

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA E CIÊNCIAS DA SAÚDE
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM NEFROLOGIA**

ROBERTA MONTEIRO KATZAP

**TEMPO PARA POSITIVAR CULTURA DE BACTÉRIAS NO LÍQUIDO DE DIÁLISE
PERITONEAL: AVALIAÇÃO DE DIFERENTES TÉCNICAS LABORATORIAIS.**

Porto Alegre

2016

ROBERTA MONTEIRO KATZAP

**TEMPO PARA POSITIVAR CULTURA DE BACTÉRIAS NO LÍQUIDO DE
DIÁLISE PERITONEAL: AVALIAÇÃO DE DIFERENTES TÉCNICAS
LABORATORIAIS.**

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde – Área de Concentração em Nefrologia – da Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Orientador: Carlos Eduardo Poli de Figueiredo
Co-orientador: Ana Elizabeth Prado Lima Figueiredo

Porto Alegre

2016

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)

K19t Katzap, Roberta Monteiro

Tempo para positivar cultura de bactérias no líquido de diálise peritoneal : avaliação de diferentes técnicas laboratoriais / Roberta Monteiro Katzap. — 2015.

103 f. : il.

Diss. (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde, Área de Concentração em Nefrologia, Faculdade de Medicina, PUCRS, Porto Alegre, 2016.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Poli de Figueiredo.

Co-orientador: Profa. Dra. Ana Elizabeth Prado Lima Figueiredo.

1. Nefrologia. 2. Doença renal crônica. 3. Diálise peritoneal. 4. Peritonite. 5. Bactérias. 6. Sedimentação. I. Figueiredo, Carlos Eduardo Poli de. II. Ana Elizabeth Prado Lima Figueiredo. III. Título.

CDD: 617.461059

NLM: WJ 378

Alessandra Pinto Fagundes
Bibliotecária - CRB10/1244

TO MOM AND DAD

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a minha família: meus pais por acreditarem e me apoiarem em todos os momentos da minha vida, especialmente nas grandes decisões; aos meus irmãos pelo carinho e por entenderem a minha ausência em muitos momentos. Sem o apoio de vocês eu não teria chegado até aqui.

Ao meu namorado Fábio, pelo apoio; e aos meus sogros Eliane e Silvio que mesmo longe se fizeram estar tão presentes, acompanhando cada passo do meu mestrado.

Ao meu orientador Dr Poli, por ser um pesquisador exemplar, que desde que soube do meu interesse pelo mestrado, acreditou em mim. Muito obrigada pela amizade, dedicação, generosidade, pelas críticas, orientações, por sempre ter disponibilidade e paciência para escutar minhas ideias e sugestões. A minha querida co-orientadora Dra. Ana, uma pesquisadora a qual tenho muito orgulho como professora, amiga, orientadora, obrigada por me aceitar como aluna! Dra. Bartira Ercília Pinheiro da Costa, obrigada desde o princípio por seus brilhantes conselhos, opiniões, apoio, sendo sempre indescritível. Me. Vany Elisa Pagnussatti, minha professora na graduação, especialização, chefe no laboratório, minha amiga e a pessoa que sempre me apoiou e foi muito importante em cada passo do meu mestrado. Neste período que passamos juntos (Poli, Ana, Barti e Vany), aprendi muito com vocês!

Aos Doutores e professores Domingos o. d'Ávila e Ivan C. Antonello, por compartilhar o conhecimento e experiência.

Ao Serviço de Nefrologia do Hospital São Lucas – PUCRS que financiou a presente pesquisa, aos colegas do Laboratório de Nefrologia do Instituto de Pesquisas da PUCRS, o qual tenho muito orgulho de ter participado, e ter conhecido grandes amigos.

À Dra. Myriam Fortes Perrenoud do Laboratório de Patologia Clínica pelo apoio, disponibilidade, atenção e amizade, e aos colegas do setor de Microbiologia que me receberam sempre muito bem.

Aos colegas de pós-graduação, pelos momentos e amizade compartilhados.

À Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul e ao Hospital São Lucas da PUCRS, que propiciam um curso de pós-graduação de excelência no Brasil, do qual eu tive a honra de fazer parte, e a FAPERGS, agradeço pela oportunidade desta realização científica.

À Secretaria do Programa de Pós-graduação pela atenção.

Por fim, agradeço a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a execução deste projeto. Muito obrigada!

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Fluxograma da primeira e segunda etapas das técnicas realizadas com as bolsas de diálise peritoneal.....38

Figura 2: Tempo médio (IC 95%) em horas até positivar a cultura usando diferentes técnicas.....44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Taxa de culturas negativas no mundo (dados em %).....23

Tabela 2: Tempo (horas) até positivar a cultura usando diferentes técnica nas bolsas de diálise peritoneal.....42

Tabela 3: Tempo (horas) até positivar a cultura usando diferentes técnica nas bolsas de diálise peritoneal drenadas de pacientes.....43

LISTA DE ABREVIACÕES

AS – Ágar sangue

BHI – *Brain Heart Infusion*

CAPD – Diálise peritoneal ambulatorial contínua

CLED - *cystine lactose electrolyte deficient*

DP – Diálise peritoneal

DRC – Doença renal crônica

E. coli – *Escherichia coli*

GN – Gram negativo

GP – Gram positivo

HSL – Hospital São Lucas

ISPD - *International Society for Peritoneal Dialysis*

LP – Líquido peritoneal

NI – Não informado

P. aeruginosa – *Pseudomonas aeruginosa*

PUCRS – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

S. aureus – *Staphylococcus aureus*

SBN – Sociedade Brasileira de Nefrologia

SCN – *Staphylococcus* coagulase negativa

SIM - Sítio de injeção de medicamentos

TFG – Taxa de filtração glomerular

TSB - *Tryptic soy broth*

Resumo

Pacientes com doença renal crônica que realizam terapia de diálise peritoneal estão suscetíveis a infecções, sendo peritonite a principal causa de falência do método. A cultura do líquido peritoneal é um dos elementos essenciais para o manejo clínico e tratamento adequados da peritonite. O objetivo deste estudo foi comparar o tempo necessário para obter uma cultura positiva, com diferentes métodos laboratoriais. Estudo transversal, *in vitro*, comparando diferentes técnicas laboratoriais de preparo e cultura para bactérias em líquido peritoneal. O estudo foi feito com 21 bolsas de líquido de diálise peritoneal estéreis, com concentração de 1,5% de glicose, e em 21 bolsas contendo líquido peritoneal drenado de pacientes sem peritonite, atendidos pelo Serviço de Nefrologia do HSL-PUCRS. O dialisado das 42 bolsas de diálise peritoneal foi contaminado, injetando-se suspensão de *Staphylococcus* coagulase negativa e, em seguida, submetido a quatro técnicas distintas – A (cultura direta); B (cultura pós-centrifugação); C (cultura após sedimentação de 4 h); e D (cultura após sedimentação de 4 h e centrifugação) – de preparo e sementeira. Nas 21 bolsas estéreis contaminadas se verificou que as médias de tempo para positivar a cultura nas técnicas D (19,6 h \pm 2,6) e C (19,1 h \pm 2,3) foram maiores, comparadas à A (15,8 h \pm 3,0; $p < 0,01$), mas estatisticamente não diferentes da média do grupo B (19,0 h \pm 3,2). O mesmo aconteceu nas 21 bolsas drenadas dos pacientes, com tempos médios para as técnicas D (14,0 h \pm 1,9) e C (14,5 h \pm 1,7) superiores ao tempo da técnica A (12,22 h \pm 1,94; $p < 0,05$), porém não estatisticamente diferente da técnica B (13,2 h \pm 1,3). As etapas de sedimentação e centrifugação foram desnecessárias, podendo postergar em quase oito horas o resultado final da cultura, comparativamente à cultura direta, atrasando o resultado do teste de sensibilidade aos antibióticos.

Palavras-chave: Diálise peritoneal, bactéria, sedimentação, peritonite.

Abstract

Chronic kidney disease patients on peritoneal dialysis therapy are susceptible to infections, with peritonitis being the primary cause of technique failure. Peritoneal fluid culture is one of the essential elements for proper diagnosis and treatment of peritonitis. The aim of this study was to compare the time required to obtain a positive culture using different laboratory methods. An *in vitro* cross-sectional study comparing different laboratory techniques for preparation and culture of bacteria in peritoneal fluid. The research was conducted with 21 sterile dialysis fluid bags with 1.5% glucose concentration, and 21 peritoneal dialysis bags containing peritoneal fluid drained from patients without peritonitis, assisted at the Nephrology Unit from HSL-PUCRS. Fluids from the 42 peritoneal dialysis bags were contaminated by injecting a coagulase-negative *Staphylococcus* suspension and then prepared for culture using four distinct techniques - A (direct culture), B (post-centrifugation culture), C (direct culture after 4h sedimentation), and D (culture after 4h sedimentation and centrifugation) – followed by seeding. In the 21 contaminated sterile bags, the mean times to obtain a positive culture with techniques D (19.6 h \pm 2.6) and C (19.1 h \pm 2.3) were longer in comparison to A (15.8 h \pm 3.0; $p < 0.01$), but not statistically different from group B mean (19.0 h \pm 3.2). The same occurred in the 21 bags drained from patients, with mean times for techniques D (14.0 h \pm 1.9) and C (14.5 h \pm 1.7) being longer than technique A (12.22 h \pm 1.94; $p < 0.05$), however not statistically different from technique B (13.2 h \pm 1.3). The sedimentation and centrifugation steps were unnecessary and may delay antibiotics sensitivity test result by approximately 8 hours.

Keywords: Peritoneal dialysis, bacteria, sedimentation, peritonitis.

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1 INTRODUÇÃO | 16 |
| 1.1 Doença renal crônica | 17 |
| 1.2 Diálise peritoneal | 17 |
| 1.3 História da diálise peritoneal | 17 |
| 1.4 Diálise peritoneal no mundo | 19 |
| 1.5 Diálise peritoneal no Brasil | 19 |
| 1.6 Peritonite | 20 |
| 1.6.1 Fontes de contaminação..... | 21 |
| 1.6.2 Germes predominantes | 21 |
| 1.7 Técnicas e diretrizes | 23 |
| 1.8 Impacto das culturas negativas | 27 |
| 2 HIPÓTESE | 31 |
| 3 OBJETIVOS | 33 |
| 3.1 Objetivo Geral | 33 |
| 3.2. Objetivos específicos | 33 |
| 4 MATERIAL E MÉTODO | 35 |
| 4.1. Delineamento | 35 |
| 4.2. Amostra | 35 |
| 4.3. Procedimento | 35 |
| 4.4. Preparação da solução bacteriana | 35 |
| 4.5. Contaminação com suspensão bacteriana | 36 |
| 4.6. Técnicas | 36 |
| 4.7. Frascos de meio de cultura no BacT/Alert 3D Biomérieux® | 40 |
| 4.8. Análise estatística | 40 |
| 4.9. Considerações éticas | 40 |
| 5 RESULTADOS | 43 |
| 6 DISCUSSÃO | 47 |
| 6.1. Limitações | 50 |
| CONCLUSÃO | 52 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 54 |
| Apêndice A – Termo de Sigilo de dados | 67 |
| Apêndice B – Artigo submetido à revista <i>American Journal of Kidney Diseases</i> | 68 |

| | |
|--|------------|
| Apêndice C – Artigo submetido e aceito pela revista para publicação na Revista Ciência & Saúde: set.-dez. 2015;8(3):116-121. | 83 |
| Apêndice D – Artigo a ser submetido ao <i>American Journal of Infection Control</i>..... | 101 |
| Anexo A – Carta de Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa | 103 |
| Anexo B – Comprovante de Submissão à revista American Journal of Kidney Diseases..... | 105 |

Introdução

1 INTRODUÇÃO

Pacientes com doença renal crônica (DRC) que realizam terapia dialítica mais suscetíveis a infecções que a população geral. A diálise peritoneal (DP), uma das terapias de diálise, enfrenta, desde sua origem, a peritonite como um dos maiores obstáculos à difusão de seu emprego (LI *et al.* 2010). Sua ocorrência pode contribuir para a falência do método, e encaminhamento dos pacientes para a hemodiálise (PIRAINO *et al.* 1989, DE SOUSA-AMORIM *et al.* 2013, LAN *et al.* 2015). Diferentes métodos laboratoriais têm sido avaliados para recuperar o microrganismo causador da infecção (SEWELL *et al.* 1990), porém, ainda observamos muitos casos de cultura negativa, o que reduz o sucesso do tratamento (PERES *et al.* 2011, KOCYIIT *et al.* 2012 MORAES *et al.* 2014). Os procedimentos laboratoriais descritos para cultura de líquido peritoneal (LP) em DP incluem centrifugação, filtração, lavagem do sedimento, semeadura em meios de cultura, inoculação em frascos de hemocultura (SEWELL *et al.* 1990, LYE *et al.* 1994, CHOW *et al.* 2007) e técnicas moleculares (YOO *et al.* 2006, JOHSON *et al.* 2006, OTA *et al.* 2007, AHMADI *et al.* 2013) que, devido ao alto custo, têm uso restrito na rotina assistencial. Atualmente, a rotina utilizada no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital São Lucas, da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (HSL-PUCRS) para cultura de líquido de diálise é: deixar a bolsa com suspeita de peritonite sedimentando por quatro horas, seguindo-se na retirada do sedimento, por punção da bolsa (fundo da bolsa), de forma estéril, separando em duas alíquotas. A primeira inoculada em frasco de hemocultura e a segunda centrifugada e semeada em meios de culturas sólidos. Com esta técnica a média das culturas negativas é de 20% (FIGUEIREDO *et al.* 2013).

A Diretriz da *International Society Peritoneal for Dialysis* (ISPD) sugere as seguintes técnicas: 50,0 mL do LP devem ser centrifugados; o sedimento deve ser ressuspenso em solução salina isotônica, e em seguida semeado em meios de cultura sólidos; cinco a 10,0 mL são inoculados diretamente em frascos com meio de cultura líquido. Segundo a ISPD, a taxa de cultura negativa não deve ultrapassar 20% (KEANE *et al.* 1993, KEANE *et al.* 2000, PIRAINO *et al.* 2005, LI *et al.* 2010). Abaixo a descrição dos tópicos: Doença

renal crônica, diálise peritoneal, história da diálise peritoneal, diálise peritoneal no mundo, diálise peritoneal no Brasil, peritonite, técnicas e diretrizes e impacto das culturas negativas.

1.1 Doença renal crônica

A DRC é considerada um problema de saúde pública mundial (OBRADOR *et al.* 2011). No território brasileiro a incidência e prevalência de falência renal tem aumentado cada vez mais. (SESSO *et al.* 2008). Avaliação da DRC determinada através da presença de albuminúria persistente com resultados da relação albuminúria / creatininúria maior que 30 mg/g e diminuição na taxa de filtração glomerular (TFG) estimada na população americana mostrou prevalência de 13% de DRC nos estágios de 1 a 4 (SAYDAH *et al.* 2007). No Brasil, não há estudos mostrando dados em diferentes estágios até o momento, porém sabemos que a prevalência e a incidência de DRC em estágio terminal correspondem a cerca de 405 e 144 por milhão na população, respectivamente (SESSO *et al.* 2010).

A terapia substitutiva renal (TRS), é indicada para os pacientes com DRC em estágio avançado, e se subdivide em três tipos principais: hemodiálise, DP e transplante renal (KUSSUMOTA, 2005).

1.2 Diálise peritoneal

A DP é um dos métodos que visa remover toxinas e o excesso de água através do peritônio, uma membrana fina que reveste toda a cavidade abdominal. Esta é uma excelente membrana de filtro natural, permitindo a troca de íons, sais e remoção de substâncias tóxicas (NOLPH, 1979).

1.3 História da diálise peritoneal

São muitos os relatos descritos na literatura sobre as distintas tentativas da técnica da diálise peritoneal a fim de utilizar a membrana peritoneal como filtro natural para eliminação de componentes tóxicos do sangue. Sabe-se que

experimentos foram feitos e não relatados, assim como houve fracassos devido a complicações associadas com o implante de acesso na cavidade peritoneal, os quais contribuíram para o progresso da técnica (HEUSSER *et al.* 1927, BALAZS *et al.* 1934, WEAR *et al.* 1938, RHOADS 1938, FINE *et al.* 1946, DÉROT *et al.* 1949).

Georg Ganter, em 1923, sugeriu a utilização do peritônio como uma membrana de diálise. Em experimentos com animais, ele demonstrou que a instilação única ou repetida (após drenagem eficaz) de solução de cloreto de sódio fisiológica melhorava tanto os sintomas de uremia, quanto o nível de ureia. Este novo procedimento foi testado em pacientes apenas na forma de uma única instilação de fluido. A primeira paciente a receber o tratamento, apresentava quadro de uremia aguda em consequência de uma oclusão do ureter, devido à carcinoma do útero. Os sintomas foram aliviados temporariamente, porém a paciente foi a óbito (NOLPH, 1985).

Em 1967, Jacob e Deane desenvolveram uma prótese feita de plástico para tapar o orifício por onde o cateter ficava durante a diálise. Esta prótese era tapada com fita adesiva com antibiótico para prevenir infecções (JACOB *et al.* 1967). A prótese peritoneal de Deane foi utilizada com sucesso no tratamento de 21 pacientes com insuficiência renal crônica, que foram submetidos por 24 h de tratamento, duas vezes por semana, durante 20 meses de tratamento em DP (BIGELOW *et al.* 1973). Porém esta prótese deveria ser trocada sempre que o paciente terminasse a sessão de DP, o que aumentava o risco de perfuração na cavidade abdominal (BIGELOW *et al.* 1973). Em 1968, Tenckhoff introduz o cateter flexível e permanente para a DP (TENCKHOFF *et al.* 1968), diferente do cateter de Palmer (PALMER *et al.* 1964, 1971).

No final da década de 1970, a realização de cálculos matemáticos por; Popovich e Moncrief, estabeleceram o controle da uremia através de cinco trocas diárias de dois litros, de uma solução dialisante infundida por via intraperitoneal com intervalo de 5 h, enquanto o paciente realiza suas atividades de rotina (POPOVICH *et al.* 1976) denominada de “diálise peritoneal equilibrada”, que em 1978 foi denominada *Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis* ou Diálise Peritoneal Ambulatorial Contínua (DPAC) em português (POPOVICH *et al.* 1978). Em 1978, Oreopoulos e colegas descreveram pela primeira vez a técnica de DP utilizando bolsas de cloreto de polivinil, em

substituição dos frascos de vidro, contribuindo para a praticidade do método (OREOPOULOS *et al.* 1978). Em 1979, ou seja, há 36 anos atrás, foi publicado artigo intitulado “A diálise peritoneal está aqui para ficar” (OREOPOULOS, 1979). Contudo, a peritonite ainda continua sendo a principal causa de interrupção do tratamento e migração destes pacientes para a hemodiálise (LAN *et al.* 2015).

