



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
PROGRAMA DE RESIDÊNCIA MÉDICA EM CIRURGIA VASCULAR

NAIAH ENÉAS DA SILVA ALMEIDA

**A MICROBIOLOGIA DAS LESÕES PROFUNDAS DOS MEMBROS
INFERIORES MUDOU AO LONGO DOS ANOS?**

SALVADOR/BA

2024

NAIAH ENÉAS DA SILVA ALMEIDA

**A MICROBIOLOGIA DAS LESÕES PROFUNDAS DOS MEMBROS
INFERIORES MUDOU AO LONGO DOS ANOS?**

Projeto de Monografia de Conclusão de Curso que será apresentada à Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial obrigatório para conclusão da Residência Médica em Cirurgia Vascular do Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgard Santos da Universidade Federal da Bahia.

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Vanessa Prado dos Santos

SALVADOR/BAHIA

2024

“...a vida é assim: esquenta e esfria,
aperta e daí afrouxa,
sossega e depois desinquieta.
O que ela quer da gente é coragem.”

ROSA, Guimarães. Grande Sertão: Veredas. Rio de Janeiro: Nova Aguilar, 1994.

RESUMO

Contexto: As feridas de membros inferiores têm diferentes etiologias, contudo, para todas as feridas, a infecção associada eleva sua morbidade e dificulta o seu tratamento.

Objetivo: O objetivo desta pesquisa foi estudar a evolução do perfil microbiológico das feridas profundas de membros inferiores, analisando se houve mudança na microbiologia destas infecções nos últimos cinco anos.

Métodos: Foi realizado um estudo observacional que analisou comparativamente o perfil microbiológico das lesões profundas de membros inferiores em um hospital terciário. Foram incluídos os casos que realizaram cultura de fragmento de tecido, coletada durante procedimento cirúrgico. Estudou-se o número de microorganismos cultivados, a classificação quanto à Coloração de Gram, o gênero e as espécies isoladas ao longo de cinco anos (2019-2023). A análise estatística foi realizada através do programa EPI INFO™, versão 7.2.2.6.

Resultados: Foram identificadas e incluídas no estudo 356 culturas de tecido a partir das lesões profundas de membros inferiores. Ao longo dos anos de estudo houve predomínio de microorganismos Gram negativos, sem diferença significativa entre os cinco anos. Para a maioria dos gêneros (*Enterococcus spp*, *Staphylococcus spp*, *Klebsiella spp*, *Escherichia spp* e *Proteus spp*) não houve diferença significativa na sua frequência, com redução das infecções pela família *Enterobacteriaceae*. Observou-se um aumento significativo nas infecções pelo gênero *Pseudomonas spp*, destacando-se a *Pseudomonas aeruginosa* ao longo dos cinco anos.

Conclusões: Os microorganismos Gram negativos predominaram nas infecções das lesões profundas de membros inferiores nos últimos cinco anos. Houve um aumento significativo nas infecções por *Pseudomonas spp* nas lesões profundas dos membros inferiores.

Palavras-chave: Microbiologia, culturas, Infecção de ferida, Pé diabético, Infecções por *Pseudomonas*.

ABSTRACT

Background: Lower limb wounds have different etiologies. However, associated infection increases morbidity and complicates the treatment for all wounds.

Objective: The aim of this research was to study the evolution of the microbiological profile of deep wounds of the lower limbs, analyzing whether there has been a change in the microbiology of these infections in the last five years.

Methods: An observational study was carried out that comparatively analyzed the microbiological profile of deep wounds of the lower limbs in a tertiary care hospital. Cases that tissue fragment was collected during a surgical procedure were included. The number of cultivated microorganisms, the classification according to Gram stain, the genus and the isolated species were studied over five years (2019- 2023). Statistical analysis was carried out using the EPI INFO™, version 7.2.2.6.

Results: 356 tissue cultures were identified and included in the study from deep lower limbs wounds. Throughout the years of study, there was a predominance of Gram-negative microorganisms, with no significant difference between the five years. For most genera (*Enterococcus spp*, *Staphylococcus spp*, *Klebsiella spp*, *Escherichia spp* and *Proteus spp*) there was no significant difference in their frequency over the years, with a reduction in infections by the *Enterobacteriaceae* family. A significant increase in *Pseudomonas spp* infections was observed, particularly *Pseudomonas aeruginosa* species over the five years.

Conclusions: Gram-negative microorganisms predominated in infections of deep lower limbs wounds in the last five years. There was a significant increase in *Pseudomonas aeruginosa* infections in lower limbs wounds.

