



UNIVERSIDADE CATÓLICA DOM BOSCO
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

GIOVANNA DE PINHO PIERI

ISOLAMENTO, IDENTIFICAÇÃO E PERFIL DE SUSCETIBILIDADE À
ANTIBACTERIANOS EM FERIDAS VENOSAS CRÔNICAS

Campo Grande – MS

Março – 2021

GIOVANNA DE PINHO PIERI

ISOLAMENTO, IDENTIFICAÇÃO E PERFIL DE SUSCETIBILIDADE À
ANTIBACTERIANOS EM FERIDAS VENOSAS CRÔNICAS

Dissertação apresentada como parte das exigências
para obtenção do título de MESTRE EM
BIOTECNOLOGIA, no Programa de Pós-Graduação
em Biotecnologia da Universidade Católica Dom
Bosco – Área de Concentração: Biotecnologia

Orientador: Dr. Ludovico Migliolo

Campo Grande - MS

Março - 2021

FICHA CATALOGRÁFICA

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Universidade Católica Dom Bosco
Bibliotecária Mourãmise de Moura Viana - CRB-1 3360

P615i Pieri, Giovanna de Pinho
Isolamento, identificação e perfil de suscetibilidade
à antibacterianos em feridas venosas crônicas/ Giovanna
de Pinho Pieri sob a orientação do profº Dr. Ludovico
Migliolo. -- Campo Grande, MS : 2021.
76 p.: il.;

Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade
Católica Dom Bosco, Campo Grande-MS, 2021
Inclui bibliografias

1. Bactérias multirresistentes. 2. Etiologia venosa.
3. Microbiologia - Biotecnologia I.Migliolo, Ludovico.
II. Título.

CDD: 660.6

FOLHA DE APROVAÇÃO



"ISOLAMENTO, IDENTIFICAÇÃO E PERFIL DE SUSCETIBILIDADE À ANTIBACTERIANOS EM FERIDAS VENOSAS CRÔNICAS"

Autora: Giovanna de Pinho Pieri

Orientador: Prof. Dr. Ludovico Migliolo

TITULAÇÃO: Mestre em Biotecnologia
Área de concentração: Biotecnologia.

APROVADO em 19 de março de 2021.

A presente defesa foi realizada por webconferência. Eu, Ludovico Migliolo, como presidente da banca assinei a folha de aprovação com o consentimento de todos os membros, ainda na presença virtual destes. A Web conferência foi gravada e o link (<http://meet.google.com/qjm-grde-gne>) ficará disponível por três anos, a partir da data de realização da mesma.



Prof. Dr. Ludovico Migliolo – UCDB

Prof. Dr. Octavio Luiz Franco - UCDB

Profª. Drª. Viviane Fernandes de Carvalho - UNG

“Um pouco de Ciência nos afasta de Deus. Muito, nos aproxima.”

- Louis Pasteur

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, do amor.

Aos meus pais Cezar e Selma Pieri, e a minha irmã Mannoela Pieri, que constantemente me incentivaram a continuar, que nunca hesitaram em me dar todo o suporte durante todo o período do mestrado. Essa conquista é pra vocês.

Ao meu noivo Hugo Thoy, meu melhor amigo, que sempre esteve comigo durante toda a minha caminhada e não me deixou desistir quando mesmo tudo parecia impossível.

Ao professor, orientador Dr. Ludovico Migliolo, agradeço por entender a relevância da multidisciplinariedade dessa área e aceitar entrar nesse desafio comigo. Obrigada Ludo!

A professora Ma, Lizandra Alvares Félix, pela paciência quanto às dúvidas e inexperiências. Obrigada não apenas para os conselhos científicos, mas também os para a vida.

Ao Centro de Especialidade Médicas – CEM juntamente com equipe multiprofissional, sou grata pela disponibilização do espaço, compreensão para a realização do meu trabalho.

Aos pacientes do Centro de Especialidades Médicas – CEM, que confiaram a mim informações pessoais, tão importantes para a qualidade da pesquisa desenvolvida. Meus mais sinceros agradecimentos.

Aos meus amigos do mestrado, Anny Acosta, Carol Paes, Gisella Gindri e Humberto Bertagna pela parceria no laboratório, incentivos ao estudo e a escrita, aos conhecimentos compartilhados, em especial ao Humberto por me acompanhar aos finais de semana no laboratório, e por transmitir tantos ensinamentos sobre Microbiologia durante a carreira profissional e claro, não menos importante aos nossos cafés pelo campus da Universidade e fora dela também.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo fomento da minha formação.

BIOGRAFIA

Giovanna de Pinho Pieri, natural de Campo Grande – Mato Grosso do Sul, nascida no primeiro dia do mês de dezembro de mil novecentos e noventa e sete. É a filha do meio de Cezar Junior Pieri e Selma Aparecida de Pinho Pieri. Possui bacharelado em Ciências Biológicas pela Universidade Católica Dom Bosco – UCDB na turma de 2018.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	10
OBJETIVOS	12
Geral.....	12
Específicos	12
REVISÃO DE LITERATURA.....	13
1. INSUFICIÊNCIA VENOSA.....	13
2. PROCESSO DE REPARO TECIDUAL.....	15
2.1 PROGRESSÃO DE FERIDAS PARA A CRONICIDADE.....	18
3. EPIDEMIOLOGIA, CARGA ECONÔMICA E SOCIAL DE FERIDAS VENOSAS	
20	
4. MICROBIOLOGIA DA PELE SAUDÁVEL.....	22
4.1 MICROBIOLOGIA DE FERIDAS	24
4.1.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	25
4.1.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	26
5. TERAPIA DE FERIDAS INFECTADAS	27
METODOLOGIA.....	28
1.TIPO DE ESTUDO	28
2. CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DE ESTUDO	28
3. ASPECTOS ÉTICOS	29
4. POPULAÇÃO E AMOSTRA.....	29
4.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO NA PESQUISA	29
5. COLETA DE DADOS	29
6. ANÁLISE LABORATORIAL.....	31
6.2 Identificação e perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos	31
7. TRATAMENTO DE DADOS.....	33
RESULTADOS.....	33
1. CARACTERIZAÇÃO SOCIODEMOGRÁFICA DOS PACIENTES	33
2. CARACTERIZAÇÃO DAS FERIDAS	34

3. IDENTIFICAÇÃO BACTERIANA.....	35
4. PERFIL DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS.....	37
DISCUSSÃO.....	44
1.CARACTERIZAÇÃO SOCIODEMOGRÁFICA DOS PACIENTES E DAS FERIDAS.....	44
2. IDENTIFICAÇÃO BACTERIANA.....	46
3.PERFIL DE SUSCETIBILIDADE BACTERIANA AOS AGENTES ANTIMICROBIANOS.....	48
CONCLUSÃO.....	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Classificação CEAP mostrando as manifestações clínicas ocorridas em pacientes portadores de IV (adaptado de SANTLER; GOERGE, 2017).	15
Tabela 2: Descrição das etapas procedimento de coleta de material microbiológico de ferida. (adaptado de FERREIRA; ANDRADE, 2006).....	30
Tabela 3: Variáveis sociodemográficas dos pacientes entrevistados neste estudo. .	33
Tabela 4: Características das feridas dos pacientes avaliados neste estudo.	34
Tabela 5: Bactérias isoladas de feridas venosas crônicas (N=45) dos pacientes (N=20) atendidos no CEM, Campo Grande (MS) organizadas por ordem de frequência.....	36
Tabela 6: Identificação das bactérias resistentes (RE) e multirresistentes (MR) isoladas em feridas venosas crônicas.	38
Tabela 7: Percentuais de resistência (R), intermediária (I) e sensível (S) para as bactérias Gram-positivas isoladas de feridas venosas crônicas.	41
Tabela 8: Percentuais de resistência (R), intermediária (I) e sensível (S) para as bactérias Gram-negativas isoladas de feridas venosas crônicas.	43

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fluxograma demonstrando os fatores que podem influenciar na patogênese da insuficiência venosa: Estase venosa; Formação de manguito de fibrina pericapilar; Aprisionamento de leucócitos; Hipertensão venosa; todas resultando em hipóxia, mudanças na pele e conseqüentemente as feridas venosas.	14
Figura 2: Classificação dos Graus CEAP de evolução que variam de 1 à 6 mostrando os sinais observados em pacientes portadores de IV (adaptado de FERNÁNDEZ, 2019).	15
Figura 3: Visão do processo normal de cicatrização de feridas. A- Hemostasia: O processo que inicia a cascata de cicatrização de feridas dá início ao desenvolvimento de uma barreira temporária, evitando a perda de sangue. B- Fase inflamatória: Resposta imediata definida pela infiltração de leucócitos liberadores de citocinas com funções antimicrobianas. C- Fase proliferativa: As citocinas iniciam a fase proliferativa formando novos epitélios, vasos sanguíneos e matriz extracelular e D-Remodelação tecidual: Fase em que a ferida se contrai conforme há a remodelação da matriz extracelular.	16
Figura 4: Fases e eventos importantes na cicatrização de feridas venosas que levam à cronicidade: aumento de proteases, infecção bacteriana, infiltrados inflamatórios, perpetuando um ciclo deletério que impede a progressão para a fase de cicatrização.	20
Figura 5: Diferentes composições bacterianas que residem na pele, dependendo da localização anatômica (adaptado de SANFORD; GALLO, 2013).....	23
Figura 7: Distribuição dos tratamentos tópicos utilizados nas feridas dos pacientes atendidos neste estudo.	35
Figura 8: Espécies bacterianas isoladas em 20 pacientes (números de 1 a 20) demonstrada pelo Gráfico de rede. Em verde e laranja estão representadas as bactérias Gram-positivas e -negativas, respectivamente. O asterisco corresponde as bactérias que foram isoladas em mais de um paciente.....	37

LISTA DE ABREVIATURAS

IV- Insuficiência venosa

CEAP- Aspectos clínicos, etiológicos, anatômicos e patofisiológicos

MEC- Matriz extracelular

PAMPs- Padrões moleculares associadas a patógenos

DAMPs- Proteínas modificadoras associadas a danos

EROs- Espécies reativas com oxigênio

MMPs- Matriz de metaloproteinases

UFC- Unidades formadoras de colônia

MRSA- *Staphylococcus aureus* resistente à metililina

EPs- Exo-poliméricas

QS- *Quorum sensing*

CEM- Centro de Especialidades Médicas

FVC- Feridas venosas crônicas

MDR- Multirresistente

TCLE- Termo de Consentimento Livre Esclarecido

BHI- *Brain Heart Infusion*

GP- Gram-positiva

GP- Gram-negativa

RESUMO

A insuficiência venosa é uma doença associada a membros inferiores que causa feridas. Vários fatores podem influenciar no processo de cicatrização tornando-as crônicas, tal como infiltração bacteriana. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi determinar o perfil microbiológico das feridas venosas crônicas de pacientes atendidos no centro de referência de tratamento de lesões. A metodologia utilizada foi descritiva com abordagem quantitativa realizada por meio da coleta de material biológico de feridas venosas crônicas de pacientes atendidos no Centro de Especialidades Médicas – CEM, referência em tratamento de lesões periféricas da rede municipal de Saúde de Campo Grande-MS, empregando a técnica de Levine e também o sistema automatizado Vitek® para a identificação dos isolados. Foram entrevistados 20 pacientes totalizando 26 feridas, no qual foram obtidas 15 espécies bacterianas totalizando 45 isolados. *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* foram as espécies mais prevalentes no estudo totalizando 44,4% de todos os isolados. Em relação ao perfil de suscetibilidade bacteriana, 57,8% (N=26) se mostraram resistentes aos antimicrobianos testados, sendo 2 cepas multirresistentes. No geral Gram-positivas e -negativas se mostraram em sua maioria resistentes ao grupo dos antibióticos β -lactâmicos. Por fim, foi concluído que o rastreamento dos perfis de suscetibilidade microbiana nos pacientes portadores de feridas crônicas é essencial para a escolha da antibioticoterapia correta, levando a um processo cicatricial no tempo adequado e por consequência redução de custos durante o tratamento para o sistema de saúde pública e privada.

Palavras chave: Bactérias multirresistentes Etiologia venosa, Teste de suscetibilidade antimicrobiana, β -lactâmicos

ABSTRACT

Venous insufficiency is a disease associated with lower limbs that causes wounds. Several factors can influence the healing process making them chronic, such as bacterial infiltration. Therefore, the objective of the present work was to determine the microbiological profile of chronic venous wounds of patients seen at the reference center for the treatment of injuries. The methodology used was descriptive with a quantitative approach performed through the collection of biological material from chronic venous wounds of patients seen at the Centro de Especialidades Médicas - CEM, a reference in the treatment of peripheral injuries in the municipal health network of Campo Grande-MS, employing the Levine's technique and also the Vitek® automated system for the identification of isolates. Twenty patients were interviewed, totaling 26 wounds, in which 15 bacterial species were obtained, totaling 45 isolates. *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* were the most prevalent species in the study, totaling 44.4% of all isolates. Regarding the bacterial susceptibility profile, 57.8% (N = 26) were resistant to the tested antimicrobials, being 2 multiresistant strains. In general, Gram-positive and negative were mostly resistant to the group of β -lactam antibiotics. Finally, it was concluded that the tracking of microbial susceptibility profiles in patients with chronic wounds is essential for the choice of the correct antibiotic therapy, leading to a healing process in the appropriate time and consequently reducing costs during treatment for the health system. public and private.

Keywords: Multiresistant bacteria, Venous etiology Antimicrobial susceptibility test, β -lactams

INTRODUÇÃO

A insuficiência venosa (IV) é uma doença crônica associada a membros inferiores (YOUN; LEE, 2019), que afeta cerca de 25% dos adultos no hemisfério ocidental (SO; KHIMANI; NGYUEN, 2017). Sua alta prevalência tem características socioeconômicas significativas, especialmente devido ao custo relacionado ao tratamento e ocasionalmente sequelas irreversíveis causadas ou promovidas pela doença, incluindo feridas crônicas (SANTLER; GOERGE, 2017).

Quando uma lesão ocorre, a microbiota normal da pele ganha acesso aos tecidos afetados fornecendo sinais para ativação de cascatas inflamatórias (HOLMES et al., 2015), além disso, comorbidades associadas podem modular a resposta imune do hospedeiro, resultando em um ciclo deletério que impede a progressão para a fase proliferativa de cura e/ou promovendo a infecção patológica (ZHAO et al., 2016).

O diagnóstico de uma infecção bacteriana em feridas crônicas normalmente é determinado com base na observação subjetiva de sinais e sintomas clínicos, no entanto, muitas vezes o paciente não apresenta características típicas devido ao seu comprometimento imunológico (NAKAGAMI et al., 2008). Logo, a avaliação de feridas representa um desafio para os profissionais da área pela dificuldade para estabelecer um quadro infeccioso, sendo dependente do conhecimento e da experiência do profissional que presta assistência ao paciente (ALMEIDA, 2015).

Estima-se que os médicos que baseiam sua opinião sobre a existência de infecção a partir dos sinais e sintomas do paciente muitas vezes estão equivocados, a taxa de diagnósticos corretos variando de 32 a 58% das vezes (STALLARD, 2018), em razão disso a cultura, e subsequentemente o estudo microbiológico são de extrema importância afim de identificar os tipos de microrganismos e suas respectivas resistências aos agentes antimicrobianos (PIRES et al., 2018).

No Brasil, a demanda de pessoas portadoras de feridas crônicas em praticamente todos os serviços de saúde do país é crescente (PESSANHA et al.,

2015), alguns trabalhos como a qualidade de vida e a caracterização das feridas já foram relatados (DE ALMEIDA GONÇALVES SACHETT; DA SILVA MONTENEGRO, 2019; DE OLIVEIRA et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2012; RAMOS, 2019), entretanto, informações sobre o perfil microbiológico dessas feridas são escassos.

Assim, esta pesquisa preenche uma importante lacuna do conhecimento, já que a identificação de bactérias e seus perfis de resistência à antimicrobianos presentes em feridas, podem subsidiar estratégias para terapêuticas adequadas, culminando na redução do tempo de cicatrização. Espera-se que os resultados deste estudo, proporcione subsídio para elaboração de uma proposta de atendimento aos pacientes atendidos, levando em consideração características microbiológicas da ferida.

O trabalho a seguir foi elaborado segundo as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas- ABNT.

OBJETIVOS

Geral

Determinar o perfil microbiológico das feridas venosas crônicas de pacientes atendidos no centro de referência de tratamento de lesões.

Específicos

- Caracterizar amostra do estudo de acordo com dados sociodemográficos;
- Caracterizar as feridas quanto ao tempo de duração, área e localização anatômica;
- Isolar e identificar cepas bacterianas coletadas das lesões;
- Descrever o perfil de suscetibilidade das cepas isoladas à antimicrobianos;

REVISÃO DE LITERATURA

1. INSUFICIÊNCIA VENOSA

Insuficiência venosa (IV) é uma doença crônica associada a membros inferiores (YOUN; LEE, 2019), que afeta cerca de 25% dos adultos no hemisfério ocidental (SO; KHIMANI; NGYUEN, 2017). Sua prevalência varia muito por cada área geográfica dependendo da distribuição da população, fatores de risco, precisão na aplicação de critérios diagnósticos e a qualidade da disponibilidade de recursos médicos de tratamento, afetando de até 40% nas mulheres e apenas 17% dos homens (SO; KHIMANI; NGYUEN, 2017).

Vários fatores estão associados a doença, dentre eles flebite, gravidez principalmente múltipla, histórico familiar de doença venosa, idade, lesões prévias, obesidade, permanecer longos períodos em pé ou sentado e sexo (RAFFETTO, 2018).

Em relação a patogênese da doença não se sabe ao certo o que ocasiona, mas acredita-se que vários fatores possam influenciar no desenvolvimento da doença, dentre eles estão (Figura 1):

- Estase venosa: Acúmulo de sangue nas veias não funcionais resultando em anóxia do tecido e morte celular, levando a alterações da pele e ulcerações (SO; KHIMANI; NGYUEN, 2017);
- Manguito de fibrina pericapilar: Formação de *cuffs* de fibrina nos vasos, atuando como uma barreira para a difusão de oxigênio levando a formação de edema e alterações dermatoescleróticas (SO; KHIMANI; NGYUEN, 2017);
- Aprisionamento de leucócitos: Devido à estase e as mudanças na pressão venosa, ocorre a marginação dos glóbulos brancos ocasionando a obstrução capilar o que gera hipóxia e consequentemente ulceração do tecido (SO; KHIMANI; NGYUEN, 2017);
- Hipertensão venosa: Adversidade relacionada ao fluxo sanguíneo irregular com obstrução ou comprometimento da musculatura da panturrilha causada

por trombose venosa profunda, e distúrbios de refluxo referente as veias dilatadas ou válvulas venosas incompetentes levando ao acúmulo de sangue, hipóxia e inflamação (MANSILHA; SOUSA, 2018).

