

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade de Medicina
Ciências da Saúde Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia

**PERFIL MICROBIOLÓGICO DE ÚLCERAS INFECTADAS EM
PACIENTES COM PÉ DIABÉTICO E ASSOCIAÇÃO COM
AMPUTAÇÃO MAIOR E COM ÓBITO**

NATÁLIA ANÍCIO CARDOSO

Belo Horizonte
2016

NATÁLIA ANÍCIO CARDOSO

**PERFIL MICROBIOLÓGICO DE ÚLCERAS INFECTADAS EM
PACIENTES COM PÉ DIABÉTICO E ASSOCIAÇÃO COM
AMPUTAÇÃO MAIOR E COM ÓBITO**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Túlio Pinho Navarro.

Coorientadora: Prof^a. Lígia de Loiola Cisneros.

Belo Horizonte

2016

À Deus.

**Aos meus pais,
Dilson e Maria de Lourdes.**

**Ao meu namorado,
Bernardo.**

AGRADECIMENTOS

À Deus, por sempre proporcionar força em momentos difíceis e glória em momentos de vitória.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Túlio Pinho Navarro, pelo incentivo, apoio e disponibilidade.

À minha coorientadora, Prof^a. Dr^a. Lígia de Loiola Cisneros, pela paciência e amizade.

À minha estatística, Prof^a. Dr^a. Carla Jorge Machado, pela compreensão e ensinamentos.

Às amigas do centro de pesquisa, Tatiana e Gildete, pela amizade, compreensão e paciência.

Aos membros do serviço de Cirurgia Vascular do Hospital Risoleta Tolentino Neves, em especial à enfermeira Alessandra Rocha Luz, pela disponibilidade, ensinamento e amizade.

Aos meus pais, Dilson e Maria de Lourdes, por acreditarem em meu potencial e apoiarem minhas decisões.

Ao meu namorado, Bernardo, pelo incentivo e apoio.

À minha tia e madrinha, Dorinha, pelo acolhimento em sua casa.

A todos os amigos e familiares que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste projeto.

“Deus nunca disse que a jornada seria fácil,
mas Ele disse que a chegada valeria a pena”.

(Max Lucado).

RESUMO

Introdução: infecção da úlcera em pé diabético é um dos fatores determinantes de amputação deste membro e de óbito. O pé diabético é a maior causa de internação e de gastos hospitalares na população diabética, sendo um grave problema de saúde pública. **Objetivo:** identificar o perfil microbiológico das úlceras infectadas em pacientes com pé diabético e correlacioná-lo com amputação maior e com óbito. **Método:** foram realizados dois estudos caso-controle, sendo que o primeiro comparou pacientes submetidos à amputação maior (casos) e pacientes não amputados (controles). O estudo caso-controle 2 comparou pacientes submetidos à amputação maior que evoluíram para o óbito (casos) e pacientes submetidos à amputação maior que não morreram (controles). **Resultados:** o estudo caso-controle 1 foi composto de 189 pacientes com média de idade de 61,9 anos, maioria homens (64,6%), com creatinina sérica média igual a 1,95 mg/dL e hemoglobina sérica média igual a 8,93 g/dL. Houve reinternação em 42,9% e 15,9% de mortalidade. A cultura foi positiva em 86,8% dos casos, sendo que 72,0% foram monomicrobianas e 21,2% foram consideradas reinfecção. Os gêneros de bactérias mais frequentes foram *Acinetobacter spp.* (24,4%), *Morganella spp.* (24,4%), *Proteus spp.* (23,1%) e *Enterococcus spp.* (19,2%) e as espécies foram *Acinetobacter baumannii*, *Morganella morganii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Proteus mirabilis*. Identificou-se como fatores preditores para amputação maior o isolamento dos gêneros *Acinetobacter spp.* e *Klebsiella spp.*, os níveis séricos de creatinina $\geq 1,3$ mg/dL e de hemoglobina < 11 g/dL. O estudo caso-controle 2 foi composto de 78 pacientes com média de idade de 63,8 anos, maioria homens (69,2%), com creatinina sérica média igual a 2,49 mg/dL e hemoglobina sérica média igual a 7,36 g/dL. Houve 47,4% de reinternação. Amputação transtibial foi realizada em 59,0%; e 39,7% submeteram-se à amputação transfemoral. A cultura foi positiva em 87,2%, sendo que em 68,0% foi monomicrobiana e houve reinfecção em 30,8%. Os gêneros de bactérias mais frequentes foram *Acinetobacter spp.* (33,3%), *Morganella spp.* (33,3%) e *Proteus spp.* (27,8%) e as espécies foram *Acinetobacter baumannii* e *Morganella morganii*. Não se identificou nenhum gênero bacteriano como fator preditor para óbito. Nível de creatinina $\geq 1,3$ mg/dL e amputação transfemoral foram fatores preditores para óbito. **Conclusão:** nos pacientes com amputação maior, os gêneros mais frequentes foram *Acinetobacter spp.*, *Morganella spp.*, *Proteus spp.* e *Enterococcus spp.* e as espécies foram *Acinetobacter baumannii*, *Morganella morganii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Proteus mirabilis*. Os fatores preditores para amputação maior foram o isolamento dos gêneros *Acinetobacter spp.* e *Klebsiella spp.*, níveis de creatinina $\geq 1,3$ mg/mL e de hemoglobina < 11 g/mL. Nos pacientes com amputação maior que evoluíram para o óbito, os gêneros mais frequentes foram *Acinetobacter spp.*, *Morganella spp.* e *Proteus spp.* e as espécies foram *Acinetobacter baumannii* e *Morganella morganii*. Os fatores preditores para óbito foram níveis de creatinina $\geq 1,3$ mg/mL e amputação transfemoral. Não se identificou nenhum gênero bacteriano como fator preditor para o óbito. Além disso, culturas polimicrobianas e reinfecção da úlcera do pé diabético não se associaram à amputação maior e ao óbito.

Palavras-chave: Pé diabético. Úlcera do pé. Infecção. Amputação. Mortalidade.

ABSTRACT

Introduction: diabetic foot infection is one of the leading causes of lower limb amputation and death. Diabetic foot is the major cause of hospitalization and financial burden in the diabetic population and is considered a serious public health problem. **Objective:** identify the microbiological profile of infected ulcers in patients with diabetic foot, correlating with major amputation and death. **Method:** it was performed two case-control studies, in which the case-control study 1 compared patients who underwent major amputation (cases) and patients without amputation (controls). The case-control study 2 compared patients that underwent major amputation and died (cases) and patients that underwent major amputation who survived (controls). **Results:** the case-control study 1 consisted of 189 patients with a mean age of 61.9 years, mostly males (64.6%), with mean serum creatinine level of 1.95 mg/dL and average level of serum hemoglobin of 8.93 g/dL. The readmission rate was 42.9% and the death rate was 15.9%. Of these patients, 86.8% had positive culture, and 72.0% were monomicrobial cultures and 21.2% had reinfection. The most common genres of bacteria were *Acinetobacter spp.* (24,4%), *Morganella spp.* (24,4%), *Proteus spp.* (23,1%) and *Enterococcus spp.* (19,2%) and species were *Acinetobacter baumannii*, *Morganella morganii*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Proteus mirabilis*. The genera *Acinetobacter spp.* and *Klebsiella spp.*, level creatinine serum $\geq 1,3$ mg/dL and level hemoglobin serum < 11 g/dL were predictive for major amputation. The case-control study 2 consisted of 78 patients with a mean age of 63.8 years, mostly males (69.2%), with mean serum creatinine level of 2,49 mg/dL and average level of serum hemoglobin of 7.36 g/dL. The readmission rate was 47.4% and 59.0% of the subjects had transtibial amputation and 39.7% underwent transfemoral amputation. Of these patients, 87.2% had positive culture, and 68.0% were monomicrobial cultures and 30.8% had reinfection. The most common genres of bacteria were *Acinetobacter spp.* (33,3%), *Morganella spp.* (33,3%) and *Proteus spp.* (27,8%) and species were *Acinetobacter baumannii* and *Morganella morganii*. No bacterial genre was predictive for death. Level creatinina serum ≥ 1.3 mg/dL and transfemoral amputation were predictive for death. **Conclusion:** in patients submitted to major amputation, the most common genres of bacteria were *Acinetobacter spp.*, *Morganella spp.*, *Proteus spp.* and *Enterococcus spp.* and species were *Acinetobacter baumannii*, *Morganella morganii*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Proteus mirabilis*. The genres *Acinetobacter spp.* and *Klebsiella spp.*, level creatinine serum $\geq 1,3$ mg/dL and level hemoglobin serum < 11 g/dL were predictive for major amputation. In patients submitted to major amputation who died, the most common genres of bacteria were *Acinetobacter spp.*, *Morganella spp.* and *Proteus spp.* and species were *Acinetobacter baumannii* and *Morganella morganii*. Level creatinina serum ≥ 1.3 mg/dL and transfemoral amputation were predictive for death. No bacterial genre was predictive for death. Polimicrobial cultures and reinfection of infected ulcers in patients with diabetic foot were not associated with major amputation and death.

Keyword: Diabetic foot. Foot ulcer. Infection. Amputation. Death.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

GRAFICO 1 - Distribuição de espécies de bactérias isoladas nas culturas microbiológicas de tecido profundo dos pacientes do caso-controle 1	33
GRAFICO 2 - Distribuição de espécies de bactérias isoladas nas culturas microbiológicas de tecido profundo dos pacientes do cas-controle 2	38

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Classificação dos 654 pacientes quanto ao tipo de cirurgia realizada.	26
FIGURA 2 - Caso-controle 1 e Caso-controle 2	26

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Comparação entre os grupos de pacientes do caso-controle 1 das diferentes variáveis estudadas	31
TABELA 2 - Comparação entre os grupos de pacientes do caso-controle 1 quanto aos gêneros de bactérias isoladas em culturas bacteriológicas de tecido profundo	32
TABELA 3 - Análise univariada das 23 variáveis clínicas, laboratoriais e bacteriológicas dos pacientes do caso-controle 1	34
TABELA 4 - Análise multivariada das variáveis associadas à amputação maior dos pacientes do caso-controle 1	35
TABELA 5 - Comparação entre os grupos de pacientes do caso-controle 2 das diferentes variáveis estudadas	36
TABELA 6 - Comparação entre os grupos de pacientes do caso-controle 2 quanto aos gêneros de bactérias isoladas em culturas bacteriológicas de tecido profundo	37
TABELA 7 - Análise univariada das 23 variáveis clínicas, laboratoriais e bacteriológicas dos pacientes do caso-controle 2	39
TABELA 8 - Análise multivariada das variáveis associadas ao óbito dos pacientes do caso-controle 2	39

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

%	Por cento
<	Menor
=	Igual
>	Maior
≥	Igual ou maior
CNS	Conselho Nacional de Saúde
COEP	Comitê de Ética em Pesquisa
DAP	Doença Arterial Periférica
dL	Decilitro
DP	Desvio-padrão
FUNDEP	Fundação de Desenvolvimento da Pesquisa
HRTN	Hospital Risoleta Tolentino Neves
IDF	<i>International Diabetes Federation</i>
IWGDF	<i>International Working Group on the Diabetic Foot</i>
MG	Minas Gerais
mg	Miligrama
N	Número amostral
NEPE	Núcleo de Ensino, Pesquisa e Extensão
OR	<i>Odds ratio</i>
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
vs	<i>Versus</i>
WIFI	<i>Wound, Ischemia and foot Infection</i>

SUMÁRIO¹

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	15
2.1 Diabetes <i>mellitus</i>	15
2.1.1 Classificação do diabetes	15
2.1.2 Complicações do diabetes.....	16
2.1.2.1 Pé diabético.....	18
2.1.2.1.1 <i>Infecção no pé diabético</i>	19
2.1.2.1.2 <i>Classificação do pé diabético</i>	21
2.1.2.1.3 <i>Amputação de membros inferiores em pacientes com pé diabético</i>	22
2.1.2.1.4 <i>Óbito em pacientes com pé diabético</i>	22
3 OBJETIVOS	24
3.1 Objetivo geral.....	24
3.2 Objetivos específicos.....	24
4 MÉTODO	25
4.1 Tipo do estudo	25
4.2 Local de desenvolvimento do estudo.....	25
4.3 Amostra	25
4.4 Procedimentos da rotina do serviço e da coleta de dados.....	27
4.5 Análise estatística dos dados	28
4.6 Considerações éticas.....	30
5 RESULTADOS.....	31
5.1 Estudo caso-controle 1: amputação maior vs não amputação	31
5.2 Estudo caso-controle 2: amputação maior e óbito vs amputação maior e não óbito.....	35
6 DISCUSSÃO	40
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	47
8 CONCLUSÕES	48
REFERÊNCIAS.....	49

¹ Este trabalho foi revisado de acordo com as novas regras ortográficas aprovadas pelo Acordo Ortográfico assinado entre os países que integram a Comunidade de Países de Língua Portuguesa (CPLP), em vigor no Brasil desde 2009. E foi formatado de acordo com a ABNT NBR 14724 de 17.04.2014.