1.4 Diálise peritoneal no mundo

A disponibilidade da diálise peritoneal varia consideravelmente em todo o mundo, devido à falta de recursos financeiros e clínicos (FINKELSTEIN *et al.* 2009, DOR *et al.* 2007, NEIL *et al.* 2009). Em 2003, a taxa de utilização da diálise peritoneal era cerca de 80% em locais como Hong Kong e México, seguido pela Nova Zelândia em torno de 45%. Em muitos países desenvolvidos da Europa Ocidental (Reino Unido, Holanda, Suécia), Ásia (Coréia e Cingapura), Austrália e Canadá estavam entre 20% a 30% (LO, 2007, BLAKE, 2009). Nos países mais ricos (Estados Unidos, Alemanha, Japão), a utilização de DP foi inferior a 10% (LO 2007). Apenas 11% dos pacientes em diálise crônica ao redor do mundo são tratados com DP (JAIN *et al.* 2012).

Na América Latina, com exceção do México, a hemodiálise é predominante no tratamento dos pacientes com DRC (Jain *et al.* 2012), e estima-se que 25% da população mundial de DP esteja na América Latina (Cueto-Manzano *et al.* 2001, Jain *et al.* 2012). Depois do México, os países mais prevalentes são: Guatemala, Colômbia, Costa Rica, Peru, Porto Rico, Equador, Brasil, Venezuela, Cuba, Uruguai, Chile, e Argentina (PECOITS-FILHO *et al.* 2007).

1.5 Diálise peritoneal no Brasil

O Brasil é o terceiro país com maior número de pacientes tratados em DP dos países em desenvolvimento (JAIN *et al.* 2012). Em julho de 2013, 90,8% dos pacientes em DRC faziam tratamento por hemodiálise e 9,2% por

DP, sendo que, desta, a diálise peritoneal automatizada (DPA) era a modalidade predominante (SESSO *et al.* 2014).

Alguns estudos mostram que pode ocorrer dentro de um mesmo país, conforme a área geográfica avaliada, diferenças nas características clínicas e nos desfechos de cada paciente que esteja em diálise, devido as dificuldades com o acesso para a TRS, tais como: acesso vascular, medicações e ao próprio transplante renal devido a raça, condições econômicas e localização geográfica (HOPSON *et al.* 2008, BOYLE *et al.* 1996, RODRIGUEZ *et al.* 2007, FERNANDES *et al.* 2010). Estudo publicado em 2010, revelou que as características clínicas e laboratoriais dos pacientes que realizam DP no Brasil, demonstraram características regionais, que devem ser consideradas pelos gestores de saúde e profissionais de cada região, visando a sobrevida destes pacientes (FERNANDES *et al.* 2010).

Trabalho de coorte prospectivo com pacientes incidentes mostrou que os pacientes da região Nordeste apresentaram um risco significativamente maior de ocorrência de peritonites, provavelmente por ser uma região de clima quente (MARTIN *et al.* 2011). No sul do Brasil, os dados corroboram com o estudo acima, mostrando taxas elevadas de peritonite na estação mais quente do ano (FIGUEIREDO *et al.* 2014), assim como em outros países (KIM *et al.* 2000, CHO *et al.* 2012).

1.6 Peritonite

Os pacientes enfrentam problemas de infecção por peritonite, local de saída de cateter e infecção do túnel (VOGEL *et al.* 2000, BIANCHI, 2007, LAN *et al.* 2015). A peritonite contribui para falha da técnica, retirada do cateter, elevado uso de antibióticos, e é a principal causa de transferência de pacientes para hemodiálise (LAN *et al.* 2015). A idade do paciente também está associada à ocorrência de peritonite. Este fator é especialmente importante em pacientes acima de 65 anos (JASSAL *et al.* 2007, (BROWN, 2008, MORAES *et al.* 2014), cuja mortalidade ocasionada pela peritonite é mais elevada (MORAES *et al.* 2014, SAKACI *et al.* 2015).

1.6.1 Fontes de contaminação

Os principais acessos de contaminação que levam à peritonite podem ser: intraluminal (erro na técnica de conexão de bolsas/lavagem das mãos), periluminal (infecção de local de saída e túnel), transmural (diarreia/constipação), hematogênica e transvaginal (PECOTIS-FILHO *et al.* 2007, STUART *et al.* 2009, PIRAINO *et al.* 2011).

A via de contaminação que mais contribui para o surgimento do quadro infeccioso da peritonite é a contaminação pela microbiota da pele – que pode ocorrer no momento da conexão ou devido a algum furo no cateter, e também a perda da tampa da extremidade ou defeito do produto. A pele humana é colonizada por bactérias em diferentes áreas do corpo, sendo que no abdome há uma concentração de 4×10^4 unidades formadoras de colônia (UFC) / cm^2 (VOSS *et al.* 1997). Pacientes em diálise tem probabilidade maior de ser colonizador de *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*). (ROTTER, 1996; BOYCE *et al.* 2002).

1.6.2 Germes predominantes

Staphylococcus sp.

Cocos Gram positivos como *Staphylococcus coagulase negativa* (SCN) e *S.aureus*, são os agentes etiológicos mais comuns em peritonites no mundo inteiro (VAS 1994, KAVANAGH *et al.* 2004, BIANCHI *et al.* 2007, RENAUD *et al.* 2011, GUPTA *et al.* 2011, FIGUEIREDO *et al.* 2013, MORAES *et al.* 2014), assim como no Brasil (FIGUEIREDO *et al.* 2001, FIGUEIREDO *et al.* 2013, CAMARGO *et al.* 2014, MORAES *et al.* 2014). Os *S. aureus* e SCN podem causar infecção tanto por meio intraluminal como periluminal. A diferença entre eles está na gravidade da doença e a frequência em que aparecem (KIM *et al.* 1984, PIRAINO *et al.* 1987). Na maioria dos casos, o SCN apresenta peritonite

branda e responde bem a terapia com antibióticos, porém pode ocorrer recidiva quando há envolvimento de biofilme. Nestes episódios, a substituição do cateter é indicada (READ *et al.* 1989, FINKELSTEIN *et al.* 2002, LIM *et al.* 2005).

Enterococcus e Streptococcus sp.

Enterococcus sp. são microrganismos presentes no intestino humano. Os mais comuns e que frequentemente estão associados a peritonite são *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium* (SCHLEIFER *et al.* 1984). Peritonites enterocócica na DP estão presentes em 2 a 4% dos casos (KRISHNAN *et al.* 2002, KIM *et al.* 2004). Espécies de *Streptococcus* foram os microrganismos mais comuns encontrados em recente estudo (HSIEH *et al.* 2014). Algumas espécies de *Streptococcus sp.* são oriundos da cavidade oral. *Streptococcus viridans* tem sido relatado em casos de peritonites, sua resposta ao tratamento é mais lenta e está frequentemente associada a altas taxas de recidiva (SHUKLA *et al.* 2006).

Gram-negativos

Dentre as bactérias Gram negativas que estão associadas a peritonite estão *Klebsiella sp.*, *Escherichia coli (E.coli)*, e *Pseudomonas sp.* (LI *et al.* 2010, MORAES *et al.* 2014). A *E.coli* está associada a alta probabilidade de falha na técnica e mortalidade (PÉREZ-FONTAN *et al.* 2006). A *Pseudomonas aeruginosa (P. aeruginosa)*, e o *S. aureus*, está relacionada a casos graves e de remoção de cateter (SZETO *et al.* 2006, ZUROWSKA *et al.* 2008). Também está associada a altas taxas de internação e transferência do paciente definitivamente para a hemodiálise (SIVIA *et al.* 2009). A Tabela 1 apresenta a variabilidade das taxas de peritonites associadas à microrganismos.

Tabela 1: Prevalência dos diferentes agentes e culturas negativas da diálise peritoneal no mundo (dados em %)

| | País | Período | GP | S. aureus | SCN | GN | CN | Fungos |
|---------------------|-----------|-----------|-------|-----------|------|-------|------|--------|
| Autor | | | | | | | | |
| Perez-Fontan et al. | Espanha | 1986-2004 | 59,1 | 6,6 | 29,7 | 15,2 | 17,2 | 3,2 |
| Kim et al. | Korea | 1992-2001 | 44,9 | 13,6 | 25,2 | 14,7 | 36,9 | 2,16 |
| Krishnan et al. | Canadá | 1995-2000 | 53,9 | 14,4 | 25,1 | 20,4 | 10,9 | 6,8 |
| Figueiredo et al. | Brasil | 1984-2012 | NI | 19,8 | 27,2 | 20,1 | 16,9 | NI |
| Prasad et al. | Índia | 2002-2011 | 33,7 | 4,6 | 23,4 | 29,4 | 18,2 | 13,5 |
| Gadola et al. | Uruguai | 2004-2005 | 44 | 17,2 | 17,9 | 20 | 29 | 1,4 |
| Lobo et al. | Brasil | 2003-2005 | 29,35 | 27,8 | 0,5 | 28,35 | 32,5 | 3 |
| Ghali et al. | Austrália | 2003-2008 | 53,4 | 10,3 | 27,2 | 23,6 | 14,6 | 3,1 |
| Ruger et al. | Amsterdam | 1993-2007 | NI | 12,3 | 32,3 | NI | 8,2 | 4,8 |
| Moraes et al. | Brasil | 2004-2007 | 32,2 | 17 | 12,9 | 22 | 41,5 | 1,8 |
| Kocygit et al. | Turquia | 2004-2011 | 51,7 | NI | NI | 12 | 32,1 | NI |
| Peres et al. | Brasil | 2000-2011 | NI | 17,6 | 5,9 | NI | 41,2 | NI |
| Shiquidi et al. | Qatar | 2003-2007 | 40 | NI | NI | 9 | 28 | NI |
| Figueiredo et al. | Brasil | 1994 | 62 | 10,3 | 31 | 22,4 | 10,4 | 1,7 |
| Oliveira et al. | Brasil | 2004-2009 | 46,5 | 9,22 | 34 | 28,2 | 18,8 | 1,42 |

Legenda: SCN = *Staphylococcus coagulase negativo*, CN= Cultura-negativa, GP = Gram-positivo, GN = Gram-negativo, S. aureus = *Staphylococcus aureus*, NI = Não Informado.

1.7 Técnicas e diretrizes

Desde a implementação da CAPD no final da década de 1970, até hoje (2015), são muitos os casos de peritonites, e conseqüentemente, as técnicas para identificação dos germes causadores dessa infecção têm evoluído (LI *et al.* 2010). A ISPD, publicou a primeira diretriz no ano de 1993, e desde então tem reunido estudos com técnicas, a fim de diminuir os casos de culturas negativas, preconizando tratamento fidedigno e qualidade de vida para os

pacientes (KEANE *et al* 1993, KEANE *et al.* 2000, PIRAINO *et al.* 2005, LI *et al.* 2010).

Abaixo segue em ordem cronológica, algumas das publicações importantes referente às técnicas laboratoriais para detecção dos microrganismos nas peritonites.

Vas *et al.* 1985: realizaram cinco diferentes métodos descritos abaixo.

I) Método *Brain Heart Infusion* (BHI): Neste procedimento, 10 mL do LP é centrifugado por 10 min. O sobrenadante é descartado e parte do sedimento semeado em placa de ágar sangue (AS). O restante do sedimento foi colocado em tubo de centrifugação com meio de cultura BHI. As culturas (AS e BHI) são incubadas.

II) Método Tioglicolato: Neste método, 50 mL de LP é retirado da bolsa e filtrado em filtro Milipore. É realizado o método de lavagem com 100 mL de solução salina estéril para remoção da presença de antibióticos. O sedimento obtido na filtração é inoculado em caldo tioglicolato.

III) Técnica de culturas: Nesta técnica, duas porções de 50 mL de LP são centrifugadas por 10 min. O sedimento é ressuspenso em salina estéril e 3 mL são inoculados em dois frascos BACTEC, um aeróbio e outro anaeróbio.

IV) Técnica Cultura de lavagem: Neste processo, duas porções de 50 mL de LP são centrifugadas, e o sedimento lavado com salina fisiológica para remover a presença de antibióticos. Os sedimentos obtidos nas duas amostras são inoculados em frascos BACTEC (aeróbio e anaeróbio).

V) Técnica cultura de resina: Nesta técnica é realizado o mesmo procedimento da Técnica Cultura de lavagem, porém o sedimento é inoculado em frasco contendo resina.

Dawson *et al.* 1985: transferiram o líquido de diálise peritoneal do paciente em duas bolsas diferentes: uma contendo caldo de tioglicolato e outra

contendo BHI. Ambas bolsas foram incubadas a 35°C. A turvação foi conferida diariamente. Não tendo turvação até o 7º dia, a bolsa era descartada e interpretada como negativa. Havendo turvação, o líquido da bolsa seria submetida a coloração de Gram e culturas. No mesmo estudo foram utilizadas bolsas com solução de DP estéreis, e bolsas drenadas dos pacientes, para inocular as bactérias *Staphylococcus epidermidis* e *P. aeruginosa*, com um total de 10⁷UFC / mL. Ambas infusões foram feitas sem adição de caldos enriquecidos, e foram incubados e observados nos intervalos de 0, 24, 48 e 72 h.

Sewel et al. 1990: Neste estudo, cada bolsa de DP é submetida a três diferentes técnicas (I a III).

I) Neste processo, 50 mL de LP é centrifugado por 15 min. O sedimento é dividido em duas alíquotas para dois diferentes métodos. A primeira foi inoculada placas de AS, MacConkey e ágar chocolate. AS placas foram incubadas a 35°C com 7,5 % CO₂ por 48 h. A segunda alíquota é ressuspensa com 10 mL de salina e 5 mL é inoculado em BACTEC aeróbio, e 5 mL inoculado em BACTEC anaeróbio. Os frascos são incubados por sete dias.

II) Neste método 10 mL de LP é coletado e submetido a agitação. Esta amostra foi dividida em duas amostras contendo 5 mL cada e inoculada em frascos de hemocultura BACTEC.

III) Neste método, uma bolsa de DP contendo 100 mL de *Tryptic soy broth* (TSB) concentrado, foi ligada a bolsa de troca do paciente para transferir o dialisado do paciente no momento da troca diretamente na bolsa contendo TSB. Após a transferência, a bolsa seria incubada por sete dias. Amostras da bolsa são retiradas nos 1º, 3º e 7º dias de incubação para realização de Gram e culturas ou quando ocorresse a turvação da bolsa.

Keane et al. 1993 (ISPD): Nesta diretriz a recomendação foi de primeiramente centrifugar uma alíquota de 10-50 mL e realizar coloração de

Gram do sedimento. Também são recomendadas 3 técnicas diferentes que podem ser escolhidas na dependência dos recursos disponíveis em cada laboratório. Abaixo estão descritas estas técnicas.

I) O sedimento obtido na centrifugação deve ser ressuspensionado em 1 mL de caldo nutriente ou em solução salina estéril, e semeado em meios de AS e ágar MacConkey.

I) Utilização de métodos semi-automatizados como Bactec e SeptiChek, porém não há especificação da preparação desta técnica.

II) Culturas através de filtro Millipore podem ser eficazes no isolamento de microrganismos, porém este método é melhor quando a peritonite é causada por fungos.

Lye et al. 1994: Este estudo foi realizado a técnica convencional e a técnica utilizando o frasco Bactec.

I) Técnica convencional: 50 mL de líquido peritoneal centrifugado. O sedimento ressuspensionado em 1 mL de caldo e semeado em placas de AS e ágar MacConkey. Foram incubados por 7 dias.

II) Técnica Bactec: 5 mL de LP em frasco de meio líquido Bactec. Incubado por 7 dias.

Keane et al. 2000 (ISPD): Neste método, é realizado a técnica de centrifugação de 50 mL de LP por 15 min a 3000 rpm. Com o sedimento, é ressuspensionado o volume de 3 a 5 mL de solução salina estéril e semeado em AS. A utilização de frascos de hemocultura é opcional.

Barretti et al. 2001: Neste estudo, é centrifugado 50 ML do LP a 3000 rpm por 15 min. O sedimento é ressuspenso com 5 mL de salina estéril e inoculado em meio para hemocultura convencional ou automatizada (Bactec).

Peres et al. 2011: Nesta técnica, as amostras são obtidas assepticamente a partir da primeira bolsa de DP drenada, em volume de dialisado com 5 a 10 mL, sendo em seguida inoculado em um meio aeróbio e em outro anaeróbio. É utilizado meios de placa tripla, meio ágar *cystine lactose electrolyte deficient* (cled), ágar MacConkey e AS.

1.8 Impacto das culturas negativas

A diretriz de 2010 recomenda que os casos de cultura negativa, a antibioticoterapia deve ter duração de 14 dias (LI et al. 2010). O impacto clínico de resultados de peritonites em cultura negativa está associado a necessidade de administrar antibiótico de amplo espectro, mas também devido a técnica empregada na detecção do microrganismo (FAHIM et al. 2010).

São poucos estudos que mostraram taxa menor que 10% nas culturas negativas (PEREZ et al. 2005, SEWELL et al. 1990, VIKRANT et al. 2013). A maioria dos estudos consegue se enquadrar no intervalo de 10-20% (FIGUEIREDO et al. 2000, CHOW et al. 2005, KAVANAGH et al. 2004, OLIVEIRA et al. 2012, FIGUEIREDO et al. 2013), e outros estão com taxa superior a 20% (DONG et al. 2004, KIM et al. 2004, NIETO-RIOS et al. 2014, MORAES et al. 2014), mostrando variabilidades nas culturas negativas (Tabela 1).

O elevado número de casos de cultura negativa que temos no Brasil (MORAES et al. 2014), e de alguns países pelo mundo (DONG et al. 2004, KIM et al. 2004, NIETO-RIOS et al. 2014), indica que a escolha do método de detecção do microrganismo no LP ainda não está adequada. Há muitos anos o HSL-PUCRS utiliza a técnica de sedimentação de bolsas, ainda não descrita na literatura, e tem apresentando taxas de culturas negativas dentro do recomendado (FIGUEIREDO et al. 2013). O presente estudo avalia quatro técnicas diferentes que antecedem a inoculação da amostra em tubo de cultura

líquida, a fim de avaliar o tempo para positivar cultura de bactérias no líquido de diálise.

Desenvolvimento

Hipótese

2 HIPÓTESE

O tempo para positivar a cultura do líquido peritoneal é menor quando submetido a técnica de sedimentação de bolsas e, posteriormente à centrifugação, em comparação com as técnicas sem sedimentação e sem centrifugação.

Objetivos

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

3.1.1. Comparar o tempo de positividade de diferentes métodos de preparo para cultura do líquido de diálise peritoneal contaminada.

