

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARISTELA DE PAIVA

OCORRÊNCIA DE BACTÉRIAS ANAERÓBIAS EM PROCESSOS INFECCIOSOS
DE PACIENTES INTERNADOS EM UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO EM CURITIBA

CURITIBA

2011

MARISTELA DE PAIVA

OCORRÊNCIA DE BACTÉRIAS ANAERÓBIAS EM PROCESSOS INFECCIOSOS
DE PACIENTES INTERNADOS EM UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO EM CURITIBA

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Especialista em Análises Clínicas.

Orientadora: Prof.^a Dra. Rosália Rubel

CURITIBA

2011

RESUMO

Introdução: A maioria das infecções anaeróbias é de origem endógena e polimicrobiana, sendo mais frequente em abscessos fechados devido à reduzida tensão de oxigênio e ao baixo potencial de oxirredução. **Objetivos:** O objetivo deste trabalho foi isolar e identificar os principais patógenos anaeróbios encontrados em 108 culturas, provenientes de pacientes internados no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, na cidade de Curitiba, no período de 2002 a 2010. **Materiais e métodos:** Em 408 espécimes clínicas analisadas, 108 (26,5%) foram isoladas bactérias anaeróbias. A identificação de gênero e espécie foi realizada através de provas bioquímicas e características fisiológicas de crescimento. **Resultados:** A maioria das amostras (65,7%) apresentou cultivo com bactérias anaeróbias e facultativas e o restante (34,3%), apenas anaeróbios. A amostra clínica que apresentou maior positividade foi secreção de abscesso (41,7%), seguida de secreção (20,4%), líquidos cavitários (17,6%), sangue (16,7%), biópsia (1,8%) e bile (1,8%). Das 139 bactérias anaeróbias as mais encontradas foram do grupo *Bacteroides fragilis* (60,4%), seguidas de *Peptostreptococcus* spp (13,7%), *Clostridium perfringens* (8,6%), *Bacteroides* spp (5,8%), *Clostridium* spp (5,0%), Bacilos Gram-negativos pigmentados (*Porphyromonas* e *Prevotella*) (2,9%), Bacilos Gram-positivos não esporulados (*Propionibacterium acnes*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*) (2,2%) e *Fusobacterium* spp (1,4%). **Conclusões:** Esses achados demonstram que as bactérias anaeróbias estão implicadas em vários processos infecciosos e sua identificação, apesar de pouco empregada em laboratórios clínicos, muitas vezes representa uma etapa decisiva na realização de um diagnóstico de qualidade.

PALAVRAS-CHAVE: Bactérias anaeróbias, infecção polimicrobiana, *Bacteroides fragilis*.

ABSTRACT

Introduction: Most anaerobic infections are endogenous and polymicrobial. They are more frequently found in closed abscesses due to their reduced oxygen tension and low redox potential. **Objective:** The aim of the present study was to isolate and identify the main anaerobic pathogens found in 108 cultures from inpatients of the University Hospital of the Federal University of Parana, in Curitiba-Brazil, from 2002 to 2010. **Material and method:** Anaerobic bacteria were isolated in 108 out of the 408 clinical samples analyzed (26.5%). Genus and species identification was performed by biochemical tests and physiological characteristics of growth. **Results:** Most samples (65.7%) had cultures with anaerobic and facultative bacteria, and the remainder (34.3%) only anaerobes. The clinical sample showing the highest positivity was abscess secretion (41.7%) followed by secretion (20.4%), body fluid (17.6%), blood (16.7%), biopsy (1.8%), and bile (1.8%). Out of the 139 anaerobic bacteria, the most frequently detected were those from the *Bacteroides fragilis* group (60.4%), followed by *Peptostreptococcus* spp (13.7%), *Clostridium perfringens* (8.6%), *Bacteroides* spp (5.8%), *Clostridium* spp (5.0%), pigmented Gram-negative rods (*Prevotella* and *Porphyromonas*) (2.9%), non-sporulated Gram-positive rods (*Propionibacterium acnes*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*) (2.2%), and *Fusobacterium* spp (1.4%). **Conclusions:** These findings demonstrate that anaerobic bacteria are involved in various infectious processes and that their identification, though not widely used in clinical laboratories, often constitutes a decisive stage in achieving a good quality diagnosis.

