



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

ANA PATRÍCIA PEDRO CAMPOS

***Introdução de novas estratégias para redução da infeção associada
aos cuidados de saúde num serviço de cuidados intensivos
pediátricos: estudo preliminar***

ARTIGO CIENTÍFICO

ÁREA CIENTÍFICA DE PEDIATRIA

Trabalho realizado sob a orientação de:

DRA. ANDREA SOFIA SILVA DIAS

PROFESSORA DOUTORA GUIOMAR GONÇALVES OLIVEIRA

MARÇO/2018

FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

**INTRODUÇÃO DE NOVAS ESTRATÉGIAS PARA REDUÇÃO DA
INFEÇÃO ASSOCIADA AOS CUIDADOS DE SAÚDE NUM
SERVIÇO DE CUIDADOS INTENSIVOS PEDIÁTRICO:
ESTUDO PRELIMINAR**

Ana Patrícia Pedro Campos¹

Sob a orientação de:

**Andrea Sofia da Silva Dias^{1,2}
Guiomar Gonçalves de Oliveira^{1,2}**

1. Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal

2. Hospital Pediátrico, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, Portugal

Endereço eletrónico: patricia_campos_12@hotmail.com

Trabalho apresentado para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Medicina, realizado sob orientação científica da Dra. Andrea Sofia da Silva Dias e coorientação da Professora Doutora Guiomar Gonçalves de Oliveira, Docentes da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra.

Índice

Lista de abreviaturas.....	3
Resumo.....	4
Abstract.....	6
Introdução.....	8
Materiais e métodos.....	11
Resultados.....	15
Discussão.....	26
Conclusão	32
Agradecimentos.....	33
Referências.....	34
Anexo 1.....	40
Anexo 2.....	43
Anexo 3.....	45
Anexo 4.....	49

Lista de abreviaturas

CHUC – Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

CIPE – Serviço de Cuidados Intensivos Pediátricos

CVC – Cateter venoso central

ESBL – β -lactamases de espectro expandido

GCH – Gluconato de clorexidina

GP-ESBL – Germens produtores de β -lactamases de espectro expandido

HP-CHUC – Hospital Pediátrico do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

IACS – Infecções associadas aos cuidados de saúde

MRSA – *Staphylococcus aureus* resistente à metilina

PAV – Pneumonia associada ao ventilador

PIM 3 – Índice de mortalidade pediátrico 3

SV – Sonda vesical

TET – Entubação endotraqueal

UCIP – Unidade de Cuidados Intensivos Pediátricos

VRE – *Enterococcus* resistente à vancomicina

Resumo

Introdução: A incidência crescente de infeções associadas aos cuidados de saúde (IACS) por organismos multirresistentes associa-se a piores prognósticos e maiores gastos em saúde. O objetivo deste estudo é avaliar a eficácia da introdução de duas estratégias - banho diário com gluconato de clorexidina (GCH) a 2% e placa de deteção rápida de germens produtores de β -lactamases de espectro expandido (GP-ESBL) - na redução da incidência de IACS num Serviço de Cuidados Intensivos Pediátricos.

Material e Métodos: Estudo descritivo, de carácter exploratório, baseado na recolha de dados anonimizados das crianças admitidas no Serviço de Cuidados Intensivos Pediátricos (CIPE) entre 1 de julho de 2017 e 28 de fevereiro de 2018, após introdução do banho diário com GCH a 2% a todos os doentes com idade superior a dois meses e duração de internamento superior a 48 horas. Entre 1 de dezembro de 2017 e 28 de fevereiro de 2018, foi também realizada colheita de amostra por zaragatoa retal nos doentes com fatores de risco para colonização por GP-ESBL, com posterior inoculação em placa cromogénea de rastreio rápido (*BrillianceTM ESBL Agar*). As taxas de incidência de IACS após introdução das técnicas foram comparadas com as obtidas em igual período prévio (1 de julho de 2016 a 28 de fevereiro de 2017). A análise estatística foi efetuada através do programa IBM SPSS *Statistics* versão 24 ($p < 0,05$).

Resultados: Observaram-se 12 casos de IACS em 261 admissões, nomeadamente sete casos (58,3%) de pneumonia, dois casos (16,7%) de infeção urinária, dois casos (16,7%) de infeção da corrente sanguínea e um caso (8,3%) de infeção de ferida cirúrgica. Em relação ao período prévio à introdução do banho diário com GCH a 2%, verificou-se uma redução significativa na taxa de incidência de IACS (9,2% *versus* 4,6%; $p = 0,039$), sobretudo à custa da redução da incidência de infeções da corrente sanguínea (3,1% *versus* 0,8%; $p = 0,063$). Não se registaram

efeitos adversos com a utilização desta técnica. Efetuou-se rastreio de colonização por GP-ESBL em 15 das 130 crianças admitidas no período considerado, obtendo-se oito (53,3%) resultados positivos após inoculação na placa de detecção rápida. A incidência de IACS apresentou maior tendência de redução após combinação das duas estratégias, do que com a aplicação isolada do banho com GCH a 2% (6,9% *versus* 2,3%; $p=0,078$). Não se registaram infecções por GP-ESBL durante o período em que houve esta combinação.

Conclusão: Este estudo sugere a eficácia do banho diário com GCH a 2% na redução da taxa de incidência de IACS e o potencial benefício da identificação precoce dos doentes colonizados com GP-ESBL na instituição atempada de medidas de isolamento de contacto e ajuste da antibioterapia. A combinação destas duas estratégias traduziu-se numa maior redução da incidência de IACS. Torna-se fundamental a aplicação destas estratégias de forma continuada para obter amostras de maiores dimensões, que possam corroborar os resultados obtidos neste estudo preliminar.

Palavras-chave: “Infeção associada aos cuidados de saúde”, “cuidados intensivos pediátricos”, “clorexidina”, “organismos multirresistentes”, “colonização”.

Abstract

Purpose: Healthcare-associated infections (HCAI) caused by multiresistant organisms are associated with poor prognosis and greater healthcare cost. The aim of this study is to evaluate the effectiveness of two new strategies - daily bathing with 2% chlorhexidine gluconate (CHG) and a chromogenic agar for the isolation of extended spectrum β -lactamase producing germs (ESBL-PG) - on the incidence rates of HCAI in a pediatric intensive care unit.

Materials and Methods: An exploratory, descriptive study based on the gathering of anonymous data of the children admitted to CIPE between July 1st 2017 and February 28th 2018, after the initiation of daily bathing with 2% CHG in every children over two months old and length of stay longer than 48 hours. From December 1st 2017 to February 28th 2018, sample collection by rectal swab was also performed in patients with risk factors for colonization with ESBL-PG and every sample was inoculated onto a chromogenic screening plate (*BrillianceTM* ESBL Agar). The incidence rates of HCAI after the introduction of these strategies were compared with those obtained in a prior, similar period (from July 1st 2016 to February 28th 2017). Statistical analysis was performed using the IBM SPSS *Statistics* version 24 software ($p < 0.05$).

Results: We found 12 HCAI cases in a total of 261 admitted patients, namely seven (58.3%) pneumonias, two (16.7%) urinary tract infections, two (16.7%) bloodstream infections and one (8.3%) surgical site infection. Incidence rate of HCAI was significantly decreased after the introduction of daily bathing with 2% CHG (9.2% *versus* 4.6%; $p=0.039$), mostly due to the decrease in the incidence rate of bloodstream infections (3.1% *versus* 0.8%; $p=0.063$). There were no adverse reactions to this product. ESBL-PG colonization screening was performed in 15 of the 130 children admitted during the study period and eight (53.3%)

positive results were obtained after inoculation onto the chromogenic screening plate. The trends in incidence of HCAI showed a greater reduction after the combination of the two strategies (6.9% *versus* 2.3%; $p=0.078$), and there were no infections caused by ESBL-PG during this period.

Conclusion: This study suggests the effectiveness of daily bathing with 2% CHG in reducing the incidence rate of HCAI, as well as the efficacy of the rapid detection technique of ESBL-PG in the early identification of colonized patients. The combination of these two strategies showed a greater reduction in the incidence rate of HCAI. It is essential to apply continuously these combined strategies in a larger sample to corroborate the results obtained in this preliminary study.

Keywords: “Healthcare-associated infection”, “pediatric intensive care”, “chlorhexidine”, “multiresistant organisms”, “colonization”.

Introdução

As infecções associadas aos cuidados de saúde (IACS) são definidas, pela Direção Geral de Saúde, como infecções adquiridas em consequência dos cuidados e procedimentos de saúde prestados, que não estejam presentes nem em incubação no momento da admissão (primeiras 48 horas de internamento).¹

As unidades de cuidados intensivos pediátricos (UCIP) são muito vulneráveis a IACS devido, em parte, à necessidade de utilização de procedimentos invasivos numa população que se encontra gravemente doente.² A incidência de IACS causadas por microrganismos resistentes à antibioterapia tem-se revelado um problema crescente, dado estar associada a maiores taxas de mortalidade, duração de internamento e gastos em saúde.^{3,4} A dificuldade em aumentar a adesão às práticas de higienização das mãos e de precauções de contato entre os profissionais de saúde constitui um fator limitante na prevenção de IACS causadas por estes organismos, o que explica que o conceito de “controlo da origem”, ou seja, controlo e prevenção da colonização bacteriana, tenha vindo a ganhar relevância como uma medida promissora na redução da incidência de IACS.⁵

A clorexidina é um antisséptico da classe das bisbiguanidas que interfere com a integridade das membranas celulares. Este composto existe numa variedade de formulações, sendo o gluconato de clorexidina (GCH) o mais utilizado em cuidados de saúde. Dado o seu excelente perfil de segurança e o seu amplo espectro de ação contra bactérias não-esporuladas gram-positivas e gram-negativas, o GCH tem sido usado desde há vários anos na higienização das mãos e na desinfeção da pele antes de procedimentos invasivos ou cirúrgicos.⁶ Mais recentemente, o banho diário com GCH terá sido introduzido como uma medida adjuvante na redução da densidade microbiana da pele dos doentes hospitalizados.⁷ Com efeito, numa revisão recente da literatura⁶, verificou-se existir uma associação entre o banho diário com GCH a 2% e a redução da densidade cutânea de bactérias gram-positivas [incluindo

Enterococcus resistentes à vancomicina (VRE) e *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA)] e de bacilos gram-negativos, contribuindo para a prevenção da sua disseminação cruzada e para a redução da incidência de bacteriemias e de infecções associadas a cateteres.

