

Comparação das técnicas semi-quantitativa e quantitativa nas infecções relacionadas a cateter em neonatos e determinação da resistência à oxacilina nos *Staphylococcus spp.*

Diagnóstico de Infecção relacionada a cateter

Danilo F. M. Riboli¹, Eliane P. da Silva², Valéria C. Pereira³, João C. Lyra⁴, Maria R. Bentlin⁵, Ligia S. Rugolo⁶, Maria de Lourdes R S Cunha⁷

1. Aluno de Graduação, Ciências Biomédicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Botucatu, SP
2. Bióloga, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Botucatu, SP
3. Mestranda, Biologia Geral e Aplicada, Departamento de Microbiologia e Imunologia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Botucatu, SP
4. Professor Assistente Doutor, Departamento de Pediatria- Faculdade de Medicina/ UNESP-Botucatu
5. Professor Assistente Doutor, Departamento de Pediatria- Faculdade de Medicina/ UNESP-Botucatu
6. Professora Adjunto, Departamento de Pediatria - Faculdade de Medicina/ UNESP-Botucatu
7. Professora Assistente Doutora, Departamento de Microbiologia e Imunologia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Botucatu, SP

Email dos autores:

1. DFMR: daniloflaviomr@yahoo.com.br
2. EPS: eliane_bio10@yahoo.com.br
3. VCP: valeriacataneli@yahoo.com.br
4. JCL: jc.lyra@uol.com.br
5. MRB: mbentlin@fmb.unesp.br
6. LMSSR: ligiasr@fmb.unesp.br
7. MLRSC: cunhamlr@ibb.unesp.br

Todos os autores possuem currículo cadastrado na Plataforma Lattes do CNPq

Contribuição de cada autor:

Danilo F. M. Riboli: Participou da concepção da idéia do estudo, realizou os testes microbiológicos e escreveu o artigo.

Eliane P. da Silva : Participou da concepção da idéia do estudo, participou da realização dos testes microbiológicos, análises dos dados clínicos e contribuiu com a redação do artigo.

Valéria C. Pereira: participou da realização dos testes microbiológicos.

João C. Lyra: Médico da Unidade Neonatal, contribuiu com o material clínico e coleta de dados clínicos.

Maria R. Bentlin: Médico da Unidade Neonatal, contribuiu com o material clínico e coleta de dados clínicos.

Ligia M.S.S. Rugolo: Médico e professor responsável pela Unidade Neonatal, coordenou a coleta de material clínico e análise dos dados clínicos.

Maria de Lourdes Ribeiro de Souza da Cunha: Responsável por conceber a idéia do trabalho, a coordenação do trabalho de laboratório, análise de dados e redação do manuscrito.

Conflito de interesse: nada a declarar

Este trabalho foi realizado no Instituto de Biociências de Botucatu, Departamento de Microbiologia e Imunologia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Botucatu, SP

Danilo Flávio Moraes Riboli.

Rua Matheus Giacoia, 170 Ap 03, Vila Carmelo. Botucatu - SP

CEP: 18609-490

daniloflaviomr@yahoo.com.br

Fonte financiadora: PIBIC-CNPq

Total de palavras do texto: 3324

Total de palavras do resumo: 242

Número de tabelas e figuras: 04 tabelas

Resumo

Objetivos: estudar a técnica semi-quantitativa e a técnica quantitativa no diagnóstico das infecções relacionadas a cateter em neonatos e determinar a resistência à oxacilina nas amostras de *Staphylococcus* isoladas.

Métodos: foram analisadas 353 pontas de cateteres de 273 neonatos da Unidade Neonatal do HC da FMB. Para confirmação do diagnóstico de infecção, foram analisados os dados clínicos dos RN, presença de pelo menos uma hemocultura positiva e crescimento de ≥ 15 UFC na cultura semi-quantitativa e/ou ≥ 1000 UFC/mL na cultura quantitativa, com isolamento do mesmo microrganismo (espécie e sensibilidade às drogas) em hemocultura e sem outro foco de infecção, exceto seu cateter. A técnica de disco difusão foi utilizada para verificar a similaridade das linhagens e a resistência à oxacilina.

Resultados: De 353 pontas analisadas, 39 foram incluídas neste estudo conforme os critérios de inclusão. A cultura semi-quantitativa foi positiva em 26 (66,7%) cateteres e a cultura quantitativa foi positiva em 24 (61,5%). Dos 273 pacientes, 19 (6,9%) tiveram diagnóstico de Infecção da corrente sanguínea relacionada ao cateter (ICSRC). Dos 19 episódios de ICSRC, *S. epidermidis* foi o agente etiológico predominante (84,2%). A resistência ao antibiótico oxacilina foi verificada em 14 (73,7%) amostras de *Staphylococcus*.

Conclusão: o método semi-quantitativo foi mais sensível (79%) quando comparado com o método quantitativo (63%). O uso prévio de antimicrobianos pode ter influenciado a sensibilidade do método quantitativo já que os microrganismos presentes no lúmen estão expostos a maiores concentrações de antibióticos administrados através do cateter.

Abstract

Objectives: study the semi-quantitative and quantitative technique in the diagnosis of catheter-related infections in newborns and to determine oxacillin resistance in *Staphylococcus* isolated.

