

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
MESTRADO EM DOENÇAS INFECCIOSAS

CAROLINA STRAUSS ESTEVEZ GADELHA

**INCIDÊNCIA DE INFECÇÃO NOSOCOMIAL CAUSADA POR VÍRUS
RESPIRATÓRIO, EM UMA UNIDADE DE CUIDADO INTENSIVO E
SEMI-INTENSIVO NEONATAL**

VITÓRIA
2012

CAROLINA STRAUSS ESTEVEZ GADELHA

**INCIDÊNCIA DE INFECÇÃO NOSOCOMIAL CAUSADA POR VÍRUS
RESPIRATÓRIO, EM UMA UNIDADE DE CUIDADO INTENSIVO E
SEMI-INTENSIVO NEONATAL**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas do Núcleo de Doenças Infecciosas da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Doenças Infecciosas.

Orientador: Prof. Dr. Crispim Cerutti Junior
Coorientadora: Prof. Dra. Rita Elizabeth Checon de Freitas Silva

VITÓRIA
2012

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

G124i Gadelha, Carolina Strauss Estevez, 1978-
Incidência de infecção nosocomial causada por vírus respiratório, em uma unidade de cuidado intensivo e semi-intensivo neonatal / Carolina Strauss Estevez Gadelha. – 2012. 67 f.

Orientador: Crispim Cerutti Junior.
Coorientador: Rita Elizabeth Checon de Freitas Silva.
Dissertação (Mestrado em Doenças Infecciosas) –
Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde.

1. Infecção hospitalar. 2. Vírus. 3. Recém-nascidos. I. Cerutti Junior, Crispim. II. Silva, Rita Elizabeth Checon de Freitas. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências da Saúde. III. Título.

CDU: 61




UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS INFECCIOSAS

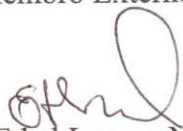
PARECER ÚNICO DA COMISSÃO JULGADORA DE
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

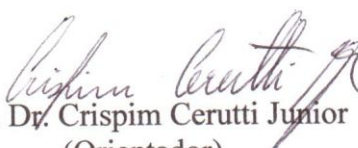
A mestranda CAROLINA STRAUSS ESTEVEZ GADELHA apresentou a dissertação intitulada “**Incidência de Infecção Nosocomial Causada por Vírus Respiratórios em uma Unidade de Cuidados Intensivos e Semi-Intensivos Neonatal**” em sessão pública, no dia 30 de agosto de 2012, como requisito final para obtenção do título de **Mestre em Doenças Infecciosas**, do Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo.


Considerando a apresentação oral dos resultados, a qualidade e relevância dos mesmos, a Comissão Examinadora decidiu (X) **aprovar** () **reprovar** a dissertação para habilitar a médica CAROLINA STRAUSS ESTEVEZ GADELHA a obter o Grau de MESTRE EM DOENÇAS INFECCIOSAS.

Vitória, ES, 30 de agosto de 2012


Prof. Dra. Aparecida das Graças Carvalho Gomes
(Membro Externo)


Prof. Dra. Ethel Leonor Noia Maciel
(Membro Interno)


Prof. Dr. Crispim Cerutti Junior
(Orientador)


Prof. Dra. Rita Elizabeth Checon de Freitas Silva
(Co-orientadora)

Dedico esse trabalho ao meu pequeno Henrique e meu marido João, minhas fontes de alegria e inspiração.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar sempre presente em minha vida.

A minha família pela compreensão das horas ausentes e pelo apoio incondicional, em especial ao meu marido e minha mãe, que nos últimos meses me auxiliaram nos cuidados com o meu pequeno Henrique, sendo indispensável para a conclusão desse trabalho.

Aos meus orientadores Prof. Dr. Crispim Cerutti Junior e Prof. Dr. Prof^a. Dr^a. Rita Checon pela confiança depositada, pelo esforço e dedicação para que esse trabalho fosse concluído. Mais do que orientadores, foram grandes amigos e incentivadores.

À Prof^a Dr^a. Rita Checon, coordenadora do laboratório de vírus do Núcleo de Doenças Infecciosas (NDI), que nos forneceu todas as condições para realização deste trabalho e ainda trabalhou ativamente nas análises laboratoriais.

Ao Ronaldo Bragança M. Junior, colega de mestrado e bioquímico responsável pelos resultados laboratoriais deste estudo. Agradeço pelo esforço, dedicação e amizade.

À Gissirleide pela colaboração no trabalho e amizade.

Às colegas do Laboratório de Virologia (LABVIR), Laís e Sheila pela dedicação e a Luciana pelas palavras de incentivo.

A toda equipe de profissionais da Unidade de Terapia Intensiva (UTI) neonatal do Hospital Universitário Cassiano Antônio Morais (HUCAM), em especial às enfermeiras Sandra e Regiane pelo auxílio.

Aos pequenos pacientes e suas famílias, não só pela participação no trabalho, mas pela confiança depositada.

A todos os meus colegas de mestrado pelo companheirismo e estímulo, em especial à minha querida amiga Sandra Mary, pelos momentos tão agradáveis que passamos juntas.

A todos os professores do programa pós-graduação pelos ensinamentos.

À Fátima e Wayna pelo auxílio e à Rose pelo sorriso constante.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Espírito Santo - FAPES/Fundo de Apoio à Ciência e Tecnologia - FACITEC pelo financiamento.

À chefia da divisão de pediatria, pelo apoio.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

O neonato, especialmente aquele nascido antes do termo, é mais suscetível às infecções. Existem poucos dados publicados sobre as infecções virais nosocomiais no período neonatal e estes apresentam resultados discordantes. Objetivos: Determinar a incidência de infecção viral nosocomial em neonatos internados em uma unidade de terapia intensiva (UTI) e semi-intensiva, em Vitória, ES e realizar vigilância clínica quanto ao aparecimento de sintomas sugestivos dessa infecção viral. Métodos: Trata-se de um estudo de coorte, prospectivo, com duração de 13 meses, realizado de novembro de 2010 a dezembro de 2011. Todos os neonatos internados na UTI neonatal do Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes (HUCAM) no período do estudo foram submetidos a acompanhamento clínico e coleta semanal de secreção de nasofaringe (SNF), até a alta da unidade. Foram pesquisados 15 diferentes vírus por meio de imunofluorescência indireta (RIFI) e Reação em cadeia da polimerase (PCR) no formato *multiplex*. Resultados: Cento e quatorze neonatos foram incluídos, sendo deles obtidas 424 amostras de Secreção de nasofaringe (SNF). Todas as amostras foram testadas por RIFI e 51 por PCR. Vinte e seis neonatos (22,8%) apresentaram suspeita clínica de infecção viral nosocomial. Em nove pacientes foi detectado algum vírus respiratório, sendo Vírus sincicial respiratório (VSR) em quatro (3,5%), Rinovírus (HRV) em três (2,6%) e Influenza A (FLU A) em dois (1,7%). Dois pacientes estavam assintomáticos. A incidência de infecção viral nosocomial foi de 7,8%. Identificou-se uma fraca associação entre a suspeita clínica de infecção viral e a detecção do vírus laboratorialmente. Conclusões: A incidência encontrada foi compatível com as características da unidade estudada e resultado de um esforço permanente para profilaxia e educação continuada. Considerando a dificuldade de diagnóstico clínico preciso no período neonatal, ressaltamos a importância do diagnóstico laboratorial dessas viroses nesse período.

Palavras-chave: Infecção hospitalar. Vírus. Recém-nascidos.

ABSTRACT

The newborn infant, especially one born before term, is more susceptible to infections. There are few published data on nosocomial viral infections in the neonatal period and those have conflicting results. Aims: to determine the incidence of nosocomial viral infection in newborn infants hospitalized in an intensive care unit (ICU) and semi-intensive care unit, at Vitória, ES, and to carry out clinical surveillance for the emergence of symptoms suggestive of that viral infection. Methods: this is a 13-month prospective cohort study held conducted from November 2010 to December 2011. All newborn infants hospitalized in the neonatal ICU of the Cassiano Antônio Morais University Hospital (HUCAM) throughout the study were subjected to clinical monitoring and weekly collection of nasopharyngeal secretion (NPS) up to patient discharge. Fifteen different viruses were searched through indirect immunofluorescence (RIFI) and polymerase chain reaction (PCR) in the multiplex format. Results: one hundred and fourteen newborn infants were included in the study, of which were obtained 424 samples of NPS. All samples were tested by IIFR and 51 of them by PCR. Twenty-six (22.8%) newborn infants showed clinical suspicion of nosocomial viral infection. In nine patients was detected some respiratory virus, being respiratory syncytial virus (RSV) in four (3.5%), Rhinoviruses (HRV) in three (2.6%) and Influenza A virus (FLU) in two (1.7%). Two patients were asymptomatic. The incidence of nosocomial viral infection was 7.8%. We found a weak association between the clinical suspicion of viral infection and detection of the virus in laboratory. Conclusions: the noted incidence was compatible with the characteristics of the studied unit and the result of an ongoing effort to prophylaxis and continuing education. Considering the difficulty of accurate clinical diagnosis in neonatal period, we emphasize the importance of laboratory diagnosis of these viruses in that period.

Keywords: Hospitalar infection. Virus. Newborn

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AdV	Adenovírus
BVA	Bronquiolite viral aguda
CCIH	Comissão de controle de infecção hospitalar
Cpap	Pressão positiva contínua nasal
CID	Código Internacional de Doenças
dNTP	Desoxinucleotídeo trifosfato
EBP	Extremo baixo peso
ELISA	Ensaio imunoenzimático
EN	Ensaio de neutralização
FACITEC	Fundo de Apoio à Ciência e Tecnologia
FAPES	Fundação de Amparo à Pesquisa do Espírito Santo
FAT	Teste de anticorpo fluorescente
FLU	Vírus influenza
HRV	Rinovírus humano
HBoV	Bocavírus humano
HCoV	Coronavírus humano
HEV	Enterovírus humano
HRV	Rinovírus humano
HUCAM	Hospital Universitário Cassiano Antônio Morais
IFD	Imunofluorescência direta
IH	Inibição da hemaglutinação
IRA	Infecção respiratória aguda
LABVIR	Laboratório de virologia
MBP	Muito baixo peso
MEM	<i>Minimal essential medium</i>
MPV	Metapneumovírus
NDI	Núcleo de doenças infecciosas
PBS	Tampão fosfato salino
PCR	Reação em cadeia de polimerase
PIV	Parainfluenza vírus
RIFI	Reação de imunofluorescência indireta
RNA	Ácido ribonucléico

RT	Transcrição reversa
RT-PCR	Reação em cadeia de polimerase com transcriptase reversa
SARS	Síndrome respiratória aguda grave
SNF	Secreção de nasofaringe
SUS	Sistema único de saúde
TA	Temperatura ambiente
TDA	Teste de detecção de antígeno
TFC	Teste de fixação de complemento
UTI	Unidade de terapia intensiva
VSR	Vírus sincicial respiratório

LISTA DE SÍMBOLOS

g	grama
h	hora
MgCl ₂	cloreto de magnésio
Min	minuto
ml	mililitro
Nm	nanômetro
s	segundo
µL	microlitro

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Relatos de surtos pelo VSR, em unidades neonatais.....	26
Tabela 2 – Relatos de surtos pelo PIV, em unidades neonatais	27
Tabela 3 – Relatos de surtos pelo AdV, em unidades neonatais	27
Tabela 4 – Relatos de surtos por HBoV e HCoV, em unidades neonatais.....	28
Tabela 5 – Relatos de surtos pelo FLU, em unidades neonatais	28
Tabela 6 –Relatos de surtos (co-infecção), em unidades neonatais	29

SUMÁRIO

1 APRESENTAÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 A INFECÇÃO RESPIRATÓRIA AGUDA (IRA) VIRAL NO NEONATO	13
2.1.1 Vírus Sincicial Respiratório.....	13
2.1.2 Rinovírus	15
2.1.3 Vírus Influenza	16
2.1.4 Adenovírus	17
2.1.5 Parainfluenza	18
2.1.6 Outros vírus (Bocavírus humano e Coronavírus humano)	19
2.2 MÉTODOS DIAGNÓSTICOS.....	20
2.2.1 Isolamento viral	21
2.2.2 Imunofluorescência	21
2.2.3 Biologia molecular	22
2.3 INCIÊNCIA DAS INFECÇÕES VIRAIS	22
3 JUSTIFICATIVA	30
4 OBJETIVOS	31
4.1 OBJETIVOS GERAL E ESPECÍFICOS.....	31
5 ARTIGO	32
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	53
7 CONCLUSÕES	55
REFERÊNCIAS	56
ANEXOS	63

1 APRESENTAÇÃO

A execução desta pesquisa foi uma importante oportunidade para conhecer dados sobre infecções respiratórias virais em neonatos internados em unidades intensivas, que poderão ser utilizados para protocolos de profilaxia e controle de surtos de infecções virais nessas unidades. Foi também bastante esclarecedor o conhecimento do perfil epidemiológico dos neonatos internados nesta unidade de terapia intensiva e semi-intensiva neonatal do Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes (HUCAM).

O neonato pré-termo está mais suscetível a várias infecções, incluindo as infecções virais, podendo apresentar uma sintomatologia atípica, dificultando o seu diagnóstico clínico e fazendo com que o diagnóstico laboratorial seja necessário. Entretanto o diagnóstico laboratorial ainda não está completamente difundido na prática clínica e existem poucos estudos que lançam mão deste artifício.

Essa dissertação inclui um artigo, segundo as normas regimentais do Programa de Pós-graduação em Doenças Infecciosas. O artigo tem como título “Incidência de infecção nosocomial causada por vírus respiratório, em uma unidade de cuidado intensivo e semi-intensivo neonatal”.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A INFECÇÃO RESPIRATÓRIA AGUDA (IRA) VIRAL NO NEONATO

Apesar do agente etiológico da infecção respiratória aguda (IRA) viral ser muitas vezes o mesmo no neonato e nos pacientes pediátricos, a apresentação clínica no neonato parece ser diferente. Em neonatos a infecção respiratória viral pode ser de sintomatologia atípica, tendo como sintomas anorexia, letargia, irritabilidade e dificuldade de alimentação, podendo até passar despercebida, contribuindo para o atraso na instituição de medidas de isolamento e para a propagação rápida do surto¹.

Por outro lado, não raramente, a infecção viral causa sintomas mais graves, do trato respiratório inferior, nos lactentes menores de dois meses de idade, principalmente quando são prematuros. Esses podem apresentar síndrome séptica, apneia, hipotermia, hiperresponsividade brônquica e atelectasia, especialmente quando a infecção é causada pelo Vírus Sincicial Respiratório (VSR)²⁻³. A sintomatologia no neonato depende do agente etiológico, sendo o VSR o mais frequente⁴. Serão apresentados a seguir, os principais vírus que causam infecção em neonatos e que já foram descritos como causadores de infecções e surtos em ambientes de cuidados intensivos neonatais.

2.1.1 Vírus Sincicial Respiratório

O VSR é um RNA vírus, não segmentado, envelopado, da família *Paramyxoviridae*, subfamília *Pneumovirinae* e gênero *Pneumovirus*. O genoma do VSR codifica 11 proteínas (duas não-estruturais e nove estruturais). As duas proteínas não-estruturais são a NS-1 e a NS-2. As proteínas estruturais são nove: a) nucleoproteína N; b) fosfoproteína P; c) proteína M2-1; d) proteína L; e) proteína M; f) proteína F, localizada na superfície externa do envelope, essencial para a fusão vírus-célula e na formação de sincícios; g) glicoproteína G, importante mediador da adsorção viral à célula alvo; h) glicoproteína SH; e i) proteína M2-2.⁵

O VSR foi isolado pela primeira vez em 1956 de uma colônia de chimpanzés que apresentavam coriza.⁶ No ano seguinte, Chanok et al.⁷ descreveram uma associação desse vírus com infecção do trato respiratório inferior em lactentes.