A produção de β -lactamases de espectro expandido (ESBL) constitui um mecanismo de resistência aos antibióticos encontrado em bactérias gram-negativas, nomeadamente nas *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas aeruginosa*, cujo reservatório principal se situa a nível do trato gastrointestinal. Estas enzimas bacterianas têm a capacidade de hidrolisar cefalosporinas de largo espectro, tornando estas bactérias resistentes a penicilinas, cefalosporinas (primeira, segunda e terceira gerações) e monobactâmicos (aztreonam), podendo geralmente ser inibidas por ácido clavulânico, tazobactam, cefamicinas e carbapenemos.⁸ Este mecanismo de resistência é codificado por um elemento genético móvel, o que facilita a sua disseminação em contexto de UCIP.⁹ Constituem fatores de risco para colonização por germes produtores de β -lactamases de espectro expandido (GP-ESBL), em contexto de admissão em UCIP, o sexo masculino, história de internamento hospitalar recente, procedimento cirúrgico nos últimos 12 meses, transferência de outra UCIP, residência em instituição, presença de patologia crónica subjacente e exposição a antibioterapia nos últimos três meses (principalmente cefalosporinas de terceira geração).^{10,11}

A colonização por GP-ESBL é considerada um fator preditivo para infeção estando, por isso, associada a maior frequência de admissões em UCIP e a acréscimo de morbilidade e mortalidade globais.^{12,13} A escassez de terapêuticas adequadas, aliada à falta de evidência de medidas de controlo infeccioso eficazes contra GP-ESBL, torna necessária a investigação de métodos capazes de identificar precocemente os doentes suscetíveis.¹³ O rastreio dos doentes com elevado risco de colonização por estes germes poderá permitir a instituição precoce de medidas de isolamento de contato, prevenindo a transmissão cruzada, e o ajuste precoce da

antibioterapia empírica para uma terapêutica dirigida eficaz em doentes que venham a desenvolver infeção, melhorando assim o prognóstico.

Neste contexto, este estudo pretende analisar a eficácia da introdução de duas estratégias novas para redução da incidência de IACS num Serviço de Cuidados Intensivos Pediátricos (CIPE). Dos objetivos, o primário é avaliar o efeito do banho diário com GCH a 2% na incidência de IACS no CIPE; o secundário é avaliar a aplicabilidade da técnica de deteção rápida de GP-ESBL por placa de rastreio cromogénea na identificação dos doentes suscetíveis de colonização por estes germens e o seu efeito na diminuição de infeções pelos mesmos.

Materiais e Métodos

Tipo de estudo

Foi realizado um estudo descritivo de carácter exploratório, através da recolha anonimizada de dados de forma prospetiva relativos aos doentes admitidos no CIPE do Hospital Pediátrico do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (HP-CHUC), Portugal. O CIPE é um serviço polivalente de um hospital regional médico-cirúrgico altamente diferenciado do grupo III, com um movimento anual de internamento de aproximadamente 400 crianças/recém-nascidos.

Seleção de participantes

Os critérios de seleção para realização de banho diário com GCH a 2% nos doentes internados estão descritos no protocolo “*Utilização de clorexidina solução cutânea no banho diário da criança*” (Anexo 1), elaborado por membros da equipa médica do CIPE anteriormente ao início deste estudo, e em vigor no serviço desde 1 de julho de 2017. Não se realizou banho diário com GCH a 2% nos doentes com menos de 48 horas de internamento ou menos de dois meses de idade (dada a não aprovação pelo Infarmed da utilização do GCH a 2% nesta população). Foram incluídos no estudo da incidência de IACS todos os doentes admitidos no CIPE a partir da implementação deste protocolo.

De forma a seleccionar os doentes para pesquisa de colonização por GP-ESBL, foi elaborado um protocolo (Anexo 3), em conjunto com a equipa médica e equipa de enfermagem do CIPE, em vigor no serviço desde o dia 1 de dezembro de 2017. Foram seleccionados para esta pesquisa todos os doentes admitidos no CIPE com mais de 40 semanas de idade pós-menstrual, com um internamento previsível superior a 48 horas, desde que cumprissem um dos seguintes critérios: a) transferência de outra enfermaria hospitalar;

b) história de internamento nos últimos 30 dias, ou de pelo menos dois internamentos nos últimos seis meses; c) história de procedimento cirúrgico nos últimos 12 meses; d) presença de cateter central *in situ*. Foram excluídos os casos de admissão recente para cirurgia eletiva e recusa do doente/responsável.

Procedimento

Incidência de IACS após introdução do banho diário com GCH a 2%

Todos os doentes com indicação foram submetidos a banhos diários com manábulas descartáveis embebidas em GCH a 2% durante o período de internamento, seguindo o procedimento descrito no protocolo “*Utilização de clorhexidina solução cutânea no banho diário da criança*” (Anexo 1) e no “*Esquema de aplicação da clorexidina*” (Anexo 2).

Foram registados todos os casos de IACS (definidas como infeções ocorridas após 48 horas de internamento) observadas no CIPE a partir da introdução do protocolo supracitado, por um período de oito meses (1 de julho de 2017 a 28 de fevereiro de 2018). Foram também registados os dados demográficos e clínicos relativos a cada caso, devidamente anonimizados, incluindo idade, sexo, proveniência, comorbilidades, índice de mortalidade pediátrica 3 (PIM3)¹⁴, motivo de admissão no CIPE, duração de internamento e duração de utilização de dispositivos invasivos: entubação endotraqueal (TET), sonda vesical (SV) e cateter venoso central (CVC), que inclui cateter venoso jugular, subclávio, femoral e/ou cateter central de inserção periférica. Os resultados das culturas microbiológicas foram obtidos a partir do laboratório de Microbiologia do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC). Os dados foram posteriormente comparados com aqueles obtidos durante um período equivalente e prévio à introdução do protocolo (1 de julho de 2016 a 28 de fevereiro de 2017), registados e analisados pela equipa médica do CIPE.

Rastreo de colonização por GP-ESBL

A pesquisa de colonização por GP-ESBL, cujo principal reservatório é o trato gastrointestinal, foi efetuada por colheita de uma amostra da flora retal dos doentes internados no CIPE com critérios de inclusão para o estudo, durante um período de três meses (1 de dezembro de 2017 a 28 de fevereiro de 2018). A colheita das amostras foi efetuada por um membro da equipa de enfermagem do CIPE, após consentimento verbal do adolescente e/ou responsável pela criança, através de zaragatoa retal ou colheita de amostra de fezes, tal como é descrito no protocolo “*Colonização por germens produtores de β -lactamases de espectro expandido (ESBL) no CIPE*” (Anexo 3). As amostras foram enviadas para o laboratório de Microbiologia do CHUC e inoculadas numa placa de rastreo cromogénea, *Brilliance™* ESBL Agar, concebida para a deteção rápida de GP-ESBL (Anexo 4). Esta placa contém cefpodoxima e outros agentes antibacterianos na sua constituição, capazes de inibir o crescimento de *Enterobacteriaceae* não-produtoras de ESBL, o que confere a este método uma elevada sensibilidade (95%) e seletividade (94%). Após inoculação, cada placa foi incubada a uma temperatura de 37°C durante um período de 24 horas, após o qual se avaliou a presença ou ausência de crescimento de colónias. A identificação presuntiva do GP-ESBL inoculado é possível através de dois cromogéneos, incluídos na placa, que reagem especificamente com duas enzimas: o grupo KESC (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* e *Citrobacter*) expressa a enzima galactosidase, originando colónias de cor verde; *E.coli* que expressa galactosidase e glucuronidase origina colónias de cor azul, enquanto estirpes de *E.coli* que não expressam β -galactosidase originam colónias cor-de-rosa; *Proteus*, *Morganella* e *Providencia* não reagem com nenhum dos cromogéneos, mas são capazes de provocar a desaminação do triptofano, originando colónias com halo acastanhado.

Foi considerado um resultado positivo para a produção de ESBL a deteção de colónias de qualquer cor na placa de inoculação, após o período de incubação recomendado. Nos

doentes identificados com este resultado, foram aplicadas as adequadas medidas de isolamento de contacto durante o seu internamento. A ausência de crescimento de colónias na placa de rastreio (ausência de cor) foi considerada como um resultado negativo para colonização gastrointestinal por GP-ESBL. A incidência de infeção por GP-ESBL foi comparada com a do período prévio à introdução desta técnica.

Análise Estatística

A análise dos dados foi efetuada através do programa IBM SPSS *Statistics*, versão 24, tendo sido considerado um nível de significância de 5%.

A caracterização da amostra foi feita pelo cálculo de medidas de tendência central de dispersão para variáveis quantitativas e pela determinação de frequências absolutas e relativas para variáveis qualitativas. Testou-se a normalidade das variáveis através do teste de Shapiro-Wilk.

Foram utilizados o teste Qui-quadrado (se $n > 20$) e o teste Exato de Fisher (se $n < 20$) para aferir a associação existente entre as variáveis qualitativas (proveniência, comorbilidades, incidência de infeções, microrganismos isolados e estirpes resistentes à antibioterapia) e o teste não-paramétrico de Mann-Whitney U para aferir a associação existente entre variáveis quantitativas independentes (idade, duração de internamento e PIM3).

Resultados

Incidência de IACS após introdução do banho diário com GCH a 2%

Foram registradas 261 admissões no CIPE durante o período de oito meses considerado no estudo, das quais 101 receberam banho diário com GCH a 2% durante o internamento; não foram alvo desta prática 88 crianças com idade inferior a dois meses e 72 crianças com permanência no CIPE inferior a 48 horas (Figura 1). Não se documentaram casos de reações adversas ao banho diário com GCH a 2%.

Foram observados 12 casos de IACS (n=12) em 10 crianças durante este período, revelando uma taxa de incidência de 4,6%. As características da amostra são apresentadas na Tabela 1. A idade mediana foi de 10 anos e sete meses (P₂₅: 7 meses; P₇₅: 15 anos e 7 meses), sendo sete casos (58,3%) do sexo feminino.

Tabela 1. Características dos casos com infecção associada aos cuidados de saúde.

Amostra (n)	12
Gênero (n)	
Masculino:Feminino	5 (41,7%):7 (58,3%)
Idade (anos)	
Mediana (P ₂₅ ; P ₇₅)	10,63 (0,56; 15,56)
Proveniência (n)	
Domicílio	1 (8,3%)
Outra enfermaria hospitalar ou bloco operatório	8 (66,7%)
Outro hospital	3 (25%)

n, número; P, percentil.