Keywords: Microbiology, Cultures, Wound infection, Diabetic foot, *Pseudomonas* infections.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	8
2. MATERIAL E MÉTODOS	9
3. RESULTADOS	11
4. DISCUSSÃO	12
5. CONCLUSÃO	14
REFERÊNCIAS	15
ANEXOS	18
Tabela 1	18
Tabela 2	19
Figura 1	20
Figura 2	20
Figura 3	21

1. INTRODUÇÃO

As feridas ou lesões que afetam a integridade da pele podem representar um problema de saúde no mundo todo, com prevalência estimada de 2,21 casos a cada 1000 pessoas¹, apresentando diferentes etiologias e tendo nos membros inferiores sua localização mais frequente. De maneira geral, as feridas ou úlceras crônicas dos membros inferiores (MMII) são classificadas em úlceras por pressão, úlceras relacionadas ao Diabetes Mellitus (DM), úlceras venosas e lesões relacionadas à Doença Arterial Periférica (DAP), também chamada de insuficiência arterial².

As alterações fisiopatológicas causadas pelo DM levam às lesões dos MMII por diversos mecanismos: neuropatia, angiopatia e deficiência imunológica.³ As alterações anatômicas estruturais associadas à disfunção autonômica predis põem à perda da sensibilidade protetora, aumentando a vulnerabilidade ao trauma e favorecendo o surgimento de lesões.³ Além disso, a angiopatia, associada à deficiência imunológica pela hiperglicemia, aumentam o risco de infecção, devido à diminuição da fagocitose, aumento das metaloproteinases, diminuição dos fatores de crescimento, o que também compromete a cicatrização das lesões já existentes.³ Essas alterações levam a um ciclo vicioso, no qual o DM favorece a infecção e a hiperglicemia agrava a infecção, perpetuando e agravando a lesão.³

As lesões dos MMII possuem diversas classificações, muitas delas propostas para feridas relacionadas ao diabetes, que consideram o tamanho e a profundidade da lesão, e ainda a gravidade da infecção.^{4,5} As lesões profundas são aquelas que acometem as estruturas que se encontram abaixo da fáscia muscular, como os músculos e ossos.⁴ O diagnóstico da infecção pode ser feito pelo exame clínico, observando ao menos dois sinais ou sintomas de inflamação: hiperemia, aumento da temperatura, endurecimento, dor ou aumento da sensibilidade, presença de secreção purulenta.

As infecções podem ser classificadas, de acordo com o IWGDF/IDSA em leve (quando a lesão é superficial com mínima celulite ao redor), moderada (úlceras mais profundas ou celulite mais extensa, com ou sem abscesso) ou grave (apresenta sinais sistêmicos de sepse, acompanhada ou não de osteomielite).⁴ Dentre as diferentes complicações que podem acometer as feridas de membros inferiores, a infecção e a isquemia dificultam o tratamento e aumentam os custos e o risco de amputações.^{2,6,7}

Dentre as causas de úlceras e feridas dos membros inferiores o Diabetes Mellitus ocupa um lugar de destaque, e vem apresentando uma prevalência crescente em diversos países do mundo.⁸ Além da neuropatia periférica, o diabetes é um fator de risco para a aterosclerose e para a Doença Vascular Periférica, levando a feridas neuroisquêmicas dos membros inferiores.⁹

As feridas infectadas relacionadas ao DM têm sua microbiologia estudada nos diferentes países do mundo, com diferenças regionais importantes. Uma revisão sistemática com metanálise apontou que países de maior renda apresentam predomínio de infecções por Gram positivos, enquanto naqueles de menor renda há o predomínio de espécies Gram negativas.¹⁰ No Brasil, alguns estudos apontam para o predomínio de Gram positivos, enquanto outros sugerem maior frequência de Gram negativos entre as infecções do pé diabético.^{11,12}

Conhecer os aspectos da microbiologia destas úlceras e lesões, associadas ou não ao DM, auxilia no direcionamento da antibioticoterapia empírica para seu tratamento, contribuindo para combater a crescente resistência antimicrobiana que vêm preocupando profissionais da saúde em todo o mundo.¹³ O uso indiscriminado de antimicrobianos é apontado como um dos fatores que levam à seleção de bactérias que possuem mecanismos intrínsecos de resistência às diferentes classes de antibióticos, como por exemplo a *Pseudomonas aeruginosa*.¹⁴ Outro ponto importante é que o perfil microbiológico das unidades de saúde, bem como das distintas regiões geográficas, podem mudar ao longo do tempo, considerando as transformações ambientais e o uso de antimicrobianos nos diferentes locais.¹⁵

O objetivo deste estudo foi analisar a evolução do perfil microbiológico das feridas profundas de membros inferiores e encontrar se houve mudança na microbiologia destas infecções nos últimos cinco anos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Study design

Foi realizado um estudo observacional e transversal, através de dados coletados de acordo com um protocolo do Serviço de Cirurgia Vascular do Hospital Universitário professor Edgard Santos da Universidade Federal da Bahia (HUPES). O formulário para coleta de dados foi preenchido a partir de prontuários, fichas de acompanhamento clínico e registros disponíveis no Laboratório de Microbiologia do HUPES, onde são realizados os exames de cultura bacteriana. Foram selecionados e incluídos consecutivamente no estudo os pacientes que realizaram coleta de tecido profundo internados para o tratamento de lesões infectadas de MMII no período compreendido entre os anos de 2019 e 2023 (cinco anos).