1 INTRODUÇÃO

O diabetes *mellitus* é caracterizado por distúrbios metabólicos que possuem em comum a hiperglicemia sustentada resultante de defeitos na ação da insulina e/ou na secreção deste hormônio (OLIVEIRA; VENCIO, 2014). Essa doença pode levar a complicações agudas e/ou crônicas quando não ocorre manutenção adequada da glicemia (PASQUALOTTO; ALBERTON; FRIGERI, 2012).

O diabetes *mellitus* é doença que afeta cerca de 415 milhões de pessoas em todo o mundo e esse número aumentará para 642 milhões no ano de 2040 (*INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION - IDF*, 2015). Das pessoas com diabetes, 80% moram em países de baixa e média renda (HINGORANI *et al.*, 2016). No Brasil, 7,6% da população adulta são diabéticos (BRASILEIRO *et al.*, 2005; PASQUALOTTO; ALBERTON; FRIGERI, 2012; SANTOS; SILVEIRA; CAFFARO, 2006), o que corresponde a cerca de 14,3 milhões de pessoas, ocupando a quarta posição mundial de casos de diabetes (IDF, 2015).

A cetoacidose diabética destaca-se como principal complicação aguda do diabetes *mellitus* (BARONE *et al.*, 2007). Entre as complicações crônicas, destacam-se retinopatia, nefropatia, complicações cardiovasculares, neuropatia, doença arterial periférica e complicações nas extremidades do corpo, em especial nos pés (PASQUALOTTO; ALBERTON; FRIGERI, 2012).

Entre as complicações das extremidades, destaca-se o pé diabético, que consiste em comprometimento neurológico, vascular, osteomuscular e infeccioso, podendo resultar em ulcerações e/ou destruição dos tecidos profundos dos pés (KORZON-BURAKOWSKA; DZIEMIDOK, 2011). O pé diabético apresenta como componentes a neuropatia periférica (que pode ser sensitiva, motora e autonômica), as úlceras (que podem ser superficiais ou profundas, envolvendo algumas vezes ossos e músculos), as infecções (que podem ser leves, moderadas ou graves) e a isquemia (que pode ser leve, sem necessidade de intervenção ou acentuada, que impede a cicatrização) (HADADI *et al.*, 2014).

O pé diabético é a maior causa de internação hospitalar (HADADI *et al.*, 2014) e de gastos com esses pacientes, tornando-se um importante problema de saúde pública (MARTINS-MENDES *et al.*, 2014).

Pacientes com pé diabético exibem altas taxas de amputação. Entre 40 e 60% das amputações não traumáticas de membros inferiores são realizadas em pacientes diabéticos (AMARAL JÚNIOR *et al.*, 2014) e 80% dessas amputações são precedidas por úlceras nos pés (HINGORANI *et al.*, 2016). Entre 40 e 80% das úlceras em pacientes diabéticos evoluem com infecção (AMARAL JÚNIOR *et al.*, 2014), o que aumenta o risco de hospitalização em 56 vezes e o risco de amputação em até 155 vezes (OLIVEIRA; OLIVEIRA FILHO, 2014).

Além disso, úlcera infectada é considerada um marcador clínico de comprometimento de órgãos sistêmicos e de alta mortalidade (AMARAL JÚNIOR *et al.*, 2014).

Uma úlcera infectada causada por várias espécies de bactérias, isto é, infecção polimicrobiana, pode ter mais dificuldades na cicatrização devido a fatores de virulência secretados pelas diferentes espécies de bactérias. A dificuldade da cicatrização pode levar a amputação e ao óbito (SPICHLER *et al.*, 2015).

Com abordagem multiprofissional, diagnóstico precoce e tratamento adequado, essas amputações poderiam ser reduzidas em até 50% (PASQUALOTTO; ALBERTON; FRIGERI, 2012).

Em Belo Horizonte-MG, o Hospital Risoleta Tolentino Neves (HRTN) é referência estadual para o tratamento de doenças vasculares, com destaque para o paciente com pé diabético. O Serviço de Cirurgia Vascular desse hospital conta com equipe multiprofissional especializada composta de enfermeiros, fisioterapeutas, ortopedistas, endocrinologistas, cirurgiões vasculares e infectologistas, que seguem um protocolo baseado em evidências para abordagem e tratamento hierarquizado desses pacientes (HOSPITAL RISOLETA TOLENTINO NEVES - HRTN, 2015).

Este estudo visa identificar os patógenos bacterianos para avaliação do perfil microbiológico e associar gênero bacteriano, cultura polimicrobiana e reinfecção com amputação e com óbito em pacientes com pé diabético e úlcera infectada atendidos no Hospital Risoleta Tolentino Neves.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Diabetes *mellitus*

O diabetes *mellitus* é afecção de base genética e hereditária, considerada entidade clínica de evolução progressiva (ARAGÃO *et al.*, 2010). Caracteriza-se por distúrbios metabólicos dos carboidratos, lipídios e proteínas, que culminam em hiperglicemia (MARINHO *et al.*, 2012), devido à resistência periférica à ação da insulina ou diminuição na secreção da mesma pelo pâncreas (ARAGÃO *et al.*, 2010).

2.1.1 Classificação do diabetes

O diabetes *mellitus* é classificado em dois grandes grupos: tipo 1 e tipo 2.

O tipo 1 representa 5 a 10% das pessoas que possuem diabetes e pode acometer qualquer faixa etária. Contudo, é mais comum em crianças e adultos jovens (PASQUALOTTO; ALBERTON; FRIGERI, 2012). Pacientes diagnosticados como tipo 1 apresentam destruição autoimune específica de suas células beta das ilhotas Langerhans no pâncreas, órgão responsável pela produção do hormônio insulina que regula a concentração de glicose no organismo. Com a destruição dessas células, o paciente passa a ter deficiência na produção da insulina, aumentando os níveis de glicose no organismo, sendo necessária a reposição diária da insulina (DIB; TSCHIEDEL; NERY, 2008).

Ao contrário do tipo 1, os pacientes com o tipo 2 não possuem as células beta-pancreáticas afetadas. No entanto, o organismo desses pacientes adquire resistência à insulina, isto é, não consegue usar a insulina produzida (FERREIRA *et al.*, 2011). O tipo 2 acomete principalmente a população adulta e representa cerca de 90% das pessoas com diabetes (PINHEIRO *et al.*, 2012). Porém, tem-se observado que o tipo 2 tem acometido também crianças e jovens devido aos hábitos alimentares modernos, sedentarismo e obesidade, que são fatores de risco para essa doença (MARINHO *et al.*, 2012).

2.1.2 Complicações do diabetes

As complicações do diabetes são as principais causas de incapacidade, redução da qualidade de vida e morte nesses pacientes (IDF, 2015).

Entre as complicações agudas, destaca-se a cetoacidose diabética. Nesse quadro as células utilizam a gordura para obter energia devido à falta de glicose intracelular, resultando no acúmulo de corpos cetônicos na corrente sanguínea. A cetoacidose diabética, devido a hiperglicemia e hipercetonemia, pode causar sinais e sintomas como hálito cetônico, altos níveis de corpos cetônicos na urina, coma ou até mesmo a morte (BARONE *et al.*, 2007), sendo que esta ocorre em 5% dos pacientes acometidos (KLAFKE *et al.*, 2014).

As complicações crônicas são as principais responsáveis pela hospitalização, alto custo, morbidade e mortalidade dos pacientes diabéticos (PASQUALOTTO; ALBERTON; FRIGERI, 2012). Entre as complicações crônicas, destacam-se retinopatia, nefropatia, neuropatia e pé diabético.

A retinopatia diabética ocorre por comprometimento dos pequenos vasos sanguíneos da retina (FERREIRA *et al.*, 2011), enfermidade que acomete mais de 90% dos adultos com mais de 20 anos de tipo 1 e 60% de tipo 2 e pode causar cegueira progressiva (PASQUALOTTO; ALBERTON; FRIGERI, 2012).

A nefropatia diabética ocorre por comprometimento do glomérulo renal e acomete 40% dos pacientes com tipo 1 e 5 a 20% dos pacientes com tipo 2 (PASQUALOTTO; ALBERTON; FRIGERI, 2012), o que leva graus variáveis de insuficiência renal, podendo culminar com a necessidade de diálise (FERREIRA *et al.*, 2011).

A neuropatia periférica diabética é a complicação crônica de mais prevalência e é causada pela diminuição da oferta de oxigênio aos nervos periféricos como consequência da hiperglicemia crônica (OLIVEIRA; VENCIO, 2014).

A neuropatia pode ser assintomática. Por outro lado, pode ocorrer neuropatia sensitiva, que cursa com parestesias, dor ou perda de sensibilidade nos membros superiores, mas mais acentuadamente nos membros inferiores (OLIVEIRA; VENCIO, 2014). Nestes, a perda protetora da sensibilidade facilita que os pés sejam atingidos por agentes externos e traumas sem percepção por

parte do paciente (AMARAL JÚNIOR *et al.*, 2014), podendo culminar em ulceração, o que ocorre em 80 a 85% dos casos (OCHOA-VIGO; PACE, 2005).

A neuropatia motora leva a atrofia e enfraquecimento dos músculos intrínsecos dos pés, levando a deformidades osteoarticulares que culminam com distúrbios da marcha, formação de calosidades e, conseqüentemente, ulcerações (GAGLIARDI, 2003).

A neuropatia autonômica pode acometer os nervos dos seguintes sistemas: digestivo, levando a estase gástrica e redução do peristaltismo; geniturinário, levando a impotência sexual, diminuição da libido e dificuldade de esvaziamento da bexiga; cardiovascular, levando a arritmias. Acomete também a pele dos pés, levando à perda da sudorese e, conseqüentemente, ao ressecamento, favorecendo o aparecimento de fissuras, que podem originar ulcerações (FOSS-FREITAS; MARQUES JÚNIOR; FOS, 2008).

A neuropatia diabética clássica contém os componentes sensitivos, motor e autonômico. É a neuropatia mais comum na prática clínica e geralmente é bilateral (OLIVEIRA; VENCIO, 2014).

A doença arterial periférica (DAP) é a redução do fluxo sanguíneo das artérias que irrigam os membros inferiores, causada principalmente por arteriosclerose (NORGREN *et al.*, 2007). A associação do tempo de diabetes *mellitus* e a hiperglicemia contribuem para a gravidade dessa doença (TRINCHES *et al.*, 2009).

Essa doença pode ser: assintomática, na qual o paciente manifesta algum grau de isquemia nos membros inferiores, porém sem sintomas; claudicação intermitente, que é a apresentação clínica mais comum, na qual o paciente descreve dor muscular somente ao caminhar, o que o obriga a parar de andar quando a dor se torna muito forte e não há lesões tróficas como gangrenas ou necroses; isquemia crítica, que é a apresentação clínica mais grave, pois existe comprometimento tão acentuado da irrigação do membro que leva à formação espontânea de úlceras e necroses (NORGREN *et al.*, 2007).

Em qualquer uma dessas três apresentações, a doença arterial periférica não favorece a cicatrização das úlceras, sendo um fator que perpetua a úlcera, deixando-a suscetível à infecção. Nesses casos, quando houver condições clínicas, pode-se submeter o paciente a procedimentos cirúrgicos de

revascularização do membro, a fim de favorecer a cicatrização da úlcera e evitar a amputação (NORGREN *et al.*, 2007).

A doença arterial periférica está presente em até 50% dos pacientes diabéticos recém-diagnosticados (MILLS *et al.*, 2014) e, destes, cerca de 10 a 20% podem ter isquemia crítica (OLIVEIRA; VENCIO, 2014).

2.1.2.1 Pé diabético

A combinação do comprometimento neurológico, vascular, osteomuscular e infeccioso pode resultar em ulcerações e/ou destruição dos tecidos profundos dos pés e culminar em amputação. Esta complicação é chamada de pé diabético (KORZON-BURAKOWSKA; DZIEMIDOK, 2011).

Entre 40 e 60% das amputações não traumáticas de membros inferiores realizadas no mundo inteiro são decorrentes de complicações do diabetes (AMARAL JÚNIOR *et al.*, 2014). Em 80% das vezes, essas amputações são precedidas por úlceras nos pés (HINGORANI *et al.*, 2016), que podem ser encontradas em aproximadamente 25% dos pacientes diabéticos em algum momento da vida (SPICHLER *et al.*, 2015). Neuropatia, doença arterial periférica, deformidade nos pés, alta pressão na região plantar dos pés, trauma menor, ulceração ou amputação anterior e deficiência visual são considerados fatores de risco para o surgimento dessas úlceras (HINGORANI *et al.*, 2016).

O pé diabético é a maior causa de internação (HADADI *et al.*, 2014) e de gastos hospitalares na população diabética (MARTINS-MENDES *et al.*, 2014). Parte do tratamento das úlceras nos pés diabéticos pode ser feita de forma ambulatorial por meio de uso de antibióticos orais e cuidados com a ferida. Entretanto, há situações em que é necessária a internação do paciente (ARAGÃO *et al.*, 2010). Estima-se que mais de 50% dos pacientes hospitalizados em decorrência de lesões graves nos pés permanecem internados por mais de 90 dias. Conseqüentemente, com o aumento dos dias de internação, elevam-se também os custos hospitalares (PASQUALOTTO; ALBERTON; FRIGERI, 2012). Além disso, as repercussões pessoais e socioeconômicas fazem deste um importante problema de saúde pública (SHOJAIEFARD; KHORGAMI; LARIJANI, 2008).

