venous catheters used in hospitalized patients. **Chest**, v. 128, n. 2, p. 489–95, ago. 2005.
- SERRANO, M. *et al.* Retained central venous lines in the newborn: report of one case and systematic review of the literature. **Neonatal network : NN**, v. 26, n. 2, p. 105–10, jan. 2007.
- SEYBOLD, U. *et al.* Clonal diversity in episodes with multiple coagulase-negative staphylococcus bloodstream isolates suggesting frequent contamination. **Infection**, v. 37, n. 3, p. 256–260, jun. 2009.
- SHEPHERD, E. G. *et al.* Significant Reduction of Central-Line Associated Bloodstream Infections in a Network of Diverse Neonatal Nurseries. **The Journal of pediatrics**, pii: S0022-3476 , n.15, p. 00347-924, abr. 2015.
- SILVESTRI, L. *et al.* Handwashing in the intensive care unit: A big measure with modest effects. **Journal of Hospital Infection**, v. 9, n. 3, p. 172-9, mar. 2005.
- SMITH, A. *et al.* Concordance of Gastrointestinal Tract Colonization and Subsequent Bloodstream Infections With Gram-negative Bacilli in Very Low Birth Weight Infants in the Neonatal Intensive Care Unit. **The Pediatric infectious disease journal**, v. 29, n. 9, p. 831–835, set. 2010.
- SRIVASTAVA, S.; SHETTY, N. Healthcare-associated infections in neonatal units: lessons from contrasting worlds. **Journal of Hospital Infection**, v. 6, p. 292-306, abr. 2007.

- STOLL, B. J. *et al.* Late-onset sepsis in very low birth weight neonates: the experience of the NICHD Neonatal Research Network. **Pediatrics**, v. 110, n. 2 Pt 1, p. 285–291, aug. 2002.
- STONE, P. W. *et al.* Hospital staffing and health care-associated infections: a systematic review of the literature. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 47, n. 7, p. 937–44, 1 out. 2008.
- STOVER, B. H. *et al.* Nosocomial infection rates in US children's hospitals' neonatal and pediatric intensive care units. **American journal of infection control**, v. 29, n. 3, p. 152–157, jun. 2001.
- TERNES, Y. M. *et al.* Molecular epidemiology of coagulase-negative *Staphylococcus* carriage in neonates admitted to an intensive care unit in Brazil. **BMC infectious diseases**, v. 13, p. 572, jan. 2013.
- TSAI, M.-H. *et al.* Incidence, clinical characteristics and risk factors for adverse outcome in neonates with late-onset sepsis. **The Pediatric infectious disease journal**, v. 33, n. 1, p. e7–e13, jan. 2014.
- VILLARI, P.; SARNATARO, C.; IACUZIO, L. Molecular epidemiology of *Staphylococcus epidermidis* in a neonatal intensive care unit over a three-year period. **Jornal of Clinical Microbiology**, v. 38, n. 5, p. 1740–1746, mai. 2000.
- YOKOE, D. S. *et al.* Executive Summary: A Compendium of Strategies to Prevent Healthcare-Associated Infections in Acute Care Hospitals • **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v. 29, p. S12–S21, set. 2008.
- YUMANI, D. F. J.; DUNGEN, F. A M. VAN DEN; WEISSENBRUCH, M. M. VAN. Incidence and risk factors for catheter-associated bloodstream infections in neonatal intensive care. **Acta paediatrica**, v. 102, n. 7, p. e293–8, jul. 2013.
- ZAIDI, A. K. M.; HUSKINS, W. C.; THAVER, D.; BHUTTA, Z. A.; ABBAS, Z.; GOLDMANN, D. A. Hospital-acquired neonatal infections in developing countries. **The Lancet**. v. 365, p. 1175–1188, mar. 2005.
- ZHOU, Q. *et al.* Successful reduction in central line-associated bloodstream infections in a Chinese neonatal intensive care unit. **American journal of infection control**, v. 43, n. 3, p. 275–9, 1 mar. 2015.
- ZINGG, W. *et al.* Individualized Catheter Surveillance among Neonates: A Prospective, 8-Year, Single-Center Experience. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v. 32, n. 1, p. 42–49, jan. 2011.
- _____. Hospital-Wide Multidisciplinary, Multimodal Intervention Programme to Reduce Central Venous Catheter-Associated Bloodstream Infection. **Plos One**, v. 9, n. 4, p. e93898, abr. 2014.

ANEXO I

FICHA DE VIGILÂNCIA DE INFECÇÃO HOSPITALAR



**Hospital de Clínicas
de Uberlândia
(SCIH)**

NOME _____ REG.: _____
UNID. _____ BOX _____ DI _____ PESO _____

ANEXO II



Universidade Federal de Uberlândia
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
COMITÉ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP

Avenida João Naves de Ávila, nº. 2160 – Bloco A – Sala 224 - Campus Santa Mônica - Uberlândia-MG –
CEP 38400-089 - FONE/FAX (34) 3239-4131; e-mail: cep@prop.ufu.br; www.comissoes.prop.ufu.br

ANÁLISE FINAL Nº. 033/11 DO COMITÉ DE ÉTICA EM PESQUISA PARA O PROTOCOLO REGISTRO CEP/UFU
464/10

Projeto Pesquisa: O papel de um pacote de medidas na redução de infecções de corrente sanguínea e estudo de sua patogênese em neonatos críticos.

Pesquisador Responsável: Paulo Pinto Gontijo Filho

De acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 196/96, o CEP manifesta-se pela aprovação do protocolo de pesquisa proposto.

O protocolo não apresenta problemas de ética nas condutas de pesquisa com seres humanos, nos limites da redação e da metodologia apresentadas.