KEY WORDS: Anaerobic bacteria; polymicrobial infection; *Bacteroides fragilis*.

LISTA DE TABELAS E ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1	Ocorrência de diferentes tipos respiratórios bacterianos em processos infecciosos, incluindo bactérias anaeróbias facultativas e anaeróbias obrigatórias, em 108 amostras clínicas provenientes de pacientes do Hospital de Clínicas da UFPR de Curitiba-PR	11
TABELA 1	Relação entre as amostras clínicas (n=108) e bactérias anaeróbias (n=139) isoladas de pacientes do Hospital de Clínicas da UFPR de Curitiba-PR.....	12
TABELA 2	Distribuição por gêneros e espécies das 139 bactérias anaeróbias isoladas de 108 amostras clínicas provenientes de pacientes do Hospital de Clínicas da UFPR de Curitiba-PR	13
TABELA 3	Bactérias anaeróbias isoladas de 108 amostras clínicas provenientes de pacientes do Hospital de Clínicas da UFPR de Curitiba-PR	14

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ANC	Anaerobe Corynbacteria
ATCC	American Type Culture Collection
BBE	Bacteroides bile esculina
BHIS	Brain Heart Infusion Supplemented
BGN PIGMENTADO	Bacilo Gram negativo pigmentado
BGP ESP	Bacilo Gram positivo esporulado
BGP NÃO ESP	Bacilo Gram positivo não esporulado
CEP	Comitê de Ética e Pesquisa
CGP	Cocos Gram positivo
PEA	Phenylethyl Alcohol Ágar

1 INTRODUÇÃO

Na prática laboratorial, bactérias anaeróbias são definidas como sendo microrganismos que requerem uma reduzida tensão de oxigênio para seu crescimento e não se desenvolvem na superfície de meios de cultura em atmosfera aeróbia normal. O termo anaeróbio tem sido definido por diferentes autores com base na quantidade de oxigênio que as bactérias podem suportar. Bactérias anaeróbias estritas não apresentam crescimento na superfície de ágar em atmosfera contendo mais de 0,5% de oxigênio. Bactérias anaeróbias moderadas toleram níveis de oxigênio entre 2 a 8% ⁽²³⁾.

As bactérias anaeróbias são isoladas de todos os sítios anatômicos do corpo humano onde existe microbiota normal, formando complexos sistemas ecológicos, juntamente com outros tipos respiratórios bacterianos. A maioria das infecções por bactérias anaeróbias é geralmente de origem endógena e polimicrobiana, sendo que o número de isolados pode ser de cinco a dez organismos no mesmo processo infeccioso ⁽¹⁴⁾.

As infecções anaeróbias geralmente são causadas por bactérias anaeróbias moderadas, sendo que os principais patógenos isolados pertencem aos gêneros *Bacteroides*, *Clostridium*, *Peptostreptococcus*, *Fusobacterium* entre outros ⁽²⁾. O tratamento dessas infecções deve levar em consideração o crescimento bacteriano lento e fastidioso, a natureza polimicrobiana e as elevadas taxas de resistência a antimicrobianos. A terapia antimicrobiana empregada é principalmente empírica e baseada em dados obtidos através de estudos epidemiológicos multicêntricos ⁽²⁵⁾.

Devido à complexidade dos processos de isolamento e identificação das bactérias anaeróbias, nem todos os laboratórios pesquisam rotineiramente esses organismos. Deste modo, a ocorrência de bactérias anaeróbias em materiais clínicos, frequentemente é subestimada e os dados epidemiológicos são escassos.