Todos os doentes realizaram culturas de amostra de tecido profundo da lesão do membro inferior, sendo estudadas 356 culturas ao todo. Considerando o desenho do estudo, cada cultura de tecido foi registrada como um caso incluído na amostra.

O estudo foi conduzido conforme as diretrizes e normas reguladoras de pesquisas envolvendo seres humanos, da Resolução 466/12. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética

em Pesquisa do Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgard Santos da Universidade Federal da Bahia, através do Parecer de número 5.868.144.

Métodos

O material para a realização das 356 culturas de fragmentos de tecido profundo foi coletado durante procedimento cirúrgico e encaminhado ao setor de bacteriologia do laboratório central de análises clínicas do mesmo hospital. Todas as amostras foram processadas em um período inferior a duas horas após a coleta. Após o recebimento pelo laboratório, as amostras foram semeadas em ágar sangue, ágar Mac Conkey e caldo de BHI (Brain Heart Infusionbroth) e incubadas em estufa, por 18 a 24 horas, incubação a $35\text{oC} \pm 1^{\circ}\text{C}$). Após isolamento primário, as amostras positivas foram submetidas à identificação dos microorganismos infectantes, sendo utilizado o sistema automatizado Vitek 2 ((bioMerieux - MarcyL'Etoile, France), seguindo as recomendações de processamento do fabricante para inoculação e incubação dos cartões.

Foram estudadas as características demográficas da amostra e os microrganismos isolados nas culturas, Gram positivos e Gram negativos, bem como as espécies cultivadas ao longo dos últimos cinco anos (2019-2023). Todos os pacientes da amostra tinham lesões profundas, que necessitaram de procedimento cirúrgico a partir do qual foi realizada a coleta de cultura de tecido.

Nas culturas foram estudados o número e os tipos de microrganismos isolados nas amostras de tecido, tanto Gram positivos, como Gram negativos e sua evolução durante um período de cinco anos. Os resultados das culturas foram analisados comparativamente ano a ano, considerando cinco intervalos anuais (2019, 2020, 2021, 2022 e 2023). Foram estudados comparativamente entre os períodos temporais o número de microrganismos, o tipo de acordo com a coloração de Gram e a evolução entre os gêneros bacterianos e das espécies mais frequentemente isoladas. Para a análise dos resultados foi considerada a presença ou ausência de um gênero ou de um grupo de microrganismos na amostra cultivada.

Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando o EPI INFO™, versão 7.2.2.6. A visualização de dados foi realizada utilizando-se o software Tableau®. As variáveis qualitativas e quantitativas foram analisadas de maneira descritiva quanto à sua frequência, porcentagens, médias e desvio padrão. Para a análise comparativa das variáveis qualitativas foi utilizado o teste do Qui-quadrado (χ^2). As variáveis contínuas tiveram suas médias comparadas pela Análise de Variância (ANOVA). Adotamos o nível de significância de 5% ($p < 0,05$) para

rejeição da hipótese nula, ou seja, de que não existe diferença estatística entre os grupos em relação às variáveis estudadas.

3. RESULTADOS

População de estudo

A amostra do estudo contou com 356 culturas de tecido profundo, a partir dos casos de feridas profundas dos membros inferiores, que tiveram amostras coletadas em procedimento cirúrgico. A média de idade dos casos incluídos foi de 62 ± 14 anos, sendo 212 (60%) do gênero masculino, 212 (60%) dos casos tinham diabetes mellitus e 235 (66%) da amostra era portadora de DAP. As características dos casos da amostra estão detalhadas na tabela 1.

Perfil microbiológico das infecções

Foram cultivados em média $1,7 (\pm 1,1)$ microrganismos por cultura. Trinta e três culturas foram negativas (9%). Os microrganismos Gram positivos estavam presentes em 179 (50%) das amostras de tecido cultivadas e os Gram negativos em 248 (70%) das infecções. Foram isolados, no total, 620 microrganismos, sendo 212 (34%) Gram positivos e 408 (66%) Gram negativos. Cento e trinta e cinco culturas (38%) foram monomicrobianas (tabela 1).