Em regiões de clima temperado, O VSR é tipicamente prevalente durante os meses de inverno, podendo ocorrer do final do outono ao início da primavera. Já em locais com clima tropical e subtropical, a infecção pelo VSR ocorre durante as estações chuvosas.⁸⁻⁹ Em Vitória, ES, um trabalho publicado em 2002, demonstrou que a infecção pelo VSR acontece mais cedo, no final do verão e no outono.¹⁰

O período de incubação do VSR é de dois a oito dias, mas a excreção viral pode ocorrer por mais de quatro semanas. A sua transmissão ocorre por contato direto com secreções ou fômites ou por contato indireto, pois o vírus pode sobreviver nas superfícies por mais de sete horas e por mais de 30 minutos nas roupas, papéis, estetoscópios e pele. Ele é altamente contagioso, havendo facilidade de transmissão nos ambientes hospitalares, o que torna as infecções nosocomiais por esse vírus frequentes.¹¹⁻¹²

Sabe-se hoje que o VSR causa infecção aguda do trato respiratório em indivíduos de todas as idades; entretanto a maioria das crianças é infectada no primeiro ano de vida e, virtualmente, todas as crianças serão expostas a ele até o segundo ano de idade. As infecções prévias não protegem o indivíduo contra novas infecções, portanto reinfecções ocorrem durante toda a vida, sendo que o acometimento de vias aéreas inferiores, a bronquiolite viral aguda (BVA), acontece na primoinfecção, ainda no primeiro ano de vida.¹³⁻¹⁴

A medicina atual trouxe para os pacientes nascidos com baixas idades gestacionais ganho significativo em termos de sobrevivência. Entretanto, a prematuridade e o baixo peso ao nascer, com ou sem doença pulmonar crônica, passaram a ser fatores de risco para maior frequência de doença do trato respiratório inferior, maior gravidade e mais sequelas no longo prazo, após contato e infecção pelo VSR.^{2,15}

São condições associadas ao elevado risco dessa infecção no prematuro: o sistema imune imaturo, reduzida transferência de anticorpos maternos e reduzido calibre das vias aéreas. Associam-se a elas: baixa reserva energética, desmame precoce, anemia, infecções repetidas e uso de corticóides.¹⁶⁻¹⁷

Nos prematuros, os neutrófilos e componentes do sistema complemento diferem quantitativa e qualitativamente, em comparação àqueles nascidos a termo. Especula-se que o sistema complemento tenha um papel específico em neutralizar o VSR. Parece que as células T do neonato pré-termo, apesar de apresentarem função normal, mostram um desequilíbrio da regulação de citocinas e quimiocinas, predispondo às infecções virais. A transferência incompleta dos anticorpos maternos representa outro fator de risco para infecção pelo VSR em crianças prematuras. Sabe-se, inclusive, que o pré-termo apresenta o seu sistema respiratório menos desenvolvido. Tanto a anatomia quanto a fisiologia dos seus pulmões diferem daquelas dos nascidos a termo. A medida do volume pulmonar em crianças nascidas a termo é de 150 a 200ml. Em contrapartida, o volume pulmonar dos lactentes nascidos com 30 semanas de gestação é de aproximadamente 25ml. O pré-termo apresenta, ainda, o peso pulmonar reduzido em duas vezes em comparação aos nascidos a termo (20 a 25g neonato pré-termo versus 50g no neonato a termo). Adicionalmente, pré-termos apresentam alvéolos em menor número e com menor diâmetro.¹⁸⁻¹⁹

O primeiro relato de surto em uma unidade de cuidados neonatais foi publicado em 1970. Ao contrário do que se esperava, os autores relataram que os neonatos acometidos apresentaram apenas sintomas leves de vias aéreas superiores. Alguns neonatos apresentaram sibilância leve²⁰. Entretanto, outros autores demonstraram que, no período neonatal, os sintomas geralmente são mais graves, sendo os mais frequentes tosse, sibilância, dispneia, apneia e bradicardia, seguidos por febre, coriza, recusa alimentar e vômitos. São achados comuns na radiografia de tórax: atelectasia, hiperinsuflação e infiltrado pulmonar. Um estudo de 2004 demonstrou que 87% dos neonatos apresentavam necessidade de oxigênio suplementar durante a infecção por esse vírus.²¹⁻²³

2.1.2 Rinovírus

O rinovírus humano (HRV) faz parte da família *Picornaviridae* e gênero *Enterovirus*. Os picornavírus são partículas virais esféricas, não envelopadas, com diâmetro variando de 25-30nm. Seu genoma é constituído por RNA.²⁴ Sabe-se que HRV é um vírus que causa doença tipicamente em crianças mais velhas e causa sintomas de

um “resfriado comum”. Pouco se sabe sobre a importância do HRV em neonatos e estudos em recém-nascidos pré-termo ainda são limitados. O HRV, em contraste com o VSR, está presente na comunidade em várias estações do ano e grande parte das pessoas não apresenta sintomas. Portanto, este vírus com frequência não é apontado como agente causal de infecções nosocomiais. Um estudo publicado por Valenti²⁵, em 1982, sugeriu que o HRV pode aumentar a morbidade no neonato gravemente comprometido. Esse autor sugeriu que neonatos têm o potencial de desenvolver doença mais grave quando apresentam obstrução nasal, podendo apresentar inclusive apneia e necessidade de ventilação mecânica e oxigenioterapia. Fora do ambiente hospitalar, um estudo demonstrou que 56% dos lactentes que nasceram com muito baixo peso apresentavam como agente causal da IRA o HRV.²⁶

2.1.3. Vírus Influenza

Os vírus influenza (FLU), ou vírus da gripe, estão classificados na família *Orthomyxoviridae*, gêneros *Influenzavirus A*, *B* e *C*. Possuem um genoma de RNA de fita simples.²⁷

São responsáveis por infecções respiratórias agudas, de caráter epidêmico, principalmente em regiões de clima temperado. Eventualmente, a epidemia ganha proporções globais. Essas pandemias são consequências de reestruturações (*reassortment*) entre segmentos gênicos, denominado “*antigenic shift*”, que podem acontecer em casos de coinfeção com subtipos diferentes, originando um “novo” vírus. A pandemia mais recente documentada pelo homem ocorreu em 2009, denominada gripe suína, que marcou o surgimento de um novo subtipo de Flu A H1N1.²⁸

A infecção nosocomial pelo vírus influenza foi pouco descrita na população pediátrica e ainda com menor frequência no período neonatal. O primeiro relato de surto nessa população foi em 1973, descrito por Bauer et al.²⁹, sendo o agente etiológico o FLU A (H3N2). Três neonatos simultaneamente apresentaram febre, rinorréia, congestão nasal e irritabilidade. Apenas um paciente desenvolveu infiltrado pulmonar. Em 1977, Meibalane et al.³⁰ relataram um novo surto por esse vírus,

envolvendo oito neonatos pré-termo, sendo que sete apresentavam doença pulmonar crônica. Esses pacientes apresentaram sintomas inespecíficos, como letargia, dificuldade de alimentação e apneia. Posteriormente, Munhoz et al.³¹, em 1999, e Cunney et al.³², em 2000, também relataram surtos em unidades de cuidados neonatais. Em um estudo publicado em 2002, em Barcelona, Sagrera³³ descreveu um grande surto, de 30 casos, de neonatos com infecção pelo vírus Influenza A (H3N2) em uma UTI neonatal. Nesse relato, neonatos apresentaram sintomas respiratórios e digestivos. Os sintomas digestivos foram leves, não específicos e autolimitados. Os sintomas respiratórios foram também leves, não ocorrendo nenhum caso fatal. Isso está de acordo com estudos prévios que afirmaram que o vírus FLU A causa sintomas leves no período neonatal, provavelmente pela proteção dos anticorpos maternos, existentes nesse período³³. O único caso fatal foi descrito no estudo realizado por Munhoz³¹, em 1999. Entretanto, o paciente apresentava uma co-morbidade grave, uma cardiopatia congênita, que contribuiu para o desfecho fatal. Tal desfecho ocorreu após a remissão dos sintomas da infecção.

Por outro lado, a infecção pandêmica pode ser mais grave na população neonatal pela falta de anticorpos específicos contra essas novas cepas. Barak et al.³⁴, em 2010, descreveram um caso de um neonato infectado pelo H1N1 em uma UTI neonatal, durante a pandemia de 2009. Este paciente apresentou apenas sintomas inespecíficos, como apneia e necessidade de ventilação não invasiva. Mulupi et al.³⁵ também constataram que todos os neonatos infectados durante um surto na UTI neonatal, também em 2009, apresentaram sintomas inespecíficos como bradicardia, queda na saturação arterial de oxigênio, taquipneia e apneia. Outros autores³⁶, em 2011, descreveram sintomas em três neonatos, infectados pelo H1N1 em 2009. Um apresentou apenas sintomas clássicos de uma IRA, o segundo neonato apresentou apneia e o terceiro um quadro clínico mais grave, de insuficiência respiratória e pneumotórax.

2.1.4 Adenovírus

Os Adenovírus (AdV) são vírus não-envelopados, com capsídeo icosaédrico que envolve o genoma de DNA de dupla-fita.³⁷ Existem, hoje, 51 sorotipos diferentes de

AdV humanos os quais são agrupados em sete espécies: A, B (B1 e B2), C, D e E, mas apenas 1/3 desses sorotipos são capazes de causar doença em humanos. Alguns tipos, como o 1,2,5 e 6, são endêmicos em várias partes do mundo, enquanto os sorotipos 7, 8, 19 e 37 estão associados a surtos.³⁸

Estudos sugerem que neonatos prematuros apresentam imunidade celular diminuída, em particular aquela relacionada a linfócitos T e natural Killer. Exibem redução de atividade citotóxica, limitado repertório de anticorpos produzidos pelos seus linfócitos B e redução dos anticorpos adquiridos por via transplacentária, que os fazem altamente suscetíveis à infecção por esse agente.³⁹⁻⁴¹

O adenovírus (AdV) tem a capacidade de causar infecção respiratória do trato superior e inferior, além de conjuntivite, gastroenterite, cistite e exantema. Um relato de surto causado pelo AdV tipo 30, em uma unidade intensiva, envolvendo 21 neonatos, mostrou que a infecção por esse agente se manifesta primariamente por pneumonia, conjuntivite e sintomas do trato respiratório superior. Um paciente ficou assintomático. Ocorreram seis óbitos (entre os 21 pacientes infectados).⁴² Existem outros três relatos de surtos no ambiente da UTI neonatal.³⁹⁻⁴¹ Em um deles, o surto foi causado pelo AdV tipo 8 e verificou-se que esse agente pode ser veiculado por meio do exame oftalmológico, realizado rotineiramente em neonatos prematuros, no ambiente hospitalar, já que este vírus é conhecido agente etiológico de conjuntivites.⁴¹

2.1.5 Parainfluenza

O PIV pertence à família *Paramyxoviridae* e à subfamília *Paramyxovirinae*. Os sorotipos 1 e 3 pertencem ao gênero *Respirovirus* e os tipos 2 e 4 aos gênero *Rubulavirus*. Trata-se de uma partícula esférica, cujo genoma é constituído de RNA de fita simples.⁴³ Entre os quatro sorotipos do PIV, o tipo 3 acomete lactentes jovens com maior frequência, causando a maioria das infecções virais no primeiro ano de vida.⁴⁴

A infecção pelo PIV3 no período neonatal parece ser infrequente, pela aquisição de anticorpos neutralizantes por via transplacentária. Entretanto existem alguns relatos de surtos por esse agente, em unidades de cuidado neonatal.⁴⁵⁻⁵⁰ Uma possível

explicação é que a proteção pelos anticorpos neutralizantes parece durar pouco tempo, o que justifica que a infecção ocorra em lactentes bem jovens, com média de idade de 42 dias, mas não nos primeiros dias de vida.⁵¹

Em crianças, o PIV 3 pode causar desde sintomas de vias aéreas superiores até pneumonia e bronquiolite. Em um estudo prévio em unidades neonatais, nenhum óbito foi constatado⁵². Os sintomas mais frequentes foram coriza, tosse, apneia e febre, além de necessidade de oxigênio suplementar e aparecimento de infiltrado pulmonar na radiografia de tórax.⁴⁵⁻⁵⁰

2.1.6 Outros vírus (Bocavírus humano e Coronavírus humano)

O Bocavírus Humano (HBoV) foi descrito pela primeira vez em 2005, a partir de amostras de aspirado de nasofaringe obtidas de crianças suecas com infecção do trato respiratório inferior⁵³.

O vírus foi então classificado como membro da família *Parvoviridae*, subfamília *Parvovirinae* e gênero *Bocavirus*. Posteriormente, verificou-se que HBoV é o agente causal de infecções em pacientes entre seis meses e dois anos de idade. Os sintomas verificados nesses pacientes foram do trato respiratório superior e inferior.⁵⁴

Casos de infecção nosocomial causada por esse vírus, no período neonatal, foram descritos apenas por um grupo de autores, Calvo et al.⁵⁵, três anos depois, em 2008, na Espanha. O primeiro neonato descrito apresentou atelectasia, necessidade de aumento da oxigenioterapia e ventilação mecânica. O segundo neonato, que apresentava displasia broncopulmonar, apresentou piora das suas condições clínicas, evoluindo posteriormente para óbito.

O Coronavírus humano (HCoV) pertence à ordem *Nidovirales*, família *Coronaviridae* e gênero *Coronavirus*. É o maior vírus de RNA da natureza. Os agentes podem ser divididos em três grupos sorologicamente distintos: a) no grupo I, estão o HCoV-229E e o HCoV-NL63, além de vários outros coronavírus de animais; b) no grupo II, estão o HCoV-OC43, o HCoV-HKU1, o SARSHCoV e também vários coronavírus de animais; e c) no grupo III, estão apenas HCoV que infectam animais. Os primeiros a

serem descritos, há mais de 40 anos, foram o HCoV-229E e OC43, seguidos pelo SARSHCoV, descrito em um surto de síndrome respiratória aguda grave (SARS), em 2002, em uma província da China. Posteriormente, foram descritos o HCoV-NL63 e o HCoV-HKU1.⁵⁶⁻⁵⁸

A participação dos Coronavírus nas IRA de crianças ainda não é claro, principalmente pelas dificuldades no diagnóstico virológico. A primeira descrição de surto causado pelo HCoV-229E, em ambiente de uma UTI neonatal, foi feita em 1995, na França. Em seguida os mesmos autores descreveram outros surtos, tendo esse vírus como o agente etiológico, chegando a conclusão que o HCoV-229E é um potencial agente causal de infecção nosocomial em unidades de cuidados neonatais. Os sintomas mais frequentes foram necessidade de oxigenioterapia e suporte ventilatório, síndrome séptica, além de achados não específicos, como bradicardia e apneia.⁵⁹⁻⁶¹

2.2 MÉTODOS DIAGNÓSTICOS

Os métodos laboratoriais disponíveis para diagnóstico das infecções por vírus respiratórios são: a) cultura do vírus em um hospedeiro suscetível ou linhagens celulares diversas e demonstração dos seus efeitos; b) detecção direta do vírus, do seu material genético ou proteínas (antígeno) por meio de técnicas como as reações de imunofluorescência direta (IFD) e indireta (RIFI), o ensaio imunoenzimático (ELISA) e métodos baseados na amplificação dos ácidos nucleicos, como a reação em cadeia de polimerase (PCR); c) evidência sorológica de infecção (detecção de anticorpo) por meio de técnicas como o teste de inibição da hemaglutinação, a inibição de hemadsorção, o teste de fixação do complemento e o teste de neutralização. Serão descritos, a seguir, os métodos de cultura de célula, por serem considerados “padrão ouro” e os métodos laboratoriais que foram utilizados durante este estudo.⁶²

2.2.1 Isolamento viral

A cultura de células é reconhecida como o “padrão ouro” para o diagnóstico da presença de diversos vírus respiratórios, devido à sua elevada especificidade. Os meios utilizados são os de células humanas: HEp-2 (células de carcinoma de laringe humano), HeLa (células de carcinoma de cérvix humano) e NCI-H292 (células de carcinoma epidermóide de pulmão humano), pois são obtidas de tecidos tumorais e exibem rápida velocidade de multiplicação, podendo ser utilizadas indefinidamente. A sensibilidade da cultura varia de 60 a 90% e a especificidade é muito alta, sendo próxima a 100%. Os melhores resultados ocorrem se a coleta for realizada no momento de maior replicação viral, que ocorre até cinco dias após o início dos sintomas.⁶³⁻⁶⁴

Os vírus respiratórios podem ser detectados a partir do seu efeito nessas culturas de células (efeito citopático), que é observado em microscopia convencional, como é o caso do VSR e do AdV. Outros vírus (PIV e FLU) podem ser detectados pela sua habilidade em causar aglutinação de hemácias (hemaglutinação) quando adicionadas a essas culturas. Apesar de ser considerada o “padrão ouro”, a técnica do isolamento viral apresenta a desvantagem da demora de vários dias ou até semanas até a disponibilidade do resultado, o que inviabiliza sua utilização na prática clínica, quando resultados mais rápidos são desejados.⁶³⁻⁶⁴

2.2.2 Imunofluorescência

Provas rápidas utilizando a imunofluorescência vêm se tornando cada vez mais acessíveis. As técnicas mais rápidas de diagnóstico consistem na detecção de antígenos virais. A detecção pode ser realizada por meio de reação de imunofluorescência direta (IFD) ou indireta (RIFI), que apresentam sensibilidade de 80% e especificidade de 90%. A IFD ou a RIFI permite a identificação de sete vírus respiratórios: FLU A e B, VSR, PIV 1, 2, 3 e AdV. Essa técnica é a de mais baixo custo dentre as disponíveis, entretanto necessita de análise por um técnico habilitado.⁶⁵

2.2.3 Biologia Molecular

A PCR tem sido mais utilizada nos últimos anos, principalmente em pesquisas clínicas, por apresentar maior sensibilidade e boa especificidade. Essa técnica é importante para identificação de outros vírus não detectáveis por outros métodos, como é o caso do Rinovírus, Metapneumovírus, Bocavírus e vírus emergentes, como o vírus pandêmico da Influenza (H1N1). As técnicas de PCR têm aparecido em diversos estudos como sendo mais sensíveis que a imunofluorescência e a cultura para o diagnóstico etiológico das infecções virais agudas. A PCR é menos afetada pela qualidade do espécime e seu transporte. Na técnica Multiplex PCR em tempo real, uma mistura de pares de iniciadores é utilizada, permitindo amplificação e detecção simultânea de vários tipos de vírus. Ela é altamente sensível e de rápida execução, apresentando vantagem na prática clínica. Também é capaz de revelar a presença de vírus em amostras com poucas cópias virais ou de indicar a presença de RNA viral sem vírus vivo. Em ambas as situações, a detecção pode não ser feita pela técnica convencional de cultura de células.⁶⁶⁻⁶⁸

2.3 INCIDÊNCIA DAS INFECÇÕES VIRAIS

Existem poucos estudos que abordam as infecções nosocomiais causados por vírus respiratórios em neonatos internados em unidades intensiva e semi-intensiva. Nesses estudos, a incidência dessas infecções varia de 1% até 47%.

