

João Fernando Gonçalves Ferreira

**AVALIAÇÃO DA MICROBIOTA E PERFIL DE CITOCINAS
EXTRACELULARES DE PACIENTES COM INFECÇÕES INTRA-
ABDOMINAIS**

Departamento de Microbiologia
Instituto de Ciências Biológicas
Universidade Federal de Minas Gerais

Belo Horizonte

2014

João Fernando Gonçalves Ferreira

**AVALIAÇÃO DA MICROBIOTA E PERFIL DE CITOCINAS
EXTRACELULARES DE PACIENTES COM INFECÇÕES INTRA-
ABDOMINAIS**

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito para a obtenção do título de Mestre em Microbiologia

Orientadora: Simone Gonçalves dos Santos

Coorientadores: Maria Auxiliadora Roque de Carvalho

Luiz de Macêdo Farias

Laboratório de Microbiologia Oral e Anaeróbios
Departamento de Microbiologia/Instituto de Ciências Biológicas
Universidade Federal de Minas Gerais

2014

COLABORAÇÃO

Dr. João Baptista Rezende Neto - Hospital Risoleta Tolentino Neves/UFMG

Dr. Rogério Augusto Pinto Silva – Faculdade de Medicina/UFMG e Centro Especializado em Ultra-Sonografia/BH-MG

Dr. José Carlos Serufo - Faculdade de Medicina/UFMG

Dra. Sueli Diniz Lima – Instituto de Ciências Biológicas/UFMG

APOIO FINANCEIRO

FAPEMIG, CNPQ, CAPES

AGRADECIMENTOS

A Deus, em primeiro lugar, por ter me dado força nos momentos de dificuldade durante a realização deste trabalho.

Aos meus pais, Míriam e Maurício, e a meu irmão, Leandro, por terem me apoiado em todas as decisões e principalmente pela compreensão durante os momentos mais complicados que passei por estes dois longos anos.

A todos os meus demais familiares que comemoraram junto a mim a conquista pelo ingresso no mestrado e que certamente irão comemorar com a conclusão de mais uma etapa em minha vida e com as realizações que ainda virão.

A minha grande amiga Mariana que esteve comigo desde o início da graduação, nas aulas de inglês, no laboratório, no cursinho preparatório, no congresso em Santos, enfim, durante quase todos os momentos importantes da minha vida me dando sempre muita força e, principalmente, convivendo com meu humor peculiar.

A Carol, que com toda sua sabedoria e dedicação me proporcionou um grande aprendizado durante o tempo em que trabalhamos juntos e, principalmente, pela amizade que contruímos em tão pouco tempo.

A Thais, que também me ajudou neste trabalho, sempre muito atenciosa e dedicada, e que apesar do pouco tempo de convivência pude com ela relembrar aquela fase inicial de Iniciação Científica onde a curiosidade e a empolgação estão constantemente presentes.

Aos meus grandes amigos Jaque e Jamil, por todos os bons momentos que com eles vivi no laboratório e, principalmente, fora dele pelos bares de BH. Por todas as conversas e momentos de descontração e desabafo que tivemos e que certamente ainda teremos. À Jaque, quero ainda agradecer por todo o tempo de estudo, que em algumas situações não foi nada fácil, mas que juntos conseguimos superá-los, durante as disciplinas do mestrado.

A Patrícia, uma grande amiga com a qual tenho o prazer de conviver desde o início da minha Iniciação Científica, já se foram alguns anos, que com seu carinho e sensatez habituais sempre me deu bons conselhos. Espero que o atual me traga bons frutos.

As minhas “irmãs”, Rafa e Lu, que, cada uma a seu modo, me ajudaram a percorrer este caminho. Rafa, obrigado pelos bons momentos nos quais pude compartilhar meu humor e senso crítico com alguém que não só me entende, mas que tem pontos de vista tão parecidos aos meus. Lu, obrigado pelos bons momentos no laboratório e, principalmente, em Natal. Esse ano tem mais. Prepare-se pra Colômbia. Valeu também pelas caronas. As refências e o Vitek não seriam os mesmos sem vocês.

Ao Augusto, por todos os momentos que passei com esta pessoa tão peculiar e a todas as caronas, com direito a aconselhamentos entre um engarrafamento e outro, durante anos. Acho que agora chega de sangue de cavalo.

De modo geral, a todos os alunos do MOA que fazem daquele um local harmônico, divertido e em alguns momentos um tanto quanto inusitado, meu muito obrigado pelo companheirismo.

A professora Sueli, que acreditou em mim enquanto ainda estava me preparando para a prova do mestrado, com uma atenção especial durante as aulas e até mesmo me emprestando livro texto, o qual utilizei durante todo o semestre e que me ajudou muito nos estudos.

À Dra. Maria Rosa, que nos auxiliou na motagem de protocolos e elaboração de *primers* utilizados nas reações de PCR.

A pós-doutoranda Jaqueline, que foi essencial na etapa de quantificação de citocinas, me orientando quanto à realização dos testes e manuseios do FACS.

Ao professor Helton, que me orientou na análise dos resultados das citocinas e nas análises estatísticas, sempre com muita paciência e boa vontade.

A professora Verinha e aos seus alunos Vitor, Alessandra e Swiany, que colaboraram comigo, na realização do sequenciamento de DNA, de uma forma muito gentil e acolhedora.

Aos enfermeiros Hoberdan e Emanuelle que colaboraram com as coletas e obtenções de dados clínicos no HRTN, sempre me recebendo no hospital nos momentos em que precisei.

Ao professor Luiz, por toda a dedicação e preocupação com o laboratório. Sinta-se parte de todo e qualquer trabalho desenvolvido neste laboratório, pois não seriam possíveis sem a infraestrutura que o laboratório proporciona e que você se empenha tanto em manter a cada dia melhor. Muito obrigado também pela compreensão e paciência que sempre teve comigo.

A professora Paula, pelo acompanhamento no treinamento didático e por todas as vezes que, de modo muito atencioso e objetivo, sempre esteve disposta a esclarecer as dúvidas que algumas vezes me fizeram procurá-la no laboratório.

A professora Dodora, minha primeira orientadora, que sempre colaborou com seu vasto conhecimento e experiência em todos os resumos para congressos, fóruns e semanas de iniciação científica que foram produzidos durante este mestrado.

A professora Simone, minha atual orientadora, que me recebeu, ainda no final da iniciação científica, e que idealizou este projeto que agora estamos concluindo. Obrigado pela paciência.

Dedicatória

À minha avó, não mais presente fisicamente entre nós, mas que está a todo o momento presente em minha vida através de meus pensamentos, sonhos e lembranças boas que dela guardo. Um exemplo de pessoa, até mesmo no momento mais difícil, quando soube, com humildade e sabedoria, aceitar a doença e o final de uma etapa da vida. Muito obrigado pelos 25 anos de convivência.

SUMÁRIO

LISTA DE QUADROS -----	ix
LISTA DE TABELAS -----	x
LISTA DE FIGURAS -----	xi
LISTA DE ABREVIATURAS -----	xii
RESUMO -----	xiv
ABSTRACT -----	xv
1 INTRODUÇÃO -----	16
1.1 Aspectos gerais das infecções intra-abdominais -----	16
1.2 Aspectos microbiológicos das IIA -----	17
1.2.1 Bactérias anaeróbias obrigatórias -----	19
1.3 Resistência a antimicrobianos -----	20
1.4 Diagnóstico clínico, por imagem, e laboratorial das IIA -----	23
1.5 Tratamento das IIA -----	25
1.6 Implicações sistêmicas das IIA -----	27
1.6.1 Bacteremia: aspectos gerais e dados epidemiológicos -----	27
1.6.2 Sepse: aspectos gerais e dados epidemiológicos -----	29
1.6.2.1 Fisiopatologia da sepse de origem intra-abdominal -----	31
2 JUSTIFICATIVA -----	35
3 OBJETIVOS -----	37
3.1 Objetivo geral -----	37
3.2 Objetivos específicos -----	37
4 PACIENTES E MÉTODOS -----	38
4.1 Considerações éticas -----	38
4.2 Etapa clínica -----	38
4.2.1 Desenho do estudo-----	38
4.2.2 Instituições envolvidas -----	38
4.2.3 Casuística -----	38
4.2.4 Coleta de espécimes de IIA -----	39
4.2.5 Coleta de sangue -----	39
4.3 Etapa laboratorial -----	39
4.3.1 Isolamento de microrganismos -----	39

4.3.2 Identificação fisiológico/enzimática dos microrganismos recuperados de IIA e da corrente sanguínea -----	40
4.3.2.1 Amostras recuperadas na câmara anaeróbica -----	40
4.3.2.2 Amostras recuperadas em estufa bacteriológica -----	42
4.3.2.2.1 Cocos Gram positivo -----	42
4.3.2.2.2 Bastonetes Gram negativo -----	43
4.3.2.2.3 Leveduras -----	44
4.4 Identificação genotípica microbiana-----	44
4.4.1 PCR convencional -----	44
4.4.1.1 Extração de DNA -----	44
4.4.1.2 Preparo do Master Mix -----	45
4.4.1.3 Condições de amplificação do DNA -----	45
4.4.2 Sequenciamento de DNA -----	46
4.4.2.1 Extração de DNA -----	46
4.4.2.2 Preparo do Master Mix -----	47
4.4.2.3 Condições de amplificação do DNA -----	47
4.4.2.4 Purificação do produto da PCR -----	49
4.4.2.5 Precipitação do DNA -----	49
4.5 Avaliação do perfil de susceptibilidade a antimicrobianos -----	49
4.5.1 Microrganismos aeróbios -----	49
4.5.2 Microrganismos anaeróbios -----	50
4.6 Detecção da produção de ESBLs pelos microrganismos anaeróbios -----	51
4.7 Avaliação imunológica -----	52
4.7.1 Dosagem de citocinas por <i>Fluorescence Activated Cell Sorter</i> (FACS) -----	52
4.8 Análise estatística -----	52
5 RESULTADOS -----	53
5.1 Dados clínicos -----	53
5.2 Prevalência dos microrganismos -----	55
5.2.1 Cultura convencional da secreção intra-abdominal -----	55
5.2.2 Hemocultura -----	58
5.2.3 Microrganismos recuperados dos pacientes com IIA de origem hospitalar -----	59
5.3 Confirmação da identidade dos anaeróbios por PCR convencional e	

sequenciamento de DNA -----	59
5.4 Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos dos microrganismos anaeróbios -----	62
5.4.1 Bactérias Gram positivo -----	62
5.4.2 Bactérias Gram negativo -----	63
5.5 Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos e produção de ESBLs pelos microrganismos anaeróbios -----	65
5.6 Análise de citocinas -----	67
6 DISCUSSÃO -----	72
7 CONCLUSÕES -----	85
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	87
9 APÊNDICES -----	102
10 ANEXOS -----	121

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1	Constituintes da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) utilizados na identificação dos bastonetes Gram negativo anaeróbios. -----	45
QUADRO 2	Condições de amplificação do DNA utilizados na identificação dos bastonetes Gram negativo anaeróbios. -----	46
QUADRO 3	Constituintes da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). -----	47
QUADRO 4	Condições de amplificação do DNA. -----	47
QUADRO 5	Condições de amplificação para confirmação de bastonetes Gram negativo anaeróbios. -----	48
QUADRO 6	Concentrações finais dos antimicrobianos utilizados na avaliação da susceptibilidade dos anaeróbios frente a antimicrobianos. -----	50
QUADRO 7	Determinação dos pontos de cortes ($\mu\text{g/mL}$) dos antimicrobianos testados contra <i>Bacteroides</i> do grupo <i>B. fragilis</i> , <i>Prevotella</i> spp., <i>Fusobacterium nucleatum</i> e <i>Propionibacterium acnes</i> , na obtenção da CIM. -----	51
QUADRO 8	Características demográficas do grupo de estudo. -----	53
QUADRO 9	Distribuição dos microrganismos anaeróbios por paciente com infecção intra-abdominal e suas associações com outros microrganismos isolados. -----	57
QUADRO 10	Microrganismos recuperados das oito hemoculturas positivas de pacientes com quadro clínico de infecção intra-abdominal obtidas em BH/MG. -----	58
QUADRO 11	Identificação genotípica por sequenciamento de DNA para confirmação da identidade das amostras sem controle positivo na PCR. -----	61
QUADRO 12	Comparação da identificação microbiana entre os métodos fenotípico e genotípico utilizados. -----	61

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Antimicrobianos em uso no momento da colheita dos espécimes clínicos pelos 38 pacientes com infecção intra-abdominal que relataram uso ou não de antimicrobianos. -----	53
TABELA 2	Microrganismos recuperados das 33 culturas positivas de 51 pacientes com quadro clínico de infecção intra-abdominal obtidas em BH/MG. -----	56
TABELA 3	Microrganismos recuperados, do sítio da infecção (secreção) e da hemocultura, dos 10 pacientes com quadro clínico de infecção intra-abdominal de origem hospitalar. -----	59

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Fluxograma do processamento das amostras clínicas obtidas de pacientes com IIA. -----	41
FIGURA 2	Visualização do produto da PCR dos microrganismos BGN anaeróbios. -	60
GRÁFICO 1	Quadro clínico dos 51 pacientes com infecção intra-abdominal incluídos no estudo. -----	54
GRÁFICO 2	Relação entre origem da IIA e tempo de internação dos pacientes do HRTN. -----	54
GRÁFICO 3	Prevalência dos microrganismos recuperados das 33 culturas positivas, obtidos de pacientes com quadro clínico de infecção intra-abdominal. ---	55
GRÁFICO 5	Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos dos aeróbios Gram negativo. -----	65
GRÁFICO 6	Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos e produção de ESBL dos anaeróbios Gram negativo. -----	66
GRÁFICO 7	Produção de citocinas pró-inflamatórias no soro e na secreção dos pacientes com IIA. -----	67
GRÁFICO 8	Produção de citocinas anti-inflamatórias no soro e na secreção dos pacientes com IIA. -----	68
GRÁFICO 9	Relação entre a produção de citocinas e a origem da infecção (comunitária ou hospitalar). -----	69
GRÁFICO 10	Relação entre a produção de citocinas e a cultura microbiana obtida da secreção intra-abdominal. -----	70
GRÁFICO 11	Relação entre hemocultura positiva e a produção de citocinas pelos pacientes com IIA. -----	71

LISTA DE ABREVIATURAS

- BBE-S: Ágar Bacteroides-Bile-Esculina Suplementado
- BGN: Bastonete Gram Negativo
- BRU-S: Ágar Brucella Sangue
- CDC: *Centers for Disease Control and Prevention*
- CEU-BH: Centro Especializado em Ultrassonografia de Belo Horizonte
- CGP: Coco Gram Positivo
- CIM: Concentração Inibitória Mínima
- CLSI: *Clinical and Laboratory Standards Institutes*
- CTAB: Brometo de Cetil Trimetil Amônio
- dATP: Deoxiadenosina trifosfato
- dCTP: Deoxicitosina trifosfato
- dGTP: Deoxiguanosina trifosfato
- DNA: Ácido Desoxirribonucléico
- dTTP: deoxitimidina trifosfato
- EDTA: Ácido Etilenodiamino Tetra-acético
- ESBL : β -lactamases de Amplo Aspectro
- FACS: *Fluorescence Activated Cell Sorter*
- HC-UFMG: Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais
- HLA-DR: antígeno leucocitário humano DR
- HPM-MG: Hospital da Polícia Militar do Estado de Minas Gerais
- HRTN: Hospital Risoleta Tolentino Neves
- H₂S: Sulfeto de hidrogênio
- IC: Infecção Comunitária
- ICS: Infecção de Corrente Sanguínea
- IDSA: *Infectious Diseases Society of America*
- IH: Infecção Hospitalar
- IIA: Infecção Intra-abdominal
- IL: Interleucina
- LPS: Lipopolisacarídeo
- MgCL₂: Cloreto de Magnésio
- MHC-II: Complexo de Histocompatibilidade Maior, classe II
- MRS: *Staphylococcus* Resistente à Meticilina

MRSA: *Staphylococcus aureus* Resistente à Meticilina
NaCl: Cloreto de sódio
PAMP: padrões moleculares associados a patógenos
PCR: Reação em Cadeia da Polimerase
Pb: Pares de bases
PCT: procalcitonina
PEA: Ágar Phenylethanol
PMN: Polimorfonuclear
rDNA: Ácido Desoxirribonucléico Ribossomal
RCP: Proteína C-reativa
RNase: Ribonuclease
SBP: Peritonite bacteriana espontânea
SDS: Dodecil sulfato de sódio
SENTRY: Sistema de Vigilância da Resistência aos Antimicrobianos
SIRS: Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica
SIS: *Surgical Infection Society*
STET: Sacarose, Tris-HCl, EDTA, Triton X
TNF: Fator de Necrose Tumoral
TSA-S: *trypticase soy agar* Suplementado
Tris-HCl: (Hidroximetil) Aminometano – Ácido Clorídrico
UFC: Unidade Formadora de Colônia
UTI: Unidade de Terapia Intensiva
VRE: *Enterococcus* spp. Resistentes à Vancomicina
VRSA: *Staphylococcus aureus* Resistentes à Vancomicina

RESUMO

As infecções intra-abdominais (IIA) compreendem um conjunto diverso de doenças cujas complicações levam a altas taxas de morbimortalidade, especialmente nas UTIs. Esses processos são frequentemente polimicrobianos, envolvendo aeróbios e anaeróbios. No entanto, um diagnóstico microbiológico preciso não é usualmente atingido. O objetivo deste estudo foi investigar a composição da microbiota de IIA e o seu perfil de susceptibilidade a antimicrobianos, incluindo-se as bactérias anaeróbias, assim como analisar a produção de citocinas extracelulares dos pacientes acometidos. Os espécimes clínicos foram obtidos de pacientes atendidos em quatro instituições de saúde de Belo Horizonte, Minas Gerais. Os microrganismos recuperados foram identificados pelo sistema Vitek 2 Biomeriëux e os anaeróbios Gram negativo foram, ainda, submetidos à PCR e sequenciamento de DNA, em caráter confirmatório. A CIM foi determinada pelo método da diluição em ágar para os anaeróbios e pelo Vitek 2 para os facultativos. Na avaliação da produção de ESBLs utilizou-se discos de cefinase. A presença das citocinas IL-1 β , IL-6, IL-8 e IL-10 e TNF foi verificada no soro e nas secreções dos pacientes com IIA por citometria de fluxo empregando-se o *BD™ CBA Human Inflammatory Cytokines*. Foram recuperados 83 microrganismos de 33 espécimes positivos, estando às bactérias anaeróbias presentes em 39,4% (13/33) destes casos, com predomínio do grupo *B. fragilis*. A identificação fenotípica foi confirmada pela PCR para 14 (93,3%) das 15 amostras de BGN anaeróbios. Resistência à penicilina foi observada em 80,0% dos anaeróbios, dos quais 86,7% eram ESBL positivos; 25,0% resistentes à clindamicina e 12,5% à cefoxitina. Metade das enterobactérias foi resistente a cinco ou mais antimicrobianos de diferentes classes, e 80,0% das amostras de *A. baumannii* ao imipenem. Observou-se 81,8% dos *Staphylococcus* spp. resistentes à metilicina. Apenas 12,5% dos *Enterococcus* ssp. foram resistentes à ampicilina, embora uma amostra de *E. faecium* tenha sido resistente inclusive à vancomicina. Os níveis das citocinas, com exceção da IL-10, foram mais altos no sítio da infecção (IIA) do que no soro dos pacientes avaliados. A origem hospitalar das IIA e a cultura microbiana positiva foram os únicos fatores que influenciaram o nível de produção de citocinas. Os dados obtidos reforçam a necessidade do estudo da prevalência e perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos em casos de IIA, tendo em vista a grande diversidade de microrganismos recuperados e o perfil de multiressistência de parte deles, principalmente entre os envolvidos em IIA de origem hospitalar.

Palavras chave: infecções intra-abdominais; estudo microbiológico; resistência a antimicrobianos; anaeróbios; perfil de citocinas.

ABSTRACT

Intra-abdominal infections (IAI) include a diverse set of diseases whose complications lead to high morbidity and mortality, especially in intensive care units. These processes are most frequently polymicrobial, involving aerobic and anaerobic bacteria. However, an accurate microbiological diagnosis is not usually achieved. The aim of this study was to investigate the composition of IAI microbiota and its antimicrobial susceptibility profiles, including the anaerobic bacteria, and analyze the production of extracellular cytokines in the affected patients. Clinical specimens were obtained from patients seen in four health institutions in Belo Horizonte. Microorganisms were identified by the Vitek 2 bioMérieux System and Gram negative anaerobes were also subjected to polymerase chain reaction (PCR) and DNA sequencing, in confirmatory character. The minimum inhibitory concentration was determined by the agar dilution method for anaerobes and by the Vitek 2 for facultative bacteria. In the evaluation of extended spectrum β -Lactamases (ESBL) producing the cefinase disks were used. The presence of the cytokines IL- 1 β , IL- 6, IL -8 and IL -10 and TNF was verified in serum and secretions of patients with IIA by flow cytometry using the BD TM - CBA Human Inflammatory Cytokines. Of the 51 patients evaluated, 34 were already using some antimicrobials at the time of collection. Microorganisms were recovered from 33 of 51 patients, anaerobic bacteria were present in 39.4 % (13 /33) of the positive specimens, with a predominance of the *Bacteroides fragilis* group. Phenotypic identification was confirmed by PCR in 14 (93.3%) of 15 samples of anaerobic BGN. Penicillin resistance was observed in 80.0% of anaerobes, of which 86.7 % were ESBL positive, 25.0 % were resistant to clindamycin and 12.5 % to ceftiofloxacin. Half of the *Enterobacteriaceae* was resistant to five or more antibiotics of different classes, and 80.0 % of *A. baumannii* strains were resistant to imipenem. There was 81.8% of *Staphylococcus* spp. methicillin-resistant and all *Enterococcus* spp. strains to clindamycin. One sample of *E. faecium* was also resistant to vancomycin. The levels of cytokines, except for IL-10 were higher in the site of infection (IIA) than in the serum of patients. The hospital origin of the IIA and positive microbial culture were the only factors that influenced the level of cytokine production. Our data supports the need to study the prevalence and antimicrobial susceptibility profile in cases of IIA, taking into account the great diversity of microorganisms recovered and profile multidrug resistance part of them, especially among those involved in IIA of hospital origin.

Keywords: intra-abdominal infections; microbiological study; antimicrobial resistance; anaerobes; cytokine profile.

1. INTRODUÇÃO

1.1 ASPECTOS GERAIS DAS INFECÇÕES INTRA-ABDOMINAIS

Infecções intra-abdominais (IIA) englobam um conjunto diverso de doenças, que vão desde apendicites não complicadas a peritonites. (MENICHETTI *et al*, 2009; SARTELLI *et al*, 2012a). Esses processos são subcategorizados, com base na extensão da infecção, em IIA não complicadas, quando envolvem apenas um único órgão e não se estendem para o peritônio, e IIA complicadas, quando avançam além da víscera oca de origem para a cavidade peritoneal, causando peritonite ou abscesso (SOLOMKIN & MAZUSKI, 2003; LOPEZ *et al*, 2011; ECKMANN *et al*, 2011; SARTELLI *et al*, 2012a; GARCÍA-SÁNCHEZ, 2012). As IIA complicadas são geralmente de natureza polimicrobiana, embora existam controvérsias em torno da patogenicidade de alguns dos microrganismos frequentemente identificados (SKRUPKY *et al*, 2013).

As IIA são classificadas em primárias, também conhecidas como peritonites bacterianas espontâneas (SBP), quando o processo é peritoneal difuso e as vísceras permanecem íntegras; secundárias, quando resultam de necrose, laceração ou perfuração de órgão intra-abdominal e, terciárias, quando se apresentam de forma difusa, com peritonite secundária (infeciosa ou não), persistente ou recorrente (MALANGONI, 2006; LOPEZ *et al*, 2011; GARCÍA-SÁNCHEZ, 2012).

Entretanto, segundo BLOT *et al*. (2012) as classificações de IIA usadas atualmente muitas vezes incitam confusão, por misturar elementos de rompimento de barreira anatômica, gravidade de expressão da doença e o envolvimento da resistência bacteriana. Assim, os autores propuseram uma alternativa, amplamente aceita, na qual sugeriram abandonar os parâmetros “simples” e “complicada” para as IIA, uma vez que apenas confundem a questão. Da mesma forma, o termo peritonite “terciária” deve, segundo os autores, ser descartado, uma vez que este se refere simplesmente ao fracasso do tratamento de peritonite secundária, resultando em um estado de infecção e/ou inflamação persistente. Nesta proposta, a ruptura anatômica e a gravidade da doença devem ser separadas em fenótipos diferentes para a mesma doença, em combinação com a presença ou ausência de fatores de risco para o envolvimento de agentes patogênicos que não são rotineiramente cobertos em regimes de primeira linha de antimicrobianos, como *Pseudomonas aeruginosa*, espécies de *Candida*, *Enterococcus*, e outros patógenos resistentes.

As IIA difusas são denominadas peritonites, enquanto que as que foram isoladas e limitadas pelo organismo dentro de um órgão intra-abdominal ou na cavidade peritoneal recebem a denominação de abscessos (SOLOMKIN & MAZUSKI, 2003).

A maior parte dos abscessos resulta de peritonite bacteriana secundária de fonte enterocólica. Atribui-se a formação dos abscessos intra-abdominais à busca do hospedeiro de isolar os processos sépticos e proteger o organismo da bacteremia. Contudo, esses fenômenos também dificultam o afluxo de fatores imunitários e antibióticos para a região infectada (RODRIGUES *et al.*, 2005).

A peritonite pode manifestar-se ainda como uma infecção preliminar que acomete o aparelho gastrointestinal devido à infecção bacteriana da membrana mucosa do peritônio que reveste a região abdominal, podendo se estender a outros órgãos, levando a quadros de apendicite, colecistite, diverticulite, além de abscessos localizados e perfurações do intestino, com consequente contaminação fecal do peritônio, sendo identificada, principalmente, em pacientes com quadro clínico de ascite (MARSHALL, 2004; BLOT, 2005).

O processo pode ser desencadeado por meio de contaminação direta da cavidade abdominal, como nas perfurações do tubo digestivo; por translocação bacteriana, nas situações de íleo paralítico ou obstrução intestinal, ou ainda, em consequência de processos inflamatórios em órgãos intra-abdominais (apendicite, colecistite, colítes e diverticulites), com subsequente migração das bactérias entéricas para a cavidade abdominal; e nas penetrações por trauma abdominal e complicações após cirurgia gastrointestinal, levando a peritonites (WEXLER, 2007; MAZUSKI & SOLOMKIN, 2009).

Pacientes internados em instituições de saúde estão expostos a uma ampla variedade de microrganismos patogênicos, principalmente em Unidades de Terapia Intensiva (UTIs) e nos centros cirúrgicos, onde o uso de antimicrobianos potentes e de largo espectro, bem como procedimentos invasivos fazem parte da rotina e apresentam risco elevado para aquisição de IIA (MOURA *et al.*, 2007; SYDNOR & PERL, 2011).

Estas infecções podem ser adquiridas a partir de complicações cirúrgicas eletivas ou de urgência (MOURA *et al.*, 2007). Geralmente, as formas complicadas destas infecções estão associadas à elevada morbidade e mortalidade (TAYLOR *et al.*, 2004; SKRUPKY *et al.*, 2013), especialmente em pacientes idosos e imunocomprometidos (TAYLOR *et al.*, 2004).

1.2 ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DAS INFECÇÕES INTRA-ABDOMINAIS

Os agentes infecciosos associados às IIA são, geralmente, os da microbiota do trato gastrointestinal. O número e as espécies de microrganismos aumentam ao longo do trato gastrointestinal de 10^2 a 10^3 bactérias por mL no estômago para 10^{11} a 10^{12} no intestino grosso. A

microbiota do trato gastrointestinal consiste de bactérias anaeróbias facultativas e obrigatórias, Gram negativo e Gram positivo (EMMI & SGANGA, 2008).

A etiologia microbiana das IIA depende do ponto de rompimento do intestino e dos órgãos intra-abdominais (EMMI & SGANGA, 2008; GARCÍA-SÁNCHEZ, 2012), do estado imunológico do paciente (LOPEZ *et al.*, 2011), e das possíveis modificações da microbiota, condicionadas pela administração prévia de antimicrobianos e pelas comorbidades associadas (GARCÍA-SÁNCHEZ, 2012). São causadas, na sua grande maioria, por bacilos Gram negativo, aeróbios e anaeróbios obrigatórios, sendo, frequentemente, polimicrobianas (MAZUSKI, 2002; GOULART *et al.*, 2006).

O aparelho gastrointestinal superior (estômago, duodeno, jejuno e íleo superior) contém relativamente poucos microrganismos, sendo menor a presença de bactérias anaeróbias. As infecções que se derivam do estômago, duodeno, e intestino podem ser causadas por bactérias aeróbias Gram negativo e Gram positivo, como *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Enterococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Lactobacillus* spp., e os difteróides. Já nas que se relacionam com o cólon a presença microbiana é maior, especialmente composta por *E. coli* e *Bacteroides fragilis* (EMMI & SGANGA, 2008), estando também associados *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Enterococcus* spp., *Peptostreptococcus* spp. e *Clostridium* spp. (LOPEZ *et al.*, 2011). Além de *Bacteroides fragilis*, bastonetes anaeróbios Gram negativo, como *Fusobacterium* spp., também são frequentes (BROOK, 2002; CHAN *et al.*, 2009; MAZUSKI & SOLOMKIN, 2009).

Entre os pacientes imunocomprometidos que apresentam, principalmente, quadros de IIA terciária, microrganismos menos virulentos como os *Enterococcus* spp., *Candida* spp., *Staphylococcus epidermidis*, e *Enterobacter* spp. podem estar presentes no processo infeccioso (LOPEZ *et al.*, 2011).

Em casos de pacientes sob internação em instituições de saúde, ocorre, geralmente, o envolvimento de microrganismos mais resistentes a antimicrobianos, próprios da microbiota da unidade de saúde, que podem incluir *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Acinetobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), *Enterococcus* spp., *Candida* spp., e *Klebsiella* produtora de β -lactamases de amplo espectro (ESBL) (SARTELLI *et al.*, 2012a; GARCÍA-SÁNCHEZ, 2012).

1.2.1 BACTÉRIAS ANAERÓBIAS

A microbiota humana contém trilhões de células bacterianas, dez vezes mais células que o número de células que constituem o corpo humano, sendo predominantes as bactérias anaeróbias (TLASKALOVÁ-HOGENOVA *et al.*, 2011). A relação harmônica com seu hospedeiro traz a estes vários benefícios, como o efeito barreira, a participação na modulação do sistema imune e o equilíbrio da microbiota intestinal. Entretanto, quando este equilíbrio é rompido, podem causar infecções oportunistas em todos os sistemas e sítios do corpo. A recuperação de bactérias anaeróbias está inversamente relacionada com a tensão de oxigênio. Sua presença na pele, boca, nariz e garganta, que são expostos ao oxigênio, é explicada pelo microambiente anaeróbio gerado pelas bactérias anaeróbias facultativas associadas, que consomem o oxigênio (BROOK, 2008).

A grande maioria das infecções anaeróbias é de origem endógena, isto é, envolve a microbiota indígena do hospedeiro, que é composta de uma grande variedade de espécies microbianas (BROOK, 2008; GARCÍA-SÁNCHEZ, 2012; WYBO *et al.*, 2013). Fatores bacterianos e do hospedeiro determinam o resultado de uma infecção anaeróbia. Os fatores bacterianos incluem o tamanho do inóculo, a virulência, e o potencial sinérgico dos organismos infecciosos, enquanto que os fatores do hospedeiro incluem seus mecanismos de defesa, as quebras nas barreiras anatômicas, e a diminuição do potencial de oxidação-redução (BROOK *et al.*, 2008).

As infecções anaeróbias ocorrem, geralmente, quando uma barreira anatômica é interrompida e os componentes da microbiota indígena entram em um local que seja previamente estéril. Isto ocorre, especialmente, quando uma barreira mucosa, ou a integridade da pele, é comprometida em situações tais como cirurgia, traumatismo, tumores, isquemias ou pela necrose, que pode reduzir os potenciais de redox locais do tecido (KASPER & COHEN-PORADOSU, 2008).

Os microrganismos anaeróbios mais prevalentes em processos infecciosos são os bastonetes Gram-negativos (*Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Bilophila* e *Sutterella*), os cocos Gram-positivos (principalmente *Peptostreptococcus*), os bastonetes Gram positivos formadores de esporos (*Clostridium*) e não formadores de esporos (*Actinomyces*, *Propionibacterium*, *Eubacterium*, *Lactobacillus*, e *Bifidobacterium*), e os cocos Gram negativos (principalmente *Veillonella*). Cerca de 95% dos anaeróbios isolados de infecções clínicas são membros desses gêneros (BROOK, 2008), sendo *B. fragilis* a espécie de patógeno oportunista mais frequentemente isolado em infecções anaeróbias (LOBO *et al.*, 2013). Nas infecções abdominais, destacam-se os *Bacteroides* spp., *Prevotella* spp., *Porphyromonas* spp., *Fusobacterium* spp. e, em menor escala,

Bilophila spp., *Actinobacillus* spp., *Capnocytophaga* spp. e *Leptotrichia* spp. (MAZUSKI & SOLOMKIN, 2009; SYDNOR & PERL, 2011),

A presença de bactérias anaeróbias é a principal causa da formação de abscessos na maioria dos sítios anatômicos nos quais elas estão presentes. A explicação biológica é que a cápsula polissacarídica, que tem sido bem estudada em *B. fragilis*, possa ser abscessogênica (SANTOS, 2004; BROOK, 2008), e que as hemolisinas possam estar relacionadas com a sobrevivência microbiana no interior dos abscessos, como mostrado por LOBO *et al.* (2013), em um estudo que apontou a hemolisina HlyBA como um fator de virulência que desempenha um papel importante na sobrevivência de *B. fragilis* em um modelo artificial de abscesso intra-abdominal.

Além da cápsula, os anaeróbios podem exibir outros fatores de virulência, incluindo capacidade de aderência e invasão a superfícies epiteliais e produção de uma variedade de enzimas, como superóxido dismutase, catalase e proteases diversas, que promovem coagulação e dispersão (BROOK, 2008).

A atividade biológica da endotoxina de alguns anaeróbios Gram negativos pode ser relevante nos processos infecciosos, como aquela de *Bacteroides* do grupo *B. fragilis* e de *Fusobacterium* spp.. A maioria dos anaeróbios não formadores de esporos clinicamente relevantes não produz exotoxinas, mas há exceções importantes, como *Fusobacterium necrophorum*, que está associado ao choque tóxico (REDFORD, 2005), também produtor de uma leucotoxina (RIET-CORREA *et al.*, 2001) e linhagens enterotoxigênicas de *B. fragilis* (PRINDIVILLE *et al.*, 2000; SEARS, 2009).

O isolamento de microrganismos anaeróbios exige métodos apropriados de colheita, de transporte e de cultivo dos espécimes. O tratamento dos anaeróbios é complicado devido a fatores como crescimento lento dos microrganismos e resistência crescente a agentes antimicrobianos (MARSHALL, 2004; LEE *et al.*, 2010). Além disso, como a maioria das infecções anaeróbias tem caráter sinérgico, é de grande utilidade para o clínico o conhecimento destes microrganismos no processo infeccioso (FINEGOLD, 1995).

1.3 RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS

As bactérias podem apresentar resistência inata ou adquirir resistência a uma ou mais classes de agentes antimicrobianos (GIEDRAITIENÉ *et al.*, 2011). A resistência se dá por vários mecanismos, como a presença de enzimas que inativam a droga, a síntese de enzimas alternativas que não são inibidas pelo agente antimicrobiano, mutações no alvo do agente antimicrobiano que reduz a afinidade pelo mesmo, modificações pós-transcricionais ou pós-traducionais do alvo do

agente antimicrobiano, redução da permeabilidade ao agente antimicrobiano, ou efluxo ativo do agente. Além desses, outros mecanismos ainda desconhecidos podem contribuir para esta resistência (FLUIT *et al.*, 2001; ALEKSHUN 2007; GIEDRAITIENÉ *et al.*, 2011).

A resistência bacteriana está intimamente associada à utilização inadequada de agentes antimicrobianos na prática clínica. A terapia prolongada com antibióticos pode levar ao desenvolvimento de resistência em um microrganismo que inicialmente era sensível ao antibiótico em questão. O surgimento de um fenótipo resistente aos agentes antimicrobianos depende de uma série de fatores, como o grau de expressão da resistência, a capacidade do microrganismo em tolerar o mecanismo de resistência, e o sítio de colonização inicial, dentre outros. (DZIDIC *et al.*, 2008; GIEDRAITIENÉ *et al.*, 2011).

Uma importante causa de propagação de resistência a antimicrobianos é a falha na aplicação de medidas de controle de infecção em ambiente hospitalar e fora dele, sendo a baixa frequência, ou mesmo ausência, de lavagem das mãos, entre os profissionais de saúde um fator preocupante. Tal fato pode estar relacionado com os achados de que *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) em hospitais e na comunidade são, muitas vezes, geneticamente relacionados (GIEDRAITIENÉ *et al.*, 2011). Além disso, o uso de antimicrobianos para outros fins é outra razão importante para a disseminação de bactérias resistentes (MARTÍNEZ *et al.*, 2002; GIEDRAITIENÉ *et al.*, 2011). Sabe-se, por exemplo, que a utilização de agentes antimicrobianos em alimento animal está relacionada com o aumento da resistência bacteriana (DZIDIC *et al.*, 2008; GIEDRAITIENÉ *et al.*, 2011).

Segundo dados obtidos pelo sistema de vigilância da resistência aos antimicrobianos (SENTRY), na América Latina e nos países desenvolvidos, os microrganismos prevalentes em infecções hospitalares foram *S. aureus* e *Staphylococcus coagulase negativa* resistentes à meticilina, *Enterococcus faecalis* resistentes à vancomicina, membros da família *Enterobacteriaceae* resistentes à cefalosporinas e produtores de β -lactamases de amplo espectro (ESBL), e *P. aeruginosa* multidroga resistentes, o que foi observado também, por outros autores (BUSH & JACOBY, 2010; SYDNOR & PERL, 2011).

A resistência a múltiplas drogas tem sido demonstrada em *P. aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *E. coli* e *Klebsiella pneumoniae*, produtoras de β -lactamases de amplo espectro, ESBL; *Enterococcus* resistentes à vancomicina, VRE; *S. aureus* resistentes à meticilina, MRSA; *S. aureus* resistentes à vancomicina, VRSA (ALEKSHUN *et al.*, 2007).

A resistência devida à produção das β -lactamases pelos vários microrganismos anaeróbios patogênicos aumentou apreciavelmente nos últimos 20 anos, especialmente no grupo *B. fragilis*. A maioria das β -lactamases é caracterizada como cefalosporinases, que conferem taxas elevadas de resistência às cefalosporinas, particularmente na espécie *B. fragilis* (ALDRIDGE, 1995; LEE *et al.*, 2010).

Elevadas taxas de resistência ao metronidazol têm sido relatadas em linhagens de anaeróbios isolados de infecções clínicas. Um número crescente de falhas clínicas em tratamentos de infecção por *Clostridium difficile* foi relatada durante os últimos anos. Isto representa um problema, já que o metronidazol é uma escolha frequente para tratamento de infecção por anaeróbios na antibioticoterapia empírica (BHARADWAJ, 2012).

Estudo multicêntrico realizado por LIU *et al.* (2008), mostrou que as taxas de *B. fragilis* resistentes ao imipenem e meropenem foram maiores que aquelas apresentadas por estudos anteriores (SOKI *et al.*, 2006; SNYDMAN *et al.*, 2007). No Japão, a taxa de *Bacteroides* resistente ao imipenem aumentou de 2% para 4%, nos últimos 15 anos. Nos Estados Unidos, a taxa nacional de 1997 a 2004 ultrapassou a resistência de 0,5% ao imipenem e 1,0% ao meropenem (SNYDMAN *et al.*, 2007). Na Europa, em estudo publicado em 2006, a taxa de resistência de *B. fragilis* ao imipenem foi de 0,8% e meropenem de 1,3% (SOKI *et al.*, 2006). A análise dos dados de amostras isoladas nosocomiais de *B. fragilis*, neste estudo, revelou uma contínua diminuição das taxas de sensibilidade deste microrganismo ao cefmetazol: de 72%, em 1999, para 14%, em 2006 (LIU *et al.*, 2008). Santos *et al.* (2004) observaram que, dentre os anaeróbios obrigatórios recuperados de infecção intra-abdominal em pacientes em Belo Horizonte, Minas Gerais, 57,7% eram resistentes à penicilina, 28,2% à clindamicina e 9,9% ao metronidazol.