3.2. Objetivos específicos

3.2.1. Determinar o tempo até a positividade da cultura do líquido de diálise peritoneal e do líquido peritoneal drenado de paciente sem peritonite após contaminação da bolsa:

- i. Sem sedimentar a bolsa de diálise, centrifugando e não centrifugando a amostra.
- ii. Após sedimentar a bolsa de diálise, centrifugando e não centrifugando a amostra.

Material e método

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1. Delineamento

Estudo *in vitro cross-sectional*.

4.2. Amostra

O presente estudo tem duas etapas:

- 1º) Líquido de diálise peritoneal inicialmente estéreis e,
- 2º) Líquido de diálise peritoneal drenado de pacientes do Serviço de Diálise do HSL-PUCRS, sem peritonite.

Em cada uma das etapas, foram contaminadas 21 bolsas, com a realização de quatro técnicas diferentes de preparo da amostra para cultura de cada bolsa.

4.3. Procedimento

O líquido foi contaminado e posteriormente tratado com quatro diferentes técnicas de preparo antes da cultura (Figura 1).

4.4. Preparação da solução bacteriana

Foram dispensados, em tubo de ensaio estéril, 3,0 mL de solução salina estéril (cloreto de sódio 0,9% Baxter[®], São Paulo, Brasil). Com alça estéril descartável de 1,0 uL, uma colônia da placa contendo SCN foi tocada e inoculada no tubo de ensaio contendo a solução salina, e seu conteúdo foi homogeneizado em agitador de tubos (Phoenix[®] AP 56, Araraquara, Brasil). Mediu-se a turbidez (DensiCHEK Biomérieux[®], Marcy L'étoile, France,) até obter a concentração de 0,5 na escala McFarland. Em seguida, 1,0 mL desta suspensão foi aspirado com pipeta Pasteur estéril, e diluído em outro tubo de

ensaio contendo 3,0 mL de salina estéril. Esta nova suspensão foi homogeneizada no agitador de tubos para utilização na próxima etapa (4.5).

4.5. Contaminação com suspensão bacteriana

A bancada e a embalagem contendo uma bolsa estéril de diálise peritoneal, foram limpas com álcool 70%. A embalagem foi aberta e a bolsa colocada sobre a mesa. O sítio de injeção de medicamentos (SIM) da bolsa foi limpo com álcool 70% por fricção, por aproximadamente seis segundos. Com seringa de 3,0 mL (BD plastipakTM Temse, Bélgica), foi aspirado 1,0 mL da suspensão bacteriana (descrita no item 4.4), que foi inoculado pelo SIM. Em sequência, a bolsa foi agitada manualmente por um minuto.

4.6. Técnicas

PRIMEIRA ETAPA

Após realização dos passos descritos nos itens 4.4 e 4.5, deu-se seguimento as técnicas A, B, C e D, descritas abaixo:

- **Técnica A:** Retirou-se o lacre do frasco de hemocultura pediátrico (BactAlert PF PLUS, Biomérieux[®], Marcy L'étoile, France) e, utilizando torunda de gaze, friccionou-se com álcool 70% o local de punção do frasco. Após agitação da bolsa, foi aspirado 1,0 mL da solução pelo SIM da bolsa e inoculado diretamente em frasco de hemocultura. O frasco foi homogeneizado e separado.
- **Técnica B:** Foram aspirados 50 mL de líquido com seringa pelo SIM, que foram inoculados em tubo de centrifugação com capacidade de 50 mL (Falcon, Falcon Labware, USA). O tubo foi centrifugado a 3000rpm por 15 min (Hettich Universal 320R[®], Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Tuttlingen, Germany).

O sobrenadante foi descartado e 1,0 mL do sedimento foi inoculado em frasco de hemocultura pediátrico (BactAlert PF PLUS). Do mesmo modo como descrito na técnica A, o local de punção foi previamente desinfetado; o frasco foi homogeneizado e separado.

Os frascos separados nas técnicas A e B foram inseridos no equipamento de hemocultura - BacT/ALERT® 3D System (Biomérieux®, Lyon, France), de acordo com recomendações do fabricante. Após a realização das técnicas A e B, a bolsa foi colocada em suporte, e deixada em repouso de quatro horas, sedimentando.

- **Técnica C:** Após quatro horas de sedimentação em repouso, o local de depósito do sedimento (fundo da bolsa) foi limpo cuidadosamente para não agitar a bolsa, em movimentos circulares com álcool 70%. Com o local de punção limpo, 1,0 mL do sedimento foi coletado diretamente da bolsa, através de punção com agulha e seringa, e inoculado em frasco de hemocultura pediátrico (BactAlert PF PLUS). Assim como descrito nas técnicas anteriores, os frascos foram limpos antes da punção para transferência do inóculo. O frasco foi homogeneizado e separado.

- **Técnica D:** Assim como na técnica C, após quatro horas de sedimentação, o fundo da bolsa foi puncionado e 50 mL do sedimento foram aspirados com agulha e seringa, sendo inoculados em tubo de centrifugação. Este volume foi centrifugado a 3000 rpm, por 15 min. Após a centrifugação, o sobrenadante foi descartado e 1,0 mL do sedimento foi inoculado em frasco de hemocultura pediátrico (BactAlert PF PLUS), através de seringa de 3,0 mL. O frasco de hemocultura foi previamente

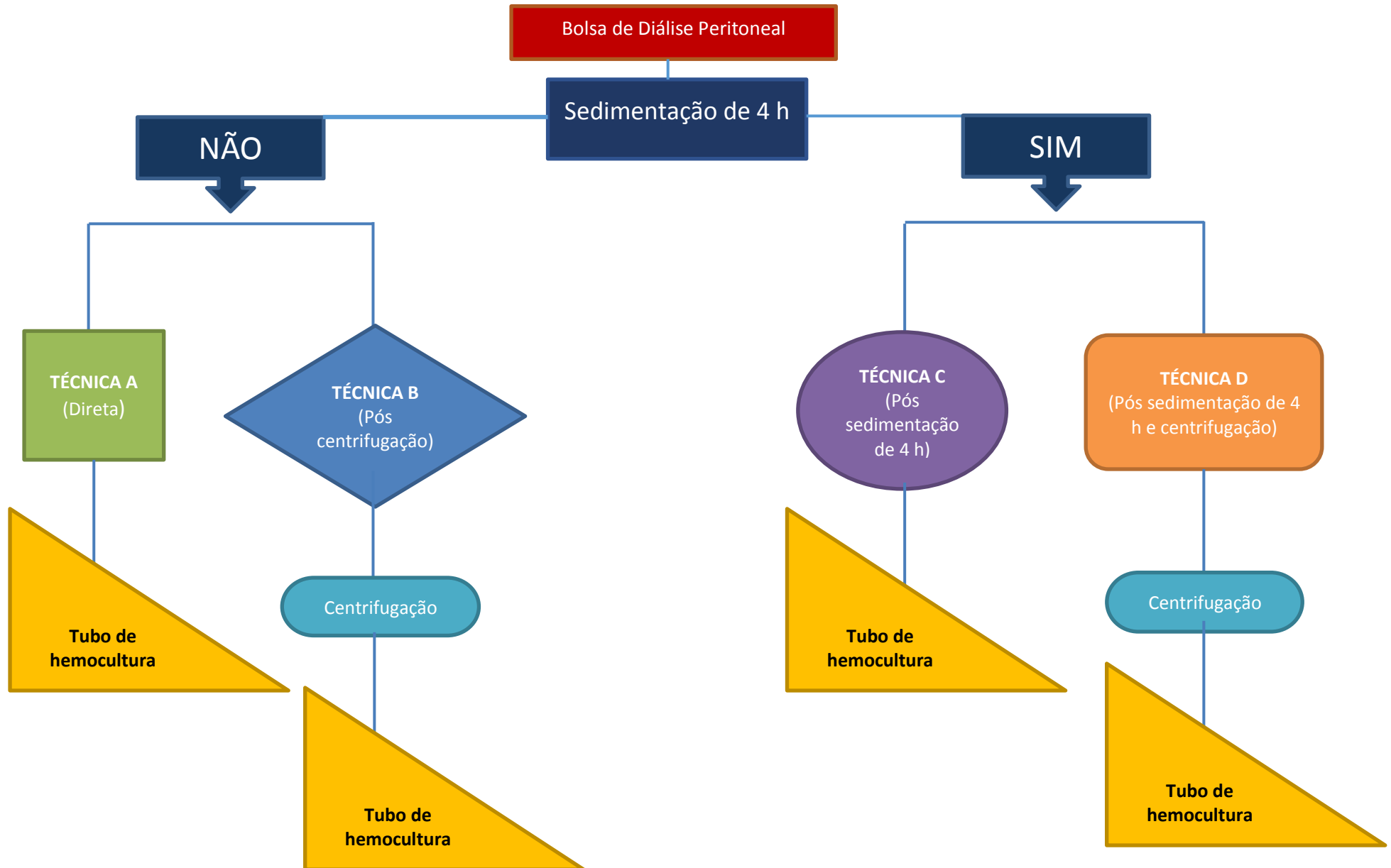
higienizado com álcool 70% no local de punção, homogeneizado e separado.

Os frascos das técnicas C e D foram inseridos no aparelho BactAlert 3D Biomérieux[®], de acordo com recomendações do fabricante. O tempo para a positividade da cultura foi registrado pelo Sistema de Detecção Microbiana BacT/ALERT[®] 3D System (BioMérieux, Marcy l'Etoile, France).

SEGUNDA ETAPA

Na segunda etapa, as bolsas de diálise peritoneal foram coletadas de pacientes em tratamento dialítico no Serviço de Nefrologia do HSL-PUCRS. As bolsas foram coletadas pelas enfermeiras responsáveis do serviço, e separadas para o presente trabalho. Após separado o material, a pesquisadora do presente estudo foi avisada imediatamente para retirar o material do Serviço e leva-lo ao laboratório, para então dar seguimento as diferentes técnicas. Após realização dos passos descritos nos itens 4.4 e 4.5, deu-se seguimentos as técnicas A, B, C e D, conforme descritas acima.

Figura 1: Fluxograma das etapas 1 e 2 das técnicas realizadas com as bolsas de diálise peritoneal.



4.7. Frascos de meio de cultura no BacT/Alert 3D Biomérieux®

Os frascos inseridos no aparelho, foram incubados a uma temperatura de 37°C, e se encontraram em constante agitação. O monitoramento dos frascos foi feito a cada dez minutos, quando um *led* de emissão de luz vermelha emitia luz na membrana do frasco (localizado no fundo do frasco), e a refletância foi detectada por fotodiodo de absorção de luz vermelha que produziu uma voltagem proporcional à intensidade de luz refletida, e conseqüentemente à concentração de dióxido de carbono presente no meio.

O software do BactAlert 3D, emitiu um laudo de cada frasco que se encontrava em análise no aparelho, as quais foram retiradas do aparelho como positiva. Neste relatório foi possível visualizar: a data e hora que o frasco foi colocado e retirado, juntamente com o tempo em que este frasco ficou no aparelho, ou seja, no caso do presente trabalho, o tempo que o frasco teve para positivar.

4.8. Análise estatística

Os dados são apresentados como média e desvio-padrão, ou mediana e amplitude. Comparações entre variáveis contínuas com distribuição normal foram realizadas pelo teste *t*-Student para grupos independentes. Comparações de três ou mais medidas de um mesmo grupo foram feitas por Análise de Variância de medidas repetidas (ANOVA) – seguido do teste Post Hoc Tukey Para análises estatísticas foi usado o programa *Statistical Package for Social Sciences* versão 21.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA, 2010) para Windows. Foi considerado estatisticamente significativo um $P \leq 0,05$.

4.9. Considerações éticas

Visando contemplar os princípios legais e éticos o projeto de pesquisa foi encaminhado à Comissão Científica da Faculdade de Medicina e, logo após, ao Comitê de Ética da PUCRS, de acordo com as normas de Pesquisa em Saúde. Para a utilização dos registros documentais de pacientes atendidos no

HSL foi assinado o termo de compromisso pela pesquisadora, o qual se responsabiliza pelo sigilo em relação à identidade do paciente, e o uso exclusivo das informações para fins científicos.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS, sob número 1.038.451.

Resultados

5 RESULTADOS

Todas as bolsas de DP nas duas etapas positivaram (n=42/100%). Avaliando inicialmente o líquido de DP de bolsas estéreis, verificou-se que as médias de tempo em horas nas técnicas D (19,6 h \pm 2,63) e C (19,0 h \pm 2,33) mostraram-se significativamente mais elevadas do que a média de A (15,7 h \pm 2,96; $p < 0,01$), mas não diferentes da média de B (18,9 h \pm 3,17). (Tabela 2).

Tabela 2: Tempo (horas) até positivar a cultura usando diferentes técnica nas bolsas estereis de diálise peritoneal.

| Técnicas | Bolsas DP (n=21) | | | |
|-----------|---------------------|------|--------|--------|
| | Média | DP | Mínimo | Máximo |
| A | 15,75 ^a | 2,96 | 11,06 | 25,00 |
| B | 18,95 ^{ab} | 3,17 | 12,90 | 27,36 |
| C | 19,05 ^b | 2,33 | 14,65 | 23,83 |
| D | 19,62 ^b | 2,63 | 14,15 | 23,93 |
| p§ | <0,009 | | | |

§: ANOVA de medidas repetidas (One Way)– Post Hoc Tukey
^{ab} letras-índices distintas indicam diferença significativa.

Verificou-se que a diferença máxima entre as médias máximas e mínimas alcançou 24,6%.

Situação semelhante ocorreu nas bolsas de DP drenadas de pacientes, onde os tempos médios das técnicas D (14,0 h \pm 1,94) e C (14,5 h \pm 1,69) superaram significativamente a média do tempo da técnica A (12,2 h \pm 1,94; $p < 0,05$), (Tabela 3), sendo que a maior diferença entre as médias foi de 18,8%.

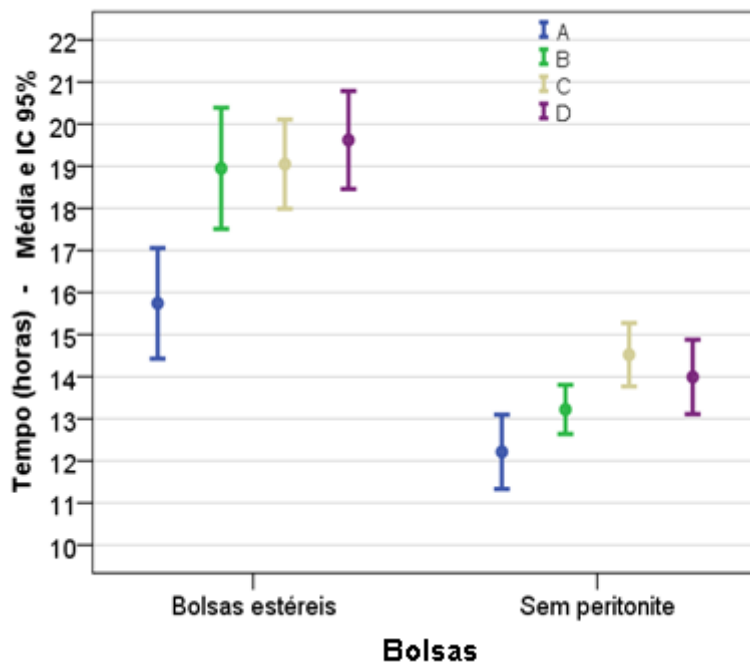
Tabela 3: Tempo (horas) até positivar a cultura usando diferentes técnica nas bolsas de diálise peritoneal drenadas de pacientes.

| Técnicas | Líquido de DP drenado de pacientes sem peritonite (n=21) | | | |
|-----------|--|------|--------|--------|
| | Média | DP | Mínimo | Máximo |
| A | 12,22 ^a | 1,94 | 8,10 | 15,03 |
| B | 13,22 ^{ab} | 1,28 | 10,93 | 15,01 |
| C | 14,52 ^b | 1,69 | 10,05 | 16,70 |
| D | 14,00 ^b | 1,94 | 9,71 | 18,58 |
| p§ | <0,011 | | | |

§: ANOVA de medidas repetidas (One Way)– Post Hoc Tukey
^{ab} letras-índices distintas indicam diferença significativa.

No entanto, as médias das técnicas D e C, não diferiram significativamente da técnica B (13,2 h \pm 1,28) e esta não diferiu da técnica A. A análise que envolveu a comparação das médias de tempo entre os tipos de bolsas, apontou diferença estatística significativa ($p < 0,001$) em cada uma das técnicas, indicando que as médias das técnicas nas bolsas de DP foram superiores às do grupo com bolsas de DP drenadas de pacientes (Figura 2).

Figura 2: Tempo médio (IC 95%) em horas até positivar a cultura usando diferentes técnicas.



Teste t-Student para grupos independentes

$A^{BE} \times A^{SE} (p < 0,01)$; $B^{BE} \times B^{SE} (p < 0,01)$; $C^{BE} \times C^{SE} (p < 0,01)$; $D^{BE} \times D^{SE} (p < 0,01)$, sendo BE: bolsas estéreis; SE: sem peritonite

Discussão

6 DISCUSSÃO

A peritonite é uma complicação grave naqueles pacientes que realizam a DP (AKOH *et al.* 2012). Sua presença pode acarretar inúmeras consequências, sendo uma delas a perda da função do peritônio, que às vezes acaba levando ao óbito. No Brasil, a peritonite é responsável por falência da técnica em 46,9% dos casos, e uma mortalidade de 5,7% (MORAES *et al.* 2014).

Nesse contexto, o presente estudo experimentou diferentes técnicas para cultura do líquido de bolsa de diálise peritoneal, sendo a sedimentação de bolsas ainda inédita na literatura. Todos os líquidos submetidos à contaminação com suspensão bacteriana resultaram em positividade da cultura. Ao contrário da hipótese inicial, o tempo que levou a positivar as amostras foi mais rápido quando o líquido contaminado foi inoculado diretamente no frasco de hemocultura (técnica A).

Sewell *et al.* comparou que a centrifugação seguida de inoculação nos frascos de meio líquido apresentou índice de positividade de 94%, enquanto que quando inoculado diretamente nos frascos foi de 82% (SEWELL *et al.* 1990). Khare *et al.* separou duas alíquotas na centrifugação, sendo que 87% foram positivas pelo método de centrifugação e inoculação nos frascos, 61% quando semeado em meios convencionais após centrifugação, e pelo método direto (sem centrifugação) baixou para 72% (KHARE *et al.* 1996). Ambos mostraram que a centrifugação prévia estava associada a maiores taxas de culturas positivas, diferente do presente trabalho. Katirtzoglou *et al.* 1980 observaram que a concentração de proteínas é mais elevada no líquido peritoneal de pacientes com peritonite: o método de centrifugação do líquido pode ser mais eficaz, nestes casos, devido ao alto peso molecular das proteínas. (Katirtzoglou *et al.* 1980). Neste trabalho não foram testados bolsas de pacientes com peritonite, o que pode ter um resultado diferente quando a infecção clínica está presente.