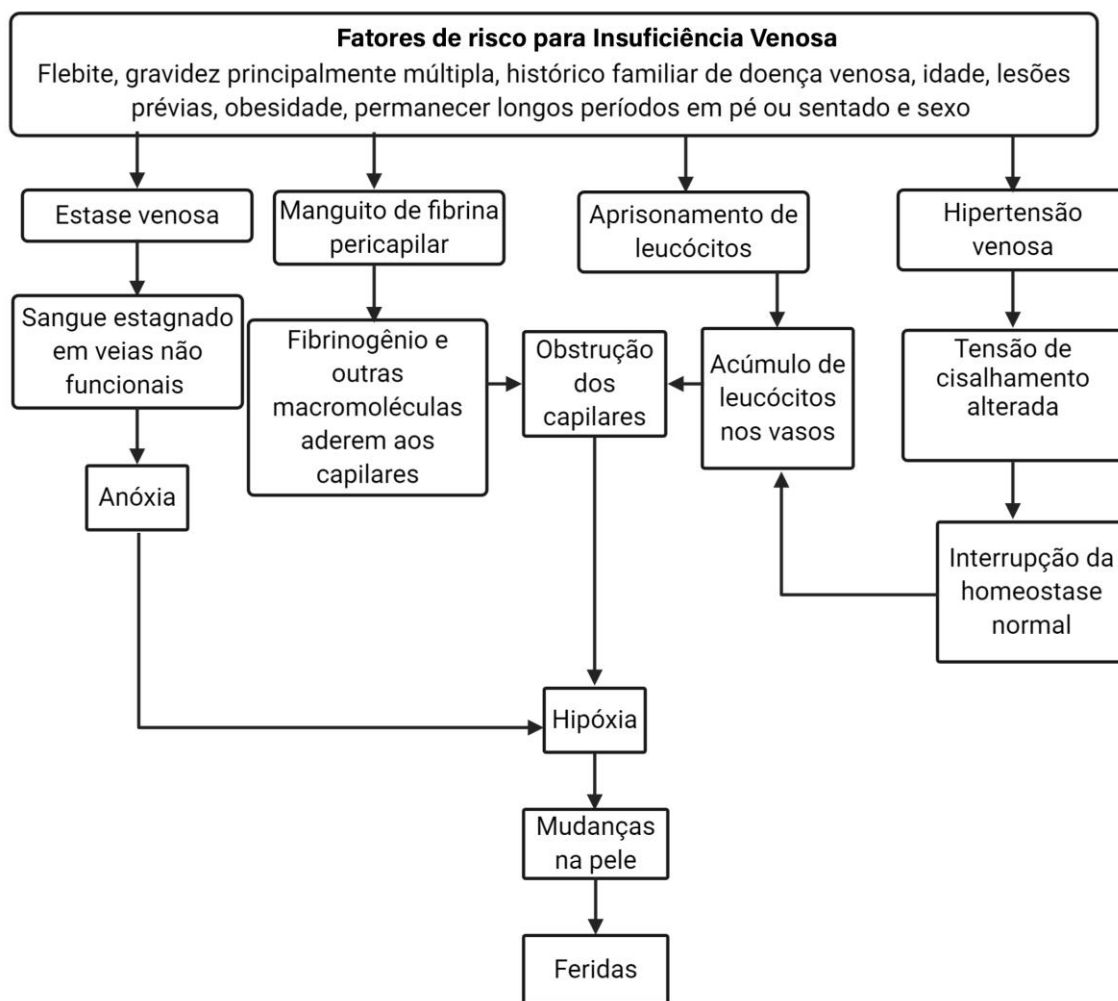


Figura 1: Fluxograma demonstrando os fatores que podem influenciar na patogênese da insuficiência venosa: Estase venosa; Formação de manguito de fibrina pericapilar; Aprisionamento de leucócitos; Hipertensão venosa; todas resultando em hipóxia, mudanças na pele e consequentemente as feridas venosas.

A gravidade da IV costuma ser avaliada pela classificação CEAP (aspectos clínicos, etiológicos, anatômicos e patofisiológicos) (Tabela 1) tendo como foco principal as manifestações clínicas que pode variar entre C0 a C6 (SANTLER; GOERGE, 2017).

Tabela 1: Classificação CEAP mostrando as manifestações clínicas ocorridas em pacientes portadores de IV (adaptado de SANTLER; GOERGE, 2017).

C0	Sem sinais visíveis de doença venosa
C1	Veias em aranha, telangiectasia ou veias reticulares (<3mm), varizes
C2	Varizes com >3 mm sem sinais clínicos de IV
C3	Veias varicosas com edema
C4	Veias varicosas com lesões tróficas de pele
C4 _a	Pigmentação, púrpura, eczema
C4 _b	Lipodermatoesclerose, atrofia branca
C5	Úlcera venosa curada
C6	Úlcera venosa ativa

Os sinais de IV são variáveis e incluem telangiectasia, veias varicosas, edema ou alterações na pele (eczema, hiperpigmentação e endurecimento) e em casos mais graves, há ulceração cutânea como pode ser observado na Figura 2 (MANSILHA; SOUSA, 2018). Os sintomas incluem vários graus e formas de desconforto nas pernas como dor, inchaço, peso nas pernas, câimbras e queimação (MANSILHA; SOUSA, 2018).



Figura 2: Classificação dos Graus CEAP de evolução que variam de 1 à 6 mostrando os sinais observados em pacientes portadores de IV (adaptado de FERNÁNDEZ, 2019).

2. PROCESSO DE REPARO TECIDUAL

Uma ferida pode representar um distúrbio simples ou grave em um órgão ou tecido refletindo em estruturas anatômicas, músculo, tendões, vasos e na própria derme (MURPHREE, 2017; NEGUT; GRUMEZESCU; GRUMEZESCU, 2018; ZHAO et al., 2016). Após a pele ser exposta a danos, é imperativo a refabricação de uma

nova epiderme funcional, afim de substituir a estrutura perdida (NEGUT; GRUMEZESCU; GRUMEZESCU, 2018).

Independente da etiologia da ferida, o processo cicatricial ocorre em quatro fases integradas e sobrepostas: hemostasia, inflamação, proliferação e remodelação tecidual (Figura 3).

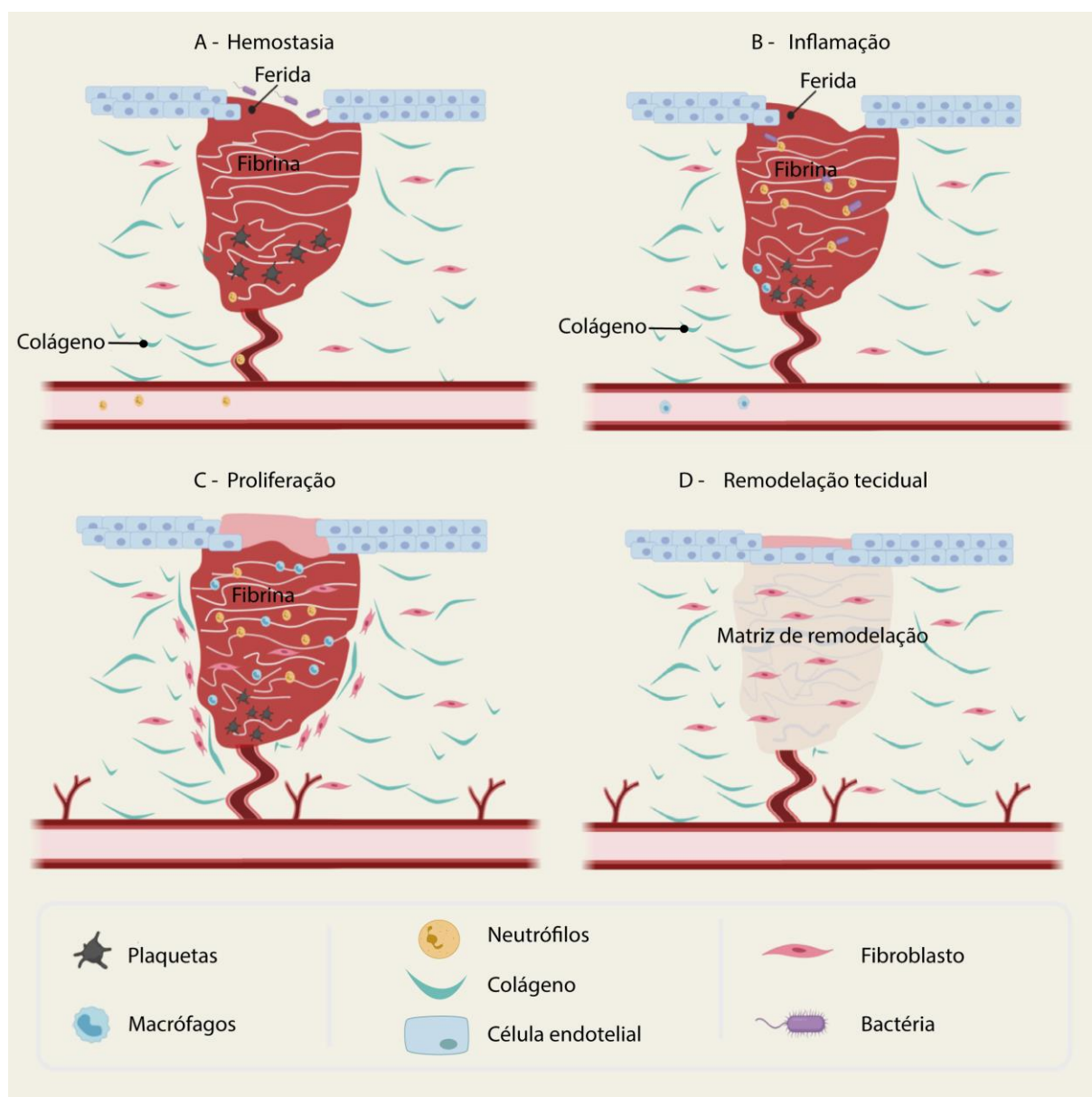


Figura 3: Visão do processo normal de cicatrização de feridas. A- Hemostasia: O processo que inicia a cascata de cicatrização de feridas dá início ao desenvolvimento de uma barreira temporária, evitando a perda de sangue. B- Fase inflamatória: Resposta imediata definida pela infiltração de leucócitos liberadores de citocinas com funções antimicrobianas. C- Fase proliferativa: As citocinas iniciam a fase proliferativa formando novos epitélios, vasos sanguíneos e matriz extracelular e D- Remodelação tecidual: Fase em que a ferida se contrai conforme há a remodelação da matriz extracelular.

Após a lesão na pele com a exposição do sub-endotélio, fator de colágeno ativa a agregação plaquetária como resposta a lesão com a intenção de evitar perda de sangue (KRISHNASWAMY; MINTZ; SAGI, 2017). A degranulação de plaquetas promove a liberação de fatores quimiotáticos como interleucina ou neutrófilo quimiotático, além de citocinas como IL-1 β , IL-6, fator de necrose tumoral, e fatores de crescimento para o local do coágulo iniciando o primeiro estágio da cicatrização, a homeostasia (KOLAR et al., 2010).

A fase inflamatória ocorre durante as primeiras 72 horas após a lesão tecidual e é a segunda fase da cicatrização marcada pela migração de neutrófilos seguidos por monócitos que se diferenciaram rapidamente em macrófagos (WANG et al., 2018).

Os neutrófilos produzem altos níveis de espécies reativas de oxigênio (EROs), proteases e citocinas pró-inflamatórias com intuito de higienizar a ferida, quando este processo está completo, sofrem apoptose e são fagocitados pelos macrófagos, que também fagocitam matriz danificada, bactérias e detritos (EMING; MARTIN; TOMIC-CANIC, 2014; KRZYSZCZYK et al., 2018). Os macrófagos, na fase inflamatória secretam também fatores de crescimentos, quimiocinas e citocinas, como fator de necrose tumoral alfa, fator de crescimento transformador beta, fator básico de crescimento de fibroblastos, fator de crescimento derivado de plaquetas e fator de crescimento endotelial vascular para amplificar e resolver a inflamação recrutando células endoteliais e fibroblastos para iniciar a próxima fase de cura (ZHAO et al., 2016).

A fase proliferativa é caracterizada pela proliferação de células endoteliais, fibroblastos, queratinócitos e a migração sobre a matriz extracelular (MEC) vascularizada preliminar iniciando assim a síntese de colágeno e contração da ferida (KRZYSZCZYK et al., 2018).

Após a proliferação robusta e síntese da MEC, a cicatrização entra na última fase chamada de remodelação, onde acontece a regressão de muitos capilares sanguíneos recém-formados de modo que a densidade vascular da ferida volte ao normal (GUO; DIPIETRO, 2010). Por fim a remodelação tecidual, a última fase da cicatrização acontece quando o tecido de granulação amadurece e a ganha força mecânica. O fim da fase de cura é marcado pela apoptose de células vasculares e miofibroblastos convertendo o tecido de granulação em cicatriz rica em colágeno (ZHAO et al., 2016).

2.1 PROGRESSÃO DE FERIDAS PARA A CRONICIDADE

Feridas que seguem a progressão linear da cicatrização são consideradas agudas, diferentemente das feridas crônicas que não progridem normalmente para as fases de cura podendo se estender por dois meses ou mais e ficarem estacionadas na fase inflamatória de cura (ZUBAIR; AHMAD, 2019).

Múltiplos fatores podem levar a cronificação de uma lesão, mas em termos gerais, os fatores que influenciam o reparo de uma lesão podem ser categorizados em sistêmicos, isto é, estado geral da saúde ou doença do indivíduo que afeta sua capacidade de cicatrização, tais como, sexo, idade, isquemia, estresse, nutrição enquanto os fatores locais são aqueles que influenciam diretamente as características da ferida, como oxigenação, infecção e insuficiência venosa (GUO; DIPIETRO, 2010).

Em feridas crônicas a fase inflamatória tende a ser por tempo prolongado, além disso, o equilíbrio entre a produção e a degradação das moléculas como colágeno não é mantido, levando à degradação da MEC (KRISHNASWAMY; MINTZ; SAGI, 2017; TRØSTRUP et al., 2018).

O desenvolvimento de uma ferida em resposta a uma lesão é seguido por um processo de cicatrização realizado predominantemente por leucócitos, conhecidos como macrófagos, responsáveis por fagocitar e remover patógenos do local da ferida e seus precursores, os monócitos (KRISHNASWAMY; MINTZ; SAGI, 2017). Eles são responsáveis por se infiltrarem no local da ferida, onde são ativados por citocinas pró-inflamatórias, interferons, padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) ou proteínas modificadoras associadas a danos (DAMPs). Contudo em feridas crônicas, os macrófagos possuem sua capacidade fagocitária reduzida, o que os impede de fagocitar neutrófilos mortos, e o acúmulo deste promove um ambiente altamente inflamatório (KOTWAL; CHIEN, 2017; KRISHNASWAMY; MINTZ; SAGI, 2017).

A infiltração excessiva de neutrófilos parece ser um dos marcadores inflamatórios de feridas crônicas, sua abundância leva a superprodução de EROS, causando danos diretos a MEC e subsequentemente a senescência celular prematura. Outra característica marcante de feridas crônicas, é a presença e

persistência de macrófagos pró-inflamatórios no local da ferida (KOTWAL; CHIEN, 2017; KRISHNASWAMY; MINTZ; SAGI, 2017; ZHAO et al., 2016). Adicionalmente, estudos mostram que fluidos de feridas crônicas contêm também elevados níveis de citocinas pró-inflamatórias, como $\text{TNF-}\alpha$ e interleucina- 1β produzidas por macrófagos e neutrófilos, que não apenas aumentam a produção de matriz de metaloproteinases (MMPs) especialmente MMP-2 e MMP-9, família de enzimas específicas para substratos como colagenases, mas também reduzem os inibidores teciduais de metaloproteinases promovendo ainda mais o processo inflamatório (AYUK; ABRAHAMSE; HOURELD, 2016; KRZYSZCZYK et al., 2018; ZHAO et al., 2016).

Outra marca registrada de feridas crônicas são as infecções bacterianas, este fenômeno é tão prevalente que é sugerido que praticamente todas as feridas abertas sejam colonizadas por microrganismos (KRISHNASWAMY; MINTZ; SAGI, 2017).

Mesmo sem sinais clínicos de infecção, as bactérias interferem ainda mais no processo de cicatrização, interrompendo sistemas de sinalização resultando em produção excessiva de citocinas pró-inflamatórias como Interleucina-8 (IL-8), IL- 1β e $\text{TNF-}\alpha$. Muitas bactérias patogênicas secretam uma série de proteases que atuam como fatores de virulência e facilitam a colonização para outras partes dos tecidos infectados e também a obtenção de nutrientes pela degradação tecidual (AYUK; ABRAHAMSE; HOURELD, 2016).

A geração de dano necrótico ou hemorrágico no tecido por meio da digestão dos componentes estruturais do hospedeiro no local da infecção, permeabilidade vascular aprimorada, geração de mediadores inflamatórios e disseminação bacteriana são todos possíveis resultados de infecção no local da ferida resultantes da produção de proteases bacterianas (AYUK; ABRAHAMSE; HOURELD, 2016; WITHYCOMBE; PURDY; MADDOCKS, 2017).

Componentes bacterianos como lipossacarídeos e toxinas ou efetores ligados a superfície são liberados no meio os PAMPs que são reconhecidos por fatores dependendo de receptor tipo toll-like pelas células do sistema imune inato como sinal de invasão e perigo, o que leva a ativação celular de uma cascata de sinalização inflamatória local (WITHYCOMBE; PURDY; MADDOCKS, 2017). Esta cascata promove a ativação de inúmeras quinases que codificam importantes mediadores químicos que propagarão a resposta inflamatória (ZHANG et al., 2010). Esses sinais pró-inflamatórios iniciam o reparo de feridas, migração celular,

angiogênese e inflamação; essa é uma resposta normal à infecção, mas, se não inabitada, mantém danos generalizados aos tecidos (VIDYA et al., 2018; WITHYCOMBE; PURDY; MADDOCKS, 2017; ZHANG et al., 2010).

Assim dizendo, características de feridas venosas resultantes da alteração de do refluxo venoso, alteração nas paredes e válvulas das veias, hipertensão capilar, vazamento, edema (LABROPOULOS, 2019) associadas a presença bacteriana resultam em um ambiente altamente inflamatório, perpetuando um ciclo deletério que impede a progressão para a fase proliferativa de cura (GUO; DIPIETRO, 2010; SCALISE et al., 2016; ZHAO et al., 2016) (Figura 4).

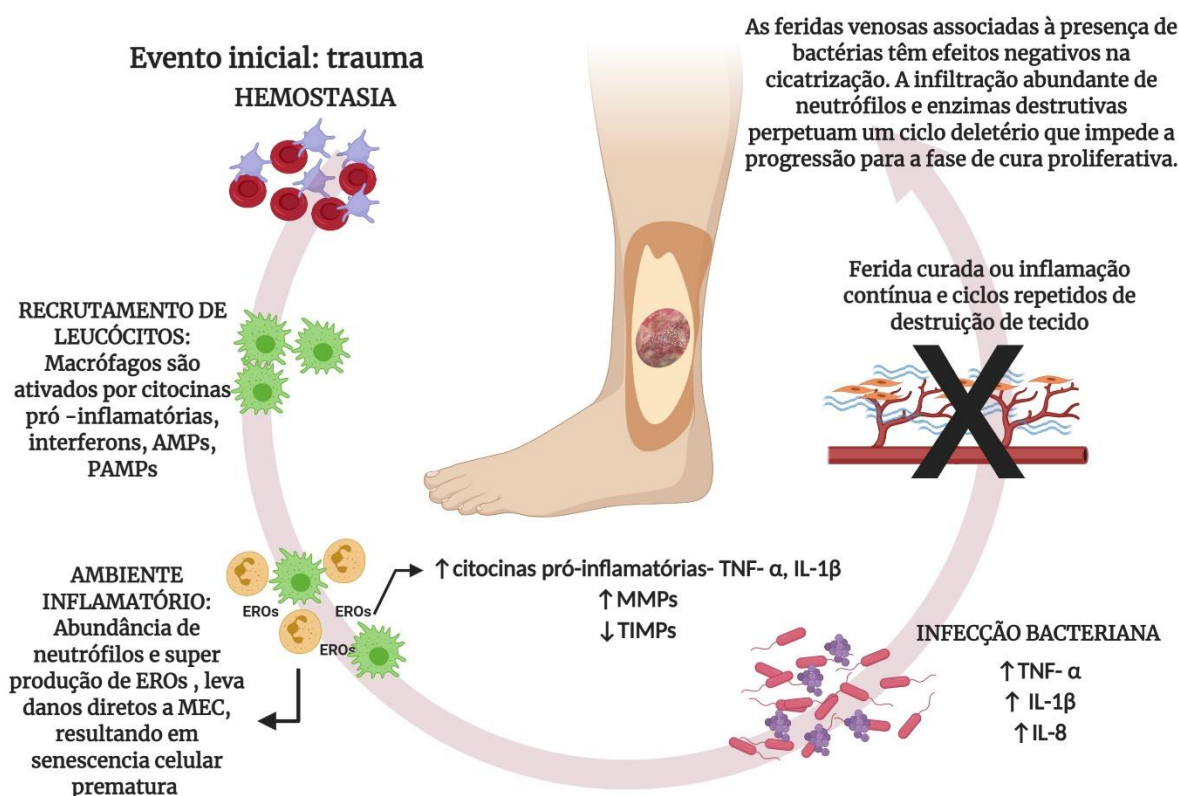


Figura 4: Fases e eventos importantes na cicatrização de feridas venosas que levam à cronicidade: aumento de proteases, infecção bacteriana, infiltrados inflamatórios, perpetuando um ciclo deletério que impede a progressão para a fase de cicatrização.