2.1.2.1.1 Infecção no pé diabético

Infecção pode ser definida como crescimento de algum tipo de microrganismo no interior de feridas que leva à inflamação (calor, rubor, inchaço, dor, perda de função) ou à destruição tecidual. Se não controlada, a infecção pode atingir tecidos mais profundos (SPICHLER *et al.*, 2015).

Entre 40 e 80% das úlceras do pé diabético evoluem para infecção, embora com graus variáveis de gravidade (AMARAL JÚNIOR *et al.*, 2014). A úlcera infectada do pé diabético está associada a maior mortalidade e morbidade, além de ser causa de amputação não traumática dos membros inferiores (TURHAN *et al.*, 2013).

As infecções das úlceras nos pés de pacientes diabéticos podem ser classificadas em leves ou sem risco de perda do membro, quando não há comprometimento de estruturas teciduais, como músculo, tendão, osso ou articulação; moderadas ou com risco de perda do membro, quando há comprometimento dessas estruturas (NEVES *et al.*, 2013); e graves, quando, além do comprometimento dessas estruturas pode-se associar a sepse generalizada às alterações hemodinâmicas e metabólicas graves, tornando a amputação primária do membro uma medida imperativa para salvar a vida (MILLS *et al.*, 2014).

As infecções moderadas e graves exigem urgência no tratamento, com os objetivos de diminuir o efeito da destruição tecidual pela infecção e controlar o foco séptico. Infecção moderada pode aumentar o risco da perda do membro afetado e provocar infecção grave, o que pode colocar em risco a vida do paciente (NEVES *et al.*, 2013).

Para realizar tratamento da infecção com antimicrobiano adequado, é necessário conhecer qual(is) microrganismo(s) causa(m) a infecção. A cultura da úlcera não deve ser realizada para obter o diagnóstico de infecção e sim para determinar o microrganismo causador dela e selecionar o antimicrobiano mais adequado (JOSEPH; LIPSKY, 2010).

A cultura de uma lesão infectada só poderá identificar os agentes etiológicos se coletada e processada adequadamente (BRASILEIRO *et al.*, 2005). Em alguns estudos, como os realizados por Jorge *et al.* (1999), Carvalho *et al.* (2004), Fernandes, Pimenta e Fernandes (2007), Martins *et al.* (2010) e Banu *et*

al. (2015), o material da ferida é coletado com o auxílio do *swab*, conhecido como técnica de Levine. Contudo, o uso de *swab* como instrumento de coleta permite o crescimento de microrganismos contaminantes e a perda do patógeno verdadeiro da amostra coletada (SPICHLER *et al.*, 2015). Os materiais considerados confiáveis para a cultura são a curetagem ou raspado de uma úlcera desbridada ou aspirado da lesão ou biópsia tecidual (BRASILEIRO *et al.*, 2005; SPICHLER *et al.*, 2015).

O tempo de espera por um resultado de cultura é um problema enfrentado na prática clínica. Normalmente, o resultado é liberado três dias após a coleta do material biológico. Por esse motivo, a antibioticoterapia é aplicada empiricamente no paciente até a liberação do resultado do exame de cultura. E para obter um resultado real, o ideal é realizar o tratamento empírico somente após a coleta do material biológico para a cultura, para evitar resultados falso-negativos (TURHAN *et al.*, 2013).

A microbiologia da infecção das úlceras em pé diabético envolve bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e/ou anaeróbias. A infecção pode ser causada por uma única espécie de bactéria, sendo monomicrobiana, ou por mais de uma espécie de bactérias, sendo polimicrobiana (YUSUF *et al.*, 2015).

Infecções consideradas superficiais ou agudas são normalmente causadas por bactérias Gram-positivas, principalmente estafilococos e/ou estreptococos (FERNANDES; PIMENTA; FERNANDES, 2007). Nas infecções consideradas profundas, crônicas ou complicadas, observa-se predomínio de bactérias Gram-negativas (TURHAN *et al.* 2013). Há predomínio polimicrobiano em 60 a 80% das infecções profundas, com bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* e *Enterococcus spp.*), Gram-negativas, como os bacilos Gram-negativos fermentadores de glicose (família *Enterobacteriaceae*) e não fermentadores de glicose (*Pseudomonas spp.* e *Acinetobacter spp.*) e anaeróbias, como bacteroides (FERNANDES; PIMENTA; FERNANDES, 2007).

Outra consideração é o predomínio de bactérias Gram-negativas em pacientes submetidos a tratamento recente da úlcera com antimicrobiano e anaeróbio estrito em úlceras com isquemia ou gangrena (JOSEPH; LIPSKY, 2010).

As infecções polimicrobianas contribuem para a cronicidade da infecção, pois predisõem à produção de fatores de virulência como hemolisina, protease e

colagenase, que provocam inflamação impedindo que a ferida cicatrize (SPICHLER *et al.*, 2015).

2.1.2.1.2 Classificação do pé diabético

Existem diversas ferramentas terapêuticas para abordar o pé diabético: desbridamento, amputação menor, amputação maior, revascularização por cirurgia convencional, revascularização por cirurgia endovascular, antibioticoterapia empírica e guiada por cultura, curativos especiais para feridas, oxigenoterapia hiperbárica e enxertos e retalhos de pele (OLIVEIRA; VENCIO, 2014).

A utilização de cada uma dessas ferramentas deve obedecer a uma hierarquia baseada em evidências, de acordo com as particularidades de cada paciente. Não deve ser baseada em uma ordem aleatória e dependente da especialidade do profissional para oferecer o tratamento mais eficaz para o paciente (MILLS *et al.*, 2014).

A definição da melhor terapêutica depende da avaliação dos componentes mais importantes do pé diabético: úlcera, isquemia e infecção (MILLS *et al.* 2014).

A Classificação de Meggit e Wagner (1981) é utilizada para a classificação da úlcera no pé diabético. Nesta classificação, Grau 0, equivale à ausência de úlcera; Grau 1, corresponde a presença de úlcera superficial; Grau 2, corresponde a úlcera profunda que envolve tendões; Grau 3, equivale a úlcera profunda com presença de osteomielite; Grau 4, presença parcial de gangrena; Grau 5, presença de gangrena em todo o pé (MILLS *et al.* 2014).

Recentemente, foi divulgada uma nova classificação que quantifica os diferentes estágios da úlcera, da isquemia e da infecção. Foi denominada Classificação Wound, Ischemia and foot Infection (WIFI) tornando possível estimar o risco de amputação do membro e o benefício de realizar cirurgia de revascularização (MILLS *et al.*, 2014).

2.1.2.1.3 Amputação de membros inferiores em pacientes com pé diabético

As indicações mais comuns para a amputação de membros inferiores são gangrena, infecção e úlceras não cicatrizadas (OLVEIRA; VENCIO, 2014). As amputações são classificadas como: menor, quando abaixo do médio tarso do pé e restrita aos dedos dos pés ou à parte anterior do pé, conhecida como amputação transmetatársica; ou maior, quando compromete toda a porção acima do médio tarso (BRASILEIRO *et al.*, 2005). Pode ser dividida em três níveis: amputação de perna ou transtibial (abaixo do joelho), amputação de coxa ou transfemoral (acima do joelho) e desarticulação do quadril (ASSUMPÇÃO *et al.*, 2009; BRASILEIRO *et al.*, 2005).

Segundo o Consenso Internacional do Pé Diabético (BRASIL, 2001), a amputação menor é indicada para remover gangrena nas extremidades dos pés ou corrigir deformidade ou parte de um desbridamento para a retirada de tecidos desvitalizados. Pacientes com infecções nos pés que evoluem para amputação maior têm sua habilidade de caminhar comprometida, causando dependência social e aumentando a taxa de mortalidade.

Santos (2015) ressalta que 30 a 50% dos pacientes com a síndrome do pé diabético que realizaram amputação do membro inferior dentro de um a três anos irão requerer nova amputação.

Diagnóstico precoce, abordagem multidisciplinar e tratamento adequado reduziram em mais de 50% as taxas de ulceração e amputação nos pacientes (PASQUALOTTO'ALBERTON; FRIGERI, 2012). Em estudo realizado por Santos (2015), os pacientes com pé diabético que não realizavam cuidados com os pés tinham risco de amputação 3,6 vezes mais alto quando comparados aos pacientes com pé diabético que realizavam cuidados com os pés.

2.1.2.1.4 Óbito em pacientes com pé diabético

A taxa de mortalidade em pacientes diabéticos com úlceras nos pés é duas vezes maior, comparada com a de pacientes diabéticos sem úlceras nos pés (IVERSEN *et al.*, 2009).

Pacientes diabéticos que foram submetidos à amputação maior do membro inferior apresentam baixas taxas de sobrevivência (MOULIK; MTONGA; GILL, 2003). Segundo o *The International Working Group on the Diabetic Foot* (IWGDF, 2011), cerca de 10% dos pacientes que amputam o membro inferior morrem no período perioperatório. No primeiro ano após a realização da amputação, 30% dos pacientes evoluem a óbito, no terceiro ano esse percentual sobe para 50% e no quinto ano são 70%. Essa porcentagem pode aumentar em países em desenvolvimento, pois os pacientes tendem a procurar assistência médica quando a infecção da úlcera está avançada, o que aumenta o risco de amputação (MOULIK; MTONGA; GILL, 2003).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Identificar o perfil microbiológico (gêneros e espécies bacterianas) de úlceras infectadas em pacientes com pé diabético atendidos no Serviço de Cirurgia Vasculardo Hospital Risoleta Tolentino Neves.

3.2 Objetivos específicos

Correlacionar nesses pacientes citados no objetivo geral com:

- a) Gêneros de bactérias isolados em culturas com amputação maior e com óbito.
- b) Cultura polimicrobiana com amputação maior e com óbito.
- c) Taxa de reinfecção com amputação maior e com óbito.

4 MÉTODO

4.1 Tipo do estudo

Estudo observacional do tipo caso-controle.

4.2 Local de desenvolvimento do estudo

O estudo foi realizado no Hospital Risoleta Tolentino Neves (HRTN), Belo Horizonte-MG.

4.3 Amostra

A população foi composta de pacientes diagnosticados com pé diabético apresentando úlcera infectada (classificação de ferida de Wagner ≥ 3) atendidos pelo Serviço de Cirurgia Vascular do HRTN no período de janeiro de 2007 a dezembro de 2012. Solicitou-se ao Setor de Informática da instituição a relação de pacientes que atendessem a esses critérios e posteriormente foi realizada busca ativa nos prontuários eletrônicos desses pacientes. Foram analisados os prontuários de 654 pacientes. Destes, 189 pacientes são do caso-controle 1 e 78 pacientes são do caso-controle 2 (Fig. 1 e Fig. 2).

FIGURA 1 - Classificação dos 654 pacientes quanto ao tipo de cirurgia realizada.

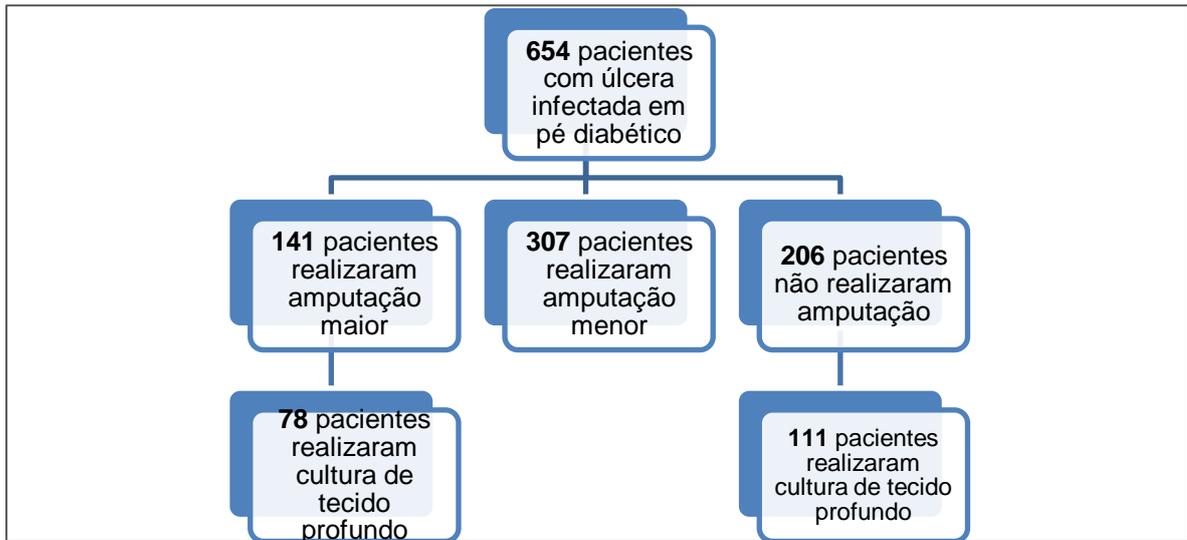
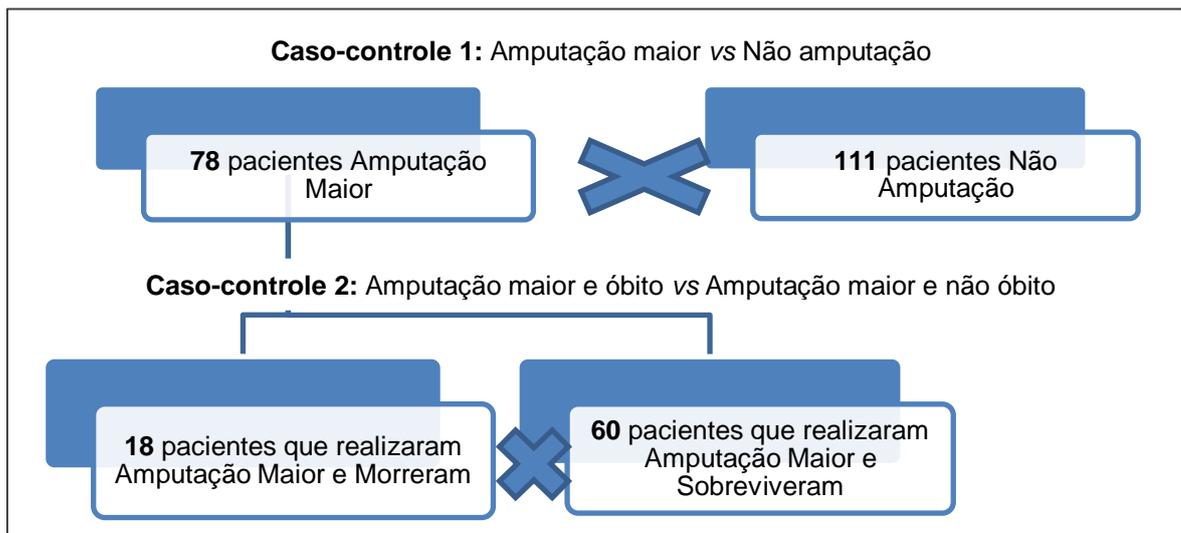