Verboon-Macielek et al.⁴ realizaram um estudo retrospectivo e analisaram dados de 5.396 pacientes internados numa UTI neonatal com infecção viral confirmada laboratorialmente por meio de isolamento viral ou PCR, por um período de 12 anos, de 1992 a 2003. A coleta dos espécimes clínicos para diagnóstico foi realizada apenas nas crianças clinicamente suspeitas. Nessa unidade, admitiam-se pacientes com infecção viral, especialmente por VSR, até o ano de 1999. Foram pesquisados vírus de transmissão respiratória, fecal-oral e também vírus de transmissão vertical, como citomegalovírus, herpes simples e rubéola. Esses autores encontraram incidência de 1%, incluindo as infecções congênitas, nosocomiais e adquiridas no domicílio. As infecções mais frequentes foram por enterovírus e parechovírus (39%), seguidas por VSR e rotavírus (29% e 10%, respectivamente). Dos pacientes com

infecção por VSR, 60% apresentaram infecção nosocomial. Os 40% restantes adquiriram a infecção pelo VSR no domicílio e foram internados para tratamento.

O VSR é o vírus melhor estudado nesses pacientes, mas os dados existentes ainda são insuficientes e discordantes.⁶⁹⁻⁷¹

Um estudo retrospectivo, realizado no Reino Unido em 2004, por Thwaites e Piercy⁷², encontrou incidência muito baixa, menor que 1%, de infecção nosocomial em unidades de cuidados neonatais. Porém, o estudo foi realizado por meio de revisão de prontuário e como critério de seleção dos casos foi utilizado o código Código Internacional de Doenças (CID) referente a bronquiolite viral aguda e pneumonia por VSR, o que pode ter subestimado o número de casos.

Berger et al.⁷³, em 2010, publicaram um estudo prospectivo, de curta duração (dois meses) durante a sazonalidade do VSR. Foi realizada coleta de secreção de nasofaringe (SNF), por meio de *swab*, duas vezes por semana e a técnica laboratorial utilizada foi a PCR para VSR. Os autores encontraram uma baixa incidência de infecção por este vírus (um caso em 81 pré-termos). Entretanto, o único caso apresentou como desfecho o óbito. Não foram estudados outros vírus. Os autores concluíram ser tal baixa incidência, uma consequência da educação constante da sua equipe e das características de sua unidade, que recebe a maioria dos neonatos oriundos da maternidade e, portanto, não admite pacientes já com sintomas virais.⁷³

Em contraste, um estudo prospectivo realizado na Nigéria, em 1992, encontrou alta incidência de infecção nosocomial por VSR em neonatos internados em uma unidade de cuidados intensivos (20,8%). O diagnóstico laboratorial foi realizado por meio de aspirado da nasofaringe, sendo utilizada a técnica de ELISA. A unidade de cuidados neonatais admitia neonatos com sintomas respiratórios sugestivos de infecção viral. Os autores concluíram que a transmissão do VSR na unidade se deu através dos profissionais de saúde, por medidas inadequadas de controle de infecção.⁷⁴ Outro estudo, retrospectivo de um período de 10 anos, de janeiro de 1988 a dezembro de 1997, publicado na Alemanha em 2001, analisou dados clínicos e laboratoriais, utilizando o teste de antígeno, e encontrou uma alta incidência representada por 47% de infecção nosocomial por VSR em neonatos prematuros

nascidos com menos de 28 semanas de gestação, 18% naqueles nascidos entre 28 e 32 semanas e 13% naqueles nascidos entre 33 e 37 semanas.⁷⁵ Um estudo prospectivo, publicado em 2004, com duração de dois anos, em uma UTI neonatal da Tunísia, que admitia neonatos e lactentes externos para tratamento de infecção respiratória, demonstrou que nos 17 dos 46 lactentes que apresentaram infecção pelo VSR, era de aquisição nosocomial. A incidência da infecção nosocomial foi alta, de 37%.²¹

Apenas recentemente o HCoV foi reconhecido como potencial agente de infecções respiratórias nosocomiais em crianças de alto risco, incluindo neonatos. Esse vírus ainda foi pouco estudado e a sua importância no ambiente da UTI neonatal ainda não foi suficientemente esclarecida, em decorrência da dificuldade no diagnóstico laboratorial. O primeiro estudo foi francês, publicado em 1995. Trata-se de um estudo prospectivo, realizado entre janeiro de 1991 e março de 1993, com acompanhamento clínico e coleta de aspirado nasofaríngeo em 40 neonatos com menos de 32 semanas de gestação, semanalmente, desde a admissão na unidade, até a alta. O diagnóstico laboratorial foi realizado por meio de RIFI para os seguintes vírus: HCoV, VSR, AdV, FLU e PIV. Em 10 dos 40 pacientes (25%), foi detectado HCoV nas vias aéreas superiores, sendo todos sintomáticos respiratórios.⁵⁹

Os mesmos autores realizaram novo estudo prospectivo no período de novembro de 1997 a dezembro de 2001. Foi realizada coleta de SNF semanalmente, da admissão até a alta hospitalar, e a identificação viral foi feita por meio de RIFI para HCoV, VSR, AdV, FLU, PIV e por meio de cultura de célula para AdV e VSR. A partir de 1998, passou a ser realizada Reação em Cadeia da Polimerase com transcriptase reversa (RT-PCR) para HCoV. Os autores encontraram alta incidência de infecção por esse vírus em neonatos internados: 11% em 1997, 28,3% em 1998, 22,3% em 1999 e 19,5% em 2001, sugerindo que o coronavírus pode ser um importante agente causador de infecções nosocomiais em neonatos. Essa unidade neonatal, entretanto, admite recém-nascidos externos, com sintomas de infecção respiratória, sendo então esses pacientes também representados no referido estudo.⁶⁰⁻⁶¹

No Brasil, foi realizado apenas um estudo prospectivo, de novembro de 2000 a setembro de 2002, para avaliar a incidência de infecção viral em crianças pré-termo submetidas a ventilação mecânica. O espécime clínico utilizado foi o aspirado

traqueal, que era coletado semanalmente, durante a utilização da ventilação mecânica. Foram pesquisados por meio da RIFI: VSR, PIV 1,2 e 3, FLU A e B e AdV. O VSR e o AdV também foram pesquisados por meio da cultura celular. Como resultado, os autores encontraram uma incidência de 29,5% de infecção viral nosocomial, sendo o VSR o agente mais frequente (14,1%), seguido por FLU A (10,2%). Nesse estudo, como em outros, foram incluídos recém-nascidos externos admitidos com sintomas respiratórios.⁷⁶

Vários outros autores descreveram surtos de VSR e, em menor número, FLU A, H1N1, PIV 3, AdV, HCoV, HBoV e HRV em diferentes populações e com diferentes achados (Tabela 1 a 6), mas ainda há falta de conhecimento e discrepância de dados sobre a incidência de infecções nosocomiais causadas por esses vírus em recém nascidos internados em unidades de cuidados intensivos e semi-intensivos.^{20,}

22-23, 25, 26-33, 35-36, 39-41, 45-50, 55, 62, 77-85

Tabela 1 – Relatos de surtos pelo VSR, em unidades neonatais

Data da publicação	Local	Autores	Revista	Vírus	Número de casos/população	Identificação viral
1970	Inglaterra	Neligan GA et al	Br Med Journal,	VSR	8/26	IFD e Cultura
1985	França	Goyon JB et al	Eur J clin Microbiolog	VSR	23/32	IFD
1989	Espanha	Garcia PA et al	Na Esp Pediatr	VSR	5/20	FAT
1990	Reino Unido	White MP e Mackie PL	Lancet	VSR	4/12	TDA
1993	México	Murquia-de sierra T.	Bol Med Hosp Infant Mex	VSR	7/?	IFD
2001	Reino Unido	Cox RA, Rao P e Brandon-Cox C	J Hosp Infect	VSR	7/18	EIA
2002	Arábia Saudita	Killani RA	J Trop Pediatr	VSR	8/20	IFD
2004	Portugal	Abadesso C. et al	J Hosp Infect	VSR	3/26 e 8/26	EIA
2005	EUA	Halasa NB	Ped Infect Dis	VSR	9/56	Cultura e PCR
2010	Turquia	Dizdar EA et al	J Hosp Infect	VSR	15/50	Teste rápido e PCR
2011	Irlanda	O'Connell K et al	J Hosp Infect	VSR	4/14	RT-PCR

Nota: IFD: imunofluorescência direta; FAT: Teste de anticorpo fluorescente, TDA: Teste de detecção de antígeno; EIA: Ensaio imunoenzimático

Tabela 2 – Relatos de surtos pelo PIV, em unidades neonatais

Data da publicação	Local	Autores	Revista	Vírus	Número de casos/população	Identificação viral
1984	EUA	Meissner HC et al.	J Ped	VSR e PIV3	20/34	Cultura e RIFI
1990	EUA	Singh-Naz N, Willy M, Riggs N.	Ped infect dis	PIV3	6/17	Cultura
1997	Canadá	Sharon EM et al	Ped Infect dis	PIV3	12/19	Cultura e IFD
1999	Singapura	Ng W et al.	Ann Acad med Singapore	PIV3	3/?	TAD
2005	Singapura	Teo WY, <i>MRCPCH</i> , Rajadurai VS, Sriram B	Ann Acad Med Singapore	PIV3	4/107	Teste rápido e IFD
2009	EUA (NY)	Simmonds A	Am J Perinatol	PIV3	3/?	IFD

Nota: RIFI: Imunofluorescência indireta; IFD: imunofluorescência direta; TDA: Teste de detecção de antígeno

Tabela 3 – Relatos de surtos pelo AdV, em unidades neonatais

Data da publicação	Local	Autores	Revista	Vírus	Número de casos/população	Identificação viral
1988	EUA (Philadelphia)	Finn A, Anday E, Talbot GH	Infect Control Hosp Epidemiol	AdV tipo 7	9/26	RIFI
1992	EUA (Houston)	Piedra PA et al	Pediatr Infect Dis J.	AdV tipo 8	11/112	Cultura
1993	Israel	Birenbaum E et al	Arch Dis Child	AdV tipo 8	4/7	Cultura e EN
2005	EUA (NY)	Faden H, Wynn RJ, Campagna L, Ryan RM	J pediatr	AdV tipo 30	21/333	FAT, Cultura e EN

Nota: FAT: Teste de anticorpo fluorescente, EN: ensaio de neutralização

Tabela 4 – Relatos de surtos por HBoV e HCoV, em unidades neonatais

Data da publicação	Local	Autores	Revista	Vírus	Número de casos/população	Identificação viral
2008	Espanha	C. Calvo	Journal of Infection	HBoV	2/NI	PCR
2008	França (Brest)	Arnaud Gagneur	Eur J Pediatr	HCoV-229E	43/152	RIFI, Cultura, RT-PCR

Nota: PCR: Reação em cadeia de polimerase; RIFI: Imunofluorescência indireta; RT-PCR: real time PCR

Tabela 5 – Relatos de surtos pelo FLU, em unidades neonatais

Data da publicação	Local	Autores	Revista	Vírus	Número de casos/população	Identificação viral
1973	Hong Kong	Bauer CR, Elie K, Spence L, Stern L	JAMA	FLU A	3/?	Cultura
1977	EUA	Meibalane R et al	J Pediatr	FLU A	8/NI	Cultura, TFC, IH
1999	EUA (Houston)	Munhoz FR et al	Ped Infect dis	FLU A	2/11	Teste rápido RT-PCR
2000	Canadá	Cunney RJ, Bialachowski A, Thornley D, Smaill FM, Pennie RA.	Infect Control Hosp Epidemiol	FLU A	19/?	RIFI
2002	Espanha	Sagrera X et al	Ped Infect Dis	FLU A	30/95	RIFI
2010	Hong Kong	Hon KE	Indian J Pediatr	FLU A (1) PIV3 (3) VSR (1)	5/NI	RT-PCR
2011	Espanha	Calvo C et al	neonatology	H1N1	3/NI	RT-PCR
2012	Reino Unido	Milupi M, Madeo M, Brooke N, Ahmad SJ	J Hosp infect	H1N1	3/18	PCR

Nota: TFC: Teste fixação complemento; IH: Inibição da hemaglutinação; RIFI: Imunofluorescência indireta

Tabela 6 –Relatos de surtos (coinfecção), em unidades neonatais

Data da publicação	Local	Autores	Revista	Vírus	Número de casos/população	Identificação viral
1982	Rochester NY	Valenti WM	J pediatr	VSR e HRV	8/34	Cultura
1989	EUA	Wilson CW, Stevenson DK, Arvin AM	Ped infect dis	VSR e Echovírus (Echo)	73 VSR 20 Echo 6 VSR + Echo	Cultura

3 JUSTIFICATIVA

Existem poucos estudos avaliando a incidência de infecção viral nosocomial em recém nascidos, os quais utilizam metodologias diferentes, em populações heterogêneas, gerando dados muito discrepantes. A maioria dos estudos descreve apenas surtos isolados em UTIs neonatais. O único estudo brasileiro existente pesquisou a incidência do VSR, PIV 1,2 e 3, FLU A e B, e AdV, apenas em pacientes sintomáticos, submetidos a ventilação mecânica.⁷⁶ Neste estudo, analisou-se a incidência de infecção viral em todos os pacientes internados em uma UTI Neonatal, sintomáticos ou não, a partir da sua permanência na unidade, por no mínimo sete dias, por meio da pesquisa de 15 diferentes vírus, pela RIFI e PCR no formato *multiplex*.

4 OBJETIVO GERAL

Determinar a incidência das infecções nosocomiais causadas por vírus respiratórios em recém-nascidos internados na unidade de terapia intensiva e semi-intensiva neonatal do Hospital Universitário Cassiano Antonio Morais (HUCAM), no período de novembro de 2010 a dezembro de 2011.

4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) determinar a incidência das infecções causadas pelos principais vírus respiratórios, a saber: VSR, Influenza A e B, Parainfluenza 1, 2 e 3 e Adenovirus e outros vírus como por exemplo Metapneumovírus, Coronavírus, Rinovírus e Bocavírus em neonatos após a sua admissão na unidade de terapia intensiva e semi-intensiva neonatal do HUCAM; e
- b) realizar vigilância clínica, quanto ao aparecimento de sintomas sugestivos de infecção viral nosocomial, por um período mínimo de 12 meses, na unidade de terapia intensiva e semi-intensiva neonatal do HUCAM.

5 ARTIGO

Incidência de infecção nosocomial causada por vírus respiratórios, em uma unidade de cuidado intensivo e semi-intensivo neonatal

Carolina Strauss Estevez Gadelha¹, Ronaldo Bragança M. Junior², Liliana Cruz Spano^{1,2}, Rita Elizabeth Checon de Freitas Silva^{1,2}, Crispim Cerutti Junior¹.

