

SISBI/UFU



1000214365

MON
616.98:615.478
L435ae
Tese/tese

GERALDO SADOYAMA LEAL

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DE INFECÇÕES
RELACIONADAS A CATETERES VASCULARES
CENTRAIS EM PACIENTES CIRÚRGICOS
INTERNADOS NO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**

Tese apresentada ao curso de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas da Universidade Federal de Uberlândia para obtenção do grau de Doutor em Ciências (Imunologia e Parasitologia).

**Universidade Federal de Uberlândia
Uberlândia – MG
2003**

FICHA CATALOGRÁFICA

LEAL, Geraldo Sadoyama

**“ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DE INFECÇÕES
RELACIONADAS A CATETERES VASCULARES CENTRAIS EM
PACIENTES CIRÚRGICOS INTERNADOS NO HOSPITAL DE
CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA”**

Uberlândia, Curso de Pós-Graduação em Imunologia e
Parasitologia Aplicadas/UFU, 2003.

xiii , p 99.

Tese: Doutor em Ciências(Imunologia e Parasitologia)

1. Cateter vascular central
2. Fatores de Risco
3. *Staphylococcus aureus*
4. Infecção de Corrente Sanguínea

I-Universidade Federal de Uberlândia – PPIPA

II- Título

Trabalho realizado no laboratório de Microbiologia da área de Imunologia, Microbiologia e Parasitologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia, sob a orientação do Prof. Dr. Paulo Pinto Gontijo Filho.

A minha esposa Adriana,
As minhas filhas Lívia e Lorena,
A minha mãe Elisabeth,
Pelo carinho, amor, paciência,
Companheirismo e incentivo, tornando
Possível a realização deste projeto, serei
eternamente grato.

AGRADECIMENTOS

A Deus. Grandes foram às lutas e sempre esteve comigo. Muitas vezes, pensei que este momento nunca chegaria. Queria parar ou recuar; no entanto, tu estavas presente, e com tua ajuda venci. A emoção é forte.

Não cheguei ao fim, mas sim, ao início de uma longa caminhada. Obrigado, porque o senhor me ajudou.

A minha esposa Adriana que com seu amor, sacrifício e compreensão, apoiou-me e incentivou-me, também dedico mais esta vitória. Ah! E também pela revisão do português. Obrigado novamente!

As minhas filhas Lívia e Lorena que foram à fonte de minha força nos momentos mais difíceis.

A você Mãe, pelo seu carinho e dedicação, me animando sempre que possível.

Ao meu Orientador, Dr. Paulo Pinto Gontijo Filho, pela dedicação paternal dispensada em todas as etapas da realização deste trabalho e pelo exemplo de abnegação, paciência, profissionalismo e capacidade de produção demonstradas nestes vários anos de convivência.

Ao Prof. Dr. Diogo Augusto Filho por ter aberto as portas da Unidade de Clínica Cirúrgica II do HC-UFU, cuja colaboração foi fundamental na realização deste trabalho.

Às enfermeiras Lori Anísia e Maria Helena e todos os outros funcionários da Clínica Cirúrgica II pelo imprescindível apoio técnico.

A Profa. Dra. Kátia Regina pela orientação na realização das técnicas moleculares e a toda a equipe de seu laboratório pela convivência prazerosa durante a minha estadia na UFRJ.

A Coordenadora do Curso de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia pelo apoio administrativo.

Um agradecimento em especial ao Secretário João Martins Neto pela amizade inestimável, colaboração e esclarecimentos de ordem burocrática.

Aos colegas do laboratório de microbiologia, Prof. Geraldo Batista Melo, Profa. Daise Aparecida, Profa. Renata, Profa. Rosineide e Profa Denise pela amizade, companhia e solidariedade em todos os momentos.

Aos técnicos do laboratório de Microbiologia, Ricardo e Claudete, pelo apoio logístico e companheirismo durante os vários anos que permaneci neste laboratório.

Aos Funcionários e técnicos administrativos do laboratório de Microbiologia do HC-UFU na obtenção das amostras estudadas.

A todos que direta e indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

Página

Lista de Tabelas.....	ix
Lista de Figuras.....	x
Lista de Anexos.....	x
Lista de Abreviaturas.....	xi
Resumo.....	xii
Abstract.....	xiii
1. Introdução.....	01
2. Objetivos.....	12
3. Metodologia.....	13
3.1. Planejamento do Estudo.....	13
3.2. Técnicas Microbiológicas.....	13
3.2.1. Sítio de Inserção CVC.....	13
3.2.2. Ponta do CVC.....	13
3.2.2.1. Técnica Semi-quantitativa de Maki ou “Roll-plate”.....	14
3.2.2.2. Técnica do Vortexing.....	14
3.2.3. Hemoculturas.....	14
3.2.4. Identificação Bacteriana.....	15
3.2.5. Estocagem das amostras.....	15
3.3. Testes de Suscetibilidade aos Antimicrobianos.....	15
3.3.1. Teste de Triagem em Agar incorporado de oxacilina e NaCl	15
3.3.2. Técnica de Difusão em Agar	16

3.3.3. Determinação da Concentração Mínima Inibitória.....	16
3.4. Caracterização Molecular das Amostras.....	17
3.4.1. Eletroforese em Campo Pulsado.....	17
3.4.1.1. Extração do DNA genômico.....	17
3.4.1.2. Digestão com Endonuclease de Restrição.....	18
3.4.1.3. Eletroforese em Campo Pulsado.....	18
3.5. Termo de Consentimento.....	19
3.6. Análise estatística.....	19
4. Resultados.....	20
4.1. Trabalhos apresentados em eventos/Congressos.....	32
4.2. Trabalhos publicados em periódicos/revistas.....	35
4.3. Trabalho a ser enviado para publicação.....	48
5- Discussão.....	71
6- Conclusões.....	80
7- Referências.....	81
8- Anexo.....	99

LISTA DE TABELAS

	página
Tabela 01. Características epidemiológicas dos pacientes com CVCs internados no HC-UFU.....	20
Tabela 02. Análise quantitativa da colonização bacteriana no sítio de inserção do CVC.....	21
Tabela 03. Influência da presença ou ausência de curativo oclusivo na colonização bacteriana do sítio de inserção do CVC.....	21
Tabela 04. Relação entre a positividade da PC e a retirada clínica ou de rotina dos CVC.....	22
Tabela 05. Fatores de risco associados com colonização na ponta do CVC	23
Tabela 06. Fatores de risco independentes para colonização na ponta do CVC analisados por Regressão logística.....	24
Tabela 07. Fatores de risco associados com CVC inseridos na jugular e subclávia.....	25
Tabela 08. Fatores de risco independentes associados com CVC inseridos na jugular após a análise multivariada por regressão logística.....	25
Tabela 09. Características clínicas e fatores de risco associados com CR-BSI em pacientes cirúrgicos internados no HC-UFU.....	26
Tabela 10. Fatores de risco independentes associados com CR-BSI após a análise multivariada por regressão logística.....	26
Tabela 11. Comparação entre o Agar de triagem (6 µg/mL oxacilina), Teste E(MIC), e Difusão com disco (1 µg) na detecção de resistência a oxacilina.....	29
Tabela 12. Determinação do MIC através do Teste E para amostras de MRSA e MSSA isoladas de pacientes internado no HC-UFU.....	30
Tabela 13. Perfil de resistências aos antimicrobianos das amostras de MRSA e MSSA.....	31

LISTA DE FIGURAS

	página
Figura 01. Microrganismos encontrados no sítio de inserção, ponta do cateter e sangue.....	27
Figura 02. Amostras de MRSA e MSSA isoladas do Sítio de Inserção, Ponta do Cateter e Sangue	28
Figura 03. Amostras MRCoNS e MSCoNS isoladas do Sítio de Inserção, Ponta do Cateter e Sangue	29

LISTA DE ANEXOS

Anexo 01 – Instrumento para coleta de dados.....	99
---------------------------------------------------------	-----------

LISTA DE ABREVIATURAS

BGN= Bacilo Gram-negativo
BSI= Infecção de corrente sanguínea
CC II= Clínica Cirúrgica II
CVC= Cateter vascular central
CoNS= estafilococos coagulase-negativos
CR-BSI= Infecção de corrente sanguínea relacionada a cateteres
DIVs= dispositivos intravasculares
dp = Desvio padrão
HC-UFU = Hospital de Clínicas da universidade Federal de Uberlândia
IC = Intervalo de confiança
MIC = Concentração mínima inibitória
MRSA = *S. aureus* resistente a metilicina/oxacilina
MRCoNS= Estafilococos coagulase-negativos resistente a metilicina/oxacilina
MSSA = *S. aureus* suscetível a metilicina/oxacilina
MSCoNS= Estafilococos coagulase-negativos suscetível a metilicina/oxacilina
NC = Não calculado
NCCLS = "National Committee for Clinical Laboratory Standards"

NNISS = "National Nosocomial Infections Surveillance System"
NPT= nutrição parenteral total
OR = razões de chances
PBP = Proteínas ligadoras de penicilina
PCR = Reação em cadeia da polimerase
PFGE= "Pulsed Field Gel-electrophoresis"
PC= ponta do cateter
RR= Risco relativo
SI= sítio de inserção do cateter
UFC = Unidade formadora de colônia
UTI = Unidade de terapia intensiva

RESUMO

Foi realizado um estudo prospectivo observacional em 179 pacientes internados na Unidade de Clínica Cirúrgica II do HC-UFU no período de setembro/2000 a novembro/2002. A taxa de colonização das pontas de cateter foi de 21,2%. Os fatores de risco independentes associados com uma ponta de cateter positiva foram: colonização no SI ≥ 200 UFC/20cm² (p=0,01; OR=2,15), internação ≥ 14 dias (p=0,04; OR=1,97), cateterização ≥ 7 dias (p=0,038; OR=1,78). A inserção em veia jugular esteve associada aos pacientes mais graves com seguintes fatores de risco independentes: internação ≥ 14 dias (p=0,03; OR=2,37), cateterização ≥ 7 dias (P=0,01, OR=3,65) e uso de ≥ 3 dispositivos invasivos (p=0,04; OR=1,89). A análise de regressão logística para CR-BSI detectou os seguintes fatores de risco independentes: colonização pericater ≥ 200 UFC/20cm² (p<0,01; OR=6,89) e ponta do cateter com $\geq 10^2$ UFC (p<0,01; OR=7,95). Os CoNS foram mais isolados do sítio de inserção (50%) e ponta do cateter (60%), enquanto que o *S. aureus* foi mais encontrado no sangue (41%), seguido dos CoNS (38%) e BGN (17%). A taxa de CR-BSI por *S. aureus* foi de 4,9 episódios por 1000 cateter/dia. No total, a resistência a oxacilina foi observada em 43,7% das amostras de estafilococos estudadas. Vinte e uma amostras isoladas de múltiplo sítio (Sítio de inserção/Ponta do Cateter/Sangue) de nove pacientes foram tipadas por PFGE e Rep-PCR. Nove amostras de MRSA analisadas pelo PFGE pertenciam ao perfil clonal A (subclones A1, A2 e A3) e o Rep-PCR demonstrou dois clones diferentes (A e B). O PFGE identificou cinco grupos clonais diferentes (a1, a2, b,c,d,e) entre os MSSA enquanto o Rep-PCR apenas três (a,b,c). Podemos concluir que as CR-BSIs por *S. aureus* policlonal tiveram a pele pericater como fonte deste microrganismo.

ABSTRACT

A prospective observational study to investigate nontunneled central venous catheter over a 24-month (set-2000/nov-2002) period in 179 patients at the Clinical Surgical II Ward in the Uberlândia Federal University Hospital (HC-UFU) was carried out. The colonization rate of the catheter tips was of 21,2%. The independent risk factors associated with a colonization of the catheter tip was: colonization in the insertion site of CVC ≥ 200 UFC/20cm² (p=0,01; OR=2,15), hospital stay ≥ 14 days (p=0,04; OR=1,97), catheterization ≥ 7 days (p=0,038; OR=1,78). The insert in jugular vein was associated the most serious patients with following independent risk factors: internment ≥ 14 days (p=0,03; OR=2,37), catheterization ≥ 7 days (p=0,01; OR=3,65) and use of ≥ 3 invasive devices (p=0,04; OR=1,89). The analysis of regression logistics for CR-BSI detected the following independent risk factors: colonization pericatheter ≥ 200 UFC/20cm² (p<0,01; OR=6,89) and catheter tip with $\geq 10^2$ UFC (p <0,01; OR=7,95). CoNS was more isolated the skin insertion site (50%) and catheter tip (60%) and *Staphylococcus aureus* (48%) in the bloodstream followed by CoNS (38%) and BGN (17%). CR-BSI rate caused by *S. aureus* was 4,9 episodes per 1000 catheter/days. The resistance to the oxacillin was observed in 43,7% strains analysed. Nine patients presented the *S. aureus* simultaneously in two or three sites (CVC insertion site and/or catheter tip and/or blood) was analyzed by PFGE and Rep-PCR. Nine samples of MRSA belonged to the profile clonal A by PFGE (subclones A1, A2 and A3) and Rep-PCR demonstrated two different clones (A, B). PFGE patterns for MSSA distinguished five types (a,b,c,d and e) and Rep-PCR only three (a,b and c). We can conclude that CR-BSIs caused by polyclonal *S. aureus* had the skin pericatheter as source of this microorganism.

1. INTRODUÇÃO

O acesso vascular seguro é um dos fatores essenciais à prática médica moderna. Infelizmente, os dispositivos intravasculares (DIVs) são necessários para estabelecer este acesso confiável estão associados significativamente com a produção de uma doença iatrogênica, particularmente, bacteremia e candidemia (RAAD, 1998; MERMEL, 2000). Mais de 250.000 infecções de corrente sanguínea (ICS), relacionadas à presença de DIVs ocorrem nos EUA por ano, associadas com taxas de mortalidade atribuída de 12-25%, prolongando, assim, a permanência hospitalar e adicionando custos ao tratamento da ordem de \$33.000-35.000/paciente (PITET, TARARA, WENZEL, 1993; DIGIOVINE et al, 1999).

Entre os DIVs, destaca-se o uso de cateteres vasculares centrais (CVCs) que, freqüentemente, é acompanhado por uma variedade de complicações locais e sistêmicas incluindo: tromboflebitis sépticas, endocardites, infecções metastáticas e bacteremia (FRATINO, et al, 2001). As bacteremias associadas a CVCs e outros dispositivos invasivos são classificadas como primárias, quando o microrganismo isolado da cultura de sangue não está relacionado à infecção em outro sítio; quando isto ocorre a infecção é classificada como bacteremia secundária (GARNER et al., 1998). As BSI ocorrem em, aproximadamente, 14% dos pacientes com diagnóstico de infecção hospitalar pelo sistema NNIS, sendo que as UTIs são unidades que apresentam ser uma área de alto risco para todos os tipos de infecções hospitalares, particularmente ICS. Em UTIs, as BSI correspondem a 17% de todas as infecções nosocomiais (NNIS, 2001). Estima-se que mais de 80% das infecções de corrente sanguínea relacionadas a cateteres

(CR-BSIs) estão associadas aos CVCs, embora estes cateteres representem apenas uma pequena porcentagem do número total de cateteres vasculares. As CR-BSIs causam substancial morbidade, mortalidade, aumentam o tempo e elevam os custos da internação (MAKI, 1998). No cenário hospitalar estas infecções são um problema, que merecem vigilância epidemiológica pelas razões anteriormente expostas. O maior problema na implementação de um sistema de monitoramento destas infecções é a dificuldade no seu diagnóstico. Há problemas quanto aos critérios clínicos e microbiológicos usualmente utilizados na sua definição, com o diagnóstico clínico sendo pouco sensível e muito específico. A presença de eritema no sítio de inserção não é um indicador confiável na detecção de infecção relacionada ao CVC, enquanto que a purulência local pode ser uma evidência inequívoca deste tipo de infecção (PEARSON, 1996). Os critérios microbiológicos deste tipo de infecção incluem: hemocultura positiva, pelo menos duas hemoculturas positivas de sangue coletado de sítios diferentes quando se trata Estafilococos Coagulase Negativos (CoNS), isolamento de >30 UFC/mL quando de hemocultura quantitativa, hemocultura positiva dentro de 24/48 horas da coleta de sangue; infecção no sítio de inserção do CVC (REIMER, WILSON, WEINSTEIN, 1997; HERWALDT et al., 1996).

As culturas quantitativas de ponta de cateter apresentam uma maior especificidade no diagnóstico destas infecções, sendo que a técnica desenvolvida por Maki (1977) ou do "roll-plate" é a mais utilizada. O seu valor preditivo positivo aumenta com o tempo de duração da cateterização de aproximadamente 10% com uma duração média 3 a 5 dias, para 75% quando de uma permanência média de 24 dias (STIGES-SERRA, LINARES, 1988; WIDMER, 1997). Outros métodos

de cultura quantitativa utilizada para o cateter envolvem a irrigação com caldo (CLERI, CORRADO, SELIGMAN, 1980), "vortexing" (BRUN-BUISSON *et al.*, 1987) ou sonificação (SHERETZ *et al.*, 1990), que detectam a presença de microrganismos não só na superfície externa quanto no lúmen do cateter, apresentando assim uma maior sensibilidade.

O diagnóstico de uma CR-BSI é difícil e a utilização de sinais clínicos como flebite, febre, eritema, demonstram pobre correlação no diagnóstico de uma CR-BSI. Além disto, muitos pacientes com CR-BSI não apresentam nenhum sinal local de infecção (SHERETZ, 1996). A confirmação do diagnóstico de CR-BSI, usualmente, depende de culturas microbiológicas. Os métodos microbiológicos para diagnóstico de infecção relacionada à presença de um CVC, como mencionado acima, na maioria das vezes, necessita a remoção do mesmo. KITE *et al* (1999) desenvolveram um teste rápido e barato para diagnosticar infecções relacionadas ao CVC sem necessitar a retirada do mesmo, diminuindo assim, os riscos de uma nova reinserção do cateter. Blot *et al* (1998) sugeriram a utilização de hemoculturas de sangue pareadas no diagnóstico de infecções associadas aos CVCs com o sangue coletado transcateter, apresentando uma contagem de microrganismos >5 vezes acima daquela correspondente ao obtido por veia periférica, quando de infecções associadas a cateteres. A principal limitação desta técnica é que a maioria dos laboratórios de microbiologia não realizam hemoculturas quantitativas em função dos custos e do trabalho que as mesmas envolvem.

Uma outra técnica, de hemocultura pareada, onde amostras de sangue também, são obtidas transcateter e de veia periférica, simultaneamente, para uma

avaliação qualitativa, demonstrou que o crescimento da amostra obtida de sangue transcateter, por pelo menos, duas horas antes do que a amostra de sangue periférico é indicativo de uma CR-BSI, sendo esta técnica denominada de Tempo diferencial de positividade. Esta técnica é mais simples e, ao contrário das hemoculturas quantitativas, pode ser adotada por muitos laboratórios de microbiologia (Blout et al, 1999).

Entre os fatores de risco para infecções relacionadas aos CVCs estão: presença de cateter multilúmen, o sítio de inserção do cateter (jugular, subclávia, artéria pulmonar), hemodiálise, trombose relacionada ao cateter, presença do cateter por mais de quatro dias, dificuldade de inserção do cateter, tempo de permanência no hospital antes da inserção do cateter, colonização nasal por estafilococos resistentes a meticilina e a colonização do sítio de inserção (FREBOURG, 1999; VIOT, 2000; SADOYAMA, et al., 2001). Em relação ao último item há vários critérios, microbiológicos propostos, tais como: colonização com outros microrganismos que não CoNSs (RR=14,9), colonização com >50 UFC de CoNS ou >1UFC de outro microrganismo que não ECN (RR=6,4) e com >10³UFC (MAKI, 1998). Outros fatores de risco relacionados com uma predisposição de CR-BSI, incluem: inexperiência do profissional que insere o cateter (O'GRADY et al, 2002), limitada utilização de barreiras de precaução máxima na inserção do CVC(RAAD et al, 1994), relação da taxa de enfermeiras/pacientes (1:2,0)(ROBERT et al, 2000)

A patogênese das infecções relacionadas aos cateteres centrais é multifatorial e complexa. Embora os cateteres venosos e arteriais possam ser colonizados por via hematogênica, a partir de infecções em outros sítios,

translocação intestinal ou através da administração de fluidos (contaminação intrínseca), os dados disponíveis sugerem que a maioria das infecções por estafilococos resulta da migração destes microrganismos a partir do sítio de inserção na pele ou do canhão do cateter (CRUMP, COLLIGNOM, 2000). Como foi referido anteriormente, entre os fatores que predispõe as infecções relacionadas a CVCs, a colonização significativa da pele no sítio de inserção do CVC é um dos previsores de infecção mais precisos para todos os tipos de cateteres inseridos percutaneamente e de curta duração (MAKI, 1998). As evidências são de que a redução na colonização microbiana da pele ao redor do sítio de inserção do CVC resulta numa colonização reduzida da ponta do cateter, assim como de infecção relacionada ao mesmo (SCHIERHOLZ, 2000). Há dados demonstrando que a participação do canhão do cateter também é um importante fator na colonização intraluminal do mesmo, particularmente naqueles de longa duração (WILCOX et al. 1998). A importância relativa desse dois mecanismos de contaminação, sítio de inserção ou canhão do CVC, sugere que a duração da cateterização influencia qual dos dois mecanismos predomina, ou seja, nos implantados a mais de oito dias há uma associação com a contaminação do canhão enquanto a contaminação da pele é o mecanismo mais provável para aqueles com menos de sete dias implantados (RAAD et al., 1993).

De acordo com a casuística do sistema NNIS (National Nosocomial Infections Surveillance System Report – USA) patógenos mais associados à etiologia de CR-BSI no período de 1991-1999 foram: os Estafilococos coagulase – negativos (CoNSs) (37%) e *S. aureus* (13%), os Enterococos (13%) e *C. albicans* (8%) (NNIS, 2001).

Os CoNS são representantes da microbiota normal da pele e aderem facilmente à superfície polimérica dos CVCs (CHILLER, SELKIN, MURAKAWA, 2001). A adesão de *Staphylococcus epidermidis*, o principal CoNS causador de infecção hospitalar, aos CVCs, pela ordem incluem: forças eletrostáticas, caráter hidrofóbico decorrente de proteínas da parede celular, presença de um glicocálix de natureza polissacarídica, que interfere com a fagocitose e com a terapia antimicrobiana (DAROUICHE, 2001). A importância da colonização inicial do cateter devido a produção de uma autolisina (AtlE) e de uma adesina intercelular polissacarídica (PIA) na formação do biofilme na patogênese do *Staphylococcus epidermidis* em CR-BSIs está documentada (RUPP et al.,2001).

A participação de proteínas do plasma, como o fibrinogênio e a fibronectina, e de proteínas da matriz extracelular na formação do biofilme que recobre o cateter logo após a sua inserção, facilitam a adesão do *S. aureus* a estas proteínas através de adesinas de superfície chamadas de MSCRAMMs (Componentes de adesão da superfície microbiana que reconhecem moléculas da matrix extracelular). Esta interação facilita a colonização do cateter e posterior infecção por estes microrganismos (VAUDAUX et al, 1993; VAUDAUX et al, 1995).

De uma maneira geral, microrganismos que se fixam a superfícies e desenvolvem biofilme têm importância na etiopatogenia de CR-BSI. Variáveis importantes na fixação celular e formação de biofilme na superfície de dispositivos intravasculares dependem não só das propriedades dos microrganismos, tais como, superfície celular hidrofóbica, presença de fímbrias, flagelos e substâncias poliméricas extracelulares, mas também de propriedades dos dispositivos intravasculares (hidrofobicidade do material, textura e composição). Além de

microrganismos importantes como CoNs e *S. aureus*, outros microrganismos também estão comumente associados com formação de biofilme em dispositivos intravasculares e são causadores de CR-BSI, como: *Candida albicans*, *Enterococcus spp.*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa* (DONLAN, 2002).

O isolamento do agente causador de uma CR-BSI é crucial, visto que as medidas a serem tomadas no manejo clínico destas infecções variam de acordo com o microrganismo (cocos Gram-positivos, bacilos Gram-negativos, *Candida*) (HODGE, PUNTIS, 2002). Por exemplo, a questão da remoção do cateter depende de uma série de fatores concernente ao paciente, patógeno e ao próprio cateter. Se a infecção é causada por CoNS o tratamento da infecção pode ser realizado, muitas vezes, sem a remoção do mesmo (RUBBIN, 1999). Quando a infecção é causada por *S. aureus* a remoção do cateter é recomendada (Peacock, 1999).

Um outro argumento importante para uma rigorosa pesquisa do agente etiológico de uma CR-BSI é o problema de resistência aos antimicrobianos, visto que, muitos destes são resistentes aos antimicrobianos utilizados na clínica médica (RAAD, 1998). A frequência de CoNS e *S. aureus* resistentes à oxacilina, enterococos resistentes à vancomicina, BGNs resistentes aos beta-lactâmicos e *Candida* resistentes ao fluconazol vêm aumentando nos últimos anos (REX, RINALD, PFALLER, 1995; REACHER et al, 2000; HUANG et al, 2002)

Nos MRSA (*Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina) e MRCoNS (*Staphylococcus coagulase negativos* resistentes a meticilina) a resistência é resultado de genes cromossômicos que codificam proteínas ligadoras de

penicilinas (PBPs), com pequena afinidade pelos beta-lactâmicos, também denominadas de PBP2'ou PBP2a (CHAMBERS, 1997). Menos freqüentemente, os estafilococos podem apresentar um nível baixo de resistência a oxacilina devido à produção de uma PBP estruturalmente modificada ou pela superprodução de beta-lactamases que inativam estes antibióticos. Deve-se notar que os ORSA são, igualmente, resistentes as cefalosporinas, embora possam haver, e são também resistentes ao imipenem e outros carbapenemas. Frequentemente, os ORSA mostram-se também resistentes a macrolídeos, aminoglicosídeos, tetraciclina, quinolonas, eritromicina, mupirocina, rifampicina,... (SWENSON, HINDLER, PETERSON, 1999).