FIGURA 2 - Caso-controle 1 e Caso-controle 2



No estudo caso-controle 1, o grupo-caso foi composto de pacientes que realizaram amputação maior e o grupo-controle de pacientes que não realizaram nenhuma amputação. Todas as culturas de tecido realizadas antes da amputação no período de internação da amputação foram analisadas. Para os pacientes que realizaram mais de uma amputação em diferentes períodos de internações, foram avaliadas as culturas relacionadas ao período de internação da amputação de nível maior.

No estudo caso-controle 2, o grupo-caso foi composto de pacientes que realizaram amputação maior e evoluíram para óbito e o grupo-controle por pacientes que realizaram amputação maior e não evoluíram para óbito.

Critérios de inclusão:

- a) Ter diagnóstico de pé diabético com úlcera infectada;
- b) ter sido atendido no Serviço de Cirurgia Vascular do Hospital Risoleta Tolentino Neves no período de janeiro de 2007 a dezembro de 2012;
- c) ter realizado cultura bacteriológica de tecido profundo de úlcera do pé diabético.

Critérios de exclusão:

- a) Não ter realizado cultura bacteriológica de tecido profundo dentro do período estabelecido;
- b) ter realizado coleta do material biológico com *swab*;
- c) ter sido atendido por outros serviços do hospital;
- d) ter realizado amputação menor.

4.4 Procedimentos da rotina do serviço e da coleta de dados

Segundo o protocolo da equipe da Cirurgia Vascular:

- a) Avaliação da doença arterial periférica: realizada por um cirurgião vascular por meio de exame clínico com palpação de pulsos e com o uso do doppler de ondas contínuas com medida do índice tornozelo-braço para determinar o grau de isquemia;
- b) avaliação da infecção: os sinais locais foram determinados pelo grau de destruição tecidual, presença de secreções purulentas, sinais inflamatórios locais como hiperemia e sinais sistêmicos como leucocitose ou leucopenia, aumento dos níveis séricos de proteína C reativa, febre ou hipotermia e alterações hemodinâmicas;
- c) coleta de cultura de tecido profundo: durante a cirurgia de desbridamento e/ou de amputação após antisepsia de pele e colocação de campos cirúrgicos estéreis. Segundo a rotina do serviço, realizava-se biópsia de tecido profundo viável, visto que o tecido desvitalizado contém uma série

de bactérias oportunistas ou por contaminação. Por outro lado, as bactérias encontradas em tecidos viáveis próximos dessa área são invasoras causadoras da infecção;

Segundo o protocolo do laboratório de microbiologia responsável:

- a) Processamento da cultura de tecido profundo: o material biológico foi semeado em meios seletivos padronizados para culturas de aeróbios, visto que o laboratório do HRTN não realizava cultivo para anaeróbios obrigatórios. Foram também realizadas provas bioquímicas para identificação das espécies de bactérias, além do método de Gram para classificação das bactérias em positivas e negativas;
- b) resultados da cultura de tecido profundo: nas culturas em que não houve crescimento de bactérias, a amostra foi considerada negativa. Nos casos em que houve crescimento de duas ou mais bactérias, foi considerada polimicrobiana. Nas culturas em que houve crescimento de bactérias de espécies diferentes em culturas realizadas em períodos diferentes, foi considerado como reinfecção.

Em alguns resultados de cultura, identificou-se apenas o gênero da bactéria isolada e não a espécie, o que levou este estudo a agrupar as bactérias isoladas em gêneros e apresentar a frequência das espécies.

Coleta de dados:

As variáveis gerais como idade, sexo, tipos de cirurgias realizadas, número de internações e óbito foram coletadas no prontuário eletrônico (SISTEMA MV).

As variáveis laboratoriais como hemoglobina e creatinina séricas e resultados das culturas bacteriológicas de tecidos profundos foram retiradas do sistema eletrônico do laboratório do hospital. As informações coletadas nos resultados das culturas bacteriológicas foram: data da coleta, material coletado e isolamento das bactérias.

4.5 Análise estatística dos dados

Para as variáveis contínuas, foram apresentadas medidas de tendência central e de dispersão (média e desvio-padrão - DP), comparando grupos de interesse (amputação maior vs não amputação; amputação maior e óbito vs

amputação maior e não óbito) por meio do teste t de Student para variâncias iguais. Essa escolha foi feita tendo-se em vista não terem sido encontradas diferenças estatisticamente significativas entre as variâncias das medidas comparadas.

Para as variáveis categóricas foram calculadas proporções e feito o teste de qui-quadrado de Pearson ($n > 4$) ou teste de Fisher ($n < 5$) para comparar se havia associação entre amputação maior e características selecionadas; óbito e características selecionadas.

Foram obtidas ainda razão de chances (*odds ratio* - OR) não ajustadas, por meio de modelos de regressão logística univariados, em que a variável dependente foi amputação e óbito. As variáveis que obtiveram, nesses modelos univariados, valores de p inferiores a 0,20 foram candidatas a um modelo multivariado inicial composto de todas as variáveis com $p < 0,20$. Esses valores de p nos modelos univariados foram avaliados pelo teste de Wald. Após a obtenção do primeiro modelo, as variáveis foram sendo retiradas sequencialmente, de acordo com o teste da Hosmer e Lemeshow da Razão de Verossimilhança, que avalia a adequação dos modelos aninhados, ou seja, avalia se um modelo com menos variáveis tem ajuste igual ao do modelo com mais variáveis². O nível de significância adotado para esse teste foi de 5%. O modelo escolhido foi aquele com menos variáveis que não diferia do modelo imediatamente anterior (com mais variáveis), segundo o teste de Hosmer e Lemeshow. As ORs obtidas por esse modelo multivariado são chamadas de razão de chances (*odds ratio*) ajustadas.

Cabe observar que a estratégia de seleção de variáveis que devem permanecer nos modelos multivariados finais, ou seja, o modelo que o pesquisador detectou para melhor explicar seus dados, está sujeita a critérios que podem variar de uma área de conhecimento a outra. A abordagem estatisticamente mais usual e com mais aceitação entre os estatísticos é aquela que envolve a procura do modelo mais parcimonioso que explica os dados, ou seja, o modelo com menos variáveis. A razão para procurar o modelo mais parcimonioso é que ele será numericamente mais estável e mais facilmente generalizável a outros contextos (especialmente aqueles para os quais não se

² Disponível em: <http://www2.stat.duke.edu/~zo2/dropbox/goflogistic.pdf>.

dispõe da mesma gama de variáveis). O risco de se incluir no modelo todas as variáveis que são importantes do ponto de vista teórico ou clínico é que ele poderá ficar sobreajustado, o que é problemático em amostras pequenas e quando o evento que se deseja estudar tem probabilidade muito próxima de zero ou de um (HOSMER; LEMESHOW, 2000).

Foram apresentados valores de p para os testes de t de Student, qui-quadrado de Pearson e de Fisher. Para as ORs não ajustadas e ajustadas, foram apresentados intervalos de 95% de confiança e os valores de p . Valores de p inferiores a 5% ($p < 0,05$) foram considerados significativos; e inferiores a 10% ($p < 0,10$) foram considerados como apresentando significância limiar.

4.6 Considerações éticas

O projeto foi submetido à Câmara do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e ao Núcleo de Ensino, Pesquisa e Extensão (NEPE) do Hospital Risoleta Tolentino Neves. Em seguida, foi enviado ao Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (COEP) via Plataforma Brasil, tendo sido aprovado em 21 de outubro de 2014 (CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO PARA APRECIÇÃO ÉTICA - CAAE 33623414.6.0000.5149).

Como se trata de um estudo retrospectivo, foi solicitada a dispensa do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), visto a impossibilidade de contato com esses pacientes, pois endereços e telefones de contato dos mesmos mudam com muita frequência, além de não terem sequência no acompanhamento ambulatorial. Contudo, a confidencialidade das informações coletadas foi mantida, respeitando-se a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (CNS).

As informações e os dados coletados foram utilizados exclusivamente para os fins da pesquisa e a identidade dos pacientes foi mantida em total sigilo. Neste estudo, os riscos foram considerados mínimos para os participantes.

5 RESULTADOS

5.1 Estudo caso-controle 1: amputação maior vs não amputação

O número de pacientes que realizaram amputação maior foi de 141. Foi possível localizar a cultura bacteriológica de tecido profundo de 78 desses pacientes.

O total de pacientes que não realizaram amputação foi de 206, tendo sido excluídos 95 destes, por não ter sido possível localizar a cultura bacteriológica de tecido profundo, totalizando 111 pacientes analisados para o grupo-controle.

Na TAB. 1 estão apresentados os dados das variáveis estudadas referentes à amostra total e separadas por grupo com a comparação dos mesmos.

TABELA 1 - Comparação entre os grupos de pacientes do caso-controle 1 das diferentes variáveis estudadas

	Total (n=189)	Amputação maior (n=78)	Não amputação (n=111)	p
Idade em anos, média (DP)	61,9 (12,7)	63,8 (10,5)	60,6 (13,9)	0,0895
Sexo masculino n(%)	122 (64,6)	54 (69,2)	68 (61,3)	0,259
Maior nível de creatinina sérica, média (DP)	1,95 (1,8)	2,49 (2,4)	1,57 (1,1)	<0,001** *
Menor nível de hemoglobina sérica, média (DP)	8,93 (2,6)	7,35 (1,7)	10,0 (2,5)	<0,001***
Culturas realizadas por paciente n(%)				0,054
1 cultura	120 (63,5)	42 (53,9)	78 (70,3)	
2 culturas	43 (22,8)	21 (26,9)	22 (19,8)	
>2 culturas	26 (13,8)	15 (19,2)	11 (9,9)	
Pacientes com culturas positivas n(%)	164 (86,8)	68 (87,2)	96 (86,5)	0,890
Pacientes com cultura polimicrobiana n(%)	53 (28,0)	25 (32,1)	28 (25,2)	0,304
Pacientes com reinfecção n(%)	40 (21,2)	24 (30,8)	16 (14,4)	0,007**
Pacientes com reinternação n(%)	81 (42,9)	37 (47,4)	44 (39,6)	0,286
Mortalidade n(%)	30 (15,9)	18 (23,1)	12 (10,8)	0,023*

Notas: *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001; DP: desvio-padrão.

A média de idade dos participantes foi de 61,9 anos (DP 12,7) e 122 (64,6%) eram do sexo masculino.

O nível médio de creatinina sérica mais elevado durante qualquer internação foi 1,95 mg/dL (DP 1,8). O nível médio de hemoglobina sérica mais baixo durante qualquer internação foi de 8,93 g/dL (DP 2,6).

Quanto à internação, 57% dos pacientes foram internados apenas uma vez, enquanto 81 (42,9%) tiveram que ser internados mais de uma vez. A mortalidade hospitalar no período do estudo foi de 15,9%. Houve diferença estatisticamente significativa quanto à porcentagem de óbito entre os pacientes que realizaram amputação maior (23,1%) e os que não foram submetidos a alguma amputação (10,8%).