Universidade Federal do Espírito Santo¹

Núcleo de Doenças Infecciosas (NDI) da Universidade Federal do Espírito Santo²

INTRODUÇÃO

Nos últimos 10 a 15 anos, o avanço no tratamento pré-natal e o cuidado intensivo neonatal, aumentaram a sobrevivência e o prognóstico dos recém-nascidos pré-termo. Com o aumento da sobrevivência desses neonatos, à custa de internações prolongadas em unidades de terapia intensiva (UTI) neonatal, as infecções nosocomiais passaram a ser uma complicação freqüente.¹⁻² As infecções por patógenos adquiridos durante a internação hospitalar aumentam a morbidade e mortalidade, adicionam dificuldade nos cuidados de neonatos criticamente doentes e podem prolongar e aumentar os custos da sua hospitalização.³ A incidência dessas infecções, em crianças nascidas a termo está estimada em 0,1%, enquanto a incidência é próxima de 20% naqueles nascidos com muito baixo peso (peso menor do que 1.500g) e mais de 50% em recém-nascidos de extremo baixo peso (peso menor do que 1.000g).²⁻⁴

As bactérias são agentes etiológicos de infecções nosocomiais bastante conhecidos e estudados, entretanto as infecções virais na unidade de cuidados intensivos neonatais são provavelmente responsáveis por maior proporção de desfechos infecciosos do que se imagina. O diagnóstico dessas infecções nosocomiais causadas por vírus na UTI neonatal é difícil, pois estas podem apresentar-se de forma clínica atípica em neonatos criticamente doentes, como por exemplo, por meio de apneia e intolerância à alimentação, e ainda podem ser confundidas com os

sintomas das doenças neonatais comuns (necessidade de aumento da oxigenioterapia, como exemplo). Nessas unidades, o índice de suspeição das infecções respiratórias virais geralmente é baixo, até pela natureza esporádica dos surtos e o diagnóstico laboratorial é muitas vezes de difícil acesso, podendo o vírus disseminar rapidamente.⁵

O agente etiológico mais frequente nas infecções respiratórias do neonato é o VSR, especialmente em recém-nascidos pré-termos, presumidamente por menor aquisição transplacentária de anticorpos maternos.⁶⁻⁷ Outros vírus também foram descritos como causa de surtos em ambientes de unidade intensiva neonatal.⁵

O único estudo brasileiro existente pesquisou a incidência do VSR, PIV 1,2 e 3, FLU A e B, e AdV, apenas em pacientes sintomáticos, submetidos a ventilação mecânica⁸. Como resultado, os autores encontraram uma incidência de 29,5% de infecção viral nosocomial, sendo o VSR o agente mais frequente (14,1%), seguido por FLU A (10,2%). Nesse estudo, como em outros, foram incluídos recém-nascidos externos admitidos com sintomas respiratórios⁸.

Existem poucos estudos avaliando a incidência de infecção viral nosocomial em recém-nascidos e esses utilizam metodologias diferentes, em populações heterogêneas, gerando dados muito discrepantes. Nesses estudos, a incidência dessas infecções varia de 1% até 47%.⁷⁻¹⁵ Grande parte desses estudos descreve apenas surtos isolados em UTIs neonatais, sendo a maioria, descrições de surtos causados pelo VSR e, em menor número, FLU A, H1N1, PIV 3, AdV, HCoV, HBoV e HRV em diferentes populações e com diferentes achados.¹⁶⁻⁴⁷. No presente estudo, analisamos a incidência de infecção viral, por meio da pesquisa de 15 diferentes vírus por RIFI e PCR no formato *multiplex*, em todos os pacientes internados em uma UTI Neonatal, sintomáticos ou não, a partir da sua permanência na unidade por no mínimo sete dias.

MATERIAL E MÉTODOS

DESCRIÇÃO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo de coorte, prospectivo, realizado na unidade de terapia intensiva e semi-intensiva neonatal, do Hospital Universitário Cassiano Antônio Morais (HUCAM), no período de novembro de 2010 a dezembro de 2011.

A UTI neonatal do HUCAM localiza-se em Vitória, Espírito-Santo, em um Hospital Universitário e é referência na rede estadual do Sistema Único de Saúde (SUS), por admitir casos de alta complexidade. Dispõe de doze leitos de cuidados intensivos e seis semi-intensivos. Nessa unidade não são aceitas internações de pacientes após a alta hospitalar, especialmente com doenças infecciosas, a não ser em algumas raras ocasiões.

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Foram incluídos no estudo todos os neonatos admitidos logo após o nascimento, na unidade intensiva e semi-intensiva do HUCAM, nascidos ou não neste hospital. Estes foram acompanhados clinicamente desde a sua admissão até a alta da unidade e neles foi realizada a coleta de secreção de nasofaringe (SNF), inicialmente entre o terceiro e o sexto dia de permanência na unidade (se nascido no HUCAM) ou no momento da internação, para os pacientes externos e depois semanalmente, até a alta hospitalar, por meio de *swab* ou de aspiração, sempre no período matutino. Foram excluídos aqueles pacientes que não apresentavam condições de coleta do espécime clínico por instabilidade hemodinâmica, distúrbio de coagulação, insuficiência respiratória ou dificuldade técnica. Foram excluídos também os pacientes que permaneceram internados na unidade por período menor do que sete dias, bem como aqueles cujos pais ou responsáveis não assinaram o termo de consentimento.

Todas as amostras foram testadas por RIFI. Para a PCR foram escolhidas as amostras dos pacientes que apresentavam suspeita clínica de infecção viral, bem como daqueles internados na mesma ocasião mesmo que assintomáticos

CRITÉRIOS PARA DEFINIÇÃO DE INFECÇÃO VIRAL SINTOMÁTICA

O critério adotado para definição de infecção viral nosocomial foi a detecção viral na secreção de nasofaringe por meio da RIFI e/ou PCR. Para definição de paciente com infecção viral sintomática foi utilizado o seguinte critério: detecção viral juntamente com aparecimento dos seguintes sinais e sintomas: sintomas nasais (coriza ou obstrução nasal) isoladamente ou associados a outro sintoma respiratório de via aérea inferior (tosse, taquidispneia, creptações, sibilos, queda da saturação de oxigênio, necessidade de oxigenioterapia e/ou apneia). Foi verificada também nesses pacientes a presença de outros sintomas sugestivos de infecção viral (diarréia, vômitos, conjuntivite e exantema).

COLETA E TRANSPORTE DA AMOSTRA

Para a coleta da SNF com *swab*, foram utilizados três *swabs* em cada coleta, sendo um para cada narina e um para a orofaringe. Em seguida, os três *swabs* foram acondicionados em um tubo, contendo meio de cultura *minimal essential médium* (MEM) de Eagle com presença de agentes antimicrobianos (estreptomicina, penicilina e anfotericina B). Para a coleta da secreção por meio de aspirado nasofaríngeo, foi utilizando um sistema próprio, contendo uma sonda fina e maleável, acoplada a um coletor plástico, cuja extremidade foi conectada a um aspirador de parede. A sonda foi introduzida, alternadamente, nas duas narinas do paciente até a altura da nasofaringe, com movimentação constante e manuseio cuidadoso para evitar sangramentos. Após coleta da SNF, foi adicionado ao coletor, por meio de aspiração, o meio de cultura MEM.

As amostras foram transportadas em caixas térmicas, imediatamente até o Laboratório de Virologia (LABVIR), no Núcleo de Doenças Infecciosas (NDI), onde foram mantidas refrigeradas de 4 a 8°C até seu processamento. O período entre a coleta e o processamento da amostra não excedeu oito horas. No LABVIR o material clínico foi dividido em duas alíquotas, uma destinada à Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e outra à técnica de biologia molecular.

PROCESSAMENTO

Em ambos os casos, a secreção foi homogeneizada com auxílio de uma pipeta Pasteur e o sedimento obtido por centrifugação a 600rpm por 10min. O sobrenadante foi então desprezado e o sedimento contendo as células de descamação foi depositado sobre as lâminas para imunofluorescência, respeitando a marcação individual de cada um dos 10 círculos delimitados de 0,5 cm de diâmetro. Para cada amostra clínica, foram feitas duas lâminas.

Após a secagem das lâminas no interior da Cabine NB2, o material foi fixado em acetona PA a 4°C por 10 minutos. As lâminas previamente identificadas foram finalmente armazenadas a -70°C até o momento da realização da técnica de RIFI.

A segunda alíquota, destinada à análise pela técnica de biologia molecular, foi acondicionada, em meio de cultura MEM, em criotubo de fundo cônico e tampa com rosca. Esses microtubos foram guardados a -70°C até o momento da realização das técnicas.

REAÇÃO DE IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA (RIFI)

Para a RIFI foi utilizado o *Kit Respiratory panel 1 Viral Screening & Identification KitTM* (Chemicon International, INC. Temecula, CA), que permite a detecção dos seguintes vírus respiratórios: AdV, Flu A e B, PIV tipos 1, 2 e 3 e VSR.

A lâmina foi retirada do freezer a -70°C e foi deixada em temperatura ambiente até secagem. Em seguida foi adicionada uma gota (25µL) dos diferentes anticorpos monoclonais específicos para cada um dos vírus separadamente, nos distintos círculos da lâmina. Foi utilizado, em cada lâmina, o controle negativo do Kit (*normal mouse antibody*) e uma solução contendo uma mistura dos sete anticorpos monoclonais (*Screening*). Em seguida, a lâmina foi incubada em câmara úmida a 37°C por 30min. Após três lavagens por imersão da lâmina em PBS com duração de 5min cada e remoção do excesso de PBS, foi adicionada uma gota do conjugado (25µL de soro *antimouse IgG*) marcado com isotiocianato de fluoresceína, sobre cada círculo da lâmina. A lâmina foi novamente incubada em câmara úmida a 37°C

por 30min. Em seguida, as lâminas foram novamente lavadas com PBS, por três ciclos de 5min. A montagem das lâminas para a leitura foi feita com uma gota de glicerol tamponado no meio do círculo e recoberto por uma lamínula. A lâmina foi então examinada ao microscópio de fluorescência de epi-iluminação (Olympus Optical CO., Tóquio, Japão) com aumento de 400 vezes. Todas as lâminas positivas apresentaram fluorescência de coloração verde-maçã intensa, sempre localizada no interior da célula. Qualquer coloração extracelular ou fragmentos de células mostrando fluorescência foram considerados inespecíficos. Durante a leitura das lâminas foi assegurada a existência de pelo menos três células intactas por campo, visto que um número insuficiente de células por campo poderia levar a resultados falsos negativos.

BIOLOGIA MOLECULAR

Para a biologia molecular, inicialmente o ácido ribonucléico (RNA) do vírus, contido na amostra de secreção de nasofaringe, foi extraído utilizando o RNA kit QIAamp Viral Mini. Para isso, foram pipetados 560 µL do tampão de lise (tampão AVL) contendo carreador de RNA (Carrier RNA) em um tubo de 1,5ml. Adicionou-se 140 µL da amostra no tubo com a solução de lise, sendo em seguida agitado no Vortex por 15 s. A mistura foi incubada a temperatura ambiente (15-20 °C) por 10min. Após 10 minutos em temperatura ambiente, a lise da partícula viral foi completada. Foi realizada breve centrifugação, por 5 s para remoção de gotas da tampa do tubo e adicionado 560µL de etanol P.A. Na sequência a mistura foi mais uma vez agitada no Vortex por 15s. Cuidadosamente foram aplicados 630 µL desta diluição na coluna *QIAamp Mini Spin*, sendo centrifugada. A coluna *QIAamp Mini Spin* foi colocada dentro do tubo coletor de 2ml estéril, sendo descartado o tubo contendo o filtrado. Seguiram-se nova centrifugação, adição de 500 µL de tampão e mais uma centrifugação. A coluna *QIAamp Mini Spin* foi colocada em um tubo de 2 ml e foram adicionados 500 µL do tampão, descartado o tubo contendo o filtrado e realizada nova centrifugação. A coluna *QIAamp Mini Spin* foi colocada em um tubo novo de 1,5 ml, sendo descartado o tubo anterior com o filtrado. Após nova centrifugação, a coluna *QIAamp Mini Spin* foi colocada em novo tubo limpo de 1,5 ml, sendo descartado mais uma vez o tubo contendo filtrado e adicionados 60 µL do tampão de

eluição. A tampa foi fechada e incubada a temperatura ambiente por 1min. Ao final, após nova centrifugação, a coluna *QIAamp Mini spin* foi descartada e foi fechado o tubo já contendo o RNA extraído.

Para a transcrição reversa (RT) 7,5 µL da suspensão de RNA extraído foram utilizados como molde para a produção de fita complementar de DNA (cDNA) em um volume total de reação de 20 µL, contendo: 4 µL de tampão de reação (20mM de tris-HCl pH 8,4, 50 mM de KCl) (Invitrogen), 2 µL de mDTT (Invitrogen), 250 µM de cada dNTP (Invitrogen), 25ng do iniciador randômico pDN6TM (*Random hexamer primers*TM Amersham Bioscience), 0,25 µL de inibidor de RNase (*RNase out* – Invitrogen) e 25 U da enzima SuperscriptTM II (Invitrogen). A mistura foi incubada inicialmente por 5 minutos a 65°C após a adição da amostra e do pDN6TM, e em seguida, após a adição da enzima SuperscriptTM e do inibidor da RNase, um novo ciclo foi realizado com 5 minutos a 25°C, 1h a 50°C e 15min a 25°C. O cDNA obtido foi conservado à temperatura de -20°C até sua utilização na reação de PCR.

Para realização da PCR em formato “*multiplex*” foi utilizado o kit RV15 ACE DetectionTM (Seeplex[®]) de acordo com as instruções do fabricante. Esse é um teste qualitativo que detecta 15 vírus respiratórios diferentes, a saber: AdV, PIV 1, PIV 2, PIV 3, PIV 4, RV A/B /C, HCoV 229E/NL63, HCoV C43, VSR A, VSR B, FLU A, FLU B, MPV, enterovírus humano (HEV) e HBoV 1/2/3/4. Brevemente, uma alíquota de 3 µL do cDNA foi adicionada a uma mistura contendo: 2 µL dos “sets” A, B e C de iniciadores e sondas dos seus respectivos alvos de amplificação, 1,5 µL de *Mop solution* (sistema para prevenir contaminação cruzada) e 3,5 µL de *Master Mix* (mistura contendo DNA polimerase, tampão que contém dNTPs, MgCL₂ e estabilizadores). A mistura foi brevemente homogeneizada e centrifugada para só então ser submetida à temperatura de 94°C por 15 minutos e 40 ciclos de desnaturação de 30 segundos a 94°C, hibridização de um minuto e 30 segundos a 60°C com extensão a 72°C por um minuto e 30 segundos, seguiu-se uma extensão final de dez min a 72°C em termociclador *Perkin Elmer Gene Amp*TM *PCR System 2400*.

Para a observação e análise dos resultados, 5 µL do produto amplificado no multiplex PCR mais 4 µL de tampão de corrida TBE foram eluídos em 1 µL do tampão de arrasto (azul de bromofenol 2,5% em glicerol 50%) e a mistura foi

aplicada em gel de agarose a 2% em tampão de corrida TBE (89 mM de Tris-Borato, 2 mM de EDTA), submetido a uma diferença de potencial de 110 V por uma hora. Posteriormente, o gel foi imerso em solução de brometo de etídio 0,5 µg/mL sob suave agitação durante dez minutos. Em seguida, o gel foi lavado em água destilada por 15min e visualizado em transiluminador de luz ultravioleta acoplado ao sistema *Eagle Eye*TM II de captura e documentação de imagem. Paralelamente em relação às amostras, foram aplicados no gel de agarose os padrões de pesos moleculares disponibilizados pelo kit RV15 ACE DetectionTM (Seeplex[®]) para identificação do tamanho do produto. As amostras foram consideradas positivas para os respectivos vírus respiratórios caso apresentassem banda com peso molecular de acordo com a Tabela 1.