Vas *et al.* 1985, no método com BHI, mostrou que apenas 45,5% das culturas foram positivas, no entanto, quando utilizou maior volume, nas técnicas de tioglicolato e filtro Milipore, a taxa de positividade subiu para 54,5%, elevando ainda mais quando utilizou a técnica de lavagem 68,1%, e por último conseguiu atingir 72% de positividade nas culturas quando inoculou em frascos

de cultura de meio líquido contendo resina. Este estudo, assim como Lye *et al.* 1994, mostram que a utilização de frascos de hemocultura resulta em maiores taxas de culturas positivas, porém ainda ultrapassam a taxa de cultura negativa recomendada pela ISPD (KEANE *et al.* 1993, LI *et al.* 2010).

Krishnan *et al.* demonstraram taxa de cultura negativa de 10,9%, mostrando ser uma boa técnica de recuperação dos germes no LP, porém a metodologia utilizada não está descrita (KRISHNAN *et al.* 2002). As culturas negativas podem estar relacionadas ao método de cultura utilizado no laboratório clínico, e pacientes que estejam em uso de antibióticos (PIRAINO *et al.* 1986). Alguns estudos mostram uma taxa significativa do uso de antibióticos pelos pacientes nos últimos trinta dias antes do episódio (FAHIM *et al.* 2010, KOCYIIT *et al.* 2012, SZETO *et al.* 2011).

A alta taxa de uso de antibióticos de amplo espectro devido ao não conhecimento do germe infeccioso, aumentaram os casos de resistência bacteriana e fúngica, entretanto, mesmo as altas taxas de culturas negativas nem sempre está relacionado com baixo índice de cura, isto é, muitos dos microrganismos envolvidos nas peritonites estão respondendo às drogas de escolha (KENT *et al.* 2000).

Estudos já estabelecidos indicam que quando o LP drenado com suspeita de peritonite é centrifugado e ressuspenso com solução salina ocorre maior detecção da positividade do que quando comparado com o líquido peritoneal inoculado diretamente no frasco (SEWELL *et al.* 1990, KHARE *et al.* 1996, BARRETTI *et al.* 2001). Outro estudo utilizou o próprio líquido peritoneal para suspender o sedimento, e constatou maior positividade nos frascos específicos para bactérias fastidiosas - bactérias que necessitam de meios enriquecidos para crescimento- do que frascos aeróbios, e também quando comparados com os frascos aeróbios juntamente com as culturas de meios convencionais (ALFA *et al.* 1997). Porém, estes estudos utilizaram líquido peritoneal de pacientes com suspeita de peritonite, diferentemente deste trabalho, que foi realizado *in vitro*, com manipulação de bolsas de DP.

Dawson *et al.* 1985, mostrou que para o *Staphylococcus epidermidis*, a partir de 24 h de incubação do líquido sem presença de meio de cultura, é incapaz de se multiplicar. Supõe-se que de 0 a 24 h, esta capacidade de crescimento esteja diminuída. Portanto, quanto mais demorada a técnica,

menor a chance de detecção do *Staphylococcus epidermidis*. No presente trabalho vimos que a técnica D, que teoricamente é o processo com maior concentração de bactérias, não mostrou ser a técnica mais rápida, diferentemente da técnica A que foi a mais rápida em ambos os grupos, possivelmente por possuir maior quantidade do microrganismo.

Os exames microbiológicos são os mais demorados na rotina hospitalar, podendo demorar 24 h, 48 h ou mais dependendo da pesquisa. Fato que intensifica a utilização de tratamentos empíricos para as infecções presentes nos pacientes. Estes tratamentos, quando aplicados de forma inadequada, podem elevar a taxa de mortalidade nestes pacientes (KOLLEF *et al.* 1999, IBRAHIM *et al.* 2000). Neste trabalho mostramos a técnica mais rápida para análise de LP, tal diferença pode ser significativa para escolha adequada, e sucesso no tratamento do paciente. Porém apenas testamos o tempo em horas de bolsas inoculadas com SCN por ser o agente mais frequente em casos de peritonite (KRISHNAN *et al.* 2002, KIM *et al.* 2004, PÉREZ-FONTAN *et al.* 2005 RÜGER *et al.* 2011, GHALI *et al.* 2011, FIGUEIREDO *et al.* 2013), sendo necessários também testes com outros germes.

Técnicas mais avançadas surgiram com o intuito de obter diagnóstico precoce da peritonite. MMP-9 Test Kit (RO *et al.* 2004 PARK *et al.* 2005), demonstrou ser ferramenta útil para o início do diagnóstico, porém ainda são necessárias mais evidências. Trabalho mostrando o sequenciamento do gene 16S rRNA mostra limitações, pois identificou 90% do gênero e 67,5% das espécies dos casos de cultura positiva. Esta técnica é rápida e muito útil em casos de culturas já dadas como negativa, e naquelas amostras cujos pacientes iniciaram a antibioticoterapia (AHMADI *et al.* 2013). Outras três técnicas: reação em cadeia da polimerase (PCR) com sequência de RNA, mostrou recuperar 55% dos casos de peritonite positiva e 76% daquelas que estavam como resultado de CN (Yoo T.H., *et al.* 2006), reação em cadeia da polimerase quantitativa para DNA bacteriano, em que 6 das 9 peritonites foi encontrado o DNA bacteriano (JOHNSON G. *et al.* 2006), e espectrometria de massa empregando *Matrix Associated Laser Desorption-Ionization – Time of Flight* (MALDI-TOF) (JAKOVLJEV *et al.* 2015), podem ser utilizadas como ferramentas complementares para a detecção do organismo. Entretanto estas metodologias são de custos mais elevados, impossibilitando a

utilização na rotina assistencial. E mesmo com a identificação mais rápida dos germes, o crescimento do microrganismo em cultura é essencial para algumas destas técnicas, e especialmente para a realização do teste de sensibilidade.

6.1. Limitações

Há limitações no presente estudo. Primeiramente, o estudo foi conduzido com apenas um microrganismo, o *Staphylococcus* coagulase negativo. Se o *Staphylococcus epidermidis*, que é um SCN, perde provavelmente a função após primeira hora de incubação, outros microrganismos como a *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e fungos, também devem ser avaliados.

O ideal seria a utilização de bolsas de pacientes com suspeita de peritonite para realização do presente trabalho, porém com as atuais taxas de peritonite no Serviço de Hemodiálise do HSL, 1 episódio a cada 20 meses (0,59 / episódio / paciente / ano).

Conclusão

CONCLUSÃO

O tempo de positividade das culturas foi menor quando feita sem as técnicas de sedimentação de bolsa e centrifugação, podendo especular que a sedimentação e centrifugação parecem não ser necessárias para o preparo das amostras para cultura, podendo retardar em quase oito horas o resultado final do exame.

Referências

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMADI SH, NEELA V, HAMAT RA, GOH BL, SYAFINAZ NA. Rapid detection and identification of pathogens in patients with continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD) associated peritonitis by 16s rRNA gene sequencing. **Tropical Biomedicine**. v.30, n.4, p. 602–607, 2013.

AKOH AJ. Peritoneal dialysis associated infections: An update on diagnosis and management. **World J Nephrol**. v. 6, n.4, p. 106-122, 2012.

ALFA MJ, DEGAGNE P, OLSON N, HARDING GK. Improved detection of bacterial growth in continuous ambulatory peritoneal dialysis effluent by use of BacT/Alert FAN bottles. **J Clin Microbiol.**; v. 35, p.862–6, 1997.

BALAZS J, ROSENAK S. ZUR Behandlung der Sublimatanurie durch peritoneal Dialyse. **Wien Klin Wochenschr**. v. 47, n. 2, p. 851-854, 1934.

BARRETTI P, MONTELLI AC, CUNHA MLRS, CARAMORI JCT. Atualização em Diálise: Tratamento atual das peritonites em diálise peritoneal ambulatorial contínua. **J Bras Nefrol**. v. 23 n.2, p. 114-120, 2001.

BIANCHI P, BUONCRISTIANI E, BUONCRISTIANI U. Antisepsis. **Contrib Nephrol**. v. 154, p. 1-6, 2007.

BIGELOW P, OREOPOULOS DG, DEVEBER GA. Use of the Deane prosthesis in patients on long-term peritoneal dialysis. **Can Med Assoc J**. v. 109, n. 10, p. 999-1001, 1973.

BLAKE P. Proliferation of hemodialysis units and declining peritoneal dialysis use: an international trend. **A. J Kidney Dis**. v.54, p. 194–196, 2009

BOYCE JM, PITTET D, EDS. Guideline for Hand Hygiene in Health-Care Settings: Recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and HICPAC/ SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. Thorofare, NJ: Slack. p. 104–6, 2002.

BOYLE PJ, KUDLAC H, WILLIAMS AJ. Geographical variation in the referral of patients with chronic end stage renal failure for renal replacement therapy. **Qjm** v. 89 p. 151-7, 1996.

BROWN EA. Should older patients be offered peritoneal dialysis? **Perit Dial Int.** v.28, n.5, p.444–8, 2008.

CAMARGO CH, DA CUNHA MD, CARAMORI JC, MONDELLI AL, MONTELLI AC, BARRETTI P. Peritoneal Dialysis-Related Peritonitis due to Coagulase-Negative Staphylococcus: A Review of 115 Cases in a Brazilian Center. **Clin J Am Soc Nephrol.** v. 9, p. 1074-1081, 2014.

CHO, Y., BADVE, S.V., HAWLEY, C.M., MCDONALD, S.P., BROWN, F.G., BOUDVILLE, N., WIGGINS KJ, BANNISTER KM, CLAYTON PA, JOHNSON DW. Seasonal Variation in Peritoneal Dialysis-Associated Peritonitis: A Multi-Centre Registry Study. *Nephrology, Dialysis, Transplantation: Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association.* **European Renal Association.** v. 27, p. 2028-2036, 2012.

CHOW KM, SZETO CC, LEUNG CB, KWAN BC, LAW MC, LI PK. A risk analysis of continuous ambulatory peritoneal dialysis-related peritonitis. **Perit. Dial. Int.** v. 25, p. 374–379, 2005.

CUETO-MANZANO AM, QUINTANA-PINA E, CORREA-ROTTER R. Long-term CAPD survival and analysis of mortality risk factors: 12-year experience of a single Mexican center. **Perit Dial Int.** v. 21, p. 148–53, 2001.

DAWSON MS, HARFORD AM, GARNER BK, SICA DA, LANDWEHR DM, DALTON HP. Total Volume Culture Technique for the Isolation of Microorganisms from Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis Patients with Peritonitis. **Journal of Clinical Microbiology.** p. 391-394, 1985.

DÉROT M, TANZET P, ROUSSILLON J. BERNIER JJ. La dialyse péritonéale dans le traitement de l'urémie aiguë. **J Urol.** v. 55, p. 113-121, 1949.

DE SOUSA-AMORIM E1, BAJO-RUBIO MA, DEL PESO-GILSANZ G, CASTRO MJ, CELADILLA O, SELGAS-GUTIÉRREZ R. Thirty years in a peritoneal dialysis unit: long-term survival. **Nefrologia.** v.33, n.4, p.546-51, 2013.

DONG KK, TAE-HYUN Y, DONG-RYEOL R, ZHONG-GAO X, HYUN JK, KYU HC, HO YL, DAE-SUK H, SHIN-WOOK K. Changes in causative organisms and their antimicrobial susceptibilities in capd peritonitis: a single center's experience over one decade. **Perit. Dial. Int.** v. 24, p. 424–432, 2004.

DOR A, PAULY MV, EICHLEAY MA, HELD PJ. End-stage renal disease and economic incentives: The International Study of Health Care Organization and Financing (ISHCOF). **Int J Health Care Finance Econ** v.7, p.73– 111, 2007.

FAHIM M, HAWLEY CM, MCDONALD SP, BROWN FG, ROSMAN JB, WIGGINS KJ, BANNISTER KM, JOHNSON DW. Culture-negative peritonitis in peritoneal dialysis patients in Australia: predictors, treatment, and outcomes in 435 cases. **Am. J. Kidney Dis.** Vv. 55, p. 690–697, 2010.

FERNANDES NMS, CHAOUBAH A, BASTOS K, LOPES AA, DIVINO-FILHO JC, PECOITS-FILHO R, BASTOS MG. Geografia da diálise peritoneal no Brasil: análise de uma coorte de 5.819 pacientes (BRAZPD). **J Bras Nefrol.** v.32, n. 3, p. 265-271, 2010.

FIGUEIREDO AE, POLI-DE-FIGUEIREDO CE Ana E. Figueiredo, Carlos E. Poli de Figueiredo, and Domingos O. d'Avila DO. Peritonitis Prevention in CAPD: to Mask or Not?. **Peritoneal Dialysis International.** Vol. 20, pp. 354–358, 2000.

FIGUEIREDO AE, POLI DE FIGUEIREDO, CE, D'AVILA, DO. Bag Exchange in Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis without Use of a Face Mask: Experience of Five Years. **Advances in Peritoneal Dialysis.** v.17, p. 98-100, 2001.

FIGUEIREDO AE, POLI-DE-FIGUEIREDO CE, MENEGHETTI F, LISE GAP, DETOFOLI CC, SILVA LB. Peritonitis in patients on peritoneal dialysis: analysis of a single Brazilian center based on the International Society for Peritoneal Dialysis. **J Bras Nefrol.** v.35, n. 3, p. 214-219, 2013.

FIGUEIREDO AE, KEHL ACG, BOTTIN ST, DAMINELLI WG. Is the Distribution of Microorganisms and Peritonitis Affected by Seasonality in Peritoneal Dialysis? **Open Journal of Nephrology.** v.4, p.146-151, 2014.

FINKELSTEIN ES, JEKEL J, TROIDLE L, GORBAN-BRENNAN N, FINKELSTEIN FO, BIA FJ. Patterns of infection in patients maintained on long-term peritoneal dialysis therapy with multiple episodes of peritonitis. **Am J Kidney Dis.** v.39, p.1278–86, 2002.

GADOLA L, ORIHUELA L, PÉREZ D, GÓMEZ T, SOLÁ L, CHIFFLET L, MAUTONE M, TORRES E, RODRIGUEZ G. Peritonitis in peritoneal dialysis patients in Uruguay. **Perit. Dial. Int.** v. 28, p. 232–235, 2008.

GANTER G. Über die Beseitigung giftiger stoffe dein Blute durch Dialyse Munch. **Med wochenschr.** v.70, p. 1478-80, 1923.

GHALI JR, BANNISTER KM, BROWN FG, ROSMAN JB, WIGGINS KJ, JOHNSON DW, MCDONALD SP. Microbiology and outcomes of peritonitis in australian peritoneal dialysis patients. **Perit Dial Int.** v. 31, p. 651–662, 2011.

GUPTA B, BERNARDINI J, PIRAINO B. Peritonitis associated with exit site and tunnel infections. **Am J Kidney Dis.** v. 28, p. 415–19, 1996.

GUPTA S, MURALIDHARAN S, GOKULNATH H. Epidemiology of culture isolates from peritoneal dialysis peritonitis patients in southern India using an automated blood culture system to culture peritoneal dialysate. **Nephrology** . v.16. p. 63-67, 2011.

HEUSSER H, WERDER H. Untersuchungen über Peritonealdialyse. **Bruns Beitr Klin Chir.**v.141, p. 38-49, 1927.

HOPSON S, FRANKENFIELD D, ROCCO M, MCCLELLAN W. Variability in reasons for hemodialysis catheter use by race, sex, and geography: findings from the ESRD Clinical Performance Measures Project. **Am J Kidney Dis.** v.52, p.753-60, 2008.

HSIEH YP, WANG SC, CHANG CC, WEN YK, CHIU PF, YANG Y. The negative impact of early peritonitis on continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. **Perit Dial Int.** v. 34, n.6, p. 627-35, 2014.

IBRAHIM EH, SHERMAN G, WARD S, FRASER VJ, KOLLEF MH. The influence of inadequate antimicrobial treatment of bloodstream infections o n patient outcomes in the ICUsetting. **Chest.** v.118, n.1, p 146-55, 2000.

JACOB GB, DEANE N. Repeated peritoneal dialysis by the catheter replacement method; description of technique and a replaceable prosthesis for chronic access to the peritoneal cavity. Proc **Eur Dial Transplant Assoc.** v.4, p. 136, 1967.

JAIN AK, BLAKE P, CORDY P, GARG AX. Global Trends in Rates of Peritoneal Dialysis. **J Am Soc Nephrol.** v. 23, p. 533–544, 2012.

JAKOVLJEV A, BERGH K. Development of a rapid and simplified protocol for direct bacterial identification from positive blood cultures by using matrix assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. **BMC Microbiology**. v. 15, p. 258, 2015.

JASSAL SV, TRPESKI L, ZHU N, FENTON S, HEMMELGARN B. Changes in survival among elderly patients initiating dialysis from 1990 to 1999. **CMAJ**. v.177, n.9, p.1033–8, 2007.

JOHNSON G, WILKS M, WARWICK S, MILLAR MR, FAN SL. Comparative study of diagnosis of PD peritonitis by quantitative polymerase chain reaction for bacterial DNA vs culture methods. **J Nephrol**. v.19, n. 1, p. 45-9, 2006.

KATIRTZOGLU A, OREOPOULOS DG, HUSDAN H, LEUNG M, OGILVIE R, DOMBROS N. Reappraisal of protein losses in patients undergoing continuous ambulatory peritoneal dialysis. **Nephron**. v. 26, n. 5, p. 230-3, 1980.

KAVANAGH D, PRESCOTT GJ, MACTIER RA. Peritoneal dialysis-associated peritonitis in Scotland (1999–2002). **Nephrol. Dial. Transplant**. v.19, p. 2584–91, 2004.

KEANE WF, BAILIE GR, BOESCHOTEN E, GOKAL R, GOLPER TA, HOLMES CJ, KAWAGUCHI Y, PIRAINO B, RIELLA M, VAS S. Adult peritoneal dialysis-related peritonitis treatment recommendations: 2000 update [Published erratum appears in *Perit Dial Int* 2000; 20:828–9]. **Perit Dial Int**. v.20, p. 396–411, 2000.

KEANE WF, EVERETT ED, GOLPER TA, GOKAL R, HALSTENSON C, KAWAGUCHI Y, RIELLA M, VAS S, VERBRUGH HA. Peritoneal dialysis-related peritonitis treatment recommendations. 1993 update. The Ad Hoc Advisory Committee on Peritonitis Management. **International Society for Peritoneal Dialysis**. v.13, n. 1, p. 14-28, 1993.

KENT JR, ALMOND MK. A survey of capd peritonitis management and outcomes in north and south thames nhs regions (u.k.): support for the ispd guidelines. **Perit Dial Int**. v.20, p. 301–305, 2000.

KHARE S, YURACK J, TOYE B. Culture of Dialysate in Suspected CAPD Associated Peritonitis Using the BacT/Alert System. **Diagn Microbiol Infect Dis**. v.25, p.101-106. 1996.