3. EPIDEMIOLOGIA, CARGA ECONÔMICA E SOCIAL DE FERIDAS VENOSAS

Feridas crônicas são progressivas e resistentes aos tratamentos, seja pela falha na realização de uma análise diagnóstica ou por falta de opções de tratamento (MAKRANTONAKI; WLASCHEK; SCHARFFETTER-KOCHANNEK, 2017).

Devido às características típicas de indivíduos idosos com multimorbidades, polifarmácia, cirurgias frequentes e redução das habilidades físicas estes representam a faixa etária mais suscetível ao desencadeamento de feridas (EMING; MARTIN; TOMIC-CANIC, 2014), complicação mais temida dentro da IV afetando comumente o maléolo medial (SANTLER; GOERGE, 2017).

As feridas venosas constituem um problema de saúde pública no Brasil e no mundo (SCOTTON; MIOT; ABBADE, 2014). Estima-se que 1 em cada 20 adultos em todos os países ocidentalizados são afetados por ulcerações venosas abertas ou cicatrizadas (MCDANIEL; ROY; WILGUS, 2008).

Estas representam um fardo econômico e de saúde significativo devido as suas altas taxas de prevalência e recorrência (MCDANIEL; ROY; WILGUS, 2008). Estatísticas atuais mostram que aproximadamente 15% das feridas se tornam crônicas e que a recorrência após o tratamento acontece de uma ou mais vezes em até 71% dos casos, o que contribui para os custos anuais de tratamento variando de 2,5 à 5 bilhões de dólares apenas nos EUA (MCDANIEL; ROY; WILGUS, 2008).

Além disso, prevê-se que estes custos irão crescer, pois a incidência de feridas venosas aumentará impulsionada pelo envelhecimento da população mundial (MCDANIEL; ROY; WILGUS, 2008; TUTTLE et al., 2011). No Brasil, a demanda de pessoas portadoras de feridas crônicas em praticamente todos os serviços de saúde do país é crescente, contudo estudos epidemiológicos sobre esses agravos tem sido pequenos dificultando a mensuração do impacto econômico brasileiro (PESSANHA et al., 2015).

Pacientes acometidos por feridas venosas tem sua vida grandemente afetada, pois requerem cuidados domiciliares, internações prolongadas e tratamentos complexos. Nesse contexto vivenciam alterações na imagem corporal, dificuldades de locomoção, incapacidade de realização de atividades cotidianas, déficit de autocuidado, dor e desconforto, todos impactando negativamente a qualidade de vida (DE OLIVEIRA et al., 2019), afetando também custos indiretos substanciais, como perda de renda, depressão e impactos na rede familiar e de amizade (MARTIN; ZENILMAN; LAZARUS, 2010).

4. MICROBIOLOGIA DA PELE SAUDÁVEL

A pele, nosso maior órgão está completamente coberto por microrganismos, com uma estimativa de cerca de 1 bilhão de células microbianas por cm² cobrindo toda a superfície, se estendendo aos apêndices e glândulas (PEREIRA et al., 2017) .

Uma descoberta deixada clara por meio do Projeto do Microbioma Humano, é que as comunidades que residem em locais diferentes do corpo, não são uniformes dependendo da localização geográfica corporal juntamente com umidade, oleosidade, exposição ao meio externo, pH, temperatura e teor de oxigênio, podendo variar muito a composição (COOPER et al., 2015; GRICE; SEGRE, 2011) (Figura 5).

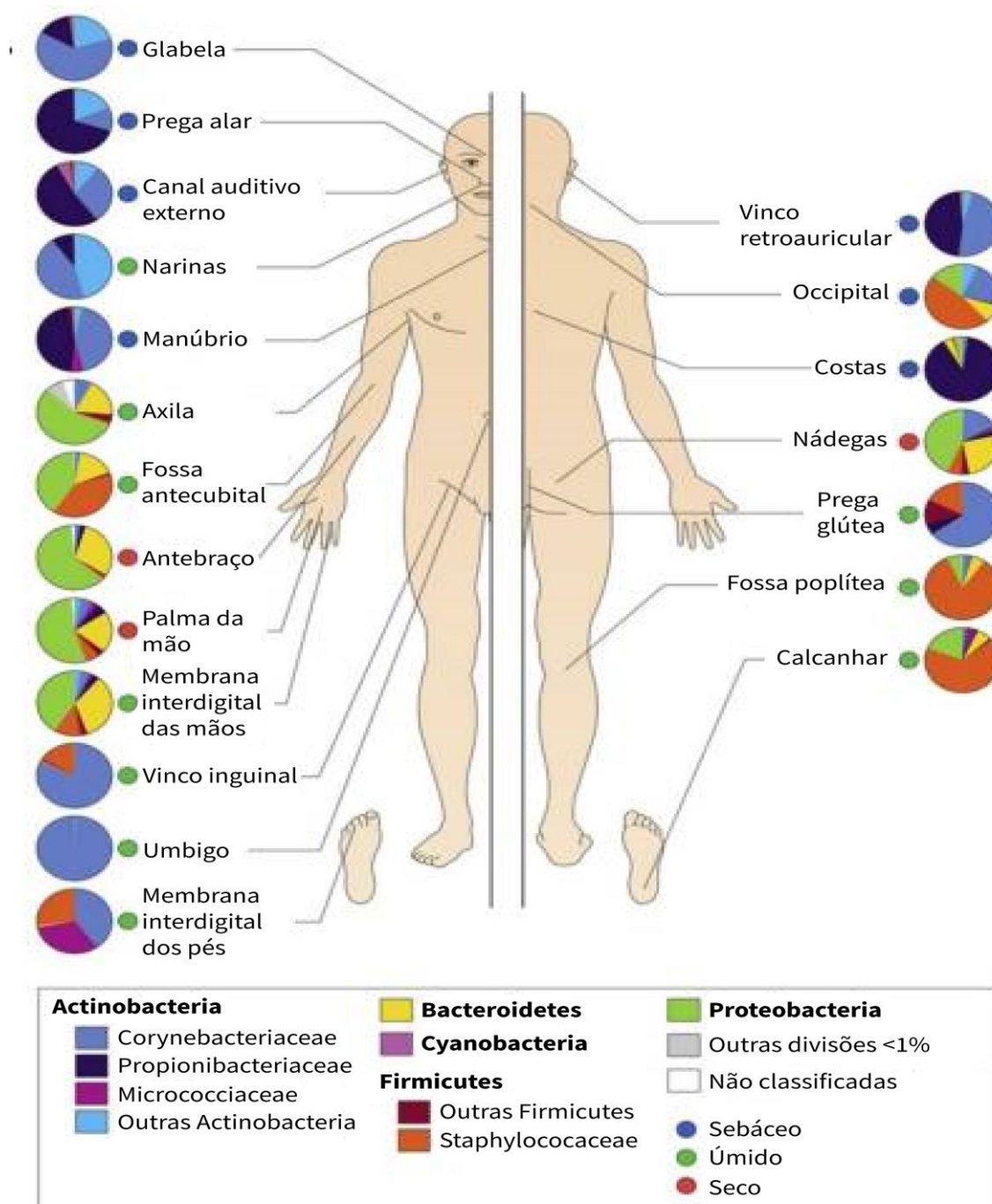


Figura 5: Diferentes composições bacterianas que residem na pele, dependendo da localização anatômica (adaptado de SANFORD; GALLO, 2013).

Os comensais da pele são essenciais para a manutenção da barreira epitelial na regulação do sistema imunológico do hospedeiro e na proteção contra microrganismos patogênicos (JOHNSON et al., 2018). Os filos bacterianos epidérmicos mais comumente representados são Actinobacteria, Firmicutes, Proteobacteria e Bacteroidetes respectivamente variando entre os locais da pele (JOHNSON et al., 2018).

A pele participa de uma relação complexa com a diversidade do microbioma e é capaz de discriminar microrganismos comensais e patogênicos mantendo a homeostase de barreira normal e limitar respostas inflamatórias (HOLMES et al., 2015). Entretanto, a composição da microbiota pode determinar se essa interação terá um resultado benéfico ou prejudicial para o hospedeiro, principalmente quando as respostas imunológicas são prejudicadas (PEREIRA et al., 2017) como, nos pacientes portadores de feridas venosas crônicas.

Quando uma lesão ocorre, a microbiota ganha acesso aos tecidos afetados podendo desencadear respostas imunológicas locais, fornecendo sinais necessários para ativação de cascatas inflamatórias, e além disso as comorbidades associadas podem modular a comunicação entre o hospedeiro e o microbioma retardando a cicatrização de feridas e/ ou promovendo a infecção patológica (HOLMES et al., 2015).

4.1 MICROBIOLOGIA DE FERIDAS

Feridas são suscetíveis a serem contaminadas por microrganismos mas predominantemente por bactérias devido suas condições locais como umidade, calor, nutrientes e baixa tensão do oxigênio (BOWLER, 2012).

Sabe-se que a fonte de bactérias em uma lesão provém da pele peri-ferida, flora exógena não residente da pele, mas sobretudo, da microbiota endógena das mucosas do hospedeiro principalmente cavidade oral e intestinal, tonando-se ecossistema polimicrobiano único e complexo (BOWLER, 2012). Quando introduzidas em uma lesão, se proliferam neste habitat favorável, e sua relação com o hospedeiro pode passar de simbiótico para patogênico, competindo com outros microrganismos colonizadores e resistindo a eliminação pelo sistema imunológico (BOWLER, 2012).

Os termos colonização e infecção são usados frequentemente na literatura sobre feridas (O'MEARA et al., 2014). A colonização é caracterizada pela presença de microrganismos sobre a superfície epitelial, sem que haja invasão tecidual, reação fisiológica ou dependência metabólica com hospedeiro, já a infecção, por sua vez implica em parasitismo com interação metabólica, reação inflamatória e resposta imunológica (O'MEARA et al., 2014; PINHEIRO DA SILVA; MACHADO, 2012).

Os sinais clássicos de infecção incluem dor local, calor, vermelhidão, inchaço e purulência, entretanto foi sugerido que nem sempre estes sinais são manifestados em pacientes com lesões venosas devidas as características imunológicas comprometidas (O'MEARA et al., 2014).

Apesar disso, outro termo é usado frequentemente para definir o limiar entre colonização e início da infecção, denominado de “colonização crítica”, termo empregado quando há um nível específico alcançado de carga microbiana patogênica, tipicamente 10^5 unidades formadoras de colônia (UFC) por grama de tecido (PEREIRA et al., 2017).

A falta de concordância entre os especialistas entre os termos corretos a serem usados acrescenta uma variação na prática entre os médicos para determinar quando deve ser feito a cultura e tratamento para eliminação de uma possível infecção (STALLARD, 2018). O'MEARA et al. (2014) em seu trabalho, propôs que os sinais e sintomas de colonização crítica tem sido utilizado como um guia alternativo para avaliação de infecção e indicação de tratamento antimicrobiano (O'MEARA et al., 2014).

Os sinais e sintomas de colonização crítica incluem: cura retardada, odor anormal, dor inesperada, tecido de granulação descolorido, tecido de granulação friável e tecido desvitalizado (O'MEARA et al., 2014). Estima-se que os médicos que baseiam suas opiniões sobre a existência nos sinais e sintomas físicos de infecção dos pacientes estão incorretos, muitas vezes tendo diagnósticos precisos entre 32 a 58% das vezes (STALLARD, 2018).

Estudos microbiológicos mostram que 80 a 100% das feridas venosas são colonizadas por bactérias (O'MEARA et al., 2014). Usando técnicas de cultura e biologia molecular é demonstrado que *Staphylococcus aureus* (88%) e *Pseudomonas aeruginosa* (33%) são as espécies predominantemente isoladas de feridas venosas (DRAGO et al., 2019; PERCIVAL et al., 2011; PIRES et al., 2018).

4.1.1 *Staphylococcus aureus*

Bactéria Gram-positiva e anaeróbica facultativa, é membro da microbiota humana e encontrada frequentemente em adultos saudáveis mas também é um patógeno oportunista muito perigoso, principal causador de uma ampla gama de

infecções como bacteremias, endocardites e infecções de pele e tecidos moles (ANTUNES et al., 2010; DAS; BAKER, 2016).

Este patógeno tem sido cada vez mais associado a resistência a antibióticos principalmente a meticilina (FINDLEY; GRICE, 2014). Foi relatado por FAIR; TOR, (2014) que as infecções por *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA) mata mais pessoas nos hospitais dos EUA do que HIV/ AIDS e tuberculose combinados. A resistência aos β -lactâmicos se deve principalmente a expressão do gene *mecA*, que codifica a proteína de ligação à penicilina de baixa afinidade (FAIR; TOR, 2014).

O genoma sequenciado de *S. aureus* revela também que múltiplos fatores estão associados à sua virulência, tais como fagos, plasmídeos e ilhas de patogenicidade. Além disso, nessa espécie é desenvolvido um arsenal de proteínas extracelulares e fatores de defesa que não estão associados a antibióticos como hemolisinas, proteases e hialuronidase, collagenases entre outras (FAIR; TOR, 2014; FINDLEY; GRICE, 2014).

4.1.2 *Pseudomonas aeruginosa*

Bactéria Gram-negativa, anaeróbica facultativa e oportunista, frequentemente associada a infecções nosocomiais e infecções de queimaduras, mas principalmente infecções respiratórias graves (ANTUNES et al., 2010; FAIR; TOR, 2014).

Este microrganismo é capaz de expressar uma impressionante variedade de fatores de virulência como exotoxinas secretadas passivamente pela célula ou por meio de secreção ativa de sistemas de secreção (BASSO et al., 2017; FILLoux, 2011).

Além disso, *P. aeruginosa* são difíceis de erradicar devido aos seus níveis altos de resistência a todos os antibióticos com exceção as polimixinas. Outra característica de *P. aeruginosa* são suas porinas de membrana externa bacteriana o que as torna naturalmente mais resistentes e, portanto, uma alta propensão a formarem biofilmes as tornando ainda mais resistentes (ANTUNES et al., 2010; FAIR; TOR, 2014).

MRSA e *P. aeruginosa* estão cada vez mais sendo isolados em feridas crônicas, constituindo um grave problema para o tratamento dessas infecções (PFALZGRAFF; BRANDENBURG; WEINDL, 2018). Além do mais, ambas possuem o potencial de formarem biofilmes, o que torna o cenário ainda mais complicado,

visto que bactérias formadoras de biofilme são extremamente difíceis de tratar, sendo aproximadamente 100 a 1000 vezes mais tolerantes aos agentes antimicrobianos, retardando assim a cicatrização de feridas infectadas (PATRULEA; BORCHARD; JORDAN, 2020).

5. TERAPIA DE FERIDAS INFECTADAS

Atualmente a estratégia terapêutica recomendada para o tratamento de feridas crônicas infectadas é a limpeza regular da ferida, lavagens com solução salina (0,9%), desbridamento dos tecidos necróticos e uso de curativos adequados juntamente com agentes antimicrobianos, a fim de remover as causas perpetuantes tornando o ambiente ideal para a formação do tecido de granulação saudável (SCALISE et al., 2016; ZHAO et al., 2016). Segundo diretrizes mostradas em Marston *et al.* (2016) a ferida deve ser desbridada e deve ser realizada a terapia antimicrobiana tópica ou sistêmica (SCALISE et al., 2016; ZHAO et al., 2016).

Entretanto o crescente surgimento de cepas resistentes aos antibióticos tem alarmado a comunidade científica devido ao aumento no custo e tempo de internação, e/ ou risco relacionados a morbidade e mortalidade dos pacientes (BOATENG; CATANZANO, 2015; OLIVEIRA et al., 2010; RIBEIRO, M; CORTINA, 2016).

Segundo Mahlapuu et al. (2016) estamos caminhando para uma “era pós-antibiótica”, na qual estratégias terapêuticas anteriores já não são mais eficazes, principalmente pelas bactérias colonizadoras de feridas, que fazem parte do grupo ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter* spp.) representando as bactérias mais recalcitrantes e persistentes a todos os antibióticos comuns (PATRULEA; BORCHARD; JORDAN, 2020).

Não tratar as feridas de forma rápida e adequada, leva a contaminação do tecido subcutâneo de forma contígua, levando a estragos muito maiores, como uma síndrome de compartimento, bacteremia, gangrena séptica ou até a morte de pacientes debilitados (ABBAS; UÇKAY; LIPSKY, 2015; BADER; ALAVI, 2014).

Logo, o tratamento eficaz para feridas crônicas deve objetivar a identificação de cepas isoladas no hospedeiro e seu perfil de resistência aos agentes antimicrobianos afim de desenvolver estratégias que devem ser adotadas no

tratamento, baseado em evidências fornecendo o melhor tratamento individualizado resultando no melhor gerenciamento de cura e prognóstico do paciente (COOPER et al., 2015; PIRES et al., 2018; TUTTLE et al., 2011).

METODOLOGIA

1. TIPO DE ESTUDO

Pesquisa descritiva com abordagem qualitativa, realizada a partir da coleta de material biológico de feridas venosas crônicas no serviço de referência em tratamento de lesões periféricas da rede Municipal de Saúde de Campo Grande – MS.

2. CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DE ESTUDO

O estudo foi conduzido no Centro de Especialidades Médicas (CEM), no setor de Referência de Diabetes, que passou a se chamar Serviço de Referência em tratamento de lesões vasculares periféricas em 2012, da Secretária Municipal de Saúde Pública – SESAU.

A equipe multiprofissional do local conta com 1 enfermeira estomaterapeuta, 7 técnicos de enfermagem e 1 médico vascular. A estrutura física contempla 4 salas, com média 2 macas por sala e possui 120 pacientes cadastrados. São agendados cerca de 30 pacientes para atendimento pela manhã e 15 pacientes à tarde.

Os pacientes portadores de feridas são encaminhados por médicos ou enfermeiros das unidades de saúde ao CEM via telefone. Na primeira consulta, o médico responsável examina o paciente e realiza pedido de exame para a confirmação do diagnóstico de insuficiência venosa. Após os exames, e a confirmação do quadro, o paciente retorna ao centro de curativos quinzenalmente para a realização de curativos.

Cada técnico fica responsável por resumir o tratamento em um pequeno cartão entregue ao paciente em seu primeiro curativo. Pela alta demanda de pacientes e poucos funcionários, não é possível a digitalização das informações do paciente, quanto à assistência, assim como a resposta ao tratamento o que garantiria uma avaliação e evolução registrada ainda que resumida.

É válido lembrar que não existe um protocolo de atendimento ao paciente com feridas, nem coleta de amostras microbiológicas para possíveis patógenos nas feridas classificadas como clinicamente infectadas.

3. ASPECTOS ÉTICOS

A pesquisa obteve a aprovação do Comitê de ética em Pesquisa da Universidade Católica Dom Bosco – UCDB, por meio do parecer nº **3.900.882** de **06/12/2018** (ANEXO A) e uma autorização assinada pelo Secretário Municipal de Saúde, permitindo a realização da pesquisa no local de estudo (ANEXO B).

Para atender à RESOLUÇÃO Nº 196/96 do CNS, apresentou-se aos sujeitos o TCLE sendo o início da avaliação condicionada a este consentimento. É conveniente esclarecer que não houve incentivo financeiro aos participantes. A não autorização por parte deles, não trouxe prejuízo algum no seu atendimento no Serviço de Referência em tratamento de lesões vasculares periféricas.

4. POPULAÇÃO E AMOSTRA

A população do estudo constituiu-se dos pacientes portadores de lesões venosas crônicas, atendidos por demanda espontânea nas salas de curativo da unidade de referência de Campo Grande - MS.

As amostras referiram-se aos pacientes portadores de lesões venosas no período de maio a julho de 2020, de segunda a sexta-feira no período de 7h às 11h.

4.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO NA PESQUISA

- Paciente ter idade a partir de 18 anos;
- Paciente ser diagnosticado com insuficiência venosa;
- Possuir pelo menos uma ferida, com duração igual ou superior a 3 meses, caracterizando-a como crônica (ZUBAIR; AHMAD, 2019);
- Estar em acompanhamento pelo centro de referência em lesões periféricas;

5. COLETA DE DADOS

A coleta de dados foi feita em três etapas: aceite de participação na pesquisa, entrevista para a coleta de dados sociodemográficos e clínicos e a coleta de material microbiológico. Primeiro o paciente era solicitado e confirmado se estava dentro dos critérios de inclusão na pesquisa. Após isso, era esclarecido ao paciente sobre a

pesquisa e apresentado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO C). Após o aceite e assinatura do termo, era iniciado a entrevista do paciente.