Tabela 1 – Peso molecular das bandas em resultados positivos, na eletroforese em gel de agarose

RV15 (Set A)	Tamanho (pb)
IC	850
AdV	534
Cor 229E/NL63	375
PIV-2	264
PIV-3	189
PIV-1	153
RV15 (Set B)	Tamanho (pb)
IC	850
Cor OC43	578
RV A/B/C	394
RSV A	269
Flu A	206
RSV B	155
RV15 (Set C)	Tamanho (pb)
IC	850
HBoV 1/2/3/4	579
Flu B	455
hMPV	351
PIV 4	249
EV	194

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados foram inseridos no programa estatístico SPSS 17.0. As variáveis quantitativas contínuas foram representadas pelas suas medidas de posição central e variabilidade, quer fossem média e desvio padrão, para o caso de ter havido adequação ao modelo de Gauss ou mediana e distância interquartilica, para o caso

de não ter havido adequação ao referido modelo. As variáveis categóricas foram representadas pelas suas frequências absolutas e relativas. A taxa de incidência foi determinada de acordo com a detecção laboratorial de vírus na secreção de nasofaringe, utilizando-se como denominador a quantidade de pessoas-tempo de observação. Foi utilizado, nas diversas análises, um nível de significância de 5%.

ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA

A participação no estudo foi voluntária, sendo garantida mediante a assinatura de Termo de Consentimento pelo responsável legal do paciente. Essa pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo em 1 de outubro de 2010, recebendo o número 173/10.

RESULTADOS

Foram incluídos na coorte todos os pacientes internados na unidade de terapia intensiva e semi-intensiva do HUCAM, no período de 11 de novembro de 2010 a 11 de novembro de 2011. Entretanto o estudo foi prolongado até 30 de dezembro de 2011, até que todos os pacientes da coorte recebessem alta hospitalar e finalizassem o acompanhamento clínico e a coleta de amostras.

Durante os 13 meses do estudo, foram acompanhados 131 pacientes, sendo 17 excluídos por não terem completado sete dias de internação na unidade, restando então 114 pacientes, que preencheram todos os critérios de inclusão. Os dados clínicos e epidemiológicos desses pacientes estão sintetizados na tabela 8.

Entre os 114 neonatos que compuseram a coorte, 108 (94,7%) eram nascidos no HUCAM. O parto mais frequente foi o cesáreo (63,2%), 69,9% dos pacientes nasceram antes do termo e 68,4% deles apresentaram peso menor do que 2.500g. A idade gestacional média dos neonatos foi de 34,9 semanas. Um pré-natal adequado, com seis ou mais consultas, foi realizado por apenas 52 gestantes (45,6%).

Quanto ao quadro respiratório, 17,5% dos neonatos receberam ao menos uma dose de surfactante, 43% dos pacientes fizeram uso de ventilação mecânica, sendo a mediana de apenas quatro dias e 77,5% dos pacientes receberam oxigênio, por um período que variou de 1 a 116 dias, com a mediana de apenas um dia.

Quanto a obtenção de espécimes clínicos, um total de 424 amostras foram obtidas dos 114 pacientes. Todas foram testadas por RIFI e 51 amostras foram testadas por PCR.

Entre os 114 pacientes, 26 (22,8%) apresentaram sintomas clínicos sugestivos de infecção viral aguda e 88 permaneceram assintomáticos. Entretanto foram detectados vírus laboratorialmente em nove pacientes. Quatro pacientes (3,5%) apresentaram amostras positivas para Vírus Sincicial Respiratório (VSR), sendo que um deles, identificado como número 57, apresentou amostras positivas em duas coletas consecutivas. Dois pacientes (1,7%) apresentaram amostras positivas para Influenza (Flu) A e três (2,6%) para Rinovírus (HRV). A incidência de infecção nosocomial foi de 7,8% (nove em 114 pacientes) e a taxa de incidência foi de uma pessoa-ano.

Dos nove pacientes em que houve a detecção viral, sete eram sintomáticos (Tabela 9) e dois permaneceram assintomáticos, sob o ponto de vista respiratório (pacientes números 65 e 66). Entre esses assintomáticos, foi detectado VSR na secreção de nasofaringe de um deles e no outro RV. Ambas as coletas foram realizadas no mesmo dia.

Tabela 2 – Características demográficas e epidemiológicas dos 114 neonatos

CARACTERÍSTICAS	N (%)			
Nascimento no HUCAM	108 (94,7%)			
Sexo Masculino	60 (52,6%)			
Pré-natal adequado	52 (45,6%)			
Mãe primípara	39 (34,2%)			
VDRL positivo na gestação	3 (2,6%)			
Anti-HIV positivo na gestação	2 (1,8%)			
HBsAg positivo na gestação	1 (0,9%)			
Tabagismo materno	12 (10,5%)			
Etilismo materno	6 (5,2%)			
Uso de drogas ilícitas pela mãe	4 (3,5%)			
Parto Cesáreo	72 (63,2%)			
Nascimento antes do termo <i>IG média 35,9 semanas (DP 3,5)</i>	79 (69,9%)			
Mais de 18 horas de bolsa rota	19 (16,7%)			
Uso de surfactante	20 (17,5%)			
Displasia broncopulmonar	4 (3,5%)			
Idade materna <i>Média: 25,4 anos (DP: 6,9 anos)</i>	13-19 anos: 26 (22,8%)	20-29 anos: 52 (45,6%)	30-40 anos: 36 (31,6%)	
Peso de nascimento (normal, Baixo peso, MBP, EBP) <i>Variou de 675g a 5325g Média 2206,4g (DP 860,2 g)</i>	36 (31,6%)	57 (50%)	16 (14%)	5 (4,4%)
Classificação do recém-nascido (AIG/PIG/GIG)	91 (79,8%)	10 (8,8%)	13 (11,4%)	
APGAR 1º minuto	7-10: 71 (62,3%)	4-6: 32 (28%)	<4: 10 (8,8%)	Si: 1 (0,9%)
APGAR 5º minuto	7-10: 104 (91,3%)	4-6: 6 (5,2%)	<4: 3 (2,6%)	Si: 1 (0,9%)
Dias de Ventilação mecânica <i>Variou de 0 a 116 dias Mediana: 4 dias (DI 2-10 dias)</i>	<i>Não:</i> 65 (57%)	<i>1 a 5 dias</i> 24 (21,2%)	<i>>5 dias</i> 18 (16,1%)	
Uso de oxigênio: tempo total <i>Variou de 0 a 116 dias Mediana 1 dia (DI 0-5,25 dias)</i>	<i>Não usou:</i> 37 (32,5%)	<i>1 a 5 dias:</i> 49 (43%)	<i>6 a 27 dias:</i> 20 (17,5%)	<i>≥ 28 dias:</i> 8 (7%)

Nota: Si: sem informação, MBP: muito baixo peso, EBP: extremo

Tabela 3 – Características dos neonatos em que houve detecção viral

ID	Sexo	IG	PN	Diagnósticos na admissão	Suporte O2 (pré-infecção)	Idade (ao início dos sintomas)	Sintomas	Início ou incremento da oxigenioterapia	Vírus detectado	Método laboratorial	Desfecho
43	M	33	1322g	síndrome adaptativa	sim (1 dia)	30 dv	N, To	não	RV	PCR	transferência para isolamento
55	F	40	3540g	Hemangiotelioma hepático	não	41 dv	N, To, S, Ta, C	não	VSR	RIFI e PCR	transferência para isolamento
57	F	29	1182	SDR	sim (6 dias)	40 dv	N,To,S,Ta	sim	VSR	RIFI e PCR	transferência para isolamento
65	M	38	5325g	sepse	não	----	----	não	RV	PCR	alta
66	M	36	2505g	sepse	não	---	----	não	VSR	RIFI	alta
72	F	36	2005g	ânus imperfurado	sim (1 dia)	15 dv	N, To, Cr	não	VSR	RIFI e PCR	alta
87	F	37	1980g	gastrosquise	sim (4 dias)	55 dv	N, S, Cr	não	RV	PCR	alta
94	F	38	2455g	asfixia perinatal grave	sim (111 dias)	100 dv	F, N, Ta, D	sim	FLU A	RIFI	óbito
108	M	34	1784g	atresia de esofago e fistula TE	sim (7 dias)	30 dv	N	não	FLU A	PCR	alta

Nota: ID: identificação, IG: idade gestacional ao nascimento em semanas, PN: peso ao nascimento, F: febre, N: sintomas nasais, To: tosse, S: sibilos, Cr: creptações, Ta: taquidispnéia, D: dessaturação, SDR: síndrome do desconforto respiratório, Fístula TE: Fístula traqueoesofágica.

Durante a vigilância clínica, no mês de março de 2011, ocorreu uma suspeita de surto de vírus respiratório dentro da unidade intensiva e semi-intensiva. O primeiro paciente com a suspeita da infecção foi o identificado como o número 38, que se encontrava internado na unidade chamada unidade de terapia intensiva neonatal número 1 (“UTIN 1”). Ele iniciou em 7 de março de 2011, 20 dias após sua internação, sibilos seguidos por diarreia, sintomas nasais, taquidispneia e queda da saturação de oxigênio. Tratava-se de um paciente do sexo masculino, nascido com 28 semanas de gestação, de parto cesáreo por DHEG, pesando 1.590g, que fez uso de apenas 5 dias de CPAP nasal. O neonato apresentava como comorbidade uma cardiopatia congênita (comunicação intraventricular). Sua mãe e seu irmão encontravam-se resfriados. A duração dos sintomas foi de três dias.

Quatro dias após o primeiro caso suspeito, no dia 11 de março de 2011, o paciente número 41, do sexo masculino, que se encontrava internado em outra enfermaria, identificada como unidade de terapia intensiva neonatal número 2 (“UTIN 2”), iniciou sintomas nasais que duraram apenas um dia. No dia 13 de março, o terceiro paciente, internado na “UTIN 1”, identificado como número 45, iniciou também sintomas nasais. Então, no dia 14 de março foram reunidos todos os casos suspeitos na “UTIN 1” e esta foi interditada para isolamento de contato.

No dia 15 de março surgiram mais três novos casos suspeitos, identificados como 43, 46 e 47. Um deles foi detectado na “UTIN 1” que já encontrava-se interditada e outros dois na “UTIN 2”. Na sequência, a “UTIN 2” foi também interditada para isolamento dos casos.

No dia 21 de março, um paciente do sexo feminino, de número 48, internado na unidade intermediária (semi-intensiva) iniciou sintomas nasais. Sua mãe esteve resfriada oito dias antes (no dia da internação do neonato na UTI). O último paciente a apresentar sintomas sugestivos de infecção viral foi o de número 33, que estava internado também na “unidade intermediária”. Apresentou apenas um dia de sintomas nasais.

No total, 16 pacientes estiveram internados no período do suspeito surto e oito apresentaram sintomas clínicos suspeitos de infecção viral. Todas as três enfermarias da unidade (“UTIN 1”, “UTIN 2” e “unidade intermediária”) tiveram

neonatos sintomáticos. Desses oito pacientes, foi identificado vírus na secreção respiratória de apenas um, o paciente de número 43, no qual foi identificado o RV pelo método de PCR no formato *multiplex*. A duração total do suposto surto foi de oito dias. Todos os casos foram leves, a maioria apenas com sintomas nasais, não havendo nenhum paciente que tenha apresentado piora clínica ou que tenha evoluído para óbito. Nessa semana vários membros da equipe médica e de enfermagem, tiveram sintomas nasais, associados à odinofagia. Foi colhida secreção de nasofaringe de dois médicos, membros da equipe, sendo identificada co-infecção pelo RV e VSR em um deles.

DISCUSSÃO

Este é o primeiro estudo prospectivo nacional e internacional, a que temos notícias, que utilizou a técnica de PCR multiplex e RIFI para pesquisar 15 diferentes vírus respiratórios, em neonatos internados em uma unidade de cuidados neonatais, estando eles sintomáticos ou não. O único estudo brasileiro publicado até o momento estudou sete vírus, apenas em pacientes sintomáticos e submetidos à ventilação mecânica. O método laboratorial utilizado foi a RIFI, no qual foram pesquisados apenas sete diferentes vírus.⁸ Estudos prospectivos internacionais mais recentes realizaram ensaios limitados à detecção de oito vírus respiratórios.¹¹⁻¹²

Este estudo teve como objetivo demonstrar a incidência de infecção nosocomial por vírus respiratório em uma unidade neonatal. A taxa de incidência encontrada foi de um paciente-ano e a incidência foi de 7,8%. Essa incidência é compatível com a UTI estudada, que tem a característica de não fazer internações de pacientes com suspeita de infecção viral, o que diminui o risco de infecção cruzada. Só se admite pacientes logo após o nascimento e com doenças próprias do período neonatal. A outra explicação é a vigilância constante realizada pela Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) do hospital e a educação permanente dos médicos e demais membros da equipe multidisciplinar, já que se trata de um hospital-escola.

Nos 13 meses de estudo foi realizada uma rigorosa vigilância clínica quanto ao aparecimento de sintomas respiratórios, sugestivos de infecção viral, em todos os neonatos internados na UTI neonatal. Essa vigilância foi extremamente importante

para a unidade, pois além de trazer o conhecimento sobre o seu perfil epidemiológico, demonstrou a importância de se manter essa vigilância constante.

Durante a vigilância clínica, encontramos uma baixa associação entre a suspeita clínica de infecção viral e a detecção do vírus laboratorialmente. Dos 26 pacientes com suspeita clínica de infecção, em apenas sete foi detectado o vírus. Houve inclusive um suposto surto, no mês de março de 2011. Nesse mês, houve a suspeita de infecção viral em oito pacientes, mas em apenas um paciente foi detectado vírus na secreção de nasofaringe. Nesta ocasião, a equipe assistente, juntamente com a CCIH do hospital, interditou a UTI para isolamento de contato dos casos suspeitos.

Considerando que a associação dos testes laboratoriais resulta em diagnóstico com alta sensibilidade, podemos dizer que esta baixa associação ocorreu por um alto índice de suspeição de doença viral. Os sintomas de infecção viral no período neonatal são pouco específicos. Entre as diversas condições que apresentam tais sintomas, tem-se a obstrução nasal no neonato e lactente, que pode surgir de maneira semelhante a uma rinfaringite viral, como consequência do uso de sonda nasogástrica, cpap nasal ou simplesmente como sintoma isolado.⁴⁸ A taquidispnéia e as creptações também são vistas em várias doenças próprias do período neonatal, assim como a apneia, que pode estar presente apenas pela imaturidade neurológica, própria do neonato pré-termo.⁴⁹

Portanto, considerando a dificuldade do diagnóstico clínico nesse período, é necessária a confirmação laboratorial da infecção. O que acontece na prática é que os hospitais não têm exames laboratoriais para identificação viral de forma rotineira. Desta forma, o setor de neonatologia precisa dispor os pacientes em isolamento, de acordo com a suspeita clínica de uma doença respiratória viral aguda. As precauções então são mantidas durante toda duração da doença respiratória, geralmente por no mínimo sete dias. Essa medida muitas vezes dificulta o fluxo de pacientes dentro dos hospitais, pois bloqueia leitos, impedindo novas hospitalizações. No caso de um hospital de referência como o HUCAM, isso gera um grande transtorno ao sistema único de saúde e seus usuários.

O vírus mais encontrado nas amostras de SNF foi o VSR (cinco amostras de quatro pacientes). Três neonatos foram sintomáticos e um assintomático. Outros autores

também demonstraram ser o VSR o principal agente causal de infecção nosocomial no período neonatal.^{8,15} Nesse estudo, todos os três neonatos com infecção sintomática apresentaram sintomas de vias aéreas inferiores, sendo que dois deles (identificados como 55 e 57) apresentaram critérios para diagnóstico de bronquiolite viral aguda. Esses sintomas foram compatíveis com o esperado para esses pacientes, já que a prematuridade e o baixo peso ao nascer são fatores de risco para tal infecção e para maior gravidade.⁵⁰⁻⁵¹ Também no presente estudo, todos os diagnósticos de infecção pelo VSR foram feitos nos meses de abril e maio de 2011, período sazonal para o VSR em Vitória, ES.⁵² Outros autores relataram anteriormente que a infecção pelo VSR na unidade neonatal também ocorreu durante o período sazonal local.^{16-18,43,45}

O segundo vírus mais frequente foi o Rinovírus, encontrado na SNF de três pacientes, sendo dois sintomáticos e um assintomático. Apenas um relato, publicado em 1982, demonstrou que este vírus, juntamente com o VSR, foi o mais frequente em um surto dentro de uma UTI neonatal. Nesse relato, quatro neonatos apresentaram infecção nosocomial causada pelo RV e quatro pelo VSR.¹⁹ No presente estudo, em concordância ao estudo anterior, os dois neonatos com infecção sintomática pelo RV, apresentaram sintomas de vias aéreas inferiores, sendo indistinguível da infecção causada pelo VSR.