KIM D, TAPSON J, WU G, KHANNA R, VAS SI, OREOPOULOS DG. Staphylococcus aureus peritonitis in patients on continuous ambulatory

peritoneal dialysis. *Trans. Am. Soc. Artificial Intern. Organs.* v. 30, p. 494-497, 1984.

KIM, MJ, SONG, JH, PARK, YJ, KIM, GA, LEE, SW. The Influence of Seasonal Factors on the Incidence of Peritonitis in Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis in the Temperate Zone. **Advances in Peritoneal Dialysis.** v.16, p.243-247, 2000.

KIM DK, YOO TH, RYU DR, XU ZG, KIM HJ, CHOI KH, LEE HY, HAN DS, KANG SW. Changes in causative organisms and their antimicrobial susceptibilities in CAPD peritonitis: a single center's experience over one decade. **Perit. Dial.** v.24, p. 424–432, 2004.

KOCYIIT I, UNAL A, KARADEMIR D, BAHCEBASI S, MURAT H, SIPAHIOGLU, BULENT T, OKTAY O, CENGIZ U. Improvement in Culture-Negative Peritoneal Dialysis-Related Peritonitis: A Single Center's Experience. **Perit Dial Int.** v. 32, p. 476–478, 2012.

KRISHNAN M, THODIS E, IKONOMOPOULOS D, VIDGEN E, CHU M, BARGMAN J, VAS SI, OREOPOULOS DG. Predictors of outcome following bacterial peritonitis in peritoneal dialysis. **Perit Dial Int.** v. 22, p.573–581, 2002.

KUSSUMOTA L. Avaliação da qualidade de vida relacionada a saúde de paciente em hemodiálise [Tese de doutorado]. Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo; 2005.

LAN PG, CLAYTON PA, SAUNDERS J, POLKINGHORNE KR, SNELLING PL. Predictors and Outcomes of Transfers from Peritoneal Dialysis to Hemodialysis. **Perit Dial Int.** 2015v. 35 n. 3, P. 306-315, 2015.

LASKER N, SHALHOUB R, HABIBE O, PASSAROTTI C. The Management of End-stage Kidney Disease with Intermittent Peritoneal Dialysis. **Ann Intern Med.** v. 62, n.6, p.1147-1169, 1965.

LI PK, SZETO CC, PIRAINO B, BERNARDINI J, FIGUEIREDO AE, GUPTA A, JOHNSON DW, KUIJPER EJ, LYE WC, SALZER W, SCHAEFER F, STRUIJK DG. ISPD guidelines/recommendations: peritoneal dialysis-related infections recommendations: 2010 update. **Perit. Dial. Int.** v.30, p. 393–423, 2010.

LIM CT, WONG KS, FOO MW. The impact of topical mupirocin on peritoneal dialysis infection in Singapore General Hospital. *Nephrol Dial Transplant*. v.20, p.1702–6, 2005.

LO WK: Peritoneal dialysis utilization and outcome: What are we facing? *Perit Dial Int* . v. 27, s. 2, p. S42–S47, 2007.

LOBO JVD, VILLAR KR, ANDRADE JR. MP, BASTOS KA. Predictor factors of peritoneal dialysis-related peritonitis. *J Bras Nefrol*. v. 32, n. 2, p.156-164, 2010.

LYE W.C. WONG P.L. LEONG S.O., LEE E.J.C. Isolation of organism in CAPD peritonitis: A comparison of two techniques. *Advances in Peritoneal Dialysis*. v. 10, p. 166-8, 1994.

MARIN H. KOLLEF M, SHERMAN G, WARD S, FRASER VJ. Inadequate Antimicrobial Treatment of Infections A Risk Factor for Hospital Mortality Among Critically Ill Patients. *Chest*. v.2, p.462-74, 1999.

MARTIN LC, CARAMORI JC, FERNANDES N, DIVINO-FILHO JC, PECOITS-FILHO R, BARRETTI P; BRAZILIAN PERITONEAL DIALYSIS MULTICENTER STUDY BRAZPD GROUP. Geographic and educational factors and risk of the first peritonitis episode in Brazilian Peritoneal Dialysis study (BRAZPD) patients. *Clin J Am Soc Nephrol*. v.6, n.8, p.1944-51, 2011.

MORAES TP, OLANDOSKI M, CARAMORI JCT, MARTIN LC, FERNANDES N, DIVINO-FILHO JC, PECOITS-FILHO R, BARRETTI P. Novel predictors of peritonitis-related outcomes in the BRAZPD cohort. *Peritoneal Dialysis International*. v. 34, p.179–187, 2014.

MUJ AIS S. Microbiology and outcomes of peritonitis in North America. *Kidney Int*. v.70, p.55-62, 2006.

NEIL N, WALKER DR, SESSO R, BLACKBURN JC, TSCHOSIK EA, SCIARAFFIA V, GARCIA-CONTRERAS F, CAPSA D, BHATTACHARYYA SK. Gaining efficiencies: Resources and demand for dialysis around the globe. *Value Health*. v.1, p.73–79, 2009.

NIETO-RÍOS JF, BETANCUR JSD, GÓMEZ MA, GARCÍA AG, CEBALLOS JR, BUELVAS AR, HIGUITA LMS, SIERRA JEH. Peritoneal dialysis-related peritonitis: twenty-seven years of experience in a Colombian medical center. *Nefrologia*. v.34, p.88-95, 2014.

NOLPH KD. The peritoneal dialysis system. **Contrib Nephrol.** v.17, p.44-49, 1979.

NOLPH KD. Peritoneal Dialysis. Second Edition. Boston: Martinus Nijhoff, p. 1-22, 1985.

OBRADOR GT, MAHDAVI-MAZDEH M, COLLINS AJ. Global Kidney Disease Prevention N. Establishing the Global Kidney Disease Prevention Network (KDPN): a position statement from the National Kidney Foundation. **Am J Kidney Dis.** v.57, n.3, p.361–70, 2011.

OLIVEIRA LG, LUENGO J, CARAMORI JC, MONTELLI AC, CUNHA MDE L, BARRETTI P. Peritonitis in recent years: clinical findings and predictors of treatment response of 170 episodes at a single Brazilian center. **Int Urol Nephrol.** v.44, n.5, p.1529-37, 2012.

OREOPOLOUS D, ROBSON M, IZATT S, CLAYTON S, DEVEBER GA. A simple and safe technique for continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD). **Trans Am Soc Artif Intern Organs** v.14, p.484-9, 1978.

OREOPOULOS DG. Peritoneal dialysis is here to stay. **Nephron.** v.24, p.7, 1979.

OTA K, MARUYAMA H, IINO N, NAKAMURA G, SHIMOTORI M, TANABE Y, TSUKADA H, GEJYO F. Rapid detection of causative pathogen of peritonitis using in-situ hybridization in a patient with continuous ambulatory peritoneal dialysis. **J Infect Chemother.** v.13, p.273-5, 2007.

PALMER RA, QUINTON WE, GRAY JF. Prolonged PD for chronic renal failure. **Lancet.** v. 1, p.700-702, 1964.

PALMER RA Peritoneal dialysis by indwelling catheter for chronic renal failure 1963-1968. **C.M.A. JOURNAL.** v. 105, p. 376-379 , 1971

PARK SJ, LEE JY, TAK WT, LEE JH. Using reagent strips for rapid diagnosis of peritonitis in peritoneal dialysis patients. **Adv Perit Dial.** v.21, p.,69–71, 2005.

PECOITS-FILHO R, ABENSUR H, CUETO-MANZANO AM, DOMINGUEZ J, DIVINO FILHO JC, FERNANDEZ-CEAN J, ORTIZ AM, MORETTA G, RAMOS A, SANABRIA M, SESSO R, PANIÁGUA R. Overview of peritoneal dialysis in Latin America. **Perit Dial Int.** v.27, n.3, p.316-21, 2007.

PERES LAB, MATSUO T, ANN HK, CAMARGO MTA, ROHDE NRS, USCOCOVICH VSM, LITHTENEKER K, FREDERICO SAM. Peritonitis in continuous ambulatory peritoneal dialysis. **Rev Bras Clin Med.** v. 9, n.5, p.350-3, 2011.

PÉREZ-FONTAN M, LUEIRO F. Escherichia coli peritonitis in patients undergoing peritoneal dialysis: a serious problem that may get worse. **Perit Dial Int.** v.26, p. 174-77, 2006.

PÉREZ-FONTAN M, RODRÍGUEZ-CARMONA A, GARCÍA-NAVEIRO R, ROSALES M, VILLAVERDE P, VALDÉS F. Peritonitis-related mortality in patients undergoing chronic peritoneal dialysis. **Perit Dial Int.** v.25, p.274-84, 2005.

PIRAINO B, BAILIE GR, BERNARDINI J, BOESCHOTEN E, GUPTA A, HOLMES C, KUIJPER EJ, PK LI, LYE W, MUJ AIS S, PATERSON DL, PEREZ FONTAN M, RAMOS A, SCHAEFER F, UTTLEY L. Peritoneal dialysis-related infections recommendations: 2005 update. **Peritoneal Dialysis International.** v. 25, p. 107-131, 2005.

PIRAINO B, BERNARDINI J, SORKIN M. The influence of peritoneal catheter exit-site infections on peritonitis, tunnel infections, and catheter loss in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. **Am. J. Kidney Dis.** v. 8, p.436-440, 1986.

PIRAINO B, BERNARDINI J, SORKIN M. 1989. Catheter infections as a factor in the transfer of continuous ambulatory peritoneal dialysis patients to hemodialysis. **Am J Kidney Dis.** v.13. p.365-9, 1989.

PIRAINO B, BERNARDINI J, BROWN E, FIGUEIREDO A, JOHNSON DW, LYE WC, PRICE V, RAMALAKSHMI S, SZETO CC. ISPD POSITION STATEMENT ON REDUCING THE RISKS OF PERITONEAL DIALYSIS-RELATED INFECTIONS. **Peritoneal Dialysis International.** v. 31, pp. 614-630, 2011.

PIRAINO, B, BERNARDINI J, SORKIN M. A five-year study of the microbiologic results of exit-site infections and peritonitis in continuous ambulatory peritoneal dialysis. **Am. J. Kidney Dis.** v. 10, p.281-286, 1987.

POPOVICH RP, MONCRIEF J W, DECHERD JF, et al. BOMAR JB, PYLE WK. The definition of a novel portable wearable equilibrium peritoneal technique. **Trans Am Soc Artif Inter Organs** v.23, p. 64, 1976.

POPOVICH RP, MONCRIEF J W, NOLPH KD, GHODS AJ, TWARDOWSKI ZJ, PYLE WK. Continuous ambulatory peritoneal dialysis. **Ann Intern Med.** v. 88, p. 449,1978.

PRASAD KN, SINGH K, RIZWAN A, MISHRA P, TIWARI D, PRASAD N, GUPTA A. Microbiology and outcomes of peritonitis in northern India. **Peritoneal Dialysis International.** v. 34, p. 188–194, 2014.

READ RR, EBERWEIN P, DASGUPTA MK, GRANT SK, LAM K, NICKEL JC, COSTERTON JW. Peritonitis in peritoneal dialysis: bacterial colonization by biofilm spread along the catheter surface. **Kidney Int.** v.35, p.614–21, 1989.

RENAUD CJ, SUBRAMANIAN S, TAMBYAH PA, LEE EJ. The clinical course of rapidly growing nontuberculous mycobacterial peritoneal dialysis infections in Asians: A case series and literature review. **Nephrology.** v. 16, p. 174-179, 2011.

RHOADS JE. Peritoneal lavage in the treatment of renal insufficiency. **Am J Med Sci.** v. 196, p. 642-647, 1938.

RODRIGUEZ RA, SEN S, MEHTA K, MOODY-AYERS S, BACCHETTI P, OHARE AM. Geography matters: relationships among urban residential segregation, dialysis facilities, and patient outcomes. **Ann Intern Med.** v.146, p.493-501, 2007.

ROTTER ML. Hand washing and hand disinfection. In: Mayhall CG, ed. Hospital Epidemiology and Infection Control. Baltimore, MD: **Williams and Wilkins.** v. 12, 1996.

RÜGER W, ITTERSUM FJ, COMAZZETTO LF, HOEKS SE, WEE PM. Similar peritonitis outcome in capd and apd patients with dialysis modality continuation during peritonitis. **Peritoneal Dialysis International.** v.31, p.39-47, 2011.

SAYDAH S, EBERHARDT M, RIOS-BURROWS N, GEISS L, DORSEY R. PREVALENCE of chronic kidney disease and associated risk factors - United States, 1999-2004. **MMWR**. v. 56, p.161-5, 2007.

SAKACI T, AHBAP E, KOC Y, BASTURK T, UCAR ZA, SINANGIL A, SEVINC M, KARA E, AKGOL C, KAYALAR AO, CAGLAYAN FB, SAHUTOGLU T, ÜNSAL A. Clinical outcomes and mortality in elderly peritoneal dialysis patients. **CLINICS**. v.70, n.5, p.363-368, 2015.

SCHLEIFER KH, KILPPER-BALZ R. Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the genus *Enterococcus* nom rev as *Enterococcus faecalis* comb. nov. and *Enterococcus faecium* comb. nov. **Int J Syst Bacteriol**. v.34, p.34, 1984.

SESSO RC, LOPES AA, THOMÉ FS, LUGON JR, SANTOS DR. Brazilian Chronic Dialysis Survey 2013 - Trend analysis between 2011 and 2013. **J Bras Nefrol**. v. 36, n. 4, p. 476-481, 2014.

SESSO RCC, LOPES AA, THOMÉ FS, LUGON JR, BURDMAN EA. Censo Brasileiro de Diálise, 2009. **J Bras Nefol**. v.32, p.380-4, 2010.

SEWELL DL, GOLPER TA, HULMAN PB, THOMAS CM, WEST LM, KUBEY WY, HOLMES CJ. Comparison of large volume culture to other methods for isolation of microorganisms from dialysate. **Perit Dial Int**. v. 10, p. 49-52, 1990.

SHIGIDI MM, FITURI OM, CHANDY SK, ASIM M, AL MALKI HA, RASHED AH. Microbial spectrum and outcome of peritoneal dialysis related peritonitis in Qatar. Saudi. **J Kidney Dis Transpl**. v. 21, n.1, p.168-73, 2010.[RESUMO].

SHUKLA A, ABREU Z, BARGMAN JM. Streptococcal PD peritonitis—a 10-year review of one centre's experience. **Nephrol Dial Transplant**. v.21, p.3545–9, 2006.

SIVA B, HAWLEY CM, MCDONALD SP, BROWN FG, ROSMAN JB, WIGGINS KJ, BANNISTER KM, JOHNSON DW. Pseudomonas peritonitis in Australia: predictors, treatment, and outcomes in 191 cases. **Clin J Am Soc Nephrol**. v.4, p. 957–64, 2009.

STUART S, BOOTH TC, CASH CJ, HAMEEDUDDIN A, GOODE A, HARVEY C, MALHOTRA A. Complications of continuous ambulatory peritoneal dialysis. **Radiographics**. v.29, n.2, p.441–460, 2009.

SZETO CC, CHOW VC, CHOW KM, LAI RW, CHUNG KY, LEUNG CB, KWAN BC, LI PK. Enterobacteriaceae peritonitis complicating peritoneal dialysis: a review of 210 consecutive cases. **Kidney Int.** v.69, p.1245–52, 2006.

SZETO, CC, KWAN B, CHOW KM. Repeat peritonitis in peritoneal dialysis: retrospective review of 181 consecutive cases. **Clin. J. Am. Soc. Nephrol.** v. 6, p.827–833, 2011.

TENCKHOFF H, SCHECHTER HA. Bacteriologically safe peritoneal access device. **Trans Am Soc Artif Intern Organs.** v.14, p. 181-7, 1968.

VAS S.I., LOW L. Microbiological diagnosis of peritonitis in patients on continuous laboratory peritoneal dialysis. **J Clin Microl.** v.21, p.522-3, 1985.

VAS SI. Treatment of peritonitis. **Perit Dial Int.** v. 14, n.3, p.49–55, 1994.
VIKRANT S, GULERIA RC, KANGA A, VERMA BS, SINGH D, DHEER SK. Microbiological aspects of peritonitis in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. **Indian J Nephrol.** v.23, p.12-17, 2013.

VOGEL L, SLOOS JH, SPAARGAREN J, SUIKER I, DIJKSHOORN L. Biofilm production by Staphylococcus epidermidis isolates associated with catheter related bacteremia. **Biol Infect Dis.** v. 36, p.139–41, 2000.

VOSS A, WIDMER AF. No time for handwashing!? Handwashing versus alcoholic rub: can we afford 100% compliance?. **Infect Control Hosp Epidemiol.** v. 18, n. 3, p.205-8, 1997.

YOO TH, CHANG KH, RYU DR, KIM JS, CHOI HY, PARK HC, KANG SW, CHOI KH, KIM JM, HA SK, HAN DS, LEE HY. Usefulness of 23S rRNA amplification b.y PCR in the detection of bacteria in CAPD peritonitis. **Am J Nephrol.** v. 26, p.115-20, 2006.

ZUROWSKA A, FENEBERG R, WARADY BA, ZIMMERING M, MONTEVERDE M, TESTA S, CALYSKAN S, DROZDZ D, SALUSKY I, KEMPER MJ, EKIM M, VERRINA E, MISSELWITZ J, SCHAEFER F. Gram-negative peritonitis in children undergoing long-term peritoneal dialysis. **Am J Kidney Dis.** v.51, p.455–62, 2008.

WEAR JB, SISK IR. TRINKLE AJ. Peritoneal lavage in the treatment of uremia. **J Urol.** V. 39, p. 53-62, 1938.

Apêndices

Apêndice A – Termo de Sigilo de dados



Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

TERMO DE COMPROMISSO PARA UTILIZAÇÃO DE DADOS

Título do Projeto

Avaliação de diferentes técnicas para detecção de agentes microbiológicos causadores de peritonite em pacientes de diálise peritoneal

Os autores do projeto de pesquisa se comprometem a manter o sigilo dos dados coletados em prontuários e/ou em bases de dados referentes aos participantes da pesquisa intitulada _ Avaliação de diferentes técnicas para detecção de agentes microbiológicos causadores de peritonite em pacientes de diálise peritoneal. Os pesquisadores concordam, igualmente, que tais informações serão utilizadas única e exclusivamente com finalidade científica, preservando-se integralmente o anonimato dos participantes.

Porto Alegre, 05 de maio de 2014.

| Autores do Projeto | |
|-------------------------------------|------------|
| Nome | Assinatura |
| Ana Elizabeth Prado Lima Figueiredo | |
| Carlos Eduardo Poli de Figueiredo | |
| Roberta Monteiro Katzap | |
| Vany Elisa Pagnussatti | |
| | |
| | |
| | |
| | |

Apêndice B – Artigo submetido à revista *American Journal of Kidney Diseases*

Title: TIME TO POSITIVITY OF BACTERIA CULTURES IN PERITONEAL DIALYSIS FLUID: EVALUATION OF DIFFERENT LABORATORY TECHNIQUES.