Considerando as 356 amostras cultivadas, isolados da Família *Enterobacteriaceae* estiveram presentes em 184 (52%) amostras e os Gram negativos não fermentadores em 121 (34%) culturas (tabela 2). Quanto aos microrganismos do grupo CESP (*Citrobacter spp*, *Enterobacter spp*, *Serratia spp* e *Proteus spp*), eles estiveram presentes em 92 (26%) culturas. Em relação ao grupo ESKAPE, 197 (55%) culturas continham pelo menos um isolado que integrava este grupo de patógenos. O gênero Gram positivo mais cultivado foi o *Enterococcus spp*, destacando-se o *E. faecalis* e o Gram negativo foi *Pseudomonas spp* (tabela 2), a ampla maioria (98%) da espécie *Pseudomonas aeruginosa*.

Evolução temporal do perfil microbiológico

Considerando os períodos anuais (2019, 2020, 2021, 2022 e 2023), observou-se que os microrganismos Gram negativos predominaram em todos os cinco anos (72%; 74%; 70%; 67% e 64%). A evolução temporal do número de amostras que mostra a presença de isolados Gram negativos revelou que em 2019 havia 55 culturas (72% do total); em 2020 foram 57 culturas (74%), em 2021 eram 45 (70%), em 2022 foram 47 (67%) e em 2023 isolados em 44 culturas (64%). Para a presença de microrganismos Gram positivos no fragmento cultivado, observou-se que em 2019 foram 40 culturas positivas (53%); em 2020 foram 40 culturas (52%), em 2021

eram 27 (42%), em 2022 foram 39 (56%) e em 33 culturas (48%) houve crescimento de algum microrganismo Gram positivo em 2023. Não houve diferença significativa na presença de isolados Gram positivos ou Gram negativos ao longo dos cinco anos do estudo (Figura 1).

Evolução temporal dos microrganismos mais cultivados

Analisando comparativamente os microrganismos isolados nas amostras cultivadas, para a maioria dos gêneros bacterianos (*Enterococcus spp*, *Staphylococcus spp*, *Morganella spp*, *Klebsiella spp*, *Escherichia spp* e *Proteus spp*) não houve diferença significativa na sua frequência ao longo dos cinco anos do estudo. Observou-se que houve um aumento significativo do gênero *Pseudomonas spp* ($p=0,03$) ao longo dos cinco anos (Figura 2).

No total, foram 102 culturas com crescimento de *Pseudomonas spp*, sendo 103 espécies isoladas (101 *Pseudomonas aeruginosa* e duas *Pseudomonas putida*). Também foi encontrada uma redução estatisticamente significativa, ao longo dos últimos cinco anos, no número de culturas com bactérias da família *Enterobacteriaceae* ($p=0,04$) (Figura 3) e do gênero *Enterobacter spp* ($p=0,01$), associados a uma tendência ao aumento dos Gram negativos não fermentadores, representadas pela *Pseudomonas spp* (0,09).

4. DISCUSSÃO

O estudo apresentado mostrou que os microrganismos Gram negativos têm sido os principais responsáveis pelas infecções nas feridas profundas de membros inferiores ao longo dos últimos cinco anos. Observou-se um aumento significativo na prevalência de infecções por *Pseudomonas aeruginosa*, um microrganismo que possui mecanismos intrínsecos de resistência aos antimicrobianos. Houve ainda uma redução do número amostras de tecido em que foram isoladas bactérias da família *Enterobacteriaceae* ao longo do período estudado provavelmente relacionada ao aumento nos isolados de *Pseudomonas spp*, um Gram negativo do tipo não fermentador.

Na literatura internacional os microorganismos Gram positivos, notadamente o *Staphylococcus aureus*, vêm sendo considerados os principais responsáveis pelas infecções das feridas de membros inferiores associadas ao diabetes e nas osteomileites.^{10,16} No entanto, a predominância dos microrganismos Gram negativos nestas infecções também vêm sendo demonstrada em muitos países.^{12,17,18} Na Índia e na China, pesquisadores apontaram predomínio dos isolados Gram negativos (58,5% e 57,5% respectivamente) entre os responsáveis pelas infecções do pé diabético.^{17,18} No Brasil, a *Pseudomonas aeruginosa* foi o microrganismo Gram negativo mais encontrado nas lesões profundas com infecções moderadas

e severas dos membros inferiores.¹² Numerosos fatores podem ser responsáveis pelas diferenças regionais na microbiologia do pé diabético, como condições socioeconômicas, clima, gravidade da infecção, hospitalização e uso prévio de antibióticos.¹⁹