O terceiro e último vírus identificado foi o FLU A, em dois pacientes. Um apresentou apenas sintomas, leves, nasais e o outro, apresentou sintomas de vias aéreas inferiores, piora clínica e necessidade de retorno à oxigenioterapia. O primeiro caso, cujos sintomas foram leves, iniciou-os em 6 de outubro de 2011. Outros autores já observaram que os sintomas da infecção pelo FLU A no período neonatal geralmente são leves, provavelmente pela proteção dos anticorpos adquiridos por via transplacentária.²⁰⁻²⁴ O segundo paciente iniciou sintomas respiratórios seis dias após o primeiro caso, apresentou sintomas mais graves e foi a óbito 20 dias após o início dos sintomas. Ele apresentava como co-morbidade uma asfixia perinatal grave, com utilização de traqueostomia e provavelmente, a infecção pelo FLU A contribuiu para o desfecho fatal. Em 1999, Munhoz et al.²² descreveram um caso de um neonato, que também apresentava uma co-morbidade (cardiopatia congênita), que evoluiu para óbito após a infecção por esse vírus.

Os dois pacientes assintomáticos, em que foi detectado vírus em suas secreções respiratórias, foram submetidos à coleta dos espécimes clínicos no mesmo dia, 20 de abril de 2011. Porém, descartamos a hipótese de contaminação do material, já que se trata de diferentes vírus e foram utilizados os equipamentos de proteção individual e seguidas rigorosamente as normas de biossegurança em laboratório. Além disso, o VSR foi detectado através da RIFI, método com alta especificidade, o que afasta a possibilidade de um resultado falso positivo. O RV foi detectado através da PCR no formato *multiplex*. Outros autores já relataram anteriormente a detecção desses vírus, em pacientes assintomáticos, em unidades de cuidados neonatais.^{18-19,42,45}

Em relação ao diagnóstico laboratorial, a PCR foi capaz de identificar mais vírus que a RIFI. Entre as nove detecções virais realizadas, quatro foram identificados apenas pela PCR, dois apenas pela RIFI e três por ambas as técnicas. A PCR é uma técnica que tem alta sensibilidade e, portanto tem se mostrado superior no diagnóstico de vírus respiratórios.^{53,54}

Quanto ao perfil epidemiológico dos pacientes que compuseram a coorte, a maioria deles era nascida no próprio HUCAM e suas mães eram provenientes da maternidade anexa, que é referência às gestantes de alto risco. Esse fato justifica a alta complexidade dos casos admitidos nessa unidade neonatal, maior frequência de partos cesáreos, de partos prematuros, de neonatos com peso menor do que 2.500g e também utilização de oxigênio pela maioria deles. Um pré-natal adequado foi realizado por menos da metade das gestantes, mas este fato pode ser explicado pelo alto índice de nascimentos antes do termo.

REFERÊNCIAS

1. Higgins RD, Baker CJ, Raju TN. Executive summary of the workshop on infection in the high-risk infant. *J Perinatol*. 2010 Jun;30(6):379-83.
2. Baltimore RS. Neonatal nosocomial infections. *Semin Perinatol*. 1998 Feb;22(1):25-32.
3. Fanaroff AA, Stoll BJ, Wright LL, Carlo WA, Ehrenkranz RA, Stark AR, et al. NICHD Neonatal Research Network. Trends in neonatal morbidity and mortality

for very low birthweight infants. *Am J Obstet Gynecol.* 2007 Feb;196(2):147.e1-8.

4. Sohn AH, Garrett DO, Sinkowitz-Cochran RL, Grohskopf LA, Levine GL, Stover BH, et al. Pediatric Prevention Network. Prevalence of nosocomial infections in neonatal intensive care unit patients: Results from the first national point-prevalence survey. *J Pediatr.* 2001 Dec;139(6):821-7.
5. Gelber SE, Ratner A J. Hospital-acquired viral pathogens in the neonatal intensive care units. *Semin Perinatol.*2002;26 (5):346-56.
6. Berger A, Obwegeser E, Aberle S W, Langgartner M, Popow-Kraupp T. Nosocomial transmission of respiratory syncytial virus in neonatal intensive care and intermediate care units. *Pediatr Infect Dis J* 2010; 29.
7. Thwaites R, Piercy J. Nosocomial respiratory syncytial virus infection in neonatal units in the United Kingdom. *Acta Paediatr Suppl.* 2004;444: 23-25.
8. Diniz E M A, Vieira R A, Ceccon M E J, Ishida M A, Vaz F A C. Incidence of respiratory viruses in preterm infants submitted to mechanical ventilation. *Rev Inst Med Trop S Paulo.* 2005; 47(1):37-44.
9. Liese JG, Grill E, Fischer B, Roeckl-Wiedmann I, Carr D, Belohradsky BH et al. Incidence and risk factors of respiratory syncytial virus-related hospitalizations in premature infants in Germany. *Eur J Pediatr.* 2003;162:230-236.
10. Fodha I, Landolsi N, Vabret A, Sboui H, Trabelsi A, Freymuth F. Epidemiology and clinical presentation of respiratory syncytial virus infection in a Tunisian neonatal unit from 2000 to 2002. *Ann Trop Paediatr.* 2004 Sep;24(3):219-25
11. Sizun J, Soupre D, Legrand MC, Giroux JD, Rubio S, Cauvin JM, et al. Neonatal nosocomial respiratory infection with coronavirus: a prospective study in a neonatal intensive care unit. *Acta Paediatr.* 1995 Jun;84(6):617-20.
12. Gagneur A, Sizun J, Vallet S, Legrand M C, Picard B, Talbot P J. Coronavirus-related nosocomial viral respiratory infections in a neonatal and paediatric intensive care unit: a prospective study. *J Hosp Infect.* 2002; 51: 59-64.
13. Okuonghae HO, Nwankwo MU, Okolo AA, Schuit KE. Nosocomial respiratory syncytial virus infection in a newborn nursery *Ann Trop Paediatr.* 1992;12(2):185-93.
14. Berner R, Schwoerer F, Schumacher RF, Meder M, Forster J. Community and nosocomially acquired respiratory syncytial virus infection in a German paediatric hospital from 1988 to 1999. *Eur J Pediatr.* 2001 Sep;160(9):541-7.
15. Verboon-Macielek A M, Krediet T G, Gerards L J, Flier A, Loon T M V. Clinical and epidemiologic characteristics of viral infections in a neonatal intensive care unit during a 12-year-period. *Pediatric Infect Dis J.* 2005; 24:901-4.
16. Neligan GA, Steiner H, Gardner PS, Mcquillin J. Respiratory syncytial virus infection of the newborn. *Br Med J.* 1970;3:146-7.

17. White MP, Mackie PL. Respiratory syncytial virus in special care nursery. *Lancet*. 1990; 335:979.
18. Cox RA, Rao P, Brandon-Cox C. The use of palivizumab monoclonal antibody to control an outbreak of respiratory syncytial virus infection in a special care baby unit. *J Hosp Infect*. 2001 Jul;48(3):186-92.
19. Valenti WM, Clarke TA, Hall CB, Menegus MA, Shapiro DL. Concurrent outbreaks of rhinovirus and respiratory syncytial virus in an intensive care nursery: epidemiology and associated risk factors. *J Pediatr*. 1982 May;100(5):722-6
20. Bauer CR, Elie K, Spence L, Stern L. Hong Kong influenza in a neonatal unit. *JAMA*. 1973;223:1233-5.
21. Meibalane R, Sedmak GV, Sasidharan P, Garg P, Grausz JP. Outbreak of influenza in a neonatal intensive care unit. *Pediatrics*. 1977;91:974-6.
22. Munoz FR, Campbell JR, Atmar RL, et al. Influenza A virus outbreak in a neonatal intensive care unit. *Pediatr Infect Dis J* 1999;18:811-15.
23. Cunney RJ, Bialachowski A, Thornley D, Smail FM, Pennie RA. An outbreak of influenza A in a neonatal intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2000;21:449-54.
24. Sagrera X. Outbreaks of influenza A virus infection in neonatal intensive care units. *Pediatr Infect Dis J*. 2002;21:196-200.
25. Milupi M, Madeo M, Brooke N, Ahmad SJ. Neonatal influenza A/H1N1/2009 outbreak in a UK district general hospital. *J Hosp Infect*. 2012 Jun;81(2):131-3.
26. Calvo C, Gonzalez-Carrasco E, Quevedo S, García-García ML, Rando A, Ledesma J, et al. Variability of influenza A/H1N1 infections in a neonatal unit in Spain. *Neonatology*. 2011;100(3):282-4.
27. Finn A, Anday E, Talbot GH. An epidemic of adenovirus 7a infection in a neonatal nursery: course, morbidity, and management. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 1988;9:398-404
28. Piedra PA, Kasel JA, Norton HJ, Garcia-Prats JA, Rayford Y, Estes MK, et al. Description of an adenovirus type 8 outbreak in hospitalized neonates born prematurely. *Pediatr Infect Dis J*. 1992;11:460-5.
29. Birenbaum E, Linder N, Varsano N, Azar R, Kuint J, Spierer A, et al. Adenovirus type 8 conjunctivitis outbreak in a neonatal intensive care unit. *Arch Dis Child*. 1993;68:610-1.
30. Faden H, Wynn RJ, Campagna L, Ryan RM. Outbreak of adenovirus type 30 in a neonatal intensive care unit. *J Pediatr*. 2005 Apr;146(4):52-7.
31. Moisiuk SE, Robson D, Klass L, Kliwer G, Wasyluk W, Davi M, et al. Outbreak of parainfluenza virus type 3 in an intermediate care neonatal nursery. *Pediatr Infect Dis J*. 1998 Jan;17(1):49-53.

32. Singh-Naz N, Willy M, Riggs N. Outbreak of parainfluenza virus type 3 in a neonatal nursery. *Pediatr Infect Dis J*. 1990;9:31-3.
33. Meissner HC, Murray SA, Kiernan MA, Snyderman DR, McIntosh K. A simultaneous outbreak of respiratory syncytial virus and parainfluenza virus type 3 in a newborn nursery. *J Pediatr*. 1984;104:6880-4.
34. Ng W, Rajadurai VS, Pradeepkumar VK, Tan KW, Chan KP Parainfluenza type 3 viral outbreak in a neonatal nursery. *Ann Acad Med Singapore*. 1999 Jul;28(4):471-5.
35. Teo WY, Rajadurai VS, Sriram B. Morbidity of parainfluenza 3 outbreak in preterm infants in a neonatal unit. *Ann Acad Med Singapore*. 2010 Nov;39(11):837-6.
36. Simmonds A, Munoz J, Montecalvo M, Clones B, Lagamma EF. Outbreak of parainfluenza virus type 3 in a neonatal intensive care unit. *Am J Perinatol*. 2009 May;26(5):361-4.
37. Calvo C, García-García ML, Blanco C, Santos MJ, Pozo F, Pérez-Breña P, et al. Human bocavirus infection in a neonatal intensive care unit. *J Infect*. 2008 Sep;57(3):269-71.
38. Gagneur A, Vallet S, Talbot PJ, Legrand-Quillien MC, Picard B, Payan C, et al. Outbreaks of human coronavirus in a paediatric and neonatal intensive care unit. *Eur J Pediatr*. 2008; 167: 1427-34.
39. Gouyon JB, Pothier P, Guignier F, Portier H, Pujol HP, Kazmierczak A, et al. Outbreak of respiratory syncytial virus in France. *Eur J Clin Microbiol*. 1985 Aug;4(4):415-6.
40. García PA, Caritg BJ, Juncosa MT, Krauel VJ. Outbreak of respiratory syncytial virus in a neonatal unit. *An Esp Pediatr*. 1989 Jun;30(6):480-2.
41. Murguía-de Sierra T, Casasola-Flores J, Rosales-Urbán S, Nava-Ibarra V, Navarrete-Navarro S. Outbreak of respiratory syncytial virus at a neonatal intensive care unit in Mexico City. *Bol Med Hosp Infant Mex*. 1993 Oct;50(10):709-16.
42. Kilani RA. Respiratory syncytial virus (RSV) outbreak in the NICU: description of eight cases. *J Trop Pediatr*. 2002 Apr;48(2):118-22.
43. Abadesso C, Almeida HI, Virella D, Carreiro MH, Machado M.C. Use of palivizumab to control an outbreak of syncytial respiratory virus in a neonatal intensive care unit. *J Hosp Infec*. 2004;58:38-41.
44. Halasa NB, Williams JV, Wilson GJ, Walsh WF, Schaffner W, Wright PF. Medical and economic impact of a respiratory syncytial virus outbreak in a neonatal intensive care unit. *Pediatr Infect Dis J*. 2005 Dec;24(12):1040-4.

45. Dizdar EA, Aydemir C, Erdeve O, Sari FN, Oguz S, Uras N, et al. Respiratory syncytial virus outbreak defined by rapid screening in a neonatal intensive care unit. *J Hosp Infect.* 2010;75:292-4.
46. O'Connell K, Boo TW, Keady D, Nirriain U, O'Donovan D, Commane M, Faherty C, Cormican M. Use of palivizumab and infection control measures to control an outbreak of respiratory syncytial virus in a neonatal intensive care unit confirmed by real-time polymerase chain reaction. *J Hosp Infect.* 2011 Apr;77(4):338-42.
47. Wilson CW, Stevenson DK, Arvin AM A concurrent epidemic of respiratory syncytial virus and echovirus 7 infections in an intensive care nursery. *Pediatr Infect Dis J.* 1989 Jan;8(1):24-9.
48. Nathan CO, Seid AB. Neonatal rhinitis. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 1997 Feb 14;39(1):59-65
49. Sale SM. Neonatal apnoea. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.* 2010 Sep;24(3):323-36.
50. Hall CB, Weinberg GA, Iwane MK, Blumkin AK, Edwards KM, Staat MA, et al. The burden of respiratory syncytial virus infection in Young children. *N Engl J Med.* 2009;360:588-98.
51. Bricks LF. Prevention of respiratory syncytial virus infections *Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo.* 2001;56(3):79-90.
52. Checon RE, SiqueiramM, Lugon AK, Portes S, Dietze R. Seasonal pattern of respiratory syncytial virus in a region with a tropical climate in southeast Brazil. *Am J Trop Med Hyg.* 2002;67:490-1.
53. Mahony JB, Petrich A, Smieja M. Molecular diagnosis of respiratory virus infections. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2011 Sep-Dec;48(5-6):217-49.
54. Vaz-de-Lima LR, Souza MC, Matsumoto T, Hong MA, SalgadoM, Barbosaml, et al. Performance of indirect immunofluorescence assay, immunochromatography assay and reverse transcription-polymerase chain reaction for detecting human respiratory syncytial virus in nasopharyngeal aspirate samples. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2008 Aug;103(5):463-7.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo demonstrou a incidência de infecção nosocomial em neonatos internados em uma unidade de cuidados intensivos e semi-intensivos, em Vitória, ES.

Os dados encontrados demonstram a necessidade de se manter um alto índice de suspeição de infecção respiratória viral aguda, já que vários estudos demonstram que a infecção viral no neonato sob cuidados críticos, pode aumentar a sua morbidade e mortalidade.

Os recém-nascidos com quadro respiratório sugestivo de doença viral devem ser imediatamente isolados e colocados em precaução (de contato e gotícula). Julgamos que a realização do exame laboratorial para confirmação da etiologia é importante.

Considerando a limitação da imunofluorescência, que pode identificar somente sete vírus, o ideal seria a associação de técnica de biologia molecular como a PCR no formato *multiplex*. A retirada do isolamento neste caso seria mais rápida, com o resultado negativo ou a negatificação de um resultado positivo.

Pacientes com infecção comprovada devem ser mantidos em sala privativa, e em coorte isolada de pacientes e funcionários. Quando a sala privativa não for possível, a incubadora pode funcionar como barreira. Além dessas medidas, deve-se sempre afastar funcionários e visitantes com doença respiratória aguda, educar os funcionários quanto às vias de transmissão e medidas de prevenção de doença respiratória viral e ainda estabelecer políticas de visitas na unidade.⁸⁶⁻⁸⁷

Quanto à profilaxia específica, lembramos do Palivizumabe, que é um anticorpo monoclonal humanizado direcionado contra a glicoproteína de fusão (proteína F) de superfície do VSR. Age através da neutralização e inibição da fusão do VSR, fornecendo imunidade passiva. Palivizumabe foi inicialmente licenciado nos Estados Unidos em 1998 e na Europa em 1999 com extensão de seu licenciamento em 2003.⁸⁸ Diversos estudos que relatam a utilização do palivizumabe durante um surto pelo VSR em unidades neonatais, em associação às medidas de controle de infecção hospitalar, têm sido publicados nos últimos anos.^{23,81-84,89} Embora não

existam estudos clínicos delineados para avaliar a eficácia do palivizumabe no controle de surtos de VSR, esses estudos apontam para uma possível eficácia da combinação de estratégias de medidas de controle de infecção hospitalar e imunoprofilaxia com palivizumabe. Durante o período deste estudo, não foi utilizada a profilaxia com o Palivizumabe em nenhum neonato com infecção viral pela equipe assistente.