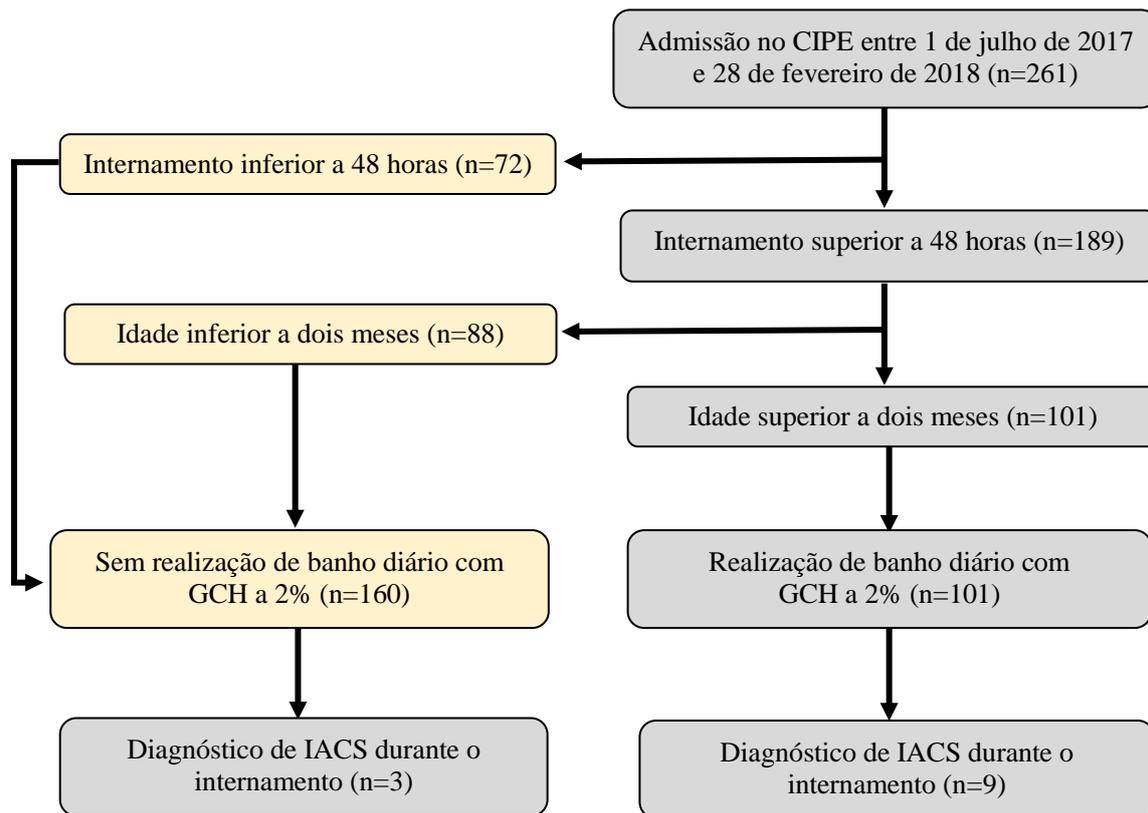


Figura 1. Fluxograma da população em estudo.

CIPE, Serviço de Cuidados Intensivos Pediátrico; GCH, gluconato de clorexidina; IACS, infecção associada aos cuidados de saúde; n, número.

Relativamente à proveniência, um caso (8,3%) foi admitido a partir do domicílio, oito casos (66,7%) foram transferidos de outra enfermaria do HP-CHUC ou bloco operatório do HP-CHUC e três casos (25,0%) foram transferidos de outro hospital. A duração de internamento no CIPE teve uma mediana de 9,5 dias (P_{25} : 8 dias; P_{75} : 29,5 dias).

Os principais motivos de admissão no CIPE foram o recobro após cirurgia (n=4; 33,3%) e a patologia neurológica (n=4; 33,3%), seguidos de patologia respiratória (n=2; 16,7%), malformações (n=1; 8,3%) e distúrbio metabólico (n=1; 8,3%).

Doença crónica subjacente foi observada em oito (66,7%) dos casos, sendo mais frequentes os casos de malformação (n=3; 25%), doença respiratória crónica (n=2; 16,7%), doença neurológica crónica (n=2; 16,7%) e doença hemato-oncológica (n=2; 16,7%). A distribuição das comorbilidades apresentadas está representada na Figura 2.

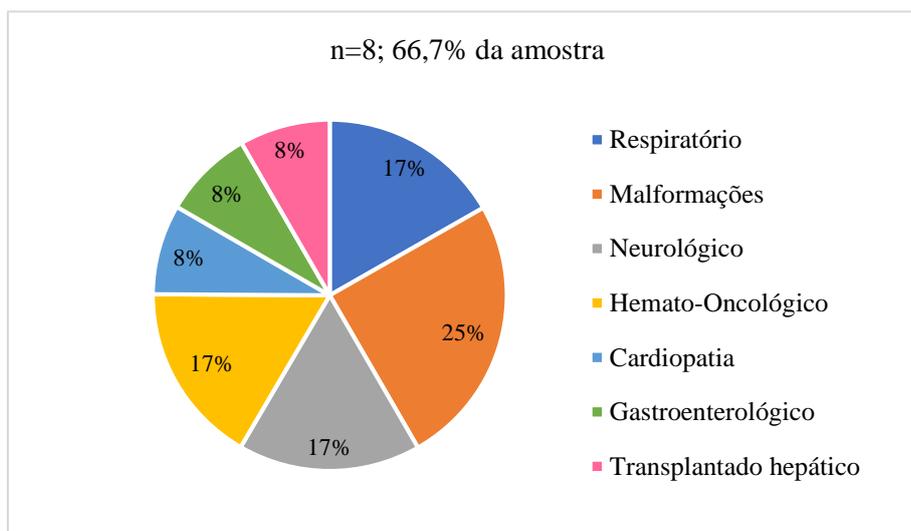


Figura 2. Comorbilidades apresentadas pelos casos com infecção associada aos cuidados de saúde.

O número de IACS registadas no CIPE durante o período considerado, assim como os germens isolados nas respetivas culturas microbiológicas, são apresentados na Tabela 2. Sete (58,3%) dos 12 casos apresentaram um quadro de pneumonia. Foram também registados dois casos (16,7%) de infeção urinária, dois (16,7%) de infeção da corrente sanguínea e um (8,3%) de infeção de ferida cirúrgica. Foram isolados um total de 14 microrganismos, nomeadamente sete (50,0%) bactérias gram-negativas, cinco (35,7%) bactérias gram-positivas e dois (14,3%) fungos. O gérmem mais frequentemente isolado foi *Staphylococcus aureus* (n=5; 35,7%). Isolaram-se cinco estirpes resistentes aos antibióticos (28,6% dos germens isolados), nomeadamente três casos de MRSA e dois casos de GP-ESBL.

Tabela 2. Infecções associadas aos cuidados de saúde observadas no CIPE entre 1 de julho de 2017 e 28 de fevereiro de 2018.

Microorganismos isolados (n= 11/12 culturas positivas)	Total n	Resistências n
Infeção da corrente sanguínea	2	1
Sépsis clínica – cultura negativa	1	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	1 MRSA
Infeção urinária	2	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	-
<i>Candida albicans</i>	1	-
Pneumonia	7	4
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	2 MRSA
<i>Escherichia coli</i>	1	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	1 ESBL
<i>Enterobacter hormaechei</i>	1	-
<i>Serratia marcescens</i>	1	1 ESBL
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	-
Ferida operatória	1	-
<i>Candida albicans</i>	1	-

CIPE, Serviço de Cuidados Intensivos Pediátrico; MRSA, *Staphylococcus aureus* meticilino-resistente; ESBL, β-lactamases de espectro expandido; n, número.

Oito (66,7%) das 12 IACS foram diagnosticadas em doentes com mais de 48 horas de dispositivo invasivo *in situ*: os dois casos registados de infeção da corrente sanguínea (100%) apresentavam mais de 48 horas de CVC; um (50,0%) dos casos de infeção urinária apresentava mais de 48 horas de SV; cinco (71,4%) dos sete casos de pneumonia observados apresentavam mais de 48 horas de ventilação mecânica invasiva. Assim, a incidência de infeção da corrente sanguínea foi de 1,8/1000 dias de CVC; a incidência de infeção urinária

foi de 4,1/1000 dias de SV; a incidência de pneumonia associada ao ventilador (PAV) foi de 10,7/1000 dias de ventilação.

Onze (91,7%) dos 12 casos de IACS foram diagnosticados em crianças que já se encontravam a receber terapêutica antibiótica.

Um dos casos, do sexo feminino e com 14 anos e três meses de idade, faleceu no seguimento de pneumonia associada aos cuidados de saúde, complicada com derrame pleural e abscessos pulmonares, tendo sido isolado MRSA no lavado bronco-alveolar, líquido pleural e ponta do CVC. Esta adolescente apresentava doença hemato-oncológica subjacente e foi transferida da enfermaria de oncologia do HP-CHUC por síndrome de dificuldade respiratória grave. A duração de internamento foi de 31 dias, tendo sido submetida a 25 dias de ventilação mecânica invasiva.

A Tabela 3 apresenta uma comparação entre as principais características dos doentes diagnosticados com IACS neste estudo e no período equivalente prévio à introdução do banho diário com GCH a 2%, enquanto a Tabela 4 evidencia uma análise descritiva das IACS observadas e dos microrganismos isolados durante estes dois períodos. Verificou-se uma diferença estatisticamente significativa na idade mediana dos doentes das duas amostras (1,6 meses *versus* 10 anos e 6 meses; $p=0,013$) e na duração mediana de internamento (39,5 *versus* 9,5 dias; $p<0,001$). A proporção de doentes transferidos de outro serviço hospitalar (75% *versus* 91,7%; $p=0,384$), a presença de comorbilidades (79,2% *versus* 66,7%; $p=0,443$) e a mediana do PIM3 (3 *versus* 7,1; $p=0,146$) foram semelhantes nos dois períodos.

Verificou-se uma redução estatisticamente significativa na taxa de incidência de IACS no CIPE (9,2% *versus* 4,6%; $p=0,039$) após introdução desta prática. Esta tendência foi sobretudo à custa da redução da incidência de infeções da corrente sanguínea (3,1% *versus* 0,8%; $p=0,063$), embora sem significância estatística. Também foi verificada uma redução

não significativa na incidência de infecções do trato urinário (1,5% *versus* 0,8%; p=0,450), de pneumonias (3,9% *versus* 2,7%; p=0,455) e de infecção de ferida cirúrgica (0,8% *versus* 0,4%; p=0,624). As incidências de IACS por 1000 dias de dispositivo invasivo *in situ*, nos dois períodos considerados, são apresentadas na Tabela 5.