A ameaça da resistência antimicrobiana foi identificada como um dos principais desafios no controle e tratamento das IIA. No decorrer de poucos anos tem-se presenciado um aumento das infecções causadas por microrganismos resistentes a antimicrobianos, incluindo *S. aureus* resistentes à meticilina, *Enterococcus* spp. resistentes à vancomicina, *P. aeruginosa* resistente a carbapenêmicos, *E. coli* e *Klebsiella* spp. produtoras de beta-lactamases (PICAZO *et al.*, 2010), e segundo SHALIMAR (2013) a estimativa do risco relativo de mortalidade em pacientes com SBP desencadeada por microrganismos resistentes é quatro vezes maior que em pacientes com SBP sem bactérias resistentes.

Tendo em vista as altas taxas de resistência aos antimicrobianos e suas implicações na prática clínica, o monitoramento contínuo das tendências de resistência se faz necessário para que políticas de

prescrição de antimicrobianos possam ser ajustadas e programas de intervenção para o controle de infecção possam ser implementados (BHARADWAJ, 2012).

1.4. DIAGNÓSTICO CLÍNICO, POR IMAGEM, E LABORATORIAL DAS IIA

A ultra-sonografia é um método de imagem importante no diagnóstico de IIA, principalmente devido ao baixo custo e à facilidade de sua realização à beira do leito do paciente (LLEWELYN & COHEN, 2001; MARRA *et al.*, 2004). Como limitação deste método, há o fato de o resultado estar na dependência da experiência do operador. Em alguns casos, como no exame do retroperitônio, é necessária a tomografia computadorizada, esta é mais sensível, principalmente se realizada com a administração de contraste (LLEWELYN & COHEN, 2001; JIMENEZ & MARSHALL, 2001; MARRA *et al.*, 2004). No nível atual de desenvolvimento dos métodos radiológicos, não há muito espaço para a realização de laparotomias exploradoras a fim de diagnosticar e tratar possíveis focos intra-abdominais. A busca pelo diagnóstico prévio deve ser exaustiva (JIMENEZ & MARSHALL, 2001; LLEWELYN & COHEN, 2001).

Em paralelo aos exames baseados na detecção de imagens estão as análises laboratoriais. Segundo SHALIMAR (2013), a detecção de >250 células polimorfonucleares (PMN)/mm³ no líquido ascítico é indicativa de SBP, o que pode ser usado para auxiliar no diagnóstico de IIA.

A drenagem percutânea, guiada por método de imagem tem se mostrado tão eficiente quanto a laparotomia e deve ser o procedimento de escolha. Em casos de diagnóstico difícil, e de maior complexidade técnica ou em re-intervenções, esta última se impõe (LLEWELYN & COHEN, 2001; JIMENEZ & MARSHALL 2001; MARRA *et al.*, 2004).

Coleções purulentas devem ser coletadas para teste de cultura microbiológica, que é, possivelmente, o método mais frequentemente empregado para o estudo de microrganismos aeróbios e anaeróbios, sendo considerado como referência para comparação com outros métodos. Este procedimento é utilizado especialmente para caracterização da microbiota, avaliação da suscetibilidade a drogas antimicrobianas e análise quantitativa dos principais microrganismos viáveis no espécime clínico em estudo (CHEN & SLOTS, 1999; KASPER & COHEN-PORADOS, 2008). O método apresenta limitações importantes, entre as quais se destacam a demora na obtenção dos resultados, a impossibilidade de isolamento de todos os microrganismos presentes nos espécimes, o custo elevado e a exigência de infraestrutura complexa (LOOMER, 2004).

Na detecção da bacteremia, o método de cultura é considerado “padrão ouro” (WASHINGTON & ISLTRUP, 1986). Em laboratório de microbiologia clínica, sistemas automatizados de hemocultura são rotineiramente utilizados para esta finalidade (REIER-NILSEN *et al.*, 2009). Estes sistemas automáticos permitem o rápido reconhecimento do crescimento bacteriano por emissão de fluorescência ou uma mudança de cor da amostra. Uma vez que o crescimento é detectado, alíquotas são semeadas em diferentes meios de cultura para posterior identificação dos microrganismos isolados. Em casos de bacteremia, a definição do foco infeccioso permite associar a presença desse agente ao local afetado, permitindo melhor vigilância epidemiológica e a maior possibilidade de acerto em casos posteriores (SILVA *et al.*, 2002).

As técnicas de análise genotípica estão sendo cada vez mais utilizadas no diagnóstico de doenças infecciosas devido à capacidade de detecção e identificação de microrganismos não cultiváveis ou que exijam meios de cultura especializados e microrganismos com taxa de multiplicação lenta (RANTAKOKKO-JAVALA *et al.*, 2002).

A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), desenvolvida para a detecção de r-DNA 16S, tem sido usada com sucesso na identificação de bactérias aeróbias e também anaeróbias de infecções intra-abdominais (DOTY *et al.*, 2002). A precisão da abordagem da PCR para detecção de rDNA 16S varia de acordo com a amostra analisada, os microrganismos envolvidos, a carga bacteriana, e a presença de DNA bacteriano que não seja o do patógeno implicado na doença infecciosa (ESPARCIA *et al.*, 2011).

Entretanto, a PCR deve ser tratada como um método diagnóstico auxiliar a detecção de microrganismos na maioria das vezes, não podendo substituir o cultivo, que ainda é considerado padrão ouro no diagnóstico de alguns processos infecciosos. O trabalho de ESPARCIA *et al.* (2011), no qual a detecção genotípica foi comparada a cultura bacteriana no diagnóstico de SPB, deixa clara a importância de ambos os métodos. No referido estudo, a abordagem molecular mostrou resultados notavelmente mais pobres do que as culturas bacterianas. A sensibilidade e a taxa de casos diagnosticados corretamente foram 48,4% e 56,4% para a abordagem molecular e 80,6% e 89,1% para as culturas bacterianas. No entanto, DNA bacteriano foi detectado em 53,3% das amostras com cultura negativa.

O diagnóstico precoce das IIA é importante para avaliar a gravidade e o prognóstico da doença. Os fatores que influenciam a progressão destas infecções nos pacientes acometidos incluem idade avançada, desnutrição, doenças pré-existentes, uso de imunodepressores e peritonites

prolongadas, dentre outros, que prolongam a hospitalização e a susceptibilidade a infecções por microrganismos nosocomiais (LEE *et al.*, 2010; PICAZZO *et al.*, 2010).

1.5. TRATAMENTO DAS IIA

O tratamento dos pacientes com IIA varia de acordo com a subcategoria do processo infeccioso. No caso de IIA não complicada, os pacientes podem ser tratados com a ressecção cirúrgica ou antibioticoterapia (SARTELLI *et al.*, 2012^a). Já no tratamento dos pacientes com IIA complicadas associa-se, geralmente, a terapia antimicrobiana, o que é fundamental para reduzir as complicações geradas pela infecção, e o controle da fonte de infecção (SARTELLI *et al.*, 2012^a). Este último é definido como um procedimento único ou uma série de procedimentos que elimine os focos infecciosos com o intuito de corrigir ou controlar distúrbios anatômicos para restaurar a função fisiológica normal do sítio afetado (SOLOMKIN, 2010).

Um paciente com coleção purulenta intra-abdominal ou área necrosada necessita, via de regra, de uma intervenção cirúrgica como parte da terapêutica (JIMENEZ & MARSHALL, 2001; LLEWELY & COHEN, 2001). Entretanto, em algumas situações, como na diverticulite aguda não complicada, somente o uso de antimicrobianos, sem utilização de procedimento invasivo, pode ser suficiente para a resolução do processo inflamatório (MORALES *et al.*, 2004; SARTELLI *et al.*, 2012^a), assim como em alguns casos específicos de apendicite aguda não complicada (SARTELLI *et al.*, 2012^a).

Entretanto, a subcategoria do processo não é a única variável a ser analisada. FRIEDRICH & CAHAN (2013), encontraram uma grande heterogeneidade nas populações de pacientes com IIA em Unidades de Terapia Intensiva (CTI), o que torna difícil sugerir um regime geral de tratamento e ressalta a necessidade de uma abordagem individualizada para tomada de decisão. A intervenção deve ser orientada para o foco inicial e a cobertura antibiótica feita sob medida para cada paciente.

Fatores tais como diagnóstico precoce, pronta intervenção cirúrgica, resposta do hospedeiro, controle do foco da infecção e densidade do inóculo bacteriano no local da cirurgia são de grande importância no sucesso do tratamento (LEE, 2009). A terapia antimicrobiana, especialmente em pacientes gravemente enfermos, é também decisiva, uma vez que o regime insuficiente ou inadequado de antimicrobianos é uma das variáveis mais fortemente associadas à evolução desfavorável (DELLINGER *et al.*, 2008; PAUL *et al.*, 2010; ECKMANN *et al.*, 2011; SARTELLI *et al.*, 2012^a).

Além das falhas na antibioticoterapia, a *Surgical Infection Society* (SIS) e a *Infectious Diseases Society of America* (IDSA) incluem alguns fatores clínicos como preditores de falha no tratamento das IIA que são: (1) atraso nas fases iniciais de intervenção (24 h); (2) alta gravidade da doença; (3) idade avançada do paciente; (4) comorbidade envolvendo disfunção orgânica; (5) níveis baixos de albumina; (6) estado nutricional deficiente; (7) envolvimento peritoneal ou peritonite difusa; (8) incapacidade de atingir o desbridamento adequado ou o controle da drenagem; (9) presença de malignidade, e (10) infecção relacionada a cuidados de saúde (SARTELLI *et al.*, 2012).

Os antimicrobianos são geralmente iniciados quando se suspeita de diagnóstico de infecção intra-abdominal, mesmo antes de se confirmar o diagnóstico (WILSON *et al.*, 2005; COELHO *et al.*, 2007; GARNACHO-MONTERO *et al.*, 2014). Se necessário, após a obtenção do resultado da cultura e antibiograma, o que costuma ocorrer em 48 a 72 horas, modificações na antibioticoterapia devem ser feitas (O'BRIEN *et al.*, 2007; KASPER & COHEN-PORADOSU, 2008; MORRELL *et al.*, 2009), o que é conhecido como terapia com descalonamento (GARNACHO-MONTERO *et al.*, 2014), de forma a se evitar o desenvolvimento de superinfecção por microrganismo multirresistente (O'BRIEN *et al.*, 2007; MORRELL *et al.*, 2009).

Na seleção de antimicrobianos para início de terapia empírica, alguns aspectos devem ser atendidos, como: (1-histórico do paciente e diagnóstico) monoterapia baseada na cobertura dos patógenos mais prováveis de acordo com o foco de origem da infecção; (2-eficácia) antimicrobiano com boa penetração no órgão afetado; (3-segurança) droga com baixo potencial para desenvolver resistência e com poucos efeitos colaterais; (4-posologia) antimicrobiano com meia-vida mais longa e que necessite de menor número de doses diárias; (5-custo) antimicrobiano com melhor custo benefício (SOLOMKIN & MAZUSKI, 2003; CUNHA, 2008).

O uso de antimicrobianos é fundamental para reduzir a possibilidade de falha no tratamento de IIA (SOLOMKIN & MAZUSKI, 2003; LEE *et al.*, 2010). Entretanto, a antibioticoterapia indiscriminada é responsável pelo surgimento crescente de bactérias multirresistentes, infecções fúngicas (WILSON *et al.*, 2004) e aumento no custo dos tratamentos de IIA (ECKMANN *et al.*, 2011; SARTELLI *et al.*, 2012^a).

Desta forma, a antibioticoterapia para tratar IIA sempre envolve um equilíbrio delicado entre a otimização da terapêutica empírica, que tem mostrado melhorar os resultados clínicos, bem como a redução da utilização excessiva de agentes antimicrobianos, que tem provado aumentar a taxa de aparecimento de linhagens resistentes a antimicrobianos. Tal resistência tem sido identificada como um dos grandes desafios no tratamento das IIA complicadas (SARTELLI *et al.*, 2012^a).

O conhecimento da provável etiologia da infecção é determinante no tratamento. Uma vez que os anaeróbios são geralmente recuperados em associação com os aeróbios, a escolha dos agentes antimicrobianos deve fornecer cobertura para ambos os tipos microbianos (CHEADLE, 2003; VITAL *et al.*, 2009). A origem da infecção, comunitária ou nosocomial, também deve ser considerada (SARTELLI *et al.*, 2012^a). A *Surgical Infection Society* (SIS) e a *Infectious Diseases Society of America* (IDSA) determina que a seleção do antibiótico deva ser sempre adaptada para tratar os microrganismos nosocomiais conhecidos, por estarem presentes nas instalações em que o paciente desenvolveu a infecção (SARTELLI *et al.*, 2012^a).

Em casos de IIA com participação de fungos, a utilização de equinocandinas é, geralmente, preferida como uma terapia empírica de primeira linha no tratamento de pacientes gravemente doentes, enquanto o fluconazol é tipicamente usado para pacientes com condições menos graves. Por conseguinte, aplicando essas tendências para o contexto das IIA pode-se sugerir a prescrição de equinocandinas como tratamento de primeira linha para os casos de IIA nosocomiais graves (SARTELLI *et al.*, 2012^a).

1.6. IMPLICAÇÕES SISTÊMICAS DAS IIA

1.6.1 BACTEREMIA: ASPECTOS GERAIS E DADOS EPIDEMIOLÓGICOS

A bacteremia é definida como a presença de bactérias viáveis na corrente sanguínea (SILVA & VELASCO, 2007; CASTRO, 2008; HAGEL *et al.*, 2013). Quanto à fonte, as bacteremias podem ser classificadas como primárias ou secundárias. São consideradas primárias quando não estão relacionadas com outro foco infeccioso ou quando têm relação com infecção no sítio utilizado para acesso intravascular. Já aquelas que podem ser relacionadas com algum foco infeccioso pré-existente são ditas secundárias (GUILARDE *et al.*, 2007).

Sinais como febre, hipotermia, calafrios, leucocitose, desvio à esquerda, neutropenia e choque são os mais citados na literatura como sugestivos de bacteremia e sugerem a necessidade de realização de hemoculturas (IBRAHIM *et al.*, 2000; WILSON *et al.*, 2004; KASPER & COHEN-PORADOSU, 2008).

Nos casos de infecção de corrente circulatória, pode ocorrer produção excessiva e súbita de citocinas, e os mesmos mecanismos pelos quais o Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α) bloqueia uma infecção local com tanta eficiência, poderão tornar-se deletérios (EGBERT *et al.*, 1987). Os quadros de sepse e choque séptico estão associados à infecção e à liberação de componentes de

bactérias Gram negativo, como o LPS, ou de bactérias Gram positivo, como o ácido lipoteicóico, dentre outros (SURBATOVIC *et al.*, 2013).

A microcirculação é o principal alvo durante o choque e pode tornar-se uma área fértil para o crescimento bacteriano descontrolado. Alterações nas dimensões dos pequenos vasos, juntamente com alterações nas características bioquímicas e fisiológicas do sangue, prejudicam a homeostasia da microcirculação durante o choque (RÉA NETO, 1996; MORALES, *et al.*, 2004).

Segundo HAGEL *et al.* (2013), estudos mostram um aumento na taxa de bacteremia, tanto causadas por Gram negativo quanto por Gram positivo em toda a Europa. As razões para isso são o aumento em diagnósticos e terapia invasiva, indo junto com o aumento da idade dos pacientes, sendo a bacteremia frequentemente relacionada com cuidados de saúde.

No Brasil, segundo GUILARDE *et al.* (2007), em um trabalho realizado no Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública e no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás, foram detectados, no período de um ano, 295 episódios de bacteremia. 207 episódios eram de bacteremias secundárias, sendo o aparelho gastrointestinal, responsável por 10,5% destes. *S. aureus* foi a bactéria predominante, totalizando 40% de todos os casos, sendo seguida por *P. aeruginosa*, *Enterobacter* spp. e *E. coli*. Cinco pacientes apresentaram bacteremia polimicrobiana, com isolamento simultâneo de dois microrganismos na mesma amostra de hemocultura. Em relação ao perfil de suscetibilidade a antimicrobianos, evidenciou-se alta incidência de *S. aureus* resistente à metilina, MRSA, representando 55,9% das amostras de *S. aureus* recuperadas, a taxa de letalidade foi de 34,5%. Bacteremia anaeróbia é quase sempre secundária a uma infecção primária local, sendo cerca de 50% dos casos relacionados com infecção de origem abdominal (REDONDO *et al.*, 1995; MORRIS *et al.*, 2004; BROOK, 2008; LEE *et al.*, 2010).

Conforme relatado por BROOK *et al.* (2002), a espécie de anaeróbio recuperada depende, em grande parte, da porta de entrada e da doença existente. Aproximadamente, 75% das bacteremias anaeróbias são causadas por bastonetes Gram negativo (BROOK; 2008). *B. fragilis* é o anaeróbio mais frequentemente recuperado (MORRIS *et al.*, 2004; BROOK, 2008; KASPER & COHEN-PORADOSU, 2008). Esta espécie e outros membros do grupo *B. fragilis* representam 36% - 64% dos anaeróbios recuperados do sangue, sendo *Bacteroides thetaiotaomicron* o segundo membro mais comum do grupo nesses processos. Espécies de *Clostridium*, especialmente *C. perfringens*, e de *Peptostreptococcus* também são frequentemente isoladas (REDONDO *et al.*, 1995; LEE *et al.*, 2010).

Um resultado positivo de hemocultura está diretamente relacionado ao prognóstico de paciente grave. Dessa forma, é necessária a implantação de vigilância diária dos resultados de hemoculturas, principalmente dos pacientes com sepse, uma vez que a mortalidade associada às infecções da corrente sanguínea apresenta taxas elevadas, que variam de 20-40%. A rápida instituição de terapia antimicrobiana empírica adequada está diretamente relacionada à diminuição da mortalidade (IBRAHIM *et al.*, 2000; LEE *et al.*, 2010; SYDNOR & PERL, 2011).

1.6.2. SEPSE: ASPECTOS GERAIS E DADOS EPIDEMIOLÓGICOS

A síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS), quando deflagrada por infecção, é denominada sepse. Esta é definida como uma síndrome clínica caracterizada por resposta deletéria do hospedeiro a um processo infeccioso (CASTRO *et al.*, 2008) associada a inflamação sistêmica e lesão tecidual (SILVA & VELASCO 2007). A sepse é classificada como grave quando esta está associada à disfunção de um ou mais órgãos (SILVA & VELASCO 2007; CASTRO *et al.*, 2008), anormalidades de perfusão e episódios de hipotensão responsivos a hidratação vigorosa. Quando a hipotensão é refratária à ressuscitação volêmica, acompanhada das demais alterações citadas acima, o quadro de choque séptico está instaurado. O quadro clínico clássico de sepse é composto por febre, leucocitose, taquicardia e taquipnéia, podendo não ser observado em todos os casos (SILVA & VELASCO 2007), e não sendo específico da doença (REINHART *et al.*, 2013).

De acordo com CARVALHO e TROTTA (2003), o termo sepse é aplicável somente quando a resposta sistêmica é clinicamente relevante, podendo manifestar-se por uma variedade de situações. O quadro clínico é bastante variável em seu início, mas pode ser observado conforme o foco de origem ou a lesão infecciosa metastática, como a meningite, pneumonia, infecção urinária, otite média, peritonite, ectima gangrenoso, entre outros (BRANCHINI *et al.*, 1999). A gravidade do quadro depende de vários fatores, dentre os quais a virulência do organismo agressor e fatores relacionados ao hospedeiro, tais como idade, genética, sítio da infecção e presença de comorbidades (CASTRO *et al.*, 2008).

A fase inicial da sepse (fase “quente”) é caracterizada por pele quente e seca (devido à vasodilatação periférica), febre, hipotensão, taquicardia, confusão mental, ansiedade e taquidispnéia. Com a progressão do quadro (fase “fria”), a hipoperfusão resulta em acidose láctica, piora da perfusão tecidual (levando a cianose de extremidades) e disfunção orgânica (CASTRO *et al.*, 2008).

Tais processos são desencadeados por um conjunto de mediadores pró-inflamatórios e pela sequência de ativação dos leucócitos no endotélio, os quais levam a danos teciduais irreversíveis e ao

mecanismo biológico intrincado de expressão clínica da sepse e suas complicações. Estes processos possuem etiologias diversas e são causados pela presença de microrganismos, estruturas e/ou substâncias oriundas destes (LIVINGSOTON *et al.*, 1995; SURBATOVIC *et al.*, 2013).

A sepse tem alta incidência, alta letalidade, custos elevados e é a principal causa de morte em unidades de terapia intensiva (SALES *et al.*, 2006; CASTRO *et al.*, 2008), apesar dos avanços no tratamento suporte de pacientes gravemente doentes (SUBERVIOLA *et al.*, 2013), estando claramente demonstrado que pacientes reconhecidos e tratados precocemente têm melhor prognóstico (CASTRO *et al.*, 2008; REINHART *et al.*, 2013; GARNACHO-MONTERO *et al.*, 2014). Entretanto, o diagnóstico e a avaliação da gravidade da sepse ainda é um desafio (SUBERVIOLA *et al.*, 2013), sendo que, atualmente, as intervenções médicas são proporcionadas em tempo adequado a menos de um em cada sete pacientes (REINHART *et al.*, 2013).

A alta mortalidade por sepse grave e choque séptico está intimamente relacionada à inadequação da abordagem do agente infeccioso. A conduta terapêutica, incluindo a antimicrobiana, vai diferir, substancialmente, de acordo com o local da infecção primária (CASTRO *et al.*, 2008). O abdome é o segundo local mais comum desta, sendo os pulmões os primeiros sítios afetados. Em 20 a 30% dos pacientes, a infecção primária não é determinada (SILVA & VELASCO, 2007). O controle do foco é pré-requisito para que as defesas do hospedeiro, bem como a antibioticoterapia, tenham sucesso na eliminação do agente agressor (CASTRO *et al.*, 2008).

Em todo o mundo, a sepse é uma das mais comuns doenças fatais. Trata-se de uma das poucas condições a atingir, com igual intensidade, áreas com escassez de recursos e o mundo desenvolvido. Estima-se que, em todo o mundo, de 20 a 30 milhões de pacientes sejam atingidos anualmente. Mundialmente, a cada hora, cerca de 1.000 pessoas morrem de sepse. Apesar de ser responsável por uma perda anual de mais de oito milhões de vidas, a sepse é uma das doenças menos conhecidas (REINHART *et al.*, 2013).

Em países ricos, a sepse vem aumentando em uma alarmante taxa anual de oito a 13%. As razões para isso são variadas e incluem o envelhecimento populacional, o uso crescente de intervenções de alto risco e o desenvolvimento de patógenos mais virulentos e resistentes a antimicrobianos. Nos países em desenvolvimento, a desnutrição, a pobreza e a falta de acesso a vacinas e ao tratamento precoce contribuem para a morte (REINHART *et al.*, 2013).

Sepse é responsável por 9% dos óbitos e é considerada a décima causa de morte nos Estados Unidos (SHARMA & KUMAR, 2008; MORRELL *et al.*, 2009). Aproximadamente, 50% dos casos

evoluem para sepse grave e metade desses acaba em choque séptico. Além disso, o custo do seu tratamento é estimado em dezessete bilhões de dólares (O'BRIEN *et al.*, 2007; SHARMA & KUMAR, 2008; MORRELL *et al.*, 2009). Segundo KUMAR (2014), as estimativas atuais apontam para uma duplicação do total de casos de sepse grave nos Estados Unidos, dos atuais 800.000 por ano para 1,6 milhões de casos em 2050, com um aumento na população de apenas 33%.

No Brasil, o estudo BASES (*Brazilian Sepsis Epidemiological Study*) mostrou que em torno de 25% dos pacientes internados em Unidades de Terapia Intensiva se enquadram nos critérios diagnósticos para sepse grave e choque séptico, com as taxas de 34,7% para sepse, 43,7% para sepse grave e 52,2% para choque séptico (SILVA *et al.*, 2004).

Em uma pesquisa epidemiológica, envolvendo 65 hospitais, selecionados em todas as regiões do Brasil durante o ano de 2003, a mortalidade por sepse, sepse grave e choque séptico foi, respectivamente, de 16,7%, 34,4% e 65,3%, ou seja, a cada agravamento do quadro dobrou a mortalidade do processo infeccioso. Além de ser a sepse a principal causa de morte nas UTI, como mencionado, estudo em pacientes cirúrgicos não cardíacos evidenciou ser a sepse a principal complicação em UTI no Brasil, acometendo 23% dos doentes operados e com a maioria dos óbitos atribuída à insuficiência de múltiplos órgãos (LOBO *et al.*, 2008).

Estima-se ainda no Brasil, que 28,9% dos pacientes que estão internados há mais de 24 horas em UTI tenham sepse grave e 51,4%, choque séptico. Na forma mais grave de apresentação da sepse, a taxa de mortalidade chega a 80%, em alguns centros (LEMOS *et al.*, 2005).

1.6.2.1 FISIOPATOLOGIA DA SEPSE DE ORIGEM INTRA-ABDOMINAL

A fisiopatologia da sepse depende do tipo de microrganismo envolvido, do sítio de origem da infecção (se pulmonar ou abdominal, origens estas que agravam os riscos de desenvolver sepse grave), da presença ou não de comorbidades e do tipo de resposta imune que o paciente é capaz de desenvolver. Dependendo da adequação ou não da resposta imune e do tratamento antimicrobiano associado, poderá ocorrer cura do processo ou a infecção pode evoluir para sepse grave, choque séptico, insuficiência de múltiplos órgãos e o óbito (MUNFORD, 2005; VAN DER POLL & OPAL, 2008; LEROY *et al.*, 2009).

O reconhecimento do padrão de resposta do organismo aos processos inflamatórios desencadeados por infecção é extremamente importante devido à necessidade de se conhecer um marcador inicial que pudesse auxiliar no diagnóstico precoce e no prognóstico do paciente,

incluindo-se aqueles com comprometimento peritoneal pós-operatório (O'MAHONY *et al.*, 1985; SANTOS, 2001; SNYDMAN *et al.*, 2007). Atualmente, os principais biomarcadores utilizados são a proteína C reativa (RCP) e a procalcitonina (PCT). Entretanto, o papel de ambas como marcadores prognósticos em pacientes gravemente doentes é controverso (SUBERVIOLA *et al.*, 2013).

A superfície peritoneal responde à lesão com reação inflamatória inespecífica, de forma idêntica a qualquer outra estrutura do organismo, cuja gravidade depende mais de fatores relacionados ao hospedeiro do que ao agente agressor (MANGRAM *et al.*, 1999; SANTOS *et al.*, 2001; WILSON & LIMAYE, 2004; KASPER & COHEN-PORADOSU, 2008). A resposta peritoneal à agressão é comparável à resposta inflamatória sistêmica e envolve mecanismos de interação humoral e celular, idênticos associados à exagerada produção local de citocinas pró-inflamatórias, tais como o fator de necrose tumoral (TNF), interleucinas (IL-1, IL-2 e IL-8), e outras, além da liberação de histaminas pelos mastócitos peritoneais, em quantidade que depende da gravidade da lesão e destruição da superfície mesotelial. Em geral, sua produção determina concentrações superiores aos níveis sistêmicos, dosados simultaneamente, com significado de gravidade que é inversamente proporcional à sobrevida (FUGGER *et al.*, 1993; CHUNG *et al.*, 2004; KASPER & COHEN-PORADOSU, 2008).

Associada à resposta inflamatória intestinal, a abertura da cavidade abdominal desencadeia resposta intraperitoneal que se caracteriza pela redução da função fagocítica dos macrófagos na cavidade (predispondo o indivíduo às infecções abdominais) e pelo aumento da liberação de citocinas (principalmente TNF, IL-1 e IL-6), levando a maior probabilidade de complicações intra-abdominais, tais como peritonite bacteriana (TSUKADA *et al.*, 1993; VAN BERGE *et al.*, 1998; CALICH & VAZ, 2001; KASPER & COHEN-PORADOSU, 2008).

As células de defesa liberam diversas moléculas, como mediadores pró-inflamatórios, que irão produzir uma sucessão de outras substâncias na tentativa de levar a uma resposta coordenada. Ao longo do processo, a síntese dos componentes dessa cadeia é aumentada em muitas etapas, algumas dessas moléculas são pró-inflamatórias e outras anti-inflamatórias, na busca do organismo de manter a homeostase. A cadeia inflamatória resulta da adesão neutrófilo-célula endotelial, ativação da coagulação e geração de outros mediadores secundários, como cininas, prostaglandinas, leucotrienos e proteases (CASTRO, 2008; SHARMA & KUMAR, 2008).

Dentre as citocinas pró-inflamatórias, IL-1, IL-12, IL-18 e TNF são as de maior relevância e as mais estudadas em sepse. IL-2, IL-8 e IFN- γ são, igualmente, citocinas pró-inflamatórias secretadas em sepse. O TNF é a primeira citocina liberada por monócitos e macrófagos em resposta

às endotoxinas, atingindo níveis séricos máximos uma a duas horas após a infusão de LPS. É um potente ativador de macrófagos e neutrófilos, induz proliferação celular, produção de IL-1 e moléculas de adesão por células endoteliais. A citocina IL-1 apresenta duas isoformas, IL-1- α e IL-1- β e tem sua expressão estimulada por LPS, ácido teicóico, e diversos componentes do sistema imune; IL-1 apresenta vários efeitos biológicos semelhantes e sinérgicos aos do TNF (SILVA & VELASCO, 2007); IL-8 é um importante mediador inflamatório que pertence à família das quimiocinas CXC, atuando no recrutamento de neutrófilos para o tecido inflamado. As citocinas IL-8, IL-1 e TNF desempenham papel central na iniciação e manutenção da resposta inflamatória (YOMOGIDA, 2006), sendo IL-1 β um sinal característico da ativação do inflamassoma (BROZ & MONACK, 2013).

Dentre as citocinas anti-inflamatórias, incluem-se IL-4, IL-6, IL-10, IL-11 e IL-13. Estas apresentam funções imunorregulatórias que controlam a resposta pró-inflamatória. Entretanto, também apresentam propriedades pró-inflamatórias (SILVA & VELASCO, 2007). Historicamente, IL-6 é vista como pró-inflamatória, mas apresenta funções anti-inflamatórias, induzindo a síntese de glucocorticóides e promovendo a síntese de IL-1ra, receptor antagonista de IL-1, e inibindo a produção de TNF (SILVA & VELASCO, 2007; BRĂNESCU *et al.*, 2013). Por outro lado, IL-10 é um potente inibidor de citocinas Th1, como INF- γ e IL-12. Inibe também a secreção macrófágica de TNF, IL-1, IL-6, IL-8 e IL-12, a expressão celular de MHC-II, moléculas acessórias e CD14 e a produção de citocinas por neutrófilos e células NK. Em geral, IL-10 protege o hospedeiro de resposta inflamatória sistêmica induzida por toxinas, mas deixa-o mais suscetível numa variedade de modelos experimentais de infecção (SILVA & VELASCO, 2007).

A resposta inflamatória sistêmica ocorre tardiamente e se caracteriza pela elevação dos níveis séricos de proteínas de fase aguda e de citocinas, após permanecerem indetectáveis na circulação sanguínea por vários dias, sugerindo que as proteínas de fase aguda são produzidas localmente e que as citocinas têm sua origem no peritônio (BADIA *et al.*, 1996; RIESE *et al.*, 2000; SANTOS, 2001; KASPER & COHEN-PORADOSU, 2008). Têm como objetivo primordial promover a defesa do organismo (DAVIES & HAGEN, 1997; CALICH & VAZ, 2001; JANEWAY *et al.*, 2002). Entretanto, reconhece-se, também, que uma resposta inflamatória exagerada pode trazer efeitos deletérios, podendo comprometer à evolução pós-operatória. (KASPER & COHEN-PORADOSU, 2008).

A resposta imune celular é desempenhada por leucócitos polimorfonucleares, que exercem papel primordial na defesa do organismo contra infecções (HACKMAN *et al.*, 1998; WAKEFIELD

et al., 1993; KASPER & COHEN-PORADOSU, 2008) e por células mononucleares, responsáveis pelo processamento (opsonização) de patógenos (antígenos) e pela realização de funções imunes específicas, caracterizadas pela expressão de receptores na parede celular que possibilitam o reconhecimento destes patógenos e a sua apresentação para os linfócitos que irão produzir anticorpos específicos contra o antígeno (reação antígeno-anticorpo) (SIETSES *et al.*, 1999; CALICH & VAZ, 2001). Essas reações específicas são mediadas por moléculas pertencentes ao complexo de histocompatibilidade maior, classe II (MHC-II), que estão presentes na superfície das células (antígeno leucocitário humano DR, HLA-DR), de forma que a baixa expressão destas moléculas em monócitos e macrófagos predispõe a infecções pós-operatórias (SANTOS, 2001; JANEWAY *et al.*, 2002). A fisiopatologia da sepse envolve mecanismos distintos que dependem do grupo microbiano participante, como se expõe, a seguir.

1. Bastonetes Gram negativo. Neste processo, a reação é iniciada a partir da endotoxina, componente lipopolissacarídico (LPS) da parede celular. A simples fagocitose de endotoxina pelos macrófagos causa liberação de citocinas para combater um possível invasor (MUNFORD, 2005; SHAPIRO *et al.*, 2006; CASTRO *et al.*, 2008; VAN DER POLL & OPAL, 2008; SURBATOVIC *et al.*, 2013).

2. Cocos Gram positivo. Componentes da parede celular desse grupo, como a molécula de peptidoglicano e ácidos lipoteicóicos, desencadeiam respostas semelhantes às induzidas pelo componente lipopolissacarídico dos bacilos Gram-negativos (CASTRO *et al.*, 2008; LAPPIN & SURBATOVIC *et al.*, 2013). Além disso, alguns estafilococos e estreptococos podem produzir superantígenos, que são proteínas com a capacidade de disparar uma ativação amplificada e não convencional dos linfócitos T, com o consequente acionamento de outras células e grande liberação de citocinas e outros mediadores, como ocorre na síndrome do choque tóxico causada por algumas linhagens de *Streptococcus pyogenes* e de *S. aureus* (LAPPIN & FERGUSON, 2009).

3. Cocos Gram negativo. No caso da *Neisseria meningitidis* e outros poucos patógenos intravasculares, a bactéria circulante é diretamente responsável por iniciar a inflamação nos vasos sanguíneos. Ao liberar sua endotoxina, rapidamente induz a coagulação intravascular disseminada, sepse grave e choque (MUNFORD, 2005).

4. Leveduras. Moléculas de sua parede celular, como betaglicanos e resíduos de mananos, podem, também, levar a um quadro semelhante ao produzido pelo componente lipopolissacarídico dos bastonetes Gram-negativo e pelo peptidoglicano dos cocos Gram-positivo (VAN DER POLL & OPAL, 2008).

2. JUSTIFICATIVA

As infecções intra-abdominais (IIA) representam um dos problemas clínicos mais comuns na prática hospitalar, especialmente na área da cirurgia e nos centros de tratamento intensivo, apresentam elevada prevalência e são responsáveis por significativa morbimortalidade.

Os microrganismos responsáveis por estas infecções são, geralmente, oriundos da microbiota indígena do trato gastrointestinal, devido à grande concentração de microrganismos no lúmen intestinal, onde predominam as bactérias anaeróbias. A distribuição destas bactérias pode variar dependendo do sítio anatômico infectado, do tempo da infecção antes do tratamento e da origem, que pode ser comunitária ou hospitalar.

A característica polimicrobiana destas infecções, envolvendo microrganismos com perfil de resistência a múltiplas drogas, e a disseminação hematogênica destes patógenos pode suscitar uma resposta imunológica exacerbada, levando à falha ou falência múltipla de órgãos, e ao óbito.

A complexidade do cultivo de anaeróbios, dentre outros fatores, tem interferido nos estudos destas bactérias. Nos últimos anos, contudo, a importância das bactérias anaeróbias tem sido cada vez mais reconhecida, não só como agentes causais de diversas doenças, mas, também, porque têm se mostrado uma importante via para a disseminação de genes de resistência. Estudos vêm mostrando a crescente resistência de bactérias anaeróbias e aeróbias recuperadas de vários tipos de infecções, hospitalares ou não, incluindo as IIA, a uma diversidade de antimicrobianos.

Métodos de cultivo para bactérias anaeróbias ainda não fazem parte da rotina da maioria dos laboratórios clínicos no Brasil. Consequentemente, os testes de susceptibilidade também não são realizados e a resistência aos antimicrobianos das bactérias anaeróbias obrigatórias é, portanto, pouco documentada em nosso meio. Este fato leva o clínico, na maioria das vezes, a basear sua conduta terapêutica em perfis de resistência externos, que podem não corresponder aos padrões regionais ou locais, que deveriam ser periodicamente revistos. Tal fato é preocupante, uma vez que a terapia antimicrobiana desempenha um papel fundamental na gestão das IIA, especialmente em pacientes gravemente enfermos que necessitam de terapia empírica, sendo o regime, insuficiente ou inadequado, de antimicrobianos uma das variáveis associadas à evolução clínica desfavorável.

A relevância e atualidade do tema exige um efetivo comprometimento dos grupos de pesquisa e dos profissionais da área para minimizar esta problemática. Este estudo dará continuidade à linha de pesquisa iniciada com um trabalho de mestrado no Laboratório de Microbiologia Oral e

Anaeróbios, no ano 2000. A contribuição esperada, além de atender ao apelo imediato dos médicos, deverá representar a geração de dados úteis para o aprimoramento de programas de controle de infecção, tendo em vista a alta incidência das IIA e a alarmante epidemia da resistência a antimicrobianos, inclusive entre os anaeróbios.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a composição da microbiota associada a infecções intra-abdominais (IIA) e o seu perfil de suscetibilidade a antimicrobianos, incluindo-se as bactérias anaeróbias obrigatórias, e o perfil de citocinas extracelulares dos pacientes acometidos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Recuperar e identificar a microbiota presente nas secreções abdominais e no sangue periférico de pacientes com quadro clínico de IIA;
- Confirmar, por análise genotípica, a identificação fenotípica automatizada dos microrganismos anaeróbios recuperados das IIA;
- Determinar o perfil de susceptibilidade dos microrganismos recuperados a antimicrobianos de interesse clínico;
- Pesquisar a produção de Beta Lactamases de Espectro Estendido (ESBL) pelos anaeróbios recuperados, assim como a concentração inibitória mínima dos antimicrobianos de uso terapêutico;
- Quantificar os níveis de citocinas extracelulares presentes na secreção intra-abdominal e no soro dos pacientes com IIA.

4. PACIENTES E MÉTODOS

4.1 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (Parecer nº; ETIC 0097.0.203.000-10. Anexo A). A autorização para inclusão no estudo foi obtida mediante assinatura pelos pacientes ou responsáveis legais do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo B). Os dados demográficos, clínicos e epidemiológicos foram registrados em ficha própria (Anexo C).

4.2. ETAPA CLÍNICA

4.2.1 DESENHO DO ESTUDO

Trata-se de estudo transversal, observacional, abrangendo espécimes clínicos de pacientes apresentando quadro clínico de infecções intra-abdominais (IIA).

4.2.2 INSTITUIÇÕES ENVOLVIDAS

- Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (HC-UFMG). É um hospital universitário, público e geral que realiza atividades de ensino, pesquisa e assistência, sendo referência no sistema municipal e estadual de saúde no atendimento aos pacientes portadores de doenças de média e alta complexidade.

- Hospital Risoleta Tolentino Neves da Universidade Federal de Minas Gerais (HRTN-UFMG). É um hospital universitário e público que realiza atividades de ensino, pesquisa e assistência, sendo responsável pelo atendimento aos pacientes de urgência clínica e cirúrgica, traumatológica e não traumatológica.

- Hospital da Polícia Militar do Estado de Minas Gerais (HPM-MG). É um hospital geral que presta assistência integral aos policiais militares e bombeiros militares do Estado de Minas Gerais e seus dependentes.

- Centro Especializado em Ultrassonografia de Belo Horizonte, Minas Gerais (CEU-BH). É uma clínica do setor privado especializada na prestação de serviços médicos na área de diagnóstico e terapêutica por imagem.

4.2.3 CAUSUÍSTICA

Foram avaliados pacientes com quadro clínico de IIA diversas, acompanhados por médico e equipe clínica responsável.

4.2.4 COLETA DE ESPÉCIMES DE IIA

As coletas foram realizadas nos serviços citados, pelo médico responsável, quando ocorreu indicação clínica.