Para a entrevista, foi utilizado um roteiro estruturado (ANEXO D) contendo variáveis de interesse. O roteiro continha informações como identificação e dados sociodemográficos, antecedentes pessoais, histórico de tratamento e experiência no tratamento de feridas e características da ferida.

Já a coleta de material microbiológico foi obtida após a limpeza (com substâncias não antimicrobiana) e desbridamento, a partir do tecido de granulação viável da ferida. Para tal, foi utilizado um *swab*, no qual o mesmo foi rotacionado sobre uma área de lesão de 1cm² durante 5 segundos, pressionando de maneira o suficiente a extrair o fluido do tecido como descritas por etapas na tabela 2 (GARDNER et al., 2014; LEVINE et al., 1976).

Após isso as amostras eram corretamente identificadas com o número do paciente, data, horário, sítio anatômico da ferida e número da ferida quando necessário. Em seguida, as amostras eram encaminhadas imediatamente ao laboratório de Microbiologia da Universidade Católica Dom Bosco. Foi feito também o registro fotográfico das feridas com câmera de celular Iphone 6 (8.0 megapixels de resolução).

Tabela 2: Descrição das etapas procedimento de coleta de material microbiológico de ferida. (adaptado de FERREIRA; ANDRADE, 2006).

Procedimento de coleta do material microbiológico de feridas
1- Explicar o procedimento e finalidade da coleta;
2- Reunir o material;
3- Lavar as mãos;
4- Caçar as luvas do procedimento;
5- Remover o curativo e observar a característica do exsudato (quantidade, consistência, cor e odor);
6- Proceder à limpeza da ferida com soro fisiológico 0,9%;
7- Remover o <i>swab</i> de transporte contendo meio Stuart da sua embalagem, tomando cuidado para não tocar na haste ou na extremidade;
8- Realizar a coleta a partir do tecido de granulação, pressionando-o e rodando-o em 1 cm ² durante cinco segundos, a fim de obter o fluido do tecido;
9- Colocar o <i>swab</i> no interior do tubo com meio de transporte sem tocar a parte externa;
10- Certificar que o <i>swab</i> esteja adequadamente fechado e envolvido pelo meio de

transporte

- 11- Remover e descartar as luvas;
 - 12- Lavar as mãos;
 - 13- Identificar a amostra com número do paciente, data, horário e sítio anatômico da lesão onde se realizou a coleta;
 - 14- Encaminhar a amostra o mais rápido possível para o laboratório.
-

6. ANÁLISE LABORATORIAL

6.1 Cultura microbiológica

Ao chegar ao laboratório, os *swabs* coletados e introduzidos no meio de transporte foram colocados em 2 mL em caldo BHI (Brain Heart Infusion), processados em vórtex sendo incubados a 35°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) por 24 a 48 horas.

Após o período de incubação, os tubos que apresentaram turvação do meio de cultura foram semeados em Ágar Cromogênico a fim de isolar previamente as espécies bacterianas novamente a 35°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) por 24 a 48 horas.

Posteriormente, as amostras foram novamente isoladas no ágar Cromogênico e em Ágar Manitol e Ágar MacConkey a 35°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) por 24 a 48 horas. Após o crescimento das placas, estas foram analisadas quanto ao crescimento e características macroscópicas com intenção de obter colônias puras.

Depois de totalmente isoladas, as colônias foram novamente semeadas em meio BHI e incubadas a 35°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) por 24 horas, e encaminhadas para a identificação no laboratório de apoio.

Todas as espécies isoladas foram semeadas e transferidas para dois tubos *eppendorfs* contendo caldo BHI acrescido com 20% de glicerol e posteriormente armazenados a -20°C e a -80°C.

6.2 Identificação e perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos

A identificação das cepas bacterianas e os perfis de suscetibilidade à antimicrobianos foi obtida por meio do sistema automatizado Vitek® 2 (bioMérieux, Marcy l'Étoile, França).

O sistema Vitek® 2 (bioMérieux, Marcy l'Étoile, França) operacionaliza painéis de identificação microbiana, ao mesmo tempo que testes de sensibilidade à antimicrobianos são realizados (PROCOP et al., 2018).

Para iniciar os testes, é preparado um inóculo manualmente no qual uma alça estéril é utilizada para transferir um número suficiente de colônias de uma cultura para suspender os microrganismos em 3,0 mL de solução salina 0,45% equivalente a um padrão de turbidez de 0,5 na escala de McFarland em um tubo de ensaio (DUPONT et al., 2010; PROCOP et al., 2018).

Posteriormente, os tubos de ensaio e os cartões de identificação de bactérias Gram-positivas (GP) e Gram-negativas (GN) são inseridos no cassete Vitek® 2, e então são autoinoculados por um método de liberação a vácuo dentro do instrumento. Os cartões são automaticamente lacrados e incubados a 35,5°C. As cavidades são submetidas a rastreamento colorimétrico com leitura a cada 15 minutos. Os algoritmos do sistema analisam biopadrões dos testes para estabelecer uma identificação acurada (PROTOP et al., 2018).

Os cartões GP são usados para identificação automática de 115 táxons de bactérias Gram-positivas não formadoras de esporos mais significativas, principalmente cocos. Já os cartões GN são usados para identificação automática de 135 táxons de bacilos Gram-negativos fermentadores e não fermentadores. Ambos possuem 64 testes bioquímicos, incluindo testes de fermentação, descarboxilação e testes enzimáticos e também possuem poços para controle negativo (PINCUS, 2014).

Os resultados de identificação estão prontos para serem analisados nos cartões GP após aproximadamente 8h e os cartões GN após 10h (PINCUS, 2014)

Para teste de suscetibilidade antimicrobiana é utilizado o mesmo inóculo inicialmente preparado em tubo de ensaio. A robótica do equipamento Vitek® 2, movimenta o cassete carregado por meio das estações de leitura de códigos de barra, prepara a diluição teste, inoculação e selagem dos cartões para a posterior incubação. Cada cartão é lido a cada 15 minutos e a quantidade de luz transmitida é inversamente proporcional ao grau de crescimento alcançado. O Vitek® 2 faz análise computadorizada do crescimento nos cartões plásticos para calcular a concentração mínima inibitória (CIM) e detecta a maioria dos fenótipos dos microrganismos testados (PROTOP et al., 2018).

Os resultados são interpretados como sensíveis, intermediários ou resistentes aos agentes testados. A categoria sensível significa que a uma infecção por uma determinada espécie pode ser tratada adequadamente com a dose de agente antimicrobiana recomendada para esse tipo de infecção e espécie infectante,

enquanto que as cepas resistentes não são inibidas pelas concentrações sistêmicas dos agentes antimicrobianos geralmente atingíveis nos regimes terapêuticos normais (CLSI, 2019).

7. TRATAMENTO DE DADOS

Todos os registros de interesse foram dispostos apropriadamente em planilha eletrônica no aplicativo Microsoft Excel 2011 construindo assim um banco de dados da pesquisa. A análise descritiva foi feita baseada em frequências e proporções que teve como objetivo sintetizar e caracterizar o comportamento das variáveis de interesse. Para a mensuração da área ferida, foi utilizado o programa ImageJ 1.8.0 destinado a processamento de imagens.

RESULTADOS

1. CARACTERIZAÇÃO SOCIODEMOGRÁFICA DOS PACIENTES

Durante o período de coleta de dados nos CEM, 28 pacientes portadores de feridas venosas foram atendidos, entretanto 6 foram excluídos da pesquisa por não fazerem parte dos critérios de inclusão do estudo e 2 pacientes não aceitaram participar, formando então uma amostra de 20 pacientes neste estudo. As informações sociodemográficas destes pacientes constam na Tabela 3.

Tabela 3: Variáveis sociodemográficas dos pacientes entrevistados neste estudo.

Variáveis	N=20	%
Sexo		
Homens	8	40,0
Mulheres	12	60,0
Faixas etárias		
Abaixo de 50	4	20,0
51 — 60	5	25,0
61 — 70	4	20,0
71 — 80	5	25,0

Acima de 81	2	10,0
Cor*		
Branco	6	30,0
Preto	8	40,0
Pardo	5	25,0
Amarelo	1	5,0
Escolaridade		
Analfabeto	1	5,0
Ensino fundamental	18	90,0
Ensino médio	0	-
Ensino superior	1	5,0

*se auto declaram.

Pode-se dizer que, os pacientes entrevistados neste estudo, são a maior frequência do sexo feminino (60% N=12), apresentam em média $62,0 \pm 13,3$ são predominantemente de cor preta com nível máximo de escolaridade o ensino fundamental.

2. CARACTERIZAÇÃO DAS FERIDAS

No total, foram avaliados 20 pacientes, no qual seis possuíam duas feridas totalizando 26 feridas. Na tabela 4 é mostrado que o tempo de ferida com maior frequência entre os pacientes do estudo foi de 6 à 12 meses, com 2 à 10 cm², localizadas no terço inferior da perna e entre os 20 pacientes entrevistados, apenas um já havia coletado amostra biológica da ferida em algum momento do tratamento (Tabela 4).

Tabela 4: Características das feridas dos pacientes avaliados neste estudo.

Variáveis	N=26	%
Tempo de ferida (meses)		
Menos de 6	2	7,6
6 — 12	8	30,8
13 — 36	5	19,2
37 — 60	6	23,2
Mais que 60	5	19,2
Área da lesão		
Sem bordas delimitadas	8	30,8
Até 1 cm ²	6	23,1

2 — 10cm ²	9	34,6
Maiores que 11cm ²	3	11,5

Localização anatômica das feridas

Maléolo interno (MI)	7	26,92
Maléolo externo (ME)	3	11,53
Terço inferior da perna (TIP)	12	46,15
Dorsal de pé (DP)	4	15,4

De acordo com as entrevistas também foi constatado que o curativo mais utilizado nas feridas venosas dos pacientes atendidos no CEM são o metronidazol e a dexametasona respectivamente (FIGURA 7).

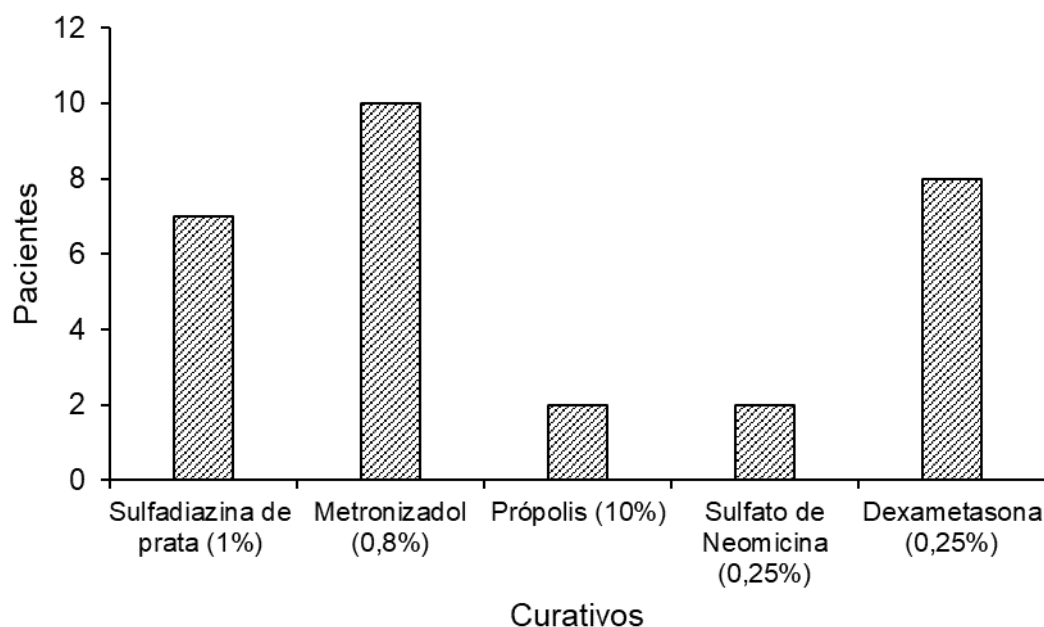


Figura 6: Distribuição dos tratamentos tópicos utilizados nas feridas dos pacientes atendidos neste estudo.

3. IDENTIFICAÇÃO BACTERIANA

Dentre as 26 feridas, apenas uma não houve crescimento. Ao total foram isoladas 15 espécies totalizando 45 isolados (Tabela 5).

Tabela 5: Bactérias isoladas de feridas venosas crônicas (N=45) dos pacientes (N=20) atendidos no CEM, Campo Grande (MS) organizadas por ordem de frequência.

Espécie bacteriana	N=45	%
<i>Staphylococcus aureus</i>	11	24,4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9	20,0
<i>Proteus mirabilis</i>	6	13,3
<i>Enterococcus faecalis</i>	5	11,1
<i>Providencia stuartii</i>	3	6,7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	4,4
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1	2,2
<i>Bacillus altitudinis/pumilus</i>	1	2,2
<i>Corynebacterium striatum</i>	1	2,2
<i>Enterococcus spp.</i>	1	2,2
<i>Morganella morganii</i>	1	2,2
<i>Providencia spp</i>	1	2,2
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	2,2
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1	2,2
<i>Serratia marcescens</i>	1	2,2
Total	45	100

De acordo com as análises, é possível observar que as bactérias Gram-negativas foram as mais frequentemente isoladas (53,7% N=24) em comparação com as bactérias Gram-positivas (46,6% N=21). As espécies mais prevalentes foram *Staphylococcus aureus* (24,4% N=11) e *Pseudomonas aeruginosa* (20,0% N=9).

De todas as espécies bacterianas identificadas, 2 espécies foram compartilhadas por 9 pacientes, 2 espécies foram compartilhadas com 4 ou mais pacientes, 1 espécie foi compartilhada com 2 pacientes e as demais foram isoladas apenas uma vez (Figura 8).

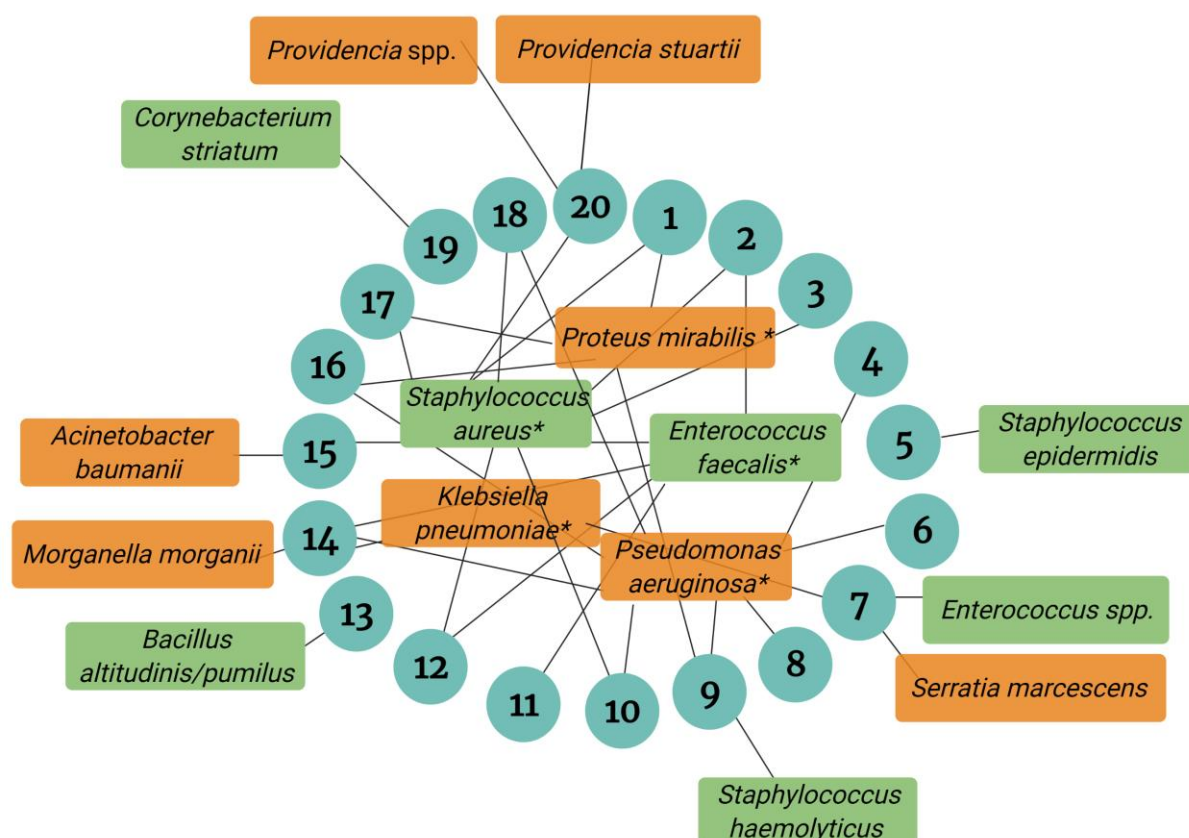


Figura 7: Espécies bacterianas isoladas em 20 pacientes (números de 1 a 20) demonstrada pelo Gráfico de rede. Em verde e laranja estão representadas as bactérias Gram-positivas e -negativas, respectivamente. O asterisco corresponde as bactérias que foram isoladas em mais de um paciente.

A maioria das amostras foram polimicrobianas (66,7% N=16) correspondendo ao número médio de 2,25 isolados bacterianos por amostra.

4. PERFIL DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS

Ao total foram identificadas 26 bactérias resistentes sendo 14 e 12 cepas Gram-positivas e -negativas, respectivamente (Tabela 6), juntas correspondendo 57,8% das 45 bactérias resistentes isoladas e identificadas.

Tabela 6: Identificação das bactérias resistentes (RE) e multirresistentes (MR) isoladas em feridas venosas crônicas.

Paciente	Ferida	Isolado	Classe farmacológica	RE ou MR
1	1	<i>Proteus mirabilis</i>	Imipenem	RE
2	1	<i>Staphylococcus aureus</i>	Penicilina G	RE
3	1	<i>Staphylococcus aureus</i>	Penicilina G e Gentamicina	RE
4	1	<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA*	Penicilina G, Oxacilina e Rifamicina	MR
5	1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Oxacilina, Levofloxacina e Sulfametoxazol/ Trimetroprim	RE
7	1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Ampicilina	RE
9	1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gentamicina e Ciprofloxacina	RE
9	1	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	Oxacilina e Sulfametoxazol/ Trimetroprim	RE
9	1	<i>Proteus mirabilis</i>	Ampicilina	RE
10	1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> *	Piperaciclina/ Tazobactama, Gentamicina e Ciprofloxacina	MR
10	1	<i>Staphylococcus aureus</i>	Penicilina G e Clindamicina	RE
12	1	<i>Staphylococcus aureus</i>	Penicilina G	RE
12	2	<i>Staphylococcus aureus</i>	Penicilina G	RE
14	1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Ampicilina e Ciprofloxacina	RE
14	1	<i>Morganella morganii</i>	Ampicilina	RE
15	2	<i>Staphylococcus aureus</i>	Penicilina G	RE
15	2	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Sulfametoxazol/ Trimetroprim	RE

18	1	<i>Staphylococcus aureus</i>	Penicilina G	RE
18	1	<i>Staphylococcus aureus</i>	Penicilina G	RE
19	1	<i>Corynebacterium striatum</i>	Penicilina, Clindamicina e Ciprofloxacina	RE
20	1	<i>Staphylococcus aureus</i>	Penicilina G	RE
20	1	<i>Providencia spp.</i>	Ampicilina	RE
20	1	<i>Providencia stuartii</i>	Imipenem e Gentamicina	RE
20	2	<i>Providencia stuartii</i>	Imipenem	RE
20	2	<i>Providencia stuartii</i>	Ampicilina	RE
20	2	<i>Staphylococcus aureus</i>	Penicilina G	RE

*Bactérias multirresistentes de acordo a classificação de MAGIORAKOS e colaboradores (2012).