Tabela 3. Características dos doentes diagnosticados com infecção associada aos cuidados de saúde no CIPE, nos dois períodos considerados.

	julho 2016 a fevereiro 2017	julho 2017 a fevereiro 2018	p
Amostra (n)	24	12	
Idade (dias) Mediana (P ₂₅ ; P ₇₅)	48,5 (3,5; 3385)	3825 (201; 5602)	0,013
Duração de internamento (dias) Mediana (P ₂₅ ; P ₇₅)	39,5 (25; 57)	9,5 (8; 29,5)	<0,001
Comorbilidades (n)	19 (79,2%)	8 (66,7%)	0,443
Proveniência de outro serviço hospitalar (n)	18 (75%)	11 (91,7%)	0,384
PIM3 Mediana (P ₂₅ ; P ₇₅)	3 (1,3; 9,2)	7,1 (2,1; 16,8)	0,146

CIPE, Serviço de Cuidados Intensivos Pediátricos; PIM3, índice de mortalidade pediátrico 3; n, número; P, percentil.

Tabela 4. Infecções associadas aos cuidados de saúde observadas no CIPE.	julho 2016 - fevereiro 2017	julho 2017 - fevereiro 2018	p
Admissões (n)	260	261	
IACS (n)	24 (9,2%)	12 (4,6%)	0,039
Infeção da corrente sanguínea (n)	8 (3,1%)	2 (0,8%)	0,063
Sépsis clínica - cultura negativa	6	1	
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	1	
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1	-	
<i>Candida cruzei</i>	1	-	
Infeção urinária (n)	4 (1,5%)	2 (0,8%)	0,450
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	1	
<i>Escherichia coli</i>	1	-	
<i>Enterobacter hormaechei</i>	1	-	
<i>Candida albicans</i>	1	1	
Pneumonia (n)	10 (3,9%)	7 (2,7%)	0,455
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	4	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3	1	
<i>Haemophilus influenza</i>	4	-	
<i>Escherichia coli</i>	-	1	
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	1	
<i>Enterobacter hormaechei</i>	-	1	
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1	-	
<i>Serratia marcescens</i>	-	1	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	1	
<i>Candida albicans</i>	1	-	
Ferida cirúrgica (n)	2 (0,8%)	1 (0,4%)	0,624
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	-	
<i>Candida albicans</i>	1	1	
Total de germens isolados (n)	21	14	
Gram-negativos	13 (62%)	7 (50%)	0,486
Gram-positivos	4 (19%)	5 (35,7%)	0,432
Fungos	4 (19%)	2 (14,3%)	1
Estirpes resistentes (n)	6 (28,6%)	5 (35,7%)	
GP-ESBL	5 (23,8%)	2 (14,3%)	1
MRSA	1 (4,8%)	3 (21,4%)	1

CIPE, Serviço de Cuidados Intensivos Pediátricos; IACS, infecções associadas aos cuidados de saúde; CVC, cateter venoso central; SV, sonda vesical; PAV, pneumonia associada ao ventilador; MRSA, *Staphylococcus aureus* meticilino-resistente; GP-ESBL, germens produtores de β -lactamases de espectro expandido; n, número.

Tabela 5. Incidência de infecção associada aos cuidados de saúde por 1000 dias de dispositivo, nos dois períodos considerados.

IACS	julho 2016 a fevereiro 2017	julho 2017 a fevereiro 2018
Infeção da corrente sanguínea (n) por 1000 dias de CVC	6,8	1,8
Infeção urinária (n) por 1000 dias de SV	7,3	4,1
Pneumonia associada a ventilador (n) por 1000 dias de ventilação	13,4	10,7

IACS, infecção associada aos cuidados de saúde; CVC, cateter venoso central; SV, sonda vesical; n, número.

A Figura 3 mostra os germes isolados nas culturas microbiológicas realizadas ao longo dos dois períodos considerados. Após introdução do banho diário com GCH a 2%, o isolamento de bactérias gram-negativas reduziu em 19,4%, embora sem significância estatística (62% *versus* 50%; $p=0,486$), verificando-se também uma diminuição não significativa no número de estirpes produtoras de ESBL (38,5% *versus* 28,6%; $p=1$). Existiu ainda uma redução de 24,7% (19% *versus* 14,3%; $p=1$) no número de infecções causadas por fungos. O número de bactérias gram-positivas isoladas aumentou em 46,8% (19% *versus* 35,7%; $p=0,432$), com um incremento não significativo nas estirpes de MRSA (25% *versus* 60%; $p=1$).

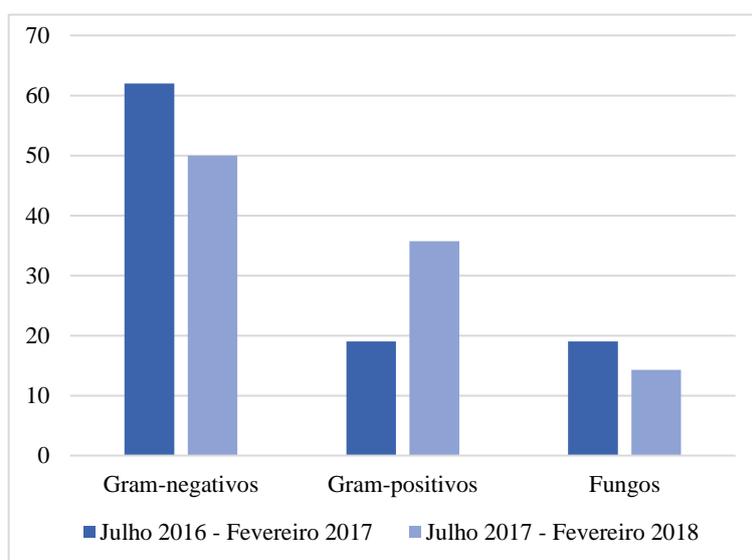


Figura 3. Microrganismos isolados nos casos com infecção associada aos cuidados de saúde.

Rastreamento de colonização por GP-ESBL

Após introdução do protocolo de pesquisa rápida de colonização por GP-ESBL, foram contabilizadas 130 admissões no CIPE, num período de três meses. Quinze casos (n=15) apresentaram critérios de inclusão para esta pesquisa, com idade mediana de dois anos e três meses (P₂₅: 4 meses; P₇₅: 15 anos e 2 meses), sendo 11 crianças (73,3%) do sexo masculino.

Em relação à proveniência, um caso (6,7%) foi admitido a partir do domicílio, nove (60,0%) foram transferidos de outra enfermagem hospitalar ou bloco operatório do HP-CHUC e cinco (33,3%) foram transferidos de outro hospital. Os motivos de admissão mais comuns foram infecção respiratória baixa (n=7; 46,7%) e recobro pós-operatório (n=6; 40%), seguidos de sépsis (n=1; 6,7%) e cardiopatia (n=1; 6,7%).

Todos os casos apresentavam patologia crônica subjacente (Figura 4), mais comumente doença neurológica (n=7; 30,4%), patologia respiratória (n=4; 17,4%), doença do foro gastroenterológico (n=4; 17,4%) e imunossupressão após transplante hepático (n=3; 13%).

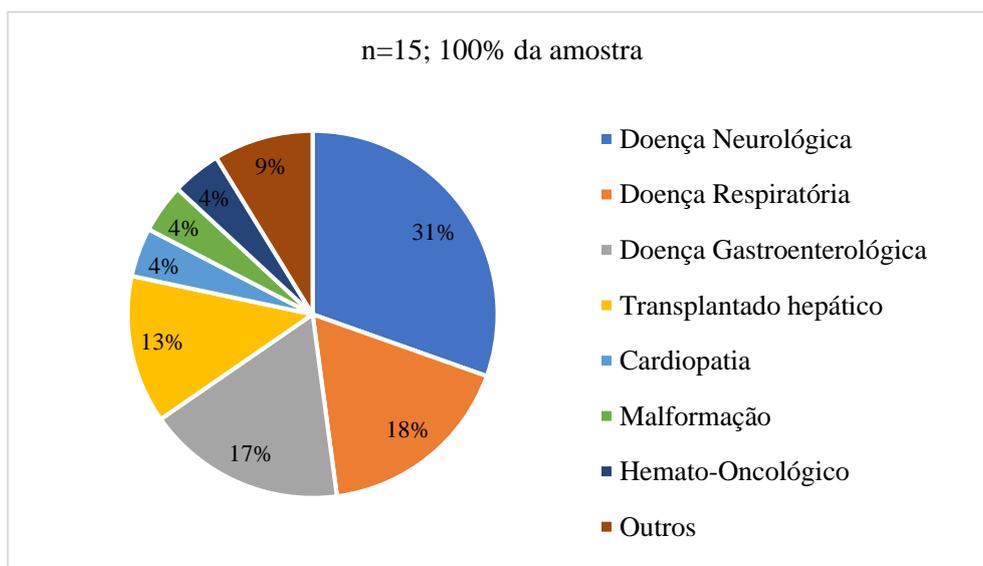


Figura 4. Comorbilidades apresentadas pelos casos rastreados para colonização por germes produtores de β -lactamases de espectro expandido.

Sete dos casos (46,7%) haviam sido submetidos a procedimento cirúrgico nos 12 meses antecedentes à sua admissão no CIPE, enquanto 10 (66,7%) apresentavam história de internamento hospitalar no mês prévio à admissão, ou de pelo menos dois internamentos nos seis meses antecedentes à sua admissão no CIPE.

Das 15 amostras microbianas recolhidas através de zaragatoa retal, nas primeiras 24 horas de admissão no CIPE, obtiveram-se oito (53,3%) resultados positivos e sete (46,7%) negativos para a presença de GP-ESBL.

A Tabela 6 e a Figura 5 apresentam uma análise descritiva da frequência observada dos fatores de risco para colonização por GP-ESBL e o seu cruzamento com os resultados obtidos nas culturas de pesquisa rápida de GP-ESBL.

Tabela 6. Resultados da pesquisa rápida de GP-ESBL nos doentes com fatores de risco para colonização.

Fatores de risco para colonização por GP-ESBL	n	Pesquisa rápida de GP-ESBL positiva	Pesquisa rápida de GP-ESBL negativa
Doença crónica subjacente	15 (100%)	8 (53,3%)	7 (46,7%)
Transferência de outro serviço hospitalar	14 (93,3%)	8 (57,1%)	6 (42,9%)
Internamento recente ^a	10 (66,7%)	5 (50%)	5 (50%)
Cirurgia prévia ^b	7 (46,7%)	5 (71,4%)	2 (28,6%)

^a Internamento hospitalar no mês anterior à admissão, ou pelo menos dois internamentos nos seis meses prévios.

^b Cirurgia nos 12 meses prévios à admissão.

GP-ESBL, germens produtores de β -lactamases de espectro expandido; n, número.