Para avaliação da microbiota das secreções intra-abdominais, os espécimes foram obtidos por punção com agulha e seringa nos sítios acometidos durante intervenção cirúrgica, ou aspiração guiada por ultrassonografia no momento do procedimento de drenagem. Uma alíquota de 2mL foi transferida para o meio de transporte *Ringer Pre-Reduced Anaerobically Sterilized* – PRAS para cultura de anaeróbios (SUTTER *et al.*, 1980; SUMMANEN, 1993), e outra (5mL) para tubos esterilizados de primeiro uso para as análises moleculares e imunológicas. Esse material clínico foi transportado imediatamente para o Laboratório de Microbiologia Oral e Anaeróbios do ICB/UFMG.

4.2.5 COLETA DE SANGUE

Foram coletados 20mL de sangue periférico de cada paciente. A metade (10mL) foi transferida para frasco esterilizado de hemocultura, específico para cultura de bactérias anaeróbias (BD BACTECT™ Plus Aerobic/F*). O restante (10mL) foi para tubo de sorologia, também esterilizado a vácuo, descartável (Vacutainer). As coletas aconteceram de acordo com solicitação dos médicos responsáveis, durante os seus procedimentos de rotina.

Os frascos de hemocultura foram incubados no equipamento BD BACTECT™ *Instrumented Blood Culture Systems* por até sete dias.

Os soros foram obtidos por meio de centrifugação das amostras de sangue a 800g, por 10min, a 4°C e, em seguida, foram estocados a -20°C, até sua utilização.

4.3 ETAPA LABORATORIAL

4.3.1 ISOLAMENTO DE MICRORGANISMOS

Os espécimes transportados em solução de Ringer PRAS foram introduzidos em câmara anaeróbica, com atmosfera de 5% de CO₂, 10% de H₂ e 85% de N₂ (*Forma Scientific Anaerobic System # 1025*), para o isolamento de bactérias anaeróbias, utilizando-se os meios de cultivo específicos para os grupos microbianos, de acordo com manuais já padronizados para este procedimento (SUTTER *et al.*, 1980; SUMMANEN, 1993). Para isolamento de bactérias anaeróbias foram utilizados os meios Ágar Brucella, suplementado com 5mg/ml de hemina, 1mg/ml de menadiona e 5% de sangue de carneiro-BRU-S; Ágar Bacteroides-Bile-Esculina, suplementado com 5mg/ml de hemina, 1mg/ml de menadiona e 2,5ml/L de Gentamicina-BBE; Ágar Phenylethanol, suplementado com 5mg/ml de hemina, 1mg/ml de menadiona e 5% de sangue de carneiro -PEA, e

Ágar Omata, composto por 1,5% de tripticase peptona, 0,5% de extrato de levedura, 0,5% de glicose, 0,5% de cloreto de sódio, 0,075% de L-cistina, 0,001% cristal violeta, 0,001% de sulfato de estreptomicina, 1,5% de Ágar e 5% de soro de cavalo.

Os espécimes transportados na seringa foram processados em capela de fluxo laminar (Veco microbiológica Biosafe I), e semeados no meio de enriquecimento *trypticase soy agar* suplementado com 5% de sangue de cavalo –TSA-S, e seletivos ágar MacConkey e Manitol, para bactérias aeróbias, incluindo anaeróbias facultativas. Em seguida, foram incubadas em estufa bacteriológica, a 37°C, por um período de até 48 horas (SUMMANEN *et al.*, 1993; ANVISA 2004).

Para isolamento de fungos, foi utilizado o ágar *Sabouraud*, acrescido de cloranfenicol (100µg/ml), incubado à temperatura ambiente por até 30 dias (DIXON & FROMTLING, 1995).

As características morfológicas de todas as amostras foram analisadas em esfregaços corados pelo método de Gram (HOLDEMAN *et al.*, 1977). As amostras foram conservadas em freezer - 86°C, em caldo Brucella, acrescido de glicerol (concentração final 10%). O fluxograma da figura 1 apresenta todas as etapas de processamento dos espécimes clínicos obtidos de pacientes com quadros clínicos de IIA.

4.3.2 IDENTIFICAÇÃO FISIOLÓGICO/ENZIMÁTICA DOS MICRORGANISMOS RECUPERADOS DE IIA E DA CORRENTE SANGUÍNEA

4.3.2.1 AMOSTRAS RECUPERADAS NA CÂMARA ANAERÓBICA

Após o período de incubação em câmara anaeróbica, passou-se à obtenção de culturas puras a partir de diferentes formas coloniais crescidas nos meios de cultura PEA, BRU-S, BBE e Omata. Em seguida à obtenção das culturas puras, foi realizado o teste respiratório, semeando-se cada morfotipo colonial obtido em três placas de ágar BRU-S, estas placas foram incubadas respectivamente, em anaerobiose (câmara anaeróbica), em microaerofilia (método da vela) e em aerobiose (estufa bacteriológica), a 37°C, por 48 horas.

Foi considerado anaeróbio obrigatório aquele microrganismo que se multiplicou somente em condições de anaerobiose; microaerófilo aqu

ele que se multiplicou na câmara anaeróbica e também em condições microaerófilas; anaeróbio facultativo aquele que se multiplicou nas três condições testadas.

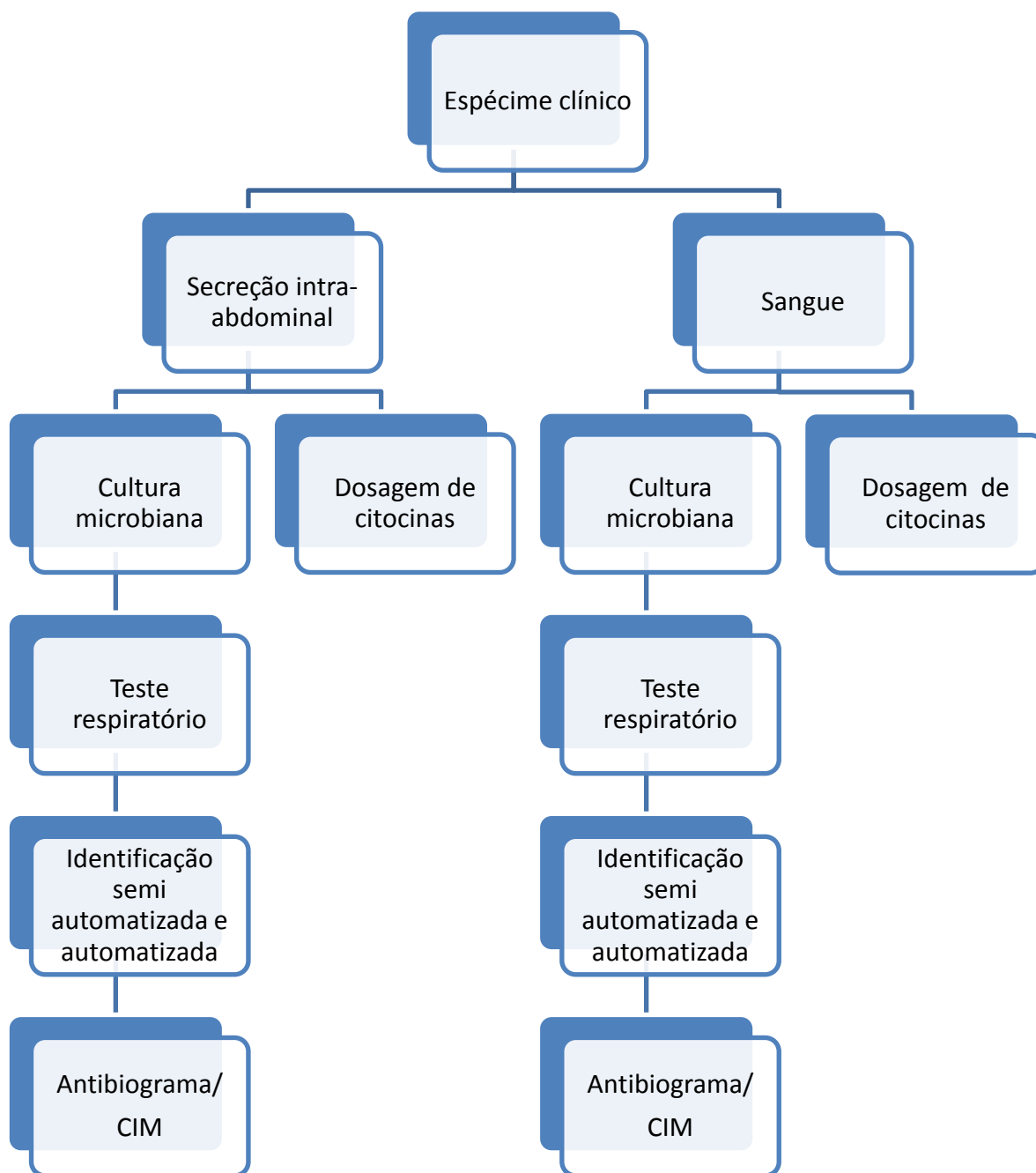


FIGURA 1: Fluxograma do processamento das amostras clínicas obtidas de pacientes com IIA. **CIM**= concentração inibitória mínima

Após o teste respiratório, as amostras consideradas anaeróbias obrigatórias foram identificadas presuntivamente pelo método de Gram e pelas características macroscópicas das colônias. Em seguida estas foram crescidas em ágar sangue, por 48h e as colônias isoladas submetidas à identificação, nos níveis de gênero e espécie, utilizando-se o cartão ANC ID, composto por 36 provas bioquímicas (quadro 1 do anexo D), para identificação de bactérias anaeróbias e fastidiosas no sistema automatizado Vitek® II, *Biomérieux*.

O sistema VITEK® II utiliza a tecnologia colorimétrica de leitura de provas miniaturizadas, distribuídas em um cartão plástico composto por 64 micropoços contendo substratos liofilizados, para realizar a identificação bioquímica automatizada dos microrganismos e um poço de controle negativo utilizado como referência do valor de base para os poços do teste de descarboxilase. Em cada um dos poços é medida a utilização de fonte de carbono, atividade enzimática e resistência do microrganismo. Os substratos liofilizados são dissolvidos pela adição de 30 µL da suspensão bacteriana (preparada de acordo com instruções do fabricante) que é aspirada para o interior do cartão antes da incubação realizada a 37°C por período de tempo variável.

Os resultados obtidos são cruzados com o banco de dados do sistema, que apresenta as reações típicas para os principais microrganismos de relevância clínica, e assim o microrganismo analisado é identificado de acordo com o perfil bioquímico proporcionado.

4.3.2.2 AMOSTRAS RECUPERADAS EM ESTUFA BACTERIOLÓGICA

As colônias isoladas a partir do meio de enriquecimento TSA-S e dos meios seletivos ágar Manitol, ágar MacConkey e ágar *Sabouraud* foram identificadas presuntivamente pelas características macroscópicas das colônias, pelo método de Gram e por métodos fisiológicos presuntivos e automatizados padronizados.

4.3.2.2.1 COCOS GRAM POSITIVO

Os cocos Gram positivo (CGP) foram inicialmente submetidos ao teste para a verificação da produção da catalase. Este teste foi realizado em lâminas de vidro, a partir das culturas puras, crescidas em ágar TSA sem sangue, adicionando-se gotas de peróxido de hidrogênio a 10% sobre a colônia. A formação de bolhas de gás indicou reação positiva.

Para a família *Staphylococcaceae* (estafilococos) a prova é geralmente positiva, enquanto que para a família *Streptococcaceae* (estreptococos) é negativa (ANVISA, 2004).

Posteriormente, as amostras produtoras de catalase, foram submetidas aos testes de produção de coagulase e DNase, para a identificação presuntiva da espécie *S. aureus*. O teste de coagulase se baseia na presença da coagulase livre, que reage com um fator plasmático formando um complexo

que atua sobre o fibrinogênio, formando a fibrina. Já o teste da DNase consiste na inoculação de colônias em meio contendo DNA, (DNase test agar) obtido comercialmente, sendo considerado positivo quando há formação de halo de degradação de DNA (límpido) ao redor do inóculo (ANVISA, 2004).

Os testes de produção de Esculinase e de halotolerância foram utilizados se a produção da catalase foi negativa, para a diferenciação de *Enterococcus* spp. ou *Streptococcus* spp. Estes testes consistem na inoculação de colônias puras nos meios ágar Bile Esculina (BE) e no Caldo NaCl 6,5%, respectivamente. O teste da BE é considerado positivo quando este apresentar crescimento bacteriano e mudança da cor verde para marrom escuro, o que indica redução da esculina a esculetina, já o caldo de NaCl a 6,5 % é positivo quando houver crescimento bacteriano, evidenciado pela turvação do meio. Todos os estreptococos do grupo D de Lancefield apresentam a bile esculina positiva, seja *Enterococcus* spp ou *Streptococcus* do grupo D não enterococo (*Streptococcus bovis*). Quanto ao teste da tolerância ao NaCl a 6,5%, somente os do gênero *Enterococcus* são positivos (ANVISA, 2004).

Após esta identificação preliminar, os microrganismos foram crescidos em ágar apropriado por 24h e colônias isoladas foram submetidas à identificação, nos níveis de gênero e espécie, utilizando-se o cartão GP ID, composto por 43 testes bioquímicos (quadro 2 do anexo D), para identificação de bactérias Gram positivo, no sistema automatizado Vitek II, *Biomérieux*.

4.3.2.2 BASTONETES GRAM NEGATIVO

Os bastonetes Gram negativo (BGN) foram, inicialmente, submetidos ao teste da oxidase. Este consiste em fazer um esfregaço da colônia a ser identificada na fita da reação, obtida comercialmente. As bactérias que produzem a enzima oxidase apresentam um sistema de transporte de elétrons denominado sistema citocromo oxidase. Neste sistema, os aceptores eletrônicos naturais podem ser substituídos por substratos artificiais, que na presença de oxigênio atmosférico, são oxidados pela citocromo oxidase, formando um composto colorido (PROBAC DO BRASIL). Se o esfregaço bacteriano na fita apresentar coloração rosa, que após alguns minutos pode mudar para preta, o teste é considerado positivo. Caso o esfregaço bacteriano não apresente alteração de cor, o teste é considerado negativo (MAC FADDIN, 1976; KONEMAN *et al.*, 2001).

Posteriormente, os microrganismos foram submetidos ao teste do meio IAL/RUGAI. Este meio foi elaborado para triagem de enterobactérias e é composto de nove provas em apenas um tubo de ensaio, que consistem em: indol (tampa), fermentação de sacarose e glicose e produção de gás,

fenilalanina, uréia, H₂S, lisina e motilidade. A leitura é realizada seguindo o protocolo de leitura do meio, de acordo com cada prova (KONEMAN *et al.*, 2001; ANVISA, 2004).

Após esta identificação preliminar, os microrganismos foram semeados em ágar apropriado por 24h e colônias isoladas foram submetidas à identificação, nos níveis de gênero e espécie, utilizando-se o cartão GN ID, composto por 47 testes bioquímicos (quadro 3 do anexo D), para identificação de bactérias Gram negativo no sistema automatizado Vitek II, *Biomérieux*.

4.3.2.3 LEVEDURAS

As leveduras foram identificadas, nos níveis de gênero e espécie, apenas por método automatizado, utilizando-se o cartão YST ID, composto por 46 testes bioquímicos (quadro 4 do anexo D), para identificação de leveduras no sistema automatizado Vitek II, *Biomérieux*.

4.4 CONFIRMAÇÃO GENOTÍPICA MICROBIANA

Nesta etapa, foram alvos da reação os microrganismos recuperados e caracterizados como bastonetes Gram negativo anaeróbios previamente identificados fenotipicamente pelo sistema Vitek II de acordo com o item 4.3.2.1.

4.4.1 PCR CONVENCIONAL

4.4.1.1 EXTRAÇÃO DE DNA

O DNA dos espécimes clínicos e das amostras de referência, empregadas como controle, foi extraído pelo método do fenol-clorofórmio, como descrito por FOX *et al.* (1994). Ao sedimento do material obtido após centrifugação, foi adicionado tampão STET (sacarose 8%, Tris-HCl 50 mM, EDTA 50 mM, Triton X-100 0,1 %; pH 8,0) e lisozima (6µg/µL). A mistura foi incubada a 37°C, por 12 minutos e, a seguir, foram adicionados SDS (1,5%) e RNase A (0,02µg/µL). Após incubação por uma hora, a 37°C, foi adicionada proteinase K (0,7 µg/µL). A suspensão foi homogeneizada e incubada a 37°C, por 24 horas.

Em seguida, foram adicionados NaCl (0,7 µmol/µl) e uma solução contendo partes iguais de CTAB 5% e NaCl 0,7M e a suspensão foi agitada delicadamente e incubada por 10 minutos, a 56°C. O DNA foi extraído em igual volume de fenol e clorofórmio (1:1) e precipitado com acetato de sódio 0,3M (2,6 µmol/µL) e, aproximadamente, dois volumes de etanol absoluto, a -20°C, por 24 horas.

A suspensão foi centrifugada a 12.000 rpm, por 75 minutos, à temperatura de 4°C e, após a evaporação do etanol residual, foram acrescentados dois volumes de etanol 70%. O material foi, novamente, centrifugado a 12.000 rpm, por 25 minutos, e o sedimento de DNA diluído em 50µL de

água Milli-Q estéril e estocado a -20°C. A concentração de DNA de cada amostra foi medida em espectrofotômetro Nanodrop ND-1000, empregando-se comprimento de onda de 260 nm (AVILA-CAMPOS *et al.*, 1999; SONG, 2005).

4.4.1.2 PREPARO DO MASTER-MIX

Utilizou-se nesta etapa o Kit Master Mix Promega®, MADISON-WI USA, contendo: 500 units/ml de Taq DNA polimerase, 400µM de dATP, dGTP, dCTP, dTTP e 3 mM de MgCL₂. Cada reação ocorreu com um volume final e outras quantidades de constituintes determinados para cada gene pesquisado, como mostrado no quadro 1.

QUADRO 1

Constituintes da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) utilizados na identificação dos bastonetes Gram negativo anaeróbios

Reagentes	Concentração			Volume (µl)		
	Primer (Pm/µl)	DNA (ng/µl)		Bf	Fn	Pi, Pb, Pm,
Primer F	5,0	2,0	10,0	2,0	1,5	2,0
Primer R	5,0	2,0	10,0	2,0	1,5	2,0
PCR mix	-	-	-	12,5	12,5	12,5
Água	-	-	-	6,5	6,5	6,5
DNA	50,0	50,0	50,0	2,0	3,0	2,0
Volume final	-	-	-	25,0	25,0	25,0

LEGENDA: **Bf** = *Bacteroides* do grupo *fragilis*; **Fn** = *Fusobacterium nucleatum*; **Pi** = *Prevotella intermedia*; **Pb** = *Prevotella bivia*; **Pm** = *Prevotella melaninogenica*.

4.4.1.3 CONDIÇÕES DE AMPLIFICAÇÃO DO DNA

As condições de amplificação do DNA foram determinadas de acordo com a literatura para cada gene pesquisado com mostrado no quadro 2. Os *amplicons* foram visualizados em gel de agarose 1,2%, após terem sido submersos no tampão de coloração (15µl de Gel Red 10.000X (BIOTIUM®, USA) + 45mL de água destilada + 5mL de NaCl 0,1M) sob agitação durante 30 minutos, e as imagens foram capturadas sob luz ultravioleta em fotodocumentador. Como padrão de DNA, utilizou-se o marcador de DNA *ladder* 100pb (Promega®, MADISON-WI USA).

QUADRO 2

Condições de amplificação do DNA utilizados na identificação dos bastonetes Gram negativo anaeróbios

Bactéria	Desnaturação inicial	Desnaturação	Anelamento	Extensão	Nº. ciclos	Extensão final
Bf	5min - 95 °C	20seg - 95 °C	1min - 62°C	30seg - 72°C	35	5min - 72°C
Fn	4min - 94 °C	30seg - 94 °C	30seg - 56°C	1min - 72°C	30	10min - 72°C
Pi, Pb, Pm,	5min - 94 °C	1min - 94 °C	1min - 57°C	2min - 72°C	30	10min - 72°C

LEGENDA: **Bf** = *Bacteroides* do grupo *fragilis*; **Fn** = *Fusobacterium nucleatum*; **Pi** = *Prevotella intermedia*; **Pb** = *Prevotella bivia*; **Pm** = *Prevotella melaninogenica*.

4.4.2 SEQUENCIAMENTO DE DNA

Nesta etapa, foram alvos do sequenciamento de DNA os microrganismos que tiveram a identificação confirmada pela PCR, mas que não foram analisados na presença de controle positivo da reação devido à inexistência de amostra de referência na coleção de microrganismos do Laboratório de Microbiologia Oral e Anaeróbios.

4.4.2.1 EXTRAÇÃO DE DNA

A extração de DNA foi feita de acordo com PITCHER *et al.*, (1989). Ao *pellet* de células bacterianas foram adicionados 0,2g de pérolas de vidro e a amostra foi levada ao vórtex por dois minutos com posterior incubação em Banho-Maria a 37°C por 2 horas.

Em seguida foi adicionado ao *pellet* 600µL de solução de Tiocianato de Guanidina 5M, EDTA 100mM (pH 8,0) e Sarcosil 0,5% e incubado por 10 minutos a temperatura ambiente. Após este período foi adicionado 300µL de Acetato de Amônio 7,5M seguido de incubação sob as mesmas condições anteriores, sendo seguido pelo acréscimo de 600µL de Clorofórmio-Álcool Isoamílico (24:1 v/v). Após serem homogeneizadas, as amostras foram centrifugadas a 13.400 rpm (MiniSpin® Eppendorf) por 10 minutos e a fase aquosa foi incubada a -20°C por 12 horas.

Após a incubação a amostra foi centrifugada a 6500 rpm por 20 minutos, na mesma centrífuga, e o *pellet* foi lavado com 1mL de álcool etílico 70% e novamente centrifugado nas

mesmas condições citadas acima. O processo de lavagem foi repetido uma vez e o *pellet* foi ressuspendido em 50µL de água Milli-Q.

4.4.2.2 PREPARO DO MASTER-MIX

Utilizou-se nesta etapa o Kit Master Mix Promega®, MADISON-WI USA, descrito no item 4.3.4.1.2. Cada reação ocorreu com volume final e constituintes da reação definidos de acordo com o gene pesquisado, como mostrado no quadro 3.

QUADRO 3

Constituintes da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

Reagentes	Concentração		
	Primer (Pm/µl)	DNA (ng/µl)	Volume (µl)
Primer 341F	1,0		1,5
Primer 1391R	1,0		1,5
PCR mix	-		12,5
Água	-		6,5
DNA	50,0		3,0
Volume final	-		25,0

4.4.2.3 CONDIÇÕES DE AMPLIFICAÇÃO DO DNA

As condições de amplificação foram determinadas de acordo com a literatura para o gene pesquisado com mostrado no quadro 4. Os *amplicons* foram visualizados de acordo com o item 4.3.4.1.3. Os *primers* utilizados estão descritos no quadro 5.

QUADRO 4

Condições de amplificação do DNA

Bactéria	Desnaturação inicial	Desnaturação	Anelamento	Extensão	Nº. ciclos	Extensão final
Universal	5min - 94 °C	1min - 94 °C	1min - 55°C	2min - 72°C	30	10min - 72°C

QUADRO 5

Condições de amplificação para confirmação dos bastonetes Gram negativo anaeróbios

Alvo	Amplicon (pb)	Primer (5'-3')		Fonte
		Forward	Reverse	
<i>Bacteroides fragilis</i>	420	GTACACACCGCCCGT	GCTAATCCCCCAATCATAC	Liu <i>et al.</i> , 2003
<i>Bacteroides ovatus</i>	610	GTACACACCGCCCGT	AATAATGCGTACTCGAACAC	Liu <i>et al.</i> , 2003
<i>Bacteroides vulgatus</i>	250	GTACACACCGCCCGT	GGCTTCTTACTTTCTCTCTTCCG	Liu <i>et al.</i> , 2003
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	180	GTACACACCGCCCGT	ACCTATGAAATCGTTGTTACG	Liu <i>et al.</i> , 2003
<i>Prevotella bivia</i>	689	TGGGGATAAAGTGGGGAACG	CAGCAGGACCTGATGGCAACTA	Desenhado pelos autores
<i>Prevotella melaninogenica</i>	792	CATTTAGTGCTTGCCTGAATGG ACGTCGA	TGCTTTCGCTTAGCCGCTGATAC	Desenhado pelos autores
<i>Prevotella. Intermedia</i>	575	TTTGTTGGGGAGTAAAGCGGG	TCAACATCTCTGTATCCTGCGT	Cortelli <i>et al.</i> , 2008
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	408	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG	GTCATCGTGACACAGAATTGCTG	Vickerman <i>et al.</i> , 2007
Universal-Domínio Bactéria	1100	CCTACGGGCAGCAG	GACGGGCGGTGTGTRCA	Ferreira <i>et al.</i> , 2010

4.4.2.4 PURIFICAÇÃO DO PRODUTO DA PCR

A 45 µL do produto da PCR foram adicionados 11,25µL de EDTA 125mM e 135µL de álcool etílico absoluto. A mistura foi centrifugada a 13.000 rpm (MiniSpin® Eppendorf) por 25 minutos e ao *pellet* formado foi adicionado 120µL de álcool etílico 70%. Após ser
5 homogeneizada, a mistura foi novamente centrifugada, 13000 rpm por 10 minutos. A fase aquosa foi descartada e após a evaporação total do etanol residual o sedimento foi ressuscitado em 10µL de água Milli-Q.

4.4.2.5 PRECIPITAÇÃO DO DNA

Para a precipitação do DNA foi adicionado ao produto purificado da PCR 1µL de acetato
10 de amônio e 30µL de etanol 96% com período de incubação de 20 minutos a temperatura ambiente protegido da luz. Após centrifugação, a fase aquosa foi descartada e 100µL de etanol 70% foram adicionados ao *pellet*. A fase aquosa foi novamente descartada e o *pellet* ressuscitado com 10µL de *loading buffer*.

A amostra foi estocada a 4°C, protegida da luz, até o momento do envio à Fundação
15 Osvaldo Cruz (FIOCRUZ) onde o sequenciamento foi executado.

4.5 AVALIAÇÃO DO PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS

4.5.1 MICRORGANISMOS AERÓBIOS.

O perfil de susceptibilidade dos aeróbios aos antimicrobianos foi determinado pelo sistema automatizado Vitek II e interpretados segundo recomendações do *Clinical and Laboratory*
20 *Standards Institute* (CLSI, 2013). Para o controle de qualidade do teste, as linhagem de referência *E. coli* ATCC 25922 e *S. aureus* ATCC 25923, foram incluídas.

Da mesma forma que os cartões utilizados para a identificação dos microrganismos (cartões ID), os cartões para determinação da susceptibilidade aos antimicrobianos (cartões AST) são compostos por 64 micropoços em uma base plástica que contém quantidade de
25 antimicrobianos em concentrações variadas e na forma liofilizada, sendo um dos poços utilizado para controle realizando a leitura das provas miniaturizadas através da tecnologia colorimétrica.

Para a determinação do perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos pelo sistema automatizado Vitek II o inóculo foi preparado de acordo com as instruções do fabricante. Os cartões AST-P612 e AST-N105, com as composições discriminadas nos quadro 5 e 6 do anexo D,
30 foram utilizados para identificação de CGP e BGN, respectivamente.

4.5.2 MICRORGANISMOS ANAERÓBIOS

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) das drogas capaz de inibir o crescimento microbiano foi determinada pelo método de diluição em ágar, segundo recomendações do CLSI, 2013. Para o controle de qualidade dos testes as linhagem de referência *B. fragilis* ATCC 25285 e *Eubacterium lentum* ATCC 43055, foram incluídas em todos os experimentos.

As concentrações dos antimicrobianos abrangeram os pontos de corte interpretativos das CIM para o microrganismo em questão, de acordo com o CLSI 2013, com três diluições acima e três abaixo, como mostrado no quadro 6. Foram empregados penicilina (PEN), piperacilina/tazobactam (PTZ), imipenem (IMI), cefoxitina (CFO), clindamicina (CLI) e metronidazol (MET).

QUADRO 6

Concentrações finais dos antimicrobianos utilizados na avaliação da susceptibilidade dos anaeróbios frente a antimicrobianos.

Antimicrobianos	Concentração final (µg/mL)
Penicilina	0,125 – 8
Piperacilina/tazobactam	8/1 - 512/16
Imipenem	1- 64
Cefoxitina	4 – 256
Clindamicina	0,5 – 32
Metronidazol	2 – 128

FONTE: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2013.

O ágar Brucella suplementado com hemina, menadiona e sangue de cavalo (BRU-S), foi utilizado nos testes de determinação das CIMs. Alíquotas independentes de 34 ml de meio foram esterilizadas em autoclave e, após resfriamento à temperatura de 45°C a 50°C, em banho-maria, 4ml das soluções das drogas e 2ml de sangue de cavalo foram adicionados ao meio para obtenção de diversas concentrações finais em um volume final de 40ml. O meio de cultura foi distribuído em duas placas de Petri de 110 mm. As placas foram preparadas e utilizadas no mesmo dia da realização do experimento.

O inóculo foi preparado como descrito no item anterior (4.3.3.1), seguindo-se diluição de 100 vezes em salina 0,85%, esterilizada, para obtenção de inóculo com a concentração desejada de 10^6 UFC/mL. Com auxílio de um replicador de *Steers*, que transfere 10µl por ponto, foi

executada a inoculação na superfície da placa como preconizado (CLSI, 2013). As placas foram incubadas por 48h, a 37°C, em câmara anaeróbica.

A concentração inibitória mínima (CIM) foi considerada como aquela concentração na qual não foi detectado nenhum crescimento visível da amostra e o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos analisados de acordo com critérios do CLSI, 2013, como mostrado no quadro 7.

QUADRO 7

Determinação dos pontos de cortes ($\mu\text{g/mL}$) dos antimicrobianos testados contra o grupo *Bacteroides fragilis*, *Prevotella* spp., *F. nucleatum* e *P. acnes*, na obtenção da CIM

Antimicrobiano	CIM ($\mu\text{g/mL}$)		
	Sensível	Intermediário	Resistente
Penicilina	$\leq 0,5$	1	≥ 2
Piperacilina/tazobactam	$\leq 32/4$	64	$\geq 128/16$
Imipenem	≤ 4	8	≥ 16
Cefoxitina	≤ 16	32	≥ 64
Clindamicina	≤ 2	4	≥ 8
Metronidazol	≤ 8	16	≥ 32

10 FONTE: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2013.

4.6 DETECÇÃO DA PRODUÇÃO DE ESBLs PELOS MICRORGANISMOS ANAERÓBIOS

A produção de ESBLs foi determinada pela utilização de disco de cefinase. O disco cefinase é impregnado com uma cefalosporina cromogénea, o nitrocefim. Este composto exibe uma mudança de cor muito rápida de amarelo para vermelho, à medida que a ligação amido no anel beta-lactâmico é hidrolisada por uma β -lactamase. Quando uma bactéria produz esta enzima em quantidades significativas, o disco corado de amarelo muda para vermelho na área onde foi efetuado um esfregaço do isolado. O nitrocefim é a cefalosporina cromogênica com maior amplitude de detecção de ESBLs, detectando também penicilinases estafilocócicas e algumas β -lactamases produzidas por anaeróbios, para as quais outras cefalosporinas cromogênicas apresentam falhas na detecção (BD, 2010).

O inóculo para a realização do teste foi preparado como descrito no item 4.3.3.1, e a amostra padrão *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 foi utilizada como controle positivo da reação.

4.7 ANÁLISE IMUNOLÓGICA

4.7.1 DOSAGEM DE CITOCINAS POR *FLUORESCENCE ACTIVATED CELL SORTER* (FACS)

5 Para dosagem de citocinas presentes no soro e na secreção dos pacientes com IIA foi empregado o *BD™ CBA Human Inflammatory Cytokines Kit*, de acordo com instruções do fabricante. As citocinas dosadas foram as interleucinas IL-1 β , IL-6, IL-8 e IL-10 e o TNF. As amostras foram submetidas ao citômetro de fluxo *BD FACSCalibur™ System* e os resultados obtidos foram analisados pelo *FCAP Array™ software*. O *Kit* utilizou proteínas humanas recombinantes (Padrão de citocina inflamatória humana) como controle positivo do teste.

10 A metodologia consiste na captura de um ou mais analitos solúveis, que, neste caso, se trata das citocinas, com grânulos de tamanho e fluorescência conhecidos conjugados a um anticorpo específico. O reagente de detecção, uma mistura de ficoeritrina (PE) conjugado a anticorpos, fornece um sinal fluorescente que é proporcional à quantidade de analito ligado. Quando os grânulos de captura e de reagentes detectores são incubados com uma amostra
15 desconhecida contendo analitos reconhecidos, complexos de sanduíche (grânulo de captura + Analito + reagente de detecção) são formados, sendo esses passíveis de medição por citometria de fluxo devido ao tamanho e fluorescência conhecidos.

Os níveis de produção de citocinas foram analisados individualmente e em comparação a diversos parâmetros clínico/laboratoriais com o intuito de se determinar possíveis relações entre
20 os quadros clínicos dos pacientes com IIA e produção de citocinas. As variáveis clínico/laboratoriais utilizadas na análise foram idade, tempo de internação, uso prévio de antimicrobianos, sítio/tipo de infecção, local de aquisição da infecção, cultura microbiana da secreção e do sangue periférico, hemograma, produção de plaquetas, fosfatase alcalina e gamaglutamiltranspeptidase (Gama GT).

25 Os parâmetros clínicos/laboratoriais analisados quanto a produção de citocinas foram estratificados e agrupados, em alguns casos avaliados com diferentes estratificações, dando origem a mais de um agrupamento, como mostrado no quadro 1 do apêndice.

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

30 As análises estatísticas dos dados foram realizadas com o auxílio do programa *GraphPad Prism 6*. Os cálculos utilizados foram os de *Mann-Whitney test* e *Kruskal-Wallis test*. O nível de significância considerado foi $p < 0,05$.

5. RESULTADOS

5.1 DADOS CLÍNICOS

Foram analisadas, no período de março de 2011 a outubro de 2012, 51 amostras de pacientes atendidos em diferentes serviços de saúde de Belo Horizonte/MG, Sendo cinco do HPM, dezoito do CEU, sete do HC e vinte e um do HRTN. Dos 51 pacientes, avaliados, 27 eram homens e 24 mulheres. Dentre os pacientes que tiveram a idade informada (46/51), a faixa etária variou de 14 a 88 anos, com uma média de 41,5 anos, como mostrado no quadro 8. Mais da metade, (29/51) relatou alguma doença ou procedimento cirúrgico prévio, sendo a cirurgia bariátrica o principal procedimento informado e a hipertensão arterial sistêmica a doença mais comum. Dos pacientes que tiveram a utilização de antimicrobianos informada (38/51), 89,5% (34/38) faziam uso prévio de algum deles, sendo o metronidazol o mais utilizado, seguido por gentamicina e ceftriaxona, como mostrado na tabela 1. Observou-se um predomínio de abscessos abdominais diversos, (19/51) e coleções peritoneais (13/51), como mostrado no gráfico 1. Os dados detalhados são mostrados no quadro 2 do apêndice.

QUADRO 8

Características demográficas do grupo de estudo

Características demográficas			
Grupo de estudo (pacientes)		51	
Sexo		Idade (anos)	
		Faixa etária	
Feminino	24	Média	41,5
Masculino	27	Mediana	39

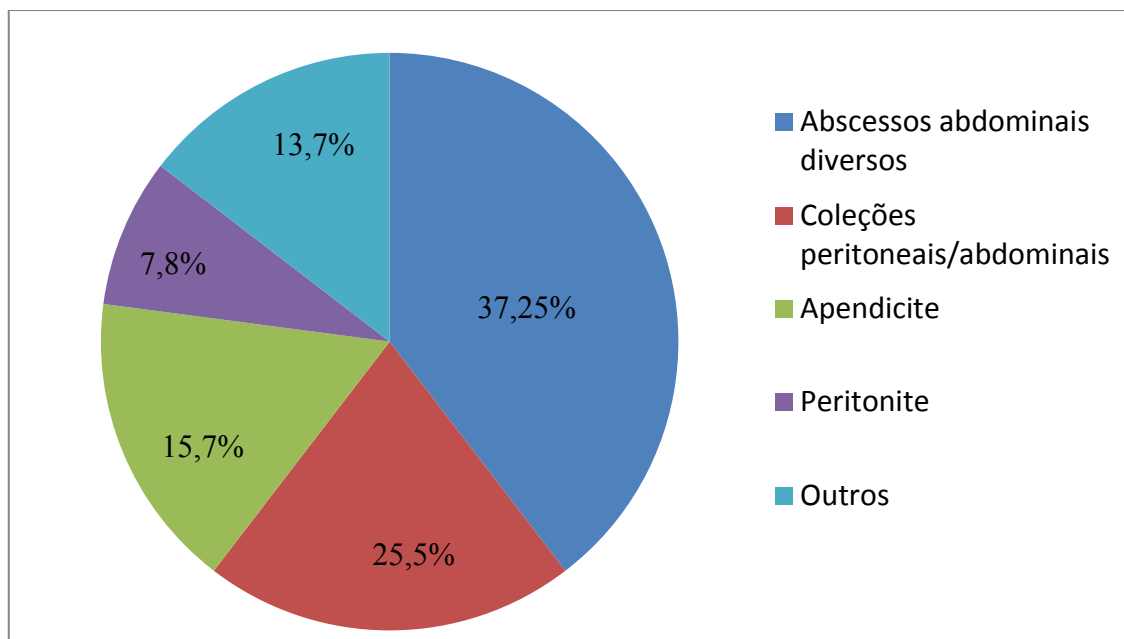
TABELA 1

Antimicrobianos em uso no momento da colheita dos espécimes clínicos pelos 38 pacientes com infecção intra-abdominal que relataram o uso de antimicrobianos

Antimicrobiano	Pacientes N°	%	Antimicrobiano	Pacientes N°	%
Metronidazol	22	57,9	Cefalotina	2	5,3
Gentamicina	8	21,1	Clindamicina	1	2,6
Ceftriaxona	8	21,1	Ampicilina	1	2,6
Vancomicina	5	13,2	Cefazolina	1	2,6
Meropenem	4	10,5	Ertapenem	1	2,6
Cefepime	4	10,5	Polimixina B	1	2,6
Ciprofloxacina	4	10,5	Linezolida	1	2,6
Fluconazol	2	5,3	Tigeciclina	1	2,6

GRÁFICO 1

Quadro clínico dos 51 pacientes com infecção intra-abdominal incluídos no estudo

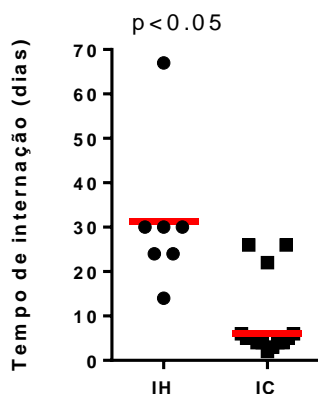


5 Dos 51 pacientes analisados neste estudo, tivemos acesso aos dados relativo à origem da infecção em 36 casos, dos quais, 10 apresentaram IIA hospitalar, totalizando 27,8% destes casos. A origem hospitalar da IIA, no caso dos pacientes do HRTN, aumentou consideravelmente o tempo de internação destes ($p < 0,05$). Dos 21 pacientes analisados desta instituição, sete (33,3%) apresentaram IIA hospitalar, com um tempo médio de internação de 31 dias, contra apenas oito dias entre os pacientes com IIA comunitária. Dado mostrado no gráfico 2.

10

GRÁFICO 2

Relação entre origem da IIA e tempo de internação dos pacientes do HRTN



LEGENDA: IH= infecção hospitalar; IC= infecção comunitária.

A análise relativa ao tempo de internação dos pacientes das demais instituições envolvidas neste estudo, citadas no item 4.2.2, não foi realizada devido à ausência de dados.