Dentre as Gram-positivas 92,9% (N=13) correspondem ao gênero *Staphylococcus* spp., incluindo *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* e 7,1% (N=1) correspondeu a *C. striatum*. Todas as 11 cepas de *S. aureus* se mostraram resistentes a Penicilina G e uma foi identificada como MRSA e MDR de acordo com os a classificação de MAGIORAKOS e colaboradores (2012).

Em relação as espécies do gênero *Staphylococcus* spp. tais como *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* se mostraram resistentes a oxacilina, sulfametoxazol/trimetoprim e a gentamicina. Já *C. striatum* se mostrou resistente a penicilina, a clindamicina e a ciprofloxacina.

Diante da Tabela 7 é possível observar que nenhuma bactéria Gram-positiva foi resistente a teicoplanina, linezolina, vancomicina, tetraciclina e a daptomicina. *S. aureus* foi a única bactéria que apresentou uma cepa com resistência intermediária a clindamicina.

Tabela 7: Percentuais de resistência (R), intermediária (I) e sensível (S) para as bactérias Gram-positivas isoladas de feridas venosas crônicas.

Bactérias Gram-positivas												
Staphylococcus aureus (N=11)				Staphylococcus epidermidis (N=1)			Staphylococcus haemolyticus (N=1)			Corynebacterium striatum (N=1)		
Agentes antimicrobianos	Perfil de resistência bacteriana											
	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S
LNZ	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100
TEC	0	0	100	*	*	*	*	*	*	*	*	*
VAN	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100
TIG	0	0	100	0	0	100	0	0	100	*	*	*
PEN	90,9	0	9,1	*	*	*	*	*	*	100	0	0
OXA	9,1	0	90,9	100	0	0	100	0	0	*	*	*
GEN	9,1	0	90,9	0	0	100	0	0	100	*	*	*
LVX	9,1	0	90,9	100	0	0	0	0	100	*	*	*
SUT	0	0	100	100	0	0	100	0	0	*	*	*
RIF	9,1	0	90,9	0	0	100	0	0	100	*	*	*
DAP	0	0	100	0	0	100	0	0	100	*	*	*
CLIN	18,2	9,1	72,7	0	0	100	0	0	100	100	0	0
TET	*	*	*	*	*	*	*	*	*	0	0	100
CIP	*	*	*	*	*	*	*	*	*	100	0	0

Abreviações: LNZ: Linezolida; TEC: Teicoplanina; VAN: Vancomicina; TIG: Tigeciclina; PEN: Penicilina; OXA: Oxacilina; GEN: Gentamicina; LVX: Levofloxacina; SUT: Sulfametoxazol/ Trimetoprim; RIF: Rifampicina; DAP: Daptomicina; CLI: Clindamicina; TET: Tetraciclina; CIP: Ciprofloxacina.

Entre as bactérias Gram-negativas, a diversidade de espécies resistentes foi maior, *P. stuartii*, *P. mirabilis*, *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa* e *A. baumannii*, *M. morganii* e *Providencia* spp se mostraram resistentes.

P. stuartii representou 25% (N=3) das cepas resistentes entre as Gram-negativas, demonstrando resistência entre imipenem, gentamicina e a ampicilina.

Foi possível observar que as cepas dentro do mesmo gênero apresentaram perfis de resistência a classes farmacológicas distintas, mas também compartilharam resistência entre as cepas. Por exemplo, a cepa 1 e 2 de *P. aeruginosa* mostraram resistência à gentamicina e ciprofloxacina em comum, mas a cepa 2 foi também resistente à piperaciclina/ tazobactama sendo considerada MDR. O mesmo aconteceu com *K. pneumoniae*, na qual ambas as cepas foram resistentes a ampicilina, mas a cepa 2 também foi resistente à ciprofloxacina. *P. mirabilis* se mostrou resistente à imipenem e à ampicilina, assim como *M. morganii* e *Providencia* spp.

A partir da Tabela 8, é possível observar que apenas *K. pneumoniae* e *Providencia* spp. foram resistentes à ampicilina droga essa usada na terapêutica de quase todos os gêneros do estudo. Apenas uma cepa de *P. aeruginosa* foi resistente à piperaciclina/ tazobactama. Todas as bactérias testadas com cefalosporinas se apresentaram sensíveis à droga.

Tabela 8: Percentuais de resistência (R), intermediária (I) e sensível (S) para as bactérias Gram-negativas isoladas de feridas venosas crônicas.

Agentes antimicrobianos		Bactérias Gram-negativas																				
		<i>P.mirabilis</i> (N=6)			<i>P. aeruginosa</i> (N=9)			<i>K. pneumoniae</i> (N=2)			<i>M.morganii</i> (N=1)			<i>A. baumannii</i> (N=1)			<i>P. stuartii</i> (N=3)			<i>Providencia</i> spp. (N=1)		
		Perfil de resistência bacteriana																				
		R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S
AMP	16,7	0	83,3	*	*	*	100	0	0	100	0	0	*	*	*	33,3	0	66,7	100	0	0	
ABP	0	0	100	*	*	*	100	0	0	100	0	0	*	*	*	33,3	0	66,7	100	0	0	
PPT	0	0	100	11,1	0	88,9	0	0	100	0	0	100	*	*	*	0	0	100	0	0	100	
CRX	0	0	100	*	*	*	0	0	100	0	0	100	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
CAZ	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	*	*	*	0	0	100	0	0	100	
CRO	0	0	100	*	*	*	0	0	100	0	0	100	*	*	*	0	0	100	0	0	100	
CPM	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	*	*	*	0	0	100	0	0	100	
ERT	0	0	100	*	*	*	0	0	100	0	0	100	*	*	*	0	0	100	0	0	100	
IMP	0	83,3	16,7	0	0	100	0	0	100	0	100	0	*	*	*	0	100	0	*	*	*	
MER	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	
AMI	0	0	100	0	11,1	88,9	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	
GEN	0	0	100	22,2	0	77,8	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	66,7	33,3	0	100	0	
CIP	0	0	100	22,8	0	77,8	50,0	0	50,0	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	0	
SUT	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	100	0	0	*	*	*	*	*	*	

Abreviações: AMP: Ampicilina; ABP: Ampicilina+Sulbactam; PPT: Piperaciclina/ Tazobactama; CRX: Cefuroxima; CAZ: Ceftazidima; CRO: Ceftriaxona; CPM: Cefepime; ERT: Ertapenem; IMP: Imipenem; MER: Meropenem; AMI: Amicacina; GEN: Gentamicina; CIP: Ciprofloxacina; SUT: Sulfametoxazol/ Trimetoprim. Os * indicam que a classe terapêutica não é indicada para determinado grupo bacteriano. *** A bactéria *Serratia marcescens* não foi incluída na tabela, por se apresentar sensível a todos os agentes antimicrobianos testados.

DISCUSSÃO

1. CARACTERIZAÇÃO SOCIODEMOGRÁFICA DOS PACIENTES E DAS FERIDAS

No que se refere ao sexo, nosso estudo houve uma sutil prevalência do sexo feminino, o que corrobora com os dados encontrados no trabalho de Nóbrega e colaboradores (2011). Porém a controvérsias quando avaliado na literatura, a prevalência entre homens e mulheres com feridas de etiologia venosa. Um estudo de 2013 apontou que hormônios estrógenos atenuam a inflamação de feridas, estimulam a atividade dos queratinócitos e fibroblastos dérmicos, aumentando a angiogênese enquanto os andrógenos desempenham um papel antagonista, sendo o sexo masculino mais predisponente a ulceração venosa (LANCEROTTO et al., 2013).

Em relação a idade, houve uma maior prevalência de indivíduos com mais de 60 anos de idade, podendo especular que idade seja um fator vital para o desencadeamento de IV e por consequência feridas. Idosos apresentam a pele mais fina, frágil e associada a patologia de fluxo venoso anormal, estas características predispõe esse grupo ser mais afetado por feridas crônicas (LANCEROTTO et al., 2013; WU et al., 2018), contudo, outras pesquisas tem apresentado dados controversos apontando a existência de feridas em adultos (NÓBREGA et al., 2011), característica essa também observada no presente estudo.

Ademais, foi observado características muito semelhantes aos trabalhos de Eberhardt e colaboradores (2015) e Santos (2017) como baixo nível de escolaridade e etnia parda e/ ou negra em portadores de feridas crônicas. Estes mostram que baixa escolaridade faz se presente, pois este fator parece interferir na compreensão quanto a assimilação à saúde, especialmente aos cuidados quanto a feridas (EBERHARDT et al., 2015; SANTOS, 2017). Além disso, DUA e HELLER (2017) mostraram que há uma disparidade entre a população caucasiana e população negra em vários aspectos, seja pela

população ser mais pobre, ter menos acesso aos cuidados de saúde e a educação, mas também percebeu-se que feridas em afro-americanos levam mais tempo para cicatrizar, além de serem mais recorrentes quando comparadas aos brancos.

Com relação a caracterização de feridas, foi observado que 23,1% dos pacientes possuíam mais de uma ferida, característica comum na IV. Houve predomínio de feridas com tempo de 6 a 12 meses, 2 a 10 cm² e localizadas no terço inferior da perna. Todas essas informações corroboram como SCOTTON, de acordo com autor, feridas em IV podem ser múltiplas, com localização variável, mas principalmente na região distal das pernas. Em relação à área da ferida, nosso estudo corrobora com os achados de MARIA e colaboradores (2012), mostrando que FVC com áreas inferiores a 12 cm² são mais prevalentes.

Não há um consenso sobre o que seria uma ferida pequena, média ou grande. A avaliação da área de feridas é um motivo preocupante, pois feridas que possuem áreas relativamente grandes demandam mais tempo para a devida cicatrização (MARIA et al., 2012), contudo (PESSANHA, 2015) mostra em seu trabalho que há uma surpreendente associação entre feridas de 1 a 15 cm² com desenvolvimento de infecções .

Após a avaliação do paciente e de sua ferida, um plano de tratamento deve ser iniciado. A remoção do tecido desvitalizado deve ser realizada e aplicação do curativo ideal deve ser utilizado para auxiliar o processo de cicatrização e prevenir infecções (ABRIGO; MCARTHUR; KINGSHOTT, 2014; ANDREU et al., 2015). Atualmente o curativo usado nos pacientes deste estudo, são gases e bandagens associadas a uma pomada. Segundo BROWN e colaboradores (2018) estes curativos são os mais simples e proporcionam uma leve barreira contra o estresse mecânico, no entanto, esse tipo de material pode aderir ao leito da ferida causando uma frequente e difícil substituição.

Em relação as pomadas utilizadas, foi observado que o metronidazol e a dexametasona são utilizados com mais frequência. O metronidazol é antibiótico, usado como agente tópico, tem ação contra bactérias anaeróbicas por meio do impedimento da replicação microbiana (AKHMETOVA et al., 2016; BOWLER; DUERDEN; ARMSTRONG, 2006) e permanece ativa na presença

de exsudato contudo pode ser absorvida sistemicamente além de causar reações de hipersensibilidade (LIPSKY; HOEY, 2009).

Já a dexametasona, é um fármaco anti-inflamatório esteroide, tem sido associada de maneira negativa a estudo sobre feridas, no qual mostram que feridas tratadas com dexametasona há um retardo na deposição de colágeno durante a cicatrização e também um aumento no tamanho das ferida atrasando a cicatrização (DEBIASI, 2017; FARIA, 2013).

2. IDENTIFICAÇÃO BACTERIANA

Em nosso estudo 92,3% (N=24) das feridas tiveram cultura positiva se assemelhando ao trabalho de Chaudhary e colaboradores (2019). Altas taxas de isolamento bacteriano indicam que a infecção de feridas podem ser um problema sério em estabelecimentos de saúde e exige medidas para controle (MAMA; ABDISSA; SEWUNET, 2014). Bactérias em feridas exercem efeitos negativos de várias maneiras, mas principalmente pela contribuição no recrutamento de células imunes resultando em resposta excessiva prejudicial para a cicatrização (MANGONI; MCDERMOTT; ZASLOFF, 2016; SCALISE et al., 2016). Infecções graves em feridas caso não sejam tratadas adequadamente podem levar à amputação e sepse, aumentando o risco de mortalidade (SCALISE et al., 2016).

Verificamos que as bactérias mais isoladas nas feridas venosas crônicas foram *S. aureus* (24,4%) seguida de *P. aeruginosa* (20,0%) corroborando com um estudo de 2015 (WONG; MANIKAM; MUNIANDY, 2015). Muitos estudos são conflitantes sobre a relevância dessas espécies no retardo da cicatrização de feridas. A maioria dos estudos mostra que *S. aureus* não possui relação com o tempo e tamanho da ferida (HALBERT; ROHR; JOPP-MCKAY, 1992; LANTIS et al., 2013; NJ et al., 1996) no entanto há estudos que a associem a cicatrização retardada (MOFFATT et al., 2010; ROSDAHL, 1996).

O mesmo acontece com *P. aeruginosa*, trabalhos como os de (GJØDSBØL et al., 2006; HALBERT; ROHR; JOPP-MCKAY, 1992; LANTIS et al., 2013) associam feridas maiores e retardo do processo cicatricial, enquanto outros mostram que há uma maior probabilidade de cicatrização normal com a presença da bactéria (MOFFATT et al., 2010; TUTTLE et al., 2011).

Negut e colaboradores reforçam informações similares ao nosso estudo, mostrando que em feridas crônicas *S. aureus* e *P. aeruginosa* são geralmente encontradas crescendo em co-culturas (NEGUT et al., 2018). De acordo com DOWD et al. (2008), comorbidades associadas a fisiopatologia de um hospedeiro pode ditar a ecologia de uma ferida, fazendo com que cada tipo tenha um consórcio bacteriano único. Em seu trabalho, propõe que a compreensão desta ecologia pode revelar estratégias para o gerenciamento clínico exclusivo, sendo capaz de colapsar cada tipo de sistema, acelerando assim o processo de cicatrização.

Feridas crônicas geralmente são polimicrobianas, o que causa sinergia entre as espécies (NEGUT; GRUMEZESCU; GRUMEZESCU, 2018). É visto que em média de duas a cinco espécies bacterianas residem simultaneamente em uma ferida (ZHAO et al., 2013), circunstância confirmada no nosso estudo, no qual 66,7% (N=16) das nossas amostras foram polimicrobianas, correspondendo a um número médio de 2,25 espécies por amostra. O trabalho de (YADAV et al., 2017) mostra que colonização polimicrobiana induz uma resposta do hospedeiro diferente daquela induzida por apenas uma espécie, indicando que infecções polimicrobianas podem ser mais virulentas e consequentemente modificam o curso clínico da doença.

Novamente nenhum teste estatístico foi realizado para a confirmação, mas foi notado que feridas polimicrobianas possuem tempo maior quando comparadas a feridas que apresentaram apenas uma espécie bacteriana, incluindo as que são maiores. Entretanto é notável, que a ferida do paciente 14, foi a que apresentou 4 espécies diferentes possuindo apenas 5 meses de lesão.

DOWD e colaboradores (2008), trazem a hipótese de que certas espécies bacterianas não são capazes de manter infecções por conta própria, mas se essas espécies co-existirem em misturas adequadas, elas podem agir simbioticamente, formando até mesmo um biofilme patogênico contribuindo para cronicidade de uma ferida.

É visto que patógenos como *P. aeruginosa* podem desempenhar funções necessárias para a patogênese, favorecendo o crescimento e desenvolvimento de outras bactérias concomitantemente (DOWD et al., 2008), o que foi visto no paciente 14, onde foi co-cultivada *P. aeruginosa* com *M. morganii*, *K.*

pneumoniae e *E. faecalis*, no paciente 9 no qual foi visto *P. aeruginosa* associado *S. haemolyticus* e *P. mirabilis* e no paciente 15, a associação entre *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *A. baumannii*, combinações estas não observadas em outras feridas embora a associação não seja comprovada estatisticamente.

Muitos estudos tem se concentrado na carga bacteriana de feridas clinicamente infectadas, no entanto a diversidade bacteriana em uma ferida pode ser reveladora (DOWD et al., 2008; JOHNSON et al., 2018), alguns estudos concluem que feridas que não cicatrizam eram mais propensas a ter uma maior diversidade microbiana, mas em contrapartida, outros mostram que essa condição não pode ser usada para prever a cura.

Embora *S. aureus* e *P. aeruginosa* tenham sido as bactérias mais comuns identificadas, outras da família *Enterobacteriaceae* também foram isoladas como *P. mirabilis*, *S. marcescens*, *M. morganii* e *K. pneumoniae*, todas consideradas típicas em feridas apesar da relevância clínica ser incompreendida (KRUMKAMP et al., 2020). Outras também como *S. epidermidis* e *Corynebacterium spp.* não possuem um papel claro no contexto de feridas crônicas, ambas são consideradas não patogênicas, residentes da microbiota normal da pele humana (CONSORTIUM, 2013; SILVA et al., 2014), segundo DOWD e colaboradores (2008) estas talvez não sejam a causa de feridas crônicas, mas são agentes comumente encontrados em infecções crônicas.

Estudos como o de JOHNSON et al. (2018) mostram que o microbioma da pele pode variar de acordo com várias características, seja pela localização anatômica, idade, sexo, se o indivíduo mora em área urbana ou rural. No mesmo trabalho, é apresentado o conceito de pan-microbioma, sugerindo que a população de microrganismos pode variar entre países e grupos raciais, mostrando que estas diferenças podem interferir no progresso da cicatrização e consequentemente no tratamento de feridas reforçando a necessidade da expansão do conhecimento sobre a microbiologia de feridas em diversas populações.

3.PERFIL DE SUSCETIBILIDADE BACTERIANA AOS AGENTES ANTIMICROBIANOS

A cultura e subsequente o estudo microbiológico como a identificação das bactérias e o perfil de suscetibilidade aos agentes antimicrobianos são importantes no contexto de FVC, essas informações podem nos fornecer direções para subsidiar condutas terapêuticas (MARTINS, 2008; PIRES et al., 2018). Apesar da escassez desses dados, os antibióticos sistêmicos tem sido usados deliberadamente nessas situações (MARTIN; ZENILMAN; LAZARUS, 2010).

Embora possam ser úteis quando a invasão local ou infecção sistêmica, há poucas evidências que apoiam o seu uso no tratamento de feridas crônicas (MARTIN; ZENILMAN; LAZARUS, 2010), entretanto, neste estudo, os isolados bacterianos foram testados quanto ao seu padrão de sensibilidade as drogas recomendados para o tratamento clínico de acordo com o (CLSI, 2019) afim de obter a caracterização do perfil de sensibilidade aos agente antimicrobianos.

O primeiro ponto que deve ser discutido é em relação a natureza polimicrobiana das FVC observadas neste estudo, no qual 66,7% apresentaram o crescimento de mais de uma bactéria em uma única ferida. Feridas polimicrobianas fornecem um ambiente favorável para a troca genética entre as bactérias, além de favorecer a formação de biofilmes o que a longo prazo, torna a antibioticoterapia ainda mais difícil (BESSA et al., 2015; WONG; MANIKAM; MUNIANDY, 2015).

Biofilmes são caracterizados por serem altamente resistentes ao tratamento com antibióticos. Experimentos *in vitro* e *in vivo* mostram que a concentração inibitória mínima e a concentração bactericida mínima para células biofilmáticas são geralmente muito maiores (10 a 1000 vezes) quando comparadas as células planctônicas (WU et al., 2015). Outro aspecto importante, é a questão relacionada a chamadas células persistentes de um biofilme, que possuem tolerância a antibióticos. Esse fenótipo é transitório e altamente refratário a terapia antimicrobiana permitindo que quando o uso dos agentes antimicrobianos sejam suspensos as células persistentes podem regenerar o biofilme (CLINTON; CARTER, 2015).

O segundo ponto a ser discutido é a questão de resistência múltipla aos antimicrobianos, nosso trabalho diferiu de muitos estudos como o de BAYRAM e colaboradores (2012) e o de MAMA; ABDISSA; SEWUNET (2014) no qual apenas 46,1% dos isolados se mostraram resistência múltipla. Em nosso

trabalho, foram isoladas também 2 cepas que se mostraram resistentes à três classes ou mais de antibióticos configurando MDR de acordo com MAGIORAKOS et al. (2012), são elas, *S. aureus* resistente à penicilina G, oxacilina e rifamicina e *P. aeruginosa* resistente à piperaciclina/ tazobactama, gentamicina e a ciprofloxacina.