Dos 189 pacientes, 164 (86,8%) tiveram culturas positivas e 13% tiveram culturas negativas; 120 pacientes (63,5%) realizaram apenas uma cultura bacteriológica de tecido profundo, enquanto 43 (22,8%) realizaram duas culturas e 26 (13,8%), mais de duas culturas durante o período de internação considerado. Entre os 164 pacientes com culturas positivas, 72,0% mostraram o crescimento de apenas um microrganismo, enquanto 28,0% mostraram o crescimento de dois ou mais microrganismos. Reinfecção foi detectada em 40 pacientes (21,2%).

Os gêneros de bactérias isolados nas culturas bacteriológicas de tecido profundo desta amostra estão descritos na TAB. 2, comparando-se os grupos.

TABELA 2 - Comparação entre os grupos de pacientes do caso-controle 1 quanto aos gêneros de bactérias isoladas em culturas bacteriológicas de tecido profundo

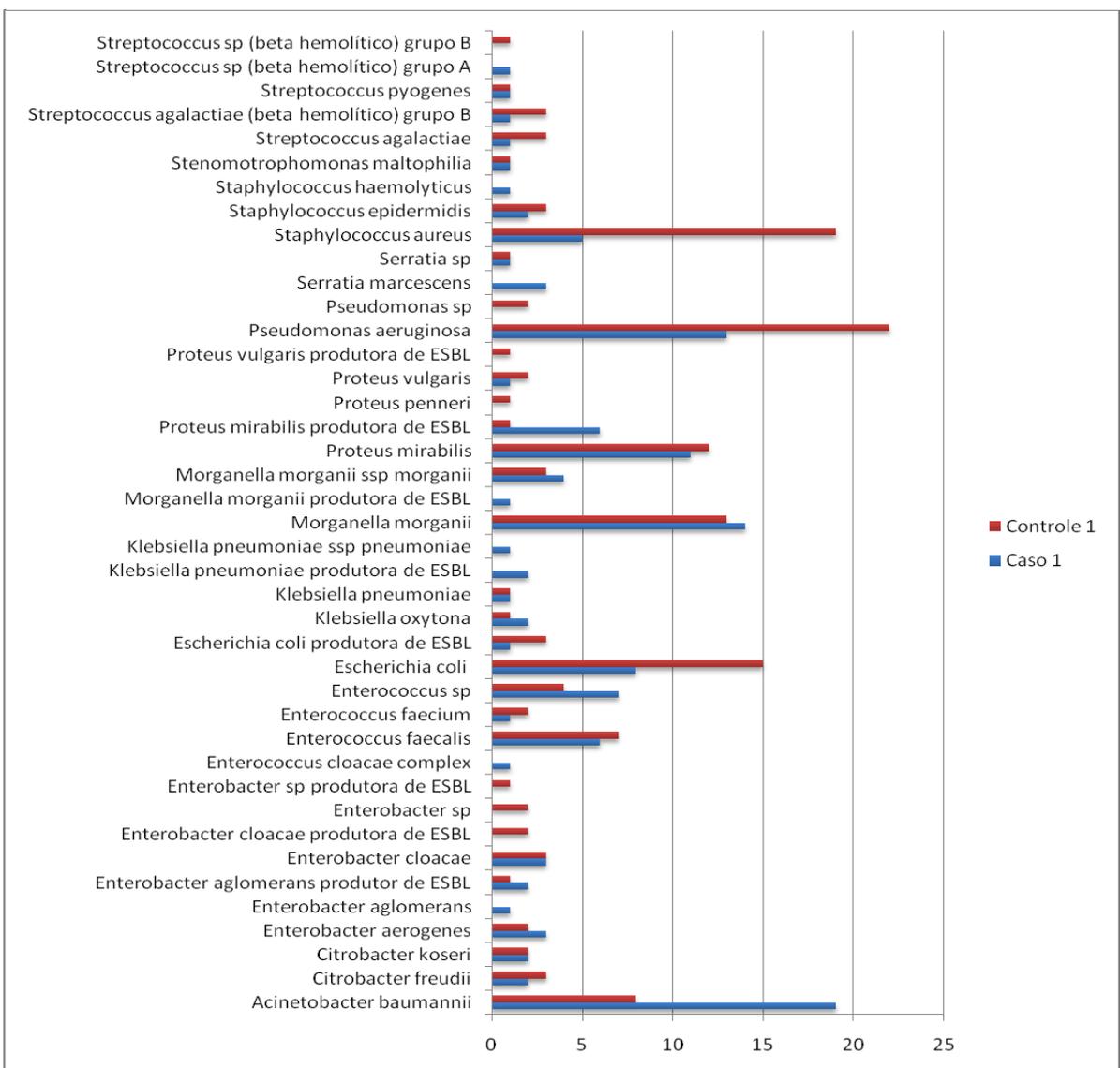
	Total (n=189)	Amputação maior (n=78)	Não amputação (n=111)	P
Gêneros Gram-positivos				
<i>Enterococcus spp.</i> n(%)	28 (14,8)	15 (19,2)	13 (11,7)	0,152
<i>Staphylococcus spp.</i> n(%)	30 (15,9)	8 (10,3)	22 (19,8)	0,077
<i>Streptococcus spp.</i> n(%)	12 (6,4)	4 (5,1)	8 (7,2)	0,764
Gêneros Gram-negativos				
<i>Acinetobacter spp.</i> n(%)	27 (14,3)	19 (24,4)	8 (7,2)	0,001**
<i>Citrobacter spp.</i> n(%)	9 (4,8)	4 (5,1)	5 (4,5)	0,999
<i>Escherichia spp.</i> n(%)	27 (14,3)	9 (11,5)	18 (16,2)	0,366
<i>Enterobacter spp.</i> n(%)	20 (10,6)	9 (11,5)	11 (9,9)	0,720
<i>Klebsiella spp.</i> n(%)	8 (4,2)	6 (7,7)	2 (1,8)	0,067
<i>Morganella spp.</i> n(%)	35 (18,5)	19 (24,4)	16 (14,4)	0,083
<i>Proteus spp.</i> n(%)	35 (18,5)	18 (23,1)	17 (15,3)	0,176
<i>Pseudomonas spp.</i> n(%)	37 (19,6)	13 (16,7)	24 (21,6)	0,398
<i>Serratia spp.</i> n(%)	5 (2,7)	4 (5,1)	1 (0,9)	0,094
<i>Stenotrophomonas spp.</i> n(%)	2 (1,1)	1 (1,3)	1 (0,9)	0,999

Notas: **p<0,01 . As frequências foram calculadas com base na amostra total de 189 pacientes.

As bactérias mais frequentes isoladas na amostra de pacientes com amputação maior foram *Acinetobacter spp.* (24,4%), *Morganella spp.* (24,4%), *Proteus spp.* (23,1%) e *Enterococcus spp.* (19,2%).

Todas as espécies de bactérias foram organizadas em um gráfico de frequência (GRÁF. 1). As espécies mais frequentes nas amostras dos pacientes que realizaram amputação maior (caso 1) foram, em ordem decrescente, *Acinetobacter baumannii*, *Morganella morganii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Proteus mirabilis*.

GRAFICO 1 - Distribuição de espécies de bactérias isoladas nas culturas microbiológicas de tecido profundo dos pacientes do caso-controle 1



Os dados da análise de regressão logística univariada das 23 variáveis descritas nas TAB. 1 e 2 estão apresentadas na TAB. 3.

TABELA 3 - Análise univariada das 23 variáveis clínicas, laboratórias e bacteriológicas dos pacientes do caso-controle 1

	Odds Ratio	95% Intervalo Confiança	P
Idade, por ano	1,02	0,99 – 1,05	0,091
Sexo masculino	0,70	0,38 – 1,30	0,260
Creatinina \geq 1,3 mg/dL	2,26	1,25 – 4,09	0,007**
Hemoglobina < 11 g/dL	0,55	0,46 – 0,67	<0,001***
Culturas positivas	1,06	0,45 – 2,51	0,890
Cultura polimicrobiana	1,40	0,74 – 2,65	0,305
Reinfecção	2,64	1,29 – 5,40	0,008**
Reinternação	1,37	0,77 – 2,47	0,287
Óbito	2,48	1,11 – 5,50	0,026
<i>Acinetobacter spp.</i>	4,15	1,71 – 10,05	0,002**
<i>Citrobacter spp.</i>	1,15	0,30 – 4,41	0,843
<i>Escherichia spp.</i>	0,67	0,29 – 1,59	0,368
<i>Enterococcus spp.</i>	1,79	0,80 – 4,02	0,156
<i>Enterobacter spp.</i>	1,19	0,47 – 3,01	0,720
<i>Klebsiella spp.</i>	4,54	0,89 – 23,13	0,068
<i>Morganella spp.</i>	1,91	0,91 – 4,01	0,086
<i>Proteus spp.</i>	1,66	0,79 – 3,47	0,179
<i>Pseudomonas spp.</i>	0,73	0,34 – 1,53	0,399
<i>Staphylococcus spp.</i>	0,46	0,19 – 1,10	0,081
<i>Serratia spp.</i>	5,95	0,65 – 54,26	0,114
<i>Stenotrophomonas spp.</i>	1,43	0,09 – 23,19	0,802
<i>Streptococcus spp.</i>	0,70	0,20 – 2,40	0,566

Notas: *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001.

Das 23 variáveis analisadas nas TAB. 1 e 2, cinco foram fatores preditores associados ao risco de amputação maior. Foram elas: níveis séricos de creatinina igual ou superior a 1,3 mg/dL, níveis séricos de hemoglobina abaixo de 11 g/dL, taxa de reinfecção e de óbito e isolamento de *Acinetobacter spp.* nas úlceras infectadas.

Por outro lado, o modelo logístico multivariado revelou que a amputação maior esteve independente e positivamente associada a níveis de hemoglobina sérica inferiores a 11 g/dL, a níveis de creatinina sérica igual ou acima de 1,3 mg/dL e isolamento em cultura de tecido profundo de *Acinetobacter spp.* e *Klebsiella spp.* (TAB. 4). Ressalta-se que cultura polimicrobiana e reinfecção não foram preditores de amputação maior.

TABELA 4 - Análise multivariada das variáveis associadas à amputação maior dos pacientes do caso-controle 1

	Odds Ratio	95% Intervalo de Segurança	P
Creatinina \geq 1,3 mg/dL	1,23	0,99 – 1,52	0,053
Hemoglobina $<$ 11 g/dL	20,5	4,30 – 97,4	$<$ 0,001
<i>Acinetobacter spp.</i>	3,32	1,25 – 8,77	0,016
<i>Klebsiella spp.</i>	9,82	0,96 – 100,7	0,054

5.2 Estudo caso-controle 2: amputação maior e óbito vs amputação maior e não óbito

O número de pacientes que realizaram amputação maior e evoluíram para óbito foi de 32. Foi possível localizar a cultura bacteriológica de tecido profundo de 18 desses pacientes.

O total de pacientes que realizaram amputação maior e que não evoluíram para óbito foi de 109, tendo sido excluídos 49 destes, por não ter sido possível localizar a cultura bacteriológica de tecido profundo, totalizando 60 pacientes analisados para o grupo-controle.

Na TAB. 5 estão apresentados os dados das variáveis estudadas referentes à amostra total e separadas por grupo com a comparação dos mesmos.

TABELA 5 - Comparação entre os grupos de pacientes do caso-controle 2 das diferentes variáveis estudadas

	Total (n=78)	Amputação maior e óbito (n=18)	Amputação maior e não óbito (n=60)	P
Idade, média (DP)	63,8 (10,5)	68,3 (11,4)	62,4 (9,9)	0,034*
Sexo masculino n(%)	54 (69,2)	11 (61,1)	43 (71,7)	0,395
Maior nível de creatinina sérica, média (DP)	2,49 (2,4)	3,65 (2,6)	2,14 (2,3)	0,019*
Menor nível de hemoglobina sérica, média (DP)	7,36 (1,7)	6,48 (1,7)	7,61 (1,6)	0,011*
Número de culturas realizadas por paciente n(%)				0,999
1 cultura	42 (53,9)	10 (55,6)	32 (53,3)	
2 culturas	21 (26,9)	5 (27,8)	16 (26,7)	
>2 culturas	15 (19,2)	3 (16,7)	12 (20,0)	
Número de pacientes com culturas positivas n(%)	68 (87,2)	17 (94,4)	51 (85,0)	0,438
Número de pacientes com cultura polimicrobiana n(%)	25 (32,1)	6 (33,3)	19 (31,7)	0,894
Número de pacientes com reinfecção n (%)	24 (30,8)	4 (22,2)	20 (33,3)	0,561
Número de pacientes com reinternação n (%)	37 (47,4)	8 (44,4)	29 (48,3)	0,772
Número de amputação maior n(%)				
Transtibial	46 (59,0)	6 (33,3)	40 (66,7)	0,010
Transfemoral	31 (39,7)	11 (61,1)	20 (33,3)	*
Desarticulação coxo-femoral	1 (1,3)	1 (5,6)	0 (0,0)	

Notas: *p<0,05; DP: desvio-padrão.

A média de idade dos participantes foi de 63,8 anos (DP 10,5) e 54 (69,2%) eram do sexo masculino.

O nível médio de creatinina sérica mais elevado durante qualquer internação foi 2,49 mg/dL (DP 2,4). O nível médio de hemoglobina mais baixo sérica durante qualquer internação foi de 7,36 g/dL (DP 1,7).