No Brasil, na atualidade, os estafilococos, tanto o *S. aureus* como o *S. epidermidis*, mostram-se resistentes à penicilina G, ampicilina e amoxicilina em mais de 70% das cepas isoladas, seja em ambiente hospitalar ou na comunidade, não sendo mais indicado o uso destes antimicrobianos para o tratamento de infecções estafilocócicas. Além disto, estes microrganismos vem mostrando elevado índice de resistência a oxacilina no meio hospitalar no Brasil. Relatos de hospitais em diferentes regiões brasileiras encontraram acima de 30% de *S. aureus* resistentes a oxacilina entre os isolados analisados (TEIXEIRA et al, 1995; SILVA NETO et al, 1999; SADOYAMA, 2000).

Infecções graves, causadas por estafilococos, como as CR-BSIs, devem ser tratadas com antibióticos apropriados, preferencialmente beta-lactâmicos, mas no caso de isolamento de amostras de MRSA ou MRCoNS, a terapêutica limita-se aos antimicrobianos do grupo dos glicopeptídeos, vancomicina e teicoplanina (LIVERMORE, 2000). Recentemente novos agentes antimicrobianos, como

alternativa terapêutica, para o tratamento de infecções causadas por cocos Gram-positivos foram introduzidos na prática médica: uma nova estreptogramina (quinupristina/dalfopristina) e a oxazolidinona (linezolida) (LAMB, FIGGITT, FAULDS, 1999; DIEKEMA, JONES, 2000).

A ocorrência cada vez mais comum de amostras de *S. aureus* e CoNS com resistência a oxacilina resultou em aumento no consumo de vancomicina, particularmente na sua utilização empírica em sepse e em outras infecções hospitalares (COUTO et al., 1999), e no aparecimento de amostras destes microrganismos com susceptibilidade reduzida\intermediária aos glicopeptídeos (vancomicina e teicoplanina (HIRAMATSU et al., 1997; KAYE et al., 2000; TENOVER, 2001). Em junho de 2002, o primeiro isolado de VRSA (CIM = 128 µg/mL para vancomicina), foi obtido a partir do sítio de inserção do CVC. Este isolado apresentava o gene *vanA* que é responsável pela resistência a vancomicina nos enterococos e até então este gene não tinha sido encontrado em nenhuma amostra de *S. aureus*. Este é o primeiro relato que descreve o isolamento de uma amostra clínica de *S. aureus* com alto nível de resistência a vancomicina (CDC, 2002a).

O melhor conhecimento da epidemiologia das infecções associadas aos CVCs bem como, a instituição de medidas de prevenção e controle incluem a análise das amostras através de técnicas de epidemiologia molecular, adicionalmente à caracterização fenotípica clássica, na qual inclui-se a verificação da susceptibilidade aos antimicrobianos (SLOOS, 2000). Como comentado anteriormente, técnicas clássicas de tipagem epidemiológica de cepas de

estafilococos resistentes a oxacilina, como antibiograma e fagotipagem têm sido utilizados para diferenciar as amostras hospitalares, entretanto, elas apresentam pouco poder discriminatório, limitando o seu uso (SANTOS FILHO *et al.* 1995).

Nos estudos de epidemiologia hospitalar das infecções por MRSA as técnicas moleculares mais recomendadas incluem principalmente a reação em cadeia da polimerase (PCR) e eletroforese em campo pulsado (PFGE), após a restrição do DNA cromossômico com enzimas específicas, este considerado atualmente o método molecular mais discriminatório para as bactérias gram-positivas mais importantes, particularmente para o *S. aureus* (TENOVER, 1994). A reação em cadeia da polimerase com "primers" arbitrários (AP-PCR) é uma técnica alternativa de PCR que apresenta bons resultados na tipagem de *S. aureus*, mas não é recomendada para a análise de amostras de CoNSs (TENOVER *et al.*, 1997; SLOOS *et al.* 2000). Uma outra técnica que vem apresentando bons resultados na tipagem molecular de amostras de MRSA/MSSA é o Rep-PCR (repetitive-element PCR) que tem demonstrado boa reprodutibilidade e poder discriminatório (OLIVE, BEAN, 1999; DEPLANO *et al.*, 2000).

Diferenças fenotípicas têm sido observadas em amostras isoladas de cateteres colonizados/infectados e posteriormente no sangue. Entretanto, para se analisar a significância desta heterogeneidade morfológica observada nestas populações bacterianas é necessário fazer uma análise molecular destas amostras a fim de se determinar se estas amostras são relacionadas (mesma cepa) ou não (cepas diferentes) (RELMAN, FALKOW, 1999; SHARMA *et al.*, 2001).

Recentemente o “Centers for Diseases Control and Prevention” (CDC, 2002b) publicou um documento com Normas para prevenção de CR-BSI, cujas medidas recomendadas foram categorizadas resumidamente em:

- a) Medidas gerais: realização de programas educacionais e estudos de vigilância.
- b) No momento da inserção do CVC: técnica asséptica, equipe de inserção experiente e anti-sepsia do sítio de inserção, preferência pela inserção em veia subclávia, realização do curativo oclusivo.
- c) Manutenção do acesso vascular: remoção do CVC quando não mais necessário, monitoramento do sítio de inserção, troca de curativos oclusivos,...

Considerando a importância da CR-BSIs entre as infecções hospitalares e a falta de dados sobre a etiopatogenia destas infecções no Brasil, faz-se necessário uma melhor compreensão da epidemiologia destas infecções para medidas de controle efetivas possam ser implementadas, ajudando assim a diminuir a incidência destas infecções no ambiente hospitalar.

2. OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

- Conhecer a etiopatogenia dos episódios infecciosos de bacteremias primárias causadas por *Staphylococcus aureus* e os fatores de risco associados a este tipo de infecção em pacientes cirúrgicos submetidos a cateterização venosa central no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o impacto da colonização no sítio de inserção e da ponta do CVC na etiologia de bacteremias primárias em pacientes cirúrgicos no HC-UFU;
- Analisar os fatores de risco associados com infecções relacionadas a inserção de CVCs em veia jugular e subclávia;
- Detectar a prevalência de amostras de estafilococos a oxacilina isolados de múltiplos sítios relacionados aos CVCs.
- Avaliar a diversidade genômica das amostras de estafilococos (*S. aureus*) isoladas de múltiplos sítios, através das técnicas de rep-PCR e de eletroforese em campo pulsado (PFGE).

CASUÍSTICA E METODOLOGIA

3.1. Planejamento do Estudo

Foi realizado um estudo prospectivo observacional, através de um sistema de busca ativa baseada na demanda espontânea do hospital, sendo realizado na Unidade de Clínica Cirúrgica II (CCII) do HC-UFU. Todos os pacientes com cateteres vasculares centrais inseridos em veia jugular e subclávia foram acompanhados diariamente desde a sua entrada até a sua alta.

Uma ficha com dados demográficos, fatores de risco intrínsecos e extrínsecos, foi preenchida para cada um dos pacientes (Anexo 1).

3.2. Técnicas Microbiológicas

3.2.1. Sítio de Inserção CVC

A coleta do material de pele no sítio de inserção do cateter vascular central foi realizada com "swab" pré-umidificado em PBS, sendo feitas duas coletas, uma por ocasião da inserção do cateter e outra após 5-7 dias. O swabe foi colocado em um tubo com 1 mL de PBS + 0,1% de tiosulfato de sódio agitado no vortex, e cerca de 0,1 mL do líquido foi inoculado em placas de Agar Sangue e Manitol Salgado. A cultura de pele foi considerada positiva quando havia um crescimento de ≥ 200 UFC/20 cm² de camada córnea (MAKI, 1991).

3.2.2. Ponta do CVC

Os cateteres foram removidos em condições assépticas. As pontas dos cateteres foram cortadas com tesoura estéril e transportadas para o laboratório em tubos contendo 10mL de PBS + 0,1% de tween 80 (somente para pontas de cateter processadas pela técnica quantitativa).

3.2.2.1. Técnica Semi-quantitativa de Maki ou “Roll-plate”

Após a remoção do cateter, um segmento de 5cm do cateter foi utilizado para o cultivo. No laboratório de microbiologia do HC-UFU, o segmento do cateter foi transferido para a superfície de uma placa de Agar Sangue para a cultura semi-quantitativa. O segmento do cateter foi rolado de quatro a cinco vezes sobre a superfície da placa e esta foi incubada a 37^oC por 24 horas. Todas as colônias que aparecerem nas placas serão enumeradas e identificadas.

O crescimento de ≥ 15 colônias na placa é indicativo de infecção sendo considerada como uma cultura semi-quantitativa positiva (MAKI, WEISE, SARAFIN, 1977).

3.2.2.2. Técnica do Vortexing

As culturas das pontas de cateter também foram realizadas quantitativamente, usando a técnica de Brun-Buisson et al (1987) ou Vortexing com pequenas modificações: um segmento de aproximadamente 5 cm da ponta de cateter foi colocada em um tubo contendo 10mL de PBS + 0,1% de tween 80 e agitado em vortex por 1 minuto; 0,1 mL do líquido foi inoculado em placas de Agar Sangue, McConkey e Manitol Salgado e incubadas a 37^oC por 24 horas, para se determinar o número de UFCs.

As culturas foram consideradas positivas se $\geq 10^2$ UFC/mL eram isoladas.

3.2.3. Hemoculturas

Os espécimes de sangue foram obtidos a partir de punção periférica. As hemoculturas foram realizadas inoculando-se 5-10 mL de sangue em um frasco do sistema comercial automatizado Bactec/Alert® (Vitek System). Os

espécimes positivos foram subcultivados em Agar MacConkey, Agar Sangue e Agar Chocolate. As placas foram incubadas a 37^oC por 24-48 horas.

3.2.4. Identificação Bacteriana

Os espécimes clínicos obtidos a partir da pele no sítio de inserção e da ponta do cateter vascular central foram identificados por técnicas tradicionais, sendo separados inicialmente em bacilos Gram-negativos, bacilos gram-positivos, cocos Gram-positivos e formas leveduriformes, através de suas características morfo-tintoriais. Os cocos Gram-positivos foram submetidos a testes complementares como: oxidase, catalase, crescimento em NaCl (7,5%), coagulase, fermentação do manitol e DNase, para a identificação dos *S. aureus*, *Staphylococcus* coagulase negativos (CoNS) e outros cocos Gram-positivos.

Os espécimes clínicos de sangue foram obtidos, já identificados, do laboratório de microbiologia do HC-UFU.

3.2.5. Estocagem das amostras

Todas as amostras de estafilococos identificadas foram estocadas em caldo tripticaseína soja (TSB) com 20% de glicerol à -20^oC.

3.3. Testes de Suscetibilidade aos Antimicrobianos

3.3.1. Teste de Triagem em Agar incorporado de oxacilina e NaCl

Todas as amostras de estafilococos foram submetidas ao cultivo em Agar Mueller-Hinton com 6 µg/mL de oxacilina e 4% de NaCl para a detecção de amostras resistentes a oxacilina de acordo com o NCCLS (1997b). Foi inoculado um volume de 5 µL (5.10⁵ UFC/mL) com o auxílio de um replicador de Steers, sendo que cada placa foi utilizada para testar 19 amostras e o controle (*Staphylococcus aureus* - ATCC 29213).

A leitura foi realizada após 24h (*S. aureus*) e 48H (ECNs) de incubação a 35°C. O crescimento de uma única colônia no meio de cultura era considerada como uma prova positiva de resistência para a oxacilina.

3.3.2. Técnica de Difusão em Agar

As amostras foram cultivadas em caldo TSB a 37°C por 24 horas e diluídas em solução salina até atingir turvação correspondente ao tubo 0,5 da escala MacFarland ($1-2 \cdot 10^8$ UFC/mL) e semeadas com swab na superfície do meio (NCCLS, 1997a). Foram utilizados os seguintes discos de antimicrobianos: rifampicina, clindamicina, cefalotina, tetraciclina, sulfametoxazol-trimetoprima, ampicilina, ciprofloxacina, gentamicina, vancomicina, cloranfenicol, imipenem, eritromicina, oxacilina(DME-Brasil), linezolida e dalfopristina-quinopristina(OXOID-Brasil). A suscetibilidade foi verificada após 18 horas de incubação a 35°C através da determinação do diâmetro do halo de inibição formado.

Foi utilizada como controle para o teste de suscetibilidade a amostra padrão de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

3.3.3. Determinação da Concentração Mínima Inibitória

As amostras de estafilococos congeladas foram subcultivadas em Agar TSA e posteriormente 1 a 3 colônias foram diluídas em salina estéril, se necessário, as amostras eram diluídas até atingirem a escala 0,5 de MacFarland(NCCLS, 1997b). Placas de Agar Mueller-Hinton foram inoculadas com o auxílio de um swab e as fitas de E-teste contendo oxacilina (0,01-128µg) foram depositadas na superfície do Agar e as placas incubadas a 35°C por 24 horas.

As amostras que apresentaram uma concentração mínima inibitória (CMI) ≥ 4 µg/mL de oxacilina foram consideradas como resistentes.

Foi utilizada como controle para o teste E a amostra de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.

3.4.Caracterização Molecular das Amostras

3.4.1. Eletroforese em campo pulsado

3.4.1.1. Extração do DNA genômico

O DNA genômico foi preparado em blocos de agarose usando como base o método proposto por Jorgensen (1993) com modificações: foram transferidas cinco colônias, a partir do crescimento em placa (48-72 hs) para tubos contendo 5mL de TSB (TSB/Difco) e incubadas a 37°C durante 5 horas com agitação constante, de modo a atingirem sua fase exponencial de crescimento. As células foram centrifugadas por 5 minutos a 3000 rpm, o sobrenadante foi retirado e as células foram ressuspensas em 250µL de tampão PIV (NaCl 1M em Tris-HCl 10mM – pH 7.6). Logo após, foram adicionados 250 µL de agarose “low melting point” a 2% (feita em PIV e mantida a 58°C. Após, isto a agarose distribuída em pequenos moldes e mantida a 4°C por cerca de 10 minutos. Após a solidificação os plugs foram colocados em tubos Falcon contendo 2 mL de solução de lise EC, adicionada de 100µL de solução de lisostafina (1mg/mL – concentração final de 50µg/mL) e 100 µL de solução de lisozima (10 mg/mL – concentração final de 0,5 mg/mL). Os tubos foram incubados “overnight” a 37°C sob leve agitação. Após a incubação, os tubos foram resfriados a 4°C e a solução de lise foi retirada cuidadosamente com pipetas Pasteur estéreis, sendo em seguida adicionada 2 mL de solução ESP (EDTA + Sarcosil + PTNase K) contendo 10µL de solução de proteinase K (20mg/mL – concentração final 0,1mg/mL) em cada tubo que foi incubado “overnight” a 50°C sob agitação. Os blocos de agarose foram lavados quatro vezes em tampão TE e incubados a 37°C. A última lavagem deve ser “overnight” eliminar resíduos celulares e interromper a atividade da proteinase foram armazenados em temperatura de refrigeração (5°C), nessa solução, até serem submetidos à digestão enzimática e eletroforese.

3.4.1.2. Digestão com Endonuclease de Restrição

Para realizar a digestão com enzima de restrição, um plug foi incubado "overnight" com tampão de restrição contendo 20 U da enzima *SmaI* (New England Biolabs, Beverly, USA), de acordo com as orientações do fabricante.

3.4.1.3. Eletroforese em Campo Pulsante

Os blocos contendo o DNA digerido foram então inseridos em um gel de agarose (Seakern GTG, FMC Bioproducts, USA) a 1% (p/v) e os fragmentos de restrição separados usando a técnica de PFGE através do sistema "Contour Clamped Homogeneous Electric Field"(CHEF DRIII, Bio Rad Laboratoires, Richmond, CA, USA). A eletroforese foi realizada em 0,5 x TBE pH 8,4, com intervalos de pulso elétrico ("switch time") de 2-35s (significando que no início da eletroforese a direção da corrente alternava a cada 2 segundos aumentando progressivamente até atingir 35 segundos), temperatura de 13°C e uma corrente elétrica de 200V (6V/cm), durante 21 horas. Foi utilizado o lambda ladder(BioRad) como marcador de peso molecular. Após esse procedimento o gel foi corado com brometo de etídio (1 µg/mL) por uma hora descorado em água destilada, visualizado em um transiluminador sob iluminação UV (254-360nm) e fotografado com filme Polaroid.

Diferenças entre os isolados foram determinadas visualmente comprando o padrão de bandas. Os isolados foram considerados relacionados quando eles não diferiam em mais do que três bandas; possivelmente relacionados quando diferiam por quatro a seis bandas; e não relacionados se diferiam em mais do que seis bandas(Tenover, 1995). O coeficiente de similaridade foi calculado utilizando a fórmula de Dice, $S_d = 2a/(2a+u)$, sendo que a é o número de bandas comuns e u é o número de bandas únicas em cada padrão de bandas. O dendrograma de similaridade foi construído através da análise UPGMA (unweighted pair group method) (Statistica, version 6.0, 2001).

3.5. Termo de Consentimento

O paciente e/ou seu responsável foram esclarecidos sobre o estudo e a coleta do material só foi realizada se o paciente ou o seu responsável concordaram em participar do estudo. A presente investigação teve o seu projeto submetido e aprovado pela Comissão de Ética do HC-UFU.

3.6. Análise estatística

A análise estatística dos fatores de risco para infecção e dos resultados microbiológicos foram realizados utilizando-se o teste do χ^2 para comparação entre os valores percentuais (variáveis qualitativas) e quando o n for maior que 5 e o teste exato de Fisher quando o n for igual ou menor que cinco. Os aspectos descritos anteriormente (fatores de risco e resultados microbiológicos) foram comparados individualmente versus uma variável resposta (análise univariada) através de tabelas de contingência do tipo dois por dois (2 x 2). Para se evitar o enlear, que muitas vezes surge como uma consequência da própria análise univariada, este foi reajustado através da estratificação que é a estimação de medidas de associação (*odds ratio*) para cada uma das categorias da variável do enlear. As variáveis que demonstrarem medidas de associação (*odds ratio*) altas foram submetidas à análise multivariada através de modelo de regressão logística. O teste *t* de Student será utilizado para comparar médias (variáveis quantitativas). A significância estatística foi definida por um valor de p menor que 0,05. A análise das variáveis foi realizada utilizando-se os programas estatísticos SPSS PC versão 11.0 (SPSS, Chicago) e o Epi Info Software versão 2000 (CDC, Atlanta).

4. RESULTADOS

Dos 198 pacientes que apresentavam um cateter vascular central inserido em veia jugular (n=84) e subclávia (n=114), 19 deles foram excluídos da análise epidemiológica, devido às pontas de cateteres não terem sido recuperadas, transferência para outra unidade ou alta hospitalar, portanto foram incluídos neste estudo 179 pacientes cujas características epidemiológicas encontram-se na tabela 01.

Tabela 01. Características epidemiológicas dos pacientes com cateteres vasculares centrais internados no HC-UFU.

CARACTERÍSTICAS	Pacientes n=179
Sexo	
Masculino	93 (52%)
Feminino	86 (48%)
Cateter	
Jugular	75(41,9%)
Subclávia	104 (58,1%)
Nº de inserções	
01	173(96,7%)
≥02	06(3,3%)
Idade (média ±dp)	51 ± 16,9
Tempo de internação (média ± dp)	13,7 ±9,89
Tempo de Cateterização (média ± dp)	6,4 ± 7,9
CR-BSI por <i>S. aureus</i>	04 (2,2%)
Uso de outros Dispositivos invasivos	168(93,8%)
Mortalidade	12 (6,7%)

Quando da análise quantitativa, ou seja, determinação média do número de unidades formadoras de colônias por 20 cm² de pele no sítio de inserção entre as duas coletas, observamos uma maior carga microbiana na segunda coleta, porém não foi observada nenhuma diferença estatisticamente significativa entre as contagens totais em Agar Sangue (p=0,18) nem em Agar Manitol salgado (p=0,19) como podemos observar na tabela 02.

Tabela 02. Análise quantitativa da colonização bacteriana no sítio de inserção do cateter vascular central.

Meio de Cultura	Contagens de microrganismos (ufc/20cm ²)		
	1ª coleta N= 198	2ª coleta N=155	p
Agar sangue	968 ± 1070	1230 ± 1271	0,18
Manitol Salgado	628 ± 734	1060 ± 1128	0,19

A influência da presença de curativo oclusivo na contagem de microrganismos isolados no sítio de inserção pericatereter ficou evidenciado, com uma carga microbiana maior, nos pacientes em que este procedimento não foi realizado (Tabela 03).

Tabela 03. Influência da presença ou ausência de curativo oclusivo na colonização bacteriana do sítio de inserção do cateter vascular central.

Sítio de Inserção	AUSÊNCIA n=163(%)	PRESENÇA n= 16(%)	p; RR(IC)
≥ 200 UFC/20cm ²	67(41.1)	02 (12.5)	
< 200 UFC/20cm ²	96(58.9)	14(87.5)	0,025; 1,11(1,02-1,21)

A relação entre pacientes com ponta do CVC positivas ($\geq 10^2$ UFC/ 20 cm²) e motivo de sua retirada, indicou que quando , esta foi feita por indicação médica a chance da ponta do cateter estar colonizada era mais alta. Naqueles pacientes onde a retirada foi de rotina, na maioria (89,3%) deles, a ponta de cateter estava livre da presença de microrganismos (Tabela 04).

Tabela 04. Relação entre a positividade da ponta do cateter e a retirada clínica ou de rotina dos cateteres vasculares centrais

Ponta de Cateter	RETIRADA CLÍNICA n= 20	RETIRADA ROTINA n=159
Positiva (n = 38)	13(65)	25(15,7)
Negativa (n = 141)	07(35)	134(89,3)

$p < 0,001$; RR=6,89 (2,96-16,06)

A análise dos fatores de risco para uma colonização na ponta do cateter evidenciou as seguintes diferenças significativas entre os pacientes cateterizados: colonização no SI ≥ 200 CFU/20cm² ($p=0,008$; RR=2,27), Internação maior ou igual a sete e quatorze dias ($p=0,02$; RR=3,58 x $p=0,001$; RR=4,58), cateterização maior ou igual há sete dias ($p=0,001$), uso ≥ 3 antimicrobianos ($p=0,001$; RR=2,68), presença de febre ($p=0,008$; RR= 2,27) e eritema no sítio de inserção ($p=0,01$; RR=3,61) (Tabela 05).

A avaliação através de análise de regressão logística multivariada dos fatores de risco associados à contaminação da ponta do CVC, evidenciou como significativos, os seguintes: colonização no sítio de inserção do CVC com ≥ 200 CFU/20cm² ($p=0,012$; OR=2,15), internação maior ou igual há 14 dias ($p=0,047$;

OR=1,97), cateterização maior ou igual a sete ($p=0,038$; OR=1,78) e a presença de eritema ($p=0,022$; OR=2,24) (Tabela 06).

Tabela 05. Fatores de risco associados com a colonização na ponta do cateter vascular central.

Fatores de Risco	PC Positiva N=38	PC negativa N=141	p (RR)
Curativo	2	14	0,52(0,57)
SI ≥ 200 CFU/20cm ²	24	53	0,008(2,27)
Idade ≥ 60 anos	23	67	0,21(1,52)
Internação ≥ 7 dias	33	83	0,02(3,58)
≥ 14 dias	31	57	<0,01(4,58)
Cateterização ≥ 7 dias	38	65	<0.01(NC)
Uso de antimicrobianos	30	96	0,27(1,58)
≥ 3 antimicrobianos	15	20	0,001(2,68)
Uso de outros dispositivos invasivos	37	131	0,46(2,42)
≥ 3 dispositivos	14	60	0,65(0,83)
Hipoalbuminemia	14	58	0,77(0,87)
Febre	24	53	0,008(2,27)
Eritema	16	14	0,01(3,61)
Mortalidade	05	07	0,14(1,98)

Tabela 06. Fatores de risco independentes para colonização na ponta do CVC analisados por regressão logística.

Fatores de Risco	Valor p	OR	IC
Sítio de inserção ≥ 200 CFU/20cm ²	0,012	2,15	1,19-9,98
Internação ≥ 14 dias	0,047	1,97	1,02-8,45
Cateterização ≥ 7 dias	0,038	1,78	1,06-7,98
Eritema	0,022	2,14	2,01-13,61

As seguintes diferenças significativas foram observadas, quando da comparação entre os cateteres inseridos em jugular versus subclávia: internação maior ou igual há quatorze dias ($p=0,008$; RR=2,61), cateterização maior ou igual a sete e ($p=0,02$; RR=1,61) e presença de três ou mais dispositivos invasivos ($p=0,001$; RR=1,81) (tabela 07). Após a correção dos fatores de risco associados à inserção do CVC em veia jugular, os seguintes fatores independentes foram encontrados: internação igual ou maior que quatorze dias ($p=0,03$; OR=2,37; IC=1,33-19,75), cateterização ≥ 7 dias ($p=0,01$; OR=3,65; IC=1,27-7,89) e a presença de três ou mais dispositivos invasivos ($p=0,04$; OR=1,89, IC=1,06-9,65) (Tabela 08).

Na tabela 09 encontra-se a análise dos fatores de risco associados com CR-BSI. Podemos observar os seguintes fatores associados a CR-BSI: sítio de inserção ≥ 200 CFU/20cm² ($p=0,02$), ponta do CVC com $\geq 10^2$ UFC ($p=0,001$), presença de cateter multilúmen ($p=0,016$; RR=14,32). Após a realização da análise multivariada apenas a colonização no sítio de inserção ($p=0,03$; OR=6,89;

IC=2,42-21,90) e a colonização da ponta ($p=0,01$; OR=7,95; IC=1.95-19,60) constituíram fatores independentes para CR-BSI(Tabela 10).