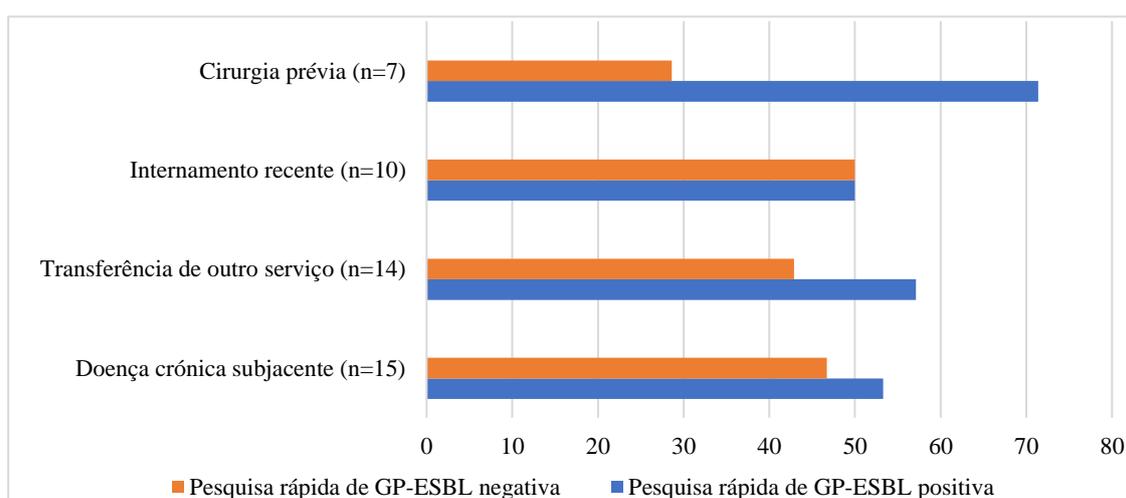


Figura 5. Resultados da pesquisa rápida de germens produtores de β -lactamases de espectro expandido nos doentes com fatores de risco para colonização.

Nenhuma das crianças com cultura rápida de GP-ESBL positiva veio a desenvolver infecção subsequente. Não se observou nenhuma IACS causada por GP-ESBL no CIPE durante os três meses posteriores à introdução da técnica de rastreio e de pesquisa rápida, seguida da aplicação das medidas de isolamento de contato necessárias naqueles com resultado positivo.

Combinação de duas estratégias para redução da incidência de IACS

Após introdução do protocolo de pesquisa rápida de colonização por GP-ESBL no CIPE, e durante os três meses subsequentes, verificou-se a coexistência da aplicação desta técnica com a prática do banho diário com GCH a 2% para controlo da incidência de IACS.

Das 12 IACS registadas ao longo de todo o estudo, três (25%) foram observadas durante os três meses em que existiu uma combinação das duas estratégias de controlo infeccioso (Tabela 7), revelando uma taxa de incidência de IACS de 2,3% durante este período. Com a combinação das duas estratégias, verificou-se uma redução de 66,7% (6,9% *versus* 2,3%; $p=0,078$) na taxa de incidência de IACS, em comparação com o período de cinco meses prévio, em que foi aplicado o banho diário com GCH a 2% isoladamente.

Tabela 7. Infecções associadas aos cuidados de saúde observadas no CIPE entre 1 de dezembro de 2017 e 28 de fevereiro de 2018.

Microorganismos isolados (n= 2/3 culturas positivas)	Total n	Resistências n
Infeção da corrente sanguínea	1	-
Sépsis clínica – cultura negativa	1	-
Infeção urinária	2	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	-
<i>Candida albicans</i>	1	-

CIPE, Serviço de Cuidados Intensivos Pediátricos; n, número.

Discussão

À semelhança dos fatores de risco previamente descritos e associados ao desenvolvimento de IACS^{15,16}, também a maioria das IACS observadas neste estudo ocorreu em crianças que haviam sido transferidas de outra enfermaria hospitalar ou de outro hospital, que apresentavam doença crónica subjacente (particularmente patologia respiratória ou neurológica crónica, malformações, neoplasias e imunossupressão), que se encontravam sob terapêutica antibiótica, ou com mais de 48 horas de dispositivos invasivos *in situ*.

As IACS mais importantes são aquelas associadas a dispositivos médicos invasivos (PAV, infeção da corrente sanguínea associada a cateter central e infeção do trato urinário associada a SV), assim como as infeções de feridas cirúrgicas.¹⁷ Muitas das infeções associadas a dispositivos invasivos são causadas por organismos multirresistentes. O controlo da colonização e infeção por estes microrganismos é atualmente um dos grandes desafios em UCIP. Embora a prescrição racional de antibióticos seja uma medida essencial para prevenir a seleção de estirpes multirresistentes, a introdução de estratégias eficazes de descolonização tem vindo a tornar-se cada vez mais necessária para evitar a rápida disseminação das mesmas. Alguns estudos^{18,19} demonstraram existir reservatórios bacterianos, com pelo menos um germen comumente associado a IACS, em 62 a 98% das banheiras de enfermarias hospitalares e unidades de cuidados intensivos, tornando o banho com água e sabão ineficaz na descolonização cutânea dos doentes hospitalizados e, pelo contrário, um importante contribuidor para a transmissão horizontal destes agentes patogénicos. O banho com GCH surge como principal alternativa, dado o seu largo espectro antisséptico e elevada segurança. Alserehi *et al.*²⁰ demonstrou que a concentração cutânea obtida com a utilização de manábulas embebidas em GCH a 2% foi superior, embora sem significado estatístico, à concentração obtida com a utilização de GCH a 2% em solução; no entanto, a primeira foi associada a uma maior redução da densidade microbiana cutânea, atribuível a maior uniformidade da

concentração do produto na superfície da pele e ao ligeiro efeito exfoliante decorrente da utilização das manábulas, razão pela qual foi decidida a utilização desta formulação no presente estudo.

Os resultados obtidos sugerem a eficácia do banho diário com manábulas embebidas em GCH a 2% na redução da incidência de IACS. Apesar de apenas uma parte dos doentes admitidos no CIPE ter sido alvo desta prática, a redução na taxa global de incidência de IACS demonstra que as crianças que não sofreram esta intervenção podem beneficiar dela indiretamente, através da prevenção da transmissão cruzada. Apesar disso, foram ainda observados três casos de IACS em crianças que não haviam recebido banho diário com GCH a 2%; esta situação reforça a importância da realização de mais estudos que avaliem os benefícios e os riscos da utilização deste produto antisséptico em crianças de menor idade.

O efeito desta estratégia foi mais evidente nos casos de infeção da corrente sanguínea, o que se torna particularmente relevante tendo em consideração que esta tem sido relatada como a principal causa de IACS em algumas UCIP.^{16,21,22} Estes achados são consistentes com a literatura existente, onde é comprovada a associação entre o banho diário com GCH a 2% e a diminuição da incidência de bacteriemias, inclusive as associadas a cateter central, atribuível à eficaz redução da densidade microbiana da pele dos doentes, das mãos dos profissionais de saúde e do ambiente hospitalar envolvente.^{6,7,23,24}

Não obstante, à semelhança de alguns estudos prévios^{4,25} as IACS mais frequentemente observadas neste estudo foram as pneumonias. A taxa de incidência destas infeções apresentou a menor percentagem de redução, de entre todas as IACS registadas, após introdução do banho diário com GCH a 2%. Hayes *et al.*⁷ e Popovich *et al.*²⁶ constataram existir uma concentração cutânea inferior de GCH e, conseqüentemente, maior colonização bacteriana, na região do pescoço dos doentes hospitalizados submetidos a banhos com GCH a

2%, quando comparada com outras partes corporais. Os autores justificam este achado referindo que a região cervical é alvo de uma limpeza menos minuciosa durante as práticas dos banhos, além de defender que os doentes entubados ou traqueostomizados, que representam a maioria em contexto de UCIP, possuem maior quantidade de secreções orofaríngeas e traqueais, que podem rapidamente contaminar a região do pescoço após o banho. Outros fatores de risco para PAV (como, por exemplo, a posição de decúbito, a higiene oral, entubação nasogástrica, alimentação via entérica, utilização de fármacos sedativos ou opióides, entre outros), não foram analisados nem modificados durante este estudo, mas podem aumentar a probabilidade de aspiração de conteúdo gástrico e facilitar a colonização das vias aéreas.^{27,28} Estes achados podem contribuir para explicar a maior dificuldade, verificada neste estudo, na redução de pneumonias com a utilização do banho com GCH a 2%. Poderá ser necessária uma limpeza mais frequente da região cervical nestes doentes, de forma a reduzir a elevada colonização cutânea que aí apresentam. Além disso, dado que aproximadamente 70% das PAV são causadas por bactérias gram-negativas^{5,29} e que estas demonstraram, em alguns estudos, possuir uma concentração mínima inibitória de GCH a 2% mais elevada do que as bactérias gram-positivas^{6,30}, é necessária maior investigação para avaliar o benefício da utilização de concentrações mais elevadas de GCH na lavagem da região cervical dos doentes hospitalizados, com vista a uma redução mais acentuada da incidência de PAV.

O padrão de microrganismos isolados neste estudo foi semelhante ao observado em trabalhos prévios, com predominância de germens gram-negativos (principalmente *Enterobacteriaceae*) como agentes etiológicos das IACS.^{15,16,31} Embora o efeito positivo do banho com GCH a 2% na redução da colonização cutânea por gram-negativos tenha já sido comprovado^{5,32,33}, o seu efeito na redução de IACS causadas por estes organismos é mais controverso, tendo sido documentado em alguns estudos^{5,34}, mas não em todos.^{24,32} Na nossa

amostra, a introdução do banho diário com GCH a 2% sugere uma redução na taxa de incidência de IACS causadas por germens gram-negativos, inclusive por estirpes produtoras de ESBL, embora a diferença não tenha atingido significado estatístico. Apesar disso, não se verificou o isolamento de nenhuma estirpe de *Klebsiella pneumoniae* produtora de ESBL após a introdução desta estratégia, enquanto, no período prévio, quatro das cinco estirpes isoladas deste germen eram produtoras de ESBL. Por outro lado, apesar da eficácia do banho com GCH a 2% na redução da colonização e infecção por germens gram-positivos (incluindo MRSA e VRE) já ter sido extensamente documentada^{6,26,34,35}, esse achado não foi verificado neste estudo. A ausência de significado estatístico na comparação do número de infecções por gram-negativos e gram-positivos entre os dois períodos pode estar relacionada com a pequena dimensão da amostra.