A resistência de *S. aureus* à oxacilina (MRSA) é particularmente importante, em nosso estudo não houve uma porcentagem expressiva (9,1% N=1) comparada ao todo, mas MRSA vem se tornando um patógeno cada vez mais comum em feridas principalmente as crônicas (BESSA et al., 2015). Em 1961, foi isolada pela primeira vez no Reino Unido, a primeira MRSA e desde então várias cepas se tornaram MDR em todo o mundo (MOLTON et al., 2013).

As *S. aureus* apresentaram resistência à penicilina G (91,9%) significativamente a mais do que todos os antibióticos testados. O primeiro *S. aureus* produtor de penicilinase foi descrito em 1944 por KIRBY. Em 1969, um estudo conduzido por JESSEN e colaboradores (1969) já revelava uma alta ocorrência de cepas resistentes à penicilina em isolados hospitalares e isolados provindos de comunidade chegando a 70% e desde então *S. aureus* resistente à penicilina tem sido relatado em todo mundo (WONG; MANIKAM; MUNIANDY, 2015).

Ambas as drogas, oxacilina e penicilina G fazem parte do grupo dos antibióticos β -lactâmicos (FAIR; TOR, 2014). Estas drogas atuam na inibição da última etapa da síntese de peptidoglicano que forma a parede celular, os alvos para a ação dessa droga são as proteínas de ligação a penicilina (PBPs) que por sua vez, levam a respostas de estresse e causam processos autolíticos dentro da célula bacteriana (PANDEY; CASCELLA, 2020).

Este resultado é de grande significância visto que os agentes β -lactâmicos são as drogas de escolha no tratamento de infecções de pele e tecidos moles causadas por *Staphylococcus* spp. (PANDEY; CASCELLA, 2020). Apesar disso, as cepas de bactérias Gram-positivas apresentaram-se pouco resistentes as drogas testadas diferentemente do trabalho de (BESSA et al., 2015) em que as bactérias Gram-positivas isoladas também de feridas se mostraram majoritariamente resistentes.

Em relação ao perfil de resistência da bactéria Gram-negativa mais prevalente no estudo, *Pseudomonas aeruginosa* se mostrou parcialmente

resistente a piperaciclina/ tazobactama, gentamicina e ciprofloxacina. Estes resultados estão de acordo com o estudo de DI DOMENICO e colaboradores (2017) apesar de atualmente a ciprofloxacina e a gentamicina serem os antibióticos mais eficazes contra essa espécie envolvida em infecções de feridas (MAMA; ABDISSA; SEWUNET, 2014).

P. aeruginosa é intrinsecamente resistente a muitos antibióticos, principalmente os β -lactâmicos como as penicilinas, aminopenicilinas, cefalosporinas, e também a trimetopim e as quinolonas (BESSA et al., 2015) o trabalho em questão relata que esta espécie se mostrou altamente resistente aos carbapenêmicos e cefalosporinas de 3º geração, característica não encontrada em nosso estudo. Além do mais, *P. aeruginosa* é conhecida por sua capacidade de adquirir rapidamente resistências adicionais, de modo que juntamente com a resistência intrínseca pode levar a falhas terapêuticas (LUPO; HAENNI; MADEC, 2018).

Dentre a família *Enterobacteriaceae* o perfil de resistência aos antimicrobianos foi variável, sendo a maioria sensível as drogas testadas mas, algumas apresentaram resistência aos β -lactâmicos principalmente ao grupo das ampicilinas e ampicilinas associadas aos inibidores de β -lactamase, diferentemente de outros autores como de (PERIM et al., 2015), no qual a família *Enterobacteriaceae* foi altamente resistente a maioria dos antibióticos testados.

Com exceção, de *Proteus mirabilis* todas as bactérias, mostraram ao menos um fenótipo resistente a ampicilina e ampicilina+sulbactam. De acordo com o levantamento de (MCCOY; SEBTI; KUYUMJIAN, 2017), este é o agente número um na lista de indicações médicas quando relacionadas a infecções de pele e tecidos moles causados por Gram-negativos.

Cabe destacar a importância deste dado, pois espécies como *Providencia* spp., *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae* entre outras, ao serem expostas aos β -lactâmicos, esses agentes podem desencadear uma cascata de eventos que levam a produção da enzima β -lactamase AmpC (MIZRAHI et al., 2020; TAMMA et al., 2019), podendo ocasionar a falha do tratamento com agentes que originalmente pareciam eficientes (DANGELO et al., 2016).

CONCLUSÃO

No presente trabalho foi confirmado que *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* são as bactérias mais prevalentes em feridas crônicas de etiologia venosa e, portanto, as espécies mais importantes a serem consideradas pelos médicos para decisões terapêuticas.

Em relação ao perfil de suscetibilidade bacteriana aos antimicrobianos, foi demonstrado que para bactérias Gram-positivas e -negativas, as cepas com maior destaque foram resistentes em sua maioria aos β -lactâmicos.

Portanto conclui-se que é necessário avaliar rotineiramente as diferentes bactérias em feridas afins de conhecer seus padrões de suscetibilidade aos antibióticos para o planejamento da terapia adequada de feridas venosas, minimizando os custos relacionados a saúde pública e privada assim como, o processo cicatricial no tempo adequado visando melhorar a qualidade de vida dos pacientes.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, Mohamed; UÇKAY, Ilker; LIPSKY, Benjamin A. In diabetic foot infections antibiotics are to treat infection, not to heal wounds. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, [S. l.], v. 16, n. 6, p. 821–832, 2015. DOI: 10.1517/14656566.2015.1021780.
- ABRIGO, Martina; MCARTHUR, Sally L.; KINGSHOTT, Peter. Electrospun nanofibers as dressings for chronic wound care: Advances, challenges, and future prospects. **Macromolecular Bioscience**, [S. l.], v. 14, n. 6, p. 772–792, 2014. DOI: 10.1002/mabi.201300561.
- AKHMETOVA, Alma; SALIEV, Timur; ALLAN, Iain U.; ILLSLEY, Matthew J.; NURGOZHIN, Talgat; MIKHALOVSKY, Sergey. A Comprehensive Review of Topical Odor-Controlling Treatment Options for Chronic Wounds. **Journal of Wound, Ostomy and Continence Nursing**, [S. l.], v. 43, n. 6, p. 598–609, 2016. DOI: 10.1097/WON.0000000000000273.
- ALMEIDA, Willian Albuquerque De. **Impacto das feridas na qualidade de vida de pessoas atendidas na rede primária de saúde**. 2015. [S. l.], 2015.
- ANDREU, Vanesa; MENDOZA, Gracia; ARRUEBO, Manuel; IRUSTA, Silvia. Smart dressings based on nanostructured fibers containing natural origin antimicrobial, anti-inflammatory, and regenerative compounds. **Materials**, [S. l.], v. 8, n. 8, p. 5154–5193, 2015. DOI: 10.3390/ma8085154.
- ANTUNES, L. Caetano M.; FERREIRA, Rosana B. R.; BUCKNER, Michelle M. C.; FINLAY, B. Brett. Quorum sensing in bacterial virulence. **Microbiology**, [S. l.], v. 156, n. 8, p. 2271–2282, 2010. DOI: 10.1099/mic.0.038794-0.
- AYUK, Sandra Matabi; ABRAHAMSE, Heidi; HOURELD, Nicolette Nadene. The Role of Matrix Metalloproteinases in Diabetic Wound Healing in relation to Photobiomodulation. **Journal of Diabetes Research**, [S. l.], v. 2016, 2016. DOI: 10.1155/2016/2897656.
- BADER, Mazen S.; ALAVI, Afsaneh. Management of Hospitalized Patients with Diabetic Foot Infections. **Hospital Practice**, [S. l.], v. 42, n. 4, p. 111–125, 2014. DOI: 10.3810/hp.2014.10.1148.
- BASSO, Pauline et al. Pseudomonas aeruginosa Pore-Forming Exolysin and Type IV Pili Cooperate To Induce Host Cell Lysis. **mBio**, [S. l.], v. 8, n. 1, p. 1–16, 2017. DOI: 10.1128/mBio.02250-16. Disponível em: <https://mbio.asm.org/content/8/1/e02250-16>.
- BAYRAM, Yasemin; PARLAK, Mehmet; AYPAK, Cenk; BAYRAM, Irfan. Three-year review of bacteriological profile and antibiogram of burn wound isolates in Van, Turkey. **International Journal of Medical Sciences**, [S. l.], v. 10, n. 1, p. 19–23, 2012. DOI: 10.7150/ijms.4723.
- BESSA, Lucinda J.; FAZII, Paolo; DI GIULIO, Mara; CELLINI, Luigina. Bacterial isolates from infected wounds and their antibiotic susceptibility pattern: Some remarks about wound infection. **International Wound Journal**, [S. l.], v. 12, n. 1, p. 47–52, 2015. DOI: 10.1111/iwj.12049.
- BOATENG, Joshua; CATANZANO, Ovidio. Advanced Therapeutic Dressings for Effective Wound Healing - A Review. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, [S. l.], v. 104, n. 11, p. 3653–3680, 2015. DOI: 10.1002/jps.24610.
- BOWLER, P. G.; DUERDEN, B. I.; ARMSTRONG, D. G. Wound Microbiology and Associated Approaches to Wound Management. **TRAFFIC International**, [S. l.], v. 14, n. 2. The purpose of this study was to investigate whether young

- soccer players change their physiological responses according to the different sizes of a pitch for 3-a-side and 4-a-games (SSG). Sixteen young soccer players (age 14.2 +/-0.6 yrs; height 1, p. 35, 2006. DOI: 10.1128/CMR.14.2.244.
- BROWN, Matthew S.; ASHLEY, Brandon; KOH, Ahyeon. Wearable technology for chronic wound monitoring: Current dressings, advancements, and future prospects. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, [S. l.], v. 6, n. APR, p. 1–21, 2018. DOI: 10.3389/fbioe.2018.00047.
- CHAUDHARY, Noman A.; MUNAWAR, Muhammad D.; KHAN, Muhammad T.; REHAN, Kausar; SADIQ, Abdullah; TAMEEZ-UD-DIN, Ahsan; BHATTI, Hamza Waqar; RIZVI, Zuhair Ali. Epidemiology , Bacteriological Profile , and Antibiotic Sensitivity Pattern of Burn Wounds in the Burn Unit of a Tertiary Care Hospital. [S. l.], v. 11, n. 6, p. 1–9, 2019. DOI: 10.7759/cureus.4794.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing 29th Edition. CLSI standard M100.**, 2019.
- CLINTON, Allie; CARTER, Tammy. Chronic Wound Biofilms: Pathogenesis and Potential Therapies. **Laboratory Medicine**, [S. l.], v. 46, n. 4, p. 277–284, 2015. DOI: 10.1309/lmbnswkui4jpn7so.
- CONSORTIUM, The Human Microbiome Project. Structure, Function and Diversity of the Healthy Human Microbiome. [S. l.], v. 486, n. 7402, p. 207–214, 2013. DOI: 10.1038/nature11234.
- COOPER, Alan J.; WEYRICH, Laura S.; DIXIT, Shreya; FARRER, Andrew G. The skin microbiome: Associations between altered microbial communities and disease. **Australasian Journal of Dermatology**, [S. l.], v. 56, n. 4, p. 268–274, 2015. DOI: 10.1111/ajd.12253.
- DANGELO, Ryan G.; JOHNSON, Jennifer K.; BORK, Jacqueline T.; HEIL, Emily L. Treatment options for extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) and AmpC-producing bacteria. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, [S. l.], v. 17, n. 7, p. 953–967, 2016. DOI: 10.1517/14656566.2016.1154538.
- DAS, Subhamoy; BAKER, Aaron B. Biomaterials and nanotherapeutics for enhancing skin wound healing. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, [S. l.], v. 4, n. OCT, p. 1–20, 2016. DOI: 10.3389/fbioe.2016.00082.
- DE ALMEIDA GONÇALVES SACHETT, Jacqueline; DA SILVA MONTENEGRO, Christielle. Perfil epidemiológico dos pacientes com feridas crônicas atendidos pelo “Programa Melhor em Casa”. **ESTIMA, Brazilian Journal of Enterostomal Therapy**, [S. l.], p. 1–9, 2019. DOI: 10.30886/estima.v17.737_pt.
- DE OLIVEIRA, Aline Costa; DE MACÊDO ROCHA, Daniel; BEZERRA, Sandra Marina Gonçalves; ANDRADE, Elaine Maria Leite Rangel; DOS SANTOS, Ana Maria Ribeiro; NOGUEIRA, Lídy Tolstenko. Quality of life of people with chronic wounds. **ACTA Paulista de Enfermagem**, [S. l.], v. 32, n. 2, p. 194–201, 2019. DOI: 10.1590/1982-0194201900027.
- DEBIASI, Marcelina Mezzomo. **COMPARAÇÃO DO EFEITO DA DEXAMETASONA , DICLOFENACO E ASSOCIAÇÃO NA EVOLUÇÃO DA CICATRIZAÇÃO DE COMPARAÇÃO DO EFEITO DA DEXAMETASONA , DICLOFENACO.** 2017. [S. l.], 2017.
- DEEP, Antariksh; CHAUDHARY, Uma; GUPTA, Varsha. Quorum sensing and Bacterial Pathogenicity: From Molecules to Disease. **Journal of Laboratory Physicians**, [S. l.], v. 3, n. 01, p. 004–011, 2011. DOI: 10.4103/0974-

2727.78553.

DI DOMENICO, Enea Gino et al. Biofilm is a major virulence determinant in bacterial colonization of chronic skin ulcers independently from the multidrug resistant phenotype. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. l.], v. 18, n. 5, 2017. DOI: 10.3390/ijms18051077.

DOWD, Scott E.; WOLCOTT, Randall D.; SUN, Yan; MCKEEHAN, Trevor; SMITH, Ethan; RHOADS, Daniel. Polymicrobial nature of chronic diabetic foot ulcer biofilm infections determined using bacterial tag encoded FLX amplicon pyrosequencing (bTEFAP). **PLoS ONE**, [S. l.], v. 3, n. 10, 2008. DOI: 10.1371/journal.pone.0003326.

DRAGO, Francesco; GARIAZZO, Lodovica; CIONI, Margherita; TRAVE, Ilaria; PARODI, Aurora. The microbiome and its relevance in complex wounds. **European Journal of Dermatology**, [S. l.], v. 29, n. 1, p. 6–13, 2019. DOI: 10.1684/ejd.2018.3486.

DUA, Anahita; HELLER, Jennifer A. Advanced Chronic Venous Insufficiency: Does Race Matter? **Vascular and Endovascular Surgery**, [S. l.], v. 51, n. 1, p. 12–16, 2017. DOI: 10.1177/1538574416682175.

DUPONT, C.; BILLE, E.; DAUPHIN, B.; BERETTI, J. L.; ALVAREZ, A. S.; DEGAND, N.; FERRONI, A. Identification of clinical coagulase-negative staphylococci, isolated in microbiology laboratories, by matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry and two automated systems. **Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, [S. l.], v. 16, n. 7, 2010. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2009.03036.x.

EBERHARDT, Thaís Dresch; LIMA, Suzinara Beatriz Soares De; LOPES, Luis Felipe Dias; GRACIÓLI, Jocelaine Cardoso; FONSECA, Graciele Gorete Portella Da; RIBEIRO, Lorena Foureaux. PERFIL SOCIODEMOGRÁFICO E CLÍNICO DE PACIENTES COM ÚLCERAS VENOSAS ACOMPANHADOS EM AMBULATÓRIO: ESTUDO TRANSVERSAL DESCRITIVO. **Revista de enfermagem da UFSM**, [S. l.], v. 6, n. 4, p. 539–547, 2015. DOI: 10.5902/2179769223054.

EMING, Sabine A.; MARTIN, Paul; TOMIC-CANIC, Marjana. Wound repair and regeneration: Mechanisms, signaling, and translation. **Science Translational Medicine**, [S. l.], v. 6, n. 265, 2014. DOI: 10.1126/scitranslmed.3009337.

FAIR, Richard J.; TOR, Yitzhak. Antibiotics and Bacterial Resistance in the 21st Century. **Perspectives in Medicinal Chemistry**, [S. l.], p. 25–64, 2014. DOI: 10.4137/PMC.S14459.Received.

FARIA, Roberta Delessa. EFEITOS DA INFUSÃO DE CÉLULAS TRONCO MESENQUIMAIS SOBRE A CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM RATOS WISTAR IMUNOSSUPRIMIDOS COM DEXAMETASONA. 2013. [S. l.], 2013.

FERNÁNDEZ, Begoña Blanco. Prevención de insuficiencia venosa en atención primaria: estudio preliminar. [S. l.], 2019.

FERREIRA, Adriano Menis; ANDRADE, Denise De. Swab de feridas: recomendável? [S. l.], p. 400–406, 2006.

FILLOUX, Alain. Protein secretion systems in *Pseudomonas aeruginosa*: An essay on diversity, evolution, and function. **Frontiers in Microbiology**, [S. l.], v. 2, n. JULY, p. 1–21, 2011. DOI: 10.3389/fmicb.2011.00155.

FINDLEY, Keisha; GRICE, Elizabeth A. The Skin Microbiome: A Focus on Pathogens and Their Association with Skin Disease. **PLoS Pathogens**, [S. l.], v. 10, n. 11, p. 10–12, 2014. DOI: 10.1371/journal.ppat.1004436.

- GARDNER, Sue E.; HALEEM, Ambar; JAO, Ying Ling; HILLIS, Stephen L.; FEMINO, John E.; PHISITKUL, Phinit; HEILMANN, Kristopher P.; LEHMAN, Shannon M.; FRANCISCUS, Carrie L. Cultures of diabetic foot ulcers without clinical signs of infection do not predict outcomes. **Diabetes Care**, [S. l.], v. 37, n. 10, p. 2693–2701, 2014. DOI: 10.2337/dc14-0051.
- GJØDSBØL, Kristine; CHRISTENSEN, Jens Jørgen; KARLSMARK, Tonny; JØRGENSEN, Bo; KLEIN, Bjarke M.; KROGFELT, Karen A. Multiple bacterial species reside in chronic wounds: a longitudinal study. **International Wound Journal**, [S. l.], v. 3, n. 3, 2006.
- GRICE, Elizabeth A.; SEGRE, Julia A. The skin microbiome. **Nature Reviews Microbiology**, [S. l.], v. 9, n. 4, p. 244–253, 2011. DOI: 10.1038/nrmicro2537.
- GRICE, Elizabeth A.; SEGRE, Julia A. Interaction of the Microbiome with the Innate Immune Response in Chronic Wounds. *In*: **Bone**. [s.l.: s.n.]. v. 23p. 55–68. DOI: 10.1007/978-1-4614-0106-3_4. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3624763/pdf/nihms412728.pdf>.
- GUO, S.; DIPIETRO, L. A. Factors affecting wound healing. **Journal of Dental Research**, [S. l.], v. 89, n. 3, p. 219–229, 2010. DOI: 10.1177/0022034509359125.
- HALBERT, Anne R.; ROHR, James B.; JOPP-MCKAY, Andrea. The Effect of Bacterial Colonization on Venous Ulcer Healing. **Australasian Journal of Dermatology**, [S. l.], v. 33, n. 2, p. 75–80, 1992. DOI: 10.1111 / j.1440-0960.1992.tb00083.x.
- HOLMES, Casey J.; PLICHTA, Jennifer K.; GAMELLI, Richard L.; RADEK, Katherine A. Dynamic role of host stress responses in modulating the cutaneous microbiome: Implications for wound healing and infection. **Advances in Wound Care**, [S. l.], v. 4, n. 1, p. 24–37, 2015. DOI: 10.1089/wound.2014.0546.
- JESSEN, Ove; ROSENDAL, Kirsten; BULOW, Per; FABER, Viggio; ERIKSEN, Knud Riewerts. Changing staphylococci and staphylococcal infections: A ten-year study of bacteria and cases of bacteremia. **The New England Journal of Medicine**, [S. l.], v. 281, n. 12, p. 627–635, 1969.
- JOHNSON, Taylor R.; GÓMEZ, Belinda I.; MCINTYRE, Matthew K.; DUBICK, Michael A.; CHRISTY, Robert J.; NICHOLSON, Susannah E.; BURMEISTER, David M. The cutaneous microbiome and wounds: New molecular targets to promote wound healing. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. l.], v. 19, n. 9, 2018. DOI: 10.3390/ijms19092699.
- KIRBY, William M. M. Extraction of a highly potent penicillin inactivator from penicillin resistant staphylococcal. **Science**, [S. l.], p. 452–453, 1944. DOI: 10.1001/jama.1913.04340230030019.
- KOLAR, Paula; SCHMIDT-BLEEK, Katharina; SCHELL, Hanna; GABER, Timo; TOBEN, Daniel; SCHMIDMAIER, Gerhard; PERKA, Carsten; BUTTGEREIT, Frank; DUDA, Georg N. The early fracture hematoma and its potential role in fracture healing. **Tissue Engineering - Part B: Reviews**, [S. l.], v. 16, n. 4, p. 427–434, 2010. DOI: 10.1089/ten.teb.2009.0687.
- KOTWAL, Girish J.; CHIEN, Sufan. Macrophage Differentiation in Normal and Accelerated Wound Healing. **Macrophages Origin, Functions and Biointervention**, [S. l.], v. 62, p. 3–22, 2017. DOI: 10.1007/978-3-319-54090-0. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-54090-0>.
- KRISHNASWAMY, Venkat Raghavan; MINTZ, Dvir; SAGI, Irit. Matrix metalloproteinases: The sculptors of chronic cutaneous wounds. **Biochimica et**

Biophysica Acta - Molecular Cell Research, [S. l.], v. 1864, n. 11, p. 2220–2227, 2017. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2017.08.003.