Methods: it was analyzed 353 catheter tips from 273 newborns in the Neonatal Unit of Hospital FMB. To confirm the diagnosis of infection, were analyzed the clinical data of newborns, the presence of at least one positive blood culture and growth of ≥ 1000 CFU/mL on quantitative culture and/or ≥ 15 UFC on semiquantitative culture, with the same microorganism isolation (species and drug sensitivity) in blood culture and no other focus of infection except the catheter. The disk diffusion technique was used to check similarity of strains and resistance to oxacillin.

Results: Of the 353 tips analyzed, 39 were included in this study as the inclusion criteria. The semiquantitative culture was positive in 26 (66.7%) catheters and quantitative culture was positive in 24 (61.5%). Of 273 patients, 19 (6.9%) had a diagnosis of catheter-related bloodstream Infection (CR-BSI). Of the 19 episodes of CR-BSI, *S. epidermidis* was the predominant etiological agent (84.2%). The resistance to the antibiotic methicillin was found in 14 (73.7%) strains of *Staphylococcus*.

Conclusion: The semiquantitative method was more sensitive (79%) compared with the quantitative method (63%). The use of antibiotics may have influenced the sensitivity of the quantitative method as the microorganisms present in the lumen are exposed to higher concentrations of antibiotics administered via the catheter.

INTRODUÇÃO

Cateteres intravasculares são indispensáveis na prática médica moderna, especialmente em unidades de terapia intensiva (UTI). Embora tais cateteres forneçam acesso vascular necessário, o seu uso põe pacientes em risco de complicações infecciosas locais e sistêmicas, incluindo: infecções do local de acesso, infecções da corrente sanguínea relacionadas a cateter (ICSRC), tromboflebite séptica, endocardite e outras infecções metastáticas¹, sendo uma das principais causas de bacteremia adquirida nos hospitais². A maioria das infecções graves relacionadas a cateteres estão associadas aos cateteres venosos centrais (CVCs)¹, com contribuições significativas para a morbidade, custos, e, em menor média, mortalidade nos hospitais^{3,4}.

O padrão de referência da cultura da ponta de cateter é a técnica semi-quantitativa descrita por Maki et al.¹, com um ponto de corte de 15 unidades formadoras de colônia (UFC) para distinguir contaminação microbiana dos cateteres de colonização significativa. Essa cultura é baseada no rolamento de um segmento da ponta de cateter em placa contendo ágar-sangue, determinando a presença de bactérias na superfície externa do cateter. Esta técnica, entretanto, pode ser menos adequada para a detecção de colonização endoluminal da ponta do cateter¹.

Já no método quantitativo, descrito por Brun-Bruissson et al.⁵, passa-se 1 mL de água destilada estéril pelo lúmen do cateter, agita-se em vórtex e semeia-se em placa contendo ágar sangue por 5 dias, considerando-se significativo o crescimento maior ou igual que 10^3 UFC/mL, determinado-se a presença de microrganismos na superfície e no lúmen do cateter.

Na ICSRC, as definições de vigilância incluem todas as infecções que ocorrem em pacientes com CVC, quando outros locais de infecção foram excluídos¹, sendo diagnosticada quando microrganismos idênticos são isolados da cultura da ponta de cateter e das hemoculturas do mesmo paciente⁶.

Os *Staphylococcus* coagulase-negativa, principais componentes da flora normal da pele, são frequentemente recuperados de cateteres contaminados e de pacientes com septicemia associada ao uso de cateteres⁷. Os estafilococos geralmente mantêm uma relação benigna ou simbiótica com seus hospedeiros. Contudo, se a barreira cutânea for rompida por trauma ou pela presença de artigos estranhos, esses microrganismos podem atingir outros tecidos e proliferar, desenvolvendo um comportamento patogênico⁸.

A resistência antimicrobiana nestes microrganismos é facilmente adquirida, já que elevada transmissibilidade de plasmídios entre as linhagens no âmbito hospitalar e o uso abusivo de drogas antimicrobianas têm-se constituído importantes fatores à transferência de genes de resistência e à seleção de amostras multi-resistentes^{9,10}.

No Brasil, a resistência à oxacilina pode estar presente em mais de 80% das amostras isoladas em algumas instituições. A detecção de resistência à oxacilina em *Staphylococcus* é importante para guiar a terapia e prevenir que o paciente seja desnecessariamente tratado com vancomicina, um antimicrobiano que apresenta complicações terapêuticas e pode levar à seleção de amostras resistentes¹¹.

A introdução de métodos de culturas de cateteres tem aumentado a habilidade em diagnosticar ICSRC. Os métodos semiquantitativos e quantitativo apresentam maior especificidade na identificação de ICSRC do que a tradicional cultura em caldo, onde um inóculo clinicamente insignificante de microrganismos pode resultar numa cultura de cateter positiva¹².