Aproximadamente 52,6% dos pacientes foram internados apenas uma vez, enquanto 37 (47,4%) tiveram que ser internados mais de uma vez. A amputação transtibial foi realizada em 59,0% dos pacientes e amputação transfemoral em 39,8%. Embora a maior parte dos pacientes (59,0%) tenha sido submetida à amputação transtibial, foi a amputação transfemoral que se associou ao óbito (p=0,010).

Dos 78 pacientes, 68 (87,2%) tiveram culturas positivas e 12,8% tiveram culturas negativas; 42 (53,9%) realizaram apenas uma cultura bacteriológica de tecido profundo, enquanto 21 (26,9%) procederam a duas culturas e 15 (19,2%) a mais de duas culturas durante o período de internação considerado. Entre os 68

pacientes com culturas positivas, 67,9% mostraram o crescimento de apenas um microrganismo, enquanto em 32,1% constatou-se o crescimento de dois ou mais microrganismos. Reinfecção foi registrada em 24 pacientes (30,8%).

Os gêneros de bactérias isolados nas culturas bacteriológicas de tecido profundo desta amostra estão descritos na TAB. 6, com a comparação entre os grupos.

TABELA 6 - Comparação entre os grupos de pacientes do caso-controle 2 quanto aos gêneros de bactérias isoladas em culturas bacteriológicas de tecido profundo

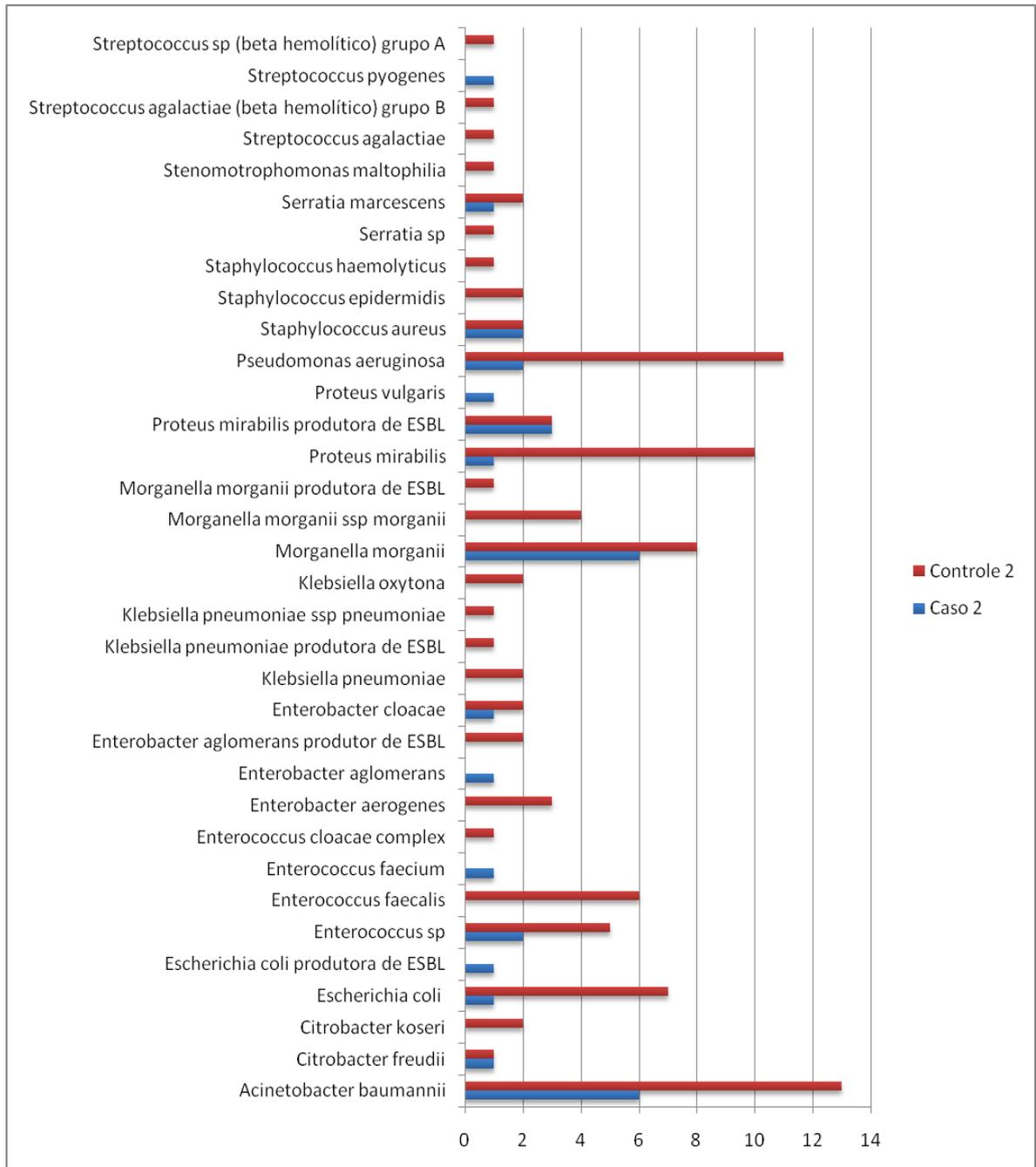
	Total (n=78)	Amputação maior e óbito (n=18)	Amputação maior e não óbito (n=60)	P
Gêneros Gram-positivos				
<i>Enterococcus spp.</i> n(%)	15 (19,2)	3 (16,7)	12 (20,0)	0,999
<i>Staphylococcus spp.</i> n(%)	8 (10,3)	2 (11,1)	6 (10,0)	0,999
<i>Streptococcus spp.</i> n(%)	4 (5,1)	1 (5,6)	3 (5,0)	0,999
Gêneros Gram-negativos				
<i>Acinetobacter spp.</i> n(%)	19 (24,4)	6 (33,3)	13 (21,7)	0,312
<i>Citrobacter spp.</i> n(%)	4 (5,1)	1 (5,6)	3 (5,0)	0,999
<i>Escherichia spp.</i> n(%)	9 (11,5)	2 (11,1)	7 (11,7)	0,999
<i>Enterobacter spp.</i> n(%)	9 (11,5)	2 (11,1)	7 (11,7)	0,999
<i>Klebsiella spp.</i> n(%)	6 (7,7)	0 (0,0)	6 (10,0)	0,327
<i>Morganella spp.</i> n(%)	19 (24,4)	6 (33,3)	13 (21,7)	0,312
<i>Proteus spp.</i> n(%)	18 (23,1)	5 (27,8)	13 (21,7)	0,589
<i>Pseudomonas spp.</i> n(%)	13 (16,7)	2 (11,1)	11 (18,3)	0,721
<i>Serratia spp.</i> n(%)	4 (5,1)	1 (5,6)	3 (5,0)	0,999
<i>Stenotrophomonas spp.</i> n(%)	1 (1,3)	0 (0,0)	1 (1,7)	0,999

Nota: As frequências foram calculadas com base na amostra total de 78 pacientes.

As bactérias mais frequentes isoladas na amostra de pacientes com amputação maior e que evoluíram para óbito foram *Acinetobacter spp.* (33,3%), *Morganella spp.* (33,3%) e *Proteus spp.* (27,8%).

Todas as espécies de bactérias foram organizadas em um gráfico de frequência (GRÁF. 2). As espécies mais frequentes nas amostras dos pacientes que realizaram amputação maior e evoluíram para óbito (caso 2) foram, em ordem, *Acinetobacter baumannii* e *Morganella morgani*.

GRAFICO 2 - Distribuição de espécies de bactérias isoladas nas culturas microbiológicas de tecido profundo dos pacientes do cas-controle 2



Os dados da análise de regressão logística univariada das 23 variáveis descritas nas TAB. 5 e 6 estão apresentados na TAB. 3.

TABELA 7 - Análise univariada das 23 variáveis clínicas, laboratoriais e bacteriológicas dos pacientes do caso-controle 2

	Odds Ratio	95% Intervalo Confiança	P
Idade, por ano	1,06	1,00 – 1,12	0,040*
Sexo masculino	1,60	0,53 – 4,84	0,397
Creatinina ≥ 1,3 mg/dL	15,9	1,99 – 127,2	0,009*
Hemoglobina < 11 g/dL	0,63	0,43 – 0,92	0,015*
Culturas positivas	3,00	0,35 – 25,44	0,314
Cultura polimicrobiana	1,08	0,35 – 3,31	0,894
Taxa de reinfecção	0,57	0,17 – 1,96	0,374
Reinternação	0,86	0,29 – 2,46	0,772
Amputação transfemoral	3,67	1,18 – 11,35	0,024*
<i>Acinetobacter spp.</i>	1,80	0,57 – 5,75	0,316
<i>Citrobacter spp.</i>	1,12	0,11 – 11,45	0,925
<i>Escherichia spp.</i>	0,95	0,18 – 5,02	0,948
<i>Enterococcus spp.</i>	0,80	0,20 – 3,22	0,753
<i>Enterobacter spp.</i>	0,95	0,18 – 5,02	0,948
<i>Klebsiella spp.</i>	0,33	0,20 – 0,57	<0,001****
<i>Morganella spp.</i>	1,81	0,57 – 5,75	0,316
<i>Proteus spp.</i>	1,39	0,42 – 4,62	0,590
<i>Pseudomonas spp.</i>	0,56	0,11 – 2,78	0,476
<i>Staphylococcus spp.</i>	1,13	0,21 – 6,13	0,892
<i>Serratia spp.</i>	1,12	0,11 – 11,45	0,925
<i>Stenotrophomonas spp.</i>	0,31	0,18 – 0,52	<0,001***
<i>Streptococcus spp.</i>	1,12	0,11 – 11,45	0,925

Notas: *p<0,05; ***p<0,001.

Das 23 variáveis analisadas nas TAB. 5 e 6, seis variáveis foram fatores preditores associados ao risco de óbito. Foram elas: idade, níveis de creatinina igual ou acima de 1,3 mg/dL, níveis de hemoglobina inferior a 11 g/dL, amputação transfemoral e isolamento de *Klebsiella spp.* e *Stenotrophomonas spp.* nas úlceras infectadas.

Por outro lado, o modelo logístico multivariado revelou que o óbito esteve independente e positivamente associado a níveis de creatinina sérica igual ou superior a 1,3 mg/dL e amputação transfemoral. Ressalta-se que isolamento de gêneros de bactérias, cultura polimicrobiana e reinfecção não foram preditores de óbito.

TABELA 8 - Análise multivariada das variáveis associadas ao óbito dos pacientes do caso-controle 2

	Odds Ratio	95% Intervalo de Segurança	P
Creatinina ≥ 1,3 mg/dL	17,8	2,12 – 149,5	0,008
Amputação transfemoral	4,55	1,32 – 15,7	0,016

6 DISCUSSÃO

Neste trabalho, realizou-se estudo caso-controle para verificar se o perfil microbiológico encontrado nas culturas de tecidos profundos de pacientes com pé diabético e com úlceras infectadas estaria associado a risco aumentado de amputação maior e de óbito.

Analisaram-se os possíveis fatores de risco associados à amputação maior (caso) comparado aos pacientes que não realizaram amputação (controle). Houve diferença significativa ($p=0,023$) quanto à porcentagem de óbito entre esses dois grupos, sendo a mortalidade hospitalar mais elevada entre os que realizaram amputação maior (23,1%). A mortalidade hospitalar geral desses pacientes foi de 15,9%. Este resultado foi semelhante aos encontrados por outros autores, uma vez que se trata de doença avançada grave (HOBIZAL; WUKICH, 2012; IVERSEN *et al.*, 2009; MARTINS-MENDES *et al.*, 2014; MOULIK; MTONGA; GILL, 2003).

A mortalidade nesses pacientes é provavelmente elevada devido às diversas comorbidades e complicações que esses pacientes apresentam, como doença cardíaca, doença coronariana, doença cerebrovascular, insuficiência renal, insuficiência respiratória e doença arterial periférica.

Decidiu-se, dessa forma, estudar os fatores de risco para óbito nos pacientes que realizaram amputação maior. Portanto, o segundo caso-controle comparou pacientes que realizaram amputação maior e evoluíram para óbito (caso) e pacientes que realizaram amputação maior e sobreviveram (controle).

Tem-se observado frequência maior de bactérias Gram-negativas isoladas em úlceras de pacientes pé diabéticos em estudos realizados recentemente, como na Turquia: 61,3% das amostras estudadas (TURHAN *et al.*, 2013); na Índia: 68,3% (TIWARI *et al.*, 2012) e 75,6% das amostras estudadas (BANU *et al.*, 2015); no Mato Grosso do Sul: 62,5% das amostras (BRASILEIRO *et al.*, 2005); no Ceará: 59,4% das amostras (CARVALHO *et al.*, 2003); em Santa Catarina: 47% das amostras estudadas (OLIVEIRA; OLIVEIRA FILHO, 2014).

Neste estudo o isolamento de bactérias Gram-negativas também foi mais frequente e a família das *Enterobacteriaceae* (*Citrobacter spp.*, *Escherichia spp.*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Morganella spp.*, *Proteus spp.*, *Serratia spp.*)

se destacou em ambos os resultados. Este resultado foi descrito também por Carvalho *et al.* (2003) e Oliveira e Oliveira Filho (2014).