De acordo com as informações trazidas por esse estudo, aliadas aos conhecimentos atuais, concluímos que o treinamento da equipe e a vigilância constante dentro de unidades neonatais de cuidados intensivos é fundamental para a prevenção e controle dessas infecções, mas sempre que possível devemos lançar mão do diagnóstico laboratorial dos vírus respiratórios para nortear as medidas de controle de surto.

7 CONCLUSÕES

- a) Com base no diagnóstico laboratorial, por RIFI e PCR no formato *multiplex*, encontramos a incidência de 7,8% de infecção nosocomial causada por vírus respiratório, em uma unidade de cuidados intensivos e semi-intensivos, em Vitória, ES;
- b) Essa incidência foi compatível com o perfil da unidade, que não admite neonatos com suspeita clínica de infecções virais;
- c) Durante a vigilância clínica realizada, 26 pacientes apresentaram suspeita de infecção viral, mas houve uma discordância entre a suspeita clínica e o diagnóstico laboratorial, sendo encontrado vírus na secreção respiratória em nove pacientes da coorte;
- d) Os vírus encontrados foram em ordem de frequência: O VSR (quatro pacientes), o RV (três pacientes) e o FLU A (dois pacientes);
- e) Dos nove pacientes com diagnóstico laboratorial de infecção viral, dois eram assintomáticos;
- f) Um paciente com infecção pelo FLU A e que apresentava uma co-morbidade, apresentou desfecho fatal, vinte dias após o início dos sintomas;
- g) Este estudo confirmou a importância do diagnóstico laboratorial das viroses respiratórias para complementar o diagnóstico clínico e orientar as medidas de controle de surtos em unidades neonatais; e
- h) Quanto ao perfil epidemiológico dos pacientes, a maioria era nascido no próprio HUCAM e houve maior frequência de partos cesáreos, partos prematuros, neonatos com peso menor do que 2500g e utilização de oxigênio pela maioria deles.

REFERÊNCIAS

1. Gelber SE, Ratner A J. Hospital-acquired viral pathogens in the neonatal intensive care units. *Semin Perinatol.* 2002;26 (5):346-56.
2. Forster J, Schumacher RF. The clinical picture presented by premature neonates infected with the respiratory syncytial virus. *Eur J Pediatr.* 1995 Nov;154(11):901-5.
3. Nair H, Nokes DJ, Gessner BD, Dherani M, Madhi SA, Singleton RJ, et al. Global burden of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children: a systematic review and meta-analysis. *Lancet.* 2010 May 1;375(9725):1545-55.
4. Verboon-Maciolek A M, Krediet T G, Gerards L J, Fleer A, Loon T M V. Clinical and epidemiologic characteristics of viral infections in a neonatal intensive care unit during a 12-year-period. *Pediatric Infect Dis J.* 2005; 24:901-4.
5. Schmidt AC, Johnson TR, Openshaw PJ, Braciale TJ, Falsey AR, Anderson LJ, et al. Respiratory syncytial virus and other pneumoviruses: a review of the international symposium--RSV 2003. *Virus Res.* 2004 Nov;106(1):1-13.
6. Morris JA, Blount RE Jr, Savage RE. Recovery of cytopathogenic agent from chimpanzees with coryza. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1956; 92:544-9.
7. Chanock R, Roizman B, Myers R. Recovery from infants with respiratory illness of a virus related to chimpanzee coryza agent (CCA): I. Isolation, properties and characterization. *Am J Hyg.* 1957;66:281-90.
8. Weber MW, Mulholland EK, Greenwood BM. Respiratory syncytial virus infection in tropical and developing countries. *Trop Med Int Health.* 1998;3: 268-80.
9. Nascimento JP, Siqueira M, Suttmoller F, Krawczuk M, Farias V, Ferreira V, et al. Longitudinal study of acute respiratory diseases in Rio de Janeiro: occurrence of respiratory viruses during four consecutive years. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1991; 33: 287-96
10. Checon RE, Siqueira M, Lugon AK, Portes S, Dietze R. Seasonal pattern of respiratory syncytial virus in a region with a tropical climate in southeast Brazil. *Am J Trop Med Hyg.* 2002;67:490-1.
11. Bracht M, Heffer M, O'Brien K. Development, implementation, and evaluation of a community- and hospital-based respiratory syncytial virus prophylaxis program. *Adv Neonatal Care* 2005;5:39-49.
12. Hall CB, Douglas Jr RG. Modes of transmission of RSV. *J Pediatr.* 1981;99:100.

13. Hall CB, Weinberg GA, Iwane MK, Blumkin AK, Edwards KM, Staat MA, et al. The burden of respiratory syncytial virus infection in Young children. *N Engl J Med*. 2009;360:588-98.
14. Bricks LF. Prevention of respiratory syncytial virus infections *Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo*. 2001;56(3):79-90.
15. Lanari M, Silvestri M, Rossi GA. Respiratory syncytial virus risk factors in late preterm infants. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2009;22 Suppl 3:102-7.
16. Carbonell-Estrany X, Quero J. Hospitalization rates for respiratory syncytial virus infection in premature infants born during two consecutive seasons. *Pediatr Infect Dis J*. 2001;20(9):874-9.
17. Liese JG, Grill E, Fischer B, Roeckl-Wiedmann I, Carr D, Belohradsky BH et al. Incidence and risk factors of respiratory syncytial virus-related hospitalizations in premature infants in Germany. *Eur J Pediatr*. 2003;162:230-236.
18. Weidman LE. Populations at risk for developing respiratory syncytial virus and risk factors for respiratory syncytial virus severity: infants with predisposing conditions *Pediatr Infect Dis J*, 2003;22:S33–9.
19. Bont L, Kimpen JL. Immunological mechanisms of severe respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Intensive Care Med*. 2002 May;28(5):616-21.
20. Neligan GA, Steiner H, Gardner PS, Mcquillin J. Respiratory syncytial virus infection of the newborn. *Br Med J*. 1970;3:146-7.
21. Fodha I, Landolsi N, Vabret A, Sboui H, Trabelsi A, Freymuth F. Epidemiology and clinical presentation of respiratory syncytial virus infection in a Tunisian neonatal unit from 2000 to 2002. *Ann Trop Paediatr*. 2004 Sep;24(3):219-25
22. White MP, Mackie PL. Respiratory syncytial virus in special care nursery. *Lancet*. 1990; 335:979.
23. Cox RA, Rao P, Brandon-Cox C. The use of palivizumab monoclonal antibody to control an outbreak of respiratory syncytial virus infection in a special care baby unit. *J Hosp Infect*. 2001 Jul;48(3):186-92.
24. Turner RB, Cough RB. Rhinoviruses. In: Knipe AM, Howley PM, editors. *Fields virology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; Wolters Kluwer Business, 2007. p. 895-906.
25. Valenti WM, Clarke TA, Hall CB, Menegus MA, Shapiro DL. Concurrent outbreaks of rhinovirus and respiratory syncytial virus in an intensive care nursery: epidemiology and associated risk factors. *J Pediatr*. 1982 May;100(5):722-6
26. Miller EK. Human rhinoviruses in severe respiratory disease in very low birth weight infants. *Pediatrics*. 2012 Jan;129(1):e60-7.

27. Palese P, Shawml. Orthomyxoviridae: the viruses and their replication. In: Knipe AM, Howley PM, editors. *Fields virology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; Wolters Kluwer Business, 2007. p. 1647-78.
28. Medina RA, García-Sastre A. Influenza A viruses: new research developments. *Nat Rev Microbiol*. 2011;9(8):590-603.
29. Bauer CR, Elie K, Spence L, Stern L. Hong Kong influenza in a neonatal unit. *JAMA*. 1973;223:1233-5.
30. Meibalane R, Sedmak GV, Sasidharan P, Garg P, Grausz JP. Outbreak of influenza in a neonatal intensive care unit. *Pediatrics*. 1977;91:974-6.
31. Munoz FR, Campbell JR, Atmar RL, et al. Influenza A virus outbreak in a neonatal intensive care unit. *Pediatr Infect Dis J* 1999;18:811-15.
32. Cunney RJ, Bialachowski A, Thornley D, Smaill FM, Pennie RA. An outbreak of influenza A in a neonatal intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2000;21:449-54.
33. Sagrera X Outbreaks of influenza A virus infection in neonatal intensive care units *Pediatr Infect Dis J*. 2002;21:196-200.
34. Barak S, Kushnir A, Chulski E, Miron D. Influenza A/H1N1 virus in very low-birth-weight premature infant: case report. *Am J Perinatol*. 2010 Aug;27(7):513-5.
35. Milupi M, Madeo M, Brooke N, Ahmad SJ. Neonatal influenza A/H1N1/2009 outbreak in a UK district general hospital. *J Hosp Infect*. 2012 Jun;81(2):131-3.
36. Calvo C, Gonzalez-Carrasco E, Quevedo S, García-García ML, Rando A, Ledesma J, et al. Variability of influenza AH1N1 infections in a neonatal unit in Spain. *Neonatology*. 2011;100(3):282-4.
37. Russell WC. Update on adenovirus and its vectors. *J Gen Virol*. 2000;81:2573-604.
38. Wold WSM, Horwitz MS. Adenoviruses, cap. 64. In: Knipe AM, Howley PM, editors. *Fields virology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; Wolters Kluwer Business, 2007. p. 2395-426.
39. Finn A, Anday E, Talbot GH. An epidemic of adenovirus 7a infection in a neonatal nursery: course, morbidity, and management. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 1988;9:398-404
40. Piedra PA, Kasel JA, Norton HJ, Garcia-Prats JA, Rayford Y, Estes MK, et al. Description of an adenovirus type 8 outbreak in hospitalized neonates born prematurely. *Pediatr Infect Dis J*. 1992;11:460-5.
41. Birenbaum E, Linder N, Varsano N, Azar R, Kuint J, Spierer A, et al. Adenovirus type 8 conjunctivitis outbreak in a neonatal intensive care unit. *Arch Dis Child*. 1993;68:610-1.

42. Faden H, Wynn RJ, Campagna L, Ryan RM. Outbreak of adenovirus type 30 in a neonatal intensive care unit. *J Pediatr*. 2005 Apr;146(4):52-7.
43. Harrison MS, Sakaguchi T, Schmitt AP. Paramyxovirus assembly and budding: building particles that transmit infections. *Int J Biochem Cell Biol*. 2010;42(9):1416-29.
44. Welliver R, Wong DT, Choi TS, Ogra PL. Natural history of parainfluenza virus infection in childhood. *J Pediatr*. 1982;101:180-7.
45. Moisiuk SE, Robson D, Klass L, Kliwer G, Wasyluk W, Davi M, et al. Outbreak of parainfluenza virus type 3 in an intermediate care neonatal nursery. *Pediatr Infect Dis J*. 1998 Jan;17(1):49-53.
46. Singh-Naz N, Willy M, Riggs N. Outbreak of parainfluenza virus type 3 in a neonatal nursery. *Pediatr Infect Dis J*. 1990;9:31-3.
47. Meissner HC, Murray SA, Kiernan MA, Snyderman DR, McIntosh K. A simultaneous outbreak of respiratory syncytial virus and parainfluenza virus type 3 in a newborn nursery. *J Pediatr*. 1984;104:6880-4.
48. Ng W, Rajadurai VS, Pradeepkumar VK, Tan KW, Chan KP Parainfluenza type 3 viral outbreak in a neonatal nursery. *Ann Acad Med Singapore*. 1999 Jul;28(4):471-5.
49. Teo WY, Rajadurai VS, Sriram B. Morbidity of parainfluenza 3 outbreak in preterm infants in a neonatal unit. *Ann Acad Med Singapore*. 2010 Nov;39(11):837-6.
50. Simmonds A, Munoz J, Montecalvo M, Clones B, Lagamma EF. Outbreak of parainfluenza virus type 3 in a neonatal intensive care unit. *Am J Perinatol*. 2009 May;26(5):361-4.
51. Glezen WP, Frank AL, Taber LH, Kasel JA. Parainfluenza virus type 3: seasonality and risk of infection and reinfection in young children. *J Infect Dis*. 1984;150:851-7.
52. Yang TY, Lu CY, Kao CL, Chen RT, Ho YH, Yang SC, et al. Clinical manifestations of parainfluenza infection in children. *J Microbiol Immunol Infect*. 2003 Dec; 36(4): 270-4.
53. Allander T, Tammi MT, Eriksson M, Bjerkner A, Tiveljung-Lindell A, Andersson B. Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005 Sep 6;102(36):12891-6. Epub 2005 Aug 23.
54. Sloots T, McErlean P, Speicher D, Arden K, Nissen M, Mackay I. Evidence of human coronavirus HKU1 and human bocavirus in Australian children. *J Virol*. 2006;35:99e-102.

55. Calvo C, García-García ML, Blanco C, Santos MJ, Pozo F, Pérez-Breña P, et al. Human bocavirus infection in a neonatal intensive care unit. *J Infect.* 2008 Sep;57(3):269-71.
56. Tyrrel DA, Bynoe ML. Cultivation of a novel type of common-cold virus in organ cultures. *Br Med J.* 1965;1(5448):1467-70.
57. Zhong NS, Zheng BJ, Li YM, Poon, Xie ZH, Chan KH, et al. Epidemiology and cause of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Guangdong, People's Republic of China, in February, 2003. *Lancet.* 2003;362(9393):1353-8.
58. Woo PC, Lau SK, Choi GK, Yip CC, Huang Y, Tsoi HW, et al. Complete genome sequence of a novel picornavirus, canine picornavirus, discovered in dogs. *J Virol.* 2012;86(6):3402-3.
59. Sizun J, Soupre D, Legrand MC, Giroux JD, Rubio S, Cauvin JM, et al. Neonatal nosocomial respiratory infection with coronavirus: a prospective study in a neonatal intensive care unit. *Acta Paediatr.* 1995 Jun;84(6):617-20.
60. Gagneur A, Sizun J, Vallet S, Legrand MC, Picard B, Talbot P J. Coronavirus-related nosocomial viral respiratory infections in a neonatal and paediatric intensive care unit: a prospective study. *J Hosp Infect.* 2002; 51: 59-64.
61. Gagneur A, Vallet S, Talbot PJ, Legrand-Quillien MC, Picard B, Payan C, et al. Outbreaks of human coronavirus in a paediatric and neonatal intensive care unit. *Eur J Pediatr.* 2008; 167: 1427-34.
62. Mahony JB. Detection of respiratory viruses by molecular methods. *Clin Microbiol Rev.* 2008 Oct;21(4):716-47.
63. Henrickson KJ, Hall, CB. Diagnostic assays for respiratory syncytial virus disease. *Pediatr Infect Dis J.* 2007;26: S36-40.
64. John M, Cherian T, Christuraj S, John TJ. Comparison of immunofluorescence & culture for the diagnosis of respiratory syncytial virus infection. *Indian J Med Res.* 1990;91:242-4.
65. John M, Cherian T, Christuraj S, John TJ. Comparison of immunofluorescence & culture for the diagnosis of respiratory syncytial virus infection. *Indian J Med Res.* 1990;91:242-4.
66. Sanghavi SK, Bullotta A, Husain S, Rinaldo CR. Clinical evaluation of multiplex real-time PCR panels for rapid detection of respiratory viral infections. *J Med Virol.* 2012 Jan;84(1):162-9.
67. Henrickson KJ. Cost-effective use of rapid diagnostic techniques in the treatment and prevention of viral respiratory infections. *Pediatr Ann.* 2005;34:24-31.
68. Krilov LR, Lipson SM, Barone SR, Kaplan MH, Ciamcian Z, Harkness SH. Evaluation of a diagnostic test for respiratory syncytial virus (RSV): potential for bedside diagnosis. *Pediatrics.* 1994;93:903-6.