Sendo assim, esse trabalho tem como objetivo principal estudar comparativamente a técnica semiquantitativa preconizada por Maki¹ e a técnica quantitativa descrita por Brun-Bruissson⁵, além de determinar a resistência dos

Staphylococcus à oxacilina no diagnóstico das infecções da corrente sanguínea relacionadas ao cateter em recém-nascidos da unidade neonatal do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem

Foram coletadas e analisadas 353 pontas de cateteres de 273 pacientes no período de novembro de 2005 a novembro de 2009 na Unidade Neonatal do Hospital das Clínicas (HC) da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB). Entre as 353 pontas analisadas, 39 provenientes de 37 recém-nascidos (RNs), foram incluídas no estudo de acordo com o critério de inclusão.

Critérios de inclusão

Foram incluídas no presente estudo somente pontas de cateteres isoladas de RN que possuíam hemoculturas coletadas próximas à data de remoção dos cateteres.

Critérios de exclusão

Foram excluídas do estudo pontas de cateteres isoladas de RN, cujo registro de dados clínicos e laboratoriais referentes a um período de uma semana anterior e uma semana posterior à data de remoção do dispositivo não foram localizados.

Cultura de cateter

As culturas de pontas de cateteres foram realizadas pelo método semi-quantitativo proposto por Maki et al.¹ e quantitativo segundo Brun-Bruissson et al.⁵. Os cateteres foram removidos assepticamente pela equipe médica e em seguida coletadas pontas de aproximadamente 5cm, colocadas em tubo seco estéril e transportadas imediatamente para o laboratório para serem processadas. Na técnica semi-quantitativa os seguimentos distais foram rolados na superfície da placa de ágar sangue e incubados a 37°C por 72 horas. As placas foram examinadas diariamente e contadas assim que detectado o crescimento, com o resultado expresso em UFC. As pontas de cateteres também foram cultivadas pelo método quantitativo, passando-se 1mL de água destilada estéril pelo lúmen do cateter, agitando por um minuto em vórtex e espalhando em seguida 0,1 mL na superfície da placa de ágar sangue com o auxílio de uma alça de Drigalski. As placas foram incubadas a 37°C por 72 horas, examinadas diariamente e contadas assim que detectado o crescimento, com o resultado expresso em UFC.

Hemoculturas

As hemoculturas foram colhidas e cultivadas pelo sistema automatizado Bactec, conforme as normas descritas por Koneman et al.⁸.

Identificação dos microrganismos

Os microrganismos que se desenvolveram nas culturas foram submetidos à coloração de Gram objetivando-se sua pureza e a observação de sua morfologia e coloração específica. Após a confirmação dessas características, foram feitas as provas de identificação conforme preconizado por Koneman et al.⁸.

Identificação de Estafilococos coagulase-negativa (ECN)

Para essa identificação foram utilizados os critérios propostos por Cunha et al.¹³, conforme esquema simplificado de provas bioquímicas, o qual estabelece a realização das provas de catalase, coagulase e de testes de utilização de açúcares: xilose, sacarose, trealose, manitol, maltose, frutose, bem como da caracterização de hemolisinas, redução de nitrato, urease, ornitina descarboxilase e sensibilidade à novobiocina.

Teste de Sensibilidade às drogas antimicrobiana

O teste de sensibilidade às drogas antimicrobianas foi realizado pela técnica da difusão da droga em ágar a partir de discos impregnados conforme critérios recomendados pelo CLSI¹⁴. Para o preparo dos inóculos foram utilizadas culturas em caldo BHI dos microrganismos isolados das pontas de cateteres e hemoculturas, previamente incubadas por 4 a 6 horas e ajustadas anteriormente com a turbidez da escala 0.5 de McFarland. Os discos utilizados foram: penicilina (10 µg), oxacilina (1µg), cefoxitina (30 µg), eritromicina (15 µg), cefalotina (30 µg), gentamicina (30 µg), vancomicina (30 µg) e rifampicina (30 µg). Para os testes de sensibilidade de fungos foram usados os seguintes antifúngicos: fluconazol (25µg) e anfotericina B (100 µg). Após a incubação a 37°C por 24 horas os halos de inibição foram medidos (mm) e os resultados obtidos foram comparados entre os germes isolados do mesmo RN (cateter e hemocultura) verificando a similaridade entre as amostras.

Definições

Colonização significativa dos cateteres: este termo foi empregado para pontas de cateteres com crescimento nas placas de ágar sangue de ≥ 15 UFC pela cultura semiquantitativa e ≥ 1000 UFC/mL pela cultura quantitativa.

O diagnóstico de certeza de ICSRC foi definido segundo critérios do CDC² pela presença de dois ou mais dos seguintes sinais ou sintomas: febre ($\geq 38^\circ\text{C}$), hipotermia ($<36^\circ\text{C}$), apnéia, bradicardia ou sinais de choque e na presença de pelo menos uma hemocultura positiva em paciente com cateter vascular e crescimento de ≥ 15 UFC na cultura semiquantitativa de cateter e/ou ≥ 1000 UFC/mL na cultura quantitativa, com isolamento do mesmo microrganismo (espécie e sensibilidade às drogas antibiogramas) em hemocultura periférica, e sem fonte aparente de outro foco de infecção, exceto seu cateter.