Tabela 07. Fatores de risco associados com CVC inseridos na jugular e subclávia

Fatores de Risco	Jugular N=75	Subclávia N=104	p (RR)
SI ≥ 200 CFU/20cm ²	36	40	0,26(1,25)
Idade ≥ 60 anos	31	59	0,06(0,70)
Internação ≥ 7 dias	45	61	0,97(1,03)
≥ 14 dias	28	20	0,008(2,61)
Cateterização ≥ 7 dias	55	58	0,02(1,61)
NPT	25	27	0,36(1,22)
Uso de antimicrobianos	58	61	0,14(1,72)
≥ 3 antimicrobianos	17	18	0,48(1,21)
Uso de outros dispositivos invasivos	67	101	0,054(0,55)
≥ 3 dispositivos	42	32	0,001(1,81)
Hipoalbuminemia	32	30	0,08(1,40)

Tabela 08. Fatores de risco independentes associados com CVC inseridos na jugular após a análise multivariada por regressão logística

Fatores de Risco	p	OR	IC
Internação ≥ 14	0,03	2,37	1,33-19,75
Cateterização ≥ 14 dias	0,01	3,65	1,27-7,89
Uso de ≥ 3 Dispositivos	0,04	1,89	1,06-9,65

Tabela 09. Características clínicas e fatores de risco associados com CR-BSI em pacientes cirúrgicos internados no HC-UFU.

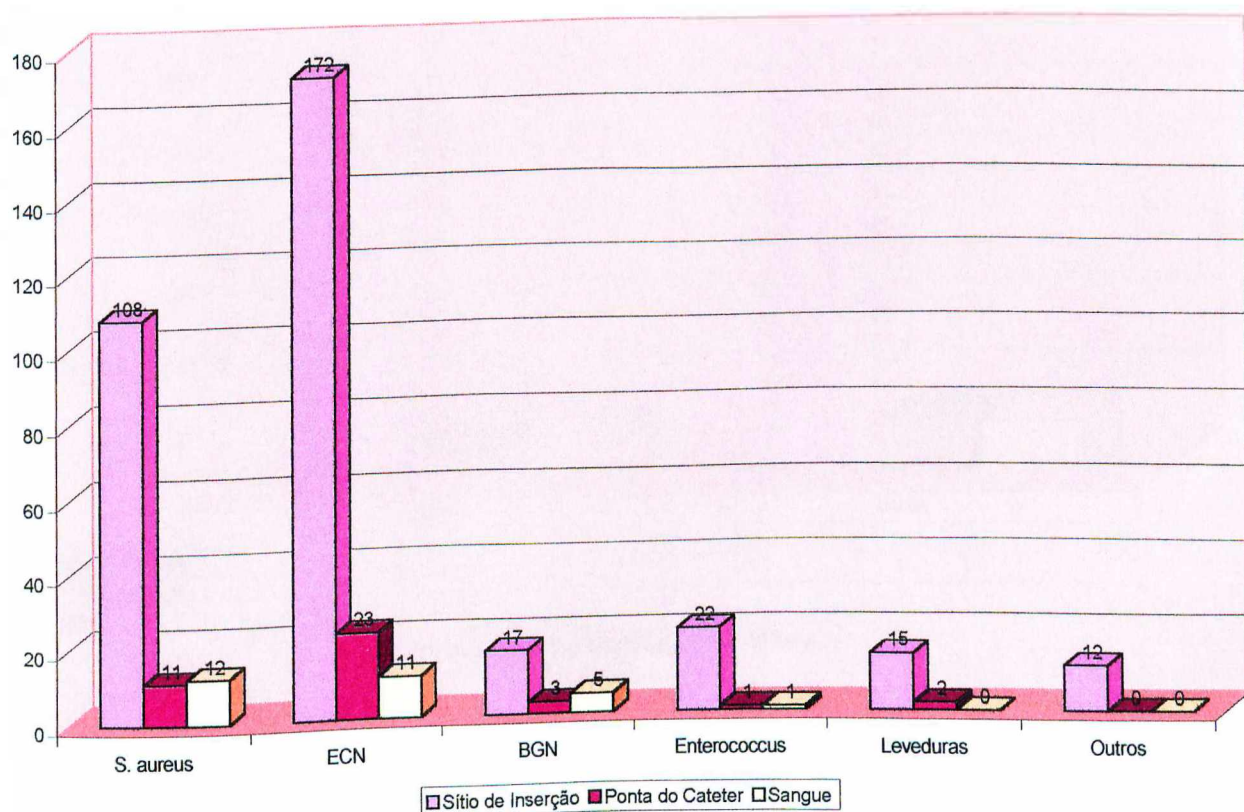
Fatores de Risco	CR-BSI		p (RR)
	Presença n=04	Ausência n= 175	
Curativo	0	16	1,0 (NC)
Sítio de inserção ≥ 200 CFU/20cm ²	4	65	0,02(NC)
Ponta do CVC $\geq 10^2$ UFC	4	34	0,001(NC)
Cateter multilúmen	3	28	0,016(14,32)
Idade ≥ 60 anos	1	89	0,36(0,33)
Internação ≥ 7 dias	4	109	0,29(NC)
≥ 14 dias	3	85	0,36(3,1)
Cateterização ≥ 7 dias	4	99	0,13(NC)
Uso de antimicrobianos	4	122	0,32(NC)
≥ 3 antimicrobianos	2	33	0,17(4,11)
Uso de outros dispositivos invasivos	4	164	1,0(NC)
≥ 3 dispositivos	3	71	0,30(4,26)
Hipoalbuminemia	4	68	0,02(NC)
Febre	4	73	0,03(NC)
Eritema	2	28	0,13(4,97)
Mortalidade	0	12	1,0(NC)

Tabela 10. Fatores de risco independentes associados com CR-BSI após a análise multivariada por regressão logística

Fatores de Risco	p	OR	IC
Sítio de inserção ≥ 200 CFU/20cm ²	0,03	6,89	2,42-21,90
Ponta do CVC $\geq 10^2$ UFC	0,01	7,95	1,95-19,60

Os microrganismos encontrados mais freqüentemente no SI, PC e sangue estão relacionados na figura 01. Como podemos observar os microrganismos mais freqüentes no SI foram os Estafilococos coagulase negativos (49,7%) e *S. aureus* (31,2%), seguido dos enterococos (6,4%), BGN (4,9%), Leveduras (4,3%). Na análise microbiológica das pontas de cateteres, notamos também, uma maior freqüência de Estafilococos coagulase negativos (60,5%) e *S. aureus* (28,9%), seguido pelos BGN(7,9%) e leveduras (5,3%). No sangue, ao contrário, do observado nestes dois sítios, a freqüência de isolados de *S. aureus*(41,4%) foi maior do que os estafilococos coagulase negativos (37,9%), seguido dos BGN (17,2%) e enterococos (3,5%). Não foi encontrado nenhum paciente com Candidemia nesta casuística.

Figura 01. Microrganismos encontrados no sítio de inserção, ponta do cateter e sangue



A presença de estafilococos resistentes a oxacilina (MRSA e MRCoNS) foi detectada em todos os três sítios estudados. O fenótipo MRSA foi responsável por 37,1% e 36,4% das colonizações no sítio de inserção e ponta do cateter respectivamente, e respondeu por 45,5% das BSIs causadas por *S. aureus* (Figura 02). Em relação aos estafilococos coagulase negativos a presença de MRCoNS nestes sítios, foi observada uma diminuição na frequência do fenótipo resistente, com frequências de 47,1% no sítio de inserção, 39,1% na ponta do cateter e 36,4% causando BSIs (figura 03).

Figura 02. Amostras de MRSA e MSSA isoladas do Sítio de Inserção, Ponta do Cateter e Sangue

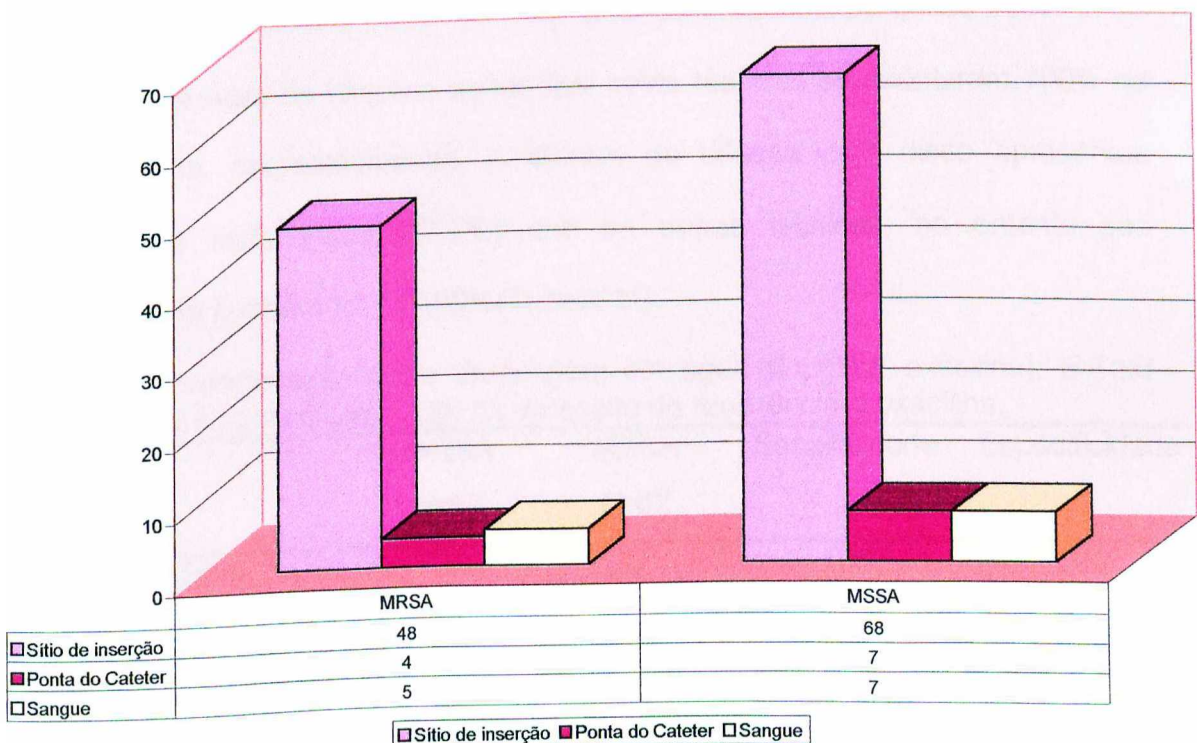
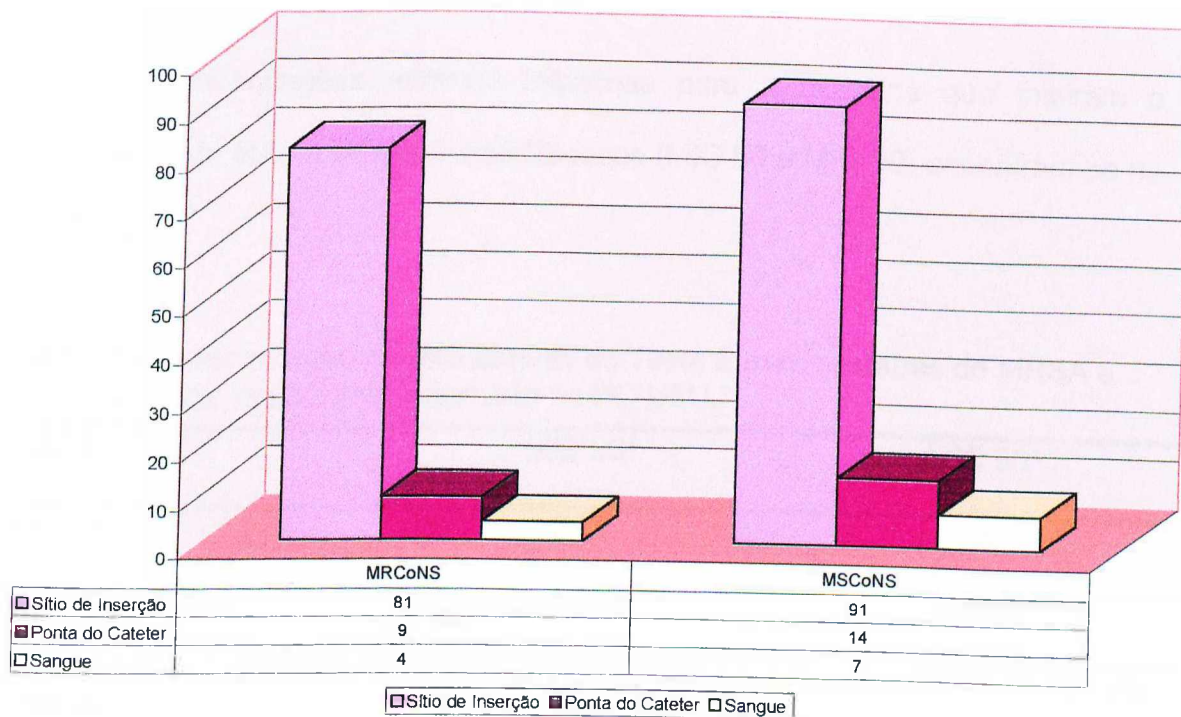


Figura 03. Amostras MRCoNS e MSCoNS isoladas do Sítio de Inserção, Ponta do Cateter e Sangue



Quando comparamos as três diferentes técnicas utilizadas na determinação da resistência a oxacilina podemos notar uma concordância de quase 100% entre o teste E e o Agar de triagem, sendo que estas técnicas apresentaram 100% de especificidade, respectivamente. A técnica de difusão com disco apresentou sensibilidade mais baixa (87,7%) que as outras técnicas, no entanto sua especificidade também foi de 100%(Tabela 11).

Tabela 11. Comparação entre de triagem em agar (6 µg/mL oxacilina), E-Test (MIC) e Difusão com disco (1 µg) na detecção de resistência a oxacilina.

Técnicas	MRSA n=57	MSSA n=82	Sensibilidade	Especificidade
Agar de Triagem	57	82	100	100
Teste E – MIC	56	82	98,2	100
Difusão com disco (1µg)	50	82	87,7	100

As concentrações mínimas inibitórias para a oxacilina que inibiram o crescimento de 50% e 90% dos Estafilococos (MIC 50 e MIC 90) encontram-se na tabela 12.

Tabela 12. Determinação do MIC através do Teste E para amostras de MRSA e MSSA isoladas de pacientes internado no HC-UFU.

AMOSTRAS	MIC 90 ¹	MIC 50 ²
MRSA	256	128
MSSA	0,25	0,19

¹Valor que inibiu o crescimento de 90% das amostras; ²Valor que inibiu o crescimento de 50% das amostras.

Entre os isolados de MRSA a multiresistência foi o padrão comumente observado, visto que, 100% das amostras foram resistentes a oito (ciprofloxacina, clindamicina, cloranfenicol, eritromicina, gentamicina, rifampicina, trimetoprima/sulfametoxazol, tetraciclina) dos quinze antimicrobianos testados. Entre as amostras de MSSA a resistência a ampicilina, eritromicina e ciprofloxacina foi mais expressiva. Todas as amostras de *S. aureus* (MRSA/MSSA) testadas foram suscetíveis a dalfopristina/quinupristina e linezolida, bem como a vancomicina e imipenem (Tabela 13).

Tabela 13. Perfil de resistências aos antimicrobianos das amostras de MRSA e MSSA

Antimicrobianos	MRSA n= 57	MSSA n=82	p
Ampicilina	94,7(54/57)	69,5 (57/82)	<0,001
Amoxicilina/Clavulanato	52,6 (30/57)	25,9 (21/82)	0,002
Cefalotina	77,2 (44/57)	25,6(21/82)	<0,001
Ciprofloxacina	100 (57/57)	50,0 (40/82)	<0,001
Clindamicina	100 (57/57)	2,4(2/82)	<0,001
Cloranfenicol	100(57/57)	12,2(10/82)	<0,001
Dalfopristina/Quinupristina	0 (0/57)	0(0/81)	1,0
Eritromicina	100(57/57)	50,0(41/82)	<0,001
Gentamicina	100(57/57)	3,6(3/82)	<0,001
Imipenem	0(0/57)	0(0/82)	1,0
Linezolida	0(0/25)	0(0/25)	1,0
Rifampicina	100(57/57)	8,5(7/82)	<0,001
Sulfametoxazol/Trimetoprima	100(57/57)	8,5(7/82)	<0,001
Tetraciclina	84,2(48/57)	12,2(10/82)	<0,001
Vancomicina	0(0/57)	0(0/82)	1,0

4.1. RESULTADOS PARCIALMENTE APRESENTADOS, NAS SEGUINTE PUBLICAÇÕES, RESULTANTES DA PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS CIENTÍFICOS:

SADOYAMA, G.; BRILHANTE, A. P.; NETTO DOS SANTOS, K.R.; , P.P. Caracterização Molecular de amostras de MRSA e MSSA isolados de pacientes com cateter vascular central por Rep-PCR e PFGE. XXII CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA. Florianópolis In; Anais do XXII Congresso Brasileiro de Microbiologia. Poster IH 052, CD ROM. 2003.

SADOYAMA, G.; BRILHANTE, A. P.; CSHUNKER, R.P.; MALVAR, K.L.; GONTIJO FILHO, P.P.; NETTO DOS SANTOS, K.R. Resistência a oxacilina entre amostras de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus coagulase* negativos isolados de múltiplos sítios relacionados a cateter venoso central. XXII CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA. Florianópolis. In; Anais do XXII Congresso Brasileiro de Microbiologia . Poster IH 026, CD ROM. 2003.

SADOYAMA, G.; GONTIJO FILHO, P.P. Colonizações do sítio de inserção (si) e da ponta do cateter (pc) vascular central (cvc) e sepse: experiência de 96 pacientes no HC-UFU. In: VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE CONTROLE DE INFECÇÃO E EPIDEMIOLOGIA HOSPITALAR, 2002, Curitiba. Anais do VIII Congresso Brasileiro de Controle de Infecção e Epidemiologia Hospitalar. CD ROM. 2002.

SADOYAMA, G.; BRILHANTE, A. P.; LORIO, N.L.P.; FERREIRA, R.B.R.; MALVAR, K.L.; KOKIS, V.M.; SILVA, M.G., GONTIJO FILHO, P.P.; NETTO DOS SANTOS, K.R. Caracterização molecular de amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de múltiplos sítios relacionados a cateter venoso central. In: VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE CONTROLE DE INFECÇÃO E EPIDEMIOLOGIA

HOSPITALAR, 2002, Curitiba. Anais do VIII Congresso Brasileiro de Controle de Infecção e Epidemiologia Hospitalar. CD ROM. 2002.

SADOYAMA, G., GONTIJO FILHO, P.P. Etiopatogenia de bacteremias primárias no HC-UFU: aspectos epidemiológicos, microbiológicos e moleculares. In: III WORKSHOP DA PÓS-GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA E PARASITOLOGIA APLICADAS, 2002, Uberlândia. In: Bioscience Journal. v. 18, p. 26-26, 2002.

SADOYAMA, G.; GONTIJO FILHO, P.P.. Colonizações do sítio de inserção e ponta do cateter vascular central e sepse: experiência de 96 pacientes no HC-UFU. In: III WORKSHOP DA PÓS-GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA E PARASITOLOGIA APLICADAS, 2002, Uberlândia. In: Bioscience Journal. v. 18, p. 26-26, 2002.

SADOYAMA, G.; GONTIJO FILHO, P.P. Análise dos fatores de Risco para colonização na ponta do cateter vascular central em pacientes internados na clínica cirúrgica II no HC-UFU. In: XXI CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 2001, Foz do Iguaçu. Anais do XXI Congresso Brasileiro de Microbiologia. p. 151, 2001.

SADOYAMA, G.; GONTIJO FILHO, P.P. Comparação entre veias subclávia e jugular como sítio de inserção do CVC: aspectos microbiológicos e fatores de risco para colonização/Infecção. In: XII CONGRESSO BRASILEIRO DE INFECTOLOGIA, 2001, Rio de Janeiro. The Brazilian Journal of Infectious Diseases, v. 05, p. S61, 2001.

SADOYAMA, G. BARBOSA, G.B., GONTIJO FILHO, P.P Avaliação das colonizações no sítio de inserção e na ponta do cateter vascular central inserido na veia jugular ou subclávia. In: III FÓRUM MINEIRO DE ENFERMAGEM – SISTEMATIZAR O CUIDAR, 2001, Uberlândia. Anais do III FÓRUM MINEIRO DE ENFERMAGEM, p.91, 2001..

SADOYAMA, G.; GONTIJO FILHO, P.P. Relação entre colonizações no sítio de inserção e na ponta do cateter vascular central (CVC): análises qualitativa e quantitativa da presença de estafilococos resistentes à oxacilina. In: I SIMPÓSIO DE RESISTÊNCIA BACTERIANA AOS ANTIMICROBIANOS, 2001, Rio de Janeiro. Anais do I Simpósio de Resistência bacteriana aos antimicrobianos. CD ROM. 2001.

SADOYAMA, G.; GONTIJO FILHO, P.P. Fatores de risco para colonização cutânea no sítio de inserção do cateter vascular central. In: III CONGRESSO PANAMERICANO DE CONTROLE DE INFECÇÃO., 2000, Belo Horizonte. Apresentação oral. Anais do III Congresso Panamericano de Controle de Infecção. 2000.

Comparison Between the Jugular and Subclavian Vein as Insertion Site for Central Venous Catheters: Microbiological Aspects and Risk Factors for Colonization and Infection

Geraldo Sadoyama and Paulo Pinto Gontijo Filho

Laboratory of Microbiology - ARIMP - Federal University of Uberlândia, Uberlândia/MG, Brazil

Bacterial counts were made of catheter insertion site and of catheter tips to help determine risk factors associated with catheterization of the jugular and subclavian veins. Among the 116 patients included in this study, 69% had central venous catheters (CVC) in the subclavian vein. Seven or more days catheterization ($p=0.001$) and ≥ 3 invasive devices ($p=0.01$) were infection risk factors associated with catheterization of the jugular vein. More than half of the patients presented high colony counts at the insertion site (≥ 200 CFU/20 cm²) and 27% of the catheter tips were contaminated. The risk factors associated with contaminated catheter tips were ≥ 14 days hospital stay ($p=0.02$), ≥ 7 days catheterization ($p=0.01$) and antibiotic therapy ($p=0.04$). Coagulase-negative staphylococci (CoNS) and *Staphylococcus aureus* were the most common microorganisms at the insertion site (78%) and in the catheter tip (94%). Five patients presented sepsis (4.1%), four caused by Staphylococci and one by GNB. Twelve patients had the same microorganisms at the insertion site and catheter tip. We found a high prevalence of ORSA (62.5%) and ORCoNS (57.1%) in catheter tips. The high counts of staphylococci, including ORSA and ORCoNS, at the insertion site, and the significant association of this colonization with catheter tip contamination, indicate that the skin is an important reservoir of microorganisms associated with catheter-related bloodstream infection (CR-BSI). Health professionals should be aware of this potential source of infection at the CVC insertion site.

Key Words: CVC, risk factor, CR-BSI, ORSA, ORCoNS.

Infection is a potentially life-threatening complication of central venous catheter (CVC). Many factors may contribute to the contamination of CVC [01]. Multivariate analyses of prospective studies on risk factors for central venous related infection rank heavy insertion-site colonization as one of the most important factors [02].

Contamination of CVC is a common problem in intensive care units. Several studies have reported

received on 07 August 2002; revised 11 September 2002.

Address for correspondence: Dr. Geraldo Sadoyama, MSc. Area

Immunology, Microbiology and Parasitology, Laboratory

Microbiology, Block 4C, Campus Umuarama, Federal

University of Uberlândia, Uberlândia, MG, Brazil. 38400-902.

Phone: (34)3218-2236; Fax number: (34)3218-2332.

Email: sadoyama@umuarama.ufu.br

The Brazilian Journal of Infectious Diseases 2003;7(2):142-148

© 2003 by The Brazilian Journal of Infectious Diseases and

Intexto Publishing. All rights reserved.

contamination or colonization rates of catheters to range between 3.8% and 4.7% [01] and incidences of catheter-related bloodstream infections (CR-BSI) for short-term, noncuffed, central venous catheters range from 3% to 5%, which is much higher than that reported for peripheral intravenous catheters [03].

We qualitatively and quantitatively evaluated contamination with microorganisms at the skin insertion site of CVC (subclavian or jugular vein), of catheter tips, as well as sepsis and other risk factors associated with these procedures.

Materials and Methods

A prospective observational study of nontunneled CVC (116 patients) over a 11-month period was conducted from September 2000 to June 2001 at the Clinical Surgical II Ward (33 beds) and the Intensive

Care Unit (9 beds) of the Uberlândia Federal University Hospital (HC-UFU).

All the CVCs (vialon biomaterial - Becton Dickinson®) followed in this trial were placed by cannulation, without using the Seldinger technique, in the jugular or subclavian vein by attending physicians or supervised medical students; they used aseptic technique for insertion, with sterile gloves, drapes, gowns, face masks and surgical scrubbing with povidine-iodine. The option for vascular access (jugular x subclavian) was decided by the surgeons/physicians/supervised medical students based on experience, without considering the severity of the case. After the introduction of the CVC, the skin insertion site was cleaned with alcoholic povidine iodine solution daily. The insertion site was inspected every 24 hours for evidence of infection, such as erythema, purulence, swelling, or tenderness near the catheter. The catheter remained in place either until it was no longer needed, or when a specific event, such as a possible catheter-related infection, made removal necessary.