69. Weisman LE. Populations at risk for developing respiratory syncytial virus and risk factors for respiratory syncytial virus severity: infants with predisposing conditions. *Pediatr Infect Dis J*. 2003;22:S33-9.
70. Simon A, Muller A, Khurana K. Nosocomial infection: a risk factor for a complicated course in children with respiratory syncytial virus infection – Results from a prospective multicenter German surveillance study. *Int J Hyg Environ-Health*. 2008;211:241-50.
71. Thorburn K. Pre-existing disease is associated with a significantly higher risk of death in severe respiratory syncytial virus infection. *Arch Dis Child*. 2009 Feb;94(2):99-103.
72. Thwaites R, Piercy J. Nosocomial respiratory syncytial virus infection in neonatal unit in the United Kingdom. *Acta Paediatr Suppl*. 2004;444: 23-25.
73. Berger A, Obwegeser E, Aberle SW, Langgartner M, Popow-Kraupp T. Nosocomial transmission of respiratory syncytial virus in neonatal intensive care and intermediate care units: a prospective epidemiologic study. *Pediatr Infect Dis J*. 2010 Jul;29(7):669-70.
74. Okuonghae HO, Nwankwo MU, Okolo AA, Schuit KE. Nosocomial respiratory syncytial virus infection in a newborn nursery *Ann Trop Paediatr*. 1992;12(2):185-93.
75. Berner R, Schwoerer F, Schumacher RF, Meder M, Forster J. Community and nosocomially acquired respiratory syncytial virus infection in a German paediatric hospital from 1988 to 1999. *Eur J Pediatr*. 2001 Sep;160(9):541-7.
76. Diniz E M A, Vieira R A, Ceccon M E J, Ishida M A, Vaz F A C. Incidence of respiratory viruses in preterm infants submitted to mechanical ventilation. *Rev Inst Med Trop S Paulo*. 2005; 47(1):37-44.
77. Gouyon JB, Pothier P, Guignier F, Portier H, Pujol HP, Kazmierczak A, et al. Outbreak of respiratory syncytial virus in France. *Eur J Clin Microbiol*. 1985 Aug;4(4):415-6.
78. García PA, Caritg BJ, Juncosa MT, Krauel VJ. Outbreak of respiratory syncytial virus in a neonatal unit. *An Esp Pediatr*. 1989 Jun;30(6):480-2.
79. Murguía-de Sierra T, Casasola-Flores J, Rosales-Urbán S, Nava-Ibarra V, Navarrete-Navarro S. Outbreak of respiratory syncytial virus at a neonatal intensive care unit in Mexico City. *Bol Med Hosp Infant Mex*. 1993 Oct;50(10):709-16.
80. Kilani RA. Respiratory syncytial virus (RSV) outbreak in the NICU: description of eight cases. *J Trop Pediatr*. 2002 Apr;48(2):118-22.
81. Abadesso C, Almeida HI, Virella D, Carreiro MH, Machado M.C. Use of palivizumab to control an outbreak of syncytial respiratory virus in a neonatal intensive care unit. *J Hosp Infect*. 2004;58:38-41.

82. Halasa NB, Williams JV, Wilson GJ, Walsh WF, Schaffner W, Wright PF. Medical and economic impact of a respiratory syncytial virus outbreak in a neonatal intensive care unit. *Pediatr Infect Dis J*. 2005 Dec;24(12):1040-4.
83. Dizdar EA, Aydemir C, Erdeve O, Sari FN, Oguz S, Uras N, et al. Respiratory syncytial virus outbreak defined by rapid screening in a neonatal intensive care unit. *J Hosp Infect*. 2010;75:292-4.
84. O'Connell K, Boo TW, Keady D, Nirriain U, O'Donovan D, Commane M, Faherty C, Cormican M. Use of palivizumab and infection control measures to control an outbreak of respiratory syncytial virus in a neonatal intensive care unit confirmed by real-time polymerase chain reaction. *J Hosp Infect*. 2011 Apr;77(4):338-42.
85. Wilson CW, Stevenson DK, Arvin AM. A concurrent epidemic of respiratory syncytial virus and echovirus 7 infections in an intensive care nursery. *Pediatr Infect Dis J*. 1989 Jan;8(1):24-9.
86. Forbes M. Strategies for preventing respiratory syncytial virus. *Am J Health-Syst Pharm*. 2008;65 suppl 8:S13-19.
87. Goldmann DA. Epidemiology and prevention of pediatric viral respiratory infections in health-care institutions. *Emerg Infect Dis*. 2001 Mar-Apr;7(2):249-53.
88. Langley GF; Anderson, L J. Epidemiology and prevention of respiratory syncytial virus infections among infants and young children. *Ped Infec Dis J*. 2011;30(6):510-7.
89. Kurz H, Herbich K, Janata O, Sterniste W, Bauer K. Experience with the use of palivizumab together with infection control measures to prevent respiratory syncytial virus outbreaks in neonatal intensive care units. *J Hosp Infect*. 2008 Nov;70(3):246-52.

ANEXO A - CARTA DE APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA DA UFES - VITÓRIA – ES



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Vitória-ES, 01 de outubro de 2010.

Da: Profa. Dr^a. Ethel Leonor Noia Maciel
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde

Para: Prof. (a) Crispim Cerutti Junior
Pesquisador (a) Responsável pelo Projeto de Pesquisa intitulado: **“Análise da incidência de infecção nosocomial causada por vírus respiratórios em uma unidade de cuidado intensivo e semi – intensivo neonatal”**.

Senhor (a) Pesquisador (a),

Informamos a Vossa Senhoria, que o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, após analisar o Projeto de Pesquisa nº. **173/10** intitulado: **“Análise da incidência de infecção nosocomial causada por vírus respiratórios em uma unidade de cuidado intensivo e semi – intensivo neonatal”** e o **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**, cumprindo os procedimentos internos desta Instituição, bem como as exigências das Resoluções 196 de 10.10.96, 251 de 07.08.97 e 292 de 08.07.99, **APROVOU** o referido projeto, em Reunião Ordinária realizada em 29 de setembro de 2010.

Gostaríamos de lembrar que cabe ao pesquisador responsável elaborar e apresentar os relatórios parciais e finais de acordo com a resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196 de 10/10/96, inciso IX.2. letra “c”.

Atenciosamente,


Prof.ª Dra. Ethel Leonor Noia Maciel
COORDENADORA
Comitê de Ética em Pesquisa
Centro de Ciências da Saúde/UFES

Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde
Av. Marechal Campos, 1468 – Maruípe – Vitória – ES – CEP 29.040-091.
Telefax: (27) 3335 7504

ANEXO B- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezados pais ou responsáveis,

Este documento lhe fornecerá informações acerca do estudo e pedirá seu consentimento para que seu (sua), filho (a) possa participar de uma pesquisa que está sendo desenvolvida pelo Núcleo de Doenças Infecciosas (NDI) do Centro Biomédico (CBM), da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES).

Este estudo pretende conhecer a incidência (número de novos casos) de infecções causadas por vírus e os seus sintomas em bebês que estão internados em uma unidade intensiva e semi-intensiva neonatal. Para isto será necessária a coleta semanal de secreção de nasofaringe através de aspiração ou de *swab* nasal, além de preenchimento de um questionário a procura de sintomas de infecção viral.

Você tem o direito de solicitar outros esclarecimentos sobre a pesquisa e pode não concordar com a participação de seu (sua) filho (a) ou interrompê-la a qualquer momento, sem que isto lhe traga qualquer prejuízo.

As informações que você nos der serão mantidas em sigilo e não serão divulgadas em qualquer hipótese. Os resultados deste estudo serão apresentados de forma conjunta, não sendo possível identificar os indivíduos que dele participarem.

Você receberá uma cópia deste termo onde consta o telefone e o endereço do pesquisador principal, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto agora ou a qualquer momento.

Declaro estar ciente das informações deste Termo de Consentimento e autorizo a participação de meu (minha) filho (a) nesta pesquisa.

Nome e assinatura dos pais ou responsáveis

Nome e assinatura do entrevistador

Coordenadores da pesquisa: Dr. Crispim Cerutti Júnior e Dra. Rita Elizabeth Checon de F. Silva
Av. Marechal Campos, 1468, Maruípe, Vitória – ES, CEP: 29040-091
Fone: (27) 3335-7211 Fax: (27) 3335-7206

Comitê de Ética em Pesquisa do CBM – UFES:
Av. Marechal Campos, 1468, Maruípe, Vitória – ES, CEP: 29040-091
Fone: (27) 3335-7211 Fax: (27) 3335-7206
www.ccs.ufes.br/cep
cep@ccs.ufes.br

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Parte E – INFECÇÃO VIRAL SINTOMÁTICA

Em algum momento da internação surgiram os seguintes sinais ou sintomas?

Febre: TAX \geq 37,8C

Sintomas nasais: coriza e /ou obstrução nasal

Tosse

Alteração na ausculta respiratória (sibilos e/ou crepitações)

Taquipneia (FR > 60 IRM) ou dispneia (tiragens subcostais, intercostais ou retrações de fúrcula)

Queda da saturação de oxigênio (saturação de oxigênio menor do que 91%)

Necessidade de uso de oxigênio terapia: uso de cateter nasal de oxigênio, Hood, cpap ou VPM

Apneia: Cessação de fluxo nas vias aéreas superiores com duração superior a 5 segundos, seguida de bradicardia e cianose.

Outros sintomas: oculares (secreção ocular purulenta ou hiperemia conjuntival), gastrointestinais (diarréia ou vômitos) e cutâneos (exantema maculopapular ou petequeial)

SEMANA 1

E1.1. Febre 1 sim 2 não (início : __/__/__ e término: __/__/__)

E1.2. Sintomas nasais 1 sim 2 não (início : __/__/__ e término: __/__/__)

E1.3. Tosse 1 sim 2 não (início : __/__/__ e término: __/__/__)

E1.4. Sibilos ou crepitações 1 sim 2 não (início : __/__/__ e término: __/__/__)

E1.5. Taquipneia ou dispneia 1 sim 2 não (início : __/__/__ e término: __/__/__)

E1.6. Queda da saturação de oxigênio 1 sim 2 não (início : __/__/__ e término: __/__/__)

E1.7. Necessidade de uso de oxigênio terapia 1 sim 2 não (início : __/__/__ e término: __/__/__)

E1.8. Apneia 1 sim 2 não (início : __/__/__ e término: __/__/__)

E1.9. Outros sintomas: 1 oculares 2 gastrointestinais 3 cutâneos (início: __/__/__ e término: __/__/__)

SEMANA 2

E2.1. Febre 1 sim 2 não (início : __/__/__ e término: __/__/__)

E2.2. Sintomas nasais 1 sim 2 não (início : __/__/__ e término: __/__/__)

E2.3. Tosse 1 sim 2 não (início : __/__/__ e término: __/__/__)

E2.4. Sibilos ou crepitações 1 sim 2 não (início : __/__/__ e término: __/__/__)

E2.5. Taquipneia ou dispneia 1 sim 2 não (início : __/__/__ e término: __/__/__)

E2.6. Queda da saturação de oxigênio 1 sim 2 não (início : __/__/__ e término: __/__/__)

E2.7. Necessidade de uso de oxigênio terapia 1 sim 2 não (início : __/__/__ e término: __/__/__)

E2.8. Apneia 1 sim 2 não (início : __/__/__ e término: __/__/__)

E2.9. Outros sintomas: 1 oculares 2 gastrointestinais 3 cutâneos (início: __/__/__ e término: __/__/__)

SEMANA 3

E3.1. Febre 1 sim 2 não (início : __/__/__ e término: __/__/__)

E3.2. Sintomas nasais 1 sim 2 não (início : __/__/__ e término: __/__/__)

E3.3. Tosse 1 sim 2 não (início : __/__/__ e término: __/__/__)

E3.4. Sibilos ou crepitações 1 sim 2 não (início : __/__/__ e término: __/__/__)

E3.5. Taquipneia ou dispneia 1 sim 2 não (início : __/__/__ e término: __/__/__)

E3.6. Queda da saturação de oxigênio 1 sim 2 não (início : __/__/__ e término: __/__/__)

E3.7. Necessidade de uso de oxigênio terapia 1 sim 2 não (início : __/__/__ e término: __/__/__)

E3.8. Apneia 1 sim 2 não (início : __/__/__ e término: __/__/__)

E3.9. Outros sintomas: 1 oculares 2 gastrointestinais 3 cutâneos (início: __/__/__ e término: __/__/__)

SEMANA 4

E4.1. Febre 1 sim 2 não (início : __/__/__ e término: __/__/__)

E4.2. Sintomas nasais 1 sim 2 não (início : __/__/__ e término: __/__/__)

E4.3. Tosse 1 sim 2 não (início : __/__/__ e término: __/__/__)

E4.4. Sibilos ou crepitações 1 sim 2 não (início : __/__/__ e término: __/__/__)

E4.5. Taquipneia ou dispneia 1 sim 2 não (início : __/__/__ e término: __/__/__)

E4.6. Queda da saturação de oxigênio 1 sim 2 não (início : __/__/__ e término: __/__/__)

E4.7. Necessidade de uso de oxigênio terapia 1 sim 2 não (início : __/__/__ e término: __/__/__)

E4.8. Apneia 1 sim 2 não (início : __/__/__ e término: __/__/__)

E4.9. Outros sintomas: 1 oculares 2 gastrointestinais 3 cutâneos (início: __/__/__ e término: __/__/__)

<p>Parte E – EXAME LABORATORIAIS</p> <p>SEMANA 1</p> <p>Data da coleta: __/__/__</p> <p>F1.1 RIFI positivo VSR- 1 sim 2 não3 inconclusivo;</p> <p>F1.2 RIFI positivo para Adenovírus- 1 sim 2 não 3 inconclusivo;</p> <p>F1.3 RIFI positivo para Influenza A- 1 sim 2 não 3 inconclusivo;</p> <p>F1.4 RIFI positivo para Influenza B -1 sim 2 não 3 inconclusivo;</p> <p>F1.5 RIFI positivo para Parainfluenza tipo 1 - 1 sim 2 não 3 inconclusivo;</p> <p>F1.6 RIFI positivo para Parainfluenza tipo 2- 1 sim 2 não 3 inconclusivo;</p> <p>F1.7 RIFI positivo para Parainfluenza tipo 3- 1 sim 2 não 3 inconclusivo;</p> <p>F1.8: PCR positiva 1 sim 2 não se sim, qual vírus_____</p>
<p>SEMANA 2</p> <p>Data da coleta: __/__/__</p> <p>F2.1 RIFI positivo VSR- 1 sim 2 não3 inconclusivo;</p> <p>F2.2 RIFI positivo para Adenovírus- 1 sim 2 não 3 inconclusivo;</p> <p>F2.3 RIFI positivo para Influenza A- 1 sim 2 não 3 inconclusivo;</p> <p>F2.4 RIFI positivo para Influenza B -1 sim 2 não 3 inconclusivo;</p> <p>F2.5 RIFI positivo para Parainfluenza tipo 1 - 1 sim 2 não 3 inconclusivo;</p> <p>F2.6 RIFI positivo para Parainfluenza tipo 2- 1 sim 2 não 3 inconclusivo;</p> <p>F2.7 RIFI positivo para Parainfluenza tipo 3- 1 sim 2 não 3 inconclusivo;</p> <p>F2.8: PCR positiva 1 sim 2 não se sim, qual vírus_____</p>
<p>SEMANA 3</p> <p>Data da coleta: __/__/__</p> <p>F3.1 RIFI positivo VSR- 1 sim 2 não3 inconclusivo;</p> <p>F3.2 RIFI positivo para Adenovírus- 1 sim 2 não 3 inconclusivo;</p> <p>F3.3 RIFI positivo para Influenza A- 1 sim 2 não 3 inconclusivo;</p> <p>F3.4 RIFI positivo para Influenza B -1 sim 2 não 3 inconclusivo;</p> <p>F3.5 RIFI positivo para Parainfluenza tipo 1 - 1 sim 2 não 3 inconclusivo;</p> <p>F3.6 RIFI positivo para Parainfluenza tipo 2- 1 sim 2 não 3 inconclusivo;</p> <p>F3.7 RIFI positivo para Parainfluenza tipo 3- 1 sim 2 não 3 inconclusivo;</p> <p>F3.8: PCR positiva 1 sim 2 não se sim, qual vírus_____</p>
<p>SEMANA 4</p> <p>Data da coleta: __/__/__</p> <p>F4.1 RIFI positivo VSR- 1 sim 2 não3 inconclusivo;</p> <p>F4.2 RIFI positivo para Adenovírus- 1 sim 2 não 3 inconclusivo;</p> <p>F4.3 RIFI positivo para Influenza A- 1 sim 2 não 3 inconclusivo;</p> <p>F4.4 RIFI positivo para Influenza B -1 sim 2 não 3 inconclusivo;</p> <p>F4.5 RIFI positivo para Parainfluenza tipo 1 - 1 sim 2 não 3 inconclusivo;</p> <p>F4.6 RIFI positivo para Parainfluenza tipo 2- 1 sim 2 não 3 inconclusivo;</p> <p>F4.7 RIFI positivo para Parainfluenza tipo 3- 1 sim 2 não 3 inconclusivo;</p> <p>F4.8: PCR positiva 1 sim 2 não se sim, qual vírus_____</p>