Estatística

A acurácia dos métodos de cultura foi obtida pelo cálculo da sensibilidade (S) e da especificidade (SP), e a probabilidade da ICSRC foi calculada a partir do valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN). Para comparação de proporção utilizou-se o teste Qui-quadrado e Exato de Fisher. A significância estatística foi definida com a ocorrência de um valor $p < 0,05$. Todas as análises foram feitas utilizando o programa SAS for Windows, S-9.1.3.

Resultados

Foram coletadas e analisadas 353 pontas de cateter de 273 pacientes no período de novembro de 2005 a novembro de 2009 na Unidade Neonatal do Hospital das Clínicas (HC) da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB). Os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FMB.

Das 353 pontas analisadas, 39 provenientes de 37 recém-nascidos (RNs), foram incluídas neste estudo de acordo com o critério de inclusão de pontas de cateter isoladas de RN que possuem hemoculturas coletadas próximas à data de remoção dos cateteres.

Das 39 pontas de cateteres incluídas no estudo 26 (66,7%) foram positivas pela técnica semi-quantitativa (acima do ponto de corte, ≥ 15 UFC) e 24 (61,5%) pela cultura quantitativa, ou seja, com crescimento $\geq 10^3$ (Tabela 1).

Foram incluídas no estudo 52 hemoculturas de 37 pacientes colhidas próximas a data de remoção do cateter, conforme as normas descritas por Koneman et al.⁸. Do total de 52 amostras, 38 (73,1%) foram de ECN e desses isolados 31 (59,6%) pertenciam a espécie *S. epidermidis*.

Dos 273 pacientes analisados 19 (6,9%) tiveram diagnóstico de Infecção da corrente sanguínea relacionada ao cateter (ICSRC) (Tabela 2), com crescimento ≥ 15 UFC no método semi-quantitativo e/ou $\geq 10^3$ UFC/mL no método quantitativo, com isolamento do mesmo microrganismo (espécie e mesmo perfil de sensibilidade as drogas antibiogramas) encontrado em hemocultura periférica, e sem fonte aparente de outro foco de infecção. Também foram analisados dados clínicos como a presença de dois ou mais dos seguintes sinais ou sintomas: febre ($\geq 38^\circ\text{C}$), hipotermia ($< 36^\circ\text{C}$), apnéia, bradicardia ou sinais de choque segundo critérios do CDC².

Entre os 19 (6,9%) episódios de ICSRC, os *S. epidermidis* também foram agentes etiológicos mais predominantes nas ICSRC, sendo 9 (60%) na cultura semi-quantitativa e 7 (58%) na quantitativa.

A análise estatística utilizando o teste de diferença de proporções entre as variáveis sexo, idade gestacional e peso dos RN associados com ICSRC mostrou diferença significativa ($p < 0,05$) somente em relação a idade gestacional ($p = 0,0004$) (Tabela 3). Os RNs prematuros extremos (< 31 semanas) foram os mais frequentemente associados com ICSRC ($p = 0,0014$) em relação aos RNs prematuros moderados e os RNs termo.

Em relação ao sexo e peso ao nascimento dos RNs com ICSRC, não foi verificada diferença significativa, embora tenha sido observado a predominância do sexo masculino, 11 (57,9%) dos pacientes. Entre os 19 pacientes com ICSRC, 13 (68,4%) apresentaram peso < 1500 g, sendo que desses 9 (69,2%) nasceram com extremo baixo peso (< 1000 g).

Houve uma taxa de 10% de mortalidade entre os RNs com ICSRC. Entre os 19 episódios de ICSRC, 14 (73,7%) dos *Staphylococcus* spp. isolados foram resistentes ao antibiótico oxacilina (Tabela 4), sendo que 13 (92,9%) foram de espécies de ECN, com a espécie *S. epidermidis* sendo a mais freqüente (11; 78,6%). Em relação aos outros fatores de risco analisados (nutrição parenteral, ventilação mecânica, tipo de cateter, duração do cateter e antibioticoterapia prévia) não foi verificada diferença significativa entre os RNs com ICSRC e RNs sem infecção relacionada a cateter.

A determinação da acurácia das duas técnicas testadas para o diagnóstico de ICSRC revelou uma sensibilidade de 79% para o método semi-quantitativo de Maki¹, com especificidade de 70%, valor preditivo positivo de 13% e valor preditivo negativo de 98%. Já no método de cultura quantitativo de Brun-Bruissson⁵ a sensibilidade foi de 63%, com valor preditivo positivo de 12%, valor preditivo negativo de 97% e especificidade de 74%.

Discussão

Estudos comparativos dos métodos de cultura semi-quantitativa e quantitativa de pontas de cateteres para o diagnóstico das ICSRC têm sido desenvolvidos por vários autores, porém esses estudos são empregados para o diagnóstico dessas infecções em pacientes adultos. Devido à inexistência na literatura de trabalhos específicos que comparem os métodos de cultura para o melhor diagnóstico de ICSRC em recém nascidos, esse estudo prospectivo foi conduzido.

Dos 273 pacientes, 19 (6,9%) tiveram diagnóstico de ICSRC, estando de acordo com dados do National Healthcare Safety Network¹⁵ que mostraram estudos com taxas de 3,1 a 6,4% de infecções relacionadas a cateteres.