O CEP/UFU lembra que:

- a- segundo a Resolução 196/96, o pesquisador deverá arquivar por 5 anos o relatório da pesquisa e os Termos de Consentimento Livre e Esclarecido, assinados pelo sujeito de pesquisa.
- b- poderá, por escolha aleatória, visitar o pesquisador para conferência do relatório e documentação pertinente ao projeto.
- c- a aprovação do protocolo de pesquisa pelo CEP/UFU dá-se em decorrência do atendimento a Resolução 196/96/CNS, não implicando na qualidade científica do mesmo.

Data de entrega do 1º relatório parcial: Dezembro de 2011.

Data de entrega do 2º relatório parcial: Dezembro de 2012.

Data de entrega do 3º relatório parcial: Dezembro de 2013.

Data de entrega do relatório final: Março de 2015.

SITUAÇÃO: PROTOCOLO APROVADO.

OBS: O CEP/UFU LEMBRA QUE QUALQUER MUDANÇA NO PROTOCOLO DEVE SER INFORMADA IMEDIATAMENTE AO CEP PARA FINS DE ANÁLISE E APROVAÇÃO DA MESMA.

OBS 2: ANÁLISE FINAL ENVIADA AO PESQUISADOR DIA 17/03/2011.

Uberlândia, 11 de fevereiro de 2011.

Profa. Dra. Sandra Terezinha de Farias Furtado
Coordenadora do CEP/UFU

APÊNDICE I

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você/ seu filho (a) está sendo convidado (a) para participar da pesquisa intitulada “O Papel de um Pacote de Medidas na Redução de Infecções de Corrente Sanguínea e Estudo de sua Patogênese em Neonatos Críticos”, sob a responsabilidade dos pesquisadores Dr. Paulo Pinto Gontijo Filho, Dra. Denise Von Dolinger de Brito, Dra. Vânia Olivetti Steffen Abdalla, Jane Eire Urzedo, Ms. Daiane Silva Resende

Nesta pesquisa nós estamos buscando avaliar o impacto de um pacote de medidas dirigido aos cuidados e manutenção do Cateter Venoso Central, na redução das Infecções de Corrente Sanguínea Associada ao Cateter, bem como a patogênese destas infecções, na Unidade de Terapia Intensiva Neonatal do Hospital de Clínicas da UFU.

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi obtido pelo pesquisador Ms. Daiane Silva Resende, na Unidade de Terapia Intensiva Neonatal.

Na sua participação seu filho (a) foi submetido aos procedimentos abaixo relacionados:

- coleta do material no local de entrada do cateter, por meio de um swab estéril;
- coleta do material no cateter, por meio de um swab estéril;
- coleta da ponta do cateter, quando ele for retirado do neonato (pelos profissionais da unidade).

Todo material foi analisado no Laboratório de Microbiologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Campus Umuarama, Bloco 4C, andar superior, localizado na Rua Amazônia, sem número, telefone: 3218-2236. Em nenhum momento você foi identificado. Os resultados da pesquisa foram publicados e ainda assim a sua identidade foi preservada. Você não terá nenhum gasto e ganho financeiro por participar na pesquisa. A pesquisa não oferece nenhum risco e nenhum benefício ao neonato. Você é livre para deixar de participar da pesquisa a qualquer momento sem nenhum prejuízo ou coação. Uma cópia deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ficará com você. Qualquer dúvida a respeito da pesquisa, você poderá entrar em contato com:

-Prof. Dr. Paulo P. Gontijo Filho (Coordenador, ARIMP, UFU)

-Ms. Daiane Silva Resende (Responsável, UFU)

Laboratório de Microbiologia- (034) 3218-2236.

Poderá também entrar em contato com o Comitê de Ética na Pesquisa com Seres-Humanos – Universidade Federal de Uberlândia: Av. João Naves de Ávila, nº 2121, bloco J, Campus Santa Mônica – Uberlândia – MG, CEP: 38408-100; fone: 34-32394131.

Uberlândia, de de 200.....

Assinatura dos pesquisadores

Eu aceito participar do projeto citado acima, voluntariamente, após ter sido devidamente esclarecido.

Participante da pesquisa

APÊNDICE II

INSERÇÃO E MANUTENÇÃO DO CVC

DATA ____/_____/_____

TURNO: () Manhã () Tarde () Noite

PROFISSIONAL A REALIZAR A INSERÇÃO: () Médico () Enfermeiro () Técnico

TIPO DO CVC: () Umbilical () PICC () Intracath () Flebotomia

INSERÇÃO DO CVC

Higiene das mãos antes da inserção () Cirúrgica () Simples

Técnicas Assépticas () Luvas estéreis () Gorro
() Máscara () Campos estéreis longos

Uso de Antissépticos () Clorexidina () Outros antissépticos
() Não usou

Sítio de Inserção () Periférico () Jugular
() Subclávia () Outro _____

CUIDADOS COM O CURATIVO

Higiene das mãos antes do contato com o CVC () Sim () Não

Uso de luvas () Sim () Não

Uso de curativo oclusivo transparente () Sim () Não

Uso de Antissépticos para desinfecção do “hub” do canhão () Sim () Não

Troca adequada (se o curativo estiver sujo, danificado () Sim () Não
ou perda do acesso venoso)

TROCA DO EQUIPO

Higiene das mãos antes do contato com o CVC () Sim () Não

Troca adequada (a cada 72h ou 24 h para NPP) () Sim () Não

REMOÇÃO DO CVC :

Data da inserção ____/____/____

Data da remoção ____/____/____

Motivo da Retirada: _____