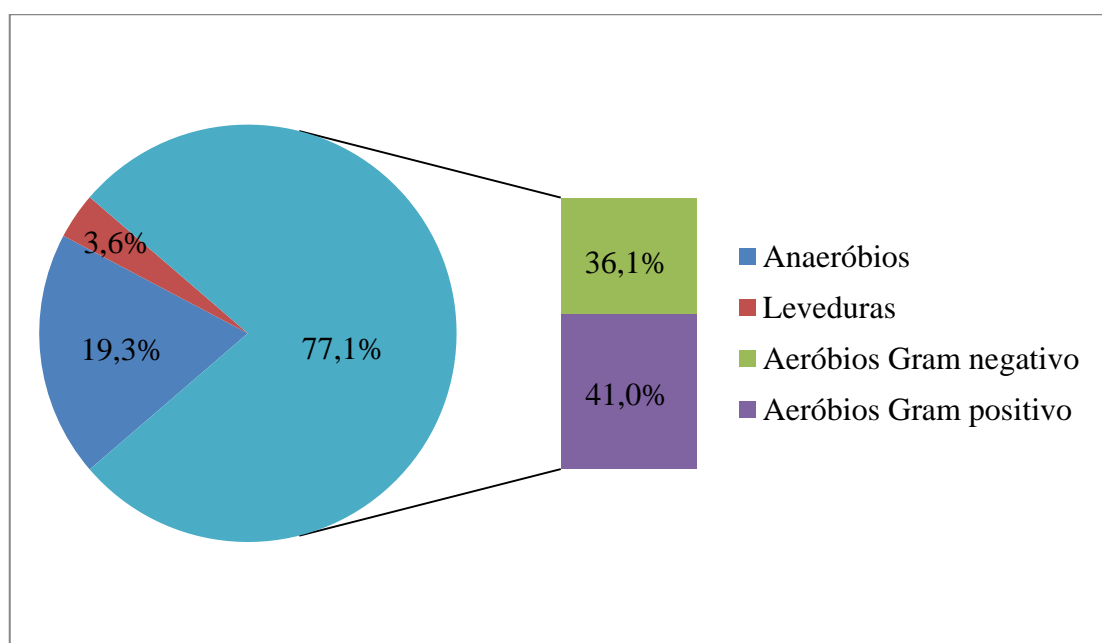
5.2 PREVALÊNCIA DOS MICRORGANISMOS

5.2.1 CULTURA CONVENCIONAL DA SECREÇÃO INTRA-ABDOMINAL

5 Houve crescimento microbiano em 33 (64,7%) dos 51 espécimes analisados, apesar do uso
prévio de antimicrobianos por pelo menos 21 (63,6%) dos 33 pacientes com culturas positivas.
Recuperou-se um total de 83 microrganismos, evidenciando o caráter polimicrobiano destas
infecções, as quais apresentaram uma frequência de recuperação de dois a cinco microrganismos
em uma única cultura. A média de recuperação foi de 2,5 microrganismos por cultura positiva,
10 sendo monomicrobianas apenas 9 (27,3%) das 33 culturas positivas. Foi possível identificar, por
métodos fenotípicos, 78 microrganismos dos 83 recuperados, estes foram distribuídos em 20
gêneros, totalizando 34 espécies. De acordo com a identificação fenotípica, obtida pelo Sistema
Vitek II, bactérias anaeróbias estiveram presentes em 39,4% (13/33) das culturas positivas,
bactérias aeróbias em 90,9% (30/33) dos casos, representado por 64 bactérias e leveduras em
15 9,1% das (3/33) culturas, somando três microrganismos. A prevalência dos tipos microbianos é
mostrada no gráfico 3.

GRÁFICO 3

Prevalência dos microrganismos recuperados das 33 culturas positivas, obtidos de pacientes com
quadro clínico de infecção intra-abdominal.



Dentre os anaeróbios houve predomínio de *Bacteroides* do grupo *B. fragilis* (n= 8) seguido por *Prevotella* spp. (n= 5). Dentre os aeróbios, *E. coli* (n= 6), *E. faecalis* (n= 5), *A. baumannii* (n= 5), *Sphingomonas paucimobilis* (n= 5) e *S. epidermidis* (n= 4) foram os mais isolados. As três leveduras recuperadas foram identificadas como *Candida* spp. Os dados completos de prevalência microbiana são mostrados na tabela 2.

TABELA 2

Microrganismos recuperados das 33 culturas positivas de 51 pacientes com quadro clínico de infecção intra-abdominal obtidas em BH/MG.

Microrganismo	Nº de amostras recuperadas	%
<i>Escherichia coli</i>	6	7,23
<i>Bacteroides fragilis</i>	5	6,02
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	5	6,02
<i>Acinetobacter baumannii</i>	5	6,02
<i>Enterococcus faecalis</i>	5	6,02
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	4	4,82
<i>Prevotella bivia</i>	3	3,61
<i>Streptococcus anginosus</i>	3	3,61
<i>Proteus mirabilis</i>	3	3,61
<i>Gemella morbillorum</i>	3	3,61
<i>Pediococcus pentosaceus</i>	3	3,61
<i>Streptococcus pluranimalium</i>	2	2,41
<i>Kocuria kristinae</i>	2	2,41
<i>Streptococcus constellatus</i>	2	2,41
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	2,41
<i>Providencia stuartii</i>	2	2,41
<i>Citrobacter freundii</i>	2	2,41
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	2	2,41
<i>Staphylococcus warneri</i>	2	2,41
<i>Candida albicans</i>	2	2,41
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1	1,20
<i>Candida kefyr</i>	1	1,20
<i>Bacteroides ovatus</i>	1	1,20
<i>Bacteroides vulgatus</i>	1	1,20
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	1	1,20
<i>Streptococcus sanguinis</i>	1	1,20
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	1	1,20
<i>Hafnia alvei</i>	1	1,20
<i>Morganella morganii</i>	1	1,20
<i>Prevotella melaninogenica</i>	1	1,20
<i>Prevotella intermedia</i>	1	1,20
<i>Propionibacterium acnes</i>	1	1,20
<i>Providencia rettgeri</i>	1	1,20

Microrganismo	Nº de amostras recuperadas	%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	1,20
<i>Pseudomonas spp</i>	1	1,20
CGP NI	3	3,61
BGN NI	2	2,41
Total	83	100

LEGENDA: BGN NI= Bastonete Gram Negativo não identificado; CGP NI= Coco Gram Positivo não identificado.

Associações entre anaeróbios e aeróbios foram observadas em 9 (69,2%) dos 13 casos com culturas positivas para anaeróbios, e foi observada a associação apenas entre anaeróbios em 1 (7,7%) das 13 culturas positivas, totalizando 10 casos de infecções polimicrobianas. O quadro 9 mostra a distribuição dos microrganismos anaeróbios por paciente e suas associações com outros microrganismos. Os dados completos da distribuição dos microrganismos por paciente são mostrados no quadro 3 do apêndice.

QUADRO 9

Distribuição dos microrganismos anaeróbios por paciente com infecção intra-abdominal e suas associações com outros microrganismos isolados.

Paciente	Origem	Aeróbio	Anaeróbios
9	CEU	<i>Streptococcus pluranimalium</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>
10	CEU	<i>Kocuria kristinae</i>	<i>Prevotella bivia/ F. nucleatum</i>
14	CEU	<i>Gemella morbillorum</i>	<i>Prevotella intermedia</i>
47	CEU	-	<i>Propionibacterium acnes</i>
49	CEU	-	<i>Bacteroides fragilis</i>
50	CEU	<i>Streptococcus anginosus</i> <i>S. pluranimalium</i> <i>Sphingomonas paucimobilis</i>	<i>B. fragilis</i>
2	HC	<i>Escherichia coli</i> <i>Proteus mirabilis</i>	<i>B. fragilis</i>
20	HRTN	<i>E. coli</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Bacteroides ovatus</i>
22	HRTN	<i>S. anginosus</i> <i>S. pluranimalium</i> <i>S. paucimobilis</i>	<i>B. fragilis</i>
23	HRTN	-	<i>Bacteroides vulgatus</i>
29	HRTN	-	<i>P. bivia/P. melaninogenica</i>
34	HRTN	<i>Pediococcus pentosaceus</i> <i>S. paucimobilis</i> <i>Enterococcus faecalis</i>	<i>B. fragilis/Bacteroides thetaiotaomicron</i>
37	HRTN	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Providencia stuartii</i>	<i>P. bivia</i>

LEGENDA: HC= Hospital das Clínicas; CEU= Centro Especializado em Ultrassonografia; HRTN= Hospital Risoleta Tolentino Neves.

5.2.2 HEMOCULTURA

Houve crescimento microbiano em oito hemoculturas avaliadas, sendo seis (75%) monomicrobianas. Os microrganismos recuperados foram distribuídos em cinco gêneros, totalizando oito espécies e estão representados no quadro 10.

5

QUADRO 10

Microrganismos recuperados das oito hemoculturas positivas e da cultura de secreção dos respectivos pacientes com quadro clínico de infecção intra-abdominal obtidas em BH/MG

Paciente	Origem	Microrganismos da hemocultura	Microrganismos da cultura de secreção
20	HRTN	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i> / <i>Staphylococcus epidermidis</i>
35	HRTN	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Escherichia coli</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>
36	HRTN	<i>Staphylococcus aureus/Providencia stuartii</i>	<i>Staphylococcus aureus/Providencia stuartii/Kocuria kristinae/Acinetobacter baumannii/Candida albicans</i>
37	HRTN	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa/Providencia stuartii</i>
39	HRTN	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>S. haemolyticus/Acinetobacter baumannii/Pseudomonas spp./Candida albicans</i>
40	HC	<i>Streptococcus pluranimalium</i>	<i>Streptococcus sanguinis/Streptococcus constellatus/Gemella morbillorum/Morganella morganii</i>
42	HRTN	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>
45	HRTN	<i>Escherichia coli/E. faecalis</i>	<i>Escherichia coli</i>

LEGENDA: HRTN: Hospital Risoleta Tolentino Neves; HC: Hospital das clínicas.

10 Dos 10 microrganismos recuperados de hemoculturas, apenas quatro foram também recuperados da secreção abdominal do respectivo paciente, sendo duas amostras de *E. coli*, uma de *S. aureus* e uma de *Providencia stuartii*. Dos oito casos de bacteremia identificados, seis ocorreram em pacientes portadores de IIA de origem hospitalar.

5.2.3. MICRORGANISMOS RECUPERADOS DOS PACIENTES COM IIA DE ORIGEM HOSPITALAR

Foram recuperados, dos 10 pacientes com IIA de origem hospitalar, 29 microrganismos do sítio de infecção, apresentando uma média de 2,9 isolados por cultura positiva, um pouco maior que a média geral do estudo que foi de 2,5 por cultura positiva. Dos 10 microrganismos recuperados de hemoculturas, oito foram isolados de pacientes portadores de IIA hospitalar. Os microrganismos recuperados da secreção intra-abdominal e da corrente sanguínea dos pacientes com IIA de origem hospitalar são apresentados na tabela 3.

TABELA 3

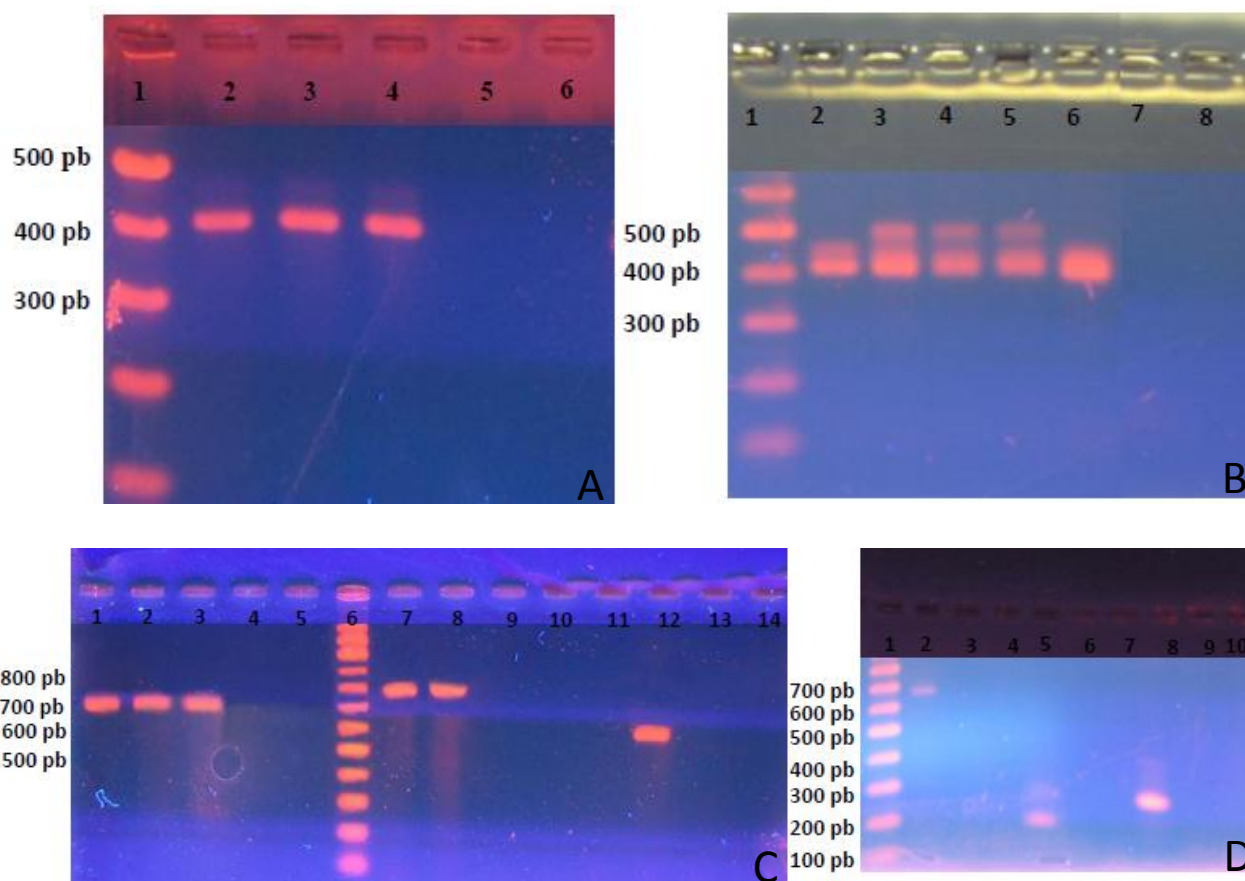
10 Microrganismos recuperados, do sítio da infecção (secreção) e da hemocultura, dos 10 pacientes com quadro clínico de infecção intra-abdominal de origem hospitalar.

Cultura de secreção intra-abdominal		Hemocultura	
Microrganismo	Nº de amostras recuperadas	Microrganismo	Nº de amostras recuperadas
<i>Acinetobacter baumannii</i>	4	<i>Escherichia coli</i>	2
<i>Escherichia coli</i>	3	<i>Enterococcus faecium</i>	2
<i>Enterococcus faecalis</i>	3	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1
<i>Pseudomonas spp.</i>	2	<i>Staphylococcus aureus</i>	1
<i>Proteus mirabilis</i>	2	<i>Providencia stuartii</i>	1
<i>Providencia stuartii</i>	2		
<i>Candida albicans</i>	2		
<i>Candida kefyr</i>	1		
<i>Staphylococcus aureus</i>	1		
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	1		
<i>Streptococcus anginosus</i>	1		
<i>Streptococcus haemolyticus</i>	1		
<i>Kocuria kristinae</i>	1		
<i>Pediococcus pentosaceus</i>	1		
<i>Bacteroides ovatus</i>	1		
<i>Prevotella bivia</i>	1		
Total	29	Total	8

5.3 CONFIRMAÇÃO DA IDENTIDADE DOS ANAERÓBIOS POR PCR CONVENCIONAL E SEQUENCIAMENTO DE DNA

15 A PCR convencional confirmou a identidade de 14 dos 15 anaeróbios Gram negativo, previamente identificados fenotipicamente, como mostrado na figura 2. A amostra bacteriana não

confirmada foi identificada pelo Sistema Vitek II como *Prevotella intermedia* (98% de probabilidade) e se mostrou negativa na PCR específica para a espécie em questão, como mostrado na figura 2C.



5

10

15

FIGURA 2. Visualização do produto da PCR dos microrganismos BGN anaeróbios. **A)** 1: Padrão 2 e 3: *Fusobacterium nucleatum* (408pb); 4: Controle positivo (*Fusobacterium nucleatum* ATCC 10953) ; 5: Controle negativo 6: Controle de esterilidade. **B)** 1: Padrão; 2, 3, 4, 5 e 6: *Bacteroides fragilis* (420pb); 7: Controle negativo 8: Controle de esterilidade. **C)** 1, 2 e 3: *Prevotella bivia* (689pb); 4: Controle negativo; 5: Controle de esterilidade; 6: Padrão; 7: *Prevotella melaninigenica* (792pb); 8: Controle positivo (*Prevotella melaninigenica* ATCC 24845); 9: Controle negativo; 10: Controle de esterilidade; 11: Amostra do gênero *Prevotella* não confirmada; 12: Controle positivo (*Prevotella intermedia* ATCC 25611); 13: Controle negativo; 14: Controle de esterilidade. **D)** 1: Padrão; 2: *Bacteroides ovatus* (610pb); 3: Controle negativo; 4: Controle de esterilidade; 5: *Bacteroides Thetaiotaomicron* (180pb); 6: Controle negativo; 7: Controle de esterilidade; 8: *Bacteroides vulgatus* (250pb); 9: Controle negativo; 10: Controle de esterilidade. Obs: Controle negativo (*Porphyromonas Asaccharolytica* ATCC 25260). Padrão (100 pb).

A identificação de algumas das amostras feita pela PCR convencional foi realizada pelo sequenciamento especialmente devido à falta de alguns controles positivos da reação em nosso laboratório. A amostra não identificada na PCR convencional foi também sequenciada e identificada, com 99% de identidade, como *Prevotella nigrescens*, como mostrado no quadro 11.

QUADRO 11

Identificação genotípica por sequenciamento de DNA para confirmação da identidade das amostras sem controle positivo na PCR

Identificação Molecular (Sequenciamento)			
Amostra	Identidade (%)	Microrganismo mais relacionado	Acesso ao genbank
P14	99	<i>P revotella nigrescens</i>	AF 414833.1
P20	98	<i>Bacteroides ovatus</i>	AY 895197.1
P23	99	<i>Bacteroides vulgatus</i>	CP 000139.1
P34	100	<i>B. thetaiotaomicron</i>	JF 298875.1
P37	99	<i>Prevotella bivia</i>	NR 044629.1
P49	99	<i>Bacteroides fragilis</i>	X 83935.1

5 A comparação dos resultados das identificações fenotípicas e genotípicas dos BGN anaeróbios, mostrado no quadro 12, aponta discordância em apenas 6,66% (1/15) das identificações feitas pelo Sistema Vitek 2 em relação a PCR convencional. Nenhuma discordância entre os dois métodos genotípicos, PCR convencional e sequenciamento de DNA, foi observada.

QUADRO 12

10 Comparação da identificação microbiana entre os métodos fenotípico e genotípico utilizados

Paciente	Identificação		
	Vitek II	PCR convencional	Sequenciamento
2	<i>B. fragilis</i>	<i>B. fragilis</i>	-
9	<i>F.nucleatum</i>	<i>F.nucleatum</i>	-
10	<i>F. nucleatum</i>	<i>F. nucleatum</i>	-
	<i>P. bivia</i>	<i>P. bivia</i>	-
14	<i>P. intermedia</i>	Não confirmada	<i>Prevotella nigrescens</i>
20	<i>B. ovatus</i>	<i>B. ovatus</i>	<i>B. ovatus</i>
22	<i>B. fragilis</i>	<i>B. fragilis</i>	-
23	<i>B. vulgatus</i>	<i>B. vulgatus</i>	<i>B. vulgatus</i>
29	<i>P. bivia</i>	<i>P. bivia</i>	-
	<i>P. melaninogenica</i>	<i>P. melaninogenica</i>	-
34	<i>B. thetaiotaomicron</i>	<i>B. thetaiotaomicron</i>	<i>B. thetaiotaomicron</i>
	<i>B.fragilis</i>	<i>B.fragilis</i>	-
37	<i>P.bivia</i>	<i>P.bivia</i>	<i>P.bivia</i>
49	<i>B.fragilis</i>	<i>B.fragilis</i>	<i>B.fragilis</i>
50	<i>B. fragilis</i>	<i>B. fragilis</i>	-

5.4 PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS DOS MICRORGANISMOS AERÓBIOS

5.4.1 BACTÉRIAS GRAM POSITIVO

Do total de 37 amostras de CGP obtidas, apenas 19 foram analisadas por metodologia automatizada quanto ao seu perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos. Dezoito bactérias (CGP) não puderam ser analisadas pela metodologia empregada, visto que estas não fazem parte da gama de microrganismos, consideradas de maior relevância clínica, com critérios de interpretação e validação pelo Sistema Vitek II.

Apenas um dos 18 antimicrobianos utilizados, totalizando 12 classes diferentes, mostrou-se 100% eficaz frente às bactérias avaliadas. O tipo de antimicrobiano testado variou de acordo com o gênero e a espécie microbiana avaliada, como mostrado na tabela 3 do anexo E.

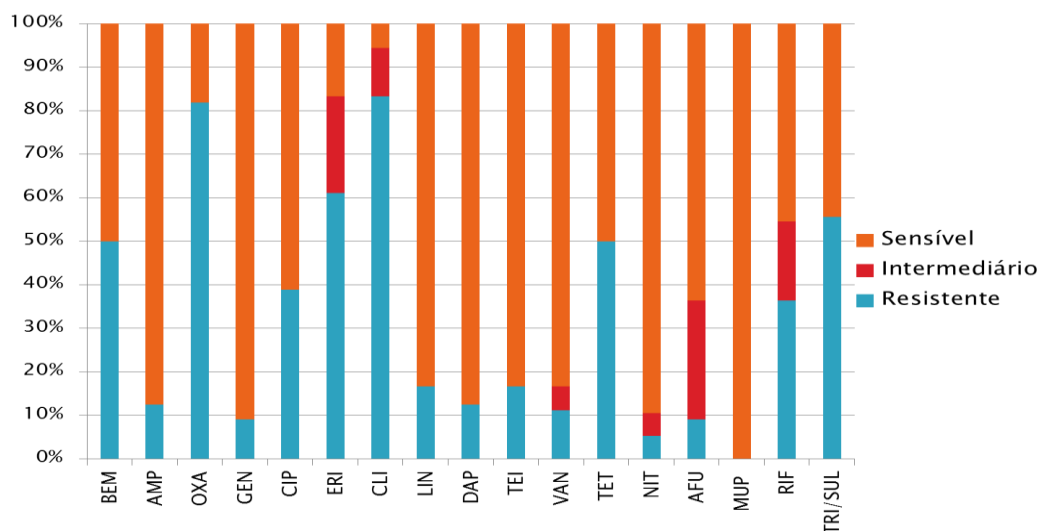
A mupirocina foi o único antimicrobiano para o qual todos os CGP se mostraram sensíveis. A ampicilina foi o β -lactâmico mais eficaz, seguida por gentamicina, linezolida, daptomicina e nitrofurantoina. Ao ácido fusídico, e aos glicopeptídeos, taxas de resistência plena inferiores a 20% foram observadas. Aos macrolídeos e à oxacilina foram obtidas as maiores taxas de resistência plena e intermediária, estas ultrapassaram 80%. Os dados para os 18 antimicrobianos avaliados são mostrados no gráfico 4.

Das nove amostras de *Staphylococcus* coagulase negativo três foram resistentes a mais da metade dos antimicrobianos utilizados. Uma amostra de *Staphylococcus warneri* mostrou resistência a uma ampla gama de antimicrobianos, sendo resistente a 12 dos 16 utilizados no teste. Com resistência a onze e a nove dos dezesseis antimicrobianos utilizados aparece uma amostra de *S. epidermidis* e uma de *S. haemolyticus*. A nitrofurantoina e a mupirocina foram os antimicrobianos mais eficazes contra *Staphylococcus* spp., como mostrado nas tabelas 3 e 4 do anexo E.

Observou-se ainda que das 11 amostras de *Staphylococcus* spp. nove foram resistentes a oxacilina, sendo duas de *S. aureus* e sete de *Staphylococcus* coagulase negativo. Apenas uma amostra de *S. warneri* e uma de *S. epidermidis* apresentaram-se sensíveis à oxacilina, sendo ambas as amostras multisensíveis, apresentando, no caso de *S. warneri* resistência apenas à tetraciclina. Os dados completos são mostrados nas tabelas 1 e 2 do apêndice.

GRÁFICO 4

Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos dos aeróbios Gram positivo obtidos de infecções Intra-abdominais.



*

5 **Legenda:** BEN: Benzilpenicilina; AMP: Ampicilina; OXA: Oxacilina; GEN: Gentamicina; CIP: Ciprofloxacina; ERI: Eritromicina; CLI: Clindamicina; LIN: Linezolida; DAP: Daptomicina; TEI: Teicoplanina; VAN: Vancomicina; TET: Tetraciclina NIT: Nitrofurantoina; AFU: Ácido Fusídico; MUP: Mupirocina; RIF: Rifampicina; TRI/SUL: Trimetoprim/Sulfametoxazol; *: Testado apenas para *Staphylococcus* spp.; **: Testado apenas para *Enterococcus* spp.

10 Todas as amostras de *Enterococcus* ssp. foram resistentes à clindamicina sendo uma amostra de *E. faecium* resistente também à vancomicina. A resistência a trimetoprim/sulfametoxazol também ocorreu em todas as oito amostras de *Enterococcus* spp. Já a resistência a ampicilina ocorreu em apenas um isolado. A amostra de *E. faecium* resistente a vancomicina apresenta um perfil de multirresistência a drogas, sendo sensível a apenas um dos 12
15 antimicrobianos utilizados, a tetraciclina, apresentando-se sensível também ao teste de sinergia de gentamicina. A daptomicina foi o antimicrobiano mais eficaz contra *Enterococcus* ssp., como mostrado na tabela 3 do apêndice. Os dados completos de todos os microrganismos CGP testados frente a todas as drogas estão nas tabelas 4 e 5 do apêndice.

5.4.2 BACTÉRIAS GRAM NEGATIVO

20 Um total de 25 bactérias classificadas quanto às características morfológicas como bastonetes Gram negativos foi analisado por metodologia automatizada, quanto ao seu perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos. Nenhum dos 17 antimicrobianos utilizados, representando cinco classes e quatro subclasses, apresentou-se eficaz contra todas as amostras testadas. Três

amostras de *S. paucimobilis* foram submetidas ao teste em três momentos diferentes e não puderam ser analisadas devido a ausência de multiplicação microbiana no poço controle do cartão indicado para este microrganismo (AST-N105). Nem todos os 17 antimicrobianos foram testados para todos os 25 microrganismos, isto variou de acordo com critérios de utilização do Sistema Vitek II, como mostrado nas tabelas 8 e 9 do anexo E.

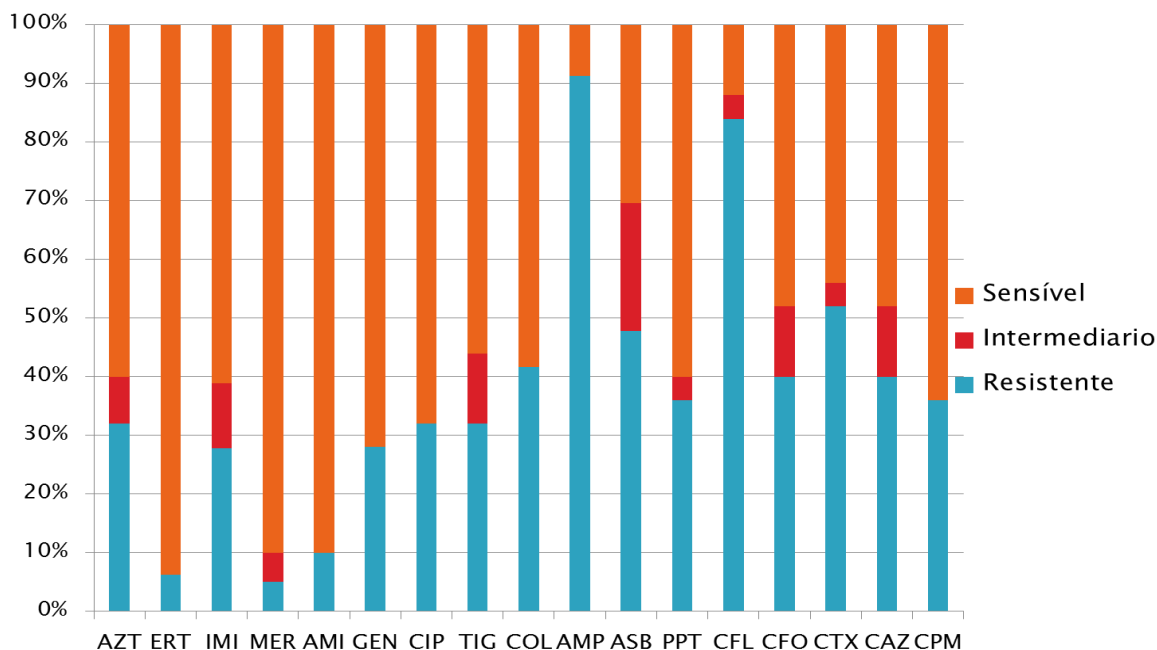
Os carbapenens e os aminoglicosídeos foram as classes para as quais os BGN apresentaram menores taxas de resistência plena, estas foram inferiores a 10% para ertapenem e meropenem, e de 10% para amicacina. A ampicilina foi o antimicrobiano com menor eficácia, mais de 90% das amostras se mostraram resistentes a esta droga. As taxas de resistência plena foram reduzidas para menos de 50% ao se utilizar uma penicilina associada a um agente inibidor de β -lactamases, sendo para piperacilina+tazobactam menor que 40%, e para ampicilina+sulbactam menor que 50%, representando um decréscimo significativo no número de microrganismos resistentes em relação à penicilina não associada. À cefalotina, cefalosporina de 1º geração, os microrganismos apresentaram a segunda maior taxa de resistência, acima de 80%. As taxas de resistência para as cefalosporinas de 2º e 3º gerações também foram altas, ultrapassando 50% para cefotaxima. Mesmo para cefepima, cefalosporina de 4º geração, a taxa foi alta, aproximando-se de 40%. Os dados para os 17 antimicrobianos são mostrados no gráfico 5.

Os BGN não fermentadores da glicose foram os que apresentaram taxas de resistência (plena ou intermediária) a um maior número de antimicrobianos. Dos nove microrganismos testados sete foram multirresistentes, sendo uma amostra de *A. baumannii* e uma de *P. aeruginosa* sensíveis a apenas um antimicrobiano, ampicilina+sulbactam e colistina, respectivamente. A colistina, a tigeciclina e o meropenem, foram os antimicrobianos que apresentaram melhores resultados contra os BGN não fermentadores, como mostrado na tabela 6 do apêndice.

Da família *Enterobacteriaceae*, os maiores números de microrganismos resistentes observados foram para cefalotina (n=13), ampicilina (n=12), ampicilina+sulbactam (n=12) e colistina (n=9). Já menores índices de resistência foram obtidos para os carbapenêmicos e para piperacilina+tazobactam, como mostrado na tabela 7 do apêndice. Metade das amostras de *E. coli*, três das seis testadas, foram produtoras de ESBL. Os dados completos de todos os microrganismos BGN testados frente a todos os antimicrobianos estão nas tabelas 8 e 9 do apêndice.

GRÁFICO 5

Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos dos aeróbios Gram negativo obtidos de Infecções intra-abdominais.



5 **Legenda:** AZT: Aztreonam; ERT: Ertapenem; IMI: Imipenem; MER: Meropenem; AMI: Amicacina; GEN: Gentamicina; CIP: Ciprofloxacina; TIG: Tigeciclina; COL: Colistina; AMP: Ampicilina; ASB: Ampicilina+Sulbactam; PPT: Piperacilina+Tazobactam; CFL: Cefalotina; CFO: Cefoxitina; CTX: Cefotaxima; CAZ: Ceftazidima; CPM: Cefepima; *: Testado apenas para *Enterobacteriaceae*.

10 5.5 PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS E PRODUÇÃO DE ESBL PELOS MICRORGANISMOS ANAERÓBIOS

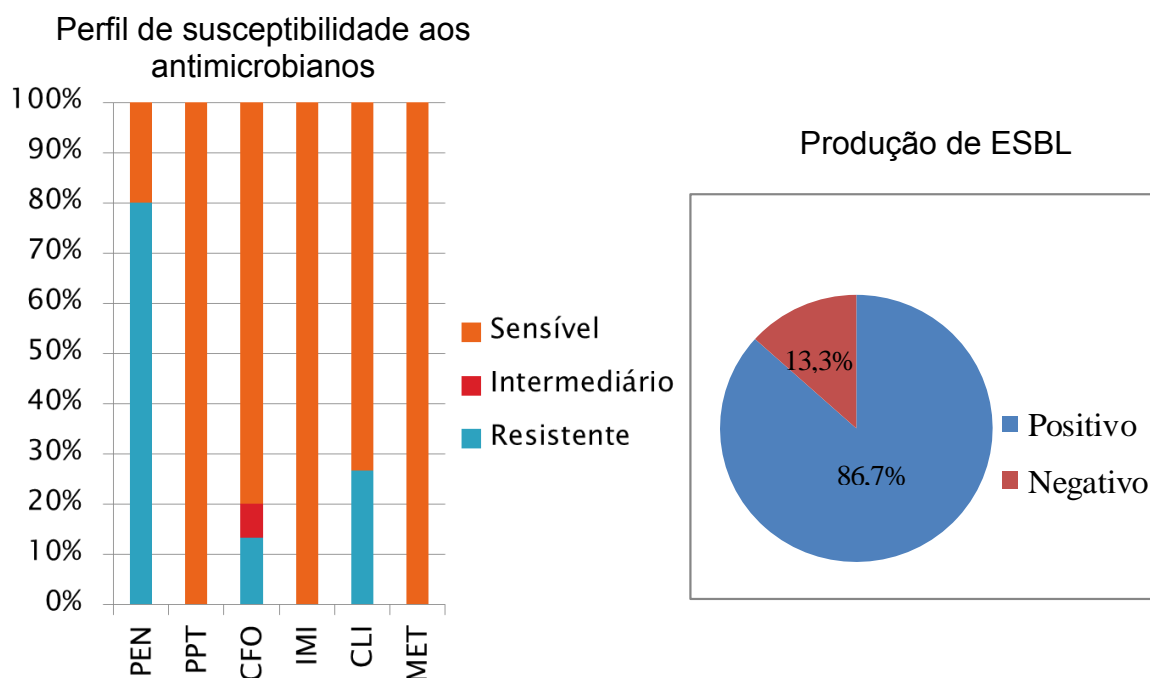
15 A menor concentração de antimicrobianos (CIM) capaz de inibir os 15 microrganismos BGN anaeróbios isolados, foi obtida pelo método da diluição em ágar. Metade dos seis antimicrobianos utilizados, distribuídos em três classes e três subclasses de β -lactâmicos, mostrou-se 100% eficaz contra estes microrganismos. Os BGN anaeróbios se mostraram 100% sensíveis ao metronidazol, ao imipenem e à piperacilina+tazobactam. Taxas de resistência acima de 10% e 20% foram encontradas à cefoxitina e à clindamicina, respectivamente, sendo à penicilina G a maior taxa de resistência obtida, 80%.

20 A produção de β -lactamases, determinada para os mesmos BGN anaeróbios, foi detectada em mais de 80% das amostras analisadas, taxa similar à resistência encontrada para penicilina G.

Os dados relativos à susceptibilidade aos seis antimicrobianos e à produção de β -lactamases são mostrados no gráfico 6.

GRÁFICO 6

Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos e produção de ESBL dos anaeróbios Gram negativo



5

Legenda: **PEN:** Penicilina G.; **PPT:** Piperacilina+Tazobactam; **CFO:** Cefoxitina; **IMI:** Imipenem; **CLI:** Clindamicina; **MET:** Metronidazol.

A única amostra de BGP anaeróbica recuperada, um *Propionibacterium acnes*, foi testada nas mesmas condições e com os mesmos antimicrobianos que os BGN anaeróbicos e apresentou resistência apenas ao metronidazol.

Todas as amostras de *Bacteroides* spp. (n=8) foram resistentes à penicilina, sendo sete destas produtoras de ESBL. A amostra de *Bacteroides ovatus* foi a que apresentou resistência a um maior número de antimicrobianos, três dos seis utilizados. As duas amostras de *Fusobacterium nucleatum*, uma delas produtora de ESBL e, uma de *Prevotella* spp., foram sensíveis aos seis antimicrobianos utilizados, sendo as outras quatro amostras de *Prevotella* spp. resistentes apenas à penicilina. A eficácia de cada droga frente a cada gênero de BGN anaeróbico, além da amostra de *P. acnes*, é mostrada na tabela 10 do apêndice onde os valores de MIC 50 e MIC 90 podem ser visualizados. Os dados completos de todos os microrganismos anaeróbicos testados frente a todas as drogas estão na tabela 11 do apêndice.

15

5.6 ANÁLISE DE CITOCINAS

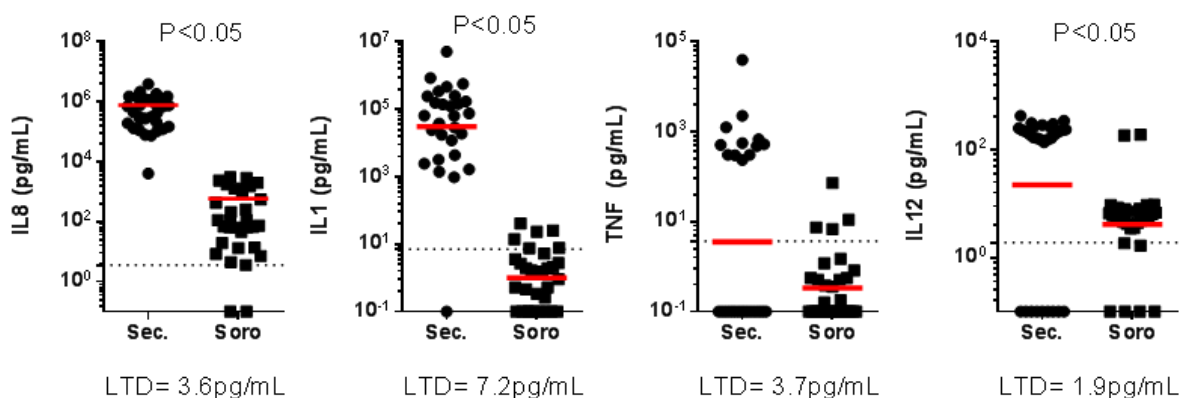
Foram analisadas, do soro e da secreção de pacientes com IIA, seis citocinas: IL-1 β , IL-8, IL-12 e TNF, com propriedades pró-inflamatórias, IL-10 com propriedades anti-inflamatórias e, IL-6 com ambas as propriedades. As análises ocorreram na secreção intra-abdominal e no soro de 30 e 31 pacientes, respectivamente. A avaliação dos demais pacientes não foi possível devido ao não envio das amostras para este fim, ao laboratório.

Das quatro citocinas pró-inflamatórias analisadas, obtidas da secreção intra-abdominal dos 30 pacientes, apenas IL-8 foi detectada em todos os casos, com valores variando de 4.045 a 3.868.682 pg/mL. TNF foi a citocina menos detectada na secreção dos pacientes, apenas 12 (40%) dos 30 pacientes apresentaram níveis detectáveis, com valores variando de 235 a 39.299 pg/mL.

Quanto às análises sorológicas, nenhuma das quatro citocinas pró-inflamatórias foi detectada em todos os pacientes. IL-8 foi também a mais detectada, com valores variando de 3,6 a 3.075 pg/mL, não sendo detectada em apenas dois pacientes. TNF e IL-1 β foram detectadas com níveis acima do limite teórico mínimo de detecção do Kit utilizado, especificado no item 4.7.1., apenas em seis e quatro pacientes, respectivamente. Os limites teóricos de detecção e os níveis de produção das quatro citocinas pró-inflamatórias, na secreção e no soro, são mostrados no gráfico 7.

GRÁFICO 7

Produção de citocinas pró-inflamatórias no soro e na secreção dos pacientes com IIA



20

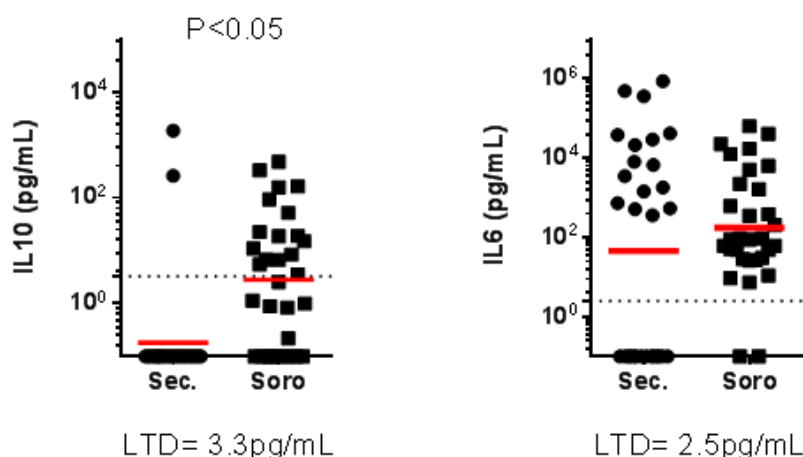
LEGENDA: sec.= secreção; LTD= limite teórico de detecção.