KRUMKAMP, Ralf et al. Spectrum of antibiotic resistant bacteria and fungi isolated from chronically infected wounds in a rural district hospital in Ghana. [S. l.], p. 1–12, 2020.

KRZYSZCZYK, Paulina; SCHLOSS, Rene; PALMER, Andre; BERTHIAUME, François. The role of macrophages in acute and chronic wound healing and interventions to promote pro-wound healing phenotypes. **Frontiers in Physiology**, [S. l.], v. 9, n. MAY, p. 1–22, 2018. DOI: 10.3389/fphys.2018.00419.

LABROPOULOS, Nicos. How Does Chronic Venous Disease Progress from the First Symptoms to the Advanced Stages? A Review. **Advances in Therapy**, [S. l.], v. 36, p. 13–19, 2019. DOI: 10.1007/s12325-019-0885-3.

LANCEROTTO, Luca; LAGO, Gianluigi; PESCARINI, Elena; BASSETTO, Franco; VINDIGNI, Vincenzo. Therapeutic effects of pregnancy on a chronic skin ulcer. **Eplasty**, [S. l.], v. 13, p. e29, 2013.

LANTIS, John C.; MARSTON, William A.; FARBER, Alik; KIRSNER, Robert S. The influence of patient and wound variables on healing of venous leg ulcers in a randomized controlled trial of growth-arrested allogeneic keratinocytes and fibroblasts. [S. l.], p. 433–439, 2013.

LEVINE, Norman S.; LINDBERG, Robert B.; MADSON, Arthur D.; PRUITT, Basil A. The quantitative swab culture and smear: a quick, simple method for determining the number of viable aerobic bacteria on open wounds. **The Journal of Trauma**, [S. l.], v. 16, n. 2, p. 84–94, 1976.

LIPSKY, Benjamin A.; HOEY, Christopher. Topical Antimicrobial Therapy for Treating Chronic Wounds. **Clinical Infectious Diseases**, [S. l.], v. 49, n. 10, p. 1541–1549, 2009. DOI: 10.1086/644732.

LUPO, Agnese; HAENNI, Marisa; MADEC, Jean-Yves. Antimicrobial Resistance in *Acinetobacter* spp. and *Pseudomonas* spp. In: **Antimicrobial Resistance in Bacteria from Livestock and Companion Animals**. [s.l.] : American Society of Microbiology, 2018. v. 11p. 377–393. DOI: 10.1128/microbiolspec.ARBA-0007-2017. Disponível em: http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/11/6/05-0266_article.htm.

MAGIORAKOS, A. P. et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **Clinical Microbiology and Infection**, [S. l.], v. 18, n. 3, p. 268–281, 2012. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1198743X14616323>.

MAHLAPUU, Margit; HÅKANSSON, Joakim; RINGSTAD, Lovisa; BJÖRN, Camilla. Antimicrobial peptides: An emerging category of therapeutic agents. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, [S. l.], v. 6, n. DEC, p. 1–12, 2016. DOI: 10.3389/fcimb.2016.00194.

MAKRANTONAKI, Evgenia; WLASCHEK, Meinhard; SCHARFFETTER-KOCHANKEK, Karin. Pathogenesis of wound healing disorders in the elderly. **JDDG - Journal of the German Society of Dermatology**, [S. l.], v. 15, n. 3, p. 255–275, 2017. DOI: 10.1111/ddg.13199.

MAMA, Mohammedaman; ABDISSA, Alemseged; SEWUNET, Tsegaye. Antimicrobial susceptibility pattern of bacterial isolates from wound infection and their sensitivity to alternative topical agents at Jimma University. [S. l.], 2014. DOI: 10.1186 / 1476-0711-13-14 PMCID: PMC4017222.

- MANGONI, Maria Luisa; MCDERMOTT, Alison M.; ZASLOFF, Michael. Antimicrobial peptides and wound healing: Biological and therapeutic considerations. **Experimental Dermatology**, [S. l.], v. 25, n. 3, p. 167–173, 2016. DOI: 10.1111/exd.12929.
- MANSILHA, Armando; SOUSA, Joel. Pathophysiological mechanisms of chronic venous disease and implications for venoactive drug therapy. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. l.], v. 19, n. 6, p. 1–21, 2018. DOI: 10.3390/ijms19061669.
- MARIA, Sílvia et al. Úlceras venosas : caracterização clínica e tratamento em usuários atendidos em rede ambulatorial. [S. l.], v. 65, n. 4, p. 637–644, 2012.
- MARSTON, William; TANG, Jennifer; KIRSNER, Robert S.; ENNIS, William. Wound Healing Society 2015 update on guidelines for venous ulcers. **Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society**, [S. l.], v. 24, n. 1, p. 127–135, 2016. DOI: 10.1111/wrr.12395.
- MARTIN, Jo M.; ZENILMAN, Jonathan M.; LAZARUS, Gerald S. Molecular microbiology: New dimensions for cutaneous biology and wound healing. **Journal of Investigative Dermatology**, [S. l.], v. 130, n. 1, p. 38–48, 2010. DOI: 10.1038/jid.2009.221.
- MARTINS, Marlene Andrade. **Avaliação de feridas crônicas em pacientes atendidos em unidades básica de saúde de Goiânia**. 2008. [S. l.], 2008.
- MCCOY, Dorothy; SEBTI, Rani; KUYUMJIAN, Arpi G. An evaluation of selected indications and appropriateness of ampicillin/sulbactam, an unrestricted antimicrobial, at a single center. **P and T**, [S. l.], v. 42, n. 3, p. 189–194, 2017.
- MCDANIEL, Jodi C.; ROY, Sashwati; WILGUS, Traci A. Neutrophil activity in chronic venous leg ulcers—A target for therapy? **Bone**, [S. l.], v. 23, n. 1, p. 1–7, 2008. DOI: 10.1038/jid.2014.371.
- MIZRAHI, A.; DELERUE, T.; MOREL, H.; LE MONNIER, A.; CARBONNELLE, E.; PILMIS, B.; ZAHAR, J. R. Infections caused by naturally AmpC-producing Enterobacteriaceae: Can we use third-generation cephalosporins? A narrative review. **International Journal of Antimicrobial Agents**, [S. l.], v. 55, n. 2, p. 105834, 2020. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2019.10.015. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S092485791930295X>.
- MOFFATT, C. J.; DOHERTY, D. C.; SMITHDALE, R.; FRANKS, P. J. Clinical predictors of leg ulcer healing. **British Journal of Dermatology**, [S. l.], p. 51–58, 2010. DOI: 10.1111/j.1365-2133.2009.09397.x.
- MOLTON, James S.; TAMBYAH, Paul A.; ANG, Brenda S. P.; LING, Moi Lin; FISHER, Dale A. The global spread of healthcare-associated multidrug-resistant bacteria: A perspective from Asia. **Clinical Infectious Diseases**, [S. l.], v. 56, n. 9, p. 1310–1318, 2013. DOI: 10.1093/cid/cit020.
- MURPHREE, Rose W. Impairments in Skin Integrity. **Nursing Clinics of North America**, [S. l.], v. 52, n. 3, p. 405–417, 2017. DOI: 10.1016/j.cnur.2017.04.008. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0029646517300592>.
- NAKAGAMI, Gojiro; SANADA, Hiromi; SUGAMA, Junko; MOROHOSHI, Tomohiro; IKEDA, Tsukasa; OHTA, Yasunori. Detection of Pseudomonas aeruginosa quorum sensing signals in an infected ischemic wound: An experimental study in rats. **Wound Repair and Regeneration**, [S. l.], v. 16, n. 1, p. 30–36, 2008. DOI: 10.1111/j.1524-475X.2007.00329.x.
- NEGUT, Irina; GRUMEZESCU, Valentina; GRUMEZESCU, Alexandru Mihai. Treatment strategies for infected wounds. **Molecules**, [S. l.], v. 23, n. 9, p. 1–

23, 2018. DOI: 10.3390/molecules23092392.

NJ, Trengove; MC, Stacey; GECHIE, Mc; S, Mata. Qualitative bacteriology and leg ulcer healing. *[S. l.]*, v. 5, n. 6, p. 277–280, 1996. DOI: 10.12968 / jowc.1996.5.6.277.

NÓBREGA, Walkíria Gomes Da; MELO, Gabriela de Sousa Martins; COSTA, Isabelle Katherinne Fernandes; DANTAS, Daniele Vieira; MACÊDO, Eurides Araújo Bezerra De; TORRES, Gilson de Vasconcelos; MENDES, Felismina Rosa Parreira. Changes in patients' quality of life with venous ulcers treated at the outpatient clinic of a university hospital. **Revista de Enfermagem UFPE on line**, *[S. l.]*, v. 5, n. 2, p. 220, 2011. DOI: 10.5205/reuol.11100-10319-1-le.0502201110.

O'MEARA, Susan; AL-KURDI, Deyaa; OLOGUN, Yemisi; OVINGTON, Liza G.; MARTYN-ST JAMES, Marriisa; RICHARDSON, Rachel. Antibiotics and antiseptics for venous leg ulcers. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, *[S. l.]*, v. 2014, n. 1, 2014. DOI: 10.1002/14651858.CD003557.pub5.

OLIVEIRA, Adriana Cristina De; SILVA, Rafael Souza; DÍAZ, Mario E. Piscocoy.; IQUIAPAIZA, Robert Aldo. Resistência bacteriana e mortalidade em um centro de terapia intensiva. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, *[S. l.]*, v. 18, n. 6, p. 1152–1160, 2010. DOI: 10.1590/S0104-11692010000600016.

OLIVEIRA, Beatriz Guitton Renaud Baptista De; NOGUEIRA, Glycia de Almeida; CARVALHO, Magali Rezende De; ABREU, Alcione Matos De. Caracterização dos pacientes com úlcera venosa acompanhados no Ambulatório de Reparo de Feridas. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, *[S. l.]*, v. 14, n. 1, p. 156–163, 2012. DOI: 10.5216/ree.v14i1.10322.

PANDEY, Neelanjana; CASCELLA, Marco. Beta Lactam Antibiotics. *In: StatPearls Publishing*. [s.l: s.n.].

PATRULEA, Viorica; BORCHARD, Gerrit; JORDAN, Olivier. An update on antimicrobial peptides (Amps) and their delivery strategies for wound infections. **Pharmaceutics**, *[S. l.]*, v. 12, n. 9, p. 1–39, 2020. DOI: 10.3390/pharmaceutics12090840.

PERCIVAL, Steven L.; HILL, Katja E.; MALIC, Sladjana; THOMAS, David W.; WILLIAMS, David W. Antimicrobial tolerance and the significance of persister cells in recalcitrant chronic wound biofilms. **Wound Repair and Regeneration**, *[S. l.]*, v. 19, n. 1, p. 1–9, 2011. DOI: 10.1111/j.1524-475X.2010.00651.x.

PERCIVAL, Steven L.; HILL, Katja E.; WILLIAMS, David W.; HOOPER, Samuel J.; THOMAS, Dave W.; COSTERTON, John W. A review of the scientific evidence for biofilms in wounds. **Wound Repair and Regeneration**, *[S. l.]*, v. 20, n. 5, p. 647–657, 2012. DOI: 10.1111/j.1524-475X.2012.00836.x.

PEREIRA, Sônia G.; MOURA, João; CARVALHO, Eugénia; EMPADINHAS, Nuno. Microbiota of chronic diabetic wounds: Ecology, impact, and potential for innovative treatment strategies. **Frontiers in Microbiology**, *[S. l.]*, v. 8, n. SEP, p. 1–12, 2017. DOI: 10.3389/fmicb.2017.01791.

PERIM, Michele Cezimbra; BORGES, Joelma da Costa; CELESTE, Stela Regina Costa; ORSOLIN, Ederson de Freitas; MENDES, Rafael Rocha; MENDES, Gabriella Oliveira; FERREIRA, Roumayne Lopes; CARREIRO, Solange Cristina; DA SILVA PRANCHEVICIUS, Maria Cristina. Aerobic bacterial profile and antibiotic resistance in patients with diabetic foot infections. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, *[S. l.]*, v. 48, n. 5, p. 546–554, 2015. DOI: 10.1590/0037-8682-0146-2015.

PESSANHA, Fernanda Soares. **RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA E**

TIPAGEM MOLECULAR DE *Pseudomonas aeruginosa* ISOLADAS DE FERIDAS CRÔNICAS. 2015. [S. l.], 2015.

PESSANHA, Fernanda Soares; BARRETO, Bruna Maiara Ferreira; OLIVERIA, Beatriz Guitton Renaud Baptista De; PAULA, Geraldo Renato De; TEIXEIRA, Lenise Arneiro; MARQUES, Ana Clara Silveira. Aspectos fenotípicos e genotípicos de *Pseudomonas aeruginosa* em feridas crônicas: estudo descritivo. **Online Brazilian Journal of Nursing**, [S. l.], v. 14, p. 385–388, 2015.

PFALZGRAFF, Anja; BRANDENBURG, Klaus; WEINDL, Günther. Antimicrobial peptides and their therapeutic potential for bacterial skin infections and wounds. **Frontiers in Pharmacology**, [S. l.], v. 9, n. MAR, p. 1–23, 2018. DOI: 10.3389/fphar.2018.00281.

PHILIP G. BOWLER. Bacterial Growth Guideline: Reassessing its Clinical Relevance in Wound Healing. **Wound management and prevention**, [S. l.], v. 66, p. 37–39, 2012.

PINCUS, David H. MICROBIAL IDENTIFICATION USING THE BIOMÉRIEUX VITEK® 2 SYSTEM. **Encyclopedia of Rapid Microbiological Methods**, [S. l.], v. 2, 2014.

PINHEIRO DA SILVA, Fabiano; MACHADO, Marcel Cerqueira César. Antimicrobial peptides: Clinical relevance and therapeutic implications. **Peptides**, [S. l.], v. 36, n. 2, p. 308–314, 2012. DOI: 10.1016/j.peptides.2012.05.014.

PIRES, Bruna Maiara Ferreira Barreto; DE OLIVEIRA, Fernanda Pessanha; DE OLIVEIRA, Beatriz Guitton Renaud Baptista; FULY, Patrícia Dos Santos Claro; FERREIRA-CARVALHO, Bernadete Teixeira; DE PAULA, Geraldo Renato; TEIXEIRA, Lenise Arneiro. Monitoring and Molecular Characterization of *Staphylococcus aureus* Isolated from Chronic Wounds. **Advances in Skin and Wound Care**, [S. l.], v. 31, n. 9, p. 399–405, 2018. DOI: 10.1097/01.ASW.0000540069.99416.a6.

PROCOP, Gary W.; CHURCH, Deirdre L.; HALL, Geraldine S.; JANDA, William M.; KONEMAN, Elmer W.; SCHRECKENBERGER, Paul C.; WOODS, Gail L. **Diagnóstico Microbiológico- Koneman**. 7. ed. [s.l.: s.n.].

RAFFETTO, Joseph D. Pathophysiology of Chronic Venous Disease and Venous Ulcers. **Surgical Clinics of North America**, [S. l.], v. 98, n. 2, p. 337–347, 2018. DOI: 10.1016/j.suc.2017.11.002. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039610917301974>.

RAMOS, Iara Barbosa. **Caracterização dos pacientes com feridas de uma unidade de referencia em Campo Grande- MS**. 2019. [S. l.], 2019.

RIBEIRO, M; CORTINA, MA. As principais bactérias de importância clínica e os mecanismos de resistência no contexto das Infecções Relacionadas à Assistência a Saúde (IRAS). **Revista Científica UMC**, [S. l.], v. 1, n. 1, p. 1–12, 2016.

ROSDAHL, Vibeke Thamdrup. Bacterial colonization and healing of venous leg ulcers. **APMIS**, [S. l.], n. 13, p. 895–899, 1996.

SANFORD, James A.; GALLO, Richard L. Functions of the skin microbiota in health and disease. **Seminars in Immunology**, [S. l.], v. 25, n. 5, p. 370–377, 2013. DOI: 10.1016/j.smim.2013.09.005.

SANTLER, Bettina; GOERGE, Tobias. Chronic venous insufficiency – a review of pathophysiology, diagnosis, and treatment. **JDDG - Journal of the German Society of Dermatology**, [S. l.], v. 15, n. 5, p. 538–556, 2017. DOI:

10.1111/ddg.13242.

SANTOS, Michelle Caroline. EFETIVIDADE DO POLIHEXAMETILENO-BIGUANIDA (PHMB) NA REDUÇÃO DO BIOFILME EM FERIDAS CRÔNICAS: REVISÃO SISTEMÁTICA. [S. l.], p. 86, 2017. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/54778/R - D - MICHELLE CAROLINE SANTOS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

SCALISE, A.; BIANCHI, A.; TARTAGLIONE, C.; BOLLETA, E.; PIERANGELI, M.; TORRESETTI, M.; MARAZZI, M.; BENEDETTO, G. Di. Microenvironment and Microbiology of Skin Wounds: The role of Bacterial Biofilms and Related Factors. **Seminars in Vascular Surgery**, [S. l.], 2016. DOI: 10.1053/j.semvascsurg.2016.01.003.

SCOTTON, Marília Formentini; MIOT, Hélio Amante; ABBADE, Luciana Patricia Fernandes. Factors that influence healing of chronic venous leg ulcers: a retrospective cohort. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, [S. l.], v. 89, n. 3, p. 414–422, 2014. DOI: 10.1590/abd1806-4841.20142687. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-05962014000300414&lng=en&tling=en.

SILVA, Víctor; MARCOLETA, Alicia; SILVA, Viviana; FLORES, Dángelo; APARICIO, Teresa; ABURTO, Isabel; LATRACH, Cecilia. Prevalencia y perfil de susceptibilidad antimicrobiana en bacterias aisladas de úlceras crónicas infectadas en adultos. [S. l.], p. 155–162, 2014.

SO, Mary; KHIMANI, Namrata; NGYUEN, Michael. Chronic Venous Insufficiency. In: **Pain Medicine**. Cham: Springer International Publishing, 2017. p. 497–499. DOI: 10.1007/978-3-319-43133-8_132. Disponível em: http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-43133-8_132.

STALLARD, Yvonne. When and How to Perform Cultures on Chronic Wounds? **Journal of Wound, Ostomy and Continence Nursing**, [S. l.], v. 45, n. 2, p. 179–186, 2018. DOI: 10.1097/WON.0000000000000414.

TAMMA, Pranita D.; DOI, Yohei; BONOMO, Robert A.; JOHNSON, J. Kristie; SIMNER, Patricia J. A Primer on AmpC β -Lactamases: Necessary Knowledge for an Increasingly Multidrug-resistant World. **Clinical Infectious Diseases**, [S. l.], v. 69, n. 8, p. 1446–1455, 2019. DOI: 10.1093/cid/ciz173.