The skin at the insert site of CVC was initially swabbed. Two samples were taken: the first, when the catheter was inserted, and the second 5-7 days after insertion. Approximately 20 cm² of skin at the catheter insertion site was cleaned with sterile pre-moistened swabs. Each swab was then inoculated on both blood agar and salted mannitol agar. A skin culture was considered positive if ≥ 200 colony forming units (CFU) were isolated [04]. Catheters were removed under sterile conditions. The tips of the catheters were cut with sterile scissors and transported to the laboratory in tubes containing 10 mL of phosphate-buffered saline (PBS) + 0.1% Tween 80. The cultures of the catheter tips were conducted quantitatively, using a modified Brun-Buisson technique: a segment of approximately 5 cm of the catheter tip was placed in a tube containing 10 mL of PBS + 0.1% Tween 80 and agitated with a vortex for 1 minute; 0.1 mL of the liquid was inoculated on blood agar, McConkey agar, and mannitol salt agar [05]. The cultures were considered positive if $\geq 10^2$ CFU/mL were isolated. The clinical specimens obtained from the skin and from the tip of the CVC were identified by traditional techniques. They were initially

classified as Gram-negative bacilli (GNB), Gram-positive bacilli (GPB), Gram-positive cocci or yeast fungi by Gram stain. The Gram-positive cocci were submitted to supplemental tests, such as: catalase, coagulase, fermentation of the mannitol and DNase, and were separated into *S. aureus*, coagulase-negative staphylococci (CoNS) and other Gram-positive cocci. The blood specimens were obtained by peripheral venous puncture. The blood cultures were made by inoculating 5-10 mL of blood in a Bactec/Alert® (Organon Teknika Corp.) bottle, an automated commercial system. Samples were identified by traditional phenotypic tests.

A catheter-related bloodstream infection (CR-BSI) was defined as: isolation of the same microorganism (i.e., identical species and type of resistance) from a semiquantitative or quantitative culture of a catheter segment and from the blood (preferably drawn from a peripheral vein) of a patient with accompanying clinical symptoms and no other source of infection.

All *Staphylococcus* isolates were plated on Mueller-Hinton agar, supplemented with 4% NaCl and oxacillin (6 µg/mL). The inoculum size was adjusted to yield a final inoculum of approximately 10^5 CFU/mL. Oxacillin resistance was confirmed by surface growth, after incubation for 24 h at 30°-35°C [06]. Statistical significance was defined by a *p* value less than 0.05. The frequencies of qualitative variables were compared using a chi-squared test with Yates' correction or Fisher's Exact Test (two-tailed). Epi Info 2000 Software (Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA) was used to perform the statistical analyses.

Results

Of the 116 patients included in this study, 43 were hospitalized in the Intensive Care Unit and 73 in the Clinical Surgical II Ward. We were able to recuperate just half (50.9%) of the catheter tips. High rates of contamination at the catheter insertion site were found in about half of the patients. Most patients were catheterized in the subclavian vein (69%). The risk factors ≥ 7 days catheterization ($p=0.001$; RR=2.92)

Table 1. Risk factors associated with central venous insertion of catheters in the jugular and subclavian vein

Risk factors	Insertion site		
	Jugular N=36(%)	Subclavian N=80(%)	p (RR)
Insertion site ≥ 200 CFU/20cm ²	21 (58.3)	38 (47.5)	0.49 (1.28)
Age ≥ 60 years	9 (25.0)	26 (32.5)	0.59 (0.78)
≥ 14 days hospital stay	25 (69.4)	50 (62.5)	0.60 (1.24)
≥ 7 days catheterization	26 (72.2)	35 (43.7)	0.01 (2.22)
ICU- Care	17 (47.2)	26 (32.5)	0.19 (1.52)
Surgical Ward	19 (52.8)	54 (67.5)	0.19 (0.66)
TPN ²	11 (30.5)	21 (26.2)	0.79 (1.16)
Antibiotic therapy	21 (58.3)	32 (40.0)	0.10 (1.66)
≥ 3 antibiotics	10 (27.8)	15 (18.7)	0.39 (1.40)
Other invasive devices	33 (91.7)	68 (85.0)	0.38 (1.63)
≥ 3 devices	22 (61.1)	31 (38.7)	0.04 (1.87)
Mortality	2 (5.5)	1 (1.2)	0.22 (2.2)

ICU: intensive care unit; TPN: total parenteral nutrition.

Table 2. Relationship of bacterial contamination between insertion site and catheter tip

Insertion Site (CFU/20cm ²)	Catheter tip	
	Negative N= 43 (%)	Positive N=16 (%)
< 200 CFU	26 (60.5)	04 (25.0)
≥ 200 CFU	17 (39.5)	12 (75.0)

p=0.03 (RR=1.48).

Table 3. Risk factors associated with colonization in the catheter tip

Risk Factors	Catheter tip		
	Positive N=16(%)	Negative N=43(%)	p (RR)
Dressing	2(12.5)	6(13.9)	1.0 (0.91)
Age ³ ≥ 60 years	8(50.0)	18(41.9)	0.79 (1.27)
Hospital stay ³ ≥ 14 days	15(93.7)	26(60.5)	0.02 (6.59)
Catheterization ³ ≥ 7 days	15(93.7)	23(53.5)	0.01 (8.29)
Antibiotic therapy	15(93.7)	28(65.1)	0.04 (5.58)
≥ 3 antibiotics	06(37.5)	05 (11.6)	0.05 (2.62)
Other invasive devices	16 (100)	38(88.4)	0.31 (nc)
≥ 3 devices	07(43.7)	14(32.6)	0.62 (1.41)

* not calculated

Table 4. Microorganisms colonizing the insertion site of the CVCs in the jugular and subclavian vein

Microorganisms	Insertion site		
	Jugular N=36 (%)	Subclavian N=80 (%)	p (RR)
Gram-positive cocci	30 (83.3)	74 (92.5)	0.24 (0.58)
Staphylococci	27 (75.0)	69 (86.3)	0.22 (0.63)
Other cocci	03 (8.3)	05 (6.2)	0.70 (1.23)
Gram-negative bacilli	06 (16.7)	03 (3.8)	0.04 (2.34)
Yeasts	08 (22.2)	04 (5.0)	0.007 (2.69)
Others	01 (2.8)	02 (2.5)	1.0 (1.01)

and the use of ≥ 3 invasive devices ($p=0.01$; $RR=2.09$) were significantly more contamination in the jugular vein, than in the subclavian vein. No significant differences were found between these two insertion sites in the frequency of microorganisms ($p=0.49$), age ($p=0.59$), hospital stay ($p=0.60$), ICU-care (0.19), surgical ward (0.19), TPN (0.79), antibiotic therapy (0.10) or mortality ($p=0.22$) (Table 1). Among the 59 catheter tips that were obtained and processed, about 27% were contaminated. There was a significant correlation between contamination rates at the insertion site and in catheter tips when there were ≥ 200 CFU/20 cm² skin surface at the catheter site ($p=0.03$; $RR=1.48$) (Table 2). Bivariate analysis of the risk factors associated with bacterial contamination of the catheter tip demonstrated significant differences in relation to hospital stay ≥ 14 days ($p=0.02$; $RR=6.59$), ≥ 7 days catheterization ($p=0.01$; $RR=8.29$) and antibiotic therapy ($p=0.04$; $RR=5.58$) (Table 3). The number of microorganisms at the CVC insertion site in the jugular vein was not significantly different from that of the subclavian vein ($p=0.49$; $RR=1.28$). Staphylococci were the most frequent microorganisms in the qualitative analysis of the bacterial contaminations at these sites (jugular 75% vs. subclavian 86%); these differences were not significant ($p=0.22$; $RR=0.63$). The GNB ($p=0.03$; $RR=2.31$) and yeasts ($p=0.008$; $RR=2.48$) were more frequent at the jugular vein (Table 4), however, there were no differences in the numbers of the most frequently isolated microorganisms between those found on the day of

catheter insertion and 5-7 days after insertion. Among the 116 patients, five (4.3%) presented sepsis and three of them (2.6%) had CR-BSI. *Staphylococcus aureus* was isolated in eight (50%), five of these samples were ORSA (62.5%), and seven CoNS (43.7%); 571% of the CoNS were resistant to oxacillin. Among the 16 contaminated catheter tips, just one (6.3%) was GNB. Microorganisms detected at the insertion site and within the catheter tip were the same in 12 of the 16 samples, and in three of these 12 patients, the same microorganism was detected in the blood. There were no differences in the frequency of isolates resistant to oxacillin or to antimicrobial use ($p=0.52$) in the patients who had staphylococci at the insert site and in the catheter tip (Table 5).

Discussion

The risk factors for CVC infections include: the use of a multilumen catheter, hemodialysis, catheterization for ≥ 4 days, difficulty in catheter insertion, prolonged stay in the ICU before catheter insertion and insertion site contamination [07]. Another study associated CVC infections with: insertion sites contaminated with >50 CFU of CoNS or contaminated with any other microorganisms or cutaneous contamination of the site with $>10^2$ CFU [08].

Half of the patients in our study were contaminated at the insertion site with $\geq 10^2$ CFU. This proportion is high compared to the less than 17% found in other studies [4,9]. The HC-UFU routine does not include

Table 5. Qualitative and quantitative analysis of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus* spp. at the insertion site, inside the catheter tip and in the blood

Patient	Insert vein	Therapeutic use of anti-microbials	Insertion site (≥ 200 CFU/20 cm ²)	Catheter tip $\geq 10^2$ CFU	Microorganism in the insertion site	Microorganism in the catheter tip	Microorganism in blood
1	Sub	+	+	+	ORSA ¹	ORSA	ORSA
2	Sub	-	+	+	ORCoNS ²	ORCoNS	-
3	Sub	+	+	+	ORSA/ORCoNS	ORSA	-
4	Sub	+	+	+	ORSA/OSSA ³	ORSA	-
5	Jug	+	+	+	OSSA	OSSA	OSSA
6	Sub	+	+	+	ORCoNS	ORSA	-
7	Sub	+	-	+	ORCoNS ⁴	GNB ⁵	-
8	Sub	+	-	+	ORCoNS	ORCoNS	-
9	Jug	+	+	+	OSCoNS	OSCoNS	-
10	Sub	+	+	+	OSCoNS	ORCoNS	-
11	Sub	+	+	+	OSSA	OSSA	OSSA
12	Sub	+	+	+	ORSA/OSCoNS	OSCoNS	-
13	Sub	+	+	+	ORCoNS/ORSA	ORSA	-
14	Sub	-	+	+	OSSA	OSSA	-
15	Sub	-	+	+	ORCoNS/OSCoNS	ORCoNS	OSCoNS
16	Jug	-	-	+	OSSA/OSCoNS	OSCoNS	GNB

Sub=subclavian; Jug=jugular; ¹ Oxacillin resistant *Staphylococcus aureus*; ² Oxacillin resistant coagulase negative staphylococci; ³ Oxacillin susceptible *Staphylococcus aureus*; ⁴ Oxacillin susceptible coagulase negative staphylococci; ⁵ Gram-negative bacilli.

occlusive dressing of wounds at the insertion site of the catheter, although this practice is considered a category II procedure [10]. This fact could be the reason for the high rate of contamination found in our study.

Although there have been no previous randomized trials comparing the insertion of CVCs in the jugular and subclavian veins, some studies found a lower frequency of infection with catheterization in the subclavian than in the jugular vein [11,12]. However, clinicians must weigh this potential benefit against the higher risk of mechanical complications at this site. Also, observational studies made with dialysis catheters have suggested the contrary [13,14].

In our study, the significant risk factors for contamination at the jugular vein were: ≥ 7 days catheterization and ≥ 3 invasive devices. This indicates that the patients with catheters at this site were more seriously affected and therefore required more care by the health workers.

Although central venous catheters can be contaminated by blood flow from a distal site [15], the

available data show that intravascular catheters can easily become colonized externally by microorganisms from the patient's cutaneous microflora. Microorganisms can also contaminate the catheter hub where the solution feed tubing attaches to the catheter, or they may gain access to the fluid column and be infused directly into the patient's bloodstream [16]. The relative importance of colonization sources in the catheter and subsequent infection has been widely debated. Raad et al. have suggested that skin colonization is associated with short-term catheters, while hub colonization is common in long-term catheters [17]. The strategies to make transcutaneous access to microbes more difficult, such as the use of more potent antiseptic agents, use of catheters with antimicrobials (antiseptics and antibiotics), and strict use of barrier measures during insertion, have helped to prevent the contamination of catheters and CR-BSI. Nevertheless, these practices are costly, except for the latter (maximal barrier precautions) [18]. This precaution measure was not considered in our study.

The contamination rates in the catheters can vary according to catheter type, and some studies have demonstrated prevalence rates of bacterial contamination in CVCs of from 4.7% to 70% [19,20]. In our study the contamination rate was 27% and there was a significant relationship ($p=0.03$) between contamination in the catheter tip and at the insertion site ($\geq 10^2$ CFU).

The device that poses the greatest risk for CR-BSI today is the CVC: up to 75% of CR-BSI originate from CVCs. These catheters inserted percutaneously into the subclavian or jugular vein have shown rates of CR-BSI in the range of 3.3%-5.1% [21]. Our findings demonstrated a rate of CR-BSI of 2.6%.

Among the microorganisms most frequently found in the CVC-related infections are: CoNS, *S. aureus*, *Enterococcus spp.*, *Candida spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Klebsiella spp.* and *Enterobacter spp.* [22]. Sheretz [23] demonstrated that CoNS and *Staphylococcus aureus* are associated with CVC infections (28% and 16%, respectively) and they come from the skin. In our investigation there was no quantitative difference in the numbers of the most frequent microorganisms at the jugular versus the subclavian vein. However, qualitative analysis indicated a significantly higher presence ($p < 0.05$) of GNB and yeasts in the jugular vein. Some reports suggest that CVCs at this site become more infected by these microorganisms than those in the subclavian vein due to the proximity of the oropharynx, higher temperatures and difficulty in maintaining the dressing in place [09]. Staphylococci resistant to oxacillin (ORSA and ORCoNS) are increasing common, especially in tertiary and/or teaching hospitals: 34% in Brazilian institutions, 34% in American hospitals, and about 1.8-4% in European countries [24]. Oxacillin-resistant staphylococci are commonly resistant to various antimicrobial substances, which makes it difficult to treat these types of infections; in Brazil the choice of treatment is usually empirical [25]. ORCoNS isolates can have prevalence rates of up to 85.5% [26,27], while ORSA can reach rates of 81% [27, 28]. The rates of 62.5% and 57.1% for ORSA and ORCoNS, respectively, were high in our series, considering that

the patients were not in critical care units (Surgical). Among the risk factors for colonization/infection by multiresistant staphylococci are the use of antimicrobial substances [29,30]. However, in our study, antimicrobial substance use was not associated with an increased frequency of resistant strains at the insertion site and in the catheter tip, as about 80% of the patients that had an ORSA/ORCoNS isolate at the insertion site/catheter tip were being treated with antimicrobial substances and half of the patients with susceptible isolates were also using these substances. Though we studied relatively few patients ($n=116$), our results suggest that there is a potential risk when not using occlusive dressings in routine care of CVC as more than the half of the patients had high counts of staphylococci at the insertion site of CVCs. A significant association of the type of isolate at the insertion site and in the catheter tip also confirmed the importance of the skin as a CR-BSI reservoir. Although patients with catheters in the jugular vein were more severely ill and therefore had a greater bacterial contamination/infection risk when compared to those with CVC in the subclavian vein, there were no quantitative differences in the skin contamination of the insertion site nor was there a greater contamination of the catheter tips in this vein.

References

1. Egebo K., Toft P., Jakobsen C.J. Contamination of central venous catheters. The skin insertion wound is a major source of contamination. *J Hosp Infect* 1996;32:99-104.
2. Armstrong C.S. Clinical predictors of infection of central venous catheter used for total parenteral nutrition. *Infect control Hosp Epidemiol* 1990;2:71-8.
3. Maki D.G. Infections caused by intravascular devices used for infusion therapy: pathogenesis, prevention, and management. In: Infections associated with indwelling medical devices. Bisno A.L. & Waldvogel F.A (eds). 2nd ed. American Society for Microbiology, Washington, DC. 1994, p.155-202.
4. Maki D.G., Ringer M., Alvarado C.J. Prospective randomised trial of povidine-iodine, alcohol, and chlorhexidine for prevention of infection associated with central venous and arterial catheters. *Lancet* 1991;338:339-43.
5. Brun-Buisson C., et al. Diagnosis of central venous catheter-related sepsis. Critical level of quantitative tip cultures. *Archives Intern Med*, 1987;147: 873-7.

- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically, 1997; v. 17, n.02.
- Maki D.G, Mermel L.A.. Infections due to infusion therapy. In: Bennett J.V., Brachman P.S., eds. Hospital Infections. Boston, MA: Little Brown and Co. 1998; p.689-724.
- Mermel L.A., McCormick R.D., Springman S.R., et al. The pathogenesis and epidemiology of catheter-related infection with pulmonary artery Swan-Ganz catheter: a prospective study utilizing molecular subtyping. *American Journ Medicine* 1991;91(Suppl 3B):S197-205.
- Moro M.L., Vigano E.F., Lepri A.C., et al. Risk factors for central venous catheter-related infections in surgical and intensive care units. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1994;15:253-64.
- Guidelines for preventing infections associated with the insertion and maintenance of central venous catheter. *J Hosp Infect* 2001;47(supl):S47-67.
- Darouiche R.O., Raad I., Heard S.O. A comparison of two antimicrobial-impregnated central venous catheter. *N Engl J Med* 1999;340:1-8.
- Goetz A.M., Wagener M.M., Miller J.M., et al. Risk of infection due to central venous catheters: effect of site of placement and catheter type. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1998;19:842-5.
- Moss A.H., Vasilakis C., Holley I.I., et al. Use of silicone dual-lumen catheter with a dacron cuff as a long-term vascular access for hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1990;16:21-5.
- Uldall R., de Bruyne M., Besley M., et al. A new vascular catheter for hemodialysis. *Am J Kidney Dis* 1993;21:270-7.
- Garland J.S., Buck R.K., Maloney P., et al. Comparison of 10% povidone-iodine and 0.5% chlorhexidine gluconate for the prevention of peripheral intravenous catheter colonization in neonates: a prospective trial. *Pediatric Infectious Diseases Journal* 1995;14:510-6.
- Cooper G.L., Hopkins C.C. Rapid diagnosis of intravascular catheter-associated infection by direct gram staining of catheter segments. *New Eng J Medicine* 1985;312:1142-7.
- Raad, et al. Ultrastructural analysis of indwelling vascular catheters: a quantitative relationship between luminal colonizations and duration of placement. *J Infect Diseases* 1993;168: 400-7.
- Raad I. Intravascular-catheter-related infections. *Lancet* 1998;351:893-8.
- Mermel L.A. Prevention of intravascular catheter-related infections. *Ann Intern Med* 2000;132:391-402.
- Chugh T.D., Khan Z.U. Intravascular device-related infections: antimicrobial catheters as a strategy for prevention. *J Hosp Infect* 2001;49:1-3.
- Crnich C.J., Maki D.G. The promise of novel technology for the prevention of intravascular device-related bloodstream infection. *J. Pathogenesis and short-term devices. Clin Infec Dis* 2002;34:1232-42.
- Crump J.A., Collignon P.J. Intravascular Catheter-associated infections. *Eur J Clin Infect Dis* 2000;19:1-8.
- Sheretz. R.J. Surveillance for infections associated with vascular catheters. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1996;17:746-52.
- Diekema D.J., Pfaller M.A., Schmitz F.J. et al. Survey of infections due to *Staphylococcus* species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific Region for the SENTRY antimicrobial surveillance program, 1997-1999. *Clin Infect Dis* 2001;32(supl):S114-32.
- Couto H.G., et al. Vancomycin use in a Brazilian University Hospital: Comparison with Hospital Infection Control Practices Advisory Committee Guidelines. *Brazilian Journal Infectious Diseases* 1999;3:139-43.
- Frebours N.B., Cauliez B., Lemeland J.F. Evidence for nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococci* colonizing intravascular devices. *J Clin Microbiol* 1999;37:1182-5.
- Gray J.W., George R.H. Is the incidence of MRSA bacteraemia representative of the rate of MRSA infection in general? *J Hosp Infect.* 2001;49(1):79.
- Stamm AM, Long MN, Belcher B. Higher overall nosocomial infection rate because of increased attack rate of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Am J Infect Control* 1993;21:70-4.
- Sadoyama G., Gontijo Filho P.P. Risk Factors for methicillin resistant and sensitive *Staphylococcus aureus* infection in a Brazilian university hospital. *Brazilian Journal Infectious Diseases* 2000;4:135-43.
- Boyce J.M. Coagulase-negative staphylococci. In: C. Glen Mayhall, M.D. (Ed) *Hospital Epidemiology and Infection Control*. Williams & Wilkins Company, Baltimore, USA. 1996. p. 306-34.

Colonizações do Sítio de Inserção e da Ponta do Cateter Vascular Central: Experiência de 96 Pacientes no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia

Geraldo Sadoyama¹, Paulo P. Gontijo Filho²

1- Doutorando do Curso de Imunologia e Parasitologia Aplicadas - UFU
2- Professor Titular de Microbiologia - UFU

Resumo

Summary

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a presença de sinais clínicos (febre e eritema) e de uma colonização significativa no sítio de inserção com a contaminação da PC e hemocultura positiva. Foram incluídos 96 pacientes internados no HC-UFU de setembro/2000 a janeiro/2002, dos quais foram processados materiais do sítio de inserção do CVC, da ponta do CVC e sangue. Os resultados demonstraram uma relação entre ponta de cateter positiva e colonização no seu sítio de inserção (p=0,03) e febre (p=0,02), ao contrário do observado com a presença eritema (p=0,08). As sensibilidades e valores preditivos positivos foram baixos em relação às variáveis analisadas (colonização no sítio de inserção, febre, eritema), enquanto que as especificidades e valores preditivos negativos ficaram na faixa 70-85%. A relação entre uma hemocultura positiva e a contaminação $\geq 10^2$ UFC na ponta do cateter (p<0,01) foi significativa. Os estafilococos (*S. aureus* e Estafilococos Coagulase Negativos) foram os microrganismos mais encontrados no sítio de inserção e os únicos isolados simultaneamente na ponta do cateter e sangue e 72% destas amostras eram resistentes à oxacilina.

The present work had as objectives to evaluate the presence of clinical signs (fever and eritema) and the colonization level in the catheter insertion site with the contamination of catheter-tip and positive bloodculture. The present study was led from September/2000 to January/2002 and ninety six patients interned at the HC-UFU they were included, of the which materials of the insertion site of CVC, catheter tip and blood were collected. Our results demonstrated that there was a relationship between a positive tip and high colonization in the insertion site of the CVC (p=0,03) and fever (p=0,02) unlike what it was observed with eritema (p=0,08). The sensibilities and value positive predictive they were low in relationship the analyzed variables (significant colonization in the insertion site of CVC, fever, eritema) while the specificities and value negative predictive were usually among 70-85%. The relationship between a positive bloodculture and the contamination $\geq 10^2$ UFC in the catheter tip (p <0,01) were significant. The staphylococci (*S. aureus* and coagulase-negative staphylococci) were the microrganisms more found in the insertion site and the only ones isolated simultaneously in the catheter tip and bloodculture and 72% of these samples were oxacillin-resistant.

Palavras-Chave: Cateter vascular central, infecções de corrente sanguínea, estafilococos resistentes à oxacilina

Keywords: Catheter vascular central, bloodstream infection, oxacillin-resistant staphylococci

Introdução

As síndromes infecciosas de natureza hospitalar mais frequentes são: infecção de trato urinário (30%), pneumonia (16%), infecção de sítio cirúrgico (16%), infecção de corrente sanguínea (14%), que compreendem combinadas 80% das infecções hospitalares notificadas pelo sistema de vigilância NNIS. As infecções de corrente sanguínea (ICS) são mais comuns em UTIs, constituindo 17% das infecções hospitalares (NNIS, 2001). Os cateteres vasculares centrais são indispensáveis no dia-a-dia da prática médica moderna, mas o seu uso pode ser acompanhado por uma variedade de complicações locais e sistêmicas, incluindo: tromboflebitides sépticas, endocardites, bacteremias e infecções metastáticas. Mais de 250.000 ICS associadas a dispositivos intravasculares (DIVs) ocorrem por ano nos EUA, prolongando a permanência hospitalar por cerca de 7 dias e adicionando custos adicionais da ordem de \$ 33,000–35,000 por cada internação (Crnchi, Maki, 2002).

O principal fator de risco para uma ICS é a presença de um cateter vascular central (CVC). Mais de 80% das ICSs ocorrem entre pacientes com CVCs. Em pacientes em UTIs, a taxa de ICSs associadas à presença de CVC é de 8,6/1000 dias/CVC, comparada 0,02/1000 com os pacientes sem

CVCs (NNIS, 2001). A colonização do sítio de inserção (SI) do CVC é a principal porta de entrada de microrganismos associados a bacteremia primária, pois a partir da pele, eles podem colonizar a ponta do cateter (PC) e a partir daí disseminar pelo sangue (Crump, Collignon, 2000).

Os estafilococos coagulase negativos e *S. aureus* são os principais agentes de infecções de corrente sanguínea e uma boa proporção dos isolados é resistente à oxacilina, o que dificulta a terapêutica destas infecções, pois muitas vezes se torna necessária a utilização de glicopeptídeos (Archer, Climo, 1994).

O objetivo desta investigação foi avaliar a presença de sinais clínicos (febre e eritema) e do nível de colonização no sítio de inserção do CVC com a contaminação da ponta do CVC e hemoculturas positivas.