Os ECN foram associados a 73% e 75% dos casos de ICSRC pelos métodos semi-quantitativo e quantitativo, respectivamente. Esses são os microrganismos mais frequentemente envolvidos com a ICSRC em recém nascidos^{16,17}. Também foram observados episódios de ICSRC por *S. aureus* e *Candida parapsilosis*, sendo que ambos os microrganismos são considerados frequentes, embora não predominantes agentes etiológicos de ICSRC em recém nascidos¹⁶.

Entre os 19 (6,9%) episódios de ICSRC, os *S. epidermidis* foram agentes etiológicos mais predominantes nas ICSRC, sendo 9 (60%) na cultura semi-quantitativa e 7 (58%) na quantitativa. A maior frequência do *S. epidermidis* nesta intercorrência é esperada, já que é a espécie predominante na flora do recém-nascido. Esta predominância na colonização dos indivíduos e a maior patogenicidade de algumas cepas podem explicar o fato dessa espécie ser mais comumente associada aos processos infecciosos em recém-nascidos¹⁷.

Em relação aos dados pessoais dos RNs com ICSRC, o sexo masculino predominou com 11 (57,9%) pacientes. Entre os 19 pacientes com ICSRC, 16 (84,2%) eram prematuros, desses 9 (47,4%) nasceram com extremo baixo peso (< 1000 g). Eshali (1989) e Cunha, et al¹⁷, afirmam em seus estudos que prematuros, principalmente de extremo baixo peso, são mais suscetíveis à infecção devido à imaturidade do sistema imunológico com deficiência de fagocitose, opsonização por anticorpos e funções do complemento. Além da prematuridade, outros fatores de risco também contribuem para maior suscetibilidade à ICSRC, dentre eles, a duração da cateterização, e a colonização por microrganismos presentes na pele. Vários estudos identificaram como os principais riscos para ICSRC muito baixo peso ao nascer (< 1.000g) e a colonização do canhão do cateter. Dessa forma, os cateteres destes pacientes são mais manipulados e permanecem por mais tempo, mas quando a manipulação é corrigida pela duração, isto é, quanto

menos tempo esses cateteres permanecerem no paciente menor a taxa de infecção¹⁸. Assim, sugere-se como estratégia de prevenção, que a remoção do acesso venoso seja feita o mais breve possível, assim que a terapêutica tenha sido concluída para reduzir as chances de infecção tardia^{2,19}.

A maioria (68,4%) dos recém nascidos com ICSRC do presente estudo estava submetida à nutrição parenteral e ventilação mecânica, sendo esta fator de risco, decorrente de fatores como, maior manipulação dos cateteres e também da infusão de soluções lipídicas servir como meio de cultura para a proliferação bacteriana^{17,20}.

Embora o cateter venoso central de inserção periférica (PICC) tenha sido mais associado à ICSRC (47,4%), os resultados desse estudo não revelaram diferença significativa quando comparado com os cateteres umbilicais.

A resistência ao antibiótico oxacilina foi verificada em 14 (73,7%) das amostras de *Staphylococcus spp.* relacionados à ICSRC, sendo que 13 (92,9%) pertenciam aos ECNs e desses, os mais prevalentes foram os da espécie *S. epidermidis* 11 (85,7%). Resultados similares foram encontrados por Sader et al.²¹ e Cordeiro²² em seus estudos em UTI neonatal, sendo observado taxa de resistência à Oxacilina, respectivamente, de 81% e 98% em amostras de *Staphylococcus* isoladas de neonatos com ICSRC.

Neste estudo, todos os pacientes considerados com ICSRC fizeram uso de antibioticoterapia prévia. O uso prévio de antibióticos pode ser visto como um procedimento de risco, ao suprimir a flora normal e selecionar microrganismos resistentes, aumentando o risco de infecção, sua gravidade, dificuldade de tratamento e duração da internação^{17, 23}.

A resistência à oxacilina indica resistência cruzada com os demais β -lactâmicos, incluindo cefalosporinas. Muitos dos ECN possuem um número de plasmídeos, alguns dos quais podem ser transferidos por conjugação entre espécies diferentes de ECN ou até mesmo entre ECN e *S. aureus*. Este mecanismo representa uma importante via de transmissão de determinantes de resistência antimicrobiana, especialmente para aminoglicosídeos e β -lactâmicos²⁴.

Essas características possuem um impacto substancial nos cuidados com a saúde, afetando desfavoravelmente a morbidade e mortalidade dos pacientes. A mortalidade relacionada à ICSRC mostrou uma taxa de 10% neste estudo. Muitos autores relatam taxas de 10% a 25% de letalidade associada à bacteremia relacionada ao cateter, prolongando a internação de 7 a 14 dias e acrescentando custo de hospitalização de US \$ 29 000²⁵.

Porém, é complicado associar o óbito somente à ICSRC pelo fato de que pacientes com cateteres geralmente estão imunocomprometidos, portanto são mais susceptíveis a desenvolver outras doenças^{26,27}. Neste estudo, foi considerado óbito relacionado à ICSRC somente quando a morte ocorreu em até 48 horas após o diagnóstico clínico de infecção.