2 OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo analisar a ocorrência de bactérias anaeróbias em diferentes processos infecciosos provenientes de pacientes internados do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR) em Curitiba- PR, Brasil, durante o período de 2002 a 2010.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Amostras clínicas

Este trabalho foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Clínica do Hospital de Clínicas da UFPR com o registro CEP 2346.240/2010-10. Foram analisadas 408 amostras clínicas provenientes de pacientes atendidos nos período de 2002 a 2010. Espécimes clínicos provenientes de abscessos foram coletados através de técnica cirúrgica, ou por punção asséptica, e enviadas ao laboratório em meio de transporte tipo Amies (Newprov, Curitiba, PR-Brasil). Amostras de sangue foram semeadas em frasco de hemocultura e incubadas em aparelho automatizado Bact-ALERT® (bioMeriêuex, França). Amostras sólidas foram obtidas por biópsia e enviadas ao laboratório em frasco estéril dentro de 30 minutos.

3.2 Processamento inicial

O exame direto das amostras foi realizado através da coloração de Gram, o que permitiu a avaliação das características morfotintoriais da microbiota presente no material.

3.3 Meios de cultura

As amostras foram semeadas para pesquisa de bactérias anaeróbias-facultativas em ágar sangue (5% de hemácias carneiro), ágar MacConkey e ágar chocolate. Para recuperação da maioria das bactérias anaeróbias, utilizou-se o ágar sangue infuso de cérebro e coração suplementado (Brain Heart Infusion Supplemented – BHIS). O ágar sangue álcool fenil etílico suplementado (Phenylethyl Alcohol Ágar – PEA) foi utilizado com o propósito de selecionar as bactérias anaeróbias Gram-positivas e inibir o crescimento invasivo de cepas de *Proteus* spp. Para isolamento de membros do grupo *B. fragilis* foi utilizado o ágar Bacteroides Bile Esculina (BBE), contendo gentamicina 0,1 mg/mL ⁽²⁹⁾. Os meios de cultura para pesquisa de anaeróbios foram suplementados com hemina (5 µg/mL) e menadiona (10 µg/mL para meios sólidos e 0,1 µg/mL para meios líquidos). Antes da inoculação, os meios foram mantidos em atmosfera anaeróbia, por um período de duas horas. As amostras líquidas, como líquido pleural, ascítico, pericárdico e outros, quando coletadas em volume suficiente, foram semeadas na proporção 1:10 em frascos para hemocultura, contendo 45 mL de caldo soja tripticaseína. Volumes menores foram inoculados em tubos contendo 5 mL de caldo tioglicolato suplementado e repicados para meios sólidos após 48 horas de incubação.

3.4 Condições de incubação

A temperatura de incubação estabelecida para os materiais clínicos analisados foi 35°C e o período de incubação de 24 a 48 horas para recuperação de bactérias anaeróbias facultativas e até cinco dias para anaeróbios. O ágar MacConkey e o ágar sangue foram incubados em atmosfera de aerobiose, enquanto que o ágar chocolate foi incubado em atmosfera com 5 a 10% de gás carbônico. Os meios de cultivo para anaeróbios foram incubados em jarra bacteriológica. A atmosfera de anaerobiose foi obtida no interior da jarra pela introdução da mistura gasosa constituída de 80-85% de nitrogênio, 5-10% de gás carbônico e 5-10% de hidrogênio, após duas lavagens prévias com nitrogênio, empregando paladium como catalisador da reação ⁽²⁹⁾. O controle da atmosfera anaeróbia foi monitorado pelo emprego de 1g de uma mistura

contendo bicarbonato de sódio (NaH_2CO_3) - 22,6 g; glicose - 2,5 g; e azul de metileno -1 mg, dissolvidos em 5 mL de água. O azul de metileno em estado reduzido apresenta-se incolor e quando oxidado permanece azul ⁽⁶⁾. O repique de cepa-controle *B. fragilis* ATCC 25285 garantiu o controle total das condições anaeróbias obtidas dentro da jarra de cultivo.

3.5 Identificação bacteriana

As culturas que apresentaram crescimento bacteriano em anaerobiose foram testadas quanto à aerotolerância para determinação do tipo respiratório. Para cada tipo morfológico de colônia bacteriana foi realizada uma coloração de Gram e o teste de aerotolerância, que consiste no subcultivo da colônia em uma placa de BHIS-suplementado incubada em anaerobiose e duas placas de ágar sangue incubadas em aerobiose e microaerofilia, respectivamente. As placas foram incubadas a 35⁰C durante 48 horas. As bactérias que se desenvolveram unicamente em anaerobiose foram classificadas como anaeróbias obrigatórias ⁽¹²⁾.