No estudo caso-controle 1, *Acinetobacter spp.* (24,4%), *Morganella spp.* (24,4%), *Proteus spp.* (23,1%) e *Enterococcus spp.* (19,2%) foram os gêneros mais frequentemente identificados e *Acinetobacter baumannii*, *Morganella morganii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Proteus mirabilis* foram as espécies mais isoladas nas culturas dos pacientes que realizaram amputação maior.

No estudo caso-controle 2, *Acinetobacter spp.* (33,3%), *Morganella spp.* (33,3%) e *Proteus spp.* (27,8%) foram os gêneros mais frequentemente identificados e *Morganella morganii* e *Acinetobacter baumannii*, em quantidades iguais, foram as espécies mais isoladas nas culturas dos pacientes que realizaram amputação maior e evoluíram para óbito.

Carvalho *et al.* (2004) também referiram, em sua amostra, isolamento de 19,9% da espécie *Morganella morganii*. E Oliveira e Oliveira Filho (2014) também enfatizaram isolamento de 10,6% da espécie *Acinetobacter baumannii*.

Em contrapartida, Martins *et al.* (2010), Aragão *et al.* (2010) e Ohki *et al.* (2010) relataram que em suas amostras as bactérias Gram-positivas foram mais predominantes em úlceras infectadas em pé diabético e que o *Staphylococcus aureus* foi a bactéria mais frequente. Entretanto, nesta pesquisa, nos resultados das culturas das úlceras de pacientes com pé diabético que realizaram amputação maior, o *Staphylococcus aureus* apareceu apenas na nona posição das espécies mais isoladas. E nos resultados das culturas das úlceras de pacientes com pé diabético que realizaram amputação maior e evoluíram para óbito, o *Staphylococcus aureus* apareceu na quarta posição das espécies mais isoladas, junto com *Enterococcus spp.* e *Pseudomonas aeruginosa*.

O isolamento dos gêneros *Klebsiella spp.* e *Acinetobacter spp.* foi fator de risco para amputação maior. E nenhum gênero de bactéria isolada associou-se a óbito, porém este resultado poderia ser devido ao reduzido número da amostra deste estudo caso-controle.

Os gêneros *Klebsiella spp.* e *Acinetobacter spp.* são patógenos associados a infecções nosocomiais. Essas bactérias são consideradas patógenos oportunistas e causam quadros de infecção, principalmente em paciente com baixa imunidade ou que foram submetidos a procedimentos invasivos, característica dos pacientes estudados. Além disso, esses patógenos podem

desenvolver mecanismos de resistência a antimicrobianos, o que dificulta o tratamento da infecção e, por conseguinte, pode conduzir à amputação (MARTINS; BARTH, 2013; SCARPATE; COSSATIS, 2009).

Em ambos os trabalhos, 87% dos pacientes tiveram culturas positivas de tecido profundo para bactérias. O não isolamento de bactérias foi observado em 13% dos pacientes. Resultados semelhantes foram encontrados por Brasileiro *et al.* (2005) e Aragão *et al.* (2010), ambos com 12,5% de culturas negativas, e Fernandes, Pimenta e Fernandes (2007), com 12% de culturas negativas. O resultado microbiológico das culturas pode ser alterado caso o paciente faça uso de antibacteriano antes da coleta do material biológico. Nestes casos, o resultado pode ser negativo, o que mascara o real resultado (ARAGÃO *et al.*, 2010; TURHAN *et al.*, 2013). Deve-se ressaltar que muitos desses pacientes recebem tratamento prévio com antibacteriano em outras unidades de saúde.

Nesta investigação, prevaleceram culturas monomicrobianas, assim como observado por outros autores (ARAGÃO *et al.*, 2010; AZIZ *et al.* 2011; BANU *et al.*, 2015; HADADI *et al.*, 2014; OHKI *et al.*, 2010). Outros estudos afirmaram que a infecção nos pés diabéticos é de natureza polimicrobiana (CARVALHO *et al.*, 2004; FERNANDES; PIMENTA; FERNANDES, 2007; JORGE *et al.*, 1999). Alguns fatores podem ter contribuído para o resultado deste estudo. Nas úlceras com pouco tempo de evolução ou superficiais ou com o menor grau de necrose, tende a prevalecer o isolamento monomicrobiano (BANU *et al.*, 2015). Como se trata de estudo retrospectivo, não se encontrou no prontuário eletrônico do paciente o tempo de evolução da úlcera.

Outro fator importante é o método de coleta do material. Uma coleta adequada seria a de tecidos profundos livres de contaminação ou de necrose. Coletas de tecidos superficiais podem reduzir o número de patógenos isolados (OLIVEIRA; OLIVEIRA FILHO; 2014). Treinamento periódico da equipe que realiza a coleta pode ser alternativa para padronizar a coleta adequada e obter resultados seguros.

O uso de antibacteriano pelos pacientes antes da coleta da amostra pode também influenciar no resultado laboratorial, pois bactérias sensíveis ao tratamento prévio podem ser eliminadas, com isolamento de bactérias resistentes (BANU *et al.*, 2015).

Por fim, deve ser considerada a limitação do laboratório de microbiologia que não realizou a cultura para anaeróbios. Bactérias anaeróbias estão presentes em 15% das infecções graves de úlceras em pé diabéticos (CARVALHO *et al.*, 2004).

Neste estudo, cultura polimicrobiana não se mostrou fator de risco para amputação maior e para óbito, visto que, como demonstrado, a maioria das culturas foi monomicrobiana (entre 72 e 68% nos dois trabalhos).

A taxa de reinfecção compreendeu 20 a 30% dos casos. A reinfecção não se mostrou fator de risco para amputação maior e para óbito. Os pacientes que realizaram amputação maior tiveram taxa de reinfecção de 30,8% e nos que não realizaram amputação a taxa foi de 14,4% ($p=0,007$). Considerando que foi analisado somente material biológico coletado no período da internação em que se realizou a amputação maior, pode-se inferir que as reinfecções foram adquiridas no ambiente hospitalar, podendo associar-se à contaminação por equipamentos hospitalares ou pelas mãos colonizadas da equipe profissional que tem contato direto com o paciente.

Além do perfil microbiológico, identificaram-se outros fatores associados à amputação maior e ao óbito.

O nível de hemoglobina sérica abaixo de 11 g/dL foi um fator de risco para amputação maior. Os pacientes com nível de hemoglobina sérica abaixo de 11 g/dL tiveram risco de amputação 20,47 vezes maior comparado aos que não realizaram amputação. Este resultado também foi referenciado na literatura (AZIZ *et al.*, 2011). Estudo prospectivo e multicêntrico realizado por Desormais *et al.* (2014) observou que 50,9% dos seus pacientes com anemia tinham risco considerável para realizar amputação maior e evoluir para óbito. Acredita-se que a associação da anemia com amputação maior atribua-se à diminuição da oxigenação nos tecidos, o que pode levar a dificuldades na cura e controle da infecção das úlceras.

O nível de creatinina sérica igual ou acima de 1,3 mg/dL foi um fator de risco para amputação maior e óbito. Pacientes com esse nível de creatinina sérica tiveram risco de amputação 1,23 vez maior quando comparados aos que não realizaram amputação. E o risco de óbito foi 17,79 vezes maior quando comparados aos pacientes que realizaram amputação maior e sobreviveram. Em estudo conduzido por Shojaiefard, Khorgami e Larijani (2008) também se obteve

como fator de risco para amputação em pacientes diabéticos com úlceras nos pés a nefropatia diabética. A úlcera nos pés é considerada uma das principais causas de morbidade em pacientes com nefropatia diabética. São encontradas duas vezes mais em pacientes diabéticos com nefropatia quando comparados aos demais pacientes diabéticos. Esses pacientes possuem risco de amputação aumentado de 6,5 a 10 vezes, uma vez que o tempo de cicatrização da úlcera é prolongado com o aumento da creatinina sérica. Além disso, a mortalidade está associada à gravidade da nefropatia diabética (AKHA; KASHI; MAKHLOUGH, 2010).

A amputação transfemoral foi identificada como fator de risco para óbito. Dos 39,7% pacientes que realizaram amputação no nível coxa, 61,1% evoluíram para óbito. Esses pacientes apresentaram risco de óbito 4,55 vezes maior quando comparados aos que se submeteram à amputação transtibial. O paciente diabético tem risco 15 a 40 vezes maior de se submeter à amputação que o indivíduo não diabético. Pacientes que realizaram amputações em coxa manifestam doenças sistêmicas graves, tais como insuficiência cardíaca, doença arterial coronariana, doença cerebrovascular, insuficiência renal e doença pulmonar obstrutiva crônica, entre outras. Desta forma, cursam com alta mortalidade (SANTOS; SILVEIRA; CAFFARO, 2006).

Nas amostras estudadas, destacou-se o sexo masculino em 64,6% no caso-controle 1 e em 69,2% no caso-controle 2. Em ambos os estudos caso-controle, não houve diferença estatisticamente significativa quanto ao sexo ($p > 0,05$). Vários autores descreveram maior prevalência do sexo masculino em pacientes com pé diabético (ARAGÃO *et al.*, 2010; BRASILEIRO *et al.*, 2005; HADADI *et al.*, 2014; JORGE *et al.*, 1999). Essa maior frequência pode ser justificada porque homens tendem a ter menos cuidado com sua saúde em relação às mulheres. Quando procuram o atendimento médico, as úlceras geralmente já se encontram em estágio avançado (ASSUMPÇÃO *et al.*, 2009).

Os pacientes apresentaram média de idade superior a 60 anos em ambos os estudos caso-controle. Esse dado também foi reportado por outros autores (HADADI *et al.*, 2014; OLIVEIRA; OLIVEIRA FILHO, 2014). Houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) quanto à média de idade entre os pacientes que realizaram amputação maior e evoluíram para óbito (68,3 anos, DP 11,4) e os que realizaram amputação maior e sobreviveram (62,4 anos, DP 9,9). Idade

avançada tem sido considerada um fator de risco para aumento de mortalidade hospitalar em pacientes com amputação maior precedida por úlceras nos membros inferiores (MOULIK; MTONGA; GILL, 2003).

Os pacientes apresentaram taxa de reinternação de 42,9 e de 47,4% nos casos-controles 1 e 2, respectivamente. Isso pode significar uma falha conjuntural do sistema de saúde, que é incapaz de cuidar desses pacientes graves por meio de providências simples como curativos, que inibem a reinfecção, além do controle clínico das doenças crônico-degenerativas, e evitar que voltem ao hospital. Após alta hospitalar, é fundamental que o paciente mantenha o cuidado adequado de suas úlceras nos pés, buscando a cicatrização da ferida e evitando novas infecções ou infecções recorrentes e, portanto, novas internações. Na maior parte dos casos, o paciente retorna à instituição em consequência à complicação infecciosa da úlcera, principalmente relacionada ao coto da amputação (BRASILEIRO *et al.*, 2005). Contudo, essa elevada taxa de reinternação não foi associada à amputação maior e ao óbito.

Embora existam vários protocolos para terapia empírica de úlcera infectada em pé diabético, deve-se considerar o perfil microbiológico dos pacientes atendidos na instituição para a escolha do tratamento antibacteriano (OLIVEIRA; OLIVEIRA FILHO, 2014). A determinação das bactérias mais prevalentes pode guiar o médico a um tratamento mais adequado principalmente para os pacientes com infecções mais graves.

A identificação do microrganismo infectante na úlcera leva ao tratamento adequado, diminui a permanência do paciente no hospital (ARAGÃO *et al.*, 2010) e reduz os custos hospitalares com esses indivíduos. Além disso, o tratamento adequado reduz a taxa de amputação, o que significa também redução dos gastos hospitalares com esses pacientes e preservação da qualidade de vida do mesmo (OLIVEIRA; OLIVEIRA FILHO, 2014).

Este estudo teve algumas limitações. Primeiro, a falta de alguns dados era inevitável, o que é considerado próprio dos estudos retrospectivos. Dado importante como tempo de evolução da úlcera não foi coletado. Em segundo lugar, excluíram-se pacientes nos quais não foi possível recuperar a cultura bacteriológica de tecido profundo. Outro fato relevante foi a limitação do laboratório em realizar culturas de anaeróbios. Além disso, muitas coletas de

tecidos foram realizadas em pacientes que poderiam estar em uso de antibacterianos previamente à internação.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Hospital Risoleta Tolentino Neves é uma instituição totalmente inserida na rede pública de saúde e responsável pela assistência aos pacientes de urgência clínica e cirúrgica, traumatológica e não traumatológica (HRTN, 2015). É vinculado à Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)/Fundação de Desenvolvimento da Pesquisa (FUNDEP) e atua como hospital-escola para os alunos de graduação e pós-graduação da área da saúde da Universidade (FUNDEP, 2015). Têm-se realizado muitos estudos clínicos em suas dependências, particularmente na área vascular.

Por meio de um estudo do Serviço da Cirurgia Vascular no HRTN foi possível analisar o perfil dos pacientes atendidos e realizar algumas modificações para melhorar o atendimento. Uma dessas modificações foi a adoção da classificação Wlfl para avaliação da úlcera, isquemia e infecção do membro de pacientes com pé diabético.