Das duas citocinas anti-inflamatórias detectadas na secreção intra-abdominal dos 30 pacientes, IL-10 foi detectada apenas em dois pacientes. Já IL-6 foi encontrada em 16 (51,6 %) dos 30 pacientes, com valores variando de 362 a 876.733pg/mL.

5 No soro, a citocina anti-inflamatória IL-6 foi detectada em 29 (93,5%) dos 31 pacientes analisados com valores variando de 7.3 a 63.879 pg/mL. A citocina IL-10, ao contrário do que foi observado na secreção de quase todos os pacientes, foi detectada em 16 (51,6%) das 31 amostras de soro analisadas, com valores acima do limite teórico mínimo de detecção, variando de 3.6 a 479 pg/mL. Os limites teóricos de detecção e os níveis de produção das duas citocinas anti-inflamatórias, na secreção e no soro, são mostrados gráfico 8. Os resultados de todas as citocinas por paciente estão na tabela 12 do apêndice.

GRÁFICO 8

Produção de citocinas anti-inflamatórias no soro e na secreção dos pacientes com IIA



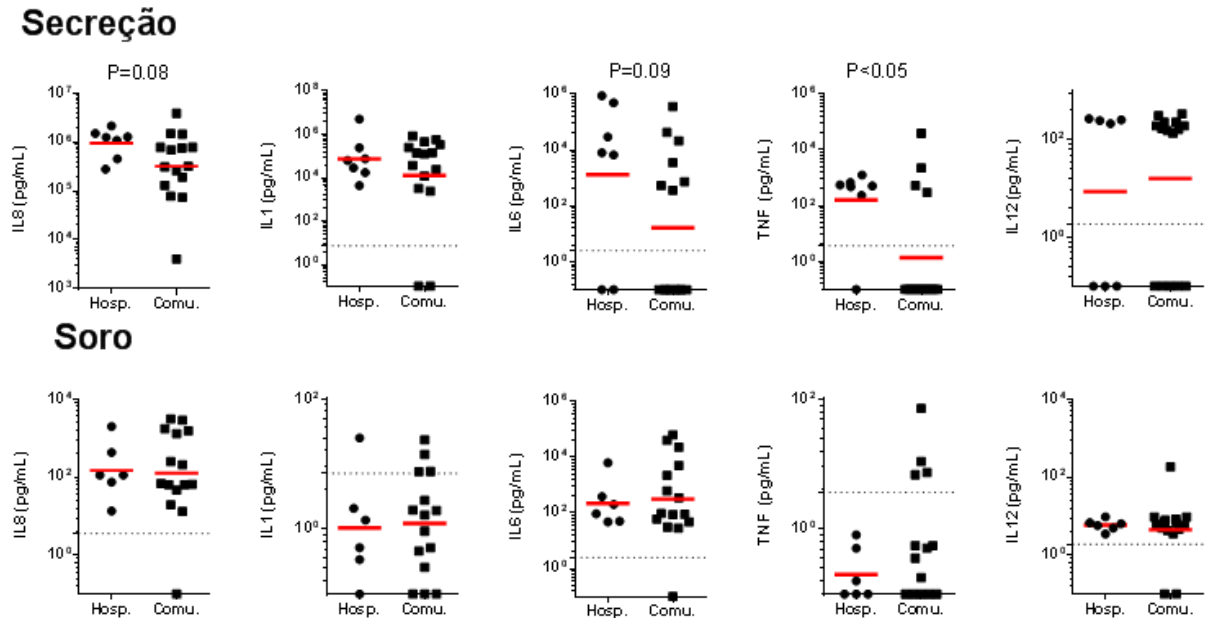
LEGENDA: sec.= secreção; LTD= limite teórico de detecção.

15 Das análises dos dados realizadas em relação à produção de citocinas apenas o local de aquisição da infecção (comunitário ou hospitalar) e a cultura de secreção (positiva ou negativa) interferiram na produção de citocinas pelos pacientes com IIA.

Os pacientes com infecção hospitalar apresentaram maiores níveis de produção de TNF no sítio da infecção (secreção; $p < 0,05$), além de uma tendência de maior produção de IL-6 e IL-8, também no sítio da infecção. Os dados para as cinco citocinas, excetuando-se IL-10, são mostrados no gráfico 9.

GRÁFICO 9

Relação entre a produção de citocinas e a origem da infecção (comunitária ou hospitalar)



LEGENDA: Hosp.= hospitalar; Comu.= comunitária.

5 A produção de IL-1 β e TNF no soro apresentaram níveis abaixo do nível teórico de detecção do Kit utilizado, especificado no item 4.7.1, na maioria dos pacientes analisados.

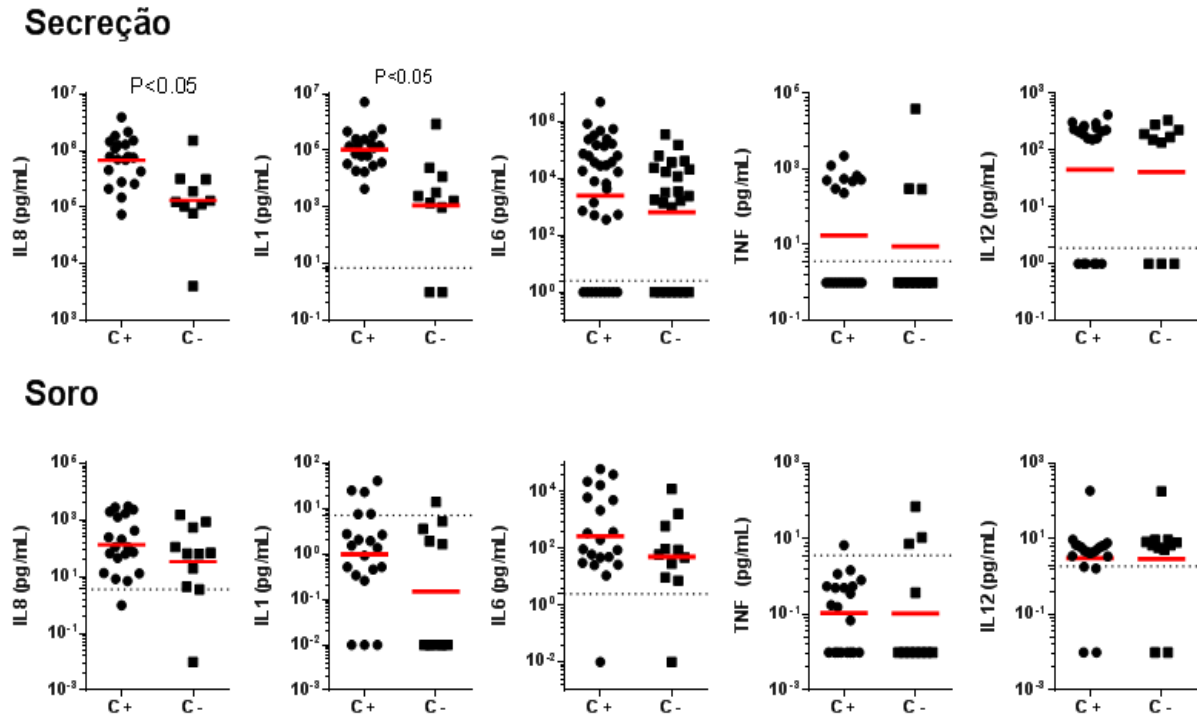
A cultura da secreção obtida das IIA positiva foi o dado laboratorial que apresentou relação com a produção de citocinas. Os pacientes que possuíam culturas positivas tiveram maiores níveis de produção de IL8 e IL1 β na secreção ($P < 0.05$), como mostrado no gráfico 10.

10

15

GRÁFICO 10

Relação entre a produção de citocinas e a cultura microbiana obtida da secreção intra-abdominal



LEGENDA: C+ = cultura positiva; C- = cultura negativa.

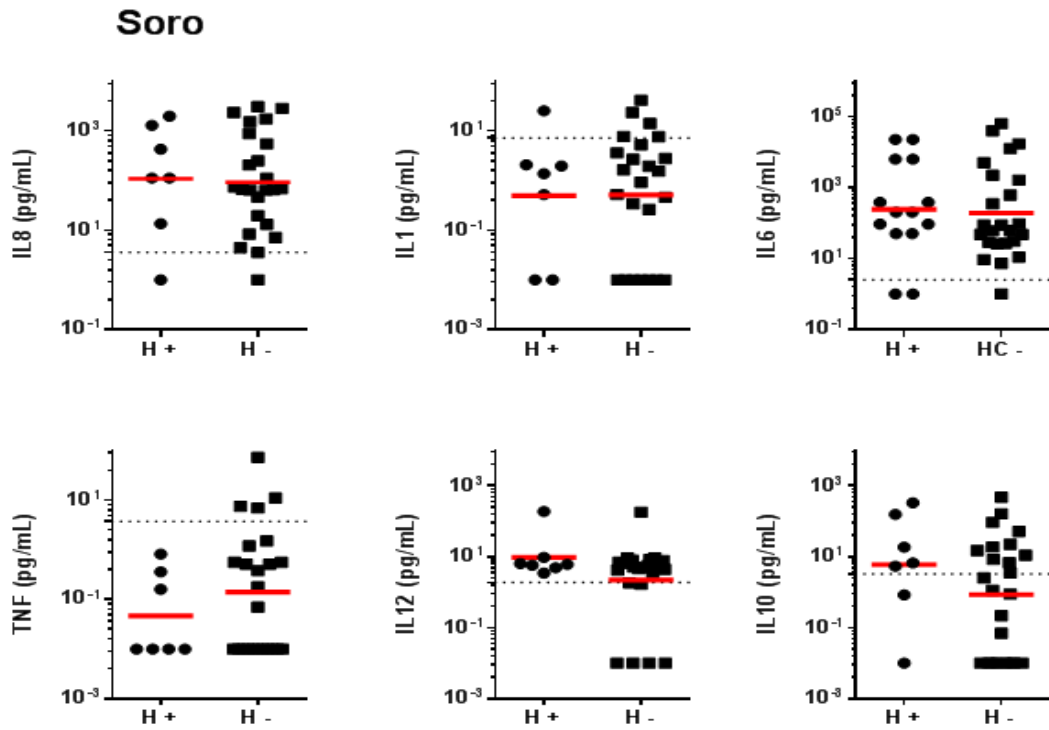
- 5 A presença de hemocultura positiva não mostrou relação com os níveis de citocinas detectados, nem mesmo no soro, indicando, que neste caso, a resposta imune inata sistêmica não foi alterada pela circulação de microrganismos na corrente sanguínea. Dado mostrado no gráfico 11.

10

15

GRÁFICO 11

Relação entre hemocultura positiva e a produção de citocinas no soro dos pacientes com IIA



LEGENDA: H+ = hemocultura positiva; H- = hemocultura negativa.

5

10

6. DISCUSSÃO

Infecção Intra-abdominal (IIA) é considerada ainda uma importante causa de morbimortalidade em todo o mundo. Esta representa a segunda causa mais comumente identificada de sepse grave em Unidades de Tratamento Intensivo (LOPEZ *et al.*, 2011). Estudos recentes têm associado IIA graves com uma significativa taxa de mortalidade (GUIRAO, 2010; LOPEZ *et al.*, 2011; MARTÍN-LÓPEZ *et al.*, 2012; FRIEDRICH & CAHAN, 2013; SKRUPKY *et al.*, 2013). O aumento da resistência bacteriana, o tratamento empírico inadequado, e as falhas no controle do foco infeccioso, podem ser, entre outros, os fatores responsáveis por este quadro (MASEADA *et al.*, 2013).

Devido à relevância das IIA, e suas possíveis implicações, assim como a ausência de dados locais atualizados relativos à prevalência dos microrganismos e seus perfis de susceptibilidade a antimicrobianos, bem como da resposta imune inata dos pacientes envolvidos, este estudo foi desenvolvido.

Foram analisadas, no período de março de 2011 a outubro de 2012, 51 amostras de pacientes atendidos em quatro serviços de saúde de Belo Horizonte/MG, sendo que 64,7% dos espécimes analisados apresentaram culturas positivas, com média de 2,5 microrganismos recuperados destas.

Estudo similar realizado por SANTOS *et al.* (2003) apresentou resultados similares ao analisar um grupo de estudo composto por 150 pacientes com diagnóstico clínico de infecção intra-abdominal atendidos em quatro instituições de saúde de Belo Horizonte, MG no período de agosto de 1997 a agosto de 1999. Embora o número de amostras analisadas tenha sido maior, a proporção de culturas positivas e o número de microrganismos recuperados por cultura positiva foi semelhante, 70,7% e 2,14% respectivamente. SARTELLI *et al.* (2012b), em estudo multicêntrico realizado na Europa entre janeiro e junho de 2012 com 2.152 pacientes de 68 instituições de saúde distribuídas por todas as regiões do continente europeu, também encontrou resultados que se assemelham aos nossos. A taxa de culturas positivas foi de 62,2%, embora o número de microrganismos recuperados por cultura positiva tenha sido menor que um.

Estes resultados indicam a adequação dos métodos de coleta de espécime clínico e cultivo de microrganismos empregados em nosso estudo, uma vez que apresentou resultados semelhantes ao último estudo de IIA realizado com amostras coletadas na cidade de Belo Horizonte (SANTOS

et al., 2003) e com o atual e grande estudo multicêntrico realizado na Europa (SARTELLI *et al.*, 2012b).

No presente estudo, os microrganismos mais recuperados foram os mesmos encontrados por SARTELLI *et al.* (2012b). Dentre os BGN aeróbios, *E. coli* foi o prevalente totalizando 8,8%, assim como *E. faecalis*, também representando 8,8% dos CGP aeróbios, sendo o mais isolado deles. Embora *E. coli* tenha sido o BGN aeróbio predominante em ambos os estudos, a sua representatividade foi maior, totalizando 41,4% dos aeróbios recuperados, no estudo multicêntrico (SARTELLI *et al.*, 2012b). CANTÓN *et al.* (2011) e HAWSER *et al.* (2014) também obtiveram *E. coli* como microrganismo mais recuperado de IIA, assim como no estudo de SANTOS *et al.* (2003). *S. aureus* foi o segundo microrganismo mais prevalente no estudo de SANTOS *et al.* (2003), sendo este em nosso estudo, assim como no estudo de SARTELLI *et al.* (2012b), menos recorrente, indicando uma possível mudança no atual perfil das IIA em relação aos CGP envolvidos.

Embora a presença de bactérias anaeróbias seja a principal causa da formação de abscessos nestes processos, sendo a cápsula polissacarídica de *B. fragilis*, a principal responsável pela formação destes (SANTOS, 2004; BROOK, 2008), apenas 6 (37,5%) dos 16 anaeróbios foram recuperados de abscessos abdominais, e destes dois foram identificados como *Bacteroides* spp. Observou-se ainda, que somente em quatro (21,05%) dos 19 quadros de abscessos foram isolados anaeróbios pelo método de cultura.

A presença de espécies de *Candida*, ainda que pequena, reafirma sua participação em processos infecciosos como microrganismos oportunistas, o que também foi evidenciado por SARTELLI *et al.* (2012^b) e SANTOS *et al.* (2003), indicando a necessidade da pesquisa de leveduras em quadros de IIAs, uma vez que são agentes patogênicos não rotineiramente cobertos em regimes de primeira linha de antimicrobianos (BLOT *et al.*, 2012), e por ser o diagnóstico precoce uma das variáveis associadas a um melhor prognóstico (LARBCHAROENSUB *et al.*, 2013).

A presença de microrganismos viáveis na corrente sanguínea tem substancial importância diagnóstica e prognóstica, podendo indicar falhas nas defesas do hospedeiro em conter a infecção no local de origem ou falhas nas intervenções médicas que visam erradicar o foco infeccioso (CLSI 2007). Neste estudo oito pacientes apresentaram bacteremia, sendo que um evoluiu para óbito.

Estudos têm mostrado que bactérias Gram positivo são os principais microrganismos envolvidos em quadros de bacteremia e que os *Staphylococcus* spp. coagulase negativa emergiram na última década como importantes causadores de bacteremia. Entretanto, por se tratar de microrganismos da microbiota natural da pele, a presença destes em amostras de sangue é usualmente considerada como contaminação da cultura quando isolados uma única vez (TAK *et al.*, 2013). Sete dos 10 microrganismos recuperados de hemoculturas em nosso estudo são CGP, sendo dois destes *Staphylococcus* spp. coagulase negativa e três do gênero *Enterococcus*, este último, foi considerado por SANGO *et al.* (2013) o maior causador de ICS em pacientes hospitalizados.

Embora se acredite que a presença de *Staphylococcus* spp. coagulase negativa recuperada de um episódio único ou em uma única amostra de hemocultura possa ser oriunda de contaminação, TAK *et al.* (2013) mostraram que a taxa de mortalidade entre os pacientes com apenas um episódio de isolamento destes microrganismos é maior que entre aqueles com múltiplos isolamentos, 23% e 14% respectivamente, deixando clara a importância destes microrganismos nos quadros de bacteremia.

Apesar da prevalência dos BGN não fermentadores em quadros de ICS em alguns estudos (JUGO *et al.*, 2002), estas bactérias não foram recuperadas neste sítio anatômico no presente estudo, sendo os BGN isolados representados por apenas três amostras da família *Enterobacteriaceae*.

Segundo LAMBERT *et al.* (2011) e BARNETT *et al.* (2013) quadros de ICS estão associadas a um aumento do período de internação e da taxa de morte entre os pacientes acometidos. Embora em nosso estudo possamos afirmar apenas o quadro de bacteremia, este não pode ser avaliado quanto ao tempo de internação e à taxa de morte, pois o grupo de pacientes com bacteremia e que apresentaram IIA comunitária foi composto por apenas dois indivíduos, inviabilizando a análise, uma vez que não é possível avaliar o quadro de bacteremia sem a influência da origem hospitalar da IIA.

Como já mencionado, as infecções hospitalares aumentam o risco de morte do paciente e prolongam seu tempo de internação (LAMBERT *et al.*, 2011; BARNETT *et al.*, 2013). Neste estudo, um aumento significativo no tempo de internação foi observado nos pacientes com IIA de origem hospitalar ($p < 0,05$) em relação aos pacientes com IIA adquirida na comunidade e admitidos no mesmo hospital. Entretanto, a origem do processo infeccioso não se refletiu na taxa de morte destes pacientes.

Os microrganismos mais recuperados das secreções de IIA de origem hospitalar no presente estudo foram aqueles de gêneros e espécies diretamente relacionados com processos infecciosos nestes ambientes, como *A. baumannii*, o mais frequente, representando quatro das 29 amostras bacterianas obtidas. Segundo GÜVEN *et al.* (2014), *A. baumannii* há meio século atrás não era aceito como agente etiológico de infecções humanas devido à sua baixa patogenicidade, ainda que fosse isolado de espécimes clínicos. Este microrganismo é atualmente responsável por quadros de infecções hospitalares com altas taxas de morbidade e mortalidade. Os outros microrganismos mais prevalentes nos pacientes com IIA hospitalar foram *Escherichia coli*, (n=3), *E. faecalis*, (n=3) e *Candida spp.* (n=3). De acordo com CARVALHO *et al.* (2007), as infecções fúngicas invasivas representam um problema de saúde pública de grande importância. A candidíase invasiva é uma infecção nosocomial associada à alta taxa de mortalidade entre pacientes imunossuprimidos ou gravemente doentes (LI *et al.*, 2013).

Considerando-se os microrganismos recuperados da corrente sanguínea nos pacientes com IIA de origem hospitalar, os prevalentes foram *Enterococcus faecium*, duas amostras e *E. coli*, duas amostras. De acordo com a literatura, *E. faecium* e *E. faecalis*, representa o terceiro ou quarto patógeno mais prevalente em infecções nosocomiais em todo o mundo (ORSI & COIBRA, 2013). Uma das amostras de *E. faecium* isolada da corrente sanguínea de um paciente com IIA hospitalar apresentou resistência à maioria dos antimicrobianos avaliados, inclusive à vancomicina (VRE). Ainda segundo ORSI *et al.* (2013), linhagens de VRE estão entre os microrganismos multidroga resistentes mais comumente associados ao ambiente hospitalar.

Em estudo realizado por DE BUS *et al.* (2013), *E. coli* foi o microrganismo mais isolado de ICS adquiridas no hospital, sendo diversas as origens das infecções primárias, totalizando 24% e 20% das IH de ocorrência imediata e IH de ocorrência tardia, respectivamente, representando 40% das ICS associadas a cuidados de saúde.

Desde 2002 uma nova classificação de ICS adquirida na comunidade foi proposta por Deborah Friedman, na qual pacientes com recente admissão hospitalar ou exposição significativa a cuidados médicos foram reagrupados como pacientes com ICS comunitária associada a cuidados de saúde (CARDOSO *et al.*, 2013). Este conceito vem sendo utilizado em diversos trabalhos (CATARRALÀ *et al.*, 2007; VALLÉS *et al.*, 2007; PARK *et al.*, 2010; AGUILAR-DURAN *et al.*, 2012; LENZ *et al.*, 2012) com resultados que afirmam a necessidade de se utilizar esta nova classificação em diversos quadros infecciosos. Em 2013 esta classificação foi utilizada, pela primeira vez, para avaliar pacientes com IIA, em estudo realizado por CARDOSO *et al.*

(2013) concluindo que as IIA comunitárias associadas a cuidados de saúde apresentam um perfil microbiológico único e com maiores taxas de resistência quando comparadas às demais IIA comunitárias. Entretanto, utilizou-se neste trabalho a classificação tradicional (comunitária ou hospitalar) devido à insuficiência de dados clínicos.

5 As 15 amostras de BGN anaeróbios isoladas das IIA, no presente estudo tiveram suas identificações fenotípicas confirmadas pelas análises genotípicas. Apenas uma amostra, identificada fenotipicamente como *P. intermedia*, não teve sua identificação confirmada na PCR convencional. Desta forma, o Sistema Vitek II mostra ser uma boa ferramenta para a identificação de anaeróbios, já que a concordância entre as duas metodologias de identificação ocorreu em 14
10 (93,3%) das 15 amostras. Resultados similares foram obtidos por RENNIE (2008), MORY (2009), e LEE (2011), com taxas de concordância entre as identificações realizadas pelo Sistema Vitek 2 e por sequenciamento de DNA de 91,5%, 86,5% e 90,0%, respectivamente. Entretanto, estes dados foram obtidos analisando-se apenas amostras pertencentes ao banco de dados do Sistema Vitek II. No mesmo estudo, LEE (2011) utilizou um grupo de 301 amostras clínicas
15 isoladas de pacientes de um hospital universitário da Holanda, sendo 100 destas amostras não pertencentes ao banco de dados do Sistema Vitek II, observando-se uma diminuição na acurácia de identificação de 90% obtida para 60.1% (LEE, 2011). Estes estudos evidenciam a grande capacidade discriminatória do Vitek II entre os microrganismos contidos em seu banco de dados, embora este não seja abrangente o bastante para identificar todos os anaeróbios relacionados a
20 quadros infecciosos.

O sequenciamento de DNA do microrganismo que não teve a identificação confirmada pela PCR indicou, com uma identidade de 99%, tratar-se de uma amostra de *P. nigrescens*. É importante ressaltar que a espécie *P. nigrescens* não existia antes das técnicas de identificação baseadas em DNA. Só após o advento das técnicas de análise genotípica é que *P. nigrescens* foi
25 distinguida de *P. intermedia* (COHEN e HARGREAVES, 2007), evidenciando a dificuldade de distinção entre as duas espécies baseada apenas em características bioquímico-fisiológicas.

Uma vez que esta PCR foi realizada com DNA obtido de culturas puras, a qual exige isolamento prévio do microrganismo, esta pode não ser a melhor opção para a identificação de anaeróbios se comparada ao Sistema de identificação fenotípica Vitek II. Este último, também
30 dependente do isolamento microbiano, apresenta uma menor complexidade técnica, exigindo menor capacitação técnica para a execução do teste, além de gastar menos tempo para a obtenção do resultado na identificação bacteriana, embora necessite da aquisição do equipamento e dos

cartões de identificação. Uma boa alternativa seria a extração direta de DNA da amostra clínica, o que diminuiria o tempo de identificação em pelo menos 48h, tempo mínimo para o crescimento de bactérias anaeróbias. Todavia, a padronização para a extração direta do DNA microbiano dos espécimes clínicos é complexa, uma vez que estes são muito distintos entre si, apresentando desde amostras fluidas a até espécimes quase sólidos, com interferentes e DNA humano imersos na amostra, tornando-se o procedimento de padronização complexo.

A resistência a antimicrobianos é um dos principais problemas de saúde pública, especialmente nos países em desenvolvimento, onde a disponibilidade relativamente fácil e o maior consumo de medicamentos levaram a uma maior incidência de uso inadequado destes fármacos e maiores níveis de resistência em comparação a países desenvolvidos (KUMAR *et al.*, 2013). Estas taxas são crescentes, tanto na comunidade quanto no meio hospitalar, com um impacto significativo sobre as taxas de mortalidade e de morbidade dos pacientes acometidos, assim como nos encargos financeiros associados (BASSETTI *et al.*, 2013).

Neste estudo, avaliamos o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos de BGN e CGP aeróbios e anaeróbios, num total de 60 bactérias. As taxas de resistência plena variaram para os BGN aeróbios de 5% (meropenem) a 91,3% (ampicilina). DOS SANTOS *et al.* (2004) avaliaram o perfil de susceptibilidade a antimicrobianos de microrganismos também recuperados de IIA em Belo Horizonte e encontrou resultados semelhantes, sendo o meropenem o antimicrobiano mais eficaz, com apenas 3% resistência entre os BGN aeróbios avaliados. Em estudo multicêntrico, realizado na Espanha no período de 2002 a 2010, CANTÓN *et al.* (2011) também encontraram os melhores resultados de sensibilidade bacteriana para o meropenem, embora neste estudo os autores tenham utilizado os critérios interpretativos do EUCAST. Estes foram seguidos pelos demais carbapenêmicos e pela amicacina. Resultados semelhantes foram encontrados em nosso estudo, sendo exceção o imipenem para o qual a taxa de resistência ficou mais elevada, próxima de 30%. Os carbapenêmicos foram ativos inclusive contra as amostras de *E. coli* produtoras de ESBL. Ainda que se tratando de um número pequeno de amostras testadas (n= 6), este resultado corrobora com a escolha dos carbapenêmicos para terapia empírica de infecções causadas ou fortemente suspeitas de serem causadas por enterobactérias produtoras de ESBL (CANTÓN *et al.*, 2011).

Devido ao aumento substancial da resistência bacteriana (BGN e CGP) observado mundialmente, tem havido numerosos esforços para incentivar pesquisas relacionadas ao desenvolvimento de novos antimicrobianos com eficácia e segurança. A exemplo dos

antimicrobianos relativamente recentes como a daptomicina contra MRSA e VRE, a tigeciclina contra MRSA, VRE, *Enterobacteriaceae* produtora de ESBL e bactérias resistentes a carbapenêmicos, com boa atividade em *in vitro* e *in vivo* (ECKMANN *et al.*, 2011). Entretanto, foi observada em nosso estudo uma taxa de resistência plena a tigeciclina superior a 30% para os BGN aeróbios, e superiores a 10% com relação à linezolida e à daptomicina no grupo dos CGP aeróbios.

Estes resultados deixam claro que esforços contínuos na busca de novas estratégias terapêuticas, assim como a otimização do uso de antimicrobianos têm que ser objetivos constantes na prática clínica e alvos de intensas pesquisas. Segundo MOUTON *et al.* (2013), o principal desafio é como influenciar no processo de seleção natural, ou seja, como minimizar a exposição dos microrganismos aos antimicrobianos sem comprometer a sua eficácia ou restringir seu uso para aqueles pacientes que precisam deles.

Dentre os BGN aeróbios, os microrganismos não fermentadores, aqui representados por *A. baumannii*, *P. aeruginosa* e *S. paucimobilis*, foram os que apresentaram maiores taxas de resistência a antimicrobianos, variando de 12,5% (colistina) a 100% (ampicilina e cefalotina), sendo que para 10 dos outros 13 antimicrobianos utilizados a taxa foi igual ou maior a 50%. De acordo com BASSETTI *et al.* (2013), bactéria multirresistente é definida como aquela não susceptível a um ou mais agentes antimicrobianos de três ou mais classes de antimicrobianos. Desta forma, sete dos nove BGN não fermentadores isolados neste estudo são considerados multirresistentes. É sabido que infecções envolvendo BGN resistentes a múltiplas drogas são responsáveis por altas taxas de mortalidade e resultam em poucas opções de antimicrobianos eficazes (BASSETTI *et al.*, 2013).

Dentre as amostras de CGP, *Staphylococcus* coagulase positivo apresentaram taxas de resistência que variaram de 0% (nitrofurantoina e mupirocina) a mais de 77% (Eritromicina e oxacilina). Em uma *Mini-review* feita por GOMES *et al.* (2013), as taxas de resistência de *S. epidermidis*, espécie de coagulase negativo mais isolada em nosso estudo, variaram de 75-90% para meticilina. Resistência elevada a outros antimicrobianos, por exemplo, rifampicina, fluoroquinolonas, gentamicina, tetraciclina, eritromicina, clindamicina e sulfonamidas, observadas em nosso estudo, foi também observada por GOMES *et al.* (2013).

A resistência às penicilinas betalactamases estáveis tem sido denominada como resistência à meticilina, assim as denominações MRSA (“Methicillin Resistant” *Staphylococcus aureus*) e MRS (“Methicillin Resistant” *Staphylococcus*) ainda são normalmente utilizadas, embora a

meticilina não seja mais o antimicrobiano de escolha para tratamento ou teste de suscetibilidade. A oxacilina e a cefoxitina podem ser empregados como referência para caracterizar a resistência à metilina (FERREIRA *et al.*, 2009; CLSI 2013).

5 No presente estudo duas amostras de *S. aureus* e sete das nove amostras de *Staphylococcus*
coagulase negativo foram resistentes à oxacilina/cefotina e então considerados como resistentes
à metilina e aos demais beta-lactâmicos avaliados. O MRSA é um importante agente patogênico
que causa problemas de saúde em todo o mundo (CHAN *et al.*, 2013). A infecção causada por
(MRSA) é considerada uma das mais graves infecções hospitalares e tem causado apreensão em
10 instalações hospitalares por causa de possíveis surtos epidêmicos (RUIZ *et al.*, 2014). Apesar das
opções de tratamento disponíveis para infecções envolvendo MRSA, a morbidade e a mortalidade
atribuída às diversas manifestações de infecção deste patógeno continuam elevadas (BURKE &
ROSE, 2014).

Um estudo desenvolvido por OKSUZ *et al.* (2013) analisou amostras de diversos
espécimes clínicos (sangue, abscesso, pus, fluidos corporais estéreis, urina, etc), coletados entre
15 setembro de 2007 e março de 2009 na Turquia, das quais foram isolados 49 MRSA e 59 MRS,
sendo os microrganismos coagulase negativo predominantes, assim como em nosso estudo onde o
número de MRS foi maior que o de MRSA. Uma vez que o problema mais importante no
tratamento de infecções por estafilococos é a resistência à metilina, já que estes são também
resistentes aos agentes beta-lactâmicos (OKSUZ *et al.*, 2013), a proporção de infecções causadas
20 por *Staphylococcus* em nosso estudo, 9 dos 11 casos (81,8%), é preocupante, apesar do pequeno
número de casos analisados.

As espécies de *Enterococcus* spp. apresentaram menores taxas de resistência, sendo estas
de 40% para 10 dos 12 antimicrobianos utilizados. Apenas para clindamicina e
trimetoprim/sulfametoxazol as taxas foram de 100%. Entretanto, uma amostra de *E. faecium*
25 apresentou resistência a uma ampla gama de antimicrobianos, inclusive à vancomicina. Segundo
ORSI e CIORBA (2013), as taxas de *Enterococcus* resistente à vancomicina (VRE) são muito
variáveis, de < 2% (Finlândia, Holanda) a 33% (Estados Unidos). Embora com alguns limites
metodológicos, vários estudos mostraram que as infecções causadas por VRE são mais graves e
estão associadas a uma maior taxa de mortalidade, duas vezes maior do que a visualizada para
30 *Enterococcus* sensível à vancomicina. A resistência aos agentes antimicrobianos mais recentes
como daptomicina e linezolida já foi descrita (ORSI e CIORBA, 2013). A amostra de VRE
recuperada em nosso estudo também apresentou resistência a estes antimicrobianos, o que, ainda

segundo ORSI e CIORBA (2013), limita as opções de tratamento para infecções provocadas por estes microrganismos.

5 A susceptibilidade das 16 amostras de anaeróbios, 15 BGN e 1 BGP, foi testada frente a seis antimicrobianos. O encontro de resistência à penicilina G em 80% destas amostras, chegando a 100% no grupo *B. fragilis*, que são os anaeróbios mais resistentes aos agentes antimicrobianos (TOPRAK ÜLGER *et al.*, 2013), no presente estudo, confirma que drogas deste grupo, como já observado por DOS SANTOS *et al.*, (2004), não devem ser utilizadas como agentes terapêuticos únicos no tratamento das IIA. Por outro lado, a associação destas a um inibidor de β -lactamases mostrou-se bem efetiva, levando a taxa de resistência à zero com o uso de piperacilina+tazobactam, indicando que a produção de ESBL, que ocorreu em mais de 80% dos anaeróbios, parece ser o principal mecanismo de resistência a agentes β -lactâmicos nas amostras avaliadas. Em estudo realizado por WYBO *et al.* (2013) a produção de ESBL foi detectada, utilizando-se a mesma metodologia, em 52% dos isolados, mas entre as espécies de *Bacteroides* a incidência foi maior chegando a 96% das amostras, sendo em nosso trabalho de 87,5%.

15 A capacidade de certas bactérias produzirem enzimas que inativam os agentes β -lactâmicos, já é reconhecida desde há muito tempo. Em 1940, Abraham e Chain foram os primeiros a reconhecer uma atividade enzimática em extratos de *E. coli*, capaz de inativar a penicilina. Desde então, foi isolado um grande número de enzimas idênticas a partir de várias espécies de bactérias com especificidades de substratos relativamente diferentes (BD *Diagnostics*, 2010).

25 Com relação à clindamicina e à cefoxitina, que podem ser opção terapêutica contra anaeróbios, as taxas de sensibilidade são altas. Doze (75%) das 16 amostras foram sensíveis a clindamicina e 13 (81,25%) das 16 amostras foram sensíveis a cefoxitina. Resultados similares foram obtidos por WYBO *et al.* (2013), sendo sensíveis a clindamicina e a cefoxitina 70% e 79% das amostras de anaeróbios analisadas. A cefoxitina tem apresentado boa efetividade contra anaeróbios, com taxas de sensibilidade relativamente estáveis nas duas últimas décadas, 83% em 1993-1994 e 79% em 2011-2012. Já a clindamicina parece ser mais vulnerável aos mecanismos de resistência bacteriana, uma vez que a taxa de sensibilidade caiu de 81% em 1993-94 para 70% em 2011-2012 (WIBO *et al.*, 2013), sendo de 71,8% no estudo realizado por DOS SANTOS *et al.* (2004).

Mesmo após mais de 45 anos de uso o metronidazol continua sendo a droga de escolha para o tratamento de infecções anaeróbias (LOFMARK *et al.*, 2010). Neste estudo, ele foi o

principal antimicrobiano utilizado previamente à coleta do espécime clínico, sendo utilizado por mais da metade dos pacientes, e mostrou 100% de eficácia contra os BGN anaeróbios. O único microrganismo resistente a este antimicrobiano foi *P. acnes*, para o qual a resistência é intrínseca, como reportado pelo CLSI (2013) e observado por DOS SANTOS *et al.* (2004). O imipenem, assim como o metronidazol, mostrou 100% de eficácia contra os BGN anaeróbios, sendo ativo, ainda, contra a amostra de *P. acnes*. Resultados similares, próximos de 100% de sensibilidade ao metronidazol, imipenem e piperacilina+tazobactam, foram observados por KARLOWSKY *et al.* (2011), em um estudo desenvolvido no Canadá durante os anos de 2010 e 2011.

No entanto, algumas amostras resistentes ao metronidazol têm sido relatadas em vários países recentemente. Sugere-se que os genes *nim* são os responsáveis pela maioria dos casos de resistência ao metronidazol (TOPRAK ÜLGER *et al.*, 2013). No estudo de TOPRAK ÜLGER uma amostra de *B. thetaiotaomicron*, com CIM para metronidazol de 16 mg/L, intermediária de acordo com os critérios do CLSI, a pesquisa do gene *nin* foi positiva. No presente estudo, o microrganismo metronidazol-resistente teria sido relatado como suscetível de acordo com o valor de *breakpoint* do CLSI, o que poderia ter acarretado em fracasso clínico. Portanto, segundo TOPRAK ÜLGER *et al.* (2013), os valores de *breakpoint* do EUCAST, que considera >4 mg/L resistente, parecem ser mais racionais em caso de antibiograma para *Bacteroides* spp. Desta forma, seriam em nosso estudo, resistentes ao metronidazol, todas as amostras de *Bacteroides* spp, uma vez que todas apresentaram valores de CIM igual a 8. Tal interpretação poderia restringir muito o uso deste antimicrobiano, que é a principal droga de escolha na antibioticoterapia empírica/profilática em casos com suspeita de participação de anaeróbios. Todavia, não se pode ignorar a possibilidade de falha terapêutica, o que indica que a avaliação do gene *nim*, em associação à CIM, pode ser importante para se definir a antibioticoterapia mais apropriada com espécies de *Bacteroides*.

Frente a processos infecciosos e/ou injúrias teciduais, as células de defesa liberam diversas moléculas, como mediadores pró-inflamatórios, que irão produzir uma sucessão de outras substâncias na tentativa de levar a uma resposta coordenada (CASTRO, 2008; SHARMA & KUMAR, 2008).

As citocinas são potentes proteínas de baixo peso molecular produzidas por células nucleadas, particularmente as do sistema imune, e que exercem controle sobre a amplitude e a duração da resposta imune inflamatória (SURBATOVIK *et al.*, 2013). A sepse é caracterizada por uma resposta hiperinflamatória do hospedeiro a patógenos invasores que é mediada,

principalmente, pelas citocinas (JONG *et al.*, 2010). Embora a resposta imune inicial seja fundamental para a eliminação efetiva de patógenos invasores, uma resposta do hospedeiro excessivamente exuberante a infecção pode causar choque séptico, danos teciduais e morte (WEBER & SWIRSKI; 2013).

5 Neste estudo, foram mensurados os níveis de seis citocinas presentes no sítio da infecção (secreção abdominal) e na corrente sanguínea de pacientes com IIA. Maiores níveis de IL-1 β , IL-8 e IL12p70 (P<0.05), que são citocinas pró-inflamatórias, assim como valores mais altos de TNF e IL-6, embora sem significância estatística, foram detectados no local do processo infeccioso em comparação com os níveis encontrados no soro dos pacientes. Este dado corrobora com a
10 afirmação de SCHEIN *et al.* (1996) de que quadros de peritonite bacteriana estão associados com uma imensa resposta de citocinas intraperitonealmente compartimentalizada, com os níveis de citocinas plasmáticas representando apenas a ponta do *iceberg*. Fato demonstrado também por DE SOUZA & SEGURO (2008) em um estudo sobre resposta inflamatória em peritonite meningocócica.

15 A citocina IL-10 foi a exceção em relação aos níveis superiores de citocinas no local da infecção em comparação à corrente sanguínea. IL-10 foi detectada no local da infecção apenas em dois pacientes, embora tenha sido detectada na corrente sanguínea da metade destes. Estes dois pacientes apresentaram o maior e o terceiro maior nível de IL-6, também na secreção, evidenciando um quadro de resposta anti-inflamatória local. A IL-10 é uma importante citocina
20 imunossupressora que controla a resposta anti-inflamatória (HUTCHINS *et al.*, 2013), o que indica que uma resposta anti-inflamatória sistêmica pode estar ocorrendo nos pacientes em que a sua produção foi detectável na corrente sanguínea, o que não parece ocorrer no local do foco infeccioso da maioria dos pacientes. A resposta anti-inflamatória é um mecanismo homeostático essencial para controlar o grau e a duração da inflamação (HUTCHINS *et al.*, 2013). Isto pode ser
25 um indício de que estes pacientes estão apresentando uma reação inflamatória controlada. Entretanto, segundo HUTCHINS *et al.*, (2013), a atividade de IL-10 precisa ser firmemente regulada, caso contrário, os resultados podem ser devastadores, podendo a superprodução de IL-10 causar quadros de imunossupressão indesejados, sendo os altos níveis plasmáticos de IL-10 associados à morte de pacientes com sepse grave (CESUR *et al.*, 2011; CHUANG *et al.*, 2014).