Apenas as bactérias que cresceram em anaerobiose foram incluídas neste trabalho. A identificação do gênero e espécie foi realizada através de provas bioquímicas e características fisiológicas de crescimento.

A identificação presuntiva de bacilos Gram-negativos anaeróbios utilizou como parâmetro inicial o desenvolvimento de colônias pretas no ágar BBE, que caracteriza o grupo *Bacteroides fragilis*, indicando hidrólise da esculina e resistência à bile. A ausência de crescimento em BBE (inibidos pela bile), desenvolvimento de colônias com fluorescência vermelho tijolo (UV-366 nm) ou produção de pigmento preto em ágar sangue suplementado após 4 a 5 dias de incubação anaeróbia, caracterizou os bacilos Gram-negativos produtores de pigmento (gêneros *Prevotella* e *Porphyromonas*). Bacilos Gram-negativos anaeróbios sensíveis a bile e sem pigmento foram caracterizados como *Bacteroides* spp e os que possuíam características morfotintoriais como bacilos fusiformes foram presuntivamente identificados como *Fusobacterium* spp. Cocos Gram-positivos anaeróbios foram primeiramente caracterizados como pertencentes ao gênero *Peptostreptococcus* e a identificação ao nível de espécie foi baseada nas reações de indol e nitrato. Bacilos Gram-positivos

anaeróbios esporulados foram caracterizados como *Clostridium perfringens* baseando-se na reação positiva para lecitinase em ágar gema de ovo (Egg Yolk Ágar) e presença de dupla zona de hemólise em ágar sangue suplementado. Cepas de bacilos Gram-positivos anaeróbios esporulados que não apresentaram essas características foram identificados apenas ao nível de gênero como *Clostridium* spp.. Entre os bacilos Gram-positivos anaeróbios não-esporulados, somente *Propionibacterium acnes* pode ser identificado presuntivamente, em base nas reações de indol, nitrato e catalase ^(12, 29).

A partir de 2010, algumas cepas de bactérias anaeróbias foram confirmadas pelo sistema automatizado Vitek-2, através do cartão ANC (bioMeriéux – França) ⁽¹⁷⁾.

4 RESULTADOS

Nas 408 amostras clínicas analisadas foram isoladas bactérias anaeróbias em 108 delas, correspondendo a 26,5% de positividade. Em 65,7% (n=71) dessas culturas foram isolados simultaneamente bactérias anaeróbias facultativas e anaeróbias obrigatórias, caracterizando infecções polimicrobianas mistas. Em 34,3% (n=37) dos processos infecciosos foram isoladas apenas bactérias anaeróbias, sendo que dessas, 26,9% (n=29) foram infecções monomicrobianas e 7,4% (n=8) infecções anaeróbias mistas (FIGURA 1).