Em breve será iniciado estudo prospectivo para conseguir dados clínicos e microbiológicos mais precisos e completos, que poderão melhorar a abordagem desses pacientes e contribuir para tratamento mais adequado das úlceras infectadas no pé diabético, seja tratamento empírico ou guiado por culturas.

8 CONCLUSÕES

- a) Os gêneros *Acinetobacter spp.*, *Morganella spp.*, *Proteus spp.* e *Enterococcus spp.* foram mais frequentes em pacientes que realizaram amputação maior.
- b) As espécies mais frequentes em pacientes que realizaram amputação maior foram *Acinetobacter baumannii*, *Morganella morganii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Proteus mirabilis*.
- c) Os gêneros *Acinetobacter spp.*, *Morganella spp.* e *Proteus spp.* foram mais frequentes em pacientes que realizaram amputação maior e evoluíram ao óbito.
- d) As espécies mais frequentes em pacientes que realizaram amputação maior foram *Acinetobacter baumannii* e *Morganella morganii*.
- e) Os gêneros *Acinetobacter spp.* e *Klebsiella spp.*, níveis de creatinina sérica $\geq 1,3$ mg/dL e hemoglobina > 11 g/dL associaram-se à amputação maior.
- f) Os níveis de creatinina sérica $\geq 1,3$ mg/dL e amputação transfemoral associaram-se a óbito.
- g) Nenhum gênero de bactéria isolado associou-se a óbito.
- h) Culturas polimicrobianas não se associaram à amputação maior e a óbito.
- i) Reinfecção de úlcera em pé diabético não se associou à amputação maior e a óbito.

REFERÊNCIAS

AKHA O.; KASHI Z.; MAKHLOUGH, A. Correlation between amputation of diabetic foot and nephropathy. **Iranian Journal of Kidney Diseases**, Iran, v. 4, n.1, p.27-31, 2010.

AMARAL JÚNIOR, A.H.A. *et al.* Prevenção de lesões de membros inferiores e redução da morbidade em pacientes diabéticos. **Rev Bras Ortop**, v. 49, n. 5, p. 482-487, 2014.

ARAGÃO, M.L. *et al.* Perfil microbiológico e desfechos clínicos de úlceras em pé de diabéticos internados. **RBPS**, Fortaleza, v. 23, n. 3, p. 231-236, 2010.

ASSUMPÇÃO, E.C. *et al.* Comparação dos fatores de risco para amputações maiores e menores em pacientes diabéticos de um Programa de Saúde da Família. **J Vasc Br**, v. 8, n. 2, p.133-138, 2009.

AZIZ, Z. *et al.* Predictive factors for lower extremity amputations in diabetic foot infections. **Diabetic Foot & Ankle**, v. 2, n. 7463, p. S1-S6, 2011.

BARONE, B. *et al.* Cetoacidose Diabética em Adultos – Atualização de uma Complicação Antiga. **Arq Bras Endocrinol Metab**, Rio de Janeiro, RJ, v. 51, n. 9, p. 1434-1447, 2007.

BANU, A. *et al.* Spectrum of bacteria associated with diabetic foot ulcer and biofilm formation: A prospective study. **Aus Med J**, v. 8, n. 9, p. 280-285, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal. **Consenso Internacional sobre Pé Diabético**. Brasília: Ministério da Saúde, 2001.

BRASILEIRO, J.L. *et al.* Pé diabético: aspectos clínicos. **J Vasc Br**, v. 4, n. 1, p. 11-21, 2005.

CARVALHO, C.B.M. *et al.* Pé diabético: análise bacteriológica de 141 casos. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 48, n. 3, p. 348-405, 2004.

DESORMAIS, I. *et al.* Anemia, an independent predictive factor for amputation and mortality in patients hospitalized for peripheral artery disease. **Eur J Vasc Endovasc Sur**, v. 48, n. 2, p. 202-207, 2014.

DIB, S.A.; TSCHIEDEL, B.; NERY, M. Diabetes melito tipo 1: da pesquisa à clínica. **Arq Bras Endocrinol Metab** São Paulo, SP, v. 52, n. 2, p. 143-145, 2008.

FERNANDES, L.F.; PIMENTA, F.C.; FERNANDES, F.F. Isolamento e perfil de suscetibilidade de bactérias de pé diabético e úlcera de estase venosa de pacientes admitidos no pronto-socorro do principal hospital universitário do estado de Goiás, Brasil. **J Vasc Br**, v. 6, n. 3, p. 211-217, 2007.

FERREIRA, L.T. *et al.* Diabetes melito: hiperglicemia crônica e suas complicações. **Arq Bras Ciênc Saúde**, Santo André, SP, v. 36, n. 3, p. 182-188, 2011.

FOSS-FREITAS, M.C.; MARQUES JÚNIOR, W.M.; FOS, M.C. Neuropatia Autonômica: Uma Complicação de Alto Risco no Diabetes Melito Tipo 1 **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 52, n. 2, p. 398-406, 2008.

FUNDAÇÃO DE DESENVOLVIMENTO DA PESQUISA. FUNDEP. Disponível em: <<http://www.fundep.ufmg.br/cmi/pagina.aspx?975>>. Acesso em: 05 de setembro de 2015.

GAGLIARDI, A.R.T. Neuropatia diabética periférica. **J Vasc Br**, v. 2, n. 1, p. 67-74, 2003.

HADADI, A. *et al.* Diabetic foot: infections and outcomes in iranian admitted patients. **Jundishapur J Microbiol**, v. 7, n. 7, p. 1-4, 2014.

HINGORANI, A. *et al.* The management of diabetic foot: A clinical practice guideline by the Society for Vascular Surgery in collaboration with the American Podiatric Medical Association and the Society for Vascular Medicine. **J Vasc Sur**, v. 63, n. 25, p. 3S-21S, 2016.

HOBIZAL, K.B.; WUKICH, D.K. Diabetic foot infections: current concept review. **Diabetic Foot & Ankle**, v. 3, n. 18409, p. S1-S8, 2012.

HOSMER, D.W.; LEMESHOW, S. Model-building strategies and methods for logistic regression referência. *In*: HOSMER, D.W.; LEMESHOW, S. **Applied logistic regression**. 2. ed., Cap. 4, p. 91-142, New York: John Willey and Sons, 2000.

HOSPITAL RISOLETA TOLENTINO NEVES. HRTN. Disponível em: <http://www.hrtn.fundep.ufmg.br/index.php?option=com_content&task=blogsection&id=6&Itemid=86>. Acesso em: 05 de setembro de 2015.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. IDF. **Atlas**. 7. edição, 2015. Disponível em: <[file:///C:/Users/NATY/Downloads/IDF_Atlas%202015_UK%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/NATY/Downloads/IDF_Atlas%202015_UK%20(1).pdf)>. Acesso em: 17 de abril de 2016.

INTERNATIONAL WORKING GROUP ON THE DIABETIC FOOT. IWGDF. Guía práctica y específica para el tratamiento y la prevención del pie diabético (traducción español). **Practical Guidelines 2011**. Disponível em: <<http://iwgdf.org/map-es/>> Acesso em: 03 de fevereiro de 2016.

IVERSEN, M.M. *et al.* History of foot ulcer increases mortality among individuals with diabetes. **Diabetes Care**, v. 32, n. 12, p. 2193-2199, 2009.

JORGE, B.H. *et al.* Análise clínica e evolução de 70 casos de lesões podais infectadas em pacientes diabéticos. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 43, n. 5, p. 366-372, 1999.

JOSEPH, W.S.; LIPSKY, B.A. Medical therapy of diabetic foot infections. **J Vasc Sur**, v. 52, n. 12S, p. 67S-71S, 2010.

KLAFKE, A. *et al.* Mortalidade por complicações agudas do diabetes melito no Brasil, 2006-2010. **Epidemiol Serv Saúde**, Brasília, v. 23, n. 3, p. 455-462, 2014.

KORZON-BURAKOWSKA, A.; DZIEMIDOK, P. Diabetic foot: the need for comprehensive multidisciplinary approach. **Ann Agric Environ**, v. 18, n. 2, p. 314-317, 2011.

MARINHO, N.B.P. *et al.* Diabetes mellitus: fatores associados entre usuários da estratégia saúde da família. **Acta Paul de Enferm**, v. 25, n. 4, p. 595-600, 2012.

MARTINS, A.F.; BARTH, A.L. *Acinetobacter* multirresistente: um desafio para a saúde pública. **Sci Med**, v. 23, n. 1, p. 56-62, 2013.

MARTINS, M.A. *et al.* Ulcera crônica de perna de pacientes em tratamento ambulatorial: análise microbiológica e de suscetibilidade antimicrobiana. **Cienc Cuid Saúde**, v. 9, n. 3, p. 464-470, 2010.

MARTINS-MENDES, D. *et al.* The independent contribution of diabetic foot ulcer on lower extremity amputation and mortality risk. **J Diab Complic**, v. 28, n. 5, p. 632-638, 2014.

MILLS, J.L. *et al.* The society for vascular surgery lower extremity threatened limb classification system: risk, stratification based on wound, ischemia, and foot infection (WIFI). **J Vasc Surg**, v. 59, n. 1, p. 220-234, 2014.

MOULIK P.K.; MTONGA, R.; GILL GV. Amputation and mortality in new-onset diabetic foot ulcers stratified by etiology. **Diabetes Care**, v. 26, n. 2, p. 491-494, 2003.

NEVES, J. *et al.* O pé diabético com infecção aguda: tratamento no Serviço de Urgência em Portugal. **Rev Port Cir**, Lisboa, v. 27, p. 19-36, 2013.

NORGREN, L. *et al.* Inter-society consensus for the management of peripheral arterial disease (TASC II). **Eur J Vasc Endovasc Sur**, v. 33, n. 1, p. S1-S75, 2007.

OCHOA-VIGO, K.; PACE, A.E. Pé diabético: estratégias para prevenção. **Acta Paul de Enferm**, v. 18, n. 1, p. 100-109, 2005.

OHKI, A.V. *et al.* Perfil microbiológico nas infecções profundas do pé diabético. **Arq Med Hosp Fac Cienc Med Santa Casa São Paulo**, v. 55, n. 1, p. 15-17, 2010.

OLIVEIRA, A.F.; OLIVEIRA FILHO, H. Perfil microbiológico e de resistência antimicrobiana no pé diabético infectado. **J Vasc Br**, v. 13, n.4, p. 289-293, 2014.

OLIVEIRA, J.E.P.; VENCIO, S. (org.). **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes: 2013-2014**. Sociedade Brasileira de Diabetes. São Paulo: AC Farmacêutica, 2014.

PASQUALOTTO, K.R.; ALBERTON, D.; FRIGERI, H.R. Diabetes mellitus e Complicações. **J Biotec Biodivers**, Ponta Grossa, PR, v. 3, n.4, p. 134-145, 2012.

PINHEIRO, D.S. *et al.* Avaliação do nível de controle glicêmico dos pacientes diabéticos tipo 2 atendidos em um Hospital Universitário. **Rev Universidade Vale do Rio Verde**, Três Corações, v. 10, n. 2, p. 03-11, 2012.

SANTOS, I.C.R.V. Fatores associados a amputações por pé diabético. **J Vasc Bras**, v. 14, n. 1, p. 37-45, 2015.

SANTOS, V.P.; SILVEIRA, D.R.; CAFFARO, R.A. Risk factors for primary major amputation in diabetic patients. **São Paulo Med J**, v. 124, n. 2, p. 66-70, 2006.

SCARPATE, E.C.B.; COSSATIS, J.J. A presença da *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -lactamase de espectro estendido no ambiente hospitalar. **Saúde Amb Rev**, v. 4, n. 1, p. 1-11, 2009.

SHOJAIEFARD, A.; KHORGAMI, Z.; LARIJANI, B. Independent risk factors for amputation in diabetic foot. **Int J Diabetes Dev Ctries**, v. 28, n. 2, p. 32-37, 2008.

SISTEMA MV. Disponível em: <<http://www.mv.com.br/pt/blog/como-as-informacoes-do-pep-podem-contribuir-para-o-modelo-assistencial-na-saude>>. Acesso em: 03 de fevereiro de 2016.

SPICHLER, A. *et al.* Microbiology of diabetic foot infections: from Luis Pasteur to 'crime scene investigation'. **BMC Medicine**, v. 13, n. 2, p. 1-13, 2015.

TIWARI, S. *et al.* Microbiological and clinical characteristics of diabetic foot infections in northern India. **J Infect Dev Ctries**, v. 6, n. 4, p. 329-332, 2012.

TRINCHES, C. *et al.* Condições macrovasculares do diabetes melito: peculiaridades clínicas, de diagnóstico e manejo. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 53, n. 6, p. 698-708, 2009.

TURHAN, V. *et al.* Increasing incidence of Gram-negative organisms in bacterial agents isolated from diabetic foot ulcers. **J Infect Dev Ctries**, v. 7, n. 10, p. 707-712, 2013.

YUSUF, N. *et al.* In-vitro diagnosis of single and poly microbial species targeted for diabetic foot infection using e-nose technology. **BMC Bioinformatics**, v. 16, n. 158, p. 1-12, 2015.