Ao longo do tempo, os microrganismos associados às infecções nas distintas regiões geográficas podem sofrer mudanças. Nos Estados Unidos, estimativas do *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) mostraram um aumento dos casos de infecção por enterobactérias produtoras de betalactamases (*ESBL-producing Enterobacteriaceae*) entre 2012 e 2017 e uma redução das infecções por MRSA (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*).¹⁵ No nosso estudo, encontramos uma prevalência relativamente baixa de infecções por *Staphylococcus aureus* e um aumento na frequência das infecções por *Pseudomonas aeruginosa* ao longo de cinco anos, um Gram negativo não fermentador. De maneira semelhante ao nosso estudo, uma pesquisa que analisou a evolução da microbiologia das infecções do pé diabético em um hospital terciário em Portugal, comparando dois momentos distintos (2010/11 e 2016/17), revelou um aumento do número de isolados de *Pseudomonas aeruginosa*, encontrando ainda um aumento das infecções por espécies Gram negativas da família *Enterobacteriaceae*, diferente do nosso resultado.²⁰ O aumento do número de *Pseudomonas spp.*, no nosso estudo, um Gram negativo não fermentador, provavelmente impactou na redução das infecções onde houve cultivo de Enterobactérias (*Enterobacteriaceae*), sendo observado também uma tendência ao aumento das culturas com Gram negativos não fermentadores.

Nas feridas crônicas as infecções por *Pseudomonas aeruginosa* são freqüentes, devido a sua habilidade de se manter em condições anaeróbicas e resistir ao estresse oxidativo encontrado em lesões profundas.¹⁶ A *Pseudomonas aeruginosa*, assim como outras espécies Gram negativas, é responsável por infecções relacionadas ao ambiente hospitalar, que possuem elevada morbidade e mortalidade.^{14,21} Algumas destas bactérias fazem parte de um grupo específico, caracterizado pela alta capacidade de desenvolver resistência a diversas classes de antimicrobianos, denominados ESKAPE pathogens (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *P. aeruginosa* e *Enterobacter spp.*)^{21,22} O nosso estudo mostrou uma elevada prevalência de microrganismos do grupo ESKAPE, presentes em mais da metade das amostras cultivadas, destacando-se cerca de uma centena de infecções por *Pseudomonas aeruginosa*. Na China, a *Pseudomonas aeruginosa* ocupa a terceira posição entre os microrganismos Gram negativos mais frequentemente isolados clinicamente, atrás da *Escherichia coli* e da *Klebsiella pneumoniae*, apresentando uma tendência à estabilidade entre 2014 (12,7%) e 2022 (11,9%).²¹ O aumento significativo deste

patógeno nas infecções das lesões profundas de membros inferiores, encontrado no nosso estudo, é um dado preocupante devido à sua virulência, resistência intrínseca aos antimicrobianos e capacidade adaptativa, podendo adquirir novos mecanismos de resistência.²³ O aumento dos microorganismos não fermentadores, notadamente as *Pseudomonas spp*, associado à menor presença das Enterobactérias (*Enterobacteriaceae*) pode apontar para a necessidade de reorientação da antibioticoterapia empírica para as lesões profundas do pé diabético, notadamente nos casos associados à isquemia e infecção severa.

O estudo aqui apresentado possui as limitações referentes ao seu desenho observacional, retrospectivo e a partir de um único centro. Outra possível limitação é que o estudo foi realizado apenas com doentes hospitalizados em unidade terciária, com uma elevada prevalência de uso prévio de antimicrobianos, o que torna o perfil microbiológico distinto do ambiente comunitário. Apesar das suas limitações, o estudo analisou apenas culturas a partir de amostras de tecido profundo, o que torna a análise microbiológica mais precisa quanto aos microorganismos causadores da infecção, sem interferência da colonização das feridas.^{4,24,25} O estudo aponta ainda tendências temporais e características microbiológicas nessas infecções, representando um problema de saúde com elevada prevalência no mundo todo, com tratamento complexo e de elevada morbidade.

5. CONCLUSÃO

Observamos que, ao longo dos últimos cinco anos, as lesões profundas dos membros inferiores apresentaram mais comumente infecções por microorganismos Gram negativos. Houve um aumento significativo das infecções por bactérias do gênero *Pseudomonas spp*, notadamente da espécie *Pseudomonas aeruginosa*, com redução da presença de patógenos da família *Enterobacteriaceae*.

O estudo aponta para uma tendência à mudança da microbiologia das lesões profundas dos membros inferiores, o que sugere uma maior gravidade das infecções devido às características intrínsecas destes patógenos. Essa mudança nos mostra a necessidade de estarmos atentos à seleção da antibioticoterapia empírica nestas infecções para proporcionamos maior chance de cura.