Roberta M Katzap, Vany Elisa Pagnussatti, Ana Elizabeth Figueiredo, Julia Gabriela Motta, Domingos O. d'Avila, Bartira Ercília Pinheiro da Costa, Carlos Eduardo Poli-de-Figueiredo

Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde (Nephrology).
FAMED/ IPB/FFARM/FAENFI/HSL

Short Title: PERITONEAL DIALYSIS FLUID CULTURE

Corresponding to author:

Carlos Eduardo Poli-de-Figueiredo

Centro Clínico da PUCRS, Av Ipiranga 6690

Porto Alegre, RS / Brazil, 90610-000

Phone/ Fax: 55 51 33367700

E-mail: cepolif@pucrs.br

Words: 2733 (full submission); Table: 2; Figure: 1.

Support: FAPERGS for supporting RMK with scholarship and Nephrology Unit – Hospital São Lucas (PUCRS).

ABSTRACT

Background: End-stage renal disease patients undergoing peritoneal dialysis therapy are susceptible to infections - peritonitis being the primary cause of method failure. Peritoneal fluid culture is critical for a proper diagnosis and treatment. The aim of this study was to compare the length of time in obtaining a positive culture using different laboratory methods.

Study Design: Cross-sectional, *in vitro*, study

Setting & Participants: The study was carried out using 21 sterile 1.5% glucose dialysis fluid bags, and 21 peritoneal dialysis bags containing peritoneal fluid from patients without peritonitis followed at the Nephrology Service, HSL-PUCRS. Several peritoneal dialysis fluid preparatory laboratory techniques prior to seeding were compared. All bags fluids were contaminated by the injection of a coagulase-negative *Staphylococcus* suspension into the fluid, followed by four distinct preparatory techniques before seeding – A: direct culture, B: post-centrifugation culture, C: direct culture following a 4-hour sedimentation period and D: culture after a 4-hour sedimentation period, followed by centrifugation.

Predictors: Time to obtain a positive culture.

Results: Time to obtain a positive culture by techniques D (19.6 ± 2.6 h) and C (19.1 ± 2.3 h) in the contaminated bags was longer in comparison to technique A (15.8 ± 3.0 h; $p < 0.01$), but not significantly different from technique B (19.0 ± 3.2 h). Similar results were obtained in the bags drained from patients, with time for techniques D (14.0 ± 1.9 h) and C (14.5 ± 1.7 h) higher than technique A (12.2 ± 1.9 h; $p < 0.05$) yet not significantly different from technique B (13.2 ± 1.3 h).

Limitations: In vitro study and use of a single microorganism.

Conclusions: Sedimentation and centrifugation did not add to upgrading results, being possibly unnecessary and delaying the antibiotics sensitivity test result by approximately eight hours.

Index Words: Peritoneal dialysis; bacterial; sedimentation; peritonitis; culture.

INTRODUCTION

End-stage renal disease patients undergoing dialysis therapy are more susceptible to infections. Peritoneal dialysis (PD), since its inception, has faced peritonitis as one of the major obstacles to spreading its use.¹ The occurrence of peritonitis may contribute to failure of the method,² and to patients referral to hemodialysis.³ Diverse laboratory techniques to retrieve infecting microorganisms have been previously evaluated.⁴ However, a significant percentage of negative results are still observed, leading to reduced treatment success.⁵⁻⁷ The laboratory procedures for culture of peritoneal fluid (PF) proposed in PD include centrifugation, filtration, sediment washing, seeding in culture media, inoculation of blood culture bottles,^{4,8-9} and molecular techniques identification tools.¹⁰⁻¹² Yet these have restricted use in healthcare practice due to their high cost. The routine currently used at the Clinical Pathology Laboratory, Hospital São Lucas, Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (HSL-PUCRS) for dialysis fluid culture is as follows: bag with suspected peritonitis is left to settle for four hours, followed by the sediment removal by puncturing the bag (bottom of bag) in a sterile manner, and partition into two aliquots. The first aliquot is inoculated in a blood culture bottle and the second is centrifuged and plated on solid media culture. This technique has shown minimum of 80% of positive cultures.¹³

The International Society for Peritoneal Dialysis (ISPD) guidelines suggest the following procedures: 50mL peritoneal fluid to be centrifuged; the sediment resuspended in isotonic saline solution and then seeded in solid culture media; 5-10 mL is directly inoculated into bottles with liquid culture media. According to the ISPD, negative culture rates should not exceed 20%.¹ The aim of this study was to compare the time necessary to obtain a positive culture, using different laboratory techniques.

METHODS

A cross-sectional, *in vitro*, study comparing several preparatory and seeding laboratory techniques for the preparation and bacterial culture of peritoneal dialysis fluid samples and peritoneal fluid effluent. The study was approved by the Research Ethics Committee of PUCRS (number 1.038.451).

The study was carried out in two stages: 1) 21 sterile, 2.0 L 1.5% glucose CAPD [(Baxter[®] São Paulo, Brazil) bags; 2) 21 CAPD (Baxter[®] São Paulo, Brazil) bags, containing peritoneal effluent from patients without peritonitis, attended by the Nephrology Service of the HSL-PUCRS. All bags were contaminated with a coagulase-negative *Staphylococcus* (CNS) strain suspension, each of them undergoing four distinct processing techniques – A: direct culture, B: culture after centrifugation, C: direct culture after a 4-hour sedimentation period, and D: culture after 4-hour sedimentation period and centrifugation.

Bacterial suspension preparation: In a sterile test tube, 3.0 mL of sterile saline solution was dispensed (sodium chloride 0.9% Baxter[®], São Paulo, Brazil). With a 1.0 uL disposable sterile inoculating loop, a plate colony containing CNS was touched and inoculated into the test tube holding saline solution. Its content was homogenized in agitator tubes (Phoenix[®] AP 56, Araraquara, Brazil). Turbidity was measured (DensiCHEK, Biomérieux[®], Marcy L'Étoile, France) until a McFarland scale concentration of 0.5 was obtained. Thereafter, 1.0 mL of this suspension was aspirated using a sterile Pasteur pipette, and diluted into another test tube containing 3.0 mL of sterile saline. This new suspension was homogenized in agitator tubes for use in the next step.

Contamination with bacterial suspension: The working surface and packaging of a sterile peritoneal dialysis bag were cleaned with 70% alcohol. The packaging was opened and the bag placed on the worktop. The bag's *medication port* (MP) was wiped with 70% alcohol using friction for approximately six seconds. Using a 3.0 mL syringe (BD Plastipak TMTemse,

Brussels, Belgium), 1.0 mL of bacterial suspension was aspirated and inoculated through the MP. The bag was then manually stirred for one minute.

Technique A: The seal of a pediatric blood culture bottle (BactAlert PF PLUS, Biomérieux[®], Marcy L'Étoile, France) was removed and the bottle puncture site rubbed with 70% alcohol. After stirring, 1.0 mL of the bag fluid was aspirated at the MP and directly inoculated into the blood culture bottle. The bottle was homogenized and separated.

Technique B: Using a 50.0 mL syringe, fluid was aspirated at the MP and then inoculated into a 50.0 mL capacity centrifuge tube (Falcon, FalconLabware, Lincoln Park, NJ, USA). The tube was centrifuged at 3,000 rpm for 15 min (Hettich Universal 320R[®], Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Tuttlingen, Germany). The supernatant was discarded and 1.0 mL of sediment was inoculated into a pediatric blood culture bottle. In the same manner as described for technique A, the puncture site was previously disinfected, and the bottle homogenized and separated.

Bottles separated in techniques A and B were inserted into a BacT/ALERT[®] 3D blood culture system (Biomérieux[®], Lyon, France), in accordance with the manufacturer's recommendations. After completing techniques A and B, the dialysis bag was placed on a support and left to rest for four hours to yield a sediment layer.

Technique C: After four hours of sedimentation at rest, the area of sediment deposit (bottom of the bag) was carefully cleaned with 70% alcohol by circular movements, avoiding disturbing the bag's content. With the puncture site clean, 1.0 mL of sediment was collected directly from the bag by puncturing with needle and syringe, followed by inoculation into a pediatric blood culture bottle. As described for the previous techniques, the bottle was disinfected before the puncture for inoculum transfer. The bottle was homogenized and separated.

Technique D: As with technique C, the bag's bottom was punctured after four hours of sedimentation, 50 mL of sediment was aspirated by needle and

syringe, and inoculated into the centrifuge tube. This volume was centrifuged at 3,000 rpm for 15 min. After centrifugation, the supernatant was discarded and 1.0 mL of sediment was inoculated into a pediatric blood culture bottle, using a 3.0 mL syringe. The puncture site of the blood culture bottle was previously sanitized with 70% alcohol, homogenized and separated. The bottles from techniques C and D were inserted into a Bact/Alert 3D blood culture system (Biomérieux[®], Lyon, France) in accordance with the manufacturer's recommendations. The time for a positive culture was recorded by the Microbial Detection System BacT/ALERT[®] 3D System (Biomérieux, Marcy l'Étoile, France).

Media culture bottles in the Bact/Alert 3D Biomérieux[®]: The bottles inserted in the equipment were incubated at 37° C, under continuous agitation. Automatic monitoring for bottles positivity was done at ten-minute intervals.

Statistical analysis: Continuous variables are presented as mean and standard deviation, or median and range. Continuous variables with normal distribution were compared by Student's t-test for independent groups. Comparisons of multiple measurements the same variable were performed by one-way repeated-measures ANOVA - followed by post hoc Tukey test. A Statistical Package for Social Sciences (SPSS Inc., Chicago, IL, USA), version 21.0 for Windows, was used in all statistical analyses. A $P \leq 0.05$ was considered statistically significant.

RESULTS

The mean times for techniques D (19.6 ± 2.6 h) and C (19.1 ± 2.3 h) were found to be significantly higher than the mean time for A (15.8 ± 3.0 h; $P<0.01$), but not significantly different from the mean time for technique B (19.0 ± 3.2 h) for experiments evaluating sterile PD fluid bags (Table 1). The greatest difference between the longer and shorter mean times reached 24.6%. Similar findings occurred with PD fluid bags drained from patients with mean times for techniques D (14.0 ± 1.9 h) and C (14.5 ± 1.7 h) significantly exceeding mean time for technique A (12.2 ± 1.9 h; $P<0.05$), with the greatest difference between the means reaching 18.8% (Table 2). However, the means for techniques D and C did not significantly differ from technique B (13.2 ± 1.3 h) and the latter did not differ from technique A. Further analysis comparing the mean times between category of bags demonstrated a significant statistical difference ($P<0.001$) in each of the techniques, indicating that the mean times for the techniques involving sterile PD fluid bags were longer than for the group with PD bags drained from patients (Figure 1).

DISCUSSION

In the current study, all bags contaminated with bacterial suspensions resulted in positive cultures. The interval for positive results was shorter when the contaminated fluid was directly inoculated into a blood culture bottle, differently from studies suggesting that fluid centrifugation increases microorganisms' recovery.^{4,8,14-15} Previous studies suggest that once infected peritoneal fluid samples are centrifuged and resuspended in saline, they yield more positive results, compared to peritoneal fluid inoculated directly into bottles.^{4,14} Another study used peritoneal fluid for sediment resuspension, attaining higher positivity in the bottles that had undergone prior centrifugation of the peritoneal fluid.¹⁶ However, both studies used peritoneal fluid from patients suspected of having peritonitis, differently from the present study, which was performed *in vitro*, by simple manipulation of the PD fluid bags. Higher concentration of proteins have been observed in the peritoneal fluid of patients with peritonitis: the method of fluid centrifugation may be more effective in these cases due to the high molecular weight of the proteins.¹⁷ The sedimentation step is time-consuming (four hours), and centrifugation adds another step to the routine, besides increasing costs. The previously described studies did not compare the at-rest bag sedimentation method, or the time for positive results of the blood culture bottles. The authors were unable to find any previous study examining the currently appraised techniques.

In conclusion, samples sedimentation and centrifugation did not improve the culture results, being possibly unnecessary and delaying the antibiotics sensitivity test result by approximately eight hours.

Acknowledgements:

The authors thank FAPERGS for supporting RMK with scholarship, Nephrology Unit and HSL for providing the materials. CEPF is CNPq researcher.

Support: Nephrology Unit – Hospital São Lucas (PUCRS).

Financial Disclosure: The authors declare that they have no relevant financial conflict of interest.

Contributions: Research idea and study design: RMK, VEP, CEPF; data acquisition: RMK, JM; data analysis/interpretation: RMK, CEPF, VEP, AEF, BEPC, DOd'A, BEPC, JM; statistical analysis: RMK, CEPF, AEF, BEPC, VEP, DOd'A; supervision or mentorship: CEPF, AEF, BEPC, VEP, DOd'A.

Each author contributed important intellectual content during manuscript drafting or revision and accepts accountability for the overall work by ensuring that questions pertaining to the accuracy or integrity of any portion of the work are appropriately investigated and resolved. RMK and all co-authors takes responsibility that this study has been reported honestly, accurately, and transparently; that no important aspects of the study have been omitted, and that any discrepancies from the study as planned (and registered) have been explained.

REFERENCES

1. Li PK, CC Szeto, B Piraino, et al. Peritoneal dialysis related infections recommendations: 2010 UPDATE. *Perit Dial Int.* 2010;30(4):393–423.
2. Beduschi GC, Figueiredo AE, Olandoski M, Pecoits-Filho R, Barretti P, Moraes TP. Automated Peritoneal Dialysis Is Associated with Better Survival Rates Compared to Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis: A Propensity Score Matching Analysis. [published online ahead of print July 27, 2015]. *PLoS One.* doi: 10.1371/journal.pone.0134047
3. Piraino B, Bernardini J, Sorkin M. Catheter infections as a factor in the transfer of continuous ambulatory peritoneal dialysis patients to hemodialysis. *Am J Kidney Dis.* 1989;13(5):365-9..
4. Sewell DL, Golper TA, Hulman PB, et al. Comparison of large volume culture to other methods for isolation of microorganisms from dialysate. *Perit Dial Int.* 1990;10(1):49-52.
5. Peres LAB, Matsuo T, Ann HK, Camargo MTA, Rohde NRS, Uscocovich VSM, Lichteneker K, Frederico SAM: Peritonitis in continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Rev Bras Clin Med.* 2011;9(5):350-3.
6. Kocyit I, Unal A, Karademir D, et al. Improvement in Culture-Negative Peritoneal Dialysis-Related Peritonitis: A Single Center's Experience. *Perit Dial Int.* 2012;32(4):476–478.
7. Moraes TP, Olandoski M, Caramori JCT, et al. Novel predictors of peritonitis-related outcomes in the BRAZPD cohort. *Perit Dial Int.* 2014;34(2):179–187.
8. Lye WC, Wong PL, Leong SO, Lee EJ. Isolation of organisms in CAPD peritonitis: a comparison of two techniques. *Adv Perit Dial.* 1994;10:166-8..
9. Chow KM, Chow VC, Szeto CC, Law MC, Leung CB, Li PK: Continuous ambulatory peritoneal dialysis peritonitis: broth inoculation culture versus water lysis method. *Nephron Clin Pract.* 2007;105(3):c121-5.
10. Yoo TH, Chang KH, Ryu DR, et al. Usefulness of 23S rRNA amplification by PCR in the detection of bacteria in CAPD peritonitis. *Am J Nephrol.* 2006;26(2):115-20.
11. Johnson G, Wilks M, Warwick S, Millar MR, Fan SL. Comparative study of diagnosis of PD peritonitis by quantitative polymerase chain reaction for bacterial DNA vs culture methods. *J Nephrol.* 2006;19(1):45-9.

12. Ota K, Maruyama H, Iino N, et al. Rapid detection of causative pathogen of peritonitis using in-situ hybridization in a patient with continuous ambulatory peritoneal dialysis. *J Infect Chemother.* 2007;13(4):273-5.
13. Figueiredo AE, Poli-de-Figueiredo CE, Meneghetti F, Lise GAP, Detofoli CC, Silva LB. Peritonitis in patients on peritoneal dialysis: analysis of a single Brazilian center based on the International Society for Peritoneal Dialysis. *J Bras Nefrol.* 2013, 35(3):214-219.
14. Khare S, Yurack J, Toyé B: Culture of dialysate in suspected CAPD associated peritonitis using the BacT/Alert system. *Diag. Microbiol. Infect. Dis.* 1996;25(3):101–106.
15. Barretti P, Montelli AC, Cunha MLRS, Caramori JCT. Atualização em Diálise: Tratamento atual das peritonites em diálise peritoneal ambulatorial contínua. *J Bras Nefrol.* 2001;23(2):114-120.
16. ALFA MJ, Degagne P, Olson N, Harding GK: Improved detection of bacterial growth in continuous ambulatory peritoneal dialysis effluent by use of BacT/Alert FAN bottles. *J Clin Microb.* 1997;35(4): 862–6.
17. Katirtzoglou A, Oreopoulos DG, Husdan H, Leung M, Ogilvie R, Dombros N: Reappraisal of protein losses in patients undergoing continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Nephron.* 1980;26(5):230-3.

TABLES

Table 1: Time (in hours) for a positive culture on new bags.

| Technique | PD Bags (n=21) | | | |
|-----------|--------------------|-----|---------|---------|
| | Mean | SD | Minimum | Maximum |
| A | 15.8 ^a | 3.0 | 11.1 | 25.0 |
| B | 19.0 ^{ab} | 3.2 | 12.9 | 27.4 |
| C | 19.1 ^b | 2.3 | 14.7 | 23.8 |
| D | 19.6 ^b | 2.6 | 14.2 | 23.9 |
| P§ | <0.01 | | | |

§: One-way repeated measures ANOVA – Post-hoc Tukey test

^{a, b}: Distinct index-letters indicate significant differences.