Casuística e Métodos

Foi realizado um estudo prospectivo incluindo 96 pacientes internados, no HC-UFU, submetidos à cateterização central na Clínica Cirúrgica II (33 leitos), com domínio de cirurgias gastro-intestinais, no período de setembro/2000 a janeiro/2002.

A coleta do material de pele no sítio de inserção do CVC foi

realizada com swab pré-umidificado em salina estéril numa área de 20 cm². O swab foi colocado em um tubo com 1 mL de salina estéril + 0,1% de tiosulfato de sódio e agitado no vortex por 60 segundos e cerca de 0,1 mL do suspensão foi inoculada em placas de agar sangue e agar manitol salgado. A cultura de pele foi considerada positiva quando havia um crescimento de ≥ 200 UFC/20 cm² (Maki, 1991). Os cateteres foram removidos em condições assépticas e as pontas foram cortadas com tesoura estéril e transportadas para o laboratório em tubos contendo 10 mL de salina estéril + 0,1% de tween 80. As culturas das pontas do CVC foram processadas quantitativamente pela técnica de Brun-Buisson (1987) com pequenas modificações, sendo consideradas positivas para um crescimento da ordem de $\geq 10^2$ UFC/mL.

A rotina da unidade, Clínica Cirúrgica II, não inclui o uso de curativo oclusivo para o sítio de inserção do cateter. Os isolados obtidos a partir da pele no sítio de inserção e da ponta do cateter foram identificados por técnicas tradicionais, sendo triados inicialmente através de suas características morfo-tintoriais, em bacilos Gram-negativos, bacilos Gram-positivos, cocos Gram-positivos e fungos leveduriformes. Os cocos Gram-positivos foram submetidos aos seguintes testes complemen-

ares: catalase, coagulase, fermentação do manitol e DNase, sendo separados em *S. aureus*, *Staphylococcus* spp. e outros cocos Gram-positivos. Os espécimes de sangue foram obtidos a partir de punção periférica. As hemoculturas foram realizadas inoculando-se 5-10 mL de sangue em um frasco do sistema comercial automatizado Bactec/Alert®. As culturas positivas foram cultivadas em agar McConkey, agar Sangue e agar chocolate. A identificação das mostras foi realizada por testes fenotípicos tradicionais.

Todas as amostras de estafilococos identificadas foram subcultivadas em Agar Mueller-Hinton com 6 µg/mL de oxacilina e 4% de NaCl para a detecção de amostras de *Staphylococcus* resistentes à oxacilina (NCCLS, 1997).

A análise estatística foi realizada utilizando-se os testes do χ^2 com correção de Yates e teste

exato de Fisher. Os testes foram realizadas no software Epi-Info 2000 (CDC-Atlanta,GA).

Resultados e Discussão

Cerca de 47,7% dos pacientes incluídos no nosso estudo apresentaram uma colonização significativa no sítio de inserção (≥ 200 UFC/20 cm²), proporção alta quando comparada aos dados disponíveis na literatura que usualmente são inferiores a 20% (Maki, 1991; Moro, 1994). A ausência de utilização de curativo oclusivo no sítio de inserção do cateter poderia ser uma das justificativas para este achado, embora esta prática seja considerada procedimento de categoria II (Pearson, 2001).

Com relação às variáveis clínicas estudadas, a presença de febre ($p=0,02$) demonstrou es-

tar relacionada a uma ponta de cateter positiva, ao contrário do que foi observado com eritema ao nível do SI ($p=0,08$) (tabela 1). As sensibilidades e valores preditivos positivos foram baixos em relação a estas duas variáveis, enquanto que as especificidades e valores preditivos negativos ficaram usualmente na faixa de 70-85% (tabela 2). Há relatos demonstrando que a utilização de indicadores clínicos no diagnóstico de uma ICS relacionada a presença de um CVC apresenta problemas de sensibilidade e especificidade. A presença de eritema no sítio de inserção não é um indicador confiável na detecção de infecção relacionada ao CVC, enquanto que a purulência no local de inserção pode ser uma evidência inequívoca deste tipo de infecção (Maki, 1988; Sheretz, 1996).

Neste estudo obtivemos uma

Tabela 1 - Contaminação da ponta do CVC e a relação com contaminação no sítio de inserção, febre e eritema

Sítio de Inserção	Ponta de cateter		p (OR)
	Positiva N=26 (%)	Negativa N=70 (%)	
Febre			
Presença	11 (42,3)	12 (17,1)	0,02(3,54)
Ausência	15 (57,7)	58 (82,9)	
Eritema			
Presença	09 (34,6)	11 (18,6)	0,08(2,84)
Ausência	17 (65,4)	59 (81,4)	
Sítio de Inserção			
≥ 200 UFC	17 (65,4)	21 (42,9)	0,03(4,41)
< 200 UFC	9 (34,6)	49(57,1)	

Tabela 2 - Sensibilidade, especificidade e valores preditivos positivos e negativos das variáveis analisadas na determinação de uma PC positiva

Variáveis	S ¹	E ²	VPP ³	VPN ⁴
Presença de febre	42,3	82,8	47,8	79,4
Presença de eritema	34,6	84,2	45,0	77,6
Colonização no SI \geq 200 UFC	65,4	70,0	44,7	84,4

¹Sensibilidade; ²Especificidade; ³Valor Preditivo Positivo; ⁴valor Preditivo Negativo

Tabela 3 - Relação entre positividade na ponta do cateter e hemocultura positiva

Hemocultura	Ponta de cateter		p (OR)
	Positiva N=26 (%)	Negativa N=70 (%)	
Positiva	9 (34,6)	3 (4,3)	0,0003(3,71)
Negativa	17 (65,4)	67 (95,7)	

ca de ponta de cateter positiva 20,8% (26/96); as frequências de colonização dos CVCs situam-se entre 4,7 a 70% nos relatórios publicados (Mermel, 2000; Hugh 2001).

Nesta série, foi confirmada a associação entre uma PC positiva e o nível de colonização SI ($p=0,03$; $OR=4,41$) (tabela 2) bem como entre uma hemocultura positiva e a contaminação $\geq 10^2$ UFC na ponta do cateter ($p<0,01$; $OR=3,71$) (tabela 3). Embora os CVCs também possam ser colonizados por via hematogênica, a partir de outros locais infectados, translocação intestinal ou através da administração de soluções contaminadas (Muller, 1995; Garland, 1995), os dados disponíveis mostram

que a maioria destas colonizações resultam da migração de microrganismos da microbiota da pele a partir do sítio de inserção (extraluminal) ou da introdução intraluminal pelo canhão contaminado quando da manipulação do CVC (Maki, Mermel, 1998). A colonização a partir da pele está usualmente associada com CVCs de curta duração, enquanto que a colonização originária a partir do canhão é comum em cateteres de longa duração (Raad, 1993).

Os microrganismos mais isolados no sítio de inserção do CVC foram os estafilococos coagulase negativos (49,5%) e *S. aureus* (31,1%), sendo que 49% e 40,6% respectivamente, pertenciam ao fenótipo resistente à oxacilina e

as leveduras foram detectadas em apenas 6,8% no sítio de inserção (tabela 4). Somente os estafilococos (*S. aureus* e ECNs) foram isolados simultaneamente da PC e sangue e aproximadamente 72% destas amostras eram resistentes à oxacilina (tabela 5).

Os principais agentes de ICS são os cocos Gram-positivos, a saber: ECNs 31%, *S. aureus* 16% e Enterococos 10% (NNIS, 2001). Os estafilococos (*S. aureus* e ECNs) resistentes à oxacilina vêm apresentando uma incidência crescente, principalmente em hospitais terciários e/ou ensino, respondendo por 34 % nos brasileiros, 34% nos americanos e cerca de 1,8-54% nos países da Europa (Diekma, 2001). No entanto, os isolados de ECNs resistentes à oxacilina podem atin-

Tabela 4 - Microrganismos mais frequentes no sítio de inserção do CVC

Microrganismos	Amostras N=103	%
<i>Staphylococcus aureus</i>	32	31,1
Resistentes à oxacilina	13	
Suscetíveis à oxacilina	19	
Estafilococos coagulase-negativos	51	49,5
Resistentes à oxacilina	25	
Suscetíveis à oxacilina	26	
Outros Cocos Gram-positivos	08	6,8
Bacilos Gram-negativos	05	4,8
Leveduras	07	7,8

*7 pacientes apresentaram mais de um microrganismo no SI

Tabela 5 - Microrganismos mais frequentes na PC e no sangue

Microrganismos	Retirada Clínica da PC N=11(%)	Sangue N=07(%)	Retirada Rotinada PC N=15(%)	Sangue N=02(%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	04 (36,4)	04 (57,1)	03 (20)	-
Resistentes à oxacilina	02 (50)	02 (50)	03 (100)	-
Suscetíveis à oxacilina	02 (50)	02 (50)	-	-
Estafilococos coagulase-negativos	06 (54,6)	03 (42,9)	09 (60)	01 (50)
Resistentes à oxacilina	04 (66,7)	03 (100)	06 (66,7)	01 (100)
Suscetíveis à oxacilina	02 (33,3)	-	03 (33,3)	-
Bacilos Gram-negativos	01 (9,0)	-	01 (6,7)*	01 (50)*
Leveduras	-	-	02 (13,3)	-

*pacientes diferentes

gir taxas de prevalência de até 85,5% (Freboung, Cauliez, Leme-land, 1999; Hanberger, Diekema, 2001), enquanto que entre os *S. aureus* resistentes à oxacilina estas podem ser de até 81% (Gray, George, 2001; Hanberger, Diekema, 2001). Em um estudo anterior, realizado em Uberlândia, a taxa de prevalência de amostras resistentes à oxacilina foi de 44% entre os isolados de *S. aureus* (Sadoyama, Gontijo Filho, 2000).

Conclusão

As correlações das contaminações no sítio de inserção, ponta do cateter e hemocultura positiva foram significativas, com predomínio da participação de estafilococos (*S. aureus* e estafilococos coagulase negativos) na sua maioria do fenótipo resistente à oxacilina. A inexistência de um curativo oclusivo na Clínica Cirúrgica-HC-UFU prova-

velmente explique a frequência elevada de pacientes com contagens positivas verificadas no sítio de inserção do CVC.

Correspondência para:

Geraldo Sadoyama
sadoyama@umuarara.ufu.br
Fone: (34) 3218-2236
Fax: (34) 3218-2333

Referências Bibliográficas

- 1 - Archer GL, Climo MW. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative staphylococci. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 38, p. 2231-2237, 1994.
- 2 - Brun-Buisson C. et al. Diagnosis of central venous catheter-related sepsis. Critical level of quantitative tip cultures. *Archives Internal Medicine*, v.147, p. 873-877, 1987.
- 3 - Crnich CJ, Maki DG. The promise of novel technology for the prevention of intravascular device-related bloodstream infection. I. Pathogenesis and short-term devices. *Clinical Infectious Diseases*, v. 34, p. 1232-1242, 2002.
- 4 - Crump JA, Collignon PJ. Intravascular Catheter-associated infections. *European Journal Clinical Infectious Diseases*, v.19, p. 01-08, 2000.
- 5 - Chugh TD, Kban ZU. Intravascular device-related infections: antimicrobial catheters as a strategy for prevention. *Journal Hospital Infection*, v.49, p.01-03, 2001.
- 6 - Dablberg PJ, Agger WA, Singer JR et al. Subclavian hemodialysis catheter infections: a prospective, randomized trial of an attachable silver-impregnated cuff for prevention of catheter-related infections. *Infection Control Hospital Epidemiology*, v.16, p. 506-511, 1995.
- 7 - Diekema DJ, Pfaller MA, Schmitz FJ et al. Survey of infections due to *Staphylococcus* species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific Region for the SENTRY antimicrobial surveillance program, 1997-1999. *Clinical Infectious Diseases*, v.32 (sup): S114-S132, 2001.
- 8 - Frebourg NB, Cauliez B, Lemeland JF. Evidence for nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococci* colonizing intravascular devices. *Journal Clinical Microbiology*, v.37, p. 1182-1185, 1999.
- 9 - Garland JS, Buck RK, Maloney P et al. Comparison of 10% povidone-iodine and 0.5% chlorhexidine gluconate for the prevention of peripheral intravenous catheter colonization in neonates: a prospective trial. *Pediatric Infectious Diseases Journal*, v.14, p. 510-516, 1995.
- 10 - Gray JW, George RH. Is the incidence of MRSA bacteraemia representative of the rate of MRSA infection in general? *Journal Hospital Infection*, v.49, p. 79, 2001.
- 11 - Hanberger H, Diekema D, Fluit A et al. Surveillance of antibiotic resistance in european ICUs. *Journal Hospital Infection*, v. 48, p. 161-176, 2001.
- 12 - Maki DG et al. An attachable silver-impregnated cuff for prevention of infection with central venous catheter: a prospective randomized multicenter trial. *American Journal of Medicine*, n. 85, p. 307-314, 1988.
- 13 - Maki DG, Ringer M, Alvarado CJ. Prospective randomised trial of povidine-iodine, alcohol, and chlorexidine for prevention of infection associated with central venous and arterial catheters. *Lancet*, v. 338, p. 339-343, 1991.
- 14 - Maki DG, Mermel LA. Infections due to infusion therapy. In: Bennett JV, Brachman P.S., eds. *Hospital Infections*. Boston, MA: Little Brown and Co., p.689-724. 1998.
- 15 - Mermel LA. Prevention of intravascular catheter-related infections. *Annals Internal Medicine*, v. 132, p. 391-402, 2000.
- 16 - Moro ML, Vigano EF, Lepri AC et al. Risk factors for central venous catheter-related infections in surgical and intensive care units. *Infection Control Hospital Epidemiology*, v. 15, p. 253-264, 1994.
- 17 - National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically*, v. 17, n.02, 1997.
- 18 - National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, Data Summary from January 1992-June 2001. *American Journal Infection Control*. v.29, p.404-21, 2001.
- 19 - Pearson ML. Guidelines for preventing infections associated with the insertion and maintenance of central venous catheter. *Journal Hospital Infection*, v. 47 (sup): S47-S67, 2001.
- 20 - Raad et al. Ultrastructural analysis of indwelling vascular catheters: a quantitative relationship between luminal colonizations and duration of placement. *Journal Infection Diseases*, v.168, p. 400-407, 1993.
- 21 - Sadoyama G, Gontijo Filho PP. Risk Factors for methicillin resistant and sensitive *Staphylococcus aureus* infection in a brazilian university hospital. *Brazilian Journal Infectious Diseases*, v. 04, p. 135-143, 2000.
- 22 - Sheretz RJ. Surveillance for infections associated with vascular catheters. *Infection Control Hospital Epidemiology*, n. 17, p. 746-752. 1996.

4.3. Trabalho a ser enviado para publicação

STAPHYLOCOCCUS AUREUS ISOLATED FROM CENTRAL VENOUS CATHETER RELATED INFECTIONS: GENOTYPING BY PFGE AND rep-PCR TO DETERMINE THE SOURCE OF MICROBIAL CONTAMINATION

GERALDO SADOYAMA, BSc, MSc¹.

KÁTIA REGINA NETTO DOS SANTOS, BSc, PhD².

ANIKE P BRILHANTE, Ac Sc².

PAULO PINTO GONTIJO FILHO, MD, PhD¹.

¹Laboratório de Microbiologia, Área de Imunologia, Microbiologia e Parasitologia,
Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, Brazil.

²Instituto de Microbiologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

Address reprint request to Paulo Pinto Gontijo Filho

Av Pará, 1720 - Laboratório de Microbiologia, Bloco 4C, ARIMP, ICBIM, Universidade Federal
de Uberlândia – Campus Umuarama - Uberlândia, MG, Brazil

CEP 48400-902

Phone: (34) 3218-2236

Fax: (34) 3218-2333

e-mail: gontijofilho@ufu.br

ABSTRACT

OBJECTIVE: determined if *S. aureus* isolated the skin and catheter tip was related with bloodstream specimens by PFGE and Rep-PCR.

DESIGN: Prospective observational study of nontunneled central venous catheter over a 24-month(set-2000/nov-2002) period investigated 179 patients with CVC.

SETTING: A Clinical Surgical II Ward in the Uberlândia Federal University Hospital (HC-UFU).

RESULTS: The coagulase negative staphylococci was more isolated the skin (55%) and catheter tip (63%) and *Staphylococcus aureus*(37%) the bloodstream. Nine presented the *S. aureus* simultaneously in two or three sites (CVC insetion site and/or catheter tip and/or blood). Analysis of the PFGE patterns divided the MRSA and MSSA in six patterns while the Rep-PCR in five patterns. MRSA isolates demonstrated one PFGE pattern (typeA-subtypes A1,A2 and A3) and Rep-PCR two patterns (A,B) were detected. PFGE patterns for MSSA distinguished five types (a,b,c,d and e) and Rep-PCR only three (a,b and c).

CONCLUSION: the comparison between system typing for MRSA and MSSA isolated the multiple site (insertion site, catheter tip and bloodstream) for CVC indicated that the Rep-PCR typing provided less discrimination that PFGE but could be used as alternative rapid MRSA and MSSA screening method.

Keywords: CR-BSI, MRSA/MSSA, PFGE, Rep-PCR

INTRODUCTION

The use of central venous catheters(CVC) as a means of access for monitoring and as a route of administration of drugs has become almost mandatory in patients with serious illness but unfortunately they are also associated with a significant potential for producing iatrogenic disease¹. Maki has estimated that 90% of intravascular-device-related bloodstream infections are secondary to CVCs².

In Short-term catheters (<8days) catheter colonization(75 to 90%) followed by the catheter hub/lumen (10 to 50%) are the most commonly sources³. Then they gain access to the extraluminal and intraluminal surface of the device, respectively, where they they can adhere and become incorporate into a biofilm that allows sustained infection and hematogenous dissemination⁴.

AS a group the coagulase negative staphylococci is the most frequently reported pathogen from bloodstream with 37,3% compared with 13% for *S. aureus* infections intensive care patients⁵. Most important in the pathogenesis of catheter-associated infections is the ability of these bacteria to colonise the polymer surface by the fomation of a thick biofilm while *S. aureus* is primarily an extracelular pathogen that adheres to components of the extracelular mathrix to initiate colonization and infection with the fibrinectin-binding and fibrinogen-binding proteins, as major adhesions involved in device-related infection^{6,7}.

Molecular typing studies increasingly are improving our understanding of the pathogenesis of *S. epidermidis* others coagulase-negative staphylococci catheter related infections⁸.

The purpose of the present study was to investigate if *S. aureus* isolates from the skin surrounding the catheter skin insertion site and catheter tip are related to those from bloodstream infections by typing by PFGe and Rep-PCR.

METHODS

Population

A prospective observational study of nontunneled central venous catheter (179 patients) over a 24-month (set-2000/nov-2002) period was conducted in the Clinical Surgical II Ward in the Uberlândia Federal University Hospital (HC-UFU).

Catheter insertion and care

All CVCs (Vialon biomaterial - Becton Dickinson ®) studied in this trial were placed by cannulation without using the Seldinger technique in the jugular or subclavian vein by attending physicians or supervised medical student using aseptic technique for insertion with sterile gloves, drapes, gowns, face mask, surgical scrubbing with povidine-iodine. After the introduction of the CVC the skin insertion site was cleaned with alcoholic povidine iodine solution daily. The insertion site was inspected every 24 hours for evidence of infection, such as erythema, purulence, swelling, or tenderness over catheter. The catheter remained in place either until it was no longer needed, or a specific event, such as possible catheter-related infection, necessitated its removal.

Microbiological procedures and Definitions

The skin at the insert site of CVC was swabbed in an area of 20-cm² skin of the catheter insertion site. Each swab was inoculated on a blood agar and salted manitol agar. Skin culture was considered positive if ≥ 200 UFC were isolated⁹. Catheters were removed in sterile conditions. The tips of the catheters were cut with sterile scissors and transported to the laboratory in tubes containing 10 mL of phosphate-buffered saline (PBS) + 0,1% Tween 80. The cultures of the catheter tips were conducted quantitatively, using a modified Brun-Buisson technique: a segment of approximately 5 cm of the catheter tip was placed in a tube containing 10 mL of PBS + 0.1% Tween 80 and agitated in vortex for 1 minute; 0.1 mL of the liquid was inoculated in agar blood, agar McConkey and mannitol salt agar¹⁰. The cultures were considered positive if $\geq 10^2$ UFC/mL were isolated. The clinical specimens obtained from the skin and the tip of the central vascular catheter were identified by traditional techniques. They were initially classified in Gram-negative bacilli (GNB), gram-positive bacilli (GPB), Gram-positive cocci and yeast fungi by Gram stain. The Gram-positive cocci were submitted to supplemental tests such as: catalase, coagulase, fermentation of the mannitol and DNase, being separate in *S. aureus*, coagulase-negative staphylococci (CoNS) and other Gram-positive cocci. The specimens of blood were obtained by peripheral puncture. The blood cultures were performed by inoculating 5-10 mL of blood in a bottle from the automated commercial system Bactec/Alert® (Organon Teknika Corp.). Samples were identified by traditional phenotypic tests.

The catheter-related bloodstream infection (CR-BSI) was defined: isolation of the same microorganism (ie, identical species, resistance) from a semiquantitative or quantitative culture of a catheter segment and from the blood (preferably drawn from a peripheral vein) of a patient with accompanying clinical symptoms and no other source of infection.

Susceptibility Testing

All *Staphylococcus aureus* isolates were plated on Mueller-Hinton agar supplemented with 4% NaCl and oxacillin (6µg/mL). The inoculum size was adjusted to yield a final inoculum of approximately 10^5 colony-forming units (CFU)/mL. Oxacillin resistance was confirmed by surface growth after incubation for 24 h at 30°-35°C¹¹. The oxacillin MIC was accomplished by the E-test in agreement with the manufacturer's instructions. Susceptibility to antimicrobial agents was determined by agar diffusion test¹². Antibiotics used were: oxacillin and others β-lactam, erithomycin, tetracycline, chloramphenicol, clindamycin, ciprofloxacin, trimethoprim-sulfamethoxazol, gentamicin, rifampin, vancomycin, dalphopristin-quinupristin and linezolid.

Pulsed-Field Gel eletrophoresis

Cells were treated as described previously¹³ with the following modifications: the cells were resuspended in 1 M NaCl, 10 mM Tris-HCl, pH 7.6, and mixed with equal volume of 2% low melting point agarose; Lysis solution containing lysostaphin (50µg/mL) and lysozyme (500 µg/mL) and proteolysis solution

containing proteinase K(0.1 mg/mL) were added. The DNA was digested with SmaI (Boehringer Mannheim Corporation, Indianapolis, IN, USA) according to the manufacturer's instructions. The SmaI agarose plugs were embedded in a 20 well 1% agarose gel (Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, USA), and electrophoresis was performed using CHEFF-DRIII system (Bio Rad Laboratories, Richmond, CA, USA) at 13°C for 21h in 0.5x TBE buffer (40 mM Tris, 1.2 mM boric acid, 40 mM EDTA, pH 8.0) at 6 V/cm. Pulse times were 2s (initial) and 35s (final). Bacteriophage lambda ladder DNA (Biorad) was used as molecular weight marker. Differences among isolates were determined by visually comparing the bands. Isolates were considered to be related if they differed by no more than three bands; possibly related when they differed by 4-6 bands; and not related when they showed more than 6 different bands¹⁴.

Rep-PCR

DNA isolation: template DNA used for PCR amplification method was isolated by phenol-chloroform extraction. The DNA concentration was determined by spectrophotometry at 260 nm and adjusted with sterile water to either 100 ng/μL or 200ng/μL, according to the PCR method employed. Fingerprinting were generated by PCR using 75 pmol of the primer RW3A 5'-T CGCTAAAACAACGACACC-3. PCR was performed as described by Netto dos Santos¹⁵. Analysis of DNA relatedness was determined by visual comparison of amplification patterns. Isolates with fingerprintings showing difference for one or more fragments were considered to be long to different clones.

RESULTS

Study population

From september 2000 to november 2000, out of 201 patients , 179 patients with a nontunnelled CVC inserted in jugular and subclavian vein could be analysed. Twenty-two patients to be excluded from evaluation due to removal of the catheter prior to day 3, accidental removal of the catheter, transfer of the patient to another unit or hospital. Of these 179 patients, nine presented the *S. aureus* simultaneously in two or three sites (CVC insertion site and/or catheter tip and/or blood).

Microbiology

Figure 01 shows the organisms that were identified in the insertion site, catheter tip and blood cultures. Because some insertion site and catheter tips cultures grew more than one organism, the numbers represented in the table exceed the total numbers of colonizations. The most common pathogens isolated in the insertion site(49,7%) and catheter tip(60,5%) was the coagulase negative staphylococci followed by *Staphylococcus aureus* obtained from 31,2% and 28,9% respectively. On the other hand *S. aureus* were more often isolated from BSIs as main agent of BSIs (41,4%) followed by the CoNS (28,9%) and GNB (17,2%).

Testing susceptibility

Twenty-one *S. aureus* studied they demonstrated to be MRSA (n=09) and MSSA(n=12). Antimicrobial susceptibility testing MRSA and MSSA strains

encountered in tables 01 and 02. MICs results revealed that all MRSA strains were resistant to high concentrations of oxacillin (256µg/mL)(Table 01) and among MSSA ones ranged of 0,125-0,250µg/mL(table02).

PFGE

Six and five patterns of PFGE and Rep-PCR, respectively (table 01) were observed among the *S. aureus* isolates. In 9 MRSA isolates (Three patients) one PFGE pattern was detected (Type A) distributed in three subtypes A1, A2 and A3, with respectively, 4,3 and 2 strains (Figure 02). There were four types(a, b, c and d) PFGE patterns found for 12 MSSA isolates identified with distinguished two subclones(a1 and a2). PFGe pattern a (three a1 and two a2) were the most frequently found among the MSSA isolates (Figure 03).