REFERÊNCIAS

1. Martinengo L, Olsson M, Bajpai R, et al. Prevalence of chronic wounds in the general population: systematic review and meta-analysis of observational studies. *Ann Epidemiol* 2019;29:8–15. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1047279717310311> [Accessed April 29, 2024].
2. Järbrink K, Ni G, Sönnergren H, et al. Prevalence and incidence of chronic wounds and related complications: a protocol for a systematic review. *Syst Rev* 2016;5:152. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5017042/> [Accessed April 29, 2024].
3. Brito, Carlos José de *Cirurgia Vascular: Cirurgia Endovascular – Angiologia*/Carlos José de Brito, Rossi Murilo & Eduardo Loureiro – 4. Ed. – Rio de Janeiro – RJ: Thieme Revinter Publicações, 2020.
4. Senneville É, Albalawi Z, Asten SA van, et al. IWGDF/IDSA guidelines on the diagnosis and treatment of diabetes-related foot infections (IWGDF/IDSA 2023). *Diabetes Metab Res Rev* 2024;40:e3687.
5. Monteiro-Soares M, Russell D, Boyko EJ, et al. Guidelines on the classification of diabetic foot ulcers (IWGDF 2019). *Diabetes Metab Res Rev* 2020;36. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/dmrr.3273> [Accessed July 30, 2021].
6. Jaccard Y, Walther S, Anderson S, et al. Influence of Secondary Infection on Amputation in Chronic Critical Limb Ischemia. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2007;33:605–609. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1078588406006903> [Accessed April 7, 2021].
7. Mills JL, Conte MS, Armstrong DG, et al. The Society for Vascular Surgery Lower Extremity Threatened Limb Classification System: Risk stratification based on Wound, Ischemia, and foot Infection (WIfI). *J Vasc Surg* 2014;59:220-234.e2. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0741521413015152> [Accessed September 4, 2021].
8. Cousin E, Schmidt MI, Ong KL, et al. Burden of diabetes and hyperglycaemia in adults in the Americas, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2022;10:655–667. Available at:

- [https://www.thelancet.com/journals/landia/article/PIIS2213-8587\(22\)00186-3/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/landia/article/PIIS2213-8587(22)00186-3/fulltext) [Accessed May 9, 2023].
9. Lin J, Chen Y, Jiang N, et al. Burden of Peripheral Artery Disease and Its Attributable Risk Factors in 204 Countries and Territories From 1990 to 2019. *Front Cardiovasc Med* 2022;9:868370. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9039520/> [Accessed July 18, 2022].
 10. Macdonald KE, Boeckh S, Stacey HJ, et al. The microbiology of diabetic foot infections: a meta-analysis. *BMC Infect Dis* 2021;21:770. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8351150/> [Accessed July 10, 2023].
 11. Palomo AT, Pires APM, Matielo MF, et al. Microbiology of Diabetic Foot Infections in a Tertiary Care Hospital in São Paulo, Brazil. *Antibiotics* 2022;11:1125. Available at: <https://www.mdpi.com/2079-6382/11/8/1125> [Accessed February 7, 2023].
 12. Santos VP dos, Andrade Barberino MGM de, Alves CAS. Microbiological Species and Antibiotic Resistance in Diabetic and Nondiabetic Lower Extremity Wounds: A Comparative Cross-Sectional Study. *Int J Low Extrem Wounds* 2024;23:338–346. Available at: <https://doi.org/10.1177/15347346211053936> [Accessed April 29, 2024].
 13. World Health Organization. Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report: 2022. Available at: <https://www.who.int/publications-detail-redirect/9789240062702> [Accessed May 2, 2024].
 14. Elfadadny A, Ragab RF, AlHarbi M, et al. Antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa*: navigating clinical impacts, current resistance trends, and innovations in breaking therapies. *Front Microbiol* 2024;15:1374466. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11026690/> [Accessed April 25, 2024].
 15. Centers for Disease Control and Prevention (U.S.). *Antibiotic resistance threats in the United States, 2019*. Centers for Disease Control and Prevention (U.S.); 2019. Available at: <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/82532> [Accessed May 15, 2024].
 16. Durand BARN, Pouget C, Magnan C, et al. Bacterial Interactions in the Context of Chronic Wound Biofilm: A Review. *Microorganisms* 2022;10:1500. Available at: <https://www.mdpi.com/2076-2607/10/8/1500> [Accessed April 29, 2024].
 17. Saseedharan S, Sahu M, Chaddha R, et al. Epidemiology of diabetic foot infections in a reference tertiary hospital in India. *Braz J Microbiol* 2018;49:401–406. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1517838216300582> [Accessed November 13, 2020].