No período em que existiu uma combinação das práticas de banho diário com GCH a 2% e de pesquisa rápida de colonização por GP-ESBL, houve tendência para uma redução mais acentuada da taxa de incidência de IACS, quando em comparação com o período do estudo em que se aplicou o banho com GCH a 2% isoladamente; este achado sugere o potencial efeito benéfico da combinação destas duas estratégias no controlo infeccioso em cuidados de saúde. Dada a falta de concordância entre alguns dos estudos relativamente à eficácia do banho com GCH a 2% na diminuição da incidência de IACS causadas por germens gram-negativos, como anteriormente mencionado, as técnicas de pesquisa rápida de GP-ESBL surgem como uma possível medida adjuvante no combate à disseminação destas estirpes. A placa de rastreio cromogénea *BrillianceTM* ESBL Agar demonstrou ter uma seletividade e especificidade mais elevadas para a deteção de GP-ESBL após 24 horas de incubação, com menor número de falsos-positivos por bactérias não-*Enterobacteriaceae*, quando comparada com outras técnicas de deteção rápida.^{36,37} Os resultados obtidos neste estudo demonstraram que a maioria das crianças com pelo menos um fator de risco conhecido

para colonização por GP-ESBL, apresentou um resultado positivo na técnica de pesquisa rápida utilizada, permitindo reconhecer, num período de 24 horas, os doentes que devem ser colocados sob medidas de isolamento e precauções de contacto. A implementação precoce e adequada destas medidas contribui para a prevenção da transmissão cruzada destes germens multirresistentes, evitando a contaminação dos doentes que não estavam previamente colonizados e possibilitando uma redução na taxa global de colonização em contexto de enfermaria.

Sabe-se que os doentes colonizados com GP-ESBL apresentam um risco aproximadamente 50 vezes superior de desenvolver infeção subsequente do que os não colonizados^{12,13,29}, o que, por sua vez, se associa a tempos de internamento mais prolongados e a taxas de mortalidade e custos mais elevados; este facto deve-se maioritariamente à demora na implementação de uma terapêutica eficaz contra estes germens.¹¹ Tendo isto em conta, é reforçada a necessidade de avaliar o benefício de implementar estratégias de vigilância ativa durante a hospitalização dos doentes em UCIP, particularmente naqueles que apresentam fatores de risco. Com efeito, Detsis *et al.*¹² demonstrou que a utilização do rastreio de colonização por GP-ESBL como fator preditivo para infeção possui uma sensibilidade e especificidade combinadas de 95% e 89%, respetivamente. A identificação precoce dos doentes em risco de infeção por GP-ESBL permite o ajuste da antibioterapia empírica num período de tempo mais curto, melhorando assim o seu prognóstico. Além do mais, torna possível selecionar de forma mais criteriosa os doentes que beneficiam de uma antibioterapia empírica com carbapenemos e aqueles em que essa terapêutica pode ser evitada, o que constitui uma medida essencial para prevenir a seleção de estirpes de *Enterobacteriaceae* produtoras de carbapenamases, um mecanismo de resistência que tem vindo a ganhar importância e para o qual não existem suficientes opções terapêuticas.

A principal limitação deste trabalho prende-se com a pequena dimensão da amostra. Não obstante, e tendo em conta os resultados nele obtidos, este estudo preliminar pode servir de base para posterior aplicação num período temporal mais prolongado, com vista a obtenção de uma amostra de maior dimensão. Para além disso, os achados obtidos no grupo onde foram introduzidas as estratégias de controlo infeccioso não foram comparados com os de um grupo controlo, sujeito a banho diário sem produto antisséptico e não rastreado para colonização por GP-ESBL. Esta análise poderia determinar se os resultados obtidos eram inteiramente, ou apenas parcialmente, atribuíveis ao efeito das técnicas implementadas. Outra limitação do estudo foi a dificuldade obtida na identificação presuntiva da estirpe produtora de ESBL isolada na placa *BrillianceTM ESBL Agar*, através do esquema de cores apresentado pelas colónias. Sendo esta uma interpretação subjetiva e dependente do operador, foi decidido não incluir essa informação neste trabalho.

Conclusão

O controlo da colonização e infeção por organismos multirresistentes é um dos grandes desafios atuais em UCIP, dada a vulnerabilidade dos doentes admitidos e a necessidade de realização de técnicas invasivas. Este estudo suporta os achados da literatura prévia, sugerindo a eficácia do banho diário com GCH a 2% na redução da incidência de IACS. Este efeito foi mais acentuado na redução da incidência de infeções da corrente sanguínea e de infeções causadas por germens gram-negativos, os principais agentes etiológicos de IACS neste contexto.

A técnica de pesquisa rápida de GP-ESBL através de recolha de amostras retais demonstrou ser eficaz na identificação precoce dos doentes colonizados por estes germens; esta medida pode permitir, em primeira instância, a aplicação de medidas de isolamento de contacto com vista a prevenção da transmissão cruzada em contexto de enfermagem e, para além disso, o ajuste precoce da antibioterapia empírica nos doentes colonizados que venham a desenvolver infeção subsequente, melhorando substancialmente o seu prognóstico.

A combinação destas duas estratégias apresentou uma tendência superior para a diminuição da taxa de incidência de IACS, sugerindo o potencial efeito benéfico desta associação como medida de controlo infeccioso em contexto hospitalar. Torna-se importante a aplicação destas estratégias de forma continuada, com vista a obtenção de uma amostra de maiores dimensões.

Agradecimentos

Agradeço, em particular, à minha orientadora, Dra. Andrea Dias, pela dedicação, colaboração e disponibilidade prestadas ao longo do trabalho, assim como à minha coorientadora, Professora Doutora Guiomar Oliveira, pela importante contribuição.

Um especial agradecimento à Dra. Filipa Costa e ao Dr. Francisco Ruas, por toda a dedicação e tempo que me dispensaram, sem os quais a realização deste trabalho não teria sido possível.

À minha família e amigos mais queridos, pelo apoio incondicional, incentivo, compreensão e por acreditarem (por vezes, mais do que eu própria) nas minhas capacidades.

Por último, a todas as crianças e respetivos pais que aceitaram participar neste estudo, na esperança de contribuir para um futuro de maior qualidade em cuidados pediátricos.

Referências

1. Cristino JAM, Correia M, Carvoeiro M das N, Costa C, Silva EG, Silva MG. Programa nacional de prevenção e controlo da infecção associada aos cuidados de saúde. Direção Geral de Saúde. 2007:1-20.
2. Banerjee SN, Grohskopf LA, Sinkowitz-Cochran RL, Jarvis WR. Incidence of pediatric and neonatal intensive care unit-acquired infections. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2006;27(6):561-570. doi:10.1086/503337.
3. McGrath EJ, Asmar BI. Nosocomial infections and multidrug-resistant bacterial organisms in the pediatric intensive care unit. *Indian J Pediatr.* 2011;78(2):176-184. doi:10.1007/s12098-010-0253-4.
4. Foglia EE, Fraser VJ, Elward AM. Effect of nosocomial infections due to antibiotic-resistant organisms on length of stay and mortality in the pediatric intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2007;28(3):299-306. doi:10.1086/512628.
5. Cassir N, Thomas G, Hraiech S, et al. Chlorhexidine daily bathing: Impact on health care-associated infections caused by gram-negative bacteria. *Am J Infect Control.* 2015;43(6):640-643. doi:10.1016/j.ajic.2015.02.010.
6. Donskey CJ, Deshpande A. Effect of chlorhexidine bathing in preventing infections and reducing skin burden and environmental contamination: A review of the literature. *Am J Infect Control.* 2016;44(5):e17-e21. doi:10.1016/j.ajic.2016.02.024.
7. Hayes R, Hayden MK, Lyles R, Hota B. Relation of Chlorhexidine Gluconate Skin Concentration to Microbial Density on Skin of Critically Ill Patients Bathed Daily with Chlorhexidine Gluconate. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2013;33(9):889-896. doi:10.1086/667371.Relation.

8. Ghafourian S, Sadeghifard N, Soheili S, Sekawi Z. Extended spectrum beta-lactamases: Definition, classification and epidemiology. *Curr Issues Mol Biol.* 2015;17(1):11-22. doi:10.1016/B978-1-4377-1738-9.00102-X.
9. Suwantararat N, Logan LK, Carroll KC, et al. The Prevalence and Molecular Epidemiology of Multidrug-Resistant Enterobacteriaceae Colonization in a Pediatric Intensive Care Unit. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2016;37(5):535-543. doi:10.1017/ice.2016.16.
10. Anthony D. Harris, Jessina C. McGregor, Judith A. Johnson, Sandra M. Strauss, Anita C. Moore, Harold C. Standiford, Joan N. Hebden and JGMJ. Risk Factors for Colonization with Extended-Spectrum β -Lactamase Producing Bacteria and Intensive Care Unit Admission. *Emerg Infect Dis.* 2007;13(8):1144-1149.
11. Razazi K, Derde LPG, Verachten M, Legrand P, Lesprit P, Brun-Buisson C. Clinical impact and risk factors for colonization with extended-spectrum β -lactamase producing bacteria in the intensive care unit. *Intensive Care Med.* 2012;38(11):1769-1778. doi:10.1007/s00134-012-2675-0.
12. Detsis M, Karanika S, Mylonakis E. ICU Acquisition Rate, Risk Factors, and Clinical Significance of Digestive Tract Colonization with Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Crit Care Med.* 2017;45(4):705-714. doi:10.1097/CCM.0000000000002253.
13. Biehl LM, Schmidt-Hieber M, Liss B, Cornely OA, Vehreschild MJGT. Colonization and infection with extended spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae in high-risk patients - Review of the literature from a clinical perspective. *Crit Rev Microbiol.* 2016;42(1):1-16. doi:10.3109/1040841X.2013.875515.
14. Straney L, Clements A, Parslow RC, et al. Paediatric index of mortality 3: An updated

- model for predicting mortality in pediatric intensive care. *Pediatr Crit Care Med.* 2013;14(7):673-681. doi:10.1097/PCC.0b013e31829760cf.
15. Vincent J, Marshall J, Anzueto A, Martin CD, Gomersall C. International Study of the Prevalence and Outcomes of Infection in Intensive Care Units. *J Am Med Assoc.* 2009;302(21):2323-2329.
 16. Folgori L, Bernaschi P, Piga S, et al. Healthcare-Associated Infections in Pediatric and Neonatal Intensive Care Units: Impact of Underlying Risk Factors and Antimicrobial Resistance on 30-Day Case-Fatality in Italy and Brazil. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2016;37(11):1302-1309. doi:10.1017/ice.2016.185.
 17. Al-Tawfiq JA, Tambyah PA. Healthcare associated infections (HAI) perspectives. *J Infect Public Health.* 2014;7(4):339-344. doi:10.1016/j.jiph.2014.04.003.
 18. Johnson D, Lineweaver L, Maze LM. Patients' bath basins as potential sources of infection: A multicenter sampling study. *Am J Crit Care.* 2009;18(1):31-38. doi:10.4037/ajcc2009968.
 19. Marchaim D, Taylor AR, Hayakawa K, et al. Hospital bath basins are frequently contaminated with multidrug-resistant human pathogens. *Am J Infect Control.* 2012;40(6):562-564. doi:10.1016/j.ajic.2011.07.014.
 20. Alserehi H, Filippell M, Emerick M, et al. Chlorhexidine gluconate bathing practices and skin concentrations in intensive care unit patients. *Am J Infect Control.* 2017:8-10. doi:10.1016/j.ajic.2017.08.022.
 21. Smith MJ. Catheter-related bloodstream infections in children. *Am J Infect Control.* 2008;36(10):1-3. doi:10.1016/j.ajic.2008.10.012.
 22. Grohskopf LA, Sinkowitz-Cochran RL, Garrett DO, et al. A national point-prevalence