30 Os dois únicos pacientes que apresentaram níveis detectáveis de IL-10 na secreção apresentaram o maior e o terceiro maior nível de IL-6, também na secreção, evidenciando um quadro de resposta anti-inflamatória local. Apesar de estes pacientes terem apresentado um padrão

de resposta inflamatória diferenciada em relação aos demais pacientes, esta não mostrou relação com os demais parâmetros clínico/laboratoriais analisados.

Embora tenham sido detectadas em menores níveis no soro em relação à secreção, com exceção a IL-10, a presença das citocinas na corrente sanguínea, principalmente de IL-8, IL12p70 e IL-6, na maioria dos pacientes, pode indicar a ocorrência de um processo infeccioso mais grave. Em um estudo de revisão realizado por KYLANPAA *et al.* (2012) foi feita uma associação entre a gravidade de casos de pancreatite aguda com a liberação de citocinas na corrente sanguínea. Segundo KYLANPAA *et al.* (2012), os quadros leves de pancreatite aguda apresentam resposta inflamatória restrita à área afetada. Já nos casos mais graves ocorre uma resposta inflamatória sistêmica com a liberação de mediadores pró-inflamatórios, tais como TNF, IL-1 β , IL-6 e IL-8, na circulação.

Os níveis de citocinas, detectados na secreção abdominal dos pacientes com IIA, apontam para um processo infeccioso mais grave entre os pacientes com infecção hospitalar, uma vez que os níveis mais altos de citocinas, como os detectados para TNF (P<0.05), IL-6 e IL-8, que apresentaram apenas uma tendência estatística a serem maiores (P=0.09 e P=0.08, respectivamente), indicam um maior estímulo do sistema imunológico, o que está relacionado com a intensidade do processo infeccioso, como indicado por KYLANPAA *et al.* (2012). Este dado corrobora com a afirmação de que as infecções hospitalares são mais graves que as comunitárias, apresentando maiores riscos de morte e aumento no tempo de internação (BARNETT, *et al.*, 2013), embora em nosso estudo só tenham se refletido no tempo de internação dos pacientes com IIA.

O crescimento microbiano detectado em cultura foi outro fator que influenciou a produção de citocinas. Os níveis de IL-1 β e IL-8 foram maiores no grupo dos pacientes que apresentou cultura de secreção positiva. A inexistência de isolamento microbiano não indica, necessariamente, se tratar de um quadro asséptico. Inúmeros são os fatores que podem levar a uma cultura negativa em quadros clínicos onde há presença de microrganismos viáveis. Segundo DE JONG *et al.* (2010) e SURBATOVIC *et al.* (2013), a estimulação do sistema imune pode ocorrer em decorrência de fragmentos moleculares de patógenos, conhecidos como padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), tais como LPS, DNA bacteriano e ácido lipoteicóico, dentre outros, assim como por padrões endógenos análogos aos PAMPs, de origem do hospedeiro, como ácido hialurônico e proteína do choque térmico, o que pode explicar a produção de citocinas, ainda que em níveis menores, no grupo de pacientes com cultura negativa,

entre os possíveis pacientes com presença de microrganismos inviáveis ou mesmo com quadros assépticos.

5 O maior nível de produção de IL-1 β entre os pacientes com cultura de secreção positiva é indicativo de uma maior reação imune inata, pois, juntamente com o processamento de caspase-1 e a indução de piropitose, a maturação e liberação de IL-1 β é característica de um inflamassoma ativado, o qual compreende um complexo multi proteico de sinalização montado em resposta aos agentes patogênicos, bem como sinais endógenos de perigo (JONG *et al.*, 2010; BROZ & MONACK, 2013), que desencadeia a resposta inflamatória.

10 De acordo com as análises empregadas no presente estudo, a bacteremia não alterou a produção de citocinas, sendo esta similar a do grupo com cultura positiva de secreção abdominal. Nem mesmo os níveis de citocinas no soro se mostraram alterados em relação ao grupo de cultura positiva, dado que corrobora com a afirmação de que em quadros de IIA as citocinas têm sua origem no peritônio e posteriormente ganham a corrente sanguínea (BADIA *et al.*, 1996; RIESE *et al.*, 2000; SANTOS, 2001; KASPER & COHEN-PORADOSU, 2008), sendo nestes casos o
15 foco do processo infeccioso o responsável por desencadear a resposta imune. Segundo KYLANPAA *et al.* (2012) o grau em que estes mediadores escapam para a circulação determina a natureza da resposta inflamatória sistêmica.

20

25

7. CONCLUSÕES

- Os métodos de coleta e de cultivo microbianos utilizados foram satisfatórios, uma vez que permitiram a recuperação de microrganismos em mais de 60% dos casos diagnosticados clinicamente como IIA, sendo estes similares a outros valores relatados na literatura.

5 - O caráter polimicrobiano destes processos infecciosos foi confirmado, sendo a média de microrganismos recuperados por cultura positiva igual a 2,5.

- O sistema Vitek II mostrou ser uma boa ferramenta para a identificação microbiana uma vez que as taxas de confiabilidade foram maiores que 90% na maioria das vezes, sendo observada ainda uma concordância também de mais de 90% com a identificação genotípica realizada com os anaeróbios Gram negativo.

10

- Dos microrganismos identificados oriundos das IIA, os do grupo *Bacteroides fragilis* e *Prevotella* spp. foram predominantes entre os anaeróbios e, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Acinetobacter baumannii* e *Sphingomonas paucimobilis* dentre os aeróbios. Considerando-se aqueles recuperados da corrente sanguínea nos pacientes com IIA de origem hospitalar, os prevalentes foram *Enterococcus faecium* e *E. coli*.

15

- Os dados relativos às IIA de origem hospitalar mostraram estar diretamente associados a microrganismos com perfil de resistência a uma ampla gama de antimicrobianos, sendo comuns aqueles reconhecidos como patógenos oportunistas nosocomiais.

- Observou-se entre os Gram positivo aeróbios resistência à oxacilina e a macrolídeos na maioria das amostras de *Staphylococcus* avaliadas e resistência à clindamicina em todas as de *Enterococcus*, sendo uma destas resistentes também à vancomicina.

20

- Os carbapenems e os aminoglicosídeos foram, *in vitro*, os antimicrobianos mais eficazes contra os BGN, embora se tratando dos não fermentadores da glicose a multirresistência tenha sido observada na quase totalidade das amostras analisadas.

- A metodologia empregada permitiu evidenciar a produção de β -lactamases em mais de 80% dos BGN anaeróbios analisados, a qual parece estar diretamente associada à resistência a Penicilina G, com taxa de 80% de resistência. Observou-se ainda, sensibilidade de todas as amostras ao imipenem, piperacilina+tazobactam e ao metronidazol.

25

- Os únicos parâmetros clínico/laboratoriais que influenciaram os níveis de produção de citocinas foram os de origem das IIA (hospitalar) e a cultura microbiana positiva, observando-se

30

níveis de TNF α significativamente aumentados na secreção de IIA dos pacientes hospitalares e, IL8 e IL1 β naqueles com cultura positiva.

5 - Os níveis das citocinas TNF α (P<0.05), IL-6 e IL-8, detectados na secreção abdominal dos pacientes com IIA, podem estar relacionados com um agravamento dos quadros clínicos dos pacientes, uma vez que estes foram aumentadas naqueles com infecção hospitalar.

10

15

20

25

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUILAR-DURAN, S. *et al.* Community-onset healthcare-related urinary tract infections: comparison with community and hospital-acquired urinary tract infections. **J Infect**, v. 64, n. 5, p. 478-83, May 2012.
- 5 ALDRIDGE, K. E. The occurrence, virulence, and antimicrobial resistance of anaerobes in polymicrobial infections. **Am J Surg**, v. 169, n. 5A Suppl, p. 2S-7S, May 1995.
- ALEKSHUN, M. N.; LEVY, S. B. Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. **Cell**, v. 128, n. 6, p. 1037-50, Mar 23 2007.
- ANVISA. Detecção e Identificação de Bactérias de Importância Médica. Módulo 5. Brasil.
10 2004.
- AVILA-CAMPOS, M. J. *et al.* Arbitrarily primed-polymerase chain reaction for identification and epidemiologic subtyping of oral isolates of *Fusobacterium nucleatum*. **J Periodontol**, v. 70, n. 10, p. 1202-8, Oct 1999.
- BADIA, J. M. *et al.* Peritoneal and systemic cytokine response to laparotomy. **Br J Surg**,
15 v. 83, n. 3, p. 347-8, Mar 1996.
- BANDOH, K. *et al.* Conjugal transfer of imipenem resistance in *Bacteroides fragilis*. **J Antibiot (Tokyo)**, v. 45, n. 4, p. 542-7, Apr 1992.
- BARNETT, A. G. *et al.* The increased risks of death and extra lengths of hospital and ICU stay from hospital-acquired bloodstream infections: a case-control study. **BMJ Open**, v. 3, n.
20 10, p. e003587, Oct 2013.
- BASSETTI, M.; RIGHI, E. Multidrug-resistant bacteria: what is the threat? **Hematology Am Soc Hematol Educ Program**, v. 2013, p. 428-32, 2013.
- BHARADWAJ, R. Anaerobic microbiology: time to rejuvenate. **Indian J Med Microbiol**, v. 30, n. 1, p. 3-5, Jan-Mar 2012.
- 25 BLOT, S.; DE WAELE, J. J. Critical issues in the clinical management of complicated intra-abdominal infections. **Drugs**, v. 65, n. 12, p. 1611-20, 2005.
- BLOT, S.; DE WAELE, J. J.; VOGELAERS, D. Essentials for selecting antimicrobial therapy for intra-abdominal infections. **Drugs**, v. 72, n. 6, p. e17-32, Apr 16 2012.

BRANCHINI, O. A. G.; FARHAT, C. K. Sepse por Germes Gram negativos no Lactente. In: PRADO, Felício Cintra do; RAMOS, Jairo de Almeida; VALLE, José Ribeiro do. *Atualização Terapêutica: Manual Prático de Diagnóstico e Tratamento*. 19 ed. São Paulo: Artes Médicas, p. 1125-1126, 1999.

5 BRANESCU, C. *et al.* Interleukin 6 and lipopolysaccharide binding protein - markers of inflammation in acute appendicitis. **Chirurgia (Bucur)**, v. 108, n. 2, p. 206-14, Mar-Apr 2013.

BROOK, I. Clinical review: bacteremia caused by anaerobic bacteria in children. **Crit Care**, v. 6, n. 3, p. 205-11, Jun 2002.

10 BROOK, I. Anaerobic Infections Diagnosis and Management. New York, Informa Healthcare USA, 416 p., New York, 2008.

BROZ, P.; MONACK, D. M. Measuring inflammasome activation in response to bacterial infection. **Methods Mol Biol**, v. 1040, p. 65-84, 2013.

BURKE, S. L.; ROSE, W. E. New pharmacological treatments for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. **Expert Opin Pharmacother**, Jan 2013.

15 BUSH, K.; JACOBY, G. A. Updated functional classification of beta-lactamases. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 54, n. 3, p. 969-76, Mar 2010.

CALICH, V. L. G. & VAZ, C. *Imunologia*, 1 ed. Rio de Janeiro: Revinter, 260 p., 2001.

20 CANTON, R. *et al.* Antimicrobial susceptibility of Gram-negative organisms from intraabdominal infections and evolution of isolates with extended spectrum beta-lactamases in the SMART study in Spain (2002-2010). **Rev Esp Quimioter**, v. 24, n. 4, p. 223-32, Dec 2011.

CARDOSO, T. A. *et al.* Differences in Microbiological Profile between Community-Acquired, Healthcare-Associated and Hospital-Acquired Infections. **Acta Med Port**. v. 26, n. 4, p. 377-384, Jul-Aug 2013.

25 CARVALHO, P.R.A. & TROTTA, E. A. Avanços no diagnóstico e tratamento da sepse. **Jornal de Pediatria**. v. 79, n.2, p. 195-204, 2003.

CARRATALA, J. *et al.* Health care-associated pneumonia requiring hospital admission: epidemiology, antibiotic therapy, and clinical outcomes. **Arch Intern Med**, v. 167, n. 13, p. 1393-9, Jul 9 2007.

CARVALHO, A. *et al.* Multiplex PCR identification of eight clinically relevant *Candida* species. **Med Mycol**, v. 45, n. 7, p. 619-27, Nov 2007.

CASTRO, E. O. *et al.* [Sepsis and septic shock during pregnancy: clinical management]. **Rev Bras Ginecol Obstet**, v. 30, n. 12, p. 631-8, Dec 2008.

COHEN, S., HARGREAVES, K.M. *Caminhos da Polpa*. Rio de Janeiro, Elsevier Brasil, 9^{ed.}, 1079 p., 2007.

CESUR, S. *et al.* Prognostic value of cytokines (TNF- α , IL-10, Leptin) and C-reactive protein serum levels in adult patients with nosocomial sepsis. **J Microbiol Infect Dis**. N.1, v. 3, p. 101-109, 2011.

CHAN, K. Y. *et al.* Rapid identification and differentiation of Gram-negative and Gram-positive bacterial bloodstream infections by quantitative polymerase chain reaction in preterm infants. **Crit Care Med**, v. 37, n. 8, p. 2441-7, Aug 2009.

CHAN, W. S. *et al.* Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* using a gold nanoparticle-based colourimetric polymerase chain reaction assay. **Biosens Bioelectron**, v. 53, p. 105-11, Sep 2013.

CHEADLE, W. G.; SPAIN, D. A. The continuing challenge of intra-abdominal infection. **Am J Surg**, v. 186, n. 5A, p. 15S-22S; discussion 31S-34S, Nov 2003.

CHEN, S. C. *et al.* Antimicrobial susceptibility of anaerobic bacteria in Australia. **J Antimicrob Chemother**, v. 30, n. 6, p. 811-20, Dec 1992.

CHIU, P. W. *et al.* Peroral transgastric endoscopic ligation of fallopian tubes with long-term survival in a porcine model. **Gastro intest endosc**. v. 59, n.2, p. 220-4, Sep 2005.

CHUANG, T. Y. *et al.* High levels of serum macrophage migration inhibitory factor and interleukin 10 are associated with a rapidly fatal outcome in patients with severe sepsis. **Int J Infect Dis**, Jan 2014.

CLSI. *Principles and procedures for blood cultures; Approved guideline*. Document M47-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2007.

CLSI. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; twenty-first Informational Supplement*. Document M100-S21. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards
5 Institute; 2013.

COELHO, J. C.; BARETTA, G. A.; OKAWA, L. [Selection and use of anti-infective agents for intra-abdominal infections]. **Arq Gastroenterol**, v. 44, n. 1, p. 85-90, Jan-Mar 2007.

CUNHA, B. A. Sepsis and septic shock: selection of empiric antimicrobial therapy. **Crit Care Clin**, v. 24, n. 2, p. 313-34, ix, Apr 2008.

10 DAVIES, M. G.; HAGEN, P. O. Systemic inflammatory response syndrome. **Br J Surg**, v. 84, n. 7, p. 920-35, Jul 1997.

DE BUS, L. *et al.* Microbial etiology and antimicrobial resistance in healthcare-associated versus community-acquired and hospital-acquired bloodstream infection in a tertiary care hospital. **Diagn Microbiol Infect Dis**, v. 77, n. 4, p. 341-5, Dec 2013.

15 DE JONG, H. K.; VAN DER POLL, T.; WIERSINGA, W. J. The systemic pro-inflammatory response in sepsis. **J Innate Immun**, v. 2, n. 5, p. 422-30, Jun 2010.

DELLINGER, R. P. *et al.* Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008. **Crit Care Med**, v. 36, n. 1, p. 296-327, Jan 2008.

20 DE SOUZA, A. L.; SEGURO, A. C. Compartmentalization of the inflammatory response in meningococcal peritonitis. **Shock**, v. 30, n. 3, p. 336-337, Sep 2008.

DOS SANTOS, S. G. *et al.* Antimicrobial susceptibility of microorganisms recovered from intraabdominal infections at Belo Horizonte, Brazil. **Am J Infect Control**, v. 32, n. 7, p. 414-6, Nov 2004.

25 DOTY, J. M. *et al.* The effects of hemodynamic shock and increased intra-abdominal pressure on bacterial translocation. **J Trauma**, v.52, n.1, p. 13-17, Jan 2002.

DZIDIC, S. *et al.* Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: biochemical and genetic aspects. **Food Technol Biotechnol**. v. 46, p. 11-21, 2008.

ECKMANN, C. *et al.* Antimicrobial treatment of "complicated" intra-abdominal infections and the new IDSA guidelines? A commentary and an alternative European approach according to clinical definitions. **Eur J Med Res**, v. 16, n. 3, p. 115-26, Mar 2011.

5 EGBERT, G. W.; SIMMONS, A. K.; GRAHAM, L. L. Toxic shock syndrome: odontogenic origin. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 63, n. 2, p. 167-71, Feb 1987.

EMMI, V.; SGANGA, G. [Diagnosis of intra-abdominal infections: clinical findings and imaging]. **Infez Med**, v. 16 Suppl 1, p. 19-30, Feb 2008.

10 ESPARCIA, O. *et al.* Diagnostic accuracy of a 16S ribosomal DNA gene-based molecular technique (RT-PCR, microarray, and sequencing) for bacterial meningitis, early-onset neonatal sepsis, and spontaneous bacterial peritonitis. **Diagn Microbiol Infect Dis**, v. 69, n. 2, p. 153-60, Feb 2011.

FERREIRA, W. A. *et al.* Prevalência de Staphylococcus aureus metilina resistente (MRSA) em pacientes atendidos em ambulatório de dermatologia geral em Manaus-Amazonas. **Revista de Patologia Tropical**. V. 38, n.2, p. 83-92, 2009.

15 FINEGOLD, S. M. Anaerobic infections in humans: an overview. **Anaerobe**, v. 1, n. 1, p. 3-9, Feb 1995.

FLUIT, A. C. *et al.* Epidemiology and susceptibility of 3,051 Staphylococcus aureus isolates from 25 university hospitals participating in the European SENTRY study. **J Clin Microbiol**, v. 39, n. 10, p. 3727-32, Oct 2001.

20 FRIEDRICH, A. K.; CAHAN, M. Intraabdominal Infections in the Intensive Care Unit. **J Intensive Care Med**, Feb 2013.

FUGGER, R. *et al.* Perioperative TNF alpha and IL-6 concentrations correlate with septic state, organ function, and APACHE II scores in intra-abdominal infection. **Eur J Surg**, v. 159, n. 10, p. 525-9, Oct 1993.

25 GARCIA-SANCHEZ, J. E. *et al.* [Microbiological diagnosis of intra-abdominal infections]. **Enferm Infecc Microbiol Clin**, v. 31, n. 4, p. 230-9, Apr 2012.

GARNACHO-MONTERO, J. *et al.* De-escalation of empirical therapy is associated with lower mortality in patients with severe sepsis and septic shock. **Intensive Care Med**, v. 40, n. 1, p. 32-40, Jan 2014.

GIEDRAITIENE, A. *et al.* Antibiotic resistance mechanisms of clinically important bacteria. **Medicina (Kaunas)**, v. 47, n. 3, p. 137-46, 2011.

GOMES, F.; TEIXEIRA, P.; OLIVEIRA, R. Mini-review: Staphylococcus epidermidis as the most frequent cause of nosocomial infections: old and new fighting strategies. **Biofouling**, v. 30, n. 2, p. 131-41, Feb 2013.

GUILARDE, A. O. *et al.* [Bacteremias at a teaching hospital: etiology, antimicrobial susceptibility pattern and risk factors for mortality]. **Rev Assoc Med Bras**, v. 53, n. 1, p. 34-8, Jan-Feb 2007.

GUIRAO, X. [What should and should not be covered in intraabdominal infection]. **Enferm Infecc Microbiol Clin**, v. 28 Suppl 2, p. 32-41, Sep 2010.

GÜVEN, T. *et al.* Increasing resistance of nosocomial *Acinetobacter baumannii*: are we going to be defeated? **Turk J Med Sci**. v. 44, p. 73-78, 2014.

HACKAM, D. J.; ROTSTEIN, O. D. Host response to laparoscopic surgery: mechanisms and clinical correlates. **Can J Surg**, v. 41, n. 2, p. 103-11, Apr 1998.

HAGEL, S. *et al.* [Bacteremia and sepsis]. **Internist (Berl)**, v. 54, n. 4, p. 399-407, Apr 2013.

HAWSER, S. P. *et al.* Susceptibility of gram-negative aerobic bacilli from intra-abdominal pathogens to antimicrobial agents collected in the United States during 2011. **J Infect**, v. 68, n. 1, p. 71-6, Jan 2014.

HUTCHINS, A. P.; DIEZ, D.; MIRANDA-SAAVEDRA, D. The IL-10/STAT3-mediated anti-inflammatory response: recent developments and future challenges. **Brief Funct Genomics**, v. 12, n. 6, p. 489-98, Nov 2013.

IBRAHIM, E. H. *et al.* The influence of inadequate antimicrobial treatment of bloodstream infections on patient outcomes in the ICU setting. **Chest**, v. 118, n. 1, p. 146-55, Jul 2000.

JANEWAY, C. A. *et al.* Imunobiologia: o sistema imunológico na saúde e na doença, 4 ed. Porto Alegre: Artemed. 767 p, 2002.

JIMENEZ, M. F.; MARSHALL, J. C. Source control in the management of sepsis. **Intensive Care Med**, v. 27 Suppl 1, p. S49-62, 2001.

JUGO, J. *et al.* Trends in bacteraemia on the haematology and oncology units of a UK tertiary referral hospital. **J Hosp Infect**, v. 50, n. 1, p. 48-55, Jan 2002.

5 KARLOWSKY, J. A. *et al.* Prevalence of antimicrobial resistance among clinical isolates of *Bacteroides fragilis* group in Canada in 2010-2011: CANWARD surveillance study. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 56, n. 3, p. 1247-52, Mar 2011.

KASPER, D.L., COHEN-PORADOSU, R. Infections due to mixed anaerobic organisms. In: Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, eds. Harrison's
10 Principles of Internal Medicine. Volume 1. 17th ed. New York: McGraw Hill. 999-1006, 2008.

KUMAR, A. An alternate pathophysiologic paradigm of sepsis and septic shock: Implications for optimizing antimicrobial therapy. **Virulence**, v. 5, n. 1, Nov 2013.

KUMAR, S. G. *et al.* Antimicrobial resistance in India: A review. **J Nat Sci Biol Med**, v. 4, n. 2, p. 286-291, Jul 2013.

15 KYLANPAA, L.; RAKONCZAY, Z., JR.; O'REILLY, D. A. The clinical course of acute pancreatitis and the inflammatory mediators that drive it. **Int J Inflam**, v. 2012, p. 360685, Dec 2012.

LAMBERT, M. L. *et al.* Clinical outcomes of health-care-associated infections and antimicrobial resistance in patients admitted to European intensive-care units: a cohort study.
20 **Lancet Infect Dis**, v. 11, n. 1, p. 30-8, Jan 2011.

LAPPIN, E.; FERGUSON, A. J. Gram-positive toxic shock syndromes. **Lancet Infect Dis**, v. 9, n. 5, p. 281-90, May 2009.

LARBCHAROENSUB, N. *et al.* Fungal appendicitis: a case series and review of the literature. **Southeast Asian J Trop Med Public Health**, v. 44, n. 4, p. 681-9, Jul 2013.

25 LEE, E. H. *et al.* Evaluation of the Vitek 2 ANC card for identification of clinical isolates of anaerobic bacteria. **J Clin Microbiol**, v. 49, n. 5, p. 1745-9, May 2011.

LEE, Y. *et al.* Antimicrobial susceptibility patterns for recent clinical isolates of anaerobic bacteria in South Korea. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 54, n. 9, p. 3993-7, Sep 2010.

LEMOS, R.L.L., *et al.* Doença Cardiovascular Associada à Mortalidade em Idosos com Sepsis Grave e Choque Séptico. **Socerj**, v.18, n. 4, p. 295-300, jul-Ago 2005.

LENZ, R. *et al.* The distinct category of healthcare associated bloodstream infections. **BMC Infect Dis**, v. 12, p. 85, Apr 2012.

5 LEROY, O. *et al.* Epidemiology, management, and risk factors for death of invasive Candida infections in critical care: a multicenter, prospective, observational study in France (2005-2006). **Crit Care Med**, v. 37, n. 5, p. 1612-8, May 2009.

LI, F., *et al.* Surveillance of the prevalence, antibiotic susceptibility, and genotypic characterization of invasive candidiasis in a teaching hospital in China between 2006 to 2011.
10 **BMC Infectious Diseases**. v. 13, n. 1, Jul 2013.

LIU, C. Y. *et al.* Increasing trends in antimicrobial resistance among clinically important anaerobes and Bacteroides fragilis isolates causing nosocomial infections: emerging resistance to carbapenems. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 52, n. 9, p. 3161-8, Sep 2008.

LIVINGSTON, D. H.; MOSENTHAL, A. C.; DEITCH, E. A. Sepsis and multiple organ
15 dysfunction syndrome: a clinical-mechanistic overview. **New Horiz**, v. 3, n. 2, p. 257-66, May 1995.

LIVINGSTON, S. J.; KOMINOS, S. D.; YEE, R. B. New medium for selection and presumptive identification of the Bacteroides fragilis group. **J Clin Microbiol**, v. 7, n. 5, p. 448-53, May 1978.

20 LLEWELYN, M.; COHEN, J. Diagnosis of infection in sepsis. **Intensive Care Med**, v. 27 Suppl 1, p. S10-32, 2001.

LOBO, L. A. *et al.* Expression of Bacteroides fragilis hemolysins in vivo and role of HlyBA in an intra-abdominal infection model. **Microbiologyopen**, v. 2, n. 2, p. 326-37, Apr 2008.

25 LOFMARK, S.; EDLUND, C.; NORD, C. E. Metronidazole is still the drug of choice for treatment of anaerobic infections. **Clin Infect Dis**, v. 50 Suppl 1, p. S16-23, Jan 2010.

LOPEZ, N.; KOBAYASHI, L.; COIMBRA, R. A Comprehensive review of abdominal infections. **World J Emerg Surg**, v. 6, p. 7, Feb 2011.

LOOMER, P. M. Microbiological diagnostic testing in the treatment of periodontal diseases. **Periodontology**, v. 34, p. 49-56, 2004.

LU, J. *et al.* Recognition and functional activation of the human IgA receptor (FcalphaRI) by C-reactive protein. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 108, n. 12, p. 4974-9, Mar 2011.

5 MAEDA, H. *et al.* Quantitative real-time PCR using TaqMan and SYBR Green for *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, tetQ gene and total bacteria. **FEMS Immunol Med Microbiol**, v. 39, n. 1, p. 81-6, Oct 24 2003.

MALANGONI, M. A.; INUI, T. Peritonitis - the Western experience. **World J Emerg Surg**, v. 1, p. 25, 2006.

10 MANGRAM, A. J. *et al.* Guideline for prevention of surgical site infection, 1999. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. **Infect Control Hosp Epidemiol**, v. 20, n. 4, p. 250-78; quiz 279-80, Apr 1999.

MARRA, A. R. *et al.* Controle do Foco – Diagnóstico e Tratamento. **Rev Brasileira Terapia Intensiva**, v. 16, n. 2, p.109-113, 2004.

15 MARSHALL, J. C. Intra-abdominal infections. **Microbes Infect**, v. 6, n. 11, p. 1015-25, Sep 2004.

MARTINEZ, J. L.; BAQUERO, F. Interactions among strategies associated with bacterial infection: pathogenicity, epidemicity, and antibiotic resistance. **Clin Microbiol Rev**, v. 15, n. 4, p. 647-79, Oct 2002.

20 MARTIN-LOPEZ, A. *et al.* [Tertiary peritonitis: as difficult to define as it is to treat]. **Cir Esp**, v. 90, n. 1, p. 11-6, Jan 2012.

MASEDA, E. *et al.* Use of tigecycline in critically ill patients with serious nosocomial intra-abdominal infections. **Rev Esp Quimioter**, v. 26, n. 1, p. 56-63, Mar 2013.

25 MAZUSKI, J. E. *et al.* The Surgical Infection Society guidelines on antimicrobial therapy for intra-abdominal infections: evidence for the recommendations. **Surg Infect (Larchmt)**, v. 3, n. 3, p. 175-233, Fall 2002.

MAZUSKI, J. E.; SOLOMKIN, J. S. Intra-abdominal infections. **Surg Clin North Am**, v. 89, n. 2, p. 421-37, ix, Apr 2009.

MENICHETTI, F.; SGANGA, G. Definition and classification of intra-abdominal infections. **J Chemother**, v. 21 Suppl 1, p. 3-4, Jul 2009.

MORALES, C. H. *et al.* Intra-abdominal infection in patients with abdominal trauma. **Arch Surg**, v. 139, n. 12, p. 1278-85; discussion 1285, Dec 2004.

5 MORRELL, M. R.; MICEK, S. T.; KOLLEF, M. H. The management of severe sepsis and septic shock. **Infect Dis Clin North Am**, v. 23, n. 3, p. 485-501, Sep 2009.

MORRIS, S. S. *et al.* Conditional cash transfers are associated with a small reduction in the rate of weight gain of preschool children in northeast Brazil. **J Nutr**, v. 134, n. 9, p. 2336-41, Sep 2004.

10 MORY, F. *et al.* Evaluation of the new Vitek 2 ANC card for identification of medically relevant anaerobic bacteria. **J Clin Microbiol**, v. 47, n. 6, p. 1923-6, Jun 2009.

MOURA, M. E. *et al.* [Nosocomial infection: study of prevalence at a public teaching hospital]. **Rev Bras Enferm**, v. 60, n. 4, p. 416-21, Jul-Aug 2007.

15 MOUTON, J. W. Controlling antimicrobial resistance: Interfering in the process of natural selection. **Antimicrob Resist Infect Control**, v. 2, n. 1, p. 32, Nov 2013.

MUNFORD, R.S. Sepsis, severe sepsis and septic shock. *In: Principles and practice of infectious diseases*. 6th ed. Philadelphia: *Elsevier Churchill Livingstone*, 2005.

O'BRIEN, J. M., JR. *et al.* Sepsis. **Am J Med**, v. 120, n. 12, p. 1012-22, Dec 2007.

20 OKSUZ, L.; GURLER, N. Susceptibility of clinical methicillin-resistant Staphylococci isolates to new antibiotics. **J Infect Dev Ctries**, v. 7, n. 11, p. 825-31, Nov 2013.

O'MAHONY, J. B. *et al.* Changes in T lymphocyte subsets following injury. Assessment by flow cytometry and relationship to sepsis. **Ann Surg**, v. 202, n. 5, p. 580-6, Nov 1985.

ORSI, G. B.; CIORBA, V. Vancomycin resistant enterococci healthcare associated infections. **Ann Ig**, v. 25, n. 6, p. 485-92, Nov-Dec 2013.

25 PARK, H. K. *et al.* Clinical characteristics of health care-associated pneumonia in a Korean teaching hospital. **Respir Med**, v. 104, n. 11, p. 1729-35, Nov 2010.

PAUL, M. *et al.* Systematic review and meta-analysis of the efficacy of appropriate empiric antibiotic therapy for sepsis. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 54, n. 11, p. 4851-63, Nov 2010.

PICAZO, J. J. *et al.* [Comparative activity of daptomycin against clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci]. **Enferm Infecc Microbiol Clin**, v. 28, n. 1, p. 13-6, Jan 2010.

PRINDIVILLE, T. P. *et al.* *Bacteroides fragilis* enterotoxin gene sequences in patients with inflammatory bowel disease. **Emerg Infect Dis**, v. 6, n. 2, p. 171-4, Mar-Apr 2000.

RANTAKOKKO-JALAVA, K. *et al.* Direct amplification of rRNA genes in diagnosis of bacterial infections. **J Clin Microbiol**, v. 38, n. 1, p. 32-9, Jan 2000.

RÉA NETO A. Fisiopatologia e manifestações clínicas da sepse. **Clín Bras Med Intensiva**, v. 1, p. 1-9, 1996.

REDFORD, M. R.; ELLIS, R.; REES, C. J. *Fusobacterium necrophorum* infection associated with portal vein thrombosis. **J Med Microbiol**, v. 54, n. Pt 10, p. 993-5, Oct 2005.

REDONDO, M. C. *et al.* Attributable mortality of bacteremia associated with the *Bacteroides fragilis* group. **Clin Infect Dis**, v. 20, n. 6, p. 1492-6, Jun 1995.

REIER-NILSEN, T. *et al.* Comparison of broad range 16S rDNA PCR and conventional blood culture for diagnosis of sepsis in the newborn: a case control study. **BMC Pediatr**, v. 9, p. 5, 2009.

REINHART, K.; DANIELS, R.; MACHADO, F. R. The burden of sepsis: a call to action in support of World Sepsis Day 2013. **Rev Bras Ter Intensiva**, v. 25, n. 1, p. 3-5, Mar 2013.

RENNIE, R. P. *et al.* Multicenter evaluation of the Vitek 2 anaerobe and *Corynebacterium* identification card. **J Clin Microbiol**, v. 46, n. 8, p. 2646-51, Aug 2008.

RIDLEY, A. M.; THRELFALL, E. J.; ROWE, B. Genotypic characterization of *Salmonella enteritidis* phage types by plasmid analysis, ribotyping, and pulsed-field gel electrophoresis. **J Clin Microbiol**, v. 36, n. 8, p. 2314-21, Aug 1998.

RIESE, J. *et al.* Production of IL-6 and MCP-1 by the human peritoneum in vivo during major abdominal surgery. **Shock**, v. 14, n. 2, p. 91-4, Aug 2000.

RIET-CORREA, F. *et al.* Doenças de Ruminantes e Equinos. 2 ed. São Paulo: Varela, 998 p. 2001.

RODRIGUES, F. H. *et al.* [Inhibition of abdominal abscess formation in rat: mortality by sepsis]. **Arq Gastroenterol**, v. 42, n. 1, p. 50-4, Jan-Mar 2005.

5 RUIZ, A. *et al.* Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among health care workers of intensive care units in Ecuador. **J Infect Dev Ctries**, v. 8, n. 1, p. 116-9, Jan 2014.

SANGO, A. *et al.* Stewardship approach for optimizing antimicrobial therapy through use of a rapid microarray assay on blood cultures positive for *Enterococcus* species. **J Clin Microbiol**, v. 51, n. 12, p. 4008-11, Dec 2013.

SANTOS, J. R. Peritonite, Infecção Peritoneal e Sepsis - **Rev bras Coloproct.** v. 21, n. 1, p. 33-41, 2001.

SANTOS, S. G. *et al.* Microbiologic profile of intra-abdominal infections at Belo Horizonte, Brazil. **Am J Infect Control**, v. 31, n. 3, p. 135-43, May 2003.

15 SARMA, P. N. *et al.* Genotyping of *Bacteroides fragilis* isolates from stool specimens by arbitrarily-primed-PCR. **Diagn Microbiol Infect Dis**, v. 37, n. 4, p. 225-9, Aug 2000.

SARTELLI, M. *et al.* Antimicrobial management of intra-abdominal infections: literature's guidelines. **World J Gastroenterol**, v. 18, n. 9, p. 865-71, Mar 2012a.

20 SARTELLI, M. *et al.* Complicated intra-abdominal infections in Europe: a comprehensive review of the CIAO study. **World J Emerg Surg**, v. 7, n. 1, p. 36, Nov 2012b.

SCHEIN, M. *et al.* Hypothesis: compartmentalization of cytokines in intraabdominal infection. **Surgery**, v. 119, n. 6, p. 694-700, Jun 1996.

SEARS, C. L. Enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*: a rogue among symbiotes. **Clin Microbiol Rev**, v. 22, n. 2, p. 349-69, Table of Contents, Apr 2009.

25 SHALIMAR; ACHARYA, S. K. Difficult to treat spontaneous bacterial peritonitis. **Trop Gastroenterol**, v. 34, n. 1, p. 7-13, Jan-Mar 2013.

SHAPIRO, N.I., ZIMMER, G.D., BARKIN, A.Z. Sepsis syndromes. In: Rosen's emergency medicine: *Concepts Clin Practice*. 6th ed. Philadelphia: Mosby Inc, 2006.

SHARMA, S.; KUMAR, A. Antimicrobial management of sepsis and septic shock. **Clin Chest Med**, v. 29, n. 4, p. 677-87, ix, Dec 2008.

5 SIETSES, C. *et al.* Immunological consequences of laparoscopic surgery, speculations on the cause and clinical implications. **Langenbecks Arch Surg**, v. 384, n. 3, p. 250-8, Jun 1999.

SILVA, E. *et al.* Brazilian Sepsis Epidemiological Study (BASES study). **Crit Care**, v. 8, n. 4, p. R251-60, Aug 2004.

SILVA, F.P., VELASCO, I.T. Sepse. 1º edição. São Paulo: Manole Ltda, 484 p. 2007.

10 SKRUPKY, L. P.; TELLOR, B. R.; MAZUSKI, J. E. Current strategies for the treatment of complicated intraabdominal infections. **Expert Opin Pharmacother**, v. 14, n. 14, p. 1933-47, Oct 2013.

SNYDMAN, D. R. *et al.* National survey on the susceptibility of *Bacteroides fragilis* group: report and analysis of trends in the United States from 1997 to 2004.

15 SOKI, J. *et al.* Examination of *cfiA*-mediated carbapenem resistance in *Bacteroides fragilis* strains from a European antibiotic susceptibility survey. **Int J Antimicrob Agents**, v. 28, n. 6, p. 497-502, Dec 2006.

SOLOMKIN, J. S. *et al.* Guidelines for the selection of anti-infective agents for complicated intra-abdominal infections. **Clin Infect Dis**, v. 37, n. 8, p. 997-1005, Oct 15 2003.

20 SOLOMKIN, J. S. *et al.* Diagnosis and management of complicated intra-abdominal infection in adults and children: guidelines by the Surgical Infection Society and the Infectious Diseases Society of America. **Surg Infect (Larchmt)**, v. 11, n. 1, p. 79-109, Feb 2010.

SONG, Y. PCR-based diagnostics for anaerobic infections. **Anaerobe**, v. 11, n. 1-2, p. 79-91, Feb-Apr 2005.

25 SUBERVIOLA, B. *et al.* Hospital mortality prognostication in sepsis using the new biomarkers suPAR and proADM in a single determination on ICU admission. **Intensive Care Med**, v. 39, n. 11, p. 1945-52, Nov 2013.

SURBATOVIC, M. *et al.* Immunoinflammatory Response in Critically Ill Patients: Severe Sepsis and/or Trauma. **Mediators Inflamm**, v. 2013, p. 362793, Nov 2013.

SYDNOR, E. R.; PERL, T. M. Hospital epidemiology and infection control in acute-care settings. **Clin Microbiol Rev**, v. 24, n. 1, p. 141-73, Jan 2011.

5 TAK, V. *et al.* Staphylococcal blood stream infections: epidemiology, resistance pattern and outcome at a level 1 Indian trauma care center. **J Lab Physicians**, v. 5, n. 1, p. 46-50, Jan 2013.

TAYLOR, E. *et al.* The efficacy of postoperative oral antibiotics in appendicitis: a randomized prospective double-blinded study. **Am Surg**, v. 70, n. 10, p. 858-62, Oct 2004.

10 TENOVER, F. C. *et al.* Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. **J Clin Microbiol**, v. 33, n. 9, p. 2233-9, Sep 1995.

15 TLASKALOVA-HOGENOVA, H. *et al.* The role of gut microbiota (commensal bacteria) and the mucosal barrier in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune diseases and cancer: contribution of germ-free and gnotobiotic animal models of human diseases. **Cell Mol Immunol**, v. 8, n. 2, p. 110-20, Mar 2011.

TOPRAK ULGER, N. *et al.* [The First Metronidazole-Resistant Bacteroides Species Isolated at Marmara University Hospital: Bacteroides thetaiotaomicron]. **Mikrobiyol Bul**, v. 47, n. 4, p. 717-21, Oct 2013.

20 TSUKADA, K. *et al.* Concentrations of cytokines in peritoneal fluid after abdominal surgery. **Eur J Surg**, v. 159, n. 9, p. 475-9, Sep 1993.