Rep-PCR

The Rep-PCR fingerprints could differentiate the nine isolates of MRSA into two strains patterns (A nd B) comprised of 4 and 5 strains, respectively. Three distinguished patterns (a, b and c) were observed for twelve MSSA isolates and the profile a was the commonest (five strais-ns) followed bt profile b (four strains) (Figure 04).

DNA fingerprinting and antibiotype

All the *S. aureus* isolates recovered from SI, PC and bloodstream exhibited identical both Rep-PCR and PFGE patterns. The resistance oxacillin by E-test (MIC) were similar in eight cases, differed by just one patient, were

infected/colonized with MSSA demonstrated different MICs (0,25 and 0,19 µg/mL). We verified in this study that MRSA and MSSA isolates demonstrated different antibiotic susceptibility patterns when compared the PFGE and Rep-PCR (Table 01 and 02).

DISCUSSION

In report from the NNIS system, involving data from 500,000 patients of by 87% bloodstream patients with central lines the *Staphylococcus epidermidis* (37%) and *Staphylococcus aureus* (13%) are microorganisms most frequently involved in CR-BSI according with NNIS data⁵. In this study the *Staphylococcus aureus* was the microorganism more encontrated in bloodstream (37%).

For microorganism to cause CR-BSI in must first again acess to the extralumem and intralumem surface of the catheter, where they can adhere and become incorporated into a biofilm that allows sustained infection and hematogenous dissemination. Staphylococci gain acess by the following mechanisms: skin organisms invade the percutaneously tract, probably facilitated by capillary action, at the time of insetion or in the days afterward; microorganisms contaminate the catheter hub and lumen when the catheter is inserted over a percutaneous guideware or when it is late manipulated; or organisms are carried hematogeously to the implanted IVD from remote sources if local infection, such as a pneumonia^{16,17}.

In spite of the presence of *S.aureus* on the pericatheter increase the risk bloodstream infection by 26 fold¹⁸.The evidence of the pathogenesis of CVC-

associated infection due *S. aureus* is scarce. Maki et al¹⁹ studied the CR-BSI demonstrated, using PFGE of genomic DNA of isolates of *S. aureus*, as many as 5 of the 11 cases of CR-BSI may originate from the skin around the insertion site. In the short term (<8 days), catheter colonization most commonly results from skin microorganisms (75-90%). There are meaningful reports by molecular typing showing that patients had the same organisms isolated from their noses, skin surrounding the catheter, catheter tip and blood^{20, 21, 22}. In this study, between four patients with CR-BSI three demonstrated the same microorganisms in both skin pericatheter and bloodstream (75%).

Another risk factor associated with CR-BSI caused by percutaneously inserted, noncuffed CVC included: the importance of heavy colonization of insertion site (RR=6,3-56,5), surgical service (RR=4,4) and site dressing could have considerable influence on the incidence of catheter related infection²³. In our study can be observed lack of the occlusive dressing and high colonization in the insertion site of CVC in these patients (data not demonstrated).

A large number of DNA-based methods have been developed for typing MRSA and MSSA strains. Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) analysis is an accurate, reliable, and discriminatory method used by many hospital and reference laboratories²⁴, but it is technically demanding and time-consuming. Compared to PFGE analysis, PCR-based typing methods offer the advantages of rapidity and simplicity but have shown limitations, either in intercenter pattern reproducibility, as described for arbitrarily primed PCR (AP-PCR) analysis²⁵. Compared to the latter assays, repetitive-element PCR (rep-PCR) analysis based on multicopy elements of the staphylococcal genome has shown good reproducibility and discriminatory

power in single-center studies^{26,27}. In this investigation, the PFGE discriminate six different patterns between MRSA and MSSA isolates while the Rep-PCR only five patterns. Among the MRSA isolates of PFGE grouping samples that presented the same pattern for the Rep-PCR. However, between MSSA strains the PFGE differentiated those isolates with identical PCR fingerprinting.

Because of the methods that use phenotyping alone cannot accurately distinguish between strains relatedness staphylococci, DNA fingerprinting is required to clarify the epidemiology of staphylococci catheter related bacterial bloodstream infection. Antibiotic susceptibility patterns may also be used, but these lack discriminatory power, and may also falsely indicate that isolates are distinct²⁸. When we compared the susceptibility pattern to the antibiogram with the PFGE and Rep-PCR we observed that the same PFGE and Rep-PCR pattern exhibited different antibiotic susceptibility patterns, while strains with different PFGE and Rep-PCR patterns had the same antibiotic susceptibility pattern. Thus, the relationship between antimicrobial susceptibility and PFGE and Rep-PCR patterns was contradictory.

The study of the epidemiology and aetiology of *S. aureus* catheter related bloodstream infection requires an accurate means of identifying strain relatedness is needed to prevent the occurrence of such infections. Our present study has produced further evidence to indicate that the colonisation of the skin insertion site is important in the development of catheter related bloodstream infection. In three out of four cases of catheter related bloodstream infection the skin pericatheter was colonized by 200 UFC/20cm².

In conclusion, this study those used molecular techniques (PFGE and Rep-pCR) evidenced the aetiology of CR-BSIs for *S. aureus*, the skin insertion site of CVC as source of the microorganism, your migration through intra/extraluminal until the catheter tip and of these for bloodstream. PFGE demonstrated larger power discriminatory than Rep-PCR, however the Rep-PCR can used with initial evaluation for identification of the microorganisms involved in CR-BSIs and an understanding of their aetiologies.

Figure 01. Microorganisms isolated from insertion site, catheter tip and bloodstream.

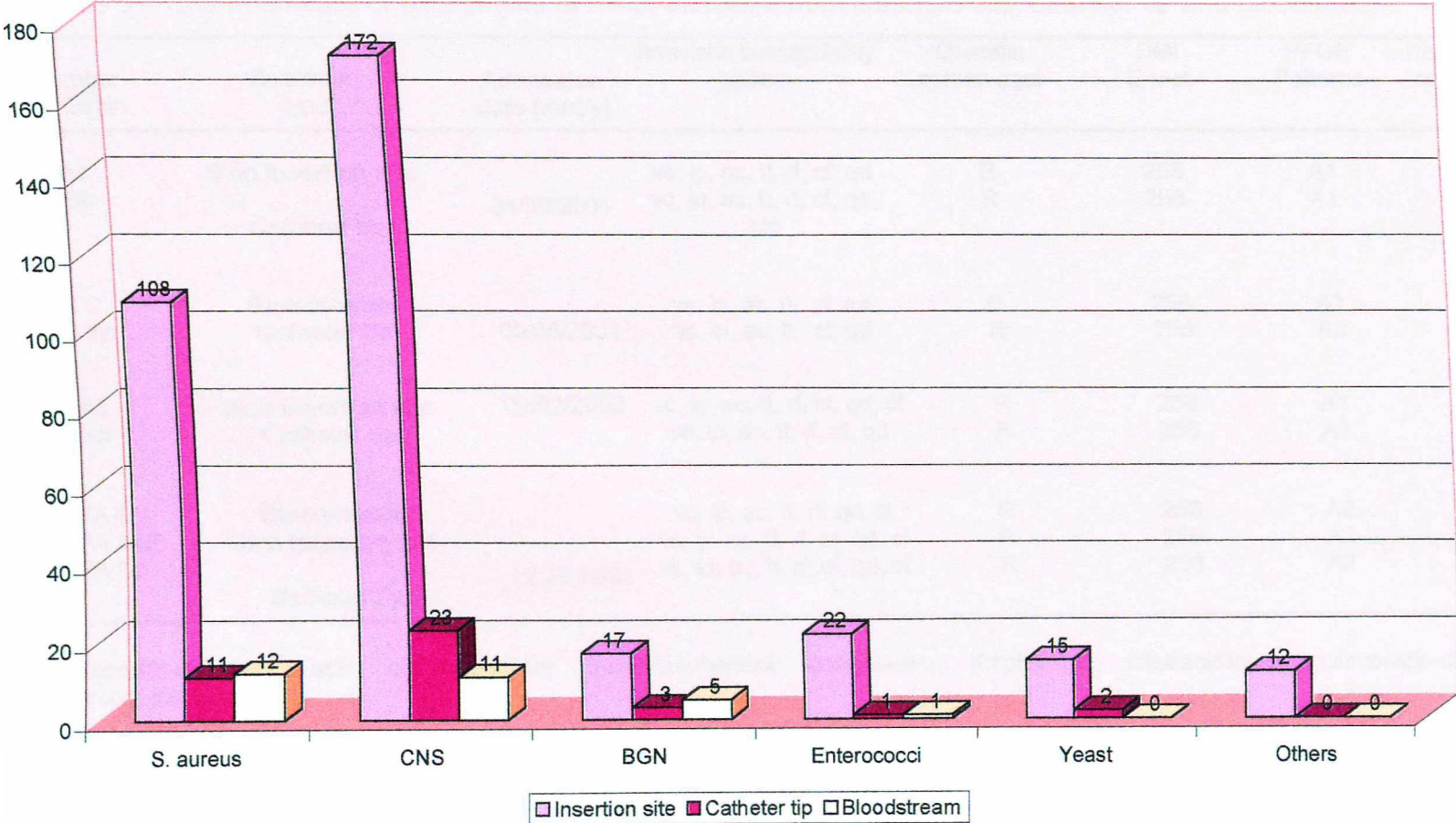


Table 01. Characteristics of nine strains of MRSA isolated from insertion site, catheter tip and bloodstream.

Number of Strain	Specimen type	Admission date (m/d/y)	Antibiotic susceptibility pattern	Oxacillin screen agar	CMI E-test	PFGE Patterns	Rep-PCR patterns
7 Ac 7 Bp	Skin insertion site	04/30/2001	vc, ip, ac, tt, rf, cf, qd	R	256	A1	a
	Catheter tip		vc, ip, ac, tt, rf, cf, qd, clo	R	256	A1	a
13 S 13 Bp	Bloodstream	05/08/2001	vc, ip, ac, tt, cf, qd	R	256	A3	b
	Catheter tip		vc, ip, ac, tt, cf, qd	R	256	A3	b
3 Ac 3 Bp	Skin insertion site	09/02/2002	vc, ip, ac, tt, rf, cf, qd, cl	R	256	A1	a
	Catheter tip		vc, ip, ac, tt, rf, cf, qd	R	256	A1	a
JPA S	Bloodstream	02.28.2002	vc, ip, ac, tt, rf, qd, cl	R	256	A2	b
JPA Ac2	Skin insertion site		vc, ip, ac, tt, rf, cf, qd, cl	R	256	A2	b
JPA Bp	Catheter tip		vc, ip, ac, tt, rf, cf, qd, cl	R	256	A2	b

amoxicillin-clavulanic acid; cf: cephalotin; cl-chloranphenicol; ip:imipenem; rf:riphampin; tt:tetracilin; qd:quinupristin-dalshopristin; vc:vancomycin

Table 02. Characteristics of 12 strains of MSSA isolated from insertion site, catheter tip and bloodstream.

Number of Strain	Specimen type	Admission date (m/d/y)	Antibiotic resistance pattern	Oxacillin agar screen	CMI E-test	PCR Patterns	PFGE Patterns
441 a	Bloodstream		ac	S	0,19	a	a1
442 a	Skin insertion site	11/21/2000	ac, er	S	0,19	a	a1
443 a	Catheter tip		ac, ap	S	0,19	a	a1
13 Ac	Skin insertion site	05/08/2001	ac	S	0,25	b	e
4 Ac	Skin insertion site	08/22/2001	ac, er	S	0,19	a	a2
4 Bp	Catheter tip		er	S	0,19	a	a2
9 Ac	Skin insertion site	08/23/2001	ac, er	S	0,25	b	b
9 Bp	Catheter tip		s	S	0,25	b	b
17-1	Bloodstream		er	S	0,25	b	c
17-3	Skin insertion site	12/06/2001	ac, er	S	0,19	b	c
ANC S	Bloodstream		er	S	0,125	c	d
ANC Bp	Catheter tip	04/03/2002	er	S	0,125	c	d

ac:

amoxacillin-clavulanic acid; ap:ampicillin; er:erythromycin; S:susceptible all antimicrobial tested

A

01 02 03 04 05 06 07 08 09 10

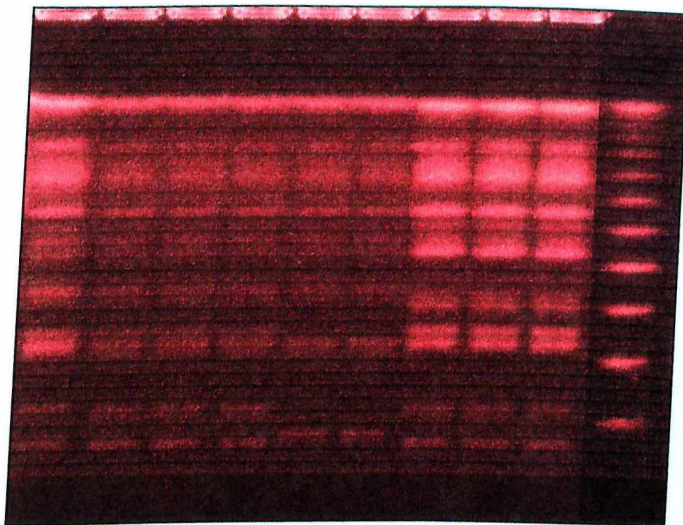
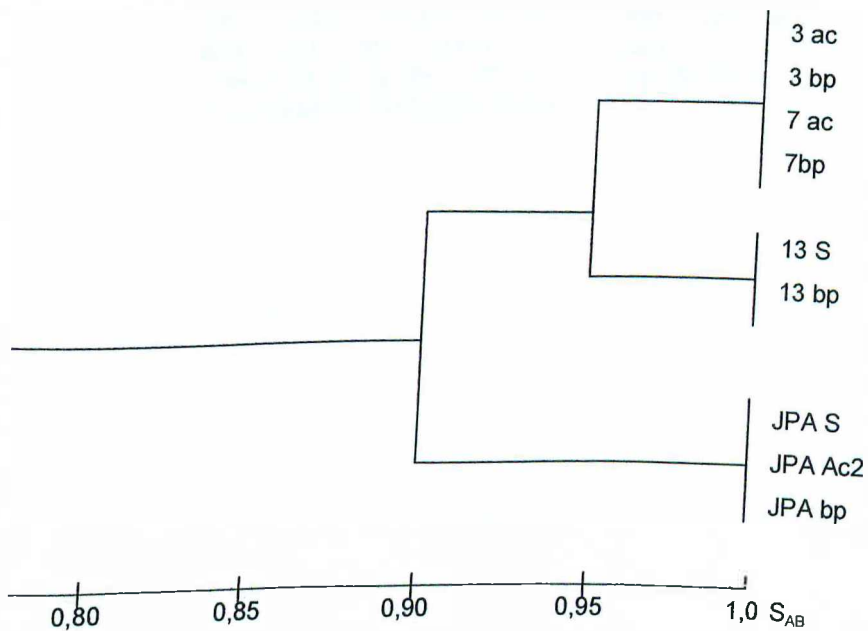


Figure 02.(A) PFGE patterns of *Smal*-digested chromosomal DNA from MRSA isolated of multiple site of CVC. Lanes 1-4 : strains 3Ac, 3 Bp, 7Ac, 7Bp; Lanes 5-6: strains: 13S, 13Bp; Lanes 7-9: strains JPA S, JPA Ac2, JPA Bp; Lane 10: DNA size marker lambda ladder 100 pb. (B) Similarity Dendogram of PFGE MRSA pattern.

B



A

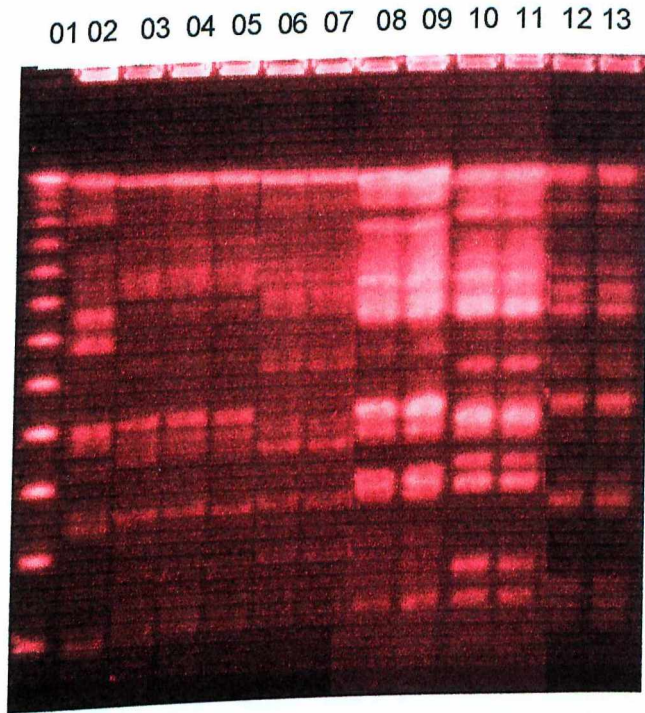
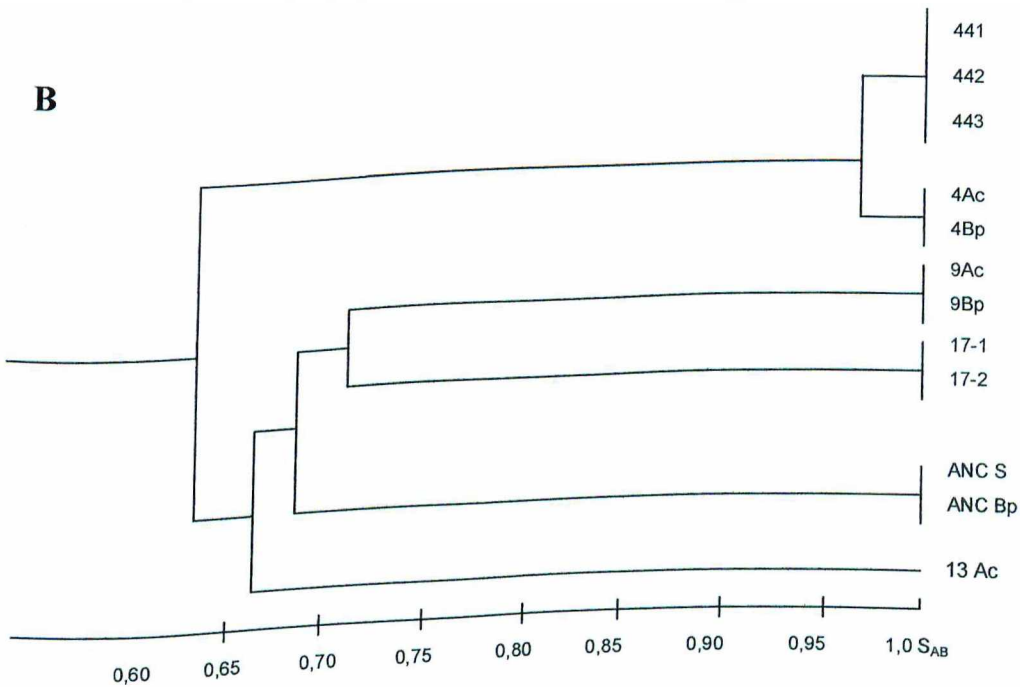


Figure 03. (A)PFGE patterns of SmaI-digested chromosomal DNA from MSSA isolated of mutiple site of CVC. Lane 01: DNA size marker lambda ladder; Lane 02: strain 13Ac; Lanes 3-5: strains 441a, 442a, 443a;Lanes 6-7: strains 4Ac, 4Bp; Lanes 8-9: strains 9Ac, 9Bp; Lanes 10-11: strains 17-1, 17-2 ;Lanes 12-13: strains ANC S, ANC Bp.(B) Similarity Dendogram PFGE MSSA Pattern



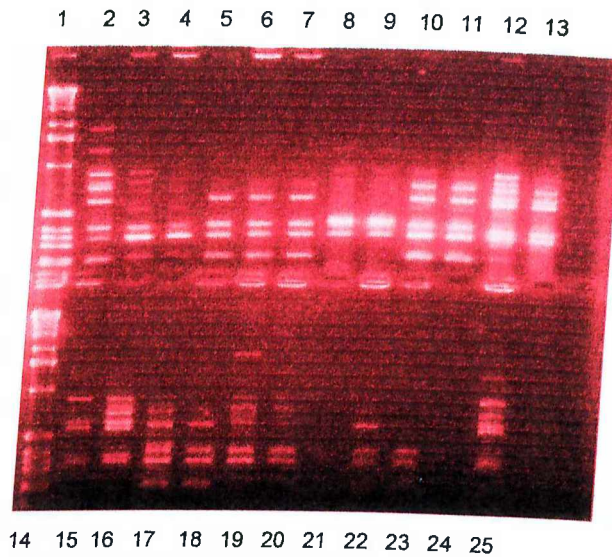


Figure 04. Rep-PCR generated DNA fingerprinting from *S. aureus* (MRSA/MSSA) isolated from multiple site of CVC. Lane 1: DNA size marker; Lane 2: MRSA control; lanes 3-4: strains 17-1 and 17-3; lanes 5-7: strains JPA-S, JPA-Bp, JPA-Ac; lanes 8-9: strains ANC-S, ANC-Bp; lanes 10-11: strains 3Bp, 3Ac; lanes 12-13: strains 4Bp, 4Ac; lanes 15-16 and 25: strains 443a, 442a, 441a; lanes 17- 18: strains 7Ac, 7Bp; lanes 19-20: strains 9Ac, 9Bp; lanes 21-23: strains 13S, 13Bp, 13Ac; lane 24: PCR negative control.

REFERENCES

01. Crnich CJ, Maki DG. The promise of novel technology for the prevention of intravascular device-related bloodstream infection. Pathogenesis and short-term devices. *Clin Infect Dis*, 2002; 34:1232-1242.
02. Maki DK, Stolz SM, Wheeler S, Mermel LA. Prevention of central venous catheter-related bloodstream infection by use of an antiseptic-impregnated catheter: a randomized, controlled trial. *Ann Intern Med*, 1997;127:257-266.
3. Sheretz RJ. Pathogenesis of vascular catheter-related infections. In: Seifert H, Jansen B, Farr BM, eds. *Catheter-related infections*. New York: Marcel Dekker, 1997; 1-30.
4. Darouiche RO. Device-associated infections: a macroproblem that starts with microadherence. *Clin Infect Dis*, 2001; 33: 1567-1572.
05. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Guidelines for the Prevention of Intravascular Catheter-Related Infections. *Morbidity Mortality Weekly Report*, 2002, 51: n. RR-10, 32 .
06. Eiff CV, Peters G, Hellmann, C. Pathogenesis of infections due to coagulase-negative staphylococci. *Lancet Infect Dis*, 2002, 02: 677-685
07. Vaudaux P, Francois P, Lew DP, Waldvogel FA. Host factors predisposing to and influencing therapy of foreign body infections. In: Waldvogel FA, Bisno AL, eds. *Infections associated with indwelling medical devices*, 3rd edn. Washington DC: American Society for Microbiology, 2000: 1-26.

08. Dobbins BM, Kite P, Kindon A, McMahon MJ, Wilcox MH. DNA fingerprinting analysis of coagulase negative staphylococci implicated in catheter related bloodstream infections. *J Clin Pathol*, 2002,55:824-828.
09. Maki D.G., Ringer M., Alvarado C.J. Prospective randomised trial of povidine-iodine, alcohol, and chlorhexidine for prevention of infection associated with central venous and arterial catheters. *Lancet*, 1991, 338: 339-343.
10. Brun-Buisson C, Abrouk F, Legrand P, Huet Y, Larabi S, Rapin M. Diagnosis of central venous catheter-related sepsis: Critical level of quantitative tip cultures. *Arch Intern Med*, 1987, 147: 873-877.
11. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests*, 1997a, 17: 01
12. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically*, 1997 b, 17: 02
13. Jorgensen R, Givney R, Pegler M, Vickery A, Funnell G. Typing multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* at two affiliated hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 1993,34: 398-403.
14. Tenover, FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, SWAMINATHAN B. Interpreting Chromosomal DNA Restriction Patterns Produced by Pulsed-Field Gel Electrophoresis: Criteria for Bacterial Strain Typing. *J Clin Microbiol*, 1995, 33: 2233-2239.
15. Netto dos santos KR, Fonseca LS, Teixeira LM, Gontijo Filho PP. Typing of *Staphylococcus aureus* from surgical site infections: comparison of pulsed-field gel

- electrophoresis(PFGE) and PCR technique using repetitive extragenic palindromic(rep) and Tn916-shine-Dalgarno (TnSD) target sequences. *Int J Med Microbiology* , 2001, 291: 231-236.
16. Pascual A. Pathogenesis of catheter-related infections: lessons for new designs. *Clin Microbiol Infect* ,2002, 8: 256–264.
17. Bouza E, Burillo A, Munoz P. Catheter-related infections: diagnosis and intravascular treatment. *Clin Microbiol Infect*, Volume 8 Number 5, May 2002
18. Sheretz JR. Pathogenesis of vascular catheter infection. In: Waldvogel FA, Bisno AL, eds. *Infections associated with indwelling medical devices*, 3rd edn. Washington DC. American Society for Microbiology, 2000, 111–125.
19. Darouiche RO, Raad II, Heard SO, MAYHALL G. A comparison of two antimicrobial-impregnated central venous catheters. *N England J Med*, 1999, 340: 01-08.
20. Frebourg NB, Cauliez B, Lemeland JF. Evidence for nasal carriage of methicillin-resistant staphylococci colonizing intravascular devices. *J Clin Microbiol*, 1999, 37:1182-1885.
21. Sharma M, Riederer K, Johnson LB, Khatib R. Molecular Analysis of coagulase-negative Staphylococcus isolates from blood cultures: prevalence of genotypic variation and polyclonal bacteremia. *Clin Infect Dis*, 2001, 33: 1317-1323.
22. Khatib R, Sharma M, Anwar S, Naqvi H, Riederer K, Almoujahed MO, Fakhri MG. Molecular Analysis of Staphylococcus aureus Blood Isolates Shows Lack of Polyclonal Bacteremia. *J Clin Microbiol*, 2003,41: 1717-1719.