- survey of pediatric intensive care unit-acquired infections in the United States. *J Pediatr*. 2002;140(4):432-438. doi:10.1067/mpd.2002.122499.
23. Milstone AM, Elward A, Song X, et al. Daily chlorhexidine bathing to reduce bacteraemia in critically ill children: A multicentre, cluster-randomised, crossover trial. *Lancet*. 2013;381(9872):1099-1106. doi:10.1016/S0140-6736(12)61687-0.
 24. Climo MW, Yokoe DS, Warren DK, et al. Effect of Daily Chlorhexidine Bathing on Hospital-Acquired Infection. *N Engl J Med*. 2013;368(6):533-542. doi:10.1056/NEJMoa1113849.
 25. Vincent J, Bihari D, Suter P, et al. The Prevalence of Nosocomial Infection in Intensive Care Units in Europe. *Jama*. 1995;274(8):639. doi:10.1001/jama.1995.03530080055041.
 26. Popovich KJ, Lyles R, Hayes R, et al. Relationship between Chlorhexidine Gluconate Skin Concentration and Microbial Density on the Skin of Critically Ill Patients Bathed Daily with Chlorhexidine Gluconate. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2012;33(9):889-896. doi:10.1086/667371.
 27. Hunter JD. Ventilator associated pneumonia. *Bmj*. 2012;344(May 2012):e3325-e3325. doi:10.1136/bmj.e3325.
 28. Trouillet J-L. Ventilator-Associated Pneumonia: A Comprehensive Review. *Hosp Pract*. 2012;40(2):165-175. doi:10.3810/hp.2012.04.982.
 29. Bruyère R, Vigneron C, Bador J, et al. Significance of Prior Digestive Colonization with Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae in Patients with Ventilator-Associated Pneumonia. *Crit Care Med*. 2016;44(4):699-706. doi:10.1097/CCM.0000000000001471.

30. McDonnell G, Russell AD. Antiseptics and disinfectants: Activity, action, and resistance. *Clin Microbiol Rev.* 1999;12(1):147-179. doi:10.1007/s13398-014-0173-7.2.
31. Mathot F, Duke T, Daley AJ, Butcher T. Bacteremia and pneumonia in a tertiary PICU: An 11-year study. *Pediatr Crit Care Med.* 2015;16(2):104-113. doi:10.1097/PCC.0000000000000300.
32. Ruiz J, Ramirez P, Villarreal E, et al. Daily bathing strategies and cross-transmission of multidrug-resistant organisms: Impact of chlorhexidine-impregnated wipes in a multidrug-resistant gram-negative bacteria endemic intensive care unit. *Am J Infect Control.* 2017. doi:10.1016/j.ajic.2017.06.029.
33. Cassir N, Papazian L, Fournier PE, Raoult D, La Scola B. Insights into bacterial colonization of intensive care patients' skin: the effect of chlorhexidine daily bathing. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2015;34(5):999-1004. doi:10.1007/s10096-015-2316-y.
34. Günther F, Kaiser SJ, Fries T, Frank U, Mutters NT. Susceptibility of multidrug resistant clinical pathogens to a chlorhexidine formulation. *J Prev Med Hyg.* 2015;56(4):E176-E179. doi:10.15167/2421-4248/jpmh2015.56.4.501.
35. Vernon MO, Hayden MK, Trick WE, Hayes RA, Blom DW, Weinstein RA. Chlorhexidine Gluconate to Cleanse Patients in a Medical Intensive Care Unit: The Effectiveness of Source Control to Reduce the Bioburden of Vancomycin-Resistant Enterococci. *Arch Intern Med.* 2009;166(3):306-312. doi:10.1001/archinte.166.3.306.
36. Willems E, Cartuyvels R, Magerman K, Verhaegen J. Evaluation of 3 different agar media for rapid detection of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae from surveillance samples. *Diagn Microbiol Infect Dis.*

2013;76(1):16-19. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2013.02.013.

37. Huang TD, Bogaerts P, Berhin C, Guisset A, Glupczynski Y. Evaluation of brilliance ESBL agar, a novel chromogenic medium for detection of extended-spectrum-beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol.* 2010;48(6):2091-2096. doi:10.1128/JCM.02342-09.

Anexo 1

Protocolo “*Utilização de clorohexidina solução cutânea no banho diário da criança*”

	UTILIZAÇÃO DE CLOROHEXIDINA SOLUÇÃO CUTÂNEA NO BANHO DIÁRIO DA CRIANÇA	P E-55.00 Próxima Revisão: Dezembro / 2018
Serviço de Cuidados Intensivos Pediátricos		

OBJETIVO

Estabelecer o modo de utilização de clorohexidina solução cutânea no banho diário da criança internada.

APLICABILIDADE

Enfermeiros do Serviço de Cuidados Intensivos Pediátricos.

DESCRIÇÃO

As infeções por microrganismos multirresistentes têm um risco aumentado de morbimortalidade, associados a um impacto económico de elevada magnitude. Desta forma, é importante adotar estratégias de prevenção deste tipo de infeções.

De acordo com estudos recentes, o banho diário com solução cutânea de clorohexidina reduz o risco de sépsis e previne a infeção por microrganismos multirresistentes. Estes estudos demonstram, também, que o banho diário com clorohexidina está associado a taxas de infeção de cateteres centrais mais baixas (incluindo por fungos) e parece estar associado a taxas de bacteriémias por germens gram-positivos mais reduzidas. Desta forma, aconselha-se o uso de clorohexidina para o banho diário, particularmente em doentes internados em cuidados intensivos.

Existe também indicação para o banho com clorohexidina em todas as crianças com cirurgia programada - um na véspera da cirurgia e outro no dia da cirurgia com, pelo menos, duas horas de antecedência.

A solução cutânea de clorohexidina recomendada é numa concentração de digluconato de clorohexidina a 2%, que deve ser utilizada durante o banho ou duche da criança. Deve lavar-se o corpo com uma manípula descartável embebida durante 2 minutos e deixar atuar durante um curto espaço de tempo antes de se passar por água. O contacto direto com os olhos, tecido cerebral, meninges, ouvido médio ou soluções de continuidade é contraindicada. Em caso de contacto com os olhos, deverá proceder-se de imediato a lavagem abundante com água.

Os estudos apontam, ainda, para resultados positivos na utilização de **digluconato de clorohexidina a 1%** no banho do recém-nascido e lactente até aos 2 meses, nomeadamente

na prevenção de infeções em cateteres centrais e na redução de colonização por *Staphylococcus aureus*. É contraindicado a sua utilização em prematuros.

A utilização concomitante de solução cutânea de clorhexidina com outro sabão é desaconselhada por reduzir a eficácia da mesma.

Os efeitos secundários são raros, podendo ocasionalmente surgir casos isolados de irritação cutânea. Aplicar creme hidratante após o banho.

UTILIZAÇÃO NO SERVIÇO DE CUIDADOS INTENSIVOS PEDIÁTRICOS

1. Doentes transferidos de outra enfermaria hospitalar com pelos menos 48h de internamento;
2. Doentes com múltiplos internamentos hospitalares;
3. Crianças e recém-nascidos com mais 40 semanas de idade corrigida após 48 horas de admissão no Serviço;
4. Crianças com mais de 2 meses com cateter central.

REFERÊNCIAS

- Michael W. Climo, M.D., Deborah S. Yokoe, et al. “*Effect of Daily Chlorhexidine Bathing on Hospital-Acquired Infection*”, The New England Journal of Medicine 368;6 February 7, 2013;
- Quach, C., Milstone AM, et al. “*Chlorhexidine bathing in a tertiary care neonatal intensive care unit: impact on central line-associated bloodstream infections*”, Infect Control Hosp Epidemiol. 2014 Feb; 35(2):158-63;
- Da Cunha ML, Procianoy RS, et al. “*Effect of the first bath with chlorhexidine on skin colonization with Staphylococcus aureus in normal healthy term newborns*”, Scand J Infect Dis. 2008;40(8):615-20;
- Resumo das características do medicamento Lifo-Scrub – Infarmed. Aprovado 03 Março 2001.
- **Norma da Direção Geral de Saúde, nº018/2014**, “Prevenção e Controlo de Colonização e Infeção por *Staphylococcus aureus* Resistente à Meticilina (MRSA) nos Hospitais e Unidades de Internamento de Cuidados Continuados Integrados”. Atualizada a 27/12/2015.

Elaboração Micaela Ceíça/Graça Camarneiro Mec: 26593/28566	Verificação Conceição Capaz Mec: 23143	Aprovação José Farela Neves Mec: 20462
Data: 29/11/2015	Data: 18/12/2015	Data: 30/12/2015

Anexo 2

Esquema de aplicação da clorexidina no CIPE

Avaliação da Pele

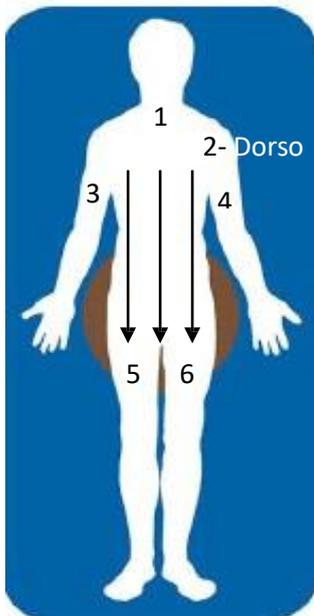
INDICAÇÕES

1. Presença de cateter central
2. Antes de cirurgia
3. Internamento >48H
4. Múltiplos internamentos

1. Banho com água e sabão se muito suja.
2. Não usar banheira.

CONTRA-INDICAÇÕES

1. Alergia à Clorohexidina
2. Pele não intacta
3. Rash generalizado
4. Recusa do doente



1. Não aplicar na face

2. Não aplicar nas mucosas

3. Não aplicar nos genitais e ânus

4. Não aplicar em pele não intacta

Aplicação em passagem única, de cima para baixo. Idealmente um toalhete em cada um dos 6 locais da figura:

1 pescoço, tórax, abdômen e virilhas;

2 dorso e nádegas;

3 e 4 braços;

5 e 6 pernas.