VALLES, J. *et al.* Bloodstream infections in adults: importance of healthcare-associated infections. **J Infect**, v. 56, n. 1, p. 27-34, Jan 2008.

25 VAN BERGE HENEGOUWEN, M. I. *et al.* Peritoneal cytokine release after elective gastrointestinal surgery and postoperative complications. **Am J Surg**, v. 175, n. 4, p. 311-6, Apr 1998.

VAN DER POLL, T.; OPAL, S. M. Host-pathogen interactions in sepsis. **Lancet Infect Dis**, v. 8, n. 1, p. 32-43, Jan 2008.

VITAL, A.C. *et al.* Avaliação da Toxicidade aguda e das Atividades Citotóxica, Antimicrobiana e Antiinflamatória de 7-*aril*-2,3-diidroiazolo[3,2-*a*]pirimidin-5-ona-6-carbonitrila. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 28, n. 4, p. 507-12, 2009.

5 WAKEFIELD, C. H. *et al.* Polymorphonuclear leukocyte activation. An early marker of the postsurgical sepsis response. **Arch Surg**, v. 128, n. 4, p. 390-5, Apr 1993.

WASHINGTON, J. A., ILSTRUP, D. M. Blood cultures: issues and controversies. **Rev Infect Dis**, v. 8, n. 5, p. 792-802, Sep-Oct 1986.

WEBER, G. F.; SWIRSKI, F. K. Immunopathogenesis of abdominal sepsis. **Langenbecks Arch Surg**, Oct 13 2013.

10 WEXLER, H. M. Bacteroides: the good, the bad, and the nitty-gritty. **Clin Microbiol Rev**, v. 20, n. 4, p. 593-621, Oct 2007.

WILSON, J. R.; LIMAYE, A. P. Risk factors for mortality in patients with anaerobic bacteremia. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, v. 23, n. 4, p. 310-6, Apr 2004.

15 WILSON, S. E. *et al.* Does initial choice of antimicrobial therapy affect length of stay for patients with complicated intra-abdominal infections? **Am Surg**, v. 71, n. 10, p. 816-20, Oct 2005.

WYBO, I. *et al.* Fourth Belgian multicentre survey of antibiotic susceptibility of anaerobic bacteria. **J Antimicrob Chemother**, v. 69, n. 1, p. 155-61, Jan.

20

25

QUADRO 1

Estratificação e agrupamento dos dados clínicos/laboratoriais utilizados nas análises de citocinas dos pacientes com infecções intra-abdominais

Dados clínicos/laboratoriais	Agrupamentos
Idade (anos)	A1: (0-29/30-59/60 ou mais). A2: (0-59/60 ou mais)
Tempo de internação (dias)	A1: (0-14/15-28/29 ou mais). A2: (0-10/11 ou mais).
Uso prévio de antimicrobianos	Sim ou Não
Sítio/tipo de infecção	Apêndice/Peritônio/Trato biliar/Trauma abdominal/Abscesso/Outros
Local de aquisição da infecção	Comunidade ou ambiente hospitalar
Cultura de secreção	Positiva ou negativa
Hemocultura	Positiva ou negativa
Proteína C reativa (mg/L)	A1: (0-99/100-199/200 ou mais). A2: (0-149/150-299/300 ou mais)
Plaquetas (mm ³)	A1: (≤ 200-399/400 ou mais). A2: (≤ 299-300 ou mais)
Hemoglobina (g/dl)	A1: (0-9,9/10 ou mais). A2: (0-11,9/12-15,9/16 ou mais)
Leucócitos (mm ³)	(0-9.999/10.000-19.999/20.00 ou mais)
Fosfatase alcalina (U/g)	(0-99/100 ou mais)
Gama GT (U/g)	(0-99/100 ou mais)

5 **LEGENDA:** Gama GT= Gamaglutamiltranspeptidase; A1: agrupamento 1; A2= agrupamento 2.

QUADRO 2

Características demográficas e dados clínicos dos pacientes com quadro clínico de infecções intra-abdominais avaliados em Hospitais de BH/MG.

Paciente	Origem	Idade (anos)	Doença ou procedimento cirúrgico prévio	Uso prévio de antimicrobianos	Quadro clínico
4	HPM	71	NI	CPM/MET	Abscesso hepático e de trato biliar
5	HPM	88	NI	CPM/MET	Abscesso hepático e de trato biliar
6	HPM	77	Hipertensão Arterial Sistêmica -Diabetes Mellitus – Asma	CIP/MET	Colecistite
7	HPM	68	NI	CPM/MET	Abscesso abdominal
11	HPM	39	Hipertensão Arterial Sistêmica - Diabetes Mellitus – Hanseníase	CIP/MET	Apendicite
1	CEU	31	Bariátrica	VAN/ERT	Abscesso subfrênico
9	CEU	33	Gastroplastia redutora	NI	Abscesso hepático/ Abscesso de trato biliar
10	CEU	31	Bariátrica	NÃO	Abscesso subfrênico
12	CEU	37	Bariátrica	NÃO	Abscesso subfrênico
14	CEU	37	Bariátrica	NI	Abscesso subfrênico
15	CEU	47	Rins policísticos	AMP/CRO	Cistos renais
16	CEU	31	Bariátrica	NÃO	Abscesso subfrênico
17	CEU	14	NI	GEN/MET	Abscesso subfrênico
25	CEU	66	Abdominoplastia	CFL	Abscesso de parede
31	CEU	45	Peritonite - Fístula difusa	NÃO	Peritonite
38	CEU	67	Apendicectomia	NI	Apendicite
41	CEU	19	NI	CFZ	Hepatite
43	CEU	30	Faringite	NI	Abscesso hepático
46	CEU	28	Adrenalectomia e Esplenectomia esquerda	MER/VAN	Coleção abdominal
47	CEU	63	Insuficiência renal crônica	CPM/CIP	Abscesso renal direito

Paciente	Origem	Idade (anos)	Doença ou procedimento cirúrgico prévio	Uso prévio de antimicrobianos	Quadro clínico
49	CEU	77	NI	NI	Abscesso pélvico
50	CEU	69	Nefrectomia esquerda - Pancreatectomia parcial – Esplenectomia	NI	Coleções no flanco e fossa ilíaca esquerda
51	CEU	69	Nefrectomia esquerda - pancreatectomia parcial – esplenectomia	NI	Coleções no flanco e fossa ilíaca esquerda
2	HC	NI	NI	NI	Coleção abdominal
3	HC	NI	NI	NI	Coleção abdominal
8	HC	74	Neoplasias	MER/VAN	Coleção peritoneal
13	HC	NI	NI	NI	Coleção peritoneal
21	HC	32	Doença de Caroli	NI	Abscesso subfrênico
30	HC	NI	Nega	NI	Coleção peritoneal
40	HC	35	NI	MER/MET	Abscesso hepático e de trato biliar
18	HRTN	19	Nega	GEN/MET	Apendicite
19	HRTN	53	Hipertensão Arterial Sistêmica	CRO/MET	Isquemia mesentérica
20	HRTN	19	Nega	GEN/MET	Abscesso abdominal
22	HRTN	17	Hipotireoidismo	GEN/MET	Apendicite
23	HRTN	24	Nega	CRO/MET	Apendicite
24	HRTN	39	Nega	CRO/MET	Peritonite difusa
26	HRTN	44	Pancreatite	MER/MET	Pancreatite
27	HRTN	45	Gastrite	GEN/MET	Peritonite
28	HRTN	20	Nega	GEN/MET	Apendicite
29	HRTN	15	Puérpera (coleta realizada 15 depois)	GEN/MET	Coleção peritoneal
32	HRTN	58	Hipertensão Arterial Sistêmica	CRO/MET	Apendicite
33	HRTN	49	Hipertensão Arterial Sistêmica - Diabetes mellitus	CRO/MET	Coleção peritoneal
34	HRTN	18	Nega	GEN/MET	Apendicite
35	HRTN	67	Hemorragia digestiva	CRO/MET	Coleção peritoneal
36	HRTN	19	Nega	VAN/FLU	Coleção peritoneal
37	HRTN	19	Nega	VAN/FLU	Coleção peritoneal
39	HRTN	64	Diabetes	CFL /CLI/MET	Coleção peritoneal
42	HRTN	38	Nega	TIG	Abscesso de parede

Paciente	Origem	Idade (anos)	Doença ou procedimento cirúrgico prévio	Uso prévio de antimicrobianos	Quadro clínico
44	HRTN	NI	Nega	NI	Abscesso de tubo ovariano/Peritonite
45	HRTN	32	Nega	NÃO	Coleção peritoneal
48	HRTN	41	Atopia recente	CRO/POL/LIN	Ferida cirúrgica

LEGENDA: HPM= Hospital da Polícia Militar; CEU= Centro Especializado em Ultrassonografia HC= Hospital das Clínicas; HRTN= Hospital Risoleta Tolentino Neves; NI= Não informado; CPM= Cefepima; MET= Metronidazol; CIP= Ciprofloxacina; VAN= Vancomicina; ERT= Ertapenem; AMP= Ampicilina; CRO= Ceftriaxona; GEN= Gentamicina; CFL= Cefalotina; FLU= Fluconazol; CLI= Clindamicina; MER= Meropenem; TIG= Tigeciclina; POL= Polimixina B; LIN= Linezolida; CFZ= Cefazolina.

5

10

15

20

QUADRO 3

Distribuição dos 84 microrganismos recuperados das 33 culturas positivas de 51 pacientes com quadro clínico de infecções intra-abdominais obtidas em BH/MG.

Paciente	Origem	Aeróbio	Anaeróbios
4	HPM	-	-
5	HPM	-	-
6	HPM	-	-
7	HPM	-	-
11	HPM	-	-
1	CEU	<i>Proteus mirabilis</i> / <i>Sphingomonas</i> <i>paucimobilis</i> / <i>Streptococcus</i> <i>anginosus</i>	-
9	CEU	<i>Streptococcus pluranimalium</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>
10	CEU	<i>Kocuria kristinae</i>	<i>Prevotella bivia</i> / <i>F. nucleatum</i>
12	CEU	<i>Streptococcus constellatus</i>	
14	CEU	<i>Gemella morbillorum</i>	<i>Prevotella intermedia</i>
15	CEU	-	-
16	CEU	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
17	CEU	<i>S. anginosus</i> / <i>Pediococcus</i> <i>pentosaceus</i> / <i>Streptococcus</i> <i>dysgalactiae</i> / <i>S. paucimobilis</i>	-
25	CEU	-	-
31	CEU	<i>Providencia</i> <i>rettgeri</i> / <i>Citrobacter freundii</i>	-
38	CEU	-	-
41	CEU	-	-
43	CEU	-	-
46	CEU	<i>S. epidermidis</i>	-
47	CEU	-	<i>Propionibacterium acnes</i>
49	CEU	-	<i>Bacteroides fragilis</i>
50	CEU	<i>S. anginosus</i> / <i>S.</i> <i>pluranimalium</i> / <i>S. paucimobilis</i>	<i>B. fragilis</i>
51	CEU	<i>G. morbillorum</i> / <i>S. paucimobilis</i>	-
2	HC	<i>Escherichia coli</i> / <i>P. mirabilis</i>	<i>B. fragilis</i>
3	HC	-	-
8	HC	<i>Acinetobacter baumannii</i> / <i>S.</i> <i>epidermidis</i> / <i>Candida Kefyr</i>	-
13	HC	-	-
21	HC	<i>E. coli</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>	-
30	HC	-	-
40	HC	<i>Streptococcus sanguinis</i> / <i>S.</i> <i>constellatus</i> / <i>G.</i> <i>morbillosum</i> / <i>Morganella</i> <i>morganii</i> / <i>S. pluranimalium</i>	-
18	HRTN	<i>Staphylococcus warneri</i>	-
19	HRTN	<i>Hafnia alvei</i> / <i>E. faecalis</i>	-

Paciente	Origem	Aeróbio	Anaeróbios
20	HRTN	<i>E. coli/S. epidermidis</i>	<i>Bacteroides ovatus</i>
22	HRTN	<i>E. coli</i>	<i>B. fragilis</i>
23	HRTN	-	<i>Bacteroides vulgatus</i>
24	HRTN	-	-
26	HRTN	<i>Acinetobacter baumannii/C. freundii/Staphylococcus aureus</i>	-
27	HRTN	-	-
28	HRTN	-	-
29	HRTN	-	<i>P. bivia/P. melaninogenica</i>
32	HRTN	-	-
33	HRTN	-	-
34	HRTN	<i>P. pentosaceus/S. paucimobilis/E. faecalis</i>	<i>B. fragilis/Bacteroides thetaiotaomicron</i>
35	HRTN	<i>E. coli/E. faecalis/S. epidermidis</i>	-
36	HRTN	<i>S.aureus/Providencia stuartti/K. kristinae/A.baumannii/Candida albicans</i>	-
37	HRTN	<i>Pseudomonas aeruginosa/P. stuartii/Staphylococcus haemolyticus</i>	<i>P. bivia</i>
39	HRTN	<i>S. haemolyticus/A. baumannii/Enterococcus faecium/Pseudomonas spp./Candida albicans</i>	-
42	HRTN	<i>E. faecium/A. baumannii</i>	-
44	HRTN	<i>S. warneri</i>	-
45	HRTN	<i>E. coli/E. faecalis</i>	-
48	HRTN	<i>P. pentosaceus/P. mirabilis/E. faecalis</i>	-

LEGENDA: HPM= Hospital da Polícia Militar; HC= Hospital das Clínicas; CEU= Centro Especializado em Ultrassonografia; HRTN= Hospital Risoleta Tolentino Neves.

5

10

15

TABELA 1

Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos (CIM 50 e 90) das amostras de *Staphylococcus aureus*.

Microrganismo (n)	Antimicrobianos	CIM ($\mu\text{g/ml}$)				Número (%)	
		Faixa de Sensibilidade ($\mu\text{g/ml}$)		Sensibilidade		Susceptibilidade	
				50%	90%	Resistência	Intermediária
<i>Staphylococcus aureus</i> 2	BEM	≥ 4	≥ 4	≥ 4	≥ 4	2(100)	0
	AMP	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	OXA	≥ 8	≥ 8	≥ 8	≥ 8	2(100)	0
	GEN	$\leq 0,5$	$\leq 0,5$	$\leq 0,5$	$\leq 0,5$	0	0
	CIP	≥ 8	≥ 8	≥ 8	≥ 8	2(100)	0
	ERI	≥ 8	≥ 8	≥ 8	≥ 8	2(100)	0
	CLI	≥ 8	≥ 8	≥ 8	≥ 8	2(100)	0
	LIN	1	1	1	1	0	0
	DAP	0,3	0,3	0,3	0,3	0	0
	TEI	$\leq 0,5$	$\leq 0,5$	$\leq 0,5$	$\leq 0,5$	0	0
	VAN	$\leq 0,5$	$\leq 0,5$	$\leq 0,5$	$\leq 0,5$	0	0
	TET	≤ 1	2	≤ 1	2	0	0
	NIT	≤ 16	32	≤ 16	32	0	0
	AFU	$\leq 0,5$	$\leq 0,5$	$\leq 0,5$	$\leq 0,5$	0	0
	MUP	≤ 2	≤ 2	≤ 2	≤ 2	0	0
	RIF	$\leq 0,5$	2	$\leq 0,5$	2	0	1(50)
	TRI/SUL	≤ 10	≤ 10	≤ 10	≤ 10	0	0

Legenda: CIM: Concentração Inibitória Mínima; NA: Não Analizado; CFX: Cefoxitina; BEN: Benzilpenicilina; AMP: Ampicilina; OXA: Oxacilina; GEN: Gentamicina; CIP: Ciprofloxacina; ERI: Eritromicina; CLI: Clindamicina. ; LIN: Linezolida; DAP: Daptomicina; TEI: Teicoplanina; VAN: Vancomicina; NIT: Nitrofurantoina; AFU: Ácido Fusídico; MUP: Mupirocina; RIF: Rifampicina; TRI/SUL: Trimetoprim/Sulfametoxazol.

TABELA 2

Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos (CIM 50 e 90) das amostras de *Staphylococcus coagulase* negativo

Microrganismo (n)	Antimicrobianos	CIM ($\mu\text{g/ml}$)				Número (%)	
		Faixa de Sensibilidade ($\mu\text{g/ml}$)		Sensibilidade		Resistência	Intermediária
		$\leq 0,03$	$\geq 0,5$	50% $\geq 0,5$	90% $\geq 0,5$		
<i>Staphylococcus coagulase</i> negativo 9	BEM	$\leq 0,03$	$\geq 0,5$	$\geq 0,5$	$\geq 0,5$	6(66,7)	0
	AMP	NA	NA	NA	NA	0	0
	OXA	$\leq 0,25$	≥ 4	≥ 4	≥ 4	7(77,9)	0
	GEN	$\leq 0,5$	≥ 16	$\leq 0,5$	≥ 16	1(11,1)	0
	CIP	$\leq 0,5$	≥ 8	$\leq 0,5$	≥ 8	3(33,4)	1(11,1)
	ERI	$\leq 0,25$	≥ 8	≥ 8	≥ 8	6(66,7)	0
	CLI	$\leq 0,25$	≥ 8	4	≥ 8	4(44,5)	1(11,2)
	LIN	1	≥ 8	1	≥ 8	2(22,2)	0
	DAP	0,3	≥ 8	0,5	≥ 8	2(22,2)	1(11,1)
	TEI	$\leq 0,5$	≥ 32	2	≥ 32	2(22,2)	3(33,3)
	VAN	$\leq 0,5$	≥ 32	1	≥ 32	1(11,1)	1(11,1)
	TET	≤ 1	≥ 16	≥ 16	≥ 16	7(77,9)	0
	NIT	≤ 16	32	≤ 16	32	0	0
	AFU	$\leq 0,5$	≥ 32	1	≥ 32	1(11,1)	3(33,3)
	MUP	≤ 2	8	≤ 2	8	0	0
	RIF	$\leq 0,5$	≥ 32	2	≥ 32	2(22,2)	3(33,3)
TRI/SUL	≤ 10	≥ 320	≤ 10	≥ 320	2(22,2)	0	

Legenda: CIM: Concentração Inibitória Mínima; NA: Não Analizado; CFX: Cefoxitina; BEN: Benzilpenicilina; AMP: Ampicilina; OXA: Oxacilina; GEN: Gentamicina; CIP: Ciprofloxacina; ERI: Eritromicina; CLI: Clindamicina; LIN: Linezolida; DAP: Daptomicina; TEI: Teicoplanina; VAN: Vancomicina; NIT: Nitrofurantoina; AFU: Ácido Fusídico; MUP: Mupirocina; RIF: Rifampicina; TRI/SUL: Trimetoprim/Sulfametoxazol.

TABELA 3Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos (CIM 50 e 90) das amostras de *Enterococcus* spp.

Microrganismo (n)	Antimicrobianos	CIM ($\mu\text{g/ml}$)				Número (%)	
		Faixa de Sensibilidade ($\mu\text{g /ml}$)		Sensibilidade		Resistência	Intermediária
				50%	90%		
<i>Enterococcus</i> spp. 8	BEM	0,25	≥ 64	2	≥ 64	1(12,5)	0
	AMP	≤ 2	≥ 32	≤ 2	≥ 32	1(12,5)	0
	OXA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	GEN	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	CIP	$\leq 0,5$	≥ 8	1	≥ 8	1(12,5)	0
	ERI	$\leq 0,5$	≥ 8	2	≥ 8	3(37,5)	4(50)
	CLI	≥ 8	≥ 8	≥ 8	≥ 8	8(100)	0
	LIN	1	≥ 8	2	≥ 8	1(12,5)	0
	DAP* 6	2	4	4	4	0	0
	TEI	$\leq 0,5$	≥ 32	$\leq 0,5$	≥ 32	1(12,5)	0
	VAN	$\leq 0,5$	≥ 32	1	≥ 32	1(12,5)	0
	TET	≤ 1	≥ 16	≤ 1	≥ 16	2(25)	0
	NIT	≤ 16	256	≤ 16	256	1(12,5)	1(12,5)
	AFU	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	MUP	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	RIF	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	TRI/SUL	≤ 10	≥ 320	≤ 10	≥ 320	8(100)	0

Legenda: CIM: Concentração Inibitória Mínima; NA: Não Analizado; CFX: Cefoxitina; BEN: Benzilpenicilina; AMP: Ampicilina; OXA: Oxacilina; GEN: Gentamicina; CIP: Ciprofloxacina; ERI: Eritromicina; CLI: Clindamicina. ; LIN: Linezolida; DAP: Daptomicina; TEI: Teicoplanina; VAN: Vancomicina; NIT: Nitrofurantoina; AFU: Ácido Fusídico; MUP: Mupirocina; RIF: Rifampicina; TRI/SUL: Trimetoprim/Sulfametoxazol.*: Antimicrobiano testado apenas para 6 das amostras.

TABELA 4

Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos dos CGP distribuídos por paciente

Paciente	Microrganismo	ANTIMICROBIANOS																			
		Screening de CFX		BEM		AMP		OXA		GEN (SINERGIA)		GEN		CIP		R induzida a CLI		ERI		CLI	
		Int.	CIM	Int.	CIM	Int.	CIM	Int.	CIM	Int.	CIM	Int.	CIM	Int.	CIM	Int.	CIM	Int.	CIM	Int.	CIM
	<i>S aureus</i> ATCC 29213	NEG	0,25	S	NA	_	≤ 0,25	S	NA	_	≤ 0,5	S	≤ 0,5	S	NA	≤ 0,25	S	≤ 0,25	S		
p 8	<i>S. epidermidis</i>	NEG	≥ 0,5	R	X	X	≥ 4	R	X	X	4	s	≤ 0,5	S	NEG	≥ 8	R	4	R		
p 16	<i>S. epidermidis</i>	NEG	≤ 0,03	S	X	X	≤ 0,25	S	X	X	≤ 0,5	S	≤ 0,5	S	NEG	≤ 0,25	S	≤ 0,25	S		
P 18	<i>S. waneri</i>	NEG	≤ 0,03	S	X	X	≤ 0,25	S	X	X	≤ 0,5	S	≤ 0,5	S	NEG	≤ 0,25	S	≤ 0,25	S		
P19	<i>E. faecalis</i>	X	0,5	S	≤ 2	S	X	X	SIN-S	S	x	x	≤ 0,5	S	x	4	I	≥ 8	R		
P 20	<i>S. epidermidis</i>	POS	≥ 0,5	R	X	X	≥ 4	R	X	X	≤ 0,5	S	≤ 0,5	S	NEG	≥ 8	R	≥ 8	R		
p 21	<i>E. faecalis</i>	X	2	S	≤ 2	S	X	X	SIN-S	S	x	x	1	S	NEG	2	I	≥ 8	R		
p 26	<i>S. aureus</i>	POS	≥ 0,5	R	X	X	≥ 4	R	X	X	≤ 0,5	S	≥ 8	R	NEG	≥ 8	R	≥ 8	R		
p 34	<i>E. faecalis</i>	X	2	S	≤ 2	S	X	X	SIN-R	R	x	x	≤ 0,5	S	x	4	I	≥ 8	R		
p 35	<i>E. faecalis</i>	X	4	S	≤ 2	S	X	X	SIN-R	R	x	x	1	S	x	≥ 8	R	≥ 8	R		
p 36	<i>S. epidermidis</i>	POS	≥ 0,5	R	X	X	≥ 4	R	X	X	2	S	4	R	NEG	≥ 8	R	≥ 8	R		
p 36	<i>S. aureus</i>	POS	≥ 0,5	R	X	X	≥ 4	R	X	X	≤ 0,5	S	≥ 8	R	NEG	≥ 8	R	≥ 8	R		
P 37	<i>S. haemolyticus</i>	POS	≥ 0,5	R	X	X	≥ 4	R	X	X	≤ 0,5	s	≥ 8	R	NEG	≥ 8	R	≥ 8	R		
P 39	<i>S. haemolyticus</i>	POS	≥ 0,5	R	X	X	≥ 4	R	X	X	≥ 16	R	≥ 8	R	NEG	≥ 8	R	≥ 8	R		
p 42	<i>E. faecium</i>	X	≥ 64	R	≥ 32	R	X	X	SIN-S	S	x	x	≥ 8	R	x	≥ 8	R	≥ 8	R		
p 42	<i>E. faecium</i>	X	0,25	S	≤ 2	S	X	X	SIN-R	R	x	x	1	S	x	1	I	≤ 0,25	R		
p 44	<i>S. waneri</i>	NEG	≤ 0,03	S	X	X	≥ 4	R	X	X	≤ 0,5	s	≥ 8	R	NEG	≥ 8	R	2	I		
p 45	<i>E. faecalis</i>	X	1	S	≤ 2	S	X	X	SIN-R	R	x	x	≤ 0,5	S	x	≥ 8	R	≥ 8	R		
P 46	<i>S. epidermidis</i>	POS	≥ 0,5	R	X	X	≥ 4	R	X	X	4	S	≤ 0,5	S	NEG	≤ 0,25	S	2	I		
p 48	<i>E. faecalis</i>	X	2	S	≤ 2	S	X	X	SIN-R	R	x	x	1	S	x	0,5	S	≥ 8	R		

Legenda: CIM: Concentração Inibitória Mínima; **NEG:** Negativo; **POS:** Positivo; **NA:** Não Analizado; **CFX:** Cefoxitina; **BEN:** Benzilpenicilina; **AMP:** Ampicilina; **OXA:** Oxacilina; **GEN:** Gentamicina; **CIP:** Ciprofloxacina; **ERI:** Eritromicina; **CLI:** Clindamicina.

TABELA 5

Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos dos CGP distribuídos por paciente

Paciente	Microrganismo	ANTIMICROBIANOS																			
		LIN		DAP		TEI		VAN		TET		NIT		AFU		MUP		RIF		TRI/SUL	
		CIM	Int.	CIM	Int.	CIM	Int.	CIM	Int.	CIM	Int.	CIM	Int.	CIM	Int.	CIM	Int.	CIM	Int.	CIM	Int.
	<i>S aureus</i> ATCC 29213	1	NA	_	≤ 0,5	S	≤ 0,5	S	NA	_	NA	_	≤ 0,5	S	NA	≤ 0,5	S	≤ 10	S		
p 8	<i>S. epidermidis</i>	≥ 8	≥ 8		≥ 32	R	≥ 32	R	≥ 16	R	≤ 16	S	4	I	≤ 2	16	R	≤ 10	S		
p 16	<i>S. epidermidis</i>	2	0,25	S	≤ 0,5	S	≤ 0,5	S	≤ 1	S	≤ 16	S	≤ 0,5	S	≤ 2	≤ 0,5	S	≤ 10	S		
P 18	<i>S. waneri</i>	1	0,5	S	≤ 0,5	S	2	S	≥ 16	R	32	S	≤ 0,5	S	≤ 2	≤ 0,5	S	≤ 10	S		
P19	<i>E. faecalis</i>	2	4	S	≤ 0,5	S	1	S	≥ 16	R	≤ 16	S	X	x	X	x	x	≤ 10	R		
P 20	<i>S. epidermidis</i>	2	4	X	≤ 0,5	S	1	S	≥ 16	R	≤ 16	S	8	I	≥ 8	8	R	≤ 10	S		
p 21	<i>E. faecalis</i>	2	4	S	≤ 0,5	S	1	S	≤ 1	S	32	S	X	x	X	x	x	≤ 10	R		
p 26	<i>S. aureus</i>	1	0,25	S	≤ 0,5	S	≤ 0,5	S	2	S	32	S	≤ 0,5	S	≤ 2	≤ 0,5	S	≤ 10	S		
p 34	<i>E. faecalis</i>	1	4	S	≤ 0,5	S	1	S	≤ 1	S	≤ 16	S	X	x	X	x	x	≤ 10	R		
p 35	<i>E. faecalis</i>	2	2	S	≤ 0,5	S	1	S	≥ 16	R	32	S	X	x	X	x	x	≤ 10	R		
	<i>S. epidermidis</i>	1	0,5	S	2	S	1	S	≥ 16	R	≤ 16	S	1	S	≥ 8	≥ 32	R	≤ 10	S		
p 36	<i>S. aureus</i>	1	0,25	S	≤ 0,5	S	≤ 0,5	S	≤ 1	S	≤ 16	S	≤ 0,5	S	≤ 2	2	I	≤ 10	S		
P 37	<i>S. haemolyticus</i>	1	0,5	S	≤ 0,5	S	≤ 0,5	S	≤ 1	S	≤ 16	S	≤ 0,5	S	≤ 2	2	I	≤ 10	S		
P 39	<i>S. haemolyticus</i>	1	0,25	S	2	S	1	S	≥ 16	R	32	S	8	I	≤ 2	≤ 0,5	S	≥ 320	R		
	<i>E. faecium</i>	≥ 8	X	X	≥ 32	R	≥ 32	R	2	S	256	R	X	x	X	x	x	≥ 320	R		
p 42	<i>E. faecium</i>	2	X	X	≤ 0,5	S	≤ 0,5	S	≤ 1	S	64	I	X	x	X	x	x	≤ 10	R		
p 44	<i>S. waneri</i>	≥ 8	≥ 8	R	≥ 32	R	8	I	≥ 16	R	≤ 16	S	≥ 32	R	≤ 2	≥ 32	R	80	R		
p 45	<i>E. faecalis</i>	1	4	S	0,5	S	1	S	≤ 1	S	≤ 16	S	X	x	X	x	x	≤ 10	R		
P 46	<i>S. epidermidis</i>	1	0,25	S	2	S	1	S	≥ 16	R	≤ 16	S	≤ 0,5	S	≤ 2	≤ 0,5	S	≤ 10	S		
p 48	<i>E. faecalis</i>	2	4	S	≤ 0,5	S	2	S	≤ 1	S	≤ 16	S	X	x	X	x	x	≤ 10	R		

Legenda: CIM: Concentração Inibitória Mínima; NA: Não Analizado; LIN: Linezolid; DAP: Daptomicina; TEI: Teicoplanina; VAN: Vancomicina; NIT: Nitrofurantoina; AFU: Ácido Fusídico; MUP: Mupirocina; RIF: Rifampicina; TRI/SUL: Trimetoprim/Sulfametoxazol.

TABELA 6

Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos (CIM 50 e 90) das amostras de BGN – não fermentador de glicose.

Microrganismo (n)	Antimicrobianos	CIM ($\mu\text{g/ml}$)				Número (%)	
		Faixa de sensibilidade ($\mu\text{g/ml}$)	Sensibilidade		Susceptibilidade		
			50%	90%	Resistência	Intermediária	
BGN – não fermentador de glicose 9	AZT***	2	≥ 64	≥ 64	≥ 64	5(71,4)	0
	ERT	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	IMI****	≤ 1	≥ 16	≥ 16	≥ 16	5(55,6)	1(11,1)
	MER****	$\leq 0,25$	≥ 16	$\leq 0,25$	≥ 16	1(25)	1(25)
	AMI****	≤ 2	≥ 64	≥ 64	≥ 64	3(75)	0
	GEN****	≤ 1	≥ 16	≤ 1	≥ 16	3(33,3)	0
	CIP	$\leq 0,25$	≥ 4	≥ 4	≥ 4	6(66,7)	0
	TIG	$\leq 0,5$	≥ 8	1	≥ 8	2(22,2)	1(11,1)
	COL*****	$\leq 0,5$	≥ 16	$\leq 0,5$	≥ 16	1(12,5)	0
	AMP	≥ 32	≥ 32	≥ 32	≥ 32	9(100)	0
	ASB*****	4	≥ 32	16	≥ 32	4(50)	1(12,5)
	PPT	16	≥ 128	≥ 128	≥ 128	7(77,8)	1(11,1)
	CFL	≥ 64	≥ 64	≥ 64	≥ 64	9(100)	0
	CFO	≤ 4	≥ 64	≥ 64	≥ 64	7(77,8)	0
	CTX	≤ 1	≥ 64	≥ 64	≥ 64	7(77,8)	1(11,1)
	CAZ	≤ 1	≥ 64	≥ 64	≥ 64	7(77,8)	1(11,1)
COM	≤ 1	≥ 64	32	≥ 64	6(66,7)	0	

Legenda: CIM: Concentração Inibitória Mínima; NA: Não Analizado; AZT: Aztreonam; ERT: Ertapenem; IMI: Imipenem; MER: Meropenem; AMI: Amicacina; GEN: Gentamicina; CIP: Ciprofloxacina; TIG: Tigeciclina; COL: Colistina; AMP: Ampicilina; ASB: Ampicilina+Sulbactam; PPT: Piperacilina+Tazobactam; CFL: Cefalotina; CFO: Cefoxitina; CTX: Cefotaxima; CAZ: Ceftazidima; CPM: Cefepima. ***: Antimicrobiano testados apenas para 7 das 9 amostras; ****: Antimicrobianos testados apenas para 4 das 9 amostras; *****: Antimicrobianos testados apenas para 8 das 9 amostras.

TABELA 7

Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos (CIM 50 e 90) das amostras de *Enterobacteriaceae*

Microrganismo (n)	Antimicrobianos	CIM (µg/ml)				Número (%)	
		Faixa de sensibilidade (µg/ml)		Sensibilidade		Resistência	Intermediária
<i>Enterobacteriaceae</i> 16	AZT	≤1	≥64	≤1	16	2(12,5)	2(12,5)
	ERT	≤0,5	4	≤0,5	≤0,5	1(6,25)	0
	IMI	≤1	2	≤1	2	0	1(6,25)
	MER	≤0,25	1	≤0,25	≤0,25	0	0
	AMI*	≤2	≥64	≤2	16	2(12,5)	0
	GEN	≤1	≥64	1	≥64	3(18,75)	0
	CIP	≤0,25	≥4	≤0,25	≥4	2(12,5)	0
	TIG	≤0,5	4	1	4	6(37,5)	2(12,5)
	COL	≤0,5	≥16	≥16	≥16	9(56,25)	0
	AMP**	≤2	≥32	≥32	≥32	12(75)	0
	ASB**	≤2	≥32	16	≥32	7(43,75)	5(31,25)
	PPT	≤4	≥128	≤4	≥128	2(12,5)	0
	CFL	4	≥64	≥64	≥64	12(75)	1(6,25)
	CFO	≤4	≥64	≤4	≥64	3(18,75)	1(6,25)
	CTX	≤1	≥64	≤1	≥64	6(37,5)	0
	CAZ	≤1	≥64	≤1	32	3(18,75)	3(18,75)
COM	≤1	≥64	≤1	≥64	3(18,75)	0	

Legenda: CIM: Concentração Inibitória Mínima; NA: Não Analizado; AZT: Aztreonam; ERT: Ertapenem; IMI: Imipenem; MER: Meropenem; AMI: Amicacina; GEN: Gentamicina; CIP: Ciprofloxacina; TIG: Tigeciclina; COL: Colistina; AMP: Ampicilina; ASB: Ampicilina+Sulbactam; PPT: Piperacilina+Tazobactam; CFL: Cefalotina; CFO: Cefoxitina; CTX: Cefotaxima; CAZ: Ceftazidima; CPM: Cefepima; *: Antimicrobiano testado apenas para 9 das 16 amostras; **: Antimicrobianos testados apenas para 14 das 16 amostras.

TABELA 8
Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos dos BGN distribuídos por paciente

Paciente	Microorganismo	ANTIMICROBIANOS																	
		BLSE		AMP		ASB		PPT		CFL		CFO		CTX		CAZ		COM	
		CIM	Int.	CIM	Int.	CIM	Int.	CIM	Int.	CIM	Int.	CIM	Int.	CIM	Int.	CIM	Int.	CIM	Int.
P 1	<i>E.coli</i> ATCC 25922	-	NEG	4	S	4	S	≤4	S	NA	-	≤4	S	NA	-	≤1	S	≤1	S
	<i>P. mirabilis</i>	x	X	≤ 2	S	≤ 2	S	≤ 4	S	4	S	≤ 4	S	≤ 1	S	≤ 1	S	≤ 1	S
	<i>S. paucimobilis</i>	x	X	≥ 32	R	4	S	64	I	≥ 64	R	≤ 4	S	≤ 1	S	≤ 1	S	≤ 1	S
P2	<i>E. coli</i>	-	POS	≥ 32	R	16	I	≤ 4	S	≥ 64	R	8	S	≤ 1	S	≤ 1	S	≤ 1	S
	<i>P. mirabilis</i>	x	X	≥ 32	R	16	I	≤ 4	S	≥ 64	R	≤ 4	S	≤ 1	S	≤ 1	S	≤ 1	S
P 8	<i>A. baumannii</i>	x	X	≥ 32	R	≥ 32	R	≥ 128	R	≥ 64	R	≥ 64	R	≥ 64	R	≥ 64	R	≥ 64	R
P 17	<i>S. paucimobilis</i>	x	X	≥ 32	R	X	X	≥ 128	R	≥ 64	R	≤ 4	S	16	I	≥ 64	R	≤ 1	S
P 19	<i>H. alvei</i>	x	X	≥ 32	R	≥ 32	R	≥ 128	R	≥ 64	R	16	I	≥ 64	R	≥ 64	R	≤ 1	S
P 20	<i>E. coli</i>	-	NEG	≥ 32	R	≥ 32	R	≤ 4	S	16	I	≤ 4	S	≤ 1	S	≤ 1	S	≤ 1	S
P 21	<i>E. coli</i>	-	POS	≥ 32	R	≥ 32	R	8	S	≥ 64	R	16	I	≥ 64	R	4	I	8	R
P 22	<i>E. coli</i>	-	NEG	≤ 2	S	≤ 2	S	≤ 4	S	8	S	≤ 4	S	≤ 1	S	≤ 1	S	≤ 1	S
P 26	<i>C. freundii</i>	x	X	X	X	X	X	≤ 4	S	16	R	≥ 64	R	≤ 1	S	≤ 1	S	≤ 1	S
	<i>A. baumannii</i>	x	X	≥ 32	R	16	I	≥ 128	R	≥ 64	R	≥ 64	R	≥ 64	R	≥ 64	R	≥ 64	R
P 31	<i>P. rettgeri</i>	x	X	16	R	8	R	≤ 4	S	≥ 64	R	≤ 4	S	≤ 1	S	≤ 1	S	≤ 1	S
	<i>C. freudii</i>	x	X	X	X	X	X	≤ 4	S	≥ 64	R	≤ 4	R	≤ 1	S	≤ 1	S	≤ 1	S
P 34	<i>S. paucimobilis</i>	-	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
P 35	<i>E. coli</i>	-	NEG	≥ 32	R	16	I	≤ 4	S	≥ 64	R	≥ 64	S	8	R	16	R	≤ 1	S
P 36	<i>P. stuartii</i>	x	X	≥ 32	R	≥ 32	R	≤ 4	S	≥ 64	R	32	R	≥ 64	R	4	I	≥ 64	R
	<i>A. baumannii</i>	x	X	≥ 32	R	≥ 32	R	≥ 128	R	≥ 64	R	≥ 64	R	≥ 64	R	≥ 64	R	≥ 64	R
P 37	<i>P. aeruginosa</i>	x	X	≥ 32	R	≥ 32	R	16	S	≥ 64	R	≥ 64	R	≥ 64	R	4	S	2	S
	<i>P. stuartii</i>	x	X	≥ 32	R	≥ 32	R	≤ 4	S	≥ 64	R	≤ 4	S	≥ 64	R	4	I	≥ 64	R
P 39	<i>P. aeruginosa</i>	x	X	≥ 32	R	≥ 32	R	≥ 128	R	≥ 64	R	≥ 64	R	≥ 64	R	≥ 64	R	32	R
	<i>A. baumannii</i>	x	X	≥ 32	R	4	S	≥ 128	R	≥ 64	R	≥ 64	R	≥ 64	R	≥ 64	R	≥ 64	R
P 40	<i>M. morgani</i>	x	X	≥ 32	R	4	R	≤ 4	S	≥ 64	R	16	I	≤ 1	S	≤ 1	S	≤ 1	S
P 42	<i>A. baumannii</i>	x	X	≥ 32	R	8	S	≥ 128	R	≥ 64	R	≥ 64	R	≥ 64	R	≥ 64	R	32	R
P 45	<i>E. coli</i>	-	POS	≥ 32	R	16	I	≤ 4	S	≥ 64	R	≤ 4	S	≥ 64	R	≤ 1	S	≤ 1	S
P 48	<i>P. mirabilis</i>	x	X	≥ 32	R	8	S	≥ 128	R	8	S	≤ 4	S	≤ 1	S	32	R	≤ 1	S
P 50	<i>S. paucimobilis</i>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
P 51	<i>S. paucimobilis</i>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

Legenda: CIM: Concentração Inibitória Mínima; **NEG:** Negativo; **POS:** Positivo; **NA:** Não Analizado; **BLSE:** Beta lactamase de amplo espectro; **AMP:** Ampicilina; **ASB:** Ampicilina+Sulbactam; **PPT:** Piperacilina+Tazobactam; **CFL:** Cefalotina; **CFO:** Cefoxitina; **CTX:** Cefotaxima; **CAZ:** Ceftazidima; **CPM:** Cefepima.