23. Safdar N, Kluger DM, Maki DG. A review of risk actors for CR-BSI caused by percutaneously inserted, noncuffed central venous catheter. *Medicine*, 2002, 81: 466-479, 06.
24. Olive M, Bean P. Principles and Applications of Methods for DNA-Based Typing of Microbial Organisms. *J Clin Microbiol*, 1999, 37: 1661-1669.
25. van Belkum A, Kluytmans J, van Leeuwen W, Bax R, Quint W, Peters E, Fluit A, Vandenbroucke-Grauls C, van den Brule G, Koeleman H, Melchers W, Meis J, Elaichouni A, Vaneechoutte M, Moenens F, Maes N, Struelens M, Tenover F, Verbrugh H. Multicenter evaluation of arbitrarily primed PCR for typing of *Staphylococcus aureus* strains. *J. Clin. Microbiol*, 1995, 33:1537-1547.
26. van der Zee A, Verbakel H, van Zon JC, Frenay I, van Belkum A, Peeters M, Buiting A, Bergmans A. Molecular genotyping of *Staphylococcus aureus* strains: comparison of repetitive element sequence-based PCR with various typing methods and isolation of a novel epidemicity marker. *J. Clin. Microbiol*, 1999, 37:342-349.
27. Deplano A, Schuermans A, Van Eldere J, Witte W, Meugnier HLN, Etienne J, Grundmann H, Jonas D, Noordhoek T, Dijkstra J, Van Belkum A, Van Leeuwen A, Tassios PT, Legakis NJ, Van Der Zee A, Bergmans A, Blanc DS, Tenover FC, Cookson BC, O'neil G, Struelens MJ. Multicenter Evaluation of Epidemiological Typing of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains by Repetitive-Element PCR Analysis. *J Clin Microbiol*, 2000, 38:3527-3533, 10.
28. Perdreau-Remington F. Programme and abstracts of 8th international symposium on staphylococci and staphylococcal infections. Aix-Les-Bains, France, 1996. Abstract P301.

5- DISCUSSÃO

Nos Estados Unidos, médicos inserem mais de cinco milhões de cateteres intravasculares todos os anos. Os cateteres intravasculares permitem medida de variáveis hemodinâmicas, que não podem ser medidas com precisão através de meios não-invasivos, e da administração de medicamentos e nutrição parenteral que não podem ser dados seguramente através de cateteres periféricos (HODGE, 2002). Infelizmente, o uso de cateteres intravasculares está relacionado com complicações sistêmicas e locais, incluindo, infecção local no sítio de inserção, CR-BSI, tromboflebite séptica, endocardites e outras infecções metastáticas (por exemplo, abscessos no pulmão e cérebro, osteomielite,...)(VIOT, 2000; McGEE, GOULD, 2003; KLERK, SMORENBURG, 2003). Estas complicações podem ocorrer em 5% a 19% dos pacientes decorrentes de complicações e trombose e 5% a 26% quando relacionadas a bacteremia e candidemia (MERRER, 2001). As infecções de corrente sanguíneas associadas aos dispositivos intravasculares apresentam taxas de morbidade (>250.000 pacientes/ano) e mortalidade atribuída (12-25%, nos EUA) considerável (DIGIOVINE, 1999; SOUFIR, 1999; RELLO, 2000).

A incidência de CR-BSIs varia consideravelmente com o tipo de cateter, mas a maioria(90%) está associada com o uso de CVCs não-tunelados de curta duração inseridos em veia jugular interna e subclávia (KLUGER, MAKI, 2000), como os CVCs analisados em nosso estudo.

A proporção de CR-BSIs varia de 2,5% a 6,4% (BACH, 1996; TENNENBERG, 1997; HEARD, 1998; HANNAN, 1999) ou apresenta taxas correspondentes a 2,4-12,0 episódios por 1000 dias/CVC (BARSIC, 1999; WALLACE, 1999; EGGIMANN,

2000; FINKELSTEIN, 2000; RICHARDS, 2000; SHERETZ, 2000). Em nossa avaliação as taxas foram de 2,2% ou de 4,9 episódios por 1000 dias/cateter, com a ressalva importante de não se tratar de pacientes internados em unidade crítica.

Uma série de estudos publicados nos anos noventa com CVCs não impregnados com antissépticos/antimicrobianos demonstrou uma variação na taxa de colonização destes cateteres da ordem de 23,6% a 52,2% em pacientes internados em UTIs (BACH, 1996; LOO, 1997; MAKI, 1997; TENNENBERG, 1997; HEARD, 1998; HANNAN, 1999; MARIK, 1999). Neste estudo a taxa de colonização dos CVCs foi menor, sendo de 21,2%.

Os fatores de risco associados com CR-BSIs são numerosos e podem ser divididos em intrínsecos, incluindo os característicos do paciente e do agente etiológico, polímero utilizado e contaminação durante o preparo do infundido, e extrínsecos (SHERETZ, 2002a) destacando-se pelo seu OR/RR ou pela relação com aspectos detectados no HC-UFU, os seguintes: serviço de cirurgia, hospitalização prolongada, cuidado em UTI, infecção ativa em outro sítio, prematuro de baixo peso, dificuldade na inserção do CVC, "score" APACHE alto, sítio de inserção do CVC (veias jugular interna/femoral), tipo de curativo, colonização da pele no sítio pericateter, duração do cateterismo (>7/10 dias), colonização do canhão do cateter, nutrição parenteral, entre outros (SAFDAR, 2002). Foram detectados na nossa investigação os seguintes fatores de risco para CR-BSI através de análise de regressão logística: colonização no SI ≥ 200 UFC/20cm² e na ponta do cateter $\geq 10^3$ UFC.

Estudos têm demonstrado que um importante fator de risco associado à colonização da PC e do canhão do CVC é a colonização no sítio cutâneo pericater (EGEBO, 1996; MAHIEU et al, 2001). Esta colonização demonstrou ser um fator de risco independente para colonização da PC em nosso estudo, mas também encontramos outros fatores de risco significantes associados, a esta colonização, que foram: tempo de internação maior ou igual há quatorze dias e cateterização por mais de sete dias.

Nos CVCs de duração inferior a oito dias a colonização do cateter resulta mais comumente (75-90%) da migração extralúmen de microrganismos da pele até a ponta do cateter no interior do vaso (SHERETZ, 2000a). O risco de CR-BSI apresenta um RR para colonização no sítio de inserção de 6,3-56,5 (SAFADAR, 2002). Essas observações sugerem que os curativos aplicados neste local podem ter influência considerável na incidência destas infecções (ENGERVAL, 1995; NIKOLETTI, 1999; CURCHOE, 2002). Na maioria das enfermarias e unidades do HC-UFU prevalece a prática da não utilização frequente de curativo oclusivo neste procedimento invasivo. Nesta série, verificamos que apenas 16 pacientes (8,94%) tinham curativo oclusivo e destes 87,5% apresentavam contagens <200 UFC/20 cm² na pele pericater, demonstrando assim a importância da utilização do curativo oclusivo como prática de prevenção de CR-BSI.

O sítio anatômico de inserção do CVC é usualmente a veia jugular interna e subclávia, como referido anteriormente, sendo que a veia subclávia está mais associada a complicações como pneumotórax e hemotórax do que a subclávia (McGEE, GOULD, 2003). Já, a inserção percutânea na jugular interna apresenta um

risco substancialmente maior de infecção do que na subclávia (RUESCH et al, 2002). Nesta série, embora fossem identificadas diferenças significativas, tanto em análise univariada (tempo de cateterização, de internação e uso de dispositivos invasivos) e multivariada (tempo de cateterização e internação igual ou superior a 14 dias, uso de três ou mais dispositivos invasivos), as avaliações microbiológicas não evidenciaram diferenças quantitativas no sítio de inserção do CVC.

A maioria dos microrganismos implicados nas CR-BSI fazem parte da microbiota normal da pele (DAROUCHE et al, 1999; HEARD, 1998). Os cocos Gram-positivos são responsáveis por pelo menos dois terços destas infecções. Os estafilococos coagulase negativos (*Staphylococcus epidermidis*) são os agentes mais comuns, seguidos pelo *S. aureus*, Enterococos, Bacilos Gram-negativos e fungos leveduriformes (CDC-2002a). Diferentemente, no nosso trabalho, o *S. aureus* (38%) foi o patógeno mais freqüente, superando os CoNS (34%), seguindo-se dos BGN (24%). Foi detectado apenas um caso de infecção de corrente sanguínea causada por enterococos e não foi diagnosticado nenhum caso de candidemia.

Em revisão publicada por RAAD, HANNA (2002), sobre uma série de estudos prospectivos realizados na década de 90, demonstrou que os microrganismos mais isolados da ponta do cateter foram os CoNS e, ao contrário, no sangue foi detectada uma maior freqüência de *S. aureus*. Estudos mais recentes, também demonstraram uma presença mais freqüente de CoNS colonizando a ponta do cateter (DOBBINS et al, 2002; MAHIEU et al, 2001). Em nossa investigação, a exemplo destes estudos, a freqüência de pontas colonizadas por CoNS foi de 60% e pelo *S. aureus* de 30%. No entanto quando avaliamos a presença destes microrganismos no sangue

observamos uma maior porcentagem de hemoculturas positivas com o *S. aureus* (38%) do que pelos CoNS (34,5%). O predomínio dos *S. aureus* em relação aos CoNS isolados de sangue também foi referido em outras investigações (BANTAR et al, 2002; ONCU et al, 2003; RICHARDS et al, 2003).

O diagnóstico microbiológico de uma CR-BSI é de grande importância, pois a sua terapêutica varia de acordo com o agente isolado e com o seu fenótipo de resistência. Os CoNS apresentam normalmente taxas de mortalidade atribuída inferior àquelas relativas ao *S. aureus*, BGN e *Candida* (VALLES, LEON, ALVAREZ-LERMA, 1997; RELLO et al, 2000). Como comentado anteriormente, um outro aspecto importante, a ser observado, em relação a estas infecções é o problema de resistência aos antimicrobianos, pois muitos dos agentes responsáveis por causar CR-BSI, CoNS, *S. aureus*, enterococos, BNG e *Cândida*, são comumente resistentes aos antimicrobianos utilizados rotineiramente no tratamento (NNIS, 2001). As infecções por CoNS e *S. aureus* resistentes a oxacilina vem apresentando uma frequência crescente, principalmente em hospitais terciários e/ou ensino, respondendo por mais de 30% dos isolados em alguns hospitais brasileiros, 34% nos americanos e cerca de 1,8-54% nos países da Europa (MOREIRA et al, 1998; DIEKMA et al, 2001), enquanto que estes fenótipos de CoNS podem atingir taxas de até 85,5% (FREBOURG, CAULIEZ, LEMELAND, 1999). Em um estudo anterior realizado no HC da Universidade Federal de Uberlândia verificamos uma frequência de amostras resistentes a oxacilina de 44% entre os isolados de *S. aureus* (SADOYAMA, GONTIJO FILHO, 2000). Nesta série, foi observada uma proporção singular de 41% de MRSA e de MRCoNS de 45%.

As maiorias das amostras de MRSA são também resistentes a vários antibióticos, incluindo betalactâmicos, aminoglicosídeos, macrolídeos, fluoroquinolonas, cloranfenicol, mupirocina e outros (CHAMBERS, 1997), sendo a vancomicina e teicoplanina as drogas de escolha para o tratamento de infecções graves por estes microrganismos (SENSON, HINDLER, PETERSON, 1999). Recentemente, duas novas drogas, dalfopristina/quinupristina e linezolida surgiram como opções para o tratamento de infecções causadas por MRSA (BAVHNAMI, BALLOW, 2000). Em nossa investigação verificamos a associação de resistência a oxacilina com multirresistência; os isolados de MRSA demonstraram suscetibilidade total somente a três antimicrobianos (imipenem, dalfopristina/quinupristina e linezolida).

As vias de contaminação por estafilococos propostas para a ponta do CVC e subsequente CR-BSI são a extraluminal no CVC de curta duração (<8 dias) e intraluminal para os de longa duração (>8dias) e através da corrente sanguínea em pacientes críticos (CRNICH, 2002) como foi referido anteriormente. A avaliação da colonização no sítio de inserção do CVC foi um fator de risco independente associado à colonização do CVC, em nosso estudo, demonstrando assim a importância da pele como reservatório destes microrganismos para uma colonização da ponta do CVC.

Em relação à patogênese das CR-BSIs, enquanto os *S. epidermidis* e outros CoNS usualmente aderem à superfície do polímero do CVC formando "slime"/glicocálix após a sua inserção no sistema vascular, já no *S. aureus* o principal mecanismo é mediado por adesinas protéicas na parede celular bacteriana que

reconhece fibrinogênio e fibronectina no biofilme que recobre a ponta do CVC (FOSTER, ROOK, 2002; EIFF, PETERS, HEILMAN, 2002).

Em relação à patogênese de CR-BSIs causadas por *S. aureus* a importância da colonização nasal por este microrganismo está estabelecida (KLUYTMANS, VAN BELKUM, VERBRUGH, 1997). SESSO et al (1998) demonstraram que a descolonização nasal diminui o risco de colonização pericater em oito vezes e de CR-BSI em quatro vezes. LIVESLY (1998) relatou que a presença de *S. aureus* na narina aumentou em três vezes o risco de BSI e havia um aumento de vinte e seis vezes no risco deste tipo de infecção, quando da sua presença na pele no sítio pericater. A colonização nasal por *S. aureus* nos pacientes incluídos neste estudo não foi aferida como fator predisponente dessa infecção, mas a presença de $200 \text{ UFC}/20 \text{ cm}^2$ no sítio de inserção do CVC constituiu um fator independente de risco para CR-BSI (OR=6,89).

A carga bacteriana na ponta do CVC está relacionada com a positividade de culturas da ponta do CVC, culturas de sangue e, portanto com CR-BSI (RIJNDERS, WIJNGAERDEN, PEETERMANS, 2002). Neste estudo, levando em consideração somente os casos de sepse por *S. aureus* a colonização da ponta do cateter $\geq 10^2 \text{ UFC}$ foi um fator significativo para CR-BSI (OR=7,85) por análise de regressão logística múltipla.

A utilização de técnicas de epidemiologia molecular, particularmente de "DNA fingerprinting", no estudo de surtos hospitalares e na patogênese de muitos microrganismos de importância médica tornou-se uma rotina (OLIVE, BEAN, 1999). Em relação às CR-BSIs, cuja etiologia tem os ECNs como grupo mais importante,

existem várias publicações relatando o isolamento de estafilococos em diferentes sítios anatômicos (pele do SI do CVC, ponta de cateter e sangue) como sendo amostras idênticas, ou seja, apresentando o mesmo perfil de "DNA fingerprinting" (FREBOURG, 1999; SHARMA et al, 2001; DOBBINS et al, 2002). Além disso, há evidências da predominância de certos clones nestas infecções, mas alguns estudos demonstram que as amostras recuperadas destes sítios não são relacionadas (SHERETZ, 2002).

As informações em relação à patogênese de CR-BSIs causadas por *S. aureus* são mais escassas (MAKI et al, 1997; DAROUICHE et al, 1999), provavelmente em função da sua menor participação nesta síndrome infecciosa (5-15%) (CDC, 2002b), e não pertencer a microbiota normal da pele (HADAWAY, 2003). Na nossa investigação foram analisadas 21 amostras de *S. aureus* provenientes de nove pacientes isoladas dos seguintes sítios anatômicos: pele pericateter (n=8), ponta do cateter(n=8) e sangue(n=5), através de tipagem molecular confirmando uma etiologia policlonal das CR-BSIs.

A técnica de PFGE é considerada padrão para análise molecular do *S. aureus* (TENOVER, 1995; LIVESLY et al, 1998; NETTO DOS SANTOS et al, 2001), mas outros métodos genotípicos como o Rep-PCR (DEPLANO et al, 2001) são úteis em estudos epidemiológicos de infecções hospitalares causadas por este microrganismo (VAN DER ZEE ET AL, 1999), particularmente em função de seus custos mais baixos e de sua maior simplicidade (OLIVE, BEAN, 1999). Quando comparamos o PFGE e o Rep-PCR na discriminação das 21 amostras referidas anteriormente, verificamos que o PFGE apresentou um melhor poder discriminatório, com seis

padrões diferentes, do que o Rep-PCR que evidenciou cinco genótipos distintos, sendo que quatro pacientes apresentaram o mesmo tipo clonal nos isolados da ponta e sítio de inserção do CVC e outros dois entre sítio de inserção/Sangue e ponta do CVC/Sangue pelas duas técnicas; nos três pacientes restantes, com amostras provenientes dos três sítios, dois apresentaram padrão clonal idêntico por ambas às técnicas, confirmando a pele pericaterter como a fonte dos isolados de *S. aureus* do sangue, com a sua possível migração extralúmen até ponta do cateter considerando que investigamos CVCs de curta duração (média de cateterização de sete dias).

6 – CONCLUSÕES:

- Os *S. aureus* e os CoNS foram responsáveis por dois terços das infecções de corrente sanguínea sendo o *S. aureus* o principal patógeno com taxa de incidência de 4,9 episódios de CR-BSIs por 1.000 dias/cateter;
- Cerca de um quinto das pontas de CVCs analisadas foram positivas para a presença de CoNS (60%) e *S. aureus* (30%), refletindo provavelmente problemas na área de microbiologia clínica do hospital, incluindo particularmente o número e volume de amostras de sangue coletadas para hemocultura.
- Os fatores de risco independentes relacionados com uma maior chance de contaminação da ponta do cateter foram: colonização no sítio de inserção, cateterização maior ou igual há sete dias e internação prolongada (> 14 dias);
- As técnicas moleculares utilizadas evidenciaram a etiologia das CR-BSIs causadas por *S. aureus*, tendo a pele no sítio de inserção do CVC como fonte do microrganismo.
- O PFGE mostrou maior poder discriminatório do que Rep-PCR para amostras de *S. aureus* associadas as CR-BSIs em pacientes internados no HC-UFU.

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Armstrong, C.W.; Mayhall, C.G.; Miller, K.B.; Newsome, H.H ; Sugerman, H.J.; Dalton, H.P.; Hall, G.O.; Gennings, C. Prospective study of catheter replacement and other risk factors for infection of hyperalimentation catheters. **Journal Infectious Diseases**, v. 154, p. 808–16, 1986.

BACH, A.; SCHMIDT, H.; BOTTIGER, B.; VOGEL, B. Retention of antibacterial activity and bacterial colonization of antiseptic-bonded central venous catheters. **Journal Antimicrobial Chemotherapy** ,v. 37,p. 315–22, 1996.

BANTAR, C.; BUSTOS, J.L.; VESCO, E.; MORERA, G. Central venous catheter-related infection: A prospective, observational study to asses the incidence rate at a teaching hospital in Argentina. **Infection Control Hospital Epidemiology**, v. 23, p. 757-758, 2002.

BARSIC, B.; BEUS, I.; MARTON, E.; HIMBELE, J.; KLINAR, I. Nosocomial infections in critically ill infectious disease patients: results of a 7-year focal surveillance. **Infection**, v. 27, p. 16–22, 1999.

BHAVNANI, S.M.; BALLOW, C.H. New agents for Gram-positive bacteria. **Current Opinion in Microbiology**, v. 03, p. 528–534, 2000.

BLOT, F.; SCHMIDT, E.; NITENBERG, G.; TANCREDE, B.; LECLERCQ, A.; LAPLANCHE, B.; ANDREMONT, A. Earlier positivity of central-venous versus peripheral-blood cultures is highly predictive of catheter-related sepsis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 36, p.105-109, 1998.

BLOT, F.; NITENBERG, G.; CHACHATY, E.; RAYNARD, B.; GERMANN, N.; ANTOUN, S.; LAPLANCHE, A.; BRUN-BUISSON, C.; TANCREDE, C. Diagnosis of catheter-related bacteremia: a prospective comparison of the time to positivity of

hub-blood versus peripheral-blood cultures. **The Lancet**, v. 354, p. 1071-1077, 1999.

BRUN-BUISSON, C.; ABROUK, F.; LEGRAND, P.; HUET, Y.; LARABI, S.; RAPIN, M. Diagnosis of central venous catheter-related sepsis: Critical level of quantitative tip cultures. **Archives of Internal Medicine**, v.147, p. 873-877, 1987.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Morbidity and Mortality Weekly Report Weekly *Staphylococcus aureus* Resistant to Vancomycin — **United States**, July 5, v. 51 , 2002a.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Guidelines for the Prevention of Intravascular Catheter-Related Infections. Morbidity and Mortality Weekly Report. v. 51, RR-10, p.01-29, 2002b.

CHAMBERS, H.F. Methicillin Resistance in Staphylococci: Molecular and Biochemical Basis and Clinical Implications. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 10, p. 781-791, 1997.

CHILLER,K.; BRYAN, A. S.; J. MURAKAWA, G. Skin Microflora and Bacterial Infections of the Skin. **Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings**, v.6,p.170- 174, 2001.

CLERI, D.J.; CORRADO, M.L.; SELIGMAN, S.J. Quantitative culture of intravascular catheters and other intravascular inserts. **The journal of Infectious Diseases**, v.141, p. 781-786, 1980.

COUTO, H.G. ; LELES, C.C.; LIMA, H.V.; ASSUNCAO, V.F.; RIBAS, R.M.; FILHO,A.D.; GONTIJO, P.P FILHO. Vancomycin use in a Brazilian University Hospital: Comparison with Hospital Infection Control Practices Advisory Committee Guidelines. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v.3, p. 139-143, 1999

CRNICH, C.J.; MAKI, D.G. The promise of novel technology for the prevention of intravascular device-related bloodstream infection. Pathogenesis and short-term devices. **Clinical Infectious Diseases**, v. 34, p.1232-1242, 2002.

CRUMP, J.A.; COLLIGNOM, P.J. Intravascular Catheter-associated infections. **European Journal Clinical of Infectious Diseases**, v. 19, p. 1-8, 2000.

CURCHOE, R.M.; POWERS, J.; EL-DAHER, N. Weekly transparent dressing changes linked to increased bacteremia rates. **Infection Control Hospital Epidemiology**. V.23, p. 730-732, 2002.

DAROUICHE, R.O.; RAAD I.I.; HEARD, S.O.; MAYHALL, G. A comparison of two antimicrobial-impregnated central venous catheters. **New England Journal Medicine**, v. 340, p. 01-08, 1999.

DAROUICHE, R.O. Device-associated infections: a macroproblem that starts with microadherence. **Clinical Infectious Diseases**, v. 33, p. 1567-1572, 2001.

DEPLANO, A.; SCHUERMANS, A.; VAN ELDERE, J.; WITTE, W.; MEUGNIER, H.L.N.; ETIENNE, J.; GRUNDMANN, H.; JONAS, D.; NOORDHOEK, T.; DIJKSTRA, J.; VAN BELKUM, A.; VAN LEEUWEN, A.; TASSIOS, P.T.; LEGAKIS, N.J.; VAN DER ZEE, A.; BERGMANS, A.; BLANC, D.S.; TENOVER, F.C.; COOKSON, B.C.; O'NEIL, G.; STRUELENS, M. J⁴ Multicenter evaluation of epidemiological typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains by repetitive-element PCR analysis. **The Journal Clinical Microbiology**, v. 38, p. 3527-3533, 2000.

DIEKEMA, D.J.; JONES, R.N. Oxazolidinones: A review. **Drugs**, v. 69, p.7-16, 2000.

DIEKEMA, D.J.; PFALLER, M.A.; JONES, R.N.; BEACH, M.; SENTRY PARTICIPANTS GROUP. Survey of infections due to Staphylococcus species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific Region for the SENTRY antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999. **Clinical Infectious Diseases**, v. 02, suppl 2, p. S114-132, 2001.

DIGIOVINE, B.; CHENOWETH, C.; WATTS, C.; HIGGINS, M. The attributable mortality and costs of primary nosocomial bloodstream infections in intensive care unit. **American Journal of Respiratory Critical Care Medicine**, v.160, p. 976-981, 1999.

DOBBINS, B.M.; KITE, P.; KINDON, A.; MCMAHON, M.J.; WILCOX, M.H. DNA fingerprinting analysis of coagulase negative staphylococci implicated in catheter related bloodstream infections. **Journal Clinical Pathology**, v.55, p.824-828, 2000.

DONLAN, R.M. Biofilms: Microbial Life on Surfaces. **Emerging Infectious Diseases**, v. 8, p. 881-890, 2002.

EGEBO, K.; TOFT, P.; JAKOBSEN, C.J. Contamination of central venous catheters. The skin insertion site wound is a major source of contamination. **Journal Hospital Infection**, v.32, p. 99-104, 1996.

EGGIMANN, P.; HARBARTH, S.; CONSTANTIN, M.N.; TOUVENEAU, S.; CHEVROLET, J.C.; PITTET, D. Impact of a prevention strategy targeted at vascular-access care on incidence of infections acquired in intensive care. **Lancet** v. 355, p. 1864-8, 2000.