Table 2: Time (in hours) for a positive culture on bag effluents.

| Techniques | Bag Effluents (n=21) | | | |
|------------|----------------------|-----|---------|---------|
| | Mean | SD | Minimum | Maximum |
| A | 12.2 ^a | 1.9 | 8.1 | 15.0 |
| B | 13.2 ^{ab} | 1.3 | 10.9 | 15.0 |
| C | 14.5 ^b | 1.7 | 10.1 | 16.7 |
| D | 14.0 ^b | 1.9 | 9.7 | 18.6 |
| P§ | <0.01 | | | |

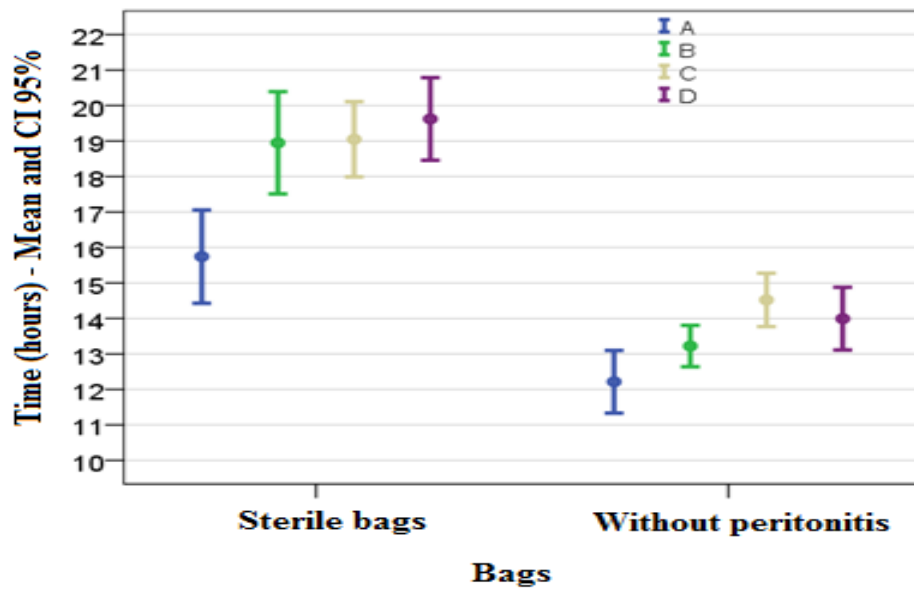
§: One-way repeated measures ANOVA – Post-hoc Tukey test
^{a, b}: Distinct index-letters indicate significant difference.

LEGEND TO FIGURES

Figure 1: Mean time and 95%CI (in hours) to a positive culture result using different techniques *(Student's *t*-test for independent groups). A^{BE} vs A^{SE} (P<0.01); B^{BE} vs B^{SE} (P<0.01); C^{BE} vs C^{SE} (P<0.01); D^{BE} vs D^{SE} (P<0.01), with SB: sterile bags; WP: Without peritonitis.

FIGURES

Figure 1:



Apêndice C – Artigo submetido e aceito pela revista para publicação na Revista Ciência & Saúde: set.-dez. 2015;8(3):116-121.

**“Avaliação da limpeza de equipamentos de Hemodiálise pelo método de
Lightning MVP ICON”**

***Evaluation of the Cleaning equipment of Hemodialysis by method
Lightning MVP ICON***

Juliana Oliveira, Roberta Monteiro Katzap, Carlos Eduardo Poli de Figueiredo,
Ana Elizabeth Figueiredo

Pontifícia Universidade Católica do rio Grande do Sul

Autor para correspondência: Juliana Oliveira

Fontes de financiamento: Bolsa de estudo FAPERGS.

Número total de palavras: 1.930

Número total de tabelas: 2

Número total de figuras: 3

RESUMO

Introdução: A higienização inadequada de superfícies é um fator contribuinte para a ineficácia no controle de infecções no ambiente hospitalar.

Objetivo: Avaliar a limpeza da superfície do equipamento de hemodiálise através do método de bioluminescência com o *Lightning MVP ICON*, antes e depois da higienização da máquina de hemodiálise.

Materiais e Métodos: Estudo transversal, realizado na unidade de hemodiálise do Hospital São Lucas da PUCRS. Foram coletadas amostras em 20 máquinas de hemodiálise em três turnos diferentes, os *swabs* foram obtidos em 4 pontos pré-estabelecidos, os quais são: superfície superior, garra, setas de programação e botão *ON/OFF*, antes e depois da limpeza do equipamento, totalizando 480 pontos de coleta. Foi realizada a leitura para detecção de *ATP* com o equipamento *Lightning MVP ICON*, qualificando as amostras em: passou, alerta e falha.

Resultados: Verificamos diferença estatística significativa entre as avaliações antes e depois no local das setas de programação ($p=0,033$), onde ocorreu um aumento significativo da classificação “Passou” depois da limpeza (48,3% ($n=29$)) quando comparado ao momento anterior (25,0% ($n=15$)). Quando os resultados foram avaliados por turnos, o turno da noite (antes: $2,7\pm 1,2$ vs. depois: $1,0\pm 0,9$) apresentou uma redução significativamente mais expressiva no número de falhas quando comparado aos turnos da manhã (antes: $2,2\pm 1,2$ vs. depois: $2,0\pm 1,2$) e da tarde (antes: $2,2\pm 1,0$ vs. depois: $2,1\pm 1,3$).

Conclusão: A utilização do método *Lightning MVP ICON* para avaliação da limpeza da superfície do equipamento de hemodiálise permitiu observar diminuição significativa do número de falhas de limpeza após higienização e ainda redução expressiva do número de falhas nos procedimentos realizados no turno da noite quando comparados com os turnos da manhã e tarde

Palavras-Chave: Diálise renal; Bioluminescência; Trifosfato de adenosina.

ABSTRACT

Introduction: Improper cleaning of surfaces is a contributing factor to inefficiency in infection control in the hospital environment.

Objective: To evaluate the effectiveness of cleaning of hemodialysis machine using bioluminescence with the Lightning MVP ICON.

Materials and Method: A cross-section study at the Hemodialysis unit of the Hospital São Lucas. Samples were collected in 20 machines in three different shifts, the swabs were obtained in 4 pre-determine points, which are: top surface, dialyzer holder, programming and ON/OFF arrows before and after cleaning of equipment, in total were 480 collection points. The reading was held for ATP detection with the Lightning MVP ICON equipment, describing the samples in passed, alert and failure.

Results: We found statistically significant differences between evaluations before and after in the case of the programming arrows ($p = 0.033$), where was a significant increase in the rating "passed" after (48.3% ($n = 29$)) when compared to before (25,0% ($n = 15$)). When the results were compared between shift, the night shift (before: 2.7 ± 1.2 vs. after: 1.0 ± 0.9) had a significantly reduction in the number of failures compared to morning shifts (before: 2.2 ± 1.2 vs. after: 2.0 ± 1.2) and afternoon shift (before: 2.2 ± 1.0 vs. after: 2.1 ± 1.3).

Conclusion: The use of the Lightning MVP icon method for evaluating cleaning the surface of the hemodialysis equipment has observed decrease significant number of failures after cleaning and sanitizing further and significant reduction about number of failures in procedures performed at the night shift when compared to the morning and afternoon shifts.

Keywords: Kidney dialysis; Bioluminescence; Adenosine triphosphate.

INTRODUÇÃO

Os pacientes com doença renal crônica em hemodiálise têm a sua imunidade prejudicada devido à própria doença, comorbidades e desnutrição. Este cenário contribui para que estes pacientes fiquem propensos às infecções virais, bacterianas e fúngicas¹.

A assistência em saúde promove o aumento da disseminação de microrganismos com potencial patogênico para indivíduos imunologicamente vulneráveis. A falta de higienização das mãos, e dos materiais utilizados na assistência, são fatores que contribuem para a ineficiência no controle de infecção. A higienização inadequada de superfícies aumenta a probabilidade de contaminação e a disseminação de microrganismos patogênicos²⁻⁵.

A Resolução da Diretoria Colegiada - ANVISA (RDC) N° 11 (2014) exalta que a “desinfecção: é um processo físico ou químico, de destruição de microrganismos na forma vegetativa, aplicado a superfícies inertes, previamente limpas”. Com relação a higienização de equipamentos, a nova RDC N° 11 de 11 de março de 2014, no parágrafo único do artigo 38, trata do equipamento de hemodiálise de reserva, que este deve passar por processo de limpeza e desinfecção imediatamente antes do uso. No artigo 14, ao final de cada sessão de diálise, deve ser realizada limpeza e desinfecção do equipamento e de toda a superfície que tenha tido contato com o paciente, preconizando os locais como: cama ou cadeiras de diálise, bancadas, superfícies externas da máquina de diálise, braçadeiras, medidores de pressão arterial, estetoscópios devem ser desinfetados. A limpeza e desinfecção reduz o risco de propagação de uma infecção, aumentando a qualidade do atendimento do paciente reduzindo a sua exposição a possíveis fatores complicadores do processo⁶.

A adenosina trifosfato (ATP) está presente em materiais orgânicos, e é possível detectá-lo e dosá-lo através do método de bioluminescência (BL). A reação ocorre através da produção e emissão de luz por organismos vivos, nas quais as reações são catalisadas por luciferases⁷.

Este estudo tem como objetivo avaliar a limpeza da superfície do equipamento de hemodiálise através do método de bioluminescência com o *Lightning MVP ICON*, antes e depois do procedimento de higienização.

MATERIAIS E MÉTODOS

Este é um estudo transversal e quantitativo, realizado nos meses de novembro e dezembro do ano de 2014, na Unidade de Hemodiálise do Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Brasil. A unidade conta com 20 máquinas de hemodiálise da marca *Fresenius 2008 E®* (*Fresenius Medical Care*, Hamburg, Alemanha). Foram realizadas as coletas nos turnos manhã, tarde e noite, sendo analisadas 20 máquinas de hemodiálise em cada turno.

Foram selecionados quatro pontos nos equipamentos de hemodiálise por serem frequentemente tocados/manipulados pela equipe de saúde e serem um potencial carreador de microorganismos entre os profissionais, sendo eles: superfície da máquina, garra do hemodialisador, setas de programação e botão *ON/OFF*. Em cada equipamento foram avaliados estes quatro pontos em dois momentos: antes e depois da limpeza do mesmo, conferindo 160 amostras coletadas em cada turno, totalizando 480 pontos.

As coletas ocorreram ao final da sessão de hemodiálise, sendo o momento anterior realizado logo após a sessão de hemodiálise e o depois foi realizado 10 minutos após o término da limpeza da máquina. Na rotina do serviço de hemodiálise, a limpeza das máquinas é realizada com o produto que tem como princípio ativo a Glucoprotamina (*Incidin® Extra N*), que para a limpeza é colocado em compressa de algodão e então aplicado na superfície da máquina de hemodiálise. Não foi alterado o processo de limpeza realizada pela equipe de enfermagem.

A avaliação da limpeza da superfície do equipamento de hemodiálise foi realizada com o equipamento *Lightning MVP ICON*, que monitora a higienização pelo método de bioluminescência de *ATP*, o qual detecta resíduo biológico total indicando a efetividade da limpeza de superfícies. Quando inserido o *swab* de superfície ele detecta a quantidade de luz que a reação entre a enzima e o material coletado produz, o tempo que o aparelho leva para

realizar a análise da amostra é <1 minuto, que resulta em três classificações: passou, alerta e falha, com código de cores, respectivamente verde, amarela e vermelha.

As amostras foram coletadas com *swabs* pertencentes ao kit do equipamento *Lightning MVP ICON*, o qual possui na extremidade superior o tampão (*Buffer*) e outro compartimento que contém a enzima luciferina-luciferase, quando ativado o dispositivo a solução do *Buffer* dissolve a enzima e passa por dentro do tubo de *swab* que é colocado dentro do equipamento *Lightning MVP ICON* para que seja efetuada a leitura.

Para cada ponto de coleta utilizou-se um *swab*, esfregando toda a sua superfície. Na superfície da máquina foram coletadas as amostras na região superior do equipamento no canto esquerdo frontal, uma área de aproximadamente 10 cm², na parte interna esquerda da garra, nos botões do painel de controle (setas) e no botão de *ON/OFF*. Os resultados quantitativos foram qualificados através das zonas de limpeza (escala numérica de zero a cinco - Figura 1).

Foi feita análise estatística descritiva dos resultados, a distribuição de normalidade foi verificada pelo teste de *Shapiro Wilk*. A comparação das variáveis categóricas entre grupos independentes ocorreu pelo teste Exato de Fisher e quando a análise envolveu variáveis contínuas, utilizou-se o teste de *Kruskal Wallis – Post Hoc Dunn*. Na avaliação dos dados categóricos pareados foi utilizado o teste de *McNemar Browker* e sobre as variáveis contínuas o teste de *Wilcoxon*. Os dados foram analisados no programa *Statistical Package for Social Sciences* versão 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA, 2010) para Windows, sendo que, para critérios de decisão estatística adotou-se o nível de significância de 5%. O estudo foi aprovado pela Comissão de Científica da Faculdade de Enfermagem, Nutrição e Fisioterapia da PUCRS protocolo 1412776476617 e registro no Sistema de Pesquisa da PUCRS de número 5910.

RESULTADOS

Os resultados apresentados referem-se a uma amostra de 480 pontos realizados antes e depois do procedimento de higienização nos locais pré-determinados. A distribuição absoluta e relativa para a caracterização das condições da superfície superior, setas do painel de controle, garra e do botão *ON/OFF*, antes e depois sobre o total da amostra e por turnos são apresentadas na tabela 1.

Tomando como base o total da amostra, ocorreu diferença estatística significativa entre as avaliações antes e depois no local das setas de programação ($p=0,033$), onde ocorreu um aumento significativo da classificação “Passou” no momento depois (48,3% (n=29)) quando comparado ao anterior (25,0% (n=15)). Da mesma forma, houve uma redução significativa na classificação “Falhou” no momento depois da limpeza (26,7% (n=16)) quando comparado ao número de casos antes (40,0% (n=24)). Resultado semelhante ocorreu nos dados da garra ($p=0,011$), apontando para uma redução significativa do número de falhas na avaliação depois da higienização (46,7% (n=28)) em comparação ao momento anterior (23,3 (n=14)); bem como um aumento relevante da classificação “Passou” na avaliação depois (41,7% (n=25)) em relação a antes da limpeza (18,3% (n=11)).

O ponto que apresentou maior “falha” na avaliação antes da limpeza foi o botão *ON/OFF* (75,0%), seguido da superfície superior (73,3%), que apresentaram valores acima de 50,0%, posteriormente a garra (46,7%) e por último as setas do painel de controle (40,0%). Sobre os resultados referentes às condições da superfície superior da máquina e do botão *ON/OFF*, embora tenha-se verificado uma redução do número de falhas no momento depois da limpeza, bem como um aumento do número de casos que passaram, as diferenças não se mostraram relevantes, apontando que, as variações se devem ao acaso.

Quando os resultados foram avaliados dentro de cada turno, verificou-se que as diferenças significativas ficaram a cargo do turno da noite com uma redução expressiva no número de casos com falhas antes e depois da limpeza: superfície superior da máquina (1) antes 75,0% (n=15) vs. depois 30,0% (n=6), $p=0,040$; setas do painel antes 40,0% (n=8) vs. depois 10,0% (n=2), $p=0,015$; garra antes 70,0% (n=14) vs. depois 10,0% (n=2), $p=0,001$; *ON/OFF* (4) antes 80,0% (n=16) vs. depois 45,0% (n=9), $p=0,032$).

Para avaliar exclusivamente o número de ocorrência de falhas que está apresentado na figura 2, foi calculado o número de vezes em que esta se fez presente nas avaliações antes e a da limpeza nos três turnos, independentemente das 4 condições investigadas (superfície superior, setas do painel de controle, garra e botão *ON/OFF*). Sobre a média, desvio padrão e mediana para o número de falhas nos dois momentos avaliados, com relação ao total da amostra e por turnos, verificaram-se que, para o total da avaliação antes da limpeza ($2,4 \pm 1,1$; mediana: 2,0) concentrou os maiores números de falhas em relação ao momento depois ($1,7 \pm 1,3$; mediana: 2,0). No entanto, quando esta informação foi analisada em relação aos turnos, a diferença significativa ficou a cargo da noite, onde o número de falhas mostrou-se significativamente mais elevado no momento anterior a limpeza ($2,7 \pm 1,2$; mediana: 2,5) quando comparado a avaliação depois ($2,0 \pm 0,9$; mediana: 1,0), desta forma apresentou significância no total de falhas entre os turnos.

Já para as medidas de tendência central e de variabilidade para o número total de falhas (antes e depois da limpeza) sobre o total da amostra e por turnos (tabela 2), tomando como base o total de erros observados no estudo (antes e depois), a estimativa foi para uma média de erros de 4,0 ($\pm 2,0$), sendo o mínimo de zero e o máximo de 8, com mediana da 4,0 erros (1^o-3^o quartil: 2,0 – 6,0), ou seja, 50% dos casos apresentaram até 4,0 erros (e os demais 50% mais de 2 erros), bem como, 75% dos casos observados apresentaram mais de 6 erros, ou então, 25% apresentaram até 2 erros.

Quando esta informação foi comparada aos turnos, a maior média ocorreu no turno da tarde ($4,3 \pm 2,1$; mediana: 4,5 falhas), seguida do turno da manhã ($4,2 \pm 2,1$; mediana: 4,5), ficando o turno da noite com a menor média de falhas ($3,6 \pm 1,9$; mediana: 3,0). Apesar das diferenças dos turnos diurnos em comparação ao turno da noite, as diferenças significativas não se configuraram,

ou seja, os três turnos estão apresentando números semelhantes para o total de falhas.

Para analisar a tendência do número de falhas, considerando-se simultaneamente os turnos e as avaliações antes e depois da limpeza, foi implementada a técnica de análise de medidas repetidas onde o resultado detectou efeito de interação ($p < 0,001$) entre avaliação de limpeza e turnos de diálise, indicando que existem variações diferenciadas entre as pontuações médias de falhas antes e depois da limpeza entre os turnos, de forma que, o turno da noite (antes $2,7 \pm 1,2$ vs. depois $1,0 \pm 0,9$) apresentou uma redução significativamente mais expressiva no número de falhas quando comparado aos turnos da manhã (antes $2,2 \pm 1,2$ vs. depois $2,0 \pm 1,2$) e da tarde (antes $2,2 \pm 1,0$ vs. depois $2,1 \pm 1,3$), apresentados na figura 3.

DISCUSSÃO

A limpeza de superfície é uma medida utilizada para controle de infecções, e a efetividade na desinfecção reduz os riscos de disseminação de microrganismos pelos profissionais da saúde que manipulam os materiais durante a assistência ao paciente⁸. Oliveira e Canettieri afirmam que a avaliação da limpeza por meio de bioluminescência, que verifica a presença de *ATP*, é importante no monitoramento e controle da higienização qualificando o processo empregado na limpeza de superfície de forma eficaz e mais rápida do que outros métodos como o método clássico (contagem padrão em placas pela técnica do swab) e da placa de RODAC^{®9}. O resultado deste estudo apresenta significativa diferença entre os momentos antes e depois a limpeza do equipamento de hemodiálise, o qual demonstra a redução de material biológico após o processo de limpeza da máquina, compactuando com estudos sobre o tema, que relaciona como é conclusiva a utilização de *ATP* na detecção de resíduos orgânicos em materiais inanimados¹⁰.