TABELA 9
Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos dos BGN distribuídos por paciente

Paciente	Microrganismo	ANTIMICROBIANOS																	
		AZT		ERT		IMI		MER		AMI		GEN		CIP		TIG		COL	
		CIM	Int.	CIM	Int.	CIM	Int.	CIM	Int.	CIM	Int.	CIM	Int.	CIM	Int.	CIM	Int.	CIM	Int.
	<i>E.coli</i> ATCC 25922	NA	-	≤ 0,5	S	≤ 1	S	≤ 0,25	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 0,25	S	≤ 0,5	S	≤ 0,5	S
P 1	<i>P. mirabilis</i>	≤ 1	S	≤ 0,5	S	X	X	≤ 0,25	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 0,25	S	4	R	≥ 16	R
	<i>S. paucimobilis</i>	2	S	X	X	≤ 1	S	≤ 0,25	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 0,25	S	≤ 0,5	S	≤ 0,5	S
P2	<i>E. coli</i>	≤ 1	S	≤ 0,5	S	≤ 1	S	≤ 0,25	S	≤ 2	S	≥ 16	R	≥ 4	R	1	S	≤ 0,5	S
	<i>P. mirabilis</i>	≤ 1	S	≤ 0,5	S	X	X	≤ 0,25	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 0,25	S	2	R	≥ 16	R
P 8	<i>A. baumannii</i>	≥ 64	R	X	X	≥ 16	R	X	x	X	x	≥ 16	R	≥ 4	R	1	S	≤ 0,5	S
P 17	<i>S. paucimobilis</i>	2	S	X	X	≤ 1	S	≤ 0,25	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 0,25	S	≤ 0,5	S	X	x
P 19	<i>H. alvei</i>	2	S	≤ 0,5	S	≤ 1	S	≤ 0,25	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 0,25	S	≤ 0,5	S	≥ 16	R
P 20	<i>E. coli</i>	≤ 1	S	≤ 0,5	S	≤ 1	S	≤ 0,25	S	≤ 2	S	≤ 1	S	0,5	S	≤ 0,5	S	≤ 0,5	S
P 21	<i>E. coli</i>	16	R	≤ 0,5	S	≤ 1	S	≤ 0,25	S	≤ 2	S	≥ 16	R	≥ 4	R	≤ 0,5	S	≤ 0,5	S
P 22	<i>E. coli</i>	≤ 1	S	≤ 0,5	S	≤ 1	S	≤ 0,25	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 0,25	S	≤ 0,5	S	≤ 0,5	S
P 26	<i>C. freundii</i>	≤ 1	S	≤ 0,5	S	≤ 1	S	≤ 0,25	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 0,25	S	≤ 0,5	S	≤ 0,5	S
	<i>A. baumannii</i>	≥ 64	R	X	X	≥ 16	R	X	x	X	x	≤ 1	S	≥ 4	R	1	S	≤ 0,5	S
P 31	<i>P. rettgeri</i>	≤ 1	S	≤ 0,5	S	X	X	≤ 0,25	S	16	S	≤ 1	R	≤ 0,25	S	2	R	≥ 16	R
	<i>C. freudii</i>	≤ 1	S	≤ 0,5	S	2	I	≤ 0,25	S	≥ 64	R	≤ 1	S	≤ 0,25	S	2	I	≥ 16	R
P 34	<i>S. paucimobilis</i>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
P 35	<i>E. coli</i>	2	I	≤ 0,5	S	≤ 1	S	≤ 0,25	S	≤ 2	S	≥ 16	R	≤ 0,25	S	≤ 0,5	S	≤ 0,5	S
P 36	<i>P. stuartii</i>	≥ 64	R	4	R	X	X	1	S	≤ 2	S	2	S	≤ 0,25	S	2	I	≥ 16	R
	<i>A. baumannii</i>	≥ 64	R	X	X	≥ 16	R	X	x	X	x	≤ 1	S	≥ 4	R	1	S	≤ 0,5	S
P 37	<i>P. aeruginosa</i>	X	X	X	X	8	I	8	I	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 0,25	S	≥ 8	R	≤ 0,5	S
	<i>P. stuartii</i>	4	I	≤ 0,5	S	X	X	≤ 0,25	S	≤ 2	S	≤ 1	R	≤ 0,25	S	2	R	≥ 16	R
P 39	<i>P. aeruginosa</i>	X	X	X	X	≥ 16	R	≥ 16	R	≥ 64	R	≥ 16	R	≥ 4	R	≥ 8	R	≤ 0,5	S
	<i>A. baumannii</i>	≥ 64	R	X	X	≤ 1	S	X	x	X	x	≤ 1	S	≥ 4	R	2	S	≤ 0,5	S
P 40	<i>M. morgani</i>	≤ 1	S	≤ 0,5	S	X	X	≤ 0,25	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 0,25	S	2	R	≥ 16	R
P 42	<i>A. baumannii</i>	≥ 64	R	X	X	≥ 16	R	X	x	X	x	≥ 16	R	≥ 4	R	4	I	≥ 16	R
P 45	<i>E. coli</i>	≤ 1	S	≤ 0,5	S	≤ 1	S	≤ 0,25	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 0,25	S	≤ 0,5	S	≤ 0,5	S
P 48	<i>P. mirabilis</i>	16	R	≤ 0,5	S	X	X	≤ 0,25	S	≤ 2	S	≤ 1	S	0,5	S	4	R	≥ 16	R
P 50	<i>S. paucimobilis</i>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
P 51	<i>S. paucimobilis</i>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

Legenda: CIM: Concentração Inibitória Mínima; **NA:** Não Analizado; **AZT:** Aztreonam; **ERT:** Ertapenem; **IMI:** Imipenem; **MER:** Meropenem; **AMI:** Amicacina; **GEN:** Gentamicina; **CIP:** Ciprofloxacina; **TIG:** Tigeciclina; **COL:** Colistina.

TABELA 10

Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos (CIM 50 e 90) das amostras de anaeróbios

Microrganismo (n)	Antimicrobianos	CIM (µg/ml)				Número (%)	
		Faixa de sensibilidade (µg /ml)		Sensibilidade 50% 90%		Resistência	Intermediária
<i>Bacteroides</i> do grupo <i>fragilis</i> 8	PPT	≤8	16	≤8	16	0	0
	CFO	16	64	16	64	2(25)	1(12,5)
	IMI	2	4	2	4	0	0
	CLI	≤0,5	≥32	2	≥32	4(50)	0
	MET	8	8	8	8	0	0
	PEN	4	≥8	≥8	≥8	8(100)	0
<i>Prevotella</i> spp. 5	PPT	≤8	≤8	≤8	≤8	0	0
	CFO	≤4	≤4	≤4	≤4	0	0
	IMI	≤1	2	≤1	2	0	0
	CLI	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	0	0
	MET	4	8	8	8	0	0
	PEN	1	≥8	≥8	≥8	4(80)	0
<i>Fusobacterium nucleatum</i> 2	PPT	≤8	≤8	≤8	≤8	0	0
	CFO	≤4	≤4	≤4	≤4	0	0
	IMI	≤1	≤1	≤1	≤1	0	0
	CLI	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	0	0
	MET	≤2	4	≤2	4	0	0
	PEN	≤0,125	≥8	≤0,125	≥8	1(50)	0
<i>Propionibacterium acnes</i> 1	PPT	≤8	≤8	≤8	≤8	0	0
	CFO	≤4	≤4	≤4	≤4	0	0
	IMI	≤1	≤1	≤1	≤1	0	0
	CLI	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	0	0
	MET	≥128	≥128	≥128	≥128	1(100)	0
	PEN	≤0,125	≤0,125	≤0,125	≤0,125	0	0

Legenda: CIM: Concentração Inibitória Mínima; **PPT:** Piperacilina+Tazobactam; **CFO:** Cefoxitina; **IMI:** Imipenem; **CLI:** Clindamicina; **MET:** Metronidazol; **PEN:** Penicilina.

TABELA 11

Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos dos anaeróbios distribuídos por pacientes

Paciente	Microrganismo	ANTIMICROBIANOS												
		PTZ		CFO		IMI		CLI		MET		PEN		Cefinase
		CIM	Int.	CIM	Int.	CIM	Int.	CIM	Int.	CIM	Int.	CIM	Int.	Int.
-	<i>S. aureus</i> ATCC 25913	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	+
-	<i>E. lentum</i> ATCC 25559	≤ 8	S	≤ 4	S	≤ 1	S	≤ 0.5	S	≥ 128	R	≤ 0.125	S	NA
-	<i>B. fragilis</i> ATCC 25285	≤ 8	S	8	S	≤ 1	S	2	S	8	S	≥ 8	R	NA
p 2	<i>B. fragilis</i>	≤ 8	S	16	S	2	S	1	S	8	S	≥ 8	R	+
p 9	<i>F. nucleatum</i>	≤ 8	S	≤ 4	S	≤ 1	S	≤ 0.5	S	≤ 2	S	≤ 0.125	S	-
p10	<i>P. bivia</i>	≤ 8	S	≤ 4	S	2	S	≤ 0.5	S	4	S	≥ 8	R	+
p10	<i>F. nucleatum</i>	≤ 8	S	≤ 4	S	≤ 1	S	≤ 0.5	S	4	S	≤ 0.125	S	+
p14	<i>P. intermedia</i>	≤ 8	S	≤ 4	S	≤ 1	S	≤ 0.5	S	8	S	1	S	+
p 20	<i>B. ovatus</i>	≤ 8	S	64	R	2	S	8	R	8	S	≥ 8	R	+
p 22	<i>B. fragilis</i>	≤ 8	S	16	S	2	S	2	S	8	S	≥ 8	R	+
p 23	<i>B. vulgatus</i>	≤ 8	S	16	S	4	S	> 32	R	8	S	4	R	+
p29	<i>P. bivia</i>	≤ 8	S	≤ 4	S	≤ 1	S	≤ 0.5	S	8	S	8	R	+
p29	<i>P. melaninogenica</i>	≤ 8	S	≤ 4	S	2	S	≤ 0.5	S	8	S	4	R	+
p34	<i>B. fragilis</i>	≤ 8	S	16	S	2	S	≤ 0.5	S	8	S	≥ 8	R	+
p34	<i>B. thetaiotaomicron</i>	16	S	64	R	4	S	2	S	8	S	≥ 8	R	-
p 37	<i>P. bivia</i>	≤ 8	S	≤ 4	S	≤ 1	S	≤ 0.5	S	8	S	≥ 8	R	+
p 47	<i>P. acnes</i>	≤ 8	S	≤ 4	S	≤ 1	S	≤ 0.5	S	≥ 128	R	≤ 0.125	S	-
p 49	<i>B. fragilis</i>	≤ 8	S	32	I	2	S	> 32	R	8	S	≥ 8	R	+
p 50	<i>B. fragilis</i>	≤ 8	S	16	S	2	S	> 32	R	8	S	≥ 8	R	+

Legenda: CIM: Concentração Inibitória Mínima; **PPT:** Piperacilina+Tazobactam; **CFO:** Cefoxitina; **IMI:** Imipenem; **CLI:** Clindamicina; **MET:** Metronidazol; **PEN:** Penicilina.

TABELA 12

Níveis de citocinas quantificados da secreção e do soro dos pacientes com IIA

Paciente	Citocinas da secreção (pg/mL)						Paciente	Citocinas do sangue (pg/mL)					
	IL-8	IL-1	IL-6	IL-10	TNF	IL-12P70		IL-8	IL-1	IL-6	IL-10	TNF	IL-12P70
1	1084212,7	5100032,3	0,0	0,0	0,0	257,0	1						
2	1813294,1	170102,6	515,5	0,0	0,0	236,0	2						
3							3						
4	4045,6	0,0	3538,8	0,0	0,0	228,9	4	1524,0	1,7	28,8	3,5	0,0	9,4
5	310529,5	3219,3	0,0	0,0	0,0	0,0	5						
6	77736,7	0,0	0,0	0,0	0,0	170,3	6	19,6	1,9	48,3	0,0	10,9	0,0
7	316960,3	11996,2	0,0	0,0	0,0	0,0	7	64,1	0,0	95,7	8,4	0,0	8,4
8	2142880,2	17518,5	876733,8	1857,8	478,5	214,8	8						
9							9						
10	1438673,7	340713,6	0,0	0,0	0,0	0,0	10						
11							11	69,0	0,0	88,9	0,0	7,4	5,8
12	777651,0	465369,4	0,0	0,0	526,6	313,3	12						
13	122693,6	965,2	0,0	0,0	0,0	0,0	13						
14							14						
15	190679,8	24362,2	42256,6	0,0	298,8	342,0	15						
16	753241,6	124084,5	0,0	0,0	0,0	228,7	16						
17							17	3075,5	23,5	63879,7	15,1	0,0	6,6
18							18	1739,5	0,3	88,3	0,0	0,5	4,6
19							19	2850,5	7,7	40534,2	479,3	0,5	7,1
20	1503196,1	243553,0	8048,5	0,0	510,5	250,2	20	13,5	1,4	384,9	5,4	0,8	4,9
21	277497,0	28828,3	0,0	0,0	235,3	0,0	21						
22	3868682,7	565058,1	0,0	0,0	0,0	0,0	22						
23	73989,8	37772,4	537,1	0,0	0,0	0,0	23	46,6	2,8	350,3	19,0	6,9	7,9
24							24	883,2	5,2	12579,2	163,6	0,0	6,8
25	1503196,1	839445,3	360145,7	260,3	39299,5	193,3	25						
26							26	250,4	7,6	5062,7	22,4	0,0	4,9
27	112178,2	1406,3	1820,3	0,0	0,0	154,9	27	552,8	3,6	1644,7	11,0	0,0	8,1
28							28	0,0	0,0	0,0	93,5	0,0	183,0
29							29	2357,5	41,6	17240,4	0,0	0,0	0,0
30							30						
31	684720,1	250814,9	362,4	0,0	2245,2	193,3	31						
32							32	65,7	14,1	622,1	51,8	72,3	9,5
33							33	3,6	0,0	7,3	0,0	0,0	0,0
34	777651,0	143144,5	0,0	0,0	0,0	154,9	34	13,1	0,9	61,2	0,0	0,0	0,0
35							35	1291,5	1,9	22825,5	18,7	0,3	6,1
36							36						
37							37	112,6	2,1	94,6	6,7	0,0	9,6
38	130259,0	2434,5	21505,4	0,0	0,0	137,3	38						
39							39	1978,3	25,3	6361,3	156,5	0,0	6,4
40							40	0,0	0,0	0,0	333,3	0,0	189,5
41							41	111,8	0,0	61,7	2,5	0,4	5,1
42	450193,6	4399,0	29465,0	0,0	679,0	271,0	42	112,5	0,0	50,6	0,0	0,2	5,8

Citocinas da secreção (pg/mL)							Citocinas do sangue (pg/mL)						
Paciente	IL-8	IL-1	IL-6	IL-10	TNF	IL-12P70	Paciente	IL-8	IL-1	IL-6	IL-10	TNF	IL-12P70
43	103604,9	1652,6	0,0	0,0	306,9	285,0	43	4,4	0,0	9,4	0,0	0,0	6,9
44							44	207,1	0,5	2231,2	0,2	0,5	3,6
45	1275791,6	75290,2	490670,4	0,0	1258,1	0,0	45	427,0	0,5	204,1	0,8	0,0	3,5
46	258389,6	139108,9	740,6	0,0	0,0	163,0	46	64,1	0,5	31,0	6,8	0,2	4,2
47	699348,5	65132,4	38294,3	0,0	0,0	163,0	47	67,0	0,0	26,1	0,0	0,1	4,4
48	1248318,0	63629,0	6735,2	0,0	559,3	0,0	48	74,2	0,3	47,9	0,1	0,5	6,8
49	147594,1	156018,3	0,0	0,0	306,9	299,2	49	7,1	2,7	26,9	1,1	1,2	1,8
50	427422,8	33156,2	1456,9	0,0	0,0	423,7	50	8,4	1,5	11,1	0,9	1,5	1,7
51	210937,8	18808,1	0,0	0,0	0,0	214,8	51						

LEGENDA: IL= Interleucina; TNF α = Fator de necrose tumoral.

ANEXO A

APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UFMG



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

Parecer nº. ETIC 0097.0.203.000-10

Interessado(a): **Prof. Simone Gonçalves dos Santos**
Departamento de Microbiologia
Instituto de Ciências Biológicas - UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 24 de maio de 2010, após atendidas as solicitações de diligência, o projeto de pesquisa intitulado "**Avaliação microbiológica de infecções intra-abdominais com ênfase em anaeróbios e suas interações sistêmicas com o hospedeiro**" bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.


Prof. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG

ANEXO B

TERMO DE CONSENTIMENTO PARA PARTICIPAÇÃO NA PESQUISA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PARTICIPAÇÃO EM PESQUISA CLÍNICA

Título: “Avaliação bacteriológica de infecções intra-abdominais, com ênfase em anaeróbios e suas interações sistêmicas com o hospedeiro”

Pesquisadores: Simone Gonçalves dos Santos (Responsável pelo projeto)
Maria Auxiliadora Roque de Carvalho
Luiz de Macêdo Farias
José Carlos Serufo
Rogério Augusto Pinto Silva
João Baptista Rezende Neves

Introdução: Antes de aceitar a sua participação nesta pesquisa, é necessário que você leia e compreenda a explicação a seguir sobre os procedimentos propostos. Esta declaração esclarece o objetivo, procedimentos, benefícios, riscos, desconfortos e cuidados durante o estudo. Também estabelece o direito de desistir da sua participação no estudo a qualquer momento. Nenhuma garantia ou promessa pode ser feita sobre os resultados da pesquisa. Os resultados do estudo e o seu acompanhamento clínico dependem da clareza de suas queixas e de sua história.

Objetivos: Identificar os microrganismos recuperados de infecções intra-abdominais e possíveis reações sistêmicas decorrentes destas infecções em pacientes internados ou não, atendidos nos Hospitais das Clínicas, Risoleta Tolentino Neves e da Polícia Militar de MG.

Resumo: As infecções intra-abdominais são caracterizadas pela presença de secreção purulenta (pus), localizadas ou espalhadas por todo o abdômen. Estas infecções representam um problema comum na prática diária hospitalar e geralmente envolvem mais de um microrganismo. Nos casos da disseminação destes microrganismos para a corrente sanguínea, pode ocorrer a produção de diferentes substâncias pelo organismo, gerando complicações graves para o paciente acometido, como reações pulmonares, meningite, endocardite e comprometimento das vias respiratórias. O tratamento das infecções intra-abdominais é sempre feito pela retirada da secreção purulenta dos abscessos e o uso de antibióticos adequados. O que se propõe neste estudo é fazer a análise e identificação de possíveis microrganismos no material retirado dos abscessos além da pesquisa dos antibióticos que poderão ser usados no tratamento destas infecções. Na análise do sangue, será investigada a possível presença de microrganismos e de substâncias que poderão causar infecções e reações inflamatórias graves na pessoa acometida. Todas as coletadas realizadas neste estudo já são indicadas pelo médico como procedimentos de rotina para o tratamento dos pacientes. Sendo assim, nenhum procedimento além do previsto pelos médicos será feito.

Procedimento: Serão incluídos neste estudo, pacientes com quadro de infecções intra-abdominais (IIA) apresentando ou não infecção da corrente sanguínea (ICS) relacionada a esta infecção. Caso concorde com a participação no estudo, as secreções dos abscessos serão obtidas por aspiração durante a ultra-sonografia ou durante a cirurgia pelos médicos responsáveis. As amostras sanguíneas para a pesquisa de microrganismos no sangue e para avaliação da resposta inflamatória serão coletadas por técnicos qualificados ou pela própria equipe médica, apenas quando o médico responsável solicitar. Imediatamente após a coleta, as amostras dos abscessos e de sangue serão transportados ao laboratório de microbiologia oral e anaeróbios do ICB/UFMG. O paciente continuará sendo atendido no serviço, mesmo que não concorde com a sua inclusão no estudo ou, ainda, que desista de participar em qualquer momento. Todos os resultados de exames que estiverem prontos estarão à sua disposição a qualquer momento da pesquisa. Você não receberá qualquer remuneração pela participação.

Desconfortos: O projeto não prevê nenhum procedimento diferente daqueles usados no diagnóstico e tratamento das infecções intra-abdominais, ou seja, as análises propostas serão realizadas em secreções e sangue que já iriam ser retirados independentes do presente estudo, Portanto, ele não gera nenhum desconforto adicional em relação ao tratamento de rotina.

Riscos: Não haverá riscos ao paciente em função da pesquisa, pois só serão utilizados materiais clínicos solicitados por indicação clínica médica, e por ele coletados, de acordo com a rotina hospitalar. As análises propostas serão realizadas em secreções e sangue que já iriam ser retirados independentes do presente estudo.

Benefícios: Infecções intra-abdominais são causadas, na maioria das vezes, por microrganismos de difícil crescimento em testes usados de rotina nos laboratórios clínicos, o que faz com que em sempre seja possível realizar a identificação dos microrganismos causadores da infecção e nem a avaliação do antibiótico que deverá ser usado para eliminação dos mesmos. Portanto, a sua participação neste estudo será muito importante para o conhecimento dos microrganismos presentes nas infecções IIA e poderá contribuir, no futuro, para a melhoria do controle e tratamento desta doença em nosso País. É possível que os resultados do exame possam ajudar na escolha do antimicrobiano que você deverá tomar.

Confidencialidade: Os resultados serão mantidos em sigilo até onde é exigido pela lei. O Comitê e Ética em Pesquisa da UFMG poderá verificá-los e ter acesso aos dados que identificam seu nome. Qualquer publicação dos dados não o identificará. Ao concordar com a sua participação, você autoriza o pesquisador a fornecer seus registros médicos para a instituição e para o COEP/ UFMG.

Desligamento: Você poderá se afastar, a qualquer momento, sem prejuízo para o seu acompanhamento médico. O estudo poderá ser finalizado se faltarem recursos e se o número de amostras não for suficiente.

Novas descobertas: Todos os novos dados desta pesquisa poderão ser fornecidos a você, quando solicitados.

Contato com o pesquisador: Pode ser feito pelos telefones (31) 3409-2743 (Profa. Simone Gonçalves dos Santos). Caso tenha alguma dúvida sobre os seus direitos como paciente da pesquisa, você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (Av. Antônio Carlos, 6627, Unidade Administrativa II, 2º andar, sala 2005, cep: 31270-901, Belo Horizonte – Minas Gerais; Telefone: (31) 3409-4592; Fax: (31) 3409-4027; E-mail: coep@pepq.ufmg.br).

Consentimento: Li e entendi as informações. Tive a oportunidade de fazer perguntas e todas as minhas dúvidas foram respondidas a contento. Estou autorizando, voluntariamente, a minha participação, até que eu decida o contrário.

Belo Horizonte,.....dede 20.....

Paciente

Nome:.....

Idade:.....

RG:

Endereço:.....

.....

Clínico responsável pela coleta

Nome:.....

Pesquisador responsável

Nome:.....

ANEXO C

FICHA CLÍNICA

FICHA CLÍNICA			
LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA ORAL E ANAERÓBIOS/ICB/UFMG PROJETO INFECÇÕES INTRA-ABDOMINAIS Profa.: Simone G. Santos 3409-2743/9108-5560			
Hospital ou Instituição: _____			
Nome do Paciente: _____		Sexo: _____ Idade: _____	
Endereço: _____			
Médico Responsável: _____		Fones: _____	
Doenças Progressas: <input type="checkbox"/> nenhuma <input type="checkbox"/> neoplasias <input type="checkbox"/> HIV/AIDS <input type="checkbox"/> outras			
DIAGNÓSTICO ATUAL: _____			
MEDICAMENTOS EM USO:			
Antimicrobiano: _____		Outro: _____	
Dose: _____		Dose: _____	
Iniciado em: _____		Iniciado em: _____	
Uso de aminas vasoativas <input type="checkbox"/> pré Operatório <input type="checkbox"/> Pós Operatório Cateter venoso central <input type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não Cateter vesical <input type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não Ventilação Mecânica obs.: _____ <input type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não			
INFECÇÃO/ETIOLOGIA <input type="checkbox"/> Comunitária <input type="checkbox"/> Intra Hospitalar (72 h pós internação)			
SÍTIOS DA INFECÇÃO			
<input type="checkbox"/> Apêndice		<input type="checkbox"/> necrosado <input type="checkbox"/> perfurado <input type="checkbox"/> peritonite local <input type="checkbox"/> peritonite generalizada	
<input type="checkbox"/> Abscesso		<input type="checkbox"/> subfrênico <input type="checkbox"/> pélvico <input type="checkbox"/> hepático <input type="checkbox"/> pancreático <input type="checkbox"/> único <input type="checkbox"/> múltiplos <input type="checkbox"/> pós-operatório <input type="checkbox"/> Outros	
<input type="checkbox"/> Trauma		<input type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não	
<input type="checkbox"/> Trato Biliar		<input type="checkbox"/> colecistite <input type="checkbox"/> perfurada <input type="checkbox"/> peritonite local <input type="checkbox"/> peritonite difusa <input type="checkbox"/> colangite <input type="checkbox"/> outros	
<input type="checkbox"/> Peritônio		<input type="checkbox"/> primária <input type="checkbox"/> pós-operatório de _____ <input type="checkbox"/> líquido peritoneal	
<input type="checkbox"/> Outros _____			
COLETA			
DATA: _____ / _____ / _____		HORA: _____ : _____	
VIA: <input type="checkbox"/> ultra-sonográfica		<input type="checkbox"/> cirúrgica	
<input type="checkbox"/> punção		<input type="checkbox"/> aspiração <input type="checkbox"/> outra _____	
CHEGADA AO LABORATÓRIO			
DATA: _____ / _____ / _____		HORA: _____ : _____	
OBSERVAÇÃO: _____			

ANEXO D

QUADRO 1

CONTEÚDO DOS POÇOS DO CARTÃO ANC. ID. DO VITEK II

Poço	Teste	Mnemónica	Quantidade/Poço
4	D-GALACTOSE	dGAL	0,3 mg
5	Leucina ARILAMIDASE	LeuA	0,023 mg
6	ELLMAN	ELLM	0,03 mg
7	Fenilalanina ARILAMIDASE	PheA	0,026 mg
8	L-Prolina ARILAMIDASE	ProA	0,023 mg
10	L-Pirrolidonil ARILAMIDASE	PyrA	0,018 mg
11	D-CELOBIOSE	dCEL	0,3 mg
13	Tirosina ARILAMIDASE	TyrA	0,0279 mg
15	Ala-Fe-Pro-ARILAMIDASE	APPA	0,038 mg
18	D-GLUCOSE	dGLU	0,3 mg
20	D-MANOSE	dMNE	0,3 mg
22	D-MALTOSE	dMAL	0,3 mg
28	SACAROSE/SUCROSE	SAC	0,3 mg
30	ARBUTINA	ARB	0,1875 mg
33	N-ACETIL-D-GLUCOSAMINA	NAG	0,3 mg
34	5-Bromo-4-cloro-3-indoxil-beta-glucosídeo	BGLUi	0,006 mg
36	UREASE	URE	0,15 mg
37	5-Bromo-4-cloro-3-indoxil-beta-glucuronida	BGURi	0,006 mg
39	BETA GALACTOPIRANOSIDASE Indoxil	BGALi	0,006 mg
41	ALFA-ARABINOSIDASE	AARA	0,0324 mg
42	5-Bromo-4-cloro-3-indoxil-alfa-galactosídeo	AGALi	0,006 mg
43	BETA-MANOSIDASE	BMAN	0,036 mg
44	ARGININA GP	ARG	0,15 mg
45	PIRUVATO	PVATE	0,15 mg
51	MALTOTRIOSE	MTE	0,3 mg
53	Hidrólise da ESCULINA	ESC	0,0225 mg
54	BETA-D-FUCOSIDASE	BdFUC	0,0342 mg
55	5-Bromo-4-cloro-3-indoxil-beta-N- acetil-glucosamida	BNAGi	0,006 mg
56	5-Bromo-4-cloro-3-indoxil-alfa-manoside	AMANi	0,006 mg
57	ALFA-L-FUCOSIDASE	AIFUC	0,0342 mg
59	FOSFATASE	PHOS	0,05 mg
60	L-ARABINOSE	IARA	0,3 mg
61	d-Ribose 2	dRIB2	0,3 mg
62	Fenilfosfonato	OPS	0,024 mg
63	ALFA-L-ARABINOFURANOSIDA	AARAF	0,015 mg
64	D-XILOSE	dXYL	0,3 mg

QUADRO 2

CONTEÚDO DOS POÇOS DO CARTÃO GP. ID. DO VITEK II

Poço	Teste	Mnemónica	Quantidade/Poço
2	D-AMIGDALINA	AMY	0,1875 mg
4	FOSFATIDILINOSITOL FOSFOLIPASE C	PIPLC	0,015 mg
5	D-XILOSE	dXYL	0,3 mg
8	ARGININA DIHIDROLASE 1	ADH1	0,111 mg
9	BETA-GALACTOSIDASE	BGAL	0,036 mg
11	ALFA-GLUCOSIDASE	AGLU	0,036 mg
13	Ala-Fe-Pro ARILAMIDASE	APPA	0,0384 mg
14	CICLODEXTRINA	CDEX	0,3 mg
15	L-Aspartato ARILAMIDASE	AspA	0,024 mg
16	BETA GALACTOPIRANOSIDASE	BGAR	0,00204 mg
17	ALFA-MANOSIDASE	AMAN	0,036 mg
19	FOSFATASE	PHOS	0,0504 mg
20	Leucina ARILAMIDASE	LeuA	0,0234 mg
23	L-Prolina ARILAMIDASE	ProA	0,0234 mg
24	BETA-GLUCURONIDASE	BGURr	0,0018 mg
25	ALFA-GALACTOSIDASE	AGAL	0,036 mg
26	L-Pirrolidonil ARILAMIDASE	PyrA	0,018 mg
27	BETA-GLUCURONIDASE	BGUR	0,0378 mg
28	Alanina ARILAMIDASE	AlaA	0,0216 mg
29	Tirosina ARILAMIDASE	TyrA	0,0276 mg
30	D-SORBITOL	dSOR	0,1875 mg
31	UREASE	URE	0,15 mg
32	RESISTÊNCIA À POLIMIXINA B	POLYB	0,00093 mg
37	D-GALACTOSE	dGAL	0,3 mg
38	D-RIBOSE	dRIB	0,3 mg
39	Alcalinização L-LACTATO	ILATk	0,15 mg
42	LACTOSE	LAC	0,96 mg
44	N-ACETIL-D-GLUCOSAMINA	NAG	0,3 mg
45	D-MALTOSE	dMAL	0,3 mg
46	RESISTÊNCIA À BACITRACINA	BACI	0,0006 mg

Poço	Teste	Mnemónica	Quantidade/Poço
47	RESISTÊNCIA À NOVOBIOCINA	NOVO	0,000075 mg
50	CRESCIMENTO EM NaCl a 6,5%	NC6.5	1,68 mg
52	D-MANITOL	dMAN	0,1875 mg
53	D-MANOSE	dMNE	0,3 mg
54	METIL-B-D-GLUCOPIRANOSÍDEO	MBdG	0,3 mg
56	PULULANO	PUL	0,3 mg
57	D-RAFINOSE	dRAF	0,3 mg
58	RESISTÊNCIA O/129 (comp.vibrio.)	O129R	0,0084 mg
59	SALICINA	SAL	0,3 mg
60	SACAROSE/SUCROSE	SAC	0,3 mg
62	D-TREALOSE	dTRE	0,3 mg
63	ARGININA DIHIDROLASE 2	ADH2s	0,27 mg
64	RESISTÊNCIA À OPTOQUINA	OPTO	0,000399 mg

QUADRO 3**CONTEÚDO DOS POÇOS DO CARTÃO GN. ID. DO**

Poço	Teste	Mnemónica	Quantidade/ Poço
2	Ala-Fe-Pro-ARILAMIDASE	APPA	0,0384 mg
3	ADONITOL	ADO	0,1875 mg
4	L-Pirrolidonil - ARILAMIDASE	PyrA	0,018 mg
5	L-ARABITOL	IARL	0,3 mg
7	D-CELOBIOSE	dCEL	0,3 mg
9	BETA-GALACTOSIDASE	BGAL	0,036 mg
10	PRODUÇÃO DE H2S	H2S	0,0024 mg
11	BETA-N-ACETIL-GLUCOSAMINIDASE	BNAG	0,0408 mg
12	Glutamil Arilamidase pNA	AGLTp	0,0324 mg
13	D-GLUCOSE	dGLU	0,3 mg
14	GAMA-GLUTAMIL-TRANSFERASE	GGT	0,0228 mg
15	FERMENTAÇÃO/GLUCOSE	OFF	0,45 mg
17	BETA-GLUCOSIDASE	BGLU	0,036 mg
18	D-MALTOSE	dMAL	0,3 mg
19	D-MANITOL	dMAN	0,1875 mg
20	D-MANOSE	dMNE	0,3 mg
21	BETA-XILOSIDASE	BXYL	0,0324 mg
22	BETA-Alanina arilamidase pNA	BAlap	0,0174 mg
23	L-Prolina ARILAMIDASE	ProA	0,0234 mg
26	LIPASE	LIP	0,0192 mg
27	PALATINOSE	PLE	0,3 mg

Poço	Teste	Mnemónica	Quantidade/ Poço
29	Tirosina ARILAMIDASE	TyrA	0,0276 mg
31	UREASE	URE	0,15 mg
32	D-SORBITOL	dSOR	0,1875 mg
33	SACAROSE/SUCROSE	SAC	0,3 mg
34	D-TAGATOSE	dTAG	0,3 mg
35	D-TREALOSE	dTRE	0,3 mg
36	CITRATO (SÓDIO)	CIT	0,054 mg
37	MALONATO	MNT	0,15 mg
39	5-CETO-D-GLUCONATO	5KG	0,3 mg
40	Alcalinização L-LACTATO	ILATk	0,15 mg
41	ALFA-GLUCOSIDASE	AGLU	0,036 mg
42	Alcalinização SUCINATO	SUCT	0,15 mg
43	Beta-N-ACETIL-GALACTOSAMINIDASE	NAGA	0,0306 mg
44	ALFA-GALACTOSIDASE	AGAL	0,036 mg
45	FOSFATASE	PHOS	0,0504 mg
46	Glicina ARILAMIDASE	GlyA	0,012 mg
47	ORNITINA DESCARBOXILASE	ODC	0,3 mg
48	LISINA DESCARBOXILASE	LDC	0,15 mg
52	BASE DESCARBOXILASE	ODEC	NA
53	Assimilação L-HISTIDINA	IHISa	0,087 mg
56	CUMARATO	CMT	0,126 mg
57	BETA-GLUCURONIDASE	BGUR	0,0378 mg
58	RESISTÊNCIA O/129 (comp.vibrio.)	O129R	0,0105 mg
59	Glu-Gli-Arg-ARILAMIDASE	GGAA	0,0576 mg
61	Assimilação L-MALATO	IMLTa	0,042 mg
62	ELLMAN	ELLM	0,03 mg
64	Assimilação L-LACTATO	ILATa	0,186 mg

QUADRO 4

CONTEÚDO DOS POÇOS DO CARTÃO YST. ID. DO VITEK II

Poço	Teste	Mnemónica	Quantidade/Poço
3	L-Lisina ARILAMIDASE	LysA	0,0228 mg
4	Assimilação L-MALATO	IMLTa	0,15 mg
5	Leucina -ARILAMIDASE	LeuA	0,0234 mg
7	ARGININA	ARG	0,15 mg
10	Assimilação ERITRITOL	ERYa	0,3 mg
12	Assimilação GLICEROL	GLYLa	0,16 µL
13	Tirosina ARILAMIDASE	TyrA	0,0276 mg
14	BETA-N-ACETIL-GLUCOSAMINIDASE	BNAG	0,0408 mg
15	Assimilação ARBUTINA	ARBa	0,3 mg
18	Assimilação AMIGDALINA	AMYa	0,3 mg
19	Assimilação D-GALACTOSE	dGALa	0,3 mg
20	Assimilação GENTIOBIOSE	GENa	0,3 mg
21	Assimilação D-GLUCOSE	dGLUa	0,3 mg
23	Assimilação LACTOSE	LACa	0,96 mg
24	Assimilação METIL-A-D-GLUCOPIRANOSÍDEO	MAdGa	0,3 mg
26	Assimilação D-CELOBIOSE	dCELa	0,3 mg
27	GAMA-GLUTAMIL-TRANSFERASE	GGT	0,0228 mg
28	Assimilação D-MALTOSE	dMALa	0,3 mg
29	Assimilação D-RAFINOSE	dRAFa	0,3 mg
30	PNP-N-acetil-BD-galactosaminidase 1	NAGA1	0,0306 mg
32	Assimilação D-MANOSE	dMNEa	0,3 mg
33	Assimilação D-MELIBIOSE	dMELa	0,3 mg
34	Assimilação D-MELEZITOSE	dMLZa	0,3 mg
38	Assimilação L-SORBOSE	ISBEa	0,3 mg
39	Assimilação L-RAMNOSE	IRHAa	0,3 mg
40	Assimilação XILITOL	XLTa	0,3 mg
42	Assimilação D-SORBITOL	dSORa	0,1875 mg
44	Assimilação SACAROSE/SUCROSE	SACa	0,3 mg
45	UREASE	URE	0,15 mg
46	ALFA-GLUCOSIDASE	AGLU	0,036 mg

Poço	Teste	Mnemónica	Quantidade/Poço
47	Assimilação D-TURANOSE	dTURa	0,3 mg
48	Assimilação D-TREALOSE	dTREa	0,3 mg
49	Assimilação NITRATO	NO3a	0,03 mg
51	Assimilação L-ARABINOSE	IARaA	0,3 mg
52	Assimilação D-GALACTURONATO	dGATa	0,15 mg
53	Hidrólise da ESCULINA	ESC	0,225 mg
54	Assimilação L-GLUTAMATO	IGLTa	0,15 mg
55	Assimilação D-XILOSE	dXYLa	0,3 mg
56	Assimilação DL-LACTATO	LATa	0,15 mg
58	Assimilação ACETATO	ACEa	0,15 mg
59	Assimilação CITRATO (SÓDIO)	CITa	0,15 mg
60	ASSIMILAÇÃO GLUCURONATO	GRTas	0,15 mg
61	Assimilação L-PROLINA	IPROa	0,15 mg
62	Assimilação 2-QUETO-D-GLUCONATO	2KGa	0,15 mg
63	Assimilação N-ACETIL-GLUCOSAMINA	NAGa	0,15 mg
64	Assimilação D-GLUCONATO	dGNTa	0,15 mg

QUADRO 5**CONTEÚDO DOS POÇOS DOS CARTÕES AST-P612.**

ANTIMICROBIANO	SIGLA	ANTIMICROBIANO	SIGLA
Teste de <i>Screening</i> de Cefoxitina	<i>Screening</i> de CFO	Linezolida	LIN
Benzilpenicilina	BEM	Daptomicina	DAP
Ampicilina	AMP	Teicoplanina	TEI
Oxacilina	OXA	Vancomicina	VAN
Gentamicina Alto Nível (Sinergia)	GEN (Sinergia)	Tetraciclina	TET
Gentamicina	GEN	Nitrofurantoina	NIT
Ciprofloxacina	CIP	Ácido Fusídico	AFU
Resistência Induzida a Clindamicina	R induzida a CLI	Mupirocina	MUP
Eritromicina	ERI	Rifampicina	RIF
Clindamicina	CLI	Trimetoprim/Sulfametoxazol	TRI/SUL

QUADRO 6**CONTEÚDO DOS POÇOS DOS CARTÕES AST-N105**

ANTIMICROBIANO	SIGLA	ANTIMICROBIANO	SIGLA
Aztreonam	AZT	Beta-lactamase de Amplo Espectro	ESBL
Ertapenem	ERT	Ampicilina	AMP
Imipenem	IMI	Ampicilina+Sulbactam	ASB
Meropenem	MER	Piperacilina+Tazobactam	PPT
Amicacina	AMI	Cefalotina	CFL
Gentamicina	GEN	Cefoxitina	CFO
Ciprofloxacina	CIP	Cefotaxima	CTX
Tigeciclina	TIG	Ceftazidima	CAZ
Colistina	COL	Cefepima	COM