Várias metodologias têm sido propostas para o diagnóstico de ICSRC, já que somente os achados clínicos não são confiáveis para estabelecer um diagnóstico preciso, devido à baixa sensibilidade e especificidade²⁸. Com relação aos métodos de cultura do cateter, a técnica semi-quantitativa descrita por Maki et. al¹ é amplamente utilizada pelos laboratórios de microbiologia clínica. No entanto, esta metodologia apresenta algumas limitações, pois infecções envolvendo apenas o lúmen do cateter podem ter resultados falsos negativos por este método, já que a técnica detecta apenas as bactérias presentes na parte externa do cateter²⁹. Como consequência, vários métodos quantitativos de cultura de cateter vêm sendo utilizados na tentativa de superar as limitações da técnica de Maki¹ como a cultura quantitativa, descrita por Brun-Bruissson et al⁵.

A comparação entre as duas técnicas para o diagnóstico de ICSRC revelou uma sensibilidade de 79% no método semi-quantitativo de Maki¹, também foram observados neste método uma especificidade, valor preditivo positivo e um valor preditivo negativo de, respectivamente, 70%, 13% e 98%. Já o método de cultura quantitativa de Brun-Buisson⁵ revelou menores valores de sensibilidade (63%), valor preditivo positivo (12%) e valor preditivo negativo de 97%, porém uma maior especificidade (74%).

Slobbe et. al.³⁰ em estudo comparativo entre as duas técnicas obteve níveis de sensibilidade, especificidade e valores preditivos positivos e valores preditivos negativos no diagnóstico de ICSRC de 78%, 88%, 35%, e 98 %, respectivamente, usando o método semi-quantitativo, comparado com 93%, 94%, 72% e 99%, respectivamente, por método quantitativo.

Brun-Buisson et al.⁵ e Blot et al.³¹ também compararam os métodos de cultura semi-quantitativa e quantitativa, descrevendo maior sensibilidade e valores preditivos positivos mais altos para o método quantitativo. Siegman-Ingra et al.³² compararam seis métodos e mostraram maior sensibilidade (90%) e especificidade (90%), para os métodos quantitativos.

Neste estudo, o método semi-quantitativo foi mais sensível no diagnóstico de ICSRC em neonatos. Esses valores podem ser explicados devido a todos os cateteres analisados neste estudo terem tido duração < que 10 dias (75%), pois no cateter de curta duração, inserido há menos de uma semana é mais provável que a colonização seja por microrganismos da própria pele na superfície externa do cateter, sendo a técnica de Maki¹ mais sensível na detecção de tal colonização. Para cateteres inseridos há mais de uma semana, nos quais a difusão intra-luminal pelo eixo do cateter pode ser o mecanismo dominante para a colonização do cateter, a técnica de Maki¹ é menos sensível, e métodos que obtém amostras de ambas as superfícies internas e externas, no caso do método quantitativo são mais sensíveis²⁸.

A antibioticoterapia prévia, usada em todos os pacientes desse estudo, freqüentemente é administrada em neonatos prematuros internados em UTI. Conseqüentemente, ela vai diminuir o rendimento da cultura bacteriana, tanto da superfície externa quanto do lúmen do cateter. Devido a estes agentes antimicrobianos serem administrados através do cateter venoso central, microrganismos presentes no lúmen estão expostos a maiores concentrações de antibióticos em relação às bactérias presentes na superfície do cateter. Portanto, o uso prévio de antimicrobianos pode influenciar a sensibilidade do método quantitativo em particular³⁰.

Em conclusão, este estudo comparativo entre os métodos de cultura de pontas de cateteres, revelou que o método semi-quantitativo foi o mais sensível no diagnóstico de ICSRC em recém nascidos internados na UTI neonatal e que faziam uso de cateter de curta duração. Embora a prematuridade extrema, nutrição parenteral, ventilação mecânica, duração do cateter, antibioticoterapia prévia e resistência à oxacilina tenham sido observados no grupo de recém nascidos com ICSRC, não foi detectada diferença entre esses fatores quando comparado com os RNs sem ICSRC. Esses resultados podem ser decorrentes do pequeno número de amostras que foram analisadas em relação aos fatores de risco (39 amostras) e que podem diminuir o poder dos métodos estatísticos.

Tabela 1: Microrganismos isolados das pontas de cateteres dos recém nascidos pelos métodos de cultura semiquantitativo e quantitativo.

	Cultura semiquantitativa				Cultura quantitativa			
	≥ 15 UFC		< 15 UFC		≥ 10 ³ UFC		< 10 ³ UFC	
	N	%	N	%	N	%	N	%
<i>S. epidermidis</i>	17	65%	5	38%	16	67%	6	40%
<i>S. haemolyticus</i>	4	15%	1	8%	3	13%	2	13%
<i>S. warneri</i>	1	4%	1	8%	1	4%	-	-
Total (ECN)	22	85%	7	54%	20	83%	8	53%
<i>S.aureus</i>	1	3.8%	-	-	1	4.2%	-	-
Levedura	2	7.7%	1	8%	1	4.2%	2	13%
BGN	1	3.8%	1	8%	2	8.3%	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	1	8%	-	-	1	7%
Sem crescimento	-	-	3	23%	-	-	4	27%
Total	26	100%	13	100%	24	100%	15	100%

Tabela 2: Microrganismos isolados das pontas de cateteres dos recém nascidos pelas técnicas semiquantitativa e quantitativa associados à ICSRC.