Anexo 3

Protocolo “*Colonização por gérmens produtores de β -lactamases de espectro expandido (ESBL) no CIPE*”

OBJECTIVOS

Pesquisa de colonização por organismos produtores de β -lactamases de espectro expandido (ESBL) nas crianças internadas no Serviço de Cuidados Intensivos Pediátricos (CIPE).

APLICABILIDADE

Médicos e Enfermeiros do CIPE.

DESCRIÇÃO

A incidência crescente de infeções causadas por microrganismos multirresistentes tem-se revelado um problema em unidades de cuidados intensivos pediátricos, dado estar associada a uma maior taxa de mortalidade, maior duração de internamento e gastos em saúde.

As ESBL são definidas como enzimas capazes de hidrolisar cefalosporinas de largo espectro, conferindo resistência contra penicilinas, cefalosporinas de 1^a, 2^a e 3^a geração e monobactâmicos. Este mecanismo de resistência pode ser encontrado em bactérias gram-negativas, nomeadamente *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas aeruginosa*, sendo codificado por um elemento genético móvel, o que facilita a sua rápida disseminação em contexto de internamento hospitalar. Esta característica, aliada à falta de opções terapêuticas, gera a necessidade de melhorar o controlo da origem destes gérmens, prevenindo a sua disseminação entre os doentes internados.

PROCEDIMENTO

Realização de zaragatoa rectal ou colheita de amostra de fezes no momento da admissão no CIPE (primeiras 24 horas), após consentimento verbal do adolescente e/ou responsável pela criança.

Critérios de elegibilidade:

Crianças admitidas com mais de 40 semanas de idade pós-menstrual, em que se preveja um internamento com duração superior a 48h, se cumprirem um dos seguintes critérios:

1. Transferidas de outra enfermaria hospitalar (excluindo admissões recentes para cirurgias eletivas);
2. Antecedentes de internamento nos últimos 30 dias, ou de pelo menos 2 internamentos nos últimos 6 meses;
3. Antecedentes de procedimento cirúrgico nos últimos 12 meses;
4. Que possuam cateter central *in situ*.

O meio de cultura a ser inoculado com a amostra consiste numa placa de rastreio cromogénea (*BrillianceTM ESBL Agar*), utilizada para deteção rápida de microrganismos produtores de ESBL. A placa contém cefpodoxima na sua constituição, que permite inibir o crescimento da maioria dos organismos não-produtores de ESBL, conferindo a este método uma elevada sensibilidade e seletividade.

Após inoculação, o meio de cultura deve ser incubado a uma temperatura de 37°C durante 18-24 horas.

O isolamento de colónias na placa sugere um resultado positivo, sendo possível a identificação presuntiva do organismo produtor de ESBL presente através do esquema de cores observado:

- Colónias de cor azul ou cor-de-rosa: *E. coli* produtora de ESBL;
- Colónias de cor verde: *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* ou *Citrobacter*;
- Colónias com halo acastanhado: *Proteus*, *Morganella* ou *Providencia*.

Perante uma cultura com resultado positivo, devem ser iniciadas as adequadas medidas de isolamento de contacto no doente identificado, de forma a prevenir a disseminação cruzada do germen isolado.

A ausência de crescimento de colónias na placa de rastreio sugere um resultado negativo, devendo o meio ser novamente incubado por um período de 24 horas para posterior reavaliação dos resultados.

REFERÊNCIAS

- Ghafourian S, Sadeghifard N, et al. “*Extended spectrum beta-lactamases: Definition, classification and epidemiology*”. *Curr Issues Mol Biol*. 2015;17(1):11-22.
- Suwantararat N, Logan LK, Carroll KC, et al. “*The Prevalence and Molecular Epidemiology of Multidrug-Resistant Enterobacteriaceae Colonization in a Pediatric Intensive Care Unit.*” *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2016;37(5):535-543.
- Huang TD, Bogaerts P, Berhin C, Guisset A, Glupczynski Y. “*Evaluation of brilliance ESBL agar, a novel chromogenic medium for detection of extended-spectrum-beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae.*” *J Clin Microbiol*. 2010;48(6):2091-2096.
- Detalhes do produto *Brilliance ESBL AGAR (PO5302)*, Oxoid Microbiology Products, acessado em www.oxoid.com/uk/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=PO5302 a 25 de outubro 2017.

Anexo 4

Detalhes do produto *Brilliance*TM ESBL Agar

(acedido em www.oxoid.com/uk/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=PO5302&, a 25/10/2017)

Prepared Media - Ready Prepared Plates

Brilliance ESBL AGAR

Code: PO5302

Brilliance[™] ESBL Agar is a chromogenic screening plate for the detection of Extended Spectrum β -Lactamase-producing organisms. The medium provides presumptive identification of ESBL-producing *E. coli* and the *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* and *Citrobacter* group (KESC), direct from clinical samples, in 24 hours.

Only available in certain territories. Please speak to your local Oxoid supplier.

Typical Formula*	gm/litre
Peptones	12.0
Sodium chloride	5.0
Phosphate buffers	4.0
Chromogenic mix	4.0
Antibiotic mix	0.28
Agar	15.0

* Adjusted as required to meet performance standards

Description

Extended Spectrum Beta-Lactamase producing organisms have recently emerged as nosocomial pathogens. ESBLs are defined as transferrable enzymes able to hydrolyse third and fourth-generation cephalosporins but which may be inhibited by clavulanic acid. Unlike MRSA or VRE, the resistance mechanisms of ESBLs are not limited to one or even two species but rather a whole family of organism, the Enterobacteriaceae. Enterobacteriaceae have become one of the most important causes of nosocomial and community-acquired infections. The main therapeutic choices to treat such infections are β -lactam antibiotics (mainly broad spectrum penicillins and cephalosporins). The lack of treatment options combined with the transmissible nature of ESBL resistance mechanisms and the alarming rate at which they have spread, results in a significant threat to global public health.

The presence of an ESBL infection severely limits treatment options as the resistance mechanisms confer wider resistance than AmpCs, which may still be treated with certain β -lactamase-stable antibiotics. In addition to this, ESBL resistance genes are encoded on freely transmissible genetic elements, greatly increasing the risk of spread to other organisms. Further information is available in an article "The new MRSA?" which first appeared in Health: Issue 24, in 2010.

Traditional culture-based screening is labour-intensive and time consuming, relying on antimicrobial susceptibility testing (AST) against a range of β -lactam antibiotics. Cefotaxime and ceftazidime have been found to be good markers for ESBL-expression¹. Some culture media have been designed to exploit the organism's resistance to one or both of these antibiotics. For example, a bi-plate format comprising Drigalski Agar+cefotaxime and MacConkey Agar+ceftazidime for the presumptive identification of ESBL-producing, or multi-drug resistant, Gram-negative organisms has been available from some manufacturers. The bi-plate format is rather awkward and requires double inoculation.

In recent years, ESBL screening technology has improved with a number of chromogenic media available for the detection of ESBL. While sensitivity of these chromogenic media is higher than that of tradition media, most still require 48 hours incubation to detect certain resistance mechanisms. Selectivity is often an issue, especially with certain AmpC possessing organisms.

Oxoid *Brilliance* ESBL Agar utilises a novel formulation which enhances the selectivity of the medium for the selective inhibition of AmpC resistance mechanisms, while maintaining a high degree of sensitivity for the detection of ESBL producing Enterobacteriaceae. *Brilliance* ESBL Agar can be inoculated from a screening

swab taken from hospital patients, from an isolated colony or from a liquid suspension. ESBL-producing *E. coli* grow as either blue or pink colonies. ESBL-producing members of the KESC group produce green colonies; *Proteus*, *Morganella* and *Providencia* do not utilise either chromogen, but are able to deaminate tryptohan, resulting in tan colonies with a brown halo.

Colony colours are particularly easy to read against the new, semi-opaque background†.

Plates are incubated at 37°C, and provide high sensitivity and specificity, with results available in just 24 hours. This allows a rapid response from infection control teams and enables the patient to receive the most appropriate treatment, as early as possible. Accuracy minimises costs, by helping to ensure that only those in need receive what can be costly treatment.

Technique

Brilliance ESBL Agar can be inoculated direct from rectal screening swabs, faecal samples or from an isolated colony prepared as a liquid suspension approximately equivalent to 0.5 McFarland turbidity, according to local guidelines. Isolated colonies should not be directly plated onto *Brilliance* ESBL Agar, as the high level of inoculum is likely to cause false positive results. The medium should be allowed to warm to room temperature before inoculation. Incubate for 18-24 hours at 37°C. Negative plates should be re-incubated for an additional 24 hours. Blue or pink colonies are presumptive positive for *E. coli* ESBLs and green colonies for KESC group ESBLs. *Proteus*, *Morganella* and *Providencia* produce tan colonies with a brown halo. *E. coli* identifications can be confirmed using RapID™ Spot Indole test (R8309002) or if sub-cultured on to a suitable medium RapID™ One can be used to confirm speciation.

For further instructions on the use and interpretation of *Brilliance* ESBL Agar, simply download the data sheet (1.60MB) in PDF format.

Storage conditions and shelf life

Brilliance ESBL Agar plates should be stored in the original packaging at the temperature stated on the pack or product specification, and protected from direct light. When stored as directed, the unopened product will remain stable until the expiry date on the label.

Appearance

Prepared medium: Pale, off-white, semi-opaque gel medium in Petri dishes

Quality Control

Positive Controls	Expected results
<i>Klebsiella pneumoniae</i> SHV-18 ATCC® 700603	1 - 2 mm, green colonies
<i>Escherichia coli</i> TEM-3 NCTC 13351	1 - 2 mm; blue colonies
Negative controls	
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC® 23355	Complete inhibition
<i>Citrobacter freundii</i> NCTC 8581	Complete inhibition
<i>Candida albicans</i> ATCC® 10231	Complete inhibition

Precautions

Brilliance ESBL Agar is for in vitro diagnostic use only, by trained individuals. Do not use beyond the expiry date given on the label, or if the product shows any sign of deterioration. Sterilise specimens, equipment and media properly after use.

Limitations

Samples containing faecal material or blood may cause some localised discolouration within the medium, this discolouration should not be confused a true chromogenic reaction where coloured colonies are visible.

It should be noted that, as with all chromogenic media, organisms with atypical enzyme patterns may give anomalous reactions on *Brilliance* ESBL Agar.

References

1. H. K. Geiss, (1990) Comparison of two test kits for rapid identification of *Escherichia coli* by a beta-glucuronidase assay. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*; 9 (2):151-152

ATCC® is a registered trademark of American Type Culture Collection