18. Li X, Qi X, Yuan G, et al. Microbiological profile and clinical characteristics of diabetic foot infection in northern China: a retrospective multicentre survey in the Beijing area. *J Med Microbiol* 2018;67:160–168. Available at: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/jmm.0.000658> [Accessed May 9, 2023].
19. Lipsky BA, Uçkay İ. Treating Diabetic Foot Osteomyelitis: A Practical State-of-the-Art Update. *Medicina (Mex)* 2021;57:339. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8066570/> [Accessed April 29, 2024].
20. Machado C, Teixeira S, Fonseca L, et al. Evolutionary trends in bacteria isolated from moderate and severe diabetic foot infections in a Portuguese tertiary center. *Diabetes Metab Syndr Clin Res Rev* 2020;14:205–209. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S187140212030031X> [Accessed April 22, 2024].
21. Luo Q, Lu P, Chen Y, et al. ESKAPE in China: epidemiology and characteristics of antibiotic resistance. *Emerg Microbes Infect* 2024;13:2317915. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10896150/> [Accessed April 25, 2024].
22. Venkateswaran P, Vasudevan S, David H, et al. Revisiting ESKAPE Pathogens: virulence, resistance, and combating strategies focusing on quorum sensing. *Front Cell Infect Microbiol* 2023;13:1159798.
23. Phan S, Feng CH, Huang R, et al. Relative Abundance and Detection of *Pseudomonas aeruginosa* from Chronic Wound Infections Globally. *Microorganisms* 2023;11:1210. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10222620/> [Accessed April 29, 2024].
24. Santos VP dos, Alves CAS, Queiroz AB, et al. Existe concordância entre as culturas de osso e tendão em pacientes com lesões profundas de extremidades? *J Vasc Bras* 2019;18:e20190063. Available at: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1677-54492019000100317&tlng=pt [Accessed March 2, 2023].
25. Kessler L, Piemont Y, Ortega F, et al. Comparison of microbiological results of needle puncture vs. superficial swab in infected diabetic foot ulcer with osteomyelitis. *Diabet Med J Br Diabet Assoc* 2006;23:99–102.

ANEXOS

Tabela 1. Características das culturas de lesões profundas dos membros inferiores incluídas na análise (N=356)

Tabela 1: Características das culturas de lesões profundas dos membros inferiores incluídas na análise (N=356)

Características das culturas (N=356 amostras coletadas)		N (%)
Sexo masculino		212 (60%)
Idade (média)		62 (\pm 14) anos
Diabetes mellitus		212 (60%)
Portadores de DAP*		235 (66%)
Microorganismos/cultura (média)		1,74 (\pm 1,1)
Culturas positivas		323 (91%)
Presença de isolados Gram positivos		179 (50%)
Presença de isolados Gram negativos		248 (70%)
Número de isolados Gram positivos		212 (34%)
Número de isolados Gram negativos		408 (66%)
Número de microorganismos isolados		620 (100%)
Número de culturas/ano	2019	76 (21%)
	2020	77 (22%)
	2021	64 (18%)
	2022	70 (20%)
	2023	69 (19%)
Quantidade de microorganismos por amostra cultivada	Nenhum	33 (9%)
	01 (um)	135 (38%)
	02 (dois)	108 (30%)
	03 (três)	55 (16%)
	04 (quatro)	21 (6%)
	05 (cinco)	4 (1%)

*Doença Arterial Periférica

Tabela 2. Culturas com presença dos gêneros e grupos de microrganismos presentes nas 356 amostras de tecido profundo (N = 356)

Microorganismos isolados	N (amostras com presença do isolado)
GRAM POSITIVOS	179*
<i>Enterococcus spp</i>	95
<i>Staphylococcus spp</i>	99
<i>Streptococcus spp</i>	09
GRAM NEGATIVOS	248*
<i>Pseudomonas spp</i>	102
<i>Klebsiella spp</i>	56
<i>Enterobacter spp</i>	48
<i>Escherichia spp</i>	45
<i>Proteus spp</i>	35
<i>Morganella spp</i>	34
<i>Serratia spp</i>	26
<i>Citrobacter ssp</i>	18
<i>Acinetobacter ssp</i>	12
<i>Providencia ssp</i>	08
<i>Stenotrophomonas spp</i>	08
<i>Achromobacter spp</i>	05
<i>Outros Gram negativos</i>	04
GRUPOS (total de amostras)	356*
Família <i>Enterobacteriaceae</i>	184
Gram negativos não fermentadores	121
Grupo CESP**	92
Grupo ESKAPE***	197

*Cada amostra pode conter mais de um gênero de microorganismo isolado ** CESP (*Citrobacter spp*, *Enterobacter spp*, *Serratia spp* e *Proteus spp*)*** ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter spp*).