- EIFF, C.V.; PETERS, G.; HEILMANN, C. Pathogenesis of infections due to coagulase-negative staphylococci. **Lancet Infectious Diseases**, v. 02, p. 677-685, 2002.
- ENGERVALL, P.; RINGERTZ, S.; HAGMAN, E.; SKOGMAN, K.; BJORKHOLM, M. Change of central venous catheter dressings twice a week is superior to once a week in patients with haematological malignancies. **Journal Hospital Infection**, v.29,p. 275-86, 1995.
- FINKELSTEIN, R.; RABINO, G.; KASSIS, I.; MAHAMID, I. Device-associated, device-day infection rates in an Israeli adult general intensive care unit. **Journal Hospital Infection** , v.44 ,p. 200-5, 2000.
- FOSTER, T.J.; HOOK, M. Molecular basis of adherence of *Staphylococcus aureus* to biomaterials , p.27-39. In F.A. Waldvogel, A.L. Bisno (eds). **Infections Associated with Indwelling Medical Devices**. 3rd ed. ASM Press, Washington, D.C. 2000.
- FRATINO, G.; MAZZOLA, C.; BUFFA, P.; TORRE,M.; CASTAGNOLA, E.; MAGILLO, P.; MOLINARI, A.C. Mechanical complications related to indwelling central venous catheter in pediatric hematology/oncology patients. **Pediatric Hematology and Oncology**,v. 18, n.05, p.317-24, 2001.
- FREBOURG,N.B.; CAULIEZ, B.; LEMELAND, J.F. Evidence for nasal carriage of methicillin-resistant staphylococci colonizing intravascular devices. **Journal of Clinical Microbiology**, v.37, n.04, p.1182-1885, 1999.
- GARNER, J.S.; JARVIS, W.R.; EMORI, T.G.; HORAN, T.C.; HUGHES, J.M. CDC definitions for nosocomial infections 1988. **Americam Journal of Infection Control**, v. 16, p.128-140, 1988. .

HADAWAY, L.C. Skin Flora and Infection. **Journal Infusion Nursing**, v. 26, p. 44-48, 2003.

HANNAN, M.; JUSTE, R.N.; UMASANKER, S. Antiseptic-bonded central venous catheters and bacterial colonisation. **Anaesthesia**, v. 54, p. 868-72, 1999.

HEARD, S.O.; WAGLE, M.; VIJAYAKUMAR, E. Influence of triple-lumen central venous catheters coated with chlorhexidine and silver sulfadiazine on the incidence of catheter-related bacteremia. **Archives Internal Medicine**, v. 158, p. 81-8, 1998.

HERWALDT, L.T. GEISS, M.; KAO, C.; PFALLER, M.A. The positive predictive value of isolating coagulase-negative staphylococci from blood cultures. **Clinical Infectious Diseases**, v. 2, p.14-20, 1996.

HIRAMATSU, K.; HANAOKI, H.; INO, T.; YABUTA, K.; OGURI, T.; TENOVER, F.C. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. **Journal Antimicrobial and Chemotherapy**, v. 40, p.135-136, 1997.

HODGE, D.; PUNTIS, J. W. L. Diagnosis, prevention, and management of catheter related bloodstream infection during long term parenteral nutrition. **Archives of Disease in Childhood Fetal and Neonatal**, v. 87, p. F21-F24,2002.

JORGENSEN, L.; , GIVNEY, R.; PEGLER, M.; VICKERY, A.; FUNNELL, G. Typing multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* at two affiliated hospitals. **Infection Control Hospital Epidemiology**, v. 34, p. 398-403, 1993.

KAYE, K. S. FRAIMOW, H.S.; ABRUTYN, E.; HARRIS, A.D.; GOLD, H. Pathogens resistant to antimicrobial agents. **Infectious Diseases Clinics of North America**, v. 14, p. 293-314, 2000.

KITE, P.; DOBBINS, B.M.; WILCOX, M.H.; McMAHON, M.J. Rapid diagnosis of central-venous-catheter-related bloodstream infection without catheter removal. **The Lancet**, v. 354, p 1540-1507, 1999.

KLERK,P.W, ; SMORENBURG, S.M.; BULLER, H.R. Thrombosis prophylaxis in patient populations with a central venous catheter. **Archives of internal medicine**, v.163, n.08, p. 1913-1921, 2003.

KLUGER, D.; MAKI, D. The relative risk of intravascular device-related bloodstream infections with different types of intravascular devices in adults: a meta-analysis of 206 published studies. **Infection Control Hospital Epidemiology**, v. 21, 95-96, 2000.

KLUYTMANS,J.; BELKUM,A.V.;VERBRUGH,H. Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus*: Epidemiology, Underlying Mechanisms, and Associated Risks. **Clinical microbiology reviews**, v.10, p. 505–520, 1997.

LAMB, H.M.; FIGGITT, D.P.; FAULDS, D. Quinupristin dalfopristin: a review of its use in the management of serious Gram-positive infections. **Drugs**, v, 58, p.1061-1097, 1999.

LIVERMORE, D. M. Antibiotic Resistance in staphylococci . **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.16,p .S3–S10, 2000.

LIVESLY, M.A.; TEBBS, S.E.; MOSS, M.A.; FAROQUI, M.H.; LAMBERT, P.A.; ELLIOT, T.S. Use of pulsed field gel electrophoresis to determine the source of microbial contamination of central venous catheters. **European Journal Clinical Infectious Diseases**, v. 17, p. 108-112, 1998.

LOO, S.; VAN HEERDEN ,P.V.; GOLLEGE, C.L.; ROBERTS, B.L. POWER, B.M. Infection in central lines: antiseptic-impregnated vs standard non-impregnated catheters. **Anaesthesia Intensive Care** , v. 25 , p. 637–639, 1997.

MAHIEU, L.M.; DeDOOY, J.J.; MUYNCK, A.O.; MELCHBECK, G.; LEVEN, M.M, VAN REEMPTS, P.J. Microbiology na drisk factors for catheter exit-ste and –hub colonization in neonatal intensive care unit patients. **Infection control Hospital Epidemiology**, v. 22, p. 357-362, 2001.

MAKI, D.G.; WEISE, C.E.; SARAFIN, H.W. A semi-quantitative culture method for identifying intravenous-catheter-related infection. **The New England Journal of Medicine**, v. 296, p. 1305-1309, 1977.

MAKI, D.G.; RINGER, M.; LVARADO, C.J. Prospective randomised trial of povidine-iodine, alcohol, and chlorexidine for prevention of infection associated with central venous and arterial catheters. **Lancet**; v. 338, p. 339-343, 1991.

MAKI, D.G.; STOLZ, S.M.; WHEELER, S.; MERMEL, L.A. Prevention of central venous catheter-related bloodstream infection by use of an antiseptic-impregnated catheter. A randomized, controlled trial. **Annals Internal Medicine**, v. 127, p. 257–266, 1997.

MAKI, D.G.; Infections due to infusion therapy. In: BENNETT J.V.; BRACHMAN P.S. eds. Hospital Infections. Boston, MA: **Little Brown and Co.** p.689-724, 1998.

MARIK, P.E.; ABRAHAM, G.; CAREAU, P.; VARON, J.; FROMM, R.E. The ex vivo antimicrobial activity and colonization rate of two antimicrobial-bonded central venous catheters. **Critical Care Medicine**, v. 27, p. 1128–1131, 1999.

MCGEE, D.C.; GOULD, M.K. Current Concepts: Preventing Complications of Central Venous Catheterization. **New England Journal of Medicine**, v.348, p.1123-1133, 2003.

MERMEL, L.A. Prevention of intravascular catheter-related infections, **Annals Internal Medicine**, v. 132, p. 391-402, 2000.

MERRER ,J. Complications of femoral and subclavian venous catheterization in critically ill patients: a randomized controlled trial. **Journal American Medical Association**, v.286, p.700-7, 2001.

MOREIRA,M.; MEDEIROS,E.A.S.; PIGNATARI,A.C.C.; WEY,S.B.; CARDO,D. M. Efeito da infecção hospitalar da corrente sanguínea por *Staphylococcus aureus* resistente à oxacilina sobre a letalidade e o tempo de hospitalização. **Revista Associação Médica Brasileira**, v. 44, p. 263-268, 1998.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (**NCCLS**). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, 6 th ed., approved M2-A6, 1997a.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (**NCCLS**). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically, 4 th ed., approved standard M7-A4, 1997b.

NATIONAL NOSOCOMIAL INFECTIONS SURVEILLANCE (NNIS) SYSTEM REPORT, Data Summary from January 1992-June 2001, issued August 2001. **American Journal Infection Control**. v.29, p.404-21, 2001.

NATIONAL NOSOCOMIAL INFECTIONS SURVEILLANCE (NNIS) SYSTEM REPORT, Data Summary from January 1992-June 2002, issued August 2002. **American Journal Infection Control**, v. 30, p. 458-475, 2002.

NERES, J.C.; BRITO, A.C.; SILVA, H.B.; BAIA, E.T.C.; SOARES, M.J.S. Perfil de suscetibilidade a antimicrobianos por cepas de MRSA. **Anais do XX II Congresso Brasileiro de Microbiologia**, MM 051, CD ROM, 2003.

NETTO DOS SANTOS, K.R.; FONSECA, L.S.; TEIXEIRA, L.M.; GONTIJO, FILHO P.P. Typing of *Staphylococcus aureus* from surgical site infections: comparison of pulsed-field gel eletrophoresis(PFGE) and PCR technique using repetitive extragenic palindromic(rep) and Tn916-shine-Dalgarno (TnSD) target sequences. **Int Journal Med Microbiology** , v. 291, p. 231-236, 2001.

NIKOLETTI ,S.; LESLIE, G.; GANDOSSO, S.; COOMBS, G.; WILSON, R. A prospective, randomized, controlled trial comparing transparent polyurethane and hydrocolloid dressings for central venous catheters. **American Journal Infection Control**, v. 27, p. 488-96, 1999.

ONCU, S.; OZSUT, H.; YILDRIRIM, Y.; PINAR, A.Y.; ÇAKAR, N.; ERAKSOY, H.; CALANGU, H. Central venous atheter-related infections: risk factors and the effect of glycopeptide antibiotics. **Annals Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 02, p. 01-06, 2003.

O'GRADY, N.P.; ALEXANDER, M.; DELLINGER, E.P.; GERBERDING, J.L.; HEARD, S.O.; MAKI, D.G.; MASUR, H.; MCCORMICK, R.D.; MERMEL ,L.A.; PEARSON, M.L.; RAAD, I.I.; RANDOLPH, A.; WEINSTEIN, R.A. Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. **Morbidity Mortality Weekly Report**, v. 51,(RR-10), p. 1-29, 2002.

OLIVE, M.; BEAN, P. Principles and Applications of Methods for DNA-Based Typing of Microbial Organisms. **Journal Clinical Microbiology**, v.37, p. 1661–1669, 1999.

PEACOCK, S.J.; CURTIS, N.; BERENDT, A.R.; BOWLER, I.C.; WINEARLS, C.G.; MAXWELL, P. Outcome following haemodialysis catheter-related *Staphylococcus aureus* bacteraemia. **Journal Hospital Infection**, v. 41, 223–8, 1999.

PEARSON, M.L. Guideline for prevention of intravascular device-related infections. **Infection Control of Hospital Epidemiology**, v. 17, p. 438-473, 1996.

PITET, D.; TARARA, D.; WENZEL, R. Nosocomial bloodstream infection in critically ill patients: excess length of stay, extra costs, and attributable mortality. **Journal American Medical Association**, v. 271, p. 1598-1601, 1993.

RAAD, HOHN, D.C.; GILBREATH, B.J.; SULEIMAN, N.; HILL, L.A.; BRUSO, P.A.; MARTS, K.; MANSFIELD, P.F.; BODEY, G.P. Ultrastructural analysis of indwelling vascular catheters: a quantitative relationship between luminal colonizations and duration of placement. **Journal Infectious Diseases**, v.168,p.400-407, 1993

RAAD, I.I; HOHN, D.C; GILBREATH, B.J; SULEIMAN, N.; HILL, L.A.; BRUSO, P.A.; MARTS, K.; MANSFIELD, P.F.; BODEY, G.P. Prevention of central venous catheter-related infections by using maximal sterile barrier precautions during insertion **Infection Control Hospital Epidemiology**, v. 15: 231–238, 1994

RAAD, I. Intravascular catheter-related infections. **The Lancet**, v. 351, p. 893-898. 1998.

RAAD, I.I.; HANNA, H.A. Intravascular catheter-related infections. **Archives Internal Medicine**, v. 162, p. 871-878, 2002.

REACHER, M.H.; SHAH, A.; LIVERMORE, M.D.; MARTIN, C. J. W.; GRAHAM, C.; JOHNSON, A.P.; HEINE, H.; MONNICKENDAM, M.A.; BARKER, K.F.; JAMES, GEORGE, R.C. Bacteraemia and antibiotic resistance of its pathogens reported in England and Wales between 1990 and 1998: trend analysis **British Medical Journal**, V. 320, 22 JANUARY, 2000

REIMER, L.G; WILSON, M.L.; WEINSTEIN, M.P. Update on Detection of Bacteremia and Fungemia. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 10, p. 444-465, 1997.

RELLO, J. Evaluation of outcome of intravenous catheter-related infections in critically ill patients. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 162, p. 1027-30, 2000.

RELMAN, D. A.; S. FALKOW. A MOLECULAR PROSPECTIVE OF MICROBIAL PATHOGENICITY, P. 2-13. IN G. L. MANDELL, J. E. BENNETT, AND R. DOLIN (ED.), MANDELL, DOUGLAS AND BENNETT'S principles and practice of infectious diseases, 5th ed. **Churchill Livingstone**, Philadelphia, Pa. 1999.

REX, J. H.; RINALDI, M.; PFALLER, M. Resistance of *Candida* species to fluconazole, **Antimicrob Agents Chemotherapy**, v. 39, p. 1-8, 1995.

RICHARDS, M.J.; EDWARDS, J.R.; CULVER, D.H.; GAYNES, R.P. Nosocomial infections in combined medical-surgical intensive care units in the United States. **Infection Control Hospital Epidemiology**, v. 21, p. 510-515, 2000.

RICHARDS, B.; CHABOYER, W.; BLADEN, T.; SCHLUTER, P.J. Effect of central venous catheter type on infections: a prospective clinical trial. **Journal Hospital Infection**, v. 54, p. 10-17, 2003.

RIJNDERS, B.J.A.; WIJNGAERDEN, E.V.; PEETERMANS, W.E. Catheter-tip colonization as a surrogate end point clinical studies on catheter-related bloodstream infection: How strong is the evidence?. **Clinical Infectious Diseases**, v. 35, p. 1053-1058, 2002.

ROBERT, J.; FRIDKIN, S.K.; BLUMBERG, H.M.; ANDERSON, B.; WHITE, N.; RAY, S.M.; CHAN, J.; JARVIS, W.R. The influence of the composition of the nursing staff on primary bloodstream infection rates in a surgical intensive care unit, **Infection Control Hospital Epidemiology**, v. 21, p. 12-7, 2000.

RUBIN, L.G.; SHIH, S.; SHENDE, A.; KARAYALCIN, G.; LANZKOWSKY, P. Cure of implantable venous port-associated bloodstream infections in pediatric hematology-oncology patients without catheter removal. **Clinical Infectious Diseases**, v. 29, p. 102-105, 1999.

RUESH, S.; WALDER, B.; TRAMER, M.R. Complications of central venous catheters: internal jugular versus subclavian access- a systematic review. **Critical Care Medicine**, v. 30, p. 454-560, 2002.

RUPP, M. E.; FEY, P.D.; HEILMANN, C.; GOTZ, F.; RAICHLE, A. Characterization of the importance of *Staphylococcus epidermidis* autolysin and polysaccharide intercellular adhesin in the pathogenesis of intravascular catheter-associated infection in a rat model. **Journal of Infectious Diseases**, v. 183, n. 7, p. 1038-1042, 2001.

- SADROYAMA, G.; GONTIJO ,FILHO P.P. Risk factors for methicillin resistant and sensitive *Staphylococcus aureus* infection in a Brazilian university hospital. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 04 , p.135-143, 2000.
- SADROYAMA, G.; GONTIJO ,FILHO P.P. Comparação entre veias subclávia e jugular como sítio de inserção de cateter vascular central (CVC): aspectos microbiológicos e fatores de risco para colonização/infecção. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v.5 , suppl.02, p.s-61, 2001
- SAFDAR, N.; KLUGER, D.M.; MAKI, D.G. A review of risk actors for CR-BSI caused by percutaneously inserted, noncuffed central venous catheter. **Medicine**, v. 81, p. 466-479, 2002.
- SANTOS FILHO, L.; BOTOLOTTO, V.I.; MACHADO, A.M.O.; PIGNATARI, A.C. Estudo comparativo de técnicas de detecção de amostras de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 27, p. 13-18, 1995.
- SCHIERHOLZ, J.M.; BEUTH ,J.; PULVERER, G.; BACH, A.; FLECK, C. Evidence for a self fulfilling hypothesis: Chlorhexidine dressing for reduction of microbial colonization of the skin with central venous catheters. **Journal of Hospital Infection**, v. 44, p.241-242, 2000.
- SESSO, R.; BARBOSA, D.; LEME, I.L.; SADER, H.; CANZIANI, M.E.; MANFREDI, S.; DRAIBE, S.; PIGNATARI, A. C. *Staphylococcus aureus* prophylaxis in hemodialysis patients using central venous catheters: effect of mupirocin ointment. **Journal Medical Society Nephrology**, v.09, p. 1085-1092, 1998.
- SHARMA, M. RIEDERER, K.; JOHNSON, L.B., KHATIB, R. Molecular Analysis of coagulase-negative *Staphylococcus* isolates from blood cultures: prevalence of genotypic variation and polyclonal bacteremia. **Clinical Infectious Diseases**, v. 33, p. 1317-1323, 2001.

SHERETZ, R.J. et al. Three-year experience with sonicated vascular catheter cultures in a clinical microbiology laboratory. **The Journal of Clinical Microbiology**, v. 28, p. 76-82, 1990.

SHERETZ., R.J. Surveillance for infections associated with vascular catheters. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v. 17, p. 746-752, 1996.

SHERETZ, R.J. Pathogenesis of vascular catheter infection, p. 111-125. In F.A. Waldvogel, AL. Bisno (eds). **Infections Associated with Indwelling Medical Devices**. 3rd ed. ASM Press, Washington, D.C. 2000.

SHERERTZ, R.J.; ELY, E.W.; WESTBROOK, D.M. Education of physicians-in-training can decrease the risk for vascular catheter infection. **Annals Internal Medicine**, v. 132 , p. 641-648, 2000.

SILVA NETO ,R.S.; FIGUEIREDO, S.M.; NUNES ,M.R.C.M.; VERAS, K.N. Estudo de microrganismos multirresistentes , segundo antibióticos-índice, no Hospital Getúlio Vargas, de agosto de 1996 a abril de 1998 – Teresina, Pi. **Brazilian Journal of Infectious Diseases** ,v.3,(supl 2),p.S80, 1999.

SITGES-SERRA, A.; LINARES, J. Limitations of semi-quantitative method for catheter culture. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 26, p. 1074-1075, 1988.

SLOOS, J.H.; DIJKSHOORN, L.; VOGEL, L.; VAN BOVEN, C.P.; VOGEL, L. Performance of phenotypic and genotypic methods to determine the clinical relevance of serial blood isolates of *Staphylococcus epidermidis* in patients with septicemia. **Journal of Clinical Microbiology**, v.38, p. 2488-2493, 2000.

SOUFIR, L. Attributable morbidity and mortality of catheter-related septicemia in critically ill patients: a matched, risk-adjusted, cohort study. **Infection Control Hospital Epidemiology**, v. 20, p. 396-401, 1999.

SWENSON, J.M.; HINDLER, J.A.; PETERSON, L.R. Special phenotypic methods for detecting antibacterial resistance, 1563-1577. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds). **Manual of Clinical Microbiology**, 7th, ASM Press, Washington, DC, 1999.

TEIXEIRA, L.A.; RESENDE, C.A.; ORMONDE, L.R.; ROSENBAUM, R.; FIGUEIREDO, M.A.S.; LENCASTRE, H.; TOMAS, Z. A. Geographic spread of epidemic multiresistant *Staphylococcus aureus* clone in Brazil. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 33, p.2400-2404, 1995.

TENNENBERG, S.; LIESER, M.; MCCURDY, B et al. A prospective randomized trial of an antibiotic- and antiseptic-coated central venous catheter in the prevention of catheter-related infections. **Archives Surgery**, v. 132, p. 1348-1351, 1997.

TENOVER, F.C.; ARBEIT, R.D.; GOERING, R.V.; MICKELSEN, P.A.; MURRAY, B.E.; PERSING, D.H. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 33, p.2233-2239, 1995.

TENOVER, F.C.; BROWN, S.D.; ARBEIT, R.D.; GOERING, R.V. How to select and interpret molecular strain typing methods for epidemiological studies of bacterial infections: a review for healthcare epidemiologists. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v. 18, p. 426-439, 1997.

TENOVER, F.C.; HOLLIS DG, BIDDLE JW, LANCASTER MVL. Increasing resistance to vancomycin and other glycopeptides in *Staphylococcus aureus*. **Emerging Infectious Diseases**, v. 02, p. 327-332, 2001.

VALLES, J.; LEON, C.; ALVAREZ-LERMA, F. Nosocomial bacteremia in critically ill patients: a multicenter study evaluating epidemiology and prognosis. Spanish

Collaborative Group for Infections in Intensive Care Units of Sociedad Espanola de Medicina Intensiva y Unidades Coronarias (SEMIUC). **Clinical Infectious Diseases**, v. 24, p. 387-395, 1997..

VAN BELKUM, A.; KLUYTMANS, J.; VAN LEEUWEN, W.; BAX, R.; QUINT, W.; PETERS, E.; FLUIT, A.; VANDERBROUCKE-GRAULS, C.; VAN DEN BRULE, A.; KOELEMAN, H.; MELCHERS, W.; MEIS, J.; ELAICHOUNI, A.; STRUELENS, M.; TENOVER, F.; VERBRUGH, H. Multicenter evaluation of arbitrarily primed PCR for typing of *Staphylococcus aureus* strains, **Journal of Clinical Microbiology**, v. 33, p. 1537-1547, 1995.

VAN DER ZEE, A.; H. VERBAKEL, J.-C.; VAN ZON, I.; FRENAY, A.; VAN BELKUM, M.; PEETERS, A.; BUITING, A. BERGMANS. Molecular genotyping of *Staphylococcus aureus* strains: comparison of repetitive element sequence-based PCR with various typing methods and isolation of a novel epidemicity marker. **J. Clinical Microbiology**, v. 37, p.342-349, 1999.

VAUDAUX, P.E.P.; PITTET, A.; WALDWOGEL, F.A.; LEW, D.P. Fibronectin is more active than fibrin or fibrinogen in promoting *Staphylococcus aureus* adherence to inserted intravascular devices. **Journal of Infectious Diseases**, v. 167, p. 633-641, 1993.

VAUDAUX, P.E.P.; FRANÇOIS, R.A.; PROCTOR, D.; COOPER, S.L. Use of adhesion-defective mutants of *Staphylococcus aureus* to define the role of specific plasma proteins in promoting bacterial adhesion to canine arteriovenous shunts. **Infection and Immunity**, v. 63, p. 585-590, 1995.

VIOT, M. Intravenous access: related problems in oncology. **International Journal Of Antimicrobial Agents**, v. 16, p. 165-168, 2000.

WALLACE, W.C.; CINAT, M.; GORNICK, W.B.; LEKAWA, M.E.; WILSON, S.E.
Nosocomial infections in the surgical intensive care unit: a difference between
trauma and surgical patients. **American Surgeon**, v. 65, p. 987-990, 1999.

WEIGHTMAN, N.C. Bacteremia related to indwelling central venous catheters:
prevention, diagnosis and treatment. **The European Journal Of Clinical
Microbiology Infection Diseases**, v. 07, p. 125-129, 1988.

WIDMER, A.F.; IV-related infections. In: Wenzel , R.P., ed. **Prevention and
Control of Nosocomial Infections**. Baltimore, MD: Williams & Wilkins, p. 556-
579, 1993.

WILCOX.; DIXON, R.W.; RADMER, R.J.; KUHN, B.; KOLLMAN, P.A.; YANG, J.;
RAPOSO, C. Antimicrobial intravascular catheters which surface to coat ?
Journal of Hospital Infection, v. 40, p.322-323, 1998.

8 - ANEXO 1

Estudo de Infecção Hospitalar Associada a Cateteres Venosos Centrais/HC-UFU.

Ficha nº:

Prontuário:

Nome:

Sexo:

Idade:

Unidade:

Leito:

Data de Internação:

Data da Alta:

Data do CVC:

Tempo de permanência do CVC:

Indicação:

Localização do CVC: () Subclávia () Jugular () Artéria Pulmonar

Passagem: () percutânea () cirúrgica

Dificuldade de Inserção do CVC: () Sim () Não

Tempo:

Local da ponta:

Complicação/Retirada: () mecânicas () tromboembólicas () infecção

Doença de Base:

Diagnóstico Clínico:

Infecção: () Hospitalar () Comunitária () Desconhecida

Data de Diagnóstico da Infecção:

Sítio:

Febre: () Sim () Não

Uso de Antimicrobianos: () Sim () Não

Quais:

Início

Término

1) _____	_____	_____
2) _____	_____	_____
3) _____	_____	_____
4) _____	_____	_____
5) _____	_____	_____

Fatores de Risco:

- Intrínsecos:

- ASIS:

- Imunossupressor: () Sim () Não

Qual:

- Hipoalbuminemia: () Sim () Não

- Extrínsecos:

- Cirurgia: () Sim () Não

Qual:

Data:

- Respirador: () Sim () Não

- Sonda Vesical: () Sim () Não

- Dreno: () Sim () Não

- Outros: () Sim () Não

Quais:

Presença: () Eritema () Pus

Evolução Clínica: () Alta () Óbito Causa:

Obsevações: _____