	Cultura semiquantitativa				Cultura quantitativa			
	≥ 15 UFC		< 15 UFC		≥ 10 ³ UFC		< 10 ³ UFC	
	N	%	N	%	N	%	N	%
<i>S. epidermidis</i>	9	60%	3	75%	7	58%	3	43%
<i>S. haemolyticus</i>	2	13%	-	-	2	17%	-	-
Total (ECN)	11	73%	3		9	75%	3	43%
<i>S.aureus</i>	1	7%	-	-	1	8%	-	-
Levedura	2	13%	1	25%	1	8%	2	29%
<i>E. coli</i>	1	7%	-	-	1	8%	-	-
<i>S/ crescimento</i>	-	-	-	-	-	-	2	29%
Total	15	100%	4	100%	12	100%	7	100%

Tabela 3: Aspectos clínicos dos RNs associados com ICSRC e sem ICSRC.

	RNs associados a ICSRC		RNs não associados a ICSRC		<i>p</i>
	N=19	%	N=20	%	
SEXO					
Masculino	11	57,9%	6	30%	0,1701
Feminino	8	42,1%	6	30%	0,7055
IDADE GESTACIONAL					
RNPT extremo(< 31 semanas)	13	68,4%	6	30%	0,0051
RNPT moderado(31-36 semanas)	3	15,8%	5	25%	0,6171
RNT (38-41 semanas)	3	15,8%	1	5%	0,4795
PESO					
Extremo baixo peso (< 1000g)	9	47,4%	6	30%	0,4652
Muito baixo peso (1000-1499 g)	4	21,1%	2	10%	0,5637
Baixo peso (1500-2499g)	3	15,8%	1	5%	0,4795
Peso igual ou maior que 2500g	3	15,8%	4	20%	1

* RNPT extremo = Recém nascido (RN) pré-termo extremo; RNPT moderado = RN pré-termo moderado; RNT = Recém nascido termo.

Tabela 4: Comparação dos Fatores de risco dos RNs associados com ICSRC e sem ICSRC.

Fatores de risco	RNs associados a ICSRC		RNs não associados a ICSRC		<i>p</i>
	N = 19	%	N = 20	%	
NUTRIÇÃO PARENTERAL					
Sim	14	73,7%	11	55%	0,5716
Não	5	26,3%	3	15%	0,6171
Sem informação	-	-	6		
VENTILAÇÃO MECÂNICA					
Sim	13	68,4%	9	45%	0,3657
Não	6	31,6%	5	25%	1
TIPO DE CATETER					
PCUV **	7	36,8%	4	20%	0,3938
PCUA **	3	15,8%	3	15%	1
PICC **	9	47,4%	8	40%	1
DURAÇÃO DO CATETER					
1 - 10	13	68,4%	8	40%	0,217
> 10	1	5,3%	1	5%	1
ATB PRÉVIO *					
Sim	18	94,7%	12	60%	0,1967
Não	1	5,3%	8	-	1
RESISTÊNCIA A OXACILINA					
Resistência	14	73,7%	9	45%	0,2382
Sensibilidade	5	26,3%	2	10%	0,285

* Antibioticoterapia prévia ** PICC = Ponta de cateter venoso central; PCUV = Ponta de cateter umbilical venoso; PCUA = Ponta de cateter umbilical arterial.

1. Maki DG, Weise CE and Sarafin HW. A semiquantitative culture method for identifying intravenous-catheter-related infection. *N. Engl. J. Med.* 1977;296:1305–1309.
2. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for the Prevention of Intravascular Catheter-Related Infections. *MMWR.* 2002;51 (No RR-10).
3. Pittet D, Tarara D and Wenzel RP. Nosocomial bloodstream infection in critically ill patients. Excess length of stay, extra costs, and attributable mortality. *JAMA* 1994;271:1598–1601.
4. Wenzel RP and Edmond MB. The impact of hospital-acquired bloodstream infections. *Emerg. Infect. Dis.* 2001;7:174–177.
5. Brun-Bruissson C, Abrouk F, Legrand P, Huet Y, Larabi S and Rapin M. Diagnosis Of Central Venous Catheter-Related Sepsis: Critical Level Of Quantitative Tip Cultures, *Arch. Intern. Med.* 1987;147: 873-877.
6. Mulkey MW, Rosenquist MD, Kealey GP, Lewis RW. An *in vitro* model for studying the effects of slime and nonslime-forming *Staphylococcus epidermidis* contamination of intravenous catheters. *Am Surg* 1992;58: 220-4.
7. Goldmann DA and Pier GB. Pathogenesis of infections related to intravascular catheterization. *Clin Microbiol Rev.* 1993;6: 176-192.
8. Koneman E, Allen SD and William M. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 5^a ed. Philadelphia: JB Lippincott; 1997.
9. McDonnell RW, Sweeney HM, Cohen S. Conjugational transfer of gentamicin resistance plasmids intra- and interspecifically in *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1983;23:151-60.
10. Schaberg DR, Culver DH, Gaynes RP. Major trends in the microbial etiology of nosocomial infection. *Am. J. Med.*, 1991;91:Suppl. 3B, p.72-5, 1991.
11. Marshal SA, Wilke WW, Pfaller MA, Jones RN. *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci from blood stream infections: frequency of occurrence, antimicrobial susceptibility, and molecular (*mecA*) characterization of oxacillin resistance in the SCOPE program. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 1998;30:205-214.
12. Pearson ML, O'Grady NP, Alexander M, Dellinger EP, Gerberding JL, Stephen O el. al. Heard. Guideline for prevention of intravascular device-related infections. *Am J Infect Control* 1996;24:262-93.
13. Cunha MLRS, Sinzato YK, Silveira LVA. Comparison of methods for the identification of coagulase-negative *Staphylococcus*. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2004; 99: 855-860.
14. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Pennsylvania, USA. CLSI document M02-A10. 2010;29:12
15. Edwards JR, Peterson KD, Andrus ML, Tolson JS, Goulding JS, Dudeck MA, et al. National Healthcare Safety Network (NHSN) report, data summary for 2006, issued June 2007. *American Journal of Infection Control.* 2007;35:290–301
16. Chien LY, Macnab Y, Aziz K, Andrews W, McMillan DD, Lee SK. Canadian Neonatal Network. Variations in central venous catheter-related infection risks among Canadian neonatal intensive care units. *Pediatr Infect Dis J.* 2002;21:505-11.
17. Cunha MLRS, Lopes CAM, Rugolo LMSS, Chalita LVAS. Significância clínica de estafilococos coagulase-negativa isolados de recém-nascidos. *J. Pediatr.* 2002;78:279-288.