TRØSTRUP, Hannah; HOLSTEIN, Per; KARLSMARK, Tonny; MOSER, Claus; ÅGREN, Magnus S. Uncontrolled gelatin degradation in non-healing chronic wounds. **Journal of Wound Care**, [S. l.], v. 27, n. 11, p. 724–734, 2018. DOI: 10.12968/jowc.2018.27.11.724.

TUTTLE, Marie S.; MOSTOW, Eliot; MUKHERJEE, Pranab; HU, Fen Z.; MELTON-KREFT, Rachael; EHRLICH, Garth D.; DOWD, Scot E.; GHANNOUM, Mahmoud A. Characterization of bacterial communities in venous insufficiency wounds by use of conventional culture and molecular diagnostic methods. **Journal of Clinical Microbiology**, [S. l.], v. 49, n. 11, p. 3812–3819, 2011. DOI: 10.1128/JCM.00847-11.

VIDYA, Mallenahally Kusha; KUMAR, V. Girish; SEJIAN, Veerasamy; BAGATH, Madijagan; KRISHNAN, Govindan; BHATTA, Raghavendra. Toll-like receptors: Significance, ligands, signaling pathways, and functions in mammals. **International Reviews of Immunology**, [S. l.], v. 37, n. 1, p. 20–36, 2018. DOI: 10.1080/08830185.2017.1380200.

WANG, Peng-Hui; HUANG, Ben-Shian; HORNG, Huann-Cheng; YEH, Chang-Ching; CHEN, Yi-Jen. Wound healing. **Journal of the Chinese Medical Association**, [S. l.], v. 81, n. 2, p. 94–101, 2018. DOI:

- 10.1016/j.jcma.2017.11.002. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jcma.2017.11.002>.
- WITHYCOMBE, C.; PURDY, K. J.; MADDOCKS, S. E. Micro-management: curbing chronic wound infection. **Molecular Oral Microbiology**, [S. l.], v. 32, n. 4, p. 263–274, 2017. DOI: 10.1111/omi.12174.
- WOLCOTT, Randall D.; HANSON, John D.; REES, Eric J.; KOENIG, Lawrence D.; PHILLIPS, Caleb D.; WOLCOTT, Richard A.; COX, Stephen B.; WHITE, Jennifer S. Analysis of the chronic wound microbiota of 2,963 patients by 16S rDNA pyrosequencing. **Wound Repair and Regeneration**, [S. l.], v. 24, n. 1, p. 163–174, 2016. DOI: 10.1111/wrr.12370.
- WONG, Shin Yee; MANIKAM, Rishya; MUNIANDY, Sekaran. Prevalence and antibiotic susceptibility of bacteria from acute and chronic wounds in Malaysian subjects. **Journal of Infection in Developing Countries**, [S. l.], v. 9, n. 9, p. 936–944, 2015. DOI: 10.3855/jidc.5882.
- WU, Hong; MOSER, Claus; WANG, Heng Zhuang; HØIBY, Niels; SONG, Zhi Jun. Strategies for combating bacterial biofilm infections. **International Journal of Oral Science**, [S. l.], v. 7, n. July 2014, p. 1–7, 2015. DOI: 10.1038/ijos.2014.65.
- WU, Minfeng; LI, Yan; GUO, Dongjie; KUI, Gang; LI, Bin; DENG, Yu; LI, Fulun. Microbial Diversity of Chronic Wound and Successful Management of Traditional Chinese Medicine. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, [S. l.], v. 2018, 2018. DOI: 10.1155/2018/9463295.
- YADAV, Mukesh K.; CHAE, Sung Won; GO, Yoon Young; IM, Gi Jung; SONG, Jae Jun. In vitro multi-species biofilms of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* and their host interaction during in vivo colonization of an otitis media rat model. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, [S. l.], v. 7, n. APR, p. 1–21, 2017. DOI: 10.3389/fcimb.2017.00125.
- YOUN, Young Jin; LEE, Juyong. Chronic venous insufficiency and varicose veins of the lower extremities. **Korean Journal of Internal Medicine**, [S. l.], v. 34, n. 2, p. 269–283, 2019. DOI: 10.3904/kjim.2018.230.
- ZHANG, Qin; RAOOF, Mustafa; CHEN, Yu; SUMI, Yuka; SUSAL, Tolga; JUNGER, Wolfgang; BROHI, Karim; ITAGAKI, Kiyoshi; HAUSER, Carl J. Circulating Mitochondrial DAMPs Cause Inflammatory Responses to Injury. **Nature**, [S. l.], v. 464, n. 7285, p. 104–107, 2010. DOI: 10.1038/nature08780. Disponível em: <http://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=KDhrrB7j1A4C&oi=fnd&pg=PA3&dq=Responses+to+Injury&ots=n98hlAyoCk&sig=FFvyn27ypYAVj6FJ22NSW83WSOE%5Cnhttp://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=KDhrrB7j1A4C&oi=fnd&pg=PA3&dq=Responses+to+injury&ots=n98hlAyoCr&sig=>.
- ZHAO, Ge; USUI, Marcia L.; LIPPMAN, Soyeon I.; JAMES, Garth A.; STEWART, Philip S.; FLECKMAN, Philip; OLERUD, John E. Biofilms and Inflammation in Chronic Wounds. **Advances in Wound Care**, [S. l.], v. 2, n. 7, p. 389–399, 2013. DOI: 10.1089/wound.2012.0381.
- ZHAO, Ruilong; LIANG, Helena; CLARKE, Elizabeth; JACKSON, Christopher; XUE, Meilang. Inflammation in chronic wounds. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. l.], v. 17, n. 12, p. 1–14, 2016. DOI: 10.3390/ijms17122085.
- ZUBAIR, Mohammad; AHMAD, Jamal. Role of growth factors and cytokines in diabetic foot ulcer healing : A detailed review. [S. l.], 2019.

ANEXO A
A PESQUISA OBTVE A APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM
PESQUISA DA UNIVERSIDADE CATÓLICA DOM BOSCO –
UCDB

UNIVERSIDADE CATÓLICA
DOM BOSCO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: ATENÇÃO AO PACIENTE PORTADOR DE LESÕES DE PELE: INVESTIGAÇÃO MULTIFATORIAL

Pesquisador: LIZANDRA ALVARES FELIX BARROS

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 03454918.5.0000.5162

Instituição Proponente: Universidade Católica Dom Bosco

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.900.882

Apresentação do Projeto:

Estudo observacional com análise de material. justifica-se pois a maioria dos pacientes com feridas crônicas complexas tem seu tratamento no ambiente hospitalar, uma vez outros fatores como a necessidade de antibióticos, presença de co-morbidades podem agravar o caso. Nesse contexto, a evolução da lesão é diretamente influenciada pela qualidade da técnica utilizada e os produtos utilizados para cobertura da lesão, assim como a etiologia da lesão, condições do paciente entre outras. As análises realizadas procuram compreender este contexto.

Objetivo da Pesquisa:

compreender o contexto que permeia a vida do indivíduo portador de lesões de pele no ambiente hospitalar a partir da análise dos dados epidemiológicos e perfil microbiológico da lesão

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Adequados

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisadora atendeu as solicitações deste CEP, estando o projeto de acordo com as recomendações da resolução 466/12 CNS.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Recomendações do parecer:

1 - Adequar cronograma, tanto na descrição metodológica como ao final do projeto e nas

Endereço: Av. Tamandaré, 6000

Bairro: Jardim Seminário

UF: MS

Município: CAMPO GRANDE

CEP: 79.117-900

Telefone: (67)3312-3478

E-mail: cep@ucdb.br

ANEXO B

TERMO DE ACEITE DO CEM

PREFEITURA MUNICIPAL DE CAMPO GRANDE ESTADO DO MATO GROSSO DO SUL

TERMO DE PARCERIA PARA PESQUISA NA ÁREA DA SAÚDE

Considerando a importância da pesquisa na área da saúde;
Considerando a necessidade de elaborar protocolos para assegurar a qualidade dos trabalhos realizados;
Considerando resguardar questões éticas e preservar sigilo das informações constantes nas fichas/prontuários/laudos de pacientes atendidos na rede municipal de saúde;
O presente termo estabelece responsabilidades entre pesquisadores e a Secretaria Municipal de Saúde Pública:

COMPETÊNCIAS:

PESQUISADOR:

- 1) Solicitar por meio de carta de apresentação a autorização do Secretário Municipal de Saúde para realizar pesquisa, no seguinte formato:
 - Identificação do pesquisador do projeto (nome completo e do orientador);
 - Contato (telefone e e-mail);
 - Nome do projeto;
 - Objetivos;
 - Metodologia completa;
 - Assinatura do coordenador de curso e do orientador de pesquisa.

Para que a execução da pesquisa aconteça deverá entregar a esta secretaria uma cópia do parecer do Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos com o número de protocolo.

2) Em função da rotina de trabalho da SESAU agendar previamente com a área envolvida;

- 3) Garantir a citação da SESAU como fonte de pesquisa;
- 4) Disponibilizar cópia para a SESAU e quando necessário para equipe de saúde
- 5) Apresentar-se com jaleco ou crachá de identificação.

SESAU:

- 1) Fornecerá as informações para pesquisa, preservando-se a identidade e endereço do paciente;
- 2) As pessoas serão atendidas pelos técnicos de acordo com a necessidade/objetivo da pesquisa;
- 3) Os trabalhos que envolverem dados, serão enviados através de e-mail do pesquisador;
- 4) Receber o resultado final e encaminhar para o devido retorno.

Campo Grande, 22 de julho de 2019.

Kassandrea P. Zelin

Secretaria Municipal de Saúde

Kassandrea P. Zelin
Gerência de Educação Permanente
Unidade de Educação Permanente em Saúde
SGTE/SESAU/COMS

Rizandira Oliveira L. Barros

Pesquisador

ANEXO C

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado a participar como voluntário de uma pesquisa intitulada: **ATENÇÃO AO PACIENTE PORTADOR DE LESÕES DE PELE: INVESTIGAÇÃO MULTIFATORIAL**, sob coordenação da Professora Enf.a Ma LIZANDRA ALVARES FELIX BARROS, e participação dos demais membros da equipe, professora Dra. Daniele Decanine; Dr. Ludovico Migliolo, Ma. Patrícia Lira e acadêmicos.

Esta pesquisa pretende analisar o contexto que permeia a vida do indivíduo portador de lesões de pele crônicas que necessita de cuidados hospitalares e ambulatoriais por meio de uma atuação com perspectiva interdisciplinar.

Acreditamos que ela seja importante, pois permitirá reconhecer as diversas demandas dos pacientes que se encontram em tratamento e que variam conforme a patologia, grau de dependência, condições socioeconômicas, culturais, entre outros. Sua participação nesta pesquisa será voluntária e não determinará qualquer risco.

Durante todo o período da pesquisa você tem o direito de tirar qualquer dúvida ou pedir qualquer outro esclarecimento, bastando para isso entrar em contato, com algum dos pesquisadores pelos telefones relacionados ao final deste termo.

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP), da Universidade Católica Dom Bosco (UCDB), situado na Avenida Tamandaré, n. 6.000, em Campo Grande, MS, fone/fax (67) 3312-3350, por meio do Parecer nº 3.063.247 de 06/12/2018.

PROCEDIMENTO DE COLETA DE DADOS: você será convidado a participar de uma entrevista contendo dados sobre sua história clínica e relacionados ao seu cuidado de saúde. Após essa entrevista, a lesão que você possui será avaliada quanto as condições clínicas e também será coletado uma amostra de material para cultura. Essa técnica inclui esfregar suavemente (técnica não dolorosa) um swab (material parecido com cotonete) na parte interna da lesão e posteriormente, esse material será analisado no laboratório da Universidade Católica Dom Bosco e o resultado, será enviado a equipe de saúde e ficará arquivado no seu prontuário. Caso julgar necessário, você poderá solicitar uma cópia junto ao ambulatório ou pesquisador. O acesso ao resultado do seu exame será livre aos médicos, enfermeiros e demais membros da equipe de saúde que cuidam da sua saúde, e também as pessoas indicadas por você (tipo mãe, esposo, filho, etc.). Para avaliação adequada da lesão no âmbito da pesquisa, será feita documentação fotográfica da sua lesão, sem identificação da pessoa. Os pesquisadores manterão o sigilo das informações coletadas e seu nome não será citado em nenhum momento escrito ou apresentado da pesquisa (artigos, apresentações de trabalho, relatórios).

RISCOS: a execução dessa pesquisa não implicará em riscos à sua saúde e sua participação é voluntária, não sendo previsto pagamentos ou outros benefícios financeiros. Você tem garantido o direito de não aceitar participar ou de retirar sua permissão, a qualquer momento, sem nenhum tipo de prejuízo ou retaliação, além de ser mantida atualizada sobre os resultados parciais das pesquisas e caso solicitado, forneceremos todas as informações possíveis. As informações desta pesquisa serão confidenciais, e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo de sua participação. Os gastos necessários para a sua participação na pesquisa serão assumidos pelas pesquisadoras.

Assinatura dos pesquisadores:

AUTORIZAÇÃO:

Eu, _____, portador do RG _____, SSP/_____, aceito responder às questões apresentadas a mim, pelos pesquisadores do Projeto: **ATENÇÃO AO PACIENTE PORTADOR DE LESÕES DE PELE: INVESTIGAÇÃO MULTIFATORIAL**, no intuito de colaborar com a pesquisa desenvolvida. Após a leitura deste documento e ter tido a oportunidade de conversar com os pesquisadores responsáveis, para esclarecer todas as minhas dúvidas, acredito estar suficientemente informado, ficando claro para mim, que minha participação é voluntária e que posso retirar este consentimento a qualquer momento sem penalidades ou perda de qualquer benefício. Concordo com a divulgação dos resultados obtidos nesta entrevista e declaro que fui suficientemente informado sobre os objetivos da pesquisa, dos procedimentos aos quais serei submetido, bem como sobre o compromisso dos pesquisadores em manter meu anonimato.

Sem mais, assino o presente aceite.

Assinatura do voluntário e de seu representante legal (caso necessário)

Campo Grande, MS, _____ de _____, 2020.

ANEXO D

ROTEIRO DE ENTREVISTA

PROJETO: ATENÇÃO AO PACIENTE PORTADOR DE LESÕES DE PELE: INVESTIGAÇÃO MULTIFATORIAL

ORIENTADOR: DR. LUDOVICO MIGLIOLO

DOCENTE RESPONSÁVEL: MA. LIZANDRA ALVARES FÉLIX BARROS

ACADÊMICA: GIOVANNA DE PINHO PIERI

Prontuário: _____	Nº da entrevista: _____
Data: _____	Hora: _____

1- Identificação / Dados socioeconômico demográfico

Nome completo: _____

Data de nascimento: ____/____/____ Idade: _____ Sexo: _____

Cor (se declara): () branco () preto () pardo () indígena () amarelo

Estado civil: () solteiro () casado () viúvo () divorciado

Filhos: () não () sim, quantos? _____

Religião: () católico () evangélico () espírita () s/ religião () outros

Procedência: () Campo Grande () Outras cidades: _____

Escolaridade: () analfabeto () ensino fundamental () ensino médio () ensino superior

Ocupação atual: () do lar () informal () autônomo () público () privado () aposentado, quanto tempo? _____ () desempregado

Moradia: () própria () aluguel Tipo: () alvenaria () madeira () outros

Condições de moradia: () Rede de água encanada () Rede de esgoto encanado () Pavimento asfáltico

Renda: () nenhuma () ≤ 1 salário mínimo () 1 a 2 salários mínimos () 2 a 3 salários mínimos () 4 a 5 salários mínimos () ≥ 6 salários mínimos

Possui animais domésticos: () não () sim, qual (s): _____

Vacinado (s): () não () sim Costuma ir ao veterinário: () não () sim

2- Antecedentes pessoais

Doença de base: _____

Quando foi diagnosticado: _____

Usa medicamentos regularmente em domicílio? Se sim, qual? _____

Faz uso de terapia compressiva? () não () sim, frequência? _____

Alergia: () não () sim, qual (s): _____

Histórico familiar de doenças na família: () câncer de pele () doença cardíaca () doença pulmonar () outras: _____

Fuma: () não () sim, frequência: _____

Ingestão de bebida alcoólica: () não () sim, cigarros/dia: _____

3- Histórico de tratamento e experiência no tratamento de feridas

Realiza curativo em domicílio: () não () sim, quem realiza: _____

Com qual frequência troca o(s) curativo: _____

Materiais usados no curativo: _____

Quando iniciou o tratamento da ferida (s) no CEM: _____

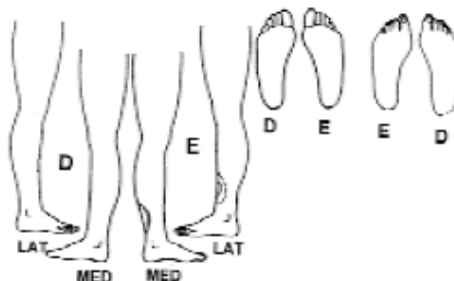
Já colheu amostra biológica da (s) ferida(s): () não () sim

Início da primeira ferida: _____

Possui quanta (s) ferida (s) atualmente: _____




Quanto tempo possui a (s) ferida (s) atual (s): _____

Localização anatômica (s) da (s) ferida (s):



Observações:

Apêndice 1

Paciente	Nº da ferida	Localização anatômica	Tempo de ferida (meses)	Área da ferida (cm ²)	Bactéria	Ferida
1	1	MI	5	-	<i>Proteus mirabilis</i>	
2	1	MI	>60	2,40	<i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Enterococcus faecalis</i>	
3	1	DP	>60	0,23	<i>Staphylococcus aureus</i>	

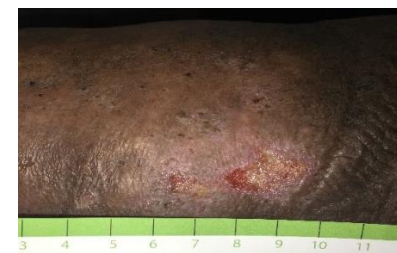
4	1	TIP	60	9,54	<i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
5	1	TIP	36	53,66	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
6	1	TIP	48	2,51	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
7	1	DP	>60	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i> e <i>Enterococcus spp.</i>



7	2	MI	12	2,48	<i>Serratia marcescens</i>
8	1	TIP	24	15,84	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
8	2	TIP	24	2,64	Não houve crescimento bacteriano
9	1	TIP	12	7,96	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus haemolyticus</i> e <i>Proteus mirabilis</i>



10	1	TIP	18	1,04	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>
----	---	-----	----	------	--



11	1	MI	6	4,15	<i>Enterococcus faecalis</i>
----	---	----	---	------	------------------------------



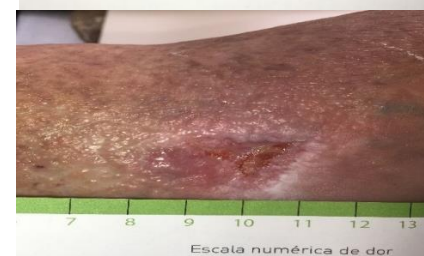
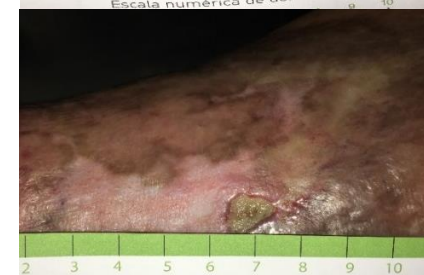
12	1	TIP	48	0,53	<i>Staphylococcus aureus</i>
----	---	-----	----	------	------------------------------



12	2	MI	48	0,97	<i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Enterococcus faecalis</i>
----	---	----	----	------	---



13	1	TIP	30	0,74	<i>Bacillus altitudinis/pumilus</i>
14	1	MI	5	0,70	<i>Morganella morganii</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> e <i>Klebsiella pneumoniae</i>
15	1	ME	12	-	<i>Enterococcus faecalis</i>
15	2	TIP	>60	0,62	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Acinetobacter baumannii</i>



16	1	ME	6	81,26	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Proteus mirabilis</i>
17	1	DP	>60	-	Não houve crescimento bacteriano
17	2	DP	6	-	<i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Proteus mirabilis</i>
18	1	ME	8	7,25	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>



19	1	MI	12	-	<i>Corynebacterium striatum</i>
20	1	TIP	60	-	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Providencia stuartii</i> e <i>Providencia</i> spp.
20	2	TIP	60	-	<i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Providencia stuartii</i>