Ferreira et al. sugerem que modificações na técnica de limpeza em unidades hospitalares podem reduzir substancialmente nível de *ATP*¹¹. Obtivemos neste estudo diferença significativa na redução de material orgânico das avaliações entre os turnos de trabalho. Porém, não foi qualificada a técnica empregada no procedimento de higienização das superfícies e nem os produtos utilizados para o processo de higienização. No entanto, estudos realizados que avaliam este item nos processos de desinfecção afirmam que ocorrem falhas no procedimento de limpeza relativa ao produto utilizado e a técnica empregada, sendo assim, fatores que influenciam na remoção de sujeiras visíveis e na redução de material biológico não visível^{12, 13}.

Os achados do presente estudo sobre a contaminação nos pontos coletados não podem ser conclusivos para relacioná-los a manipulação do equipamento, pois os pontos botão *ON/OFF* e superfície superior apresentaram

maior presença de *ATP* na etapa anterior a limpeza, sendo que a superfície superior não é muito manipulada com relação ao botão *ON/OFF*. Cordeiro et al, relacionam a contaminação com a manipulação de materiais e superfícies, comparando os microrganismos encontrados nestes materiais com a microbiota normal e transitória da pele¹⁴.

A utilização do método Lightning MVP ICON para avaliação da limpeza da superfície do equipamento de hemodiálise permitiu observar diminuição significativa do número de falhas de limpeza após higienização e ainda redução expressiva do número de falhas nos procedimentos realizados no turno da noite quando comparados com os turnos da manhã e tarde.

O presente estudo não identificou qual tipo de material biológico encontrado nas superfícies, sendo que o *ATP* está presente em diversas matérias orgânicas não somente em microrganismos. No entanto a identificação do material encontrado é um importante indicador para controle de infecções e para que assim sejam realizadas intervenções mais apropriadas. Também não foi possível esclarecer quanto ao processo de limpeza empregado na higienização de superfícies, para que se possa identificar a eficácia do produto aliado com a técnica utilizada. Então, este estudo serve de alerta para a necessidade de novas pesquisas sobre a técnica e produtos empregados na limpeza de superfícies.

REFERÊNCIAS

1. Fram D, Taminato M, Ponzio V, Manfredi SR, Grothe C, Batista RE, Belasco, A, Barbosa, D. Risk factors for morbidity and mortality of bloodstream infection in patients undergoing hemodialysis: a nested case-control study. *BMC research notes*. 2014;7:882. Epub 2014/12/08.
2. Pincock T, Bernstein P, Warthman S, Holst E. Bundling hand hygiene interventions and measurement to decrease health care-associated infections. *American journal of infection control*. 2012;40(4 Suppl 1):S18-27. Epub 2012/05/11.
3. Carling PC, Bartley JM. Evaluating hygienic cleaning in health care settings: what you do not know can harm your patients. *American journal of infection control*. 2010;38(5):S41-S50.
4. Otter JA, Yezli S, French GL. The role played by contaminated surfaces in the transmission of nosocomial pathogens. *Infection control and hospital epidemiology*. 2011;32(7):687-99. Epub 2011/06/15.
5. Otter JA, Yezli S, Salkeld JA, French GL. Evidence that contaminated surfaces contribute to the transmission of hospital pathogens and an overview of strategies to address contaminated surfaces in hospital settings. *American journal of infection control*. 2013;41(5):S6-S11.
6. BRASIL. Resolução RDC nº 11, de 11, de 13 de Março de 2014. Dispõe sobre os Requisitos de Boas Práticas de Funcionamento para os Serviços de Diálise e dá outras providências. Brasília, DF: ANVISA; 2014 [cited 2015 Março]; Available from: http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/32cb310043da93a4969197937783f3a1/rdc0011_13_03_2014.pdf?MOD=AJPERES.
7. Hou C, Liu YJ, Ferré N, Fang WH. Understanding Bacterial Bioluminescence: A Theoretical Study of the Entire Process, from Reduced Flavin to Light Emission. *Chemistry-A European Journal*. 2014;20(26):7979-86.
8. Ferreira AM, Barcelos LdS, Rigotti MA, de Andrade D, Andreotti JT, Almeida MGd. Areas of hospital environment: a possible underestimated microbes reservoir?-integrative review. *Journal of Nursing UFPE on line [JNUOL/DOI: 105205/01012007]*. 2013;7(5):4171-82.
9. Oliveira Td, Canettieri ACV. Eficiência dos métodos microbiológicos e de ATP-bioluminescência na detecção da contaminação de diferentes superfícies. *Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)*. 2010;69(4):467-74.
10. de Oliveira AC, Vianall REH. Adenosina trifosfato bioluminescência para avaliação da limpeza de superfícies: uma revisão integrativa. *Revista brasileira de enfermagem*. 2014;67(6):987-93.
11. Ferreira AM, de Andrade D, Rigotti MA, Ferreira MVF. Condições de limpeza de superfícies próximas ao paciente, em uma unidade de terapia intensiva. 2011.

12. Silva NdO, Ferraz PdC, Silva ALd, Malvezzi CK, Poveda VdB. Avaliação da técnica de desinfecção dos colchões de uma unidade de atendimento a saúde. *Revista Mineira de Enfermagem*. 2011;15(2):242-7.
13. Oliveira ACd, Viana REH, Damasceno QS. Contamination of hospital mattresses by microorganisms of epidemiological relevance: an integrative review. *Journal of Nursing UFPE on line* [JNUOL/DOI: 105205/01012007]. 2012;7(1):236-45.
14. Cordeiro ALAO, Oliveira MMC, Fernandes JD, Barros CSMA, Castro LMC. Contaminação de equipamentos em unidade de terapia intensiva. *Acta Paulista de Enfermagem*. 2015;28(2):160-5.

TABELA 1: Distribuição absoluta e relativa para a caracterização das condições da superfície superior, setas do painel de controle, garra e botão *ON/OFF*, antes e depois da limpeza sobre o total da amostra e por turnos.

| Classificações | Superfície Superior | | | | Setas do painel de controle | | | | Garra | | | | Botão <i>ON/OFF</i> | | | | |
|----------------------|---------------------|------|--------|------|-----------------------------|------|--------|------|-------|------|--------|------|---------------------|------|--------|------|--|
| | Antes | | Depois | | Antes | | Depois | | Antes | | Depois | | Antes | | Depois | | |
| | N | % | N | % | N | % | N | % | N | % | N | % | N | % | N | % | |
| Total amostra | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Passou | 6 | 10.0 | 11 | 18.3 | 15 | 25.0 | 29 | 48.3 | 11 | 18.3 | 25 | 41.7 | 5 | 8.3 | 10 | 16.7 | |
| Alerta | 10 | 16.7 | 18 | 30.0 | 21 | 35.0 | 15 | 25.0 | 21 | 35.0 | 21 | 35.0 | 10 | 16.7 | 10 | 16.7 | |
| Falhou | 44 | 73.3 | 31 | 51.7 | 24 | 40.0 | 16 | 26.7 | 28 | 46.7 | 14 | 23.3 | 45 | 75.0 | 40 | 66.7 | |
| p€ | 0,062 | | | | 0,033 | | | | 0,011 | | | | 0,427 | | | | |
| Turnos | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Manhã | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Passou | 3 | 15.0 | 5 | 25.0 | 7 | 35.0 | 8 | 40.0 | 5 | 25.0 | 6 | 30.0 | 2 | 10.0 | 3 | 15.0 | |
| Alerta | 3 | 15.0 | 4 | 20.0 | 5 | 25.0 | 5 | 25.0 | 7 | 35.0 | 9 | 45.0 | 4 | 20.0 | | | |
| Falhou | 14 | 70.0 | 11 | 55.0 | 8 | 40.0 | 7 | 35.0 | 8 | 40.0 | 5 | 25.0 | 14 | 70.0 | 17 | 85.0 | |
| p€ | 0,644 | | | | 0,954 | | | | 0,721 | | | | 0,308 | | | | |
| Tarde | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Passou | | | 2 | 10.0 | 4 | 20.0 | 8 | 40.0 | 5 | 25.0 | 7 | 35.0 | 2 | 10.0 | 2 | 10.0 | |
| Alerta | 5 | 25.0 | 4 | 20.0 | 8 | 40.0 | 5 | 25.0 | 9 | 45.0 | 6 | 30.0 | 3 | 15.0 | 4 | 20.0 | |
| Falhou | 15 | 75.0 | 14 | 70.0 | 8 | 40.0 | 7 | 35.0 | 6 | 30.0 | 7 | 35.0 | 15 | 75.0 | 14 | 70.0 | |
| p€ | 0,096 | | | | 0,228 | | | | 0,601 | | | | 0,978 | | | | |
| Noite | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Passou | 3 | 15.0 | 4 | 20.0 | 4 | 20.0 | 13 | 65.0 | 1 | 5.0 | 12 | 60.0 | 1 | 5.0 | 5 | 25.0 | |
| Alerta | 2 | 10.0 | 10 | 50.0 | 8 | 40.0 | 5 | 25.0 | 5 | 25.0 | 6 | 30.0 | 3 | 15.0 | 6 | 30.0 | |
| Falhou | 15 | 75.0 | 6 | 30.0 | 8 | 40.0 | 2 | 10.0 | 14 | 70.0 | 2 | 10.0 | 16 | 80.0 | 9 | 45.0 | |

p€

0,040

0,015

0,001

0,032

€: Teste de McNemar Browker

TABELA 2: Medidas de tendência central e de variabilidade para o número total de falhas (antes + depois da limpeza) sobre o total da amostra e por turnos

| Falhas | Medidas descritivas - Total (n=60) | | | | | | |
|--------------------|------------------------------------|---------------|-----------|--------|----------|------------------|----------|
| | Média | Desvio padrão | Amplitude | | Quartis | | |
| | | | Mínimo | Máximo | 1º (25%) | Mediana 2º (50%) | 3º (75%) |
| Total geral | 4,0 | 2,0 | 0,0 | 8,0 | 2,0 | 4,0 | 6,0 |
| Turnos | | | | | | | |
| Manhã | 4,2 | 2,1 | 1,0 | 7,0 | 2,0 | 4,5 | 6,0 |
| Tarde | 4,3 | 2,1 | 0,0 | 8,0 | 3,0 | 4,5 | 5,8 |
| Noite | 3,6 | 1,9 | 1,0 | 7,0 | 2,0 | 3,0 | 5,8 |
| p¶ | 0,504 | | | | | | |

¶: Teste de Kruskal Wallis – Post Hoc Dunn, onde médias seguidas de letras iguais não diferem a 5% de significância;

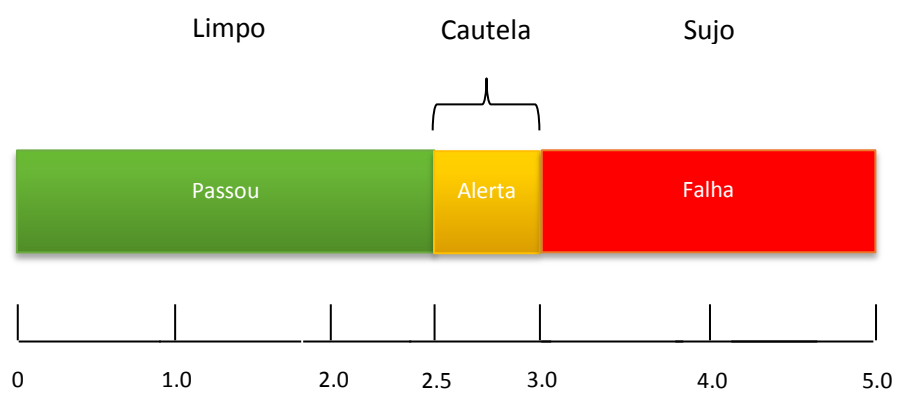
FIGURA 1 - Escala de Zonas de Limpeza

FIGURA 2: Número observado para o total de falhas nas avaliações antes e depois da limpeza, segundo o turno.

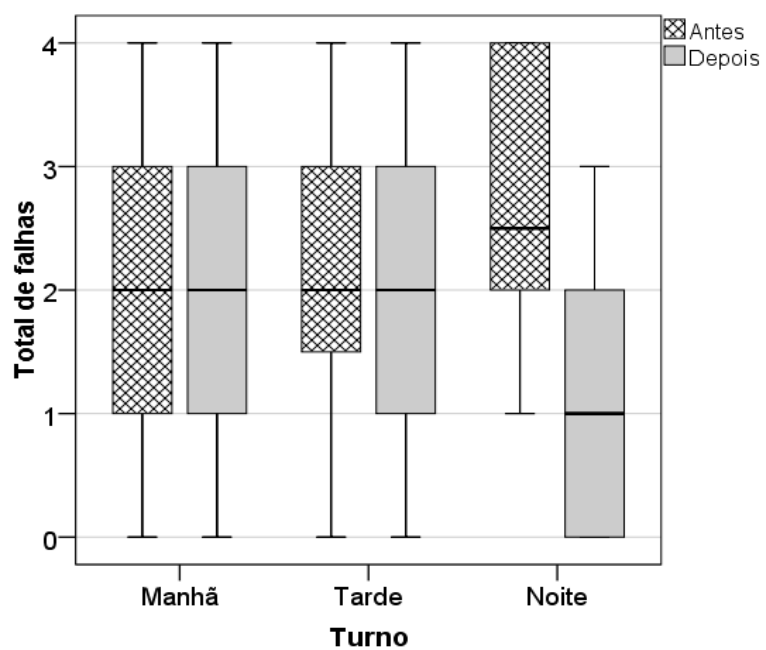
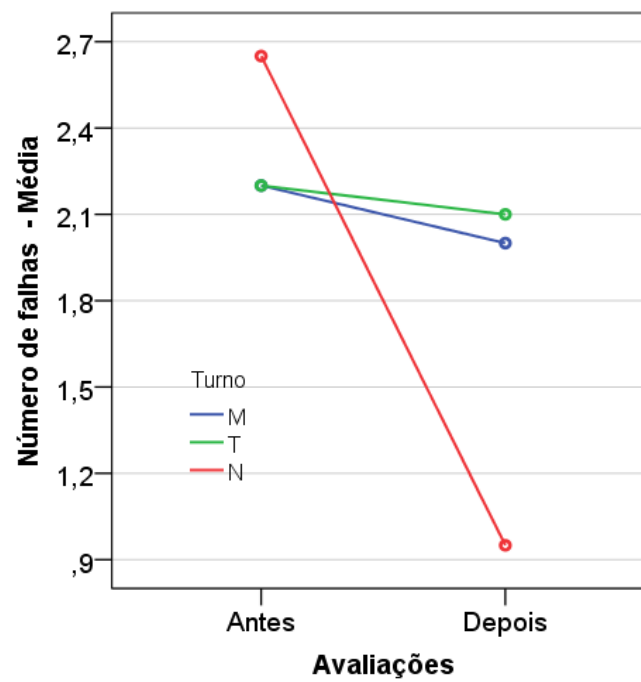


Figura 3: Média para o total de falhas nas avaliações antes e depois da limpeza, segundo o turno.



Apêndice D – Artigo a ser submetido ao *American Journal of Infection Control*.

“Avaliação de métodos de limpeza em equipamentos de hemodiálise por detecção de ATP utilizando bioluminescência.”

Roberta Monteiro Katzap, Juliana Oliveira, Carlos Eduardo Poli de Figueiredo, Ana Elizabeth Figueiredo

Pontifícia Universidade Católica do rio Grande do Sul

RESUMO

Pacientes com Doença Renal Crônica (DRC) em hemodiálise são vulneráveis a infecções, facilitando a contaminação através de dispositivos invasivos, higienização inadequada das mãos e equipamentos. O objetivo do presente estudo foi avaliar diferentes produtos e técnicas de limpeza dos equipamentos de hemodiálise. Foi utilizado o equipamento Lightning MVP ICON. Na primeira etapa, foram coletados amostras em quatro pontos específico de cada máquina de diálise , de um total de 29, totalizando 116 pontos. As áreas foram limpas com glucoprotamina (Incidin® 5%), Álcool, e água com sabão de duas maneiras, sem e com realização de fricção e colocando o produto somente uma vez na compressa. Resultado: Nesta etapa, não houve diferença significativa entre os produtos utilizados, diferente da segunda etapa, quando a fricção foi realizada. Na comparação dos três tipos de produto as diferenças não se mostraram significativas ($p > 0,999$), ou seja, os três processos se equivaleram. Conclusão: Os dados sugerem que os produtos testados podem ser utilizados para limpeza dos equipamentos de hemodiálise com a mesma eficácia, desde que o processo de limpeza use fricção da superfície a ser limpa.

Palavra-chave: bioluminescência, fricção, higienização.

Anexos

Anexo A – Carta de Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DO RIO GRANDE
DO SUL - PUC/RS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação de diferentes técnicas para detecção de agentes microbiológicos causadores de peritonite em pacientes de diálise peritoneal

Pesquisador: Carlos Eduardo Poli de Figueiredo

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 35919214.2.0000.5336

Instituição Proponente: UNIAO BRASILEIRA DE EDUCACAO E ASSISTENCIA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.038.451

Data da Relatoria: 16/05/2015

Apresentação do Projeto:

O projeto retorna em função de emenda na qual é modificada a obtenção de mais bolsas no projeto de pesquisa que estuda nova técnica com sedimentação na avaliação das culturas. A modificação proposta somente tem a ver com as bolsas, nada interferindo com os pacientes.

Objetivo da Pesquisa:

Confirmação de técnica de detecção de agentes microbiológicos de peritonite em diálise peritoneal.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Mesmo risco mínimo, mesmo com a emenda proposta.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Os mesmos do relato. Importante face nova técnica.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequados.

Recomendações:

A emenda não traz riscos.

Endereço: Av.Ipiranga, 6681, prédio 40, sala 505
Bairro: Partenon CEP: 90.619-900
UF: RS Município: PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3320-3345 Fax: (51)3320-3345 E-mail: cep@pucls.br

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DO RIO GRANDE
DO SUL - PUC/RS



Continuação do Parecer: 1.038.451

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendencias.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

PORTO ALEGRE, 27 de Abril de 2015

Assinado por:
Rodolfo Herberto Schneider
(Coordenador)

Endereço: Av.Ipiranga, 6681, prédio 40, sala 505
Bairro: Partenon CEP: 90.619-900
UF: RS Município: PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3320-3345 Fax: (51)3320-3345 E-mail: cep@pucrs.br

Anexo B – Comprovante de Submissão à revista American Journal of Kidney Diseases

17/12/2015

Editorial Manager®



AMERICAN JOURNAL OF
KIDNEY DISEASES

The Official Journal of
The National Kidney Foundation



HOME • LOGOUT • HELP • REGISTER • UPDATE MY INFORMATION • JOURNAL OVERVIEW
MAIN MENU • CONTACT US • SUBMIT A MANUSCRIPT • INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

Role: **Author**

Username: poli

Author's Decision

Thank you for approving "TIME TO POSITIVITY OF BACTERIA CULTURES IN PERITON DIALYSIS FLUID: EVALUATION OF DIFFERENT LABORATORY TECHNIQUES."

[Main Menu](#)