18. Mahieu LM, De Dooy JJ, Lenaerts AE, Ieven MM, De Muynck AO. Catheter manipulations and the risk of catheter-associated bloodstream infection in neonatal intensive care unit patients. *J Hosp Infect* (2001) 48: 20-26.
19. Newman CD. Catheter-Related Bloodstream Infections in the Pediatric Intensive Care Unit. *Semin Pediatr Infect Dis* 2006;17:20-4.
20. Freeman J, Platt R, Epstein MF, Smith NE, Sidebottom DG, Goldmann DA. Birth weight and length of stay as determinants of nosocomial coagulase-negative staphylococcal bacteremia in neonatal intensive care unit populations: potential for confounding. *Am J Epidemiol* 1990;132: 1130-40.
21. Cordeiro DNG. Significância clínica da presença de staphylococcus coagulase-negativo isolados de recém-nascidos de uma unidade de terapia intensiva neonatal em Brasília-DF - Dissertação de Mestrado - Brasília – DF – 2007
22. Sader HS, Gales AC, Pfaller MA, Mendes RE, Zoccoli C, Barth A and Jones RN. Resistance patterns in Brazilian hospitals: summary of results from three years of the SENTRY antimicrobial surveillance program. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2001;4:200-214.
23. Haslett TM, Isenberg HD, Hilton E, Tucci V, Kay BG, Vellozzi EM. Microbiology of indwelling central intravascular catheters. *J Clin Microbiol* 1988;26:696-701.
24. Huebner J, Goldmann DA. Coagulase-negative staphylococci: role as pathogens. *Annu. Rev Med.* 1999;50:223-236.
25. Dennis G, Maki MD, Susan M, Stolz MS, Wheeler SRN And Mermel LA. Prevention of Central Venous Catheter-Related Bloodstream Infection by Use of an Antiseptic-Impregnated Catheter A Randomized, Controlled Trial; *Annals of Internal Medicine*. 127:4
26. DiGiovine B, Chenoweth C, Watts C and Higgins M, The attributable mortality and costs of primary nosocomial bloodstream infections in the intensive care unit. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999;160:976–981.
27. Higuera F, Rosenthal VD, Duarte P, Ruiz J, Franco G, Safdar N. The effect of process control on the incidence of central venous catheter-associated bloodstream infections and mortality in intensive care units in Mexico. *Critical Care Medicine*. 2005;33:2022–2027
28. Mermel L, Farr B, Sherertz R, Raad II, O’Grady N, Harris JS et al. Guidelines for the management of intravascular catheter-related infections. *Clin Infect Dis*. 2001;32:1249-72
29. Singhal AK, Mishra S, Bhatnagar S. Recent advances in management of intravascular catheter related infections. *Indian Journal of Medical & Paediatric Oncology*. 2005;26:31-40.
30. Slobbe L, Abdelilah el Barzouhi, Boersma E and Rijnders BJA. Comparison of the Roll Plate Method to the Sonication Method To Diagnose Catheter Colonization and Bacteremia in Patients with Long-Term Tunnelled Catheters: a Randomized Prospective Study. *Journal of Clinical Microbiology*. 2009;47:885-888.
31. BLOT F et al. Earlier positivity of central-venous versus peripheral-blood cultures is highly predictive of catheter-related sepsis. *Journal of Clinical Microbiology*. 1998;36:105-109.
32. Siegman-Ingra Y, Anglim AM, Shapiro DE, Adal KA, Strain BA, Farr BM. Diagnosis of vascular catheter-related bloodstream infection: a meta-analysis. *J Clin Microbiol* 1997; 35:928-36.