Figura 1. Evolução temporal da presença e do número de microrganismos Gram positivos e negativos (2019-2023)

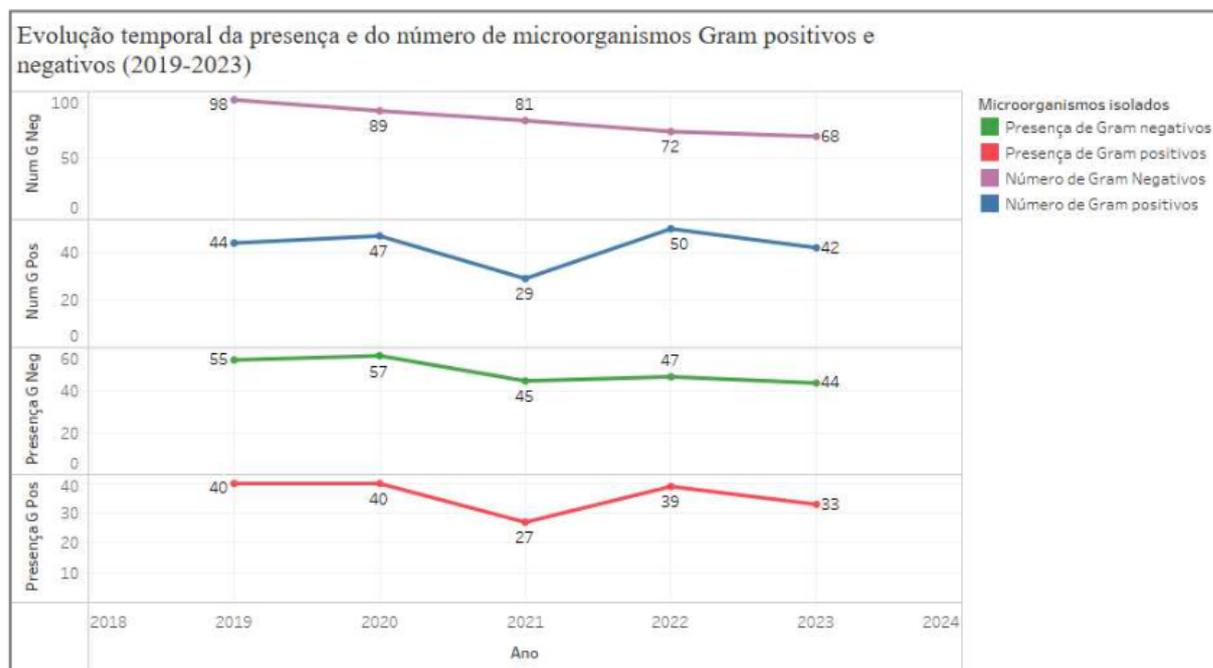


Figura 2. Evolução temporal da presença de microrganismos nas culturas de tecidos (2019-2023)

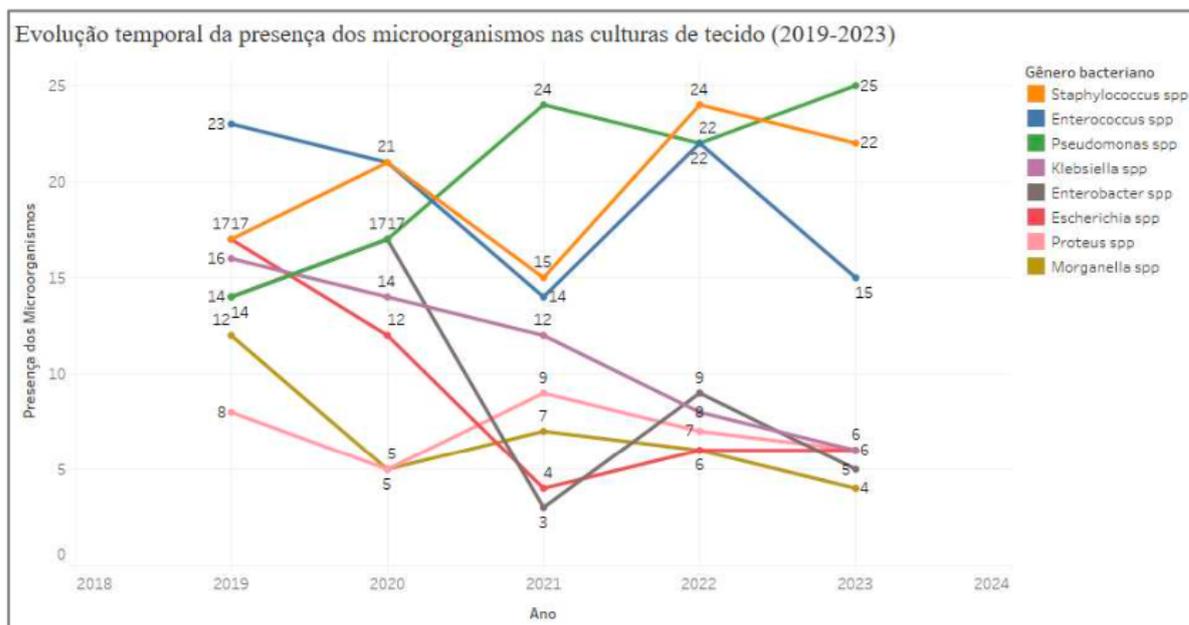


Figura 3. Evolução temporal do gênero de Gram negativos (2019-2023)