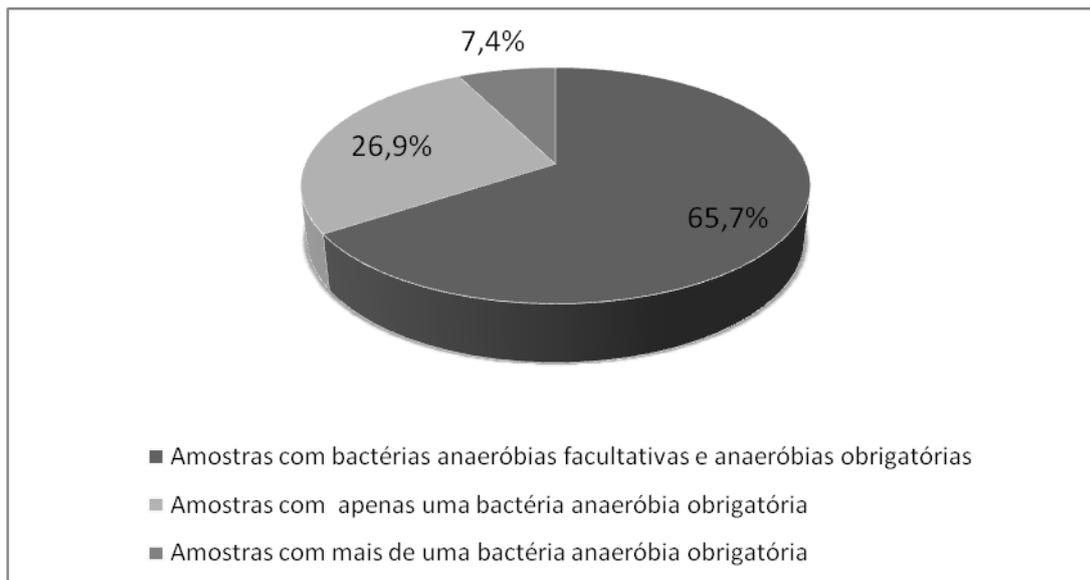


Figura 1 – Ocorrência de diferentes tipos respiratórios bacterianos em processos infecciosos, incluindo bactérias anaeróbias facultativas e anaeróbias obrigatórias, em 108 amostras clínicas provenientes de pacientes do Hospital de Clínicas da UFPR de Curitiba-PR

Nas 108 amostras analisadas a maior positividade para bactérias anaeróbias foi encontrada em aspirado de abscessos (41,7%, n=45), seguido de secreções (20,4%, n=22), líquidos cavitários diversos (17,6%, n=19), sangue (16,7%, n=18), material de biópsia (1,8%, n=2) e bile (1,8%, n=2). Nessas amostras clínicas foram identificadas 139 cepas bacterianas, resultando uma ocorrência de 1,3 bactérias anaeróbias por amostra (Tabela 1).

TABELA 1 - Relação entre as amostras clínicas (n=108) e bactérias anaeróbias (n=139) isoladas de pacientes do Hospital de Clínicas da UFPR de Curitiba-PR

Amostra	Amostras Positivas	Cepas Isoladas	Isolamentos / Amostras
Abscessos	41,7% (n=45)	56	1,2
Secreções	20,4% (n=22)	34	1,5
Líquidos cavitários ^a	17,6% (n=19)	25	1,3
Sangue	16,7% (n=18)	18	1,0
Biópsia	1,8% (n=2)	3	1,5
Bile	1,8% (n=2)	3	1,5
Total	n=108	139	1,3

^a líquido peritoneal, líquido pleural

A maioria dos isolados bacterianos foi constituída por bacilos Gram-negativos que corresponderam a 70,5% (n=98) do total, enquanto 29,5% (n=41) foram bactérias Gram-positivas. Entre os bacilos Gram-negativos, espécies do grupo *B. fragilis* foram os mais frequentes (60,4%; 84/139), seguida de *Bacteroides* spp (5,8%; 8/139), bacilos Gram-negativos pigmentados dos gêneros *Porphyromonas* e *Prevotella* (2,9%; 4/139) e *Fusobacterium* spp (1,4%; 2/139). Cocos Gram-positivos do gênero *Peptostreptococcus* (*P. indolicus*, *P. assacharolyticus*) corresponderam a 13,7% dos isolados (19/139). Entre os bacilos Gram-positivos esporulados foram isolados *Clostridium perfringens* (8,6%; 12/139), *Clostridium* spp (5,0%; 7/139). Bacilos Gram-positivos não esporulados (*Propionibacterium acnes*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*) corresponderam a 2,2% dos isolados (3/139) (Tabela 2).

Tabela 2 - Distribuição por gêneros e espécies das 139 bactérias anaeróbias isoladas de 108 amostras clínicas provenientes de pacientes do Hospital de Clínicas da UFPR de Curitiba-PR

Grupos bacterianos	Nº de isolados	Percentual ^a
Bacilos Gram-negativos		
Grupo <i>Bacteroides fragilis</i>	84	60,4%
<i>Bacteroides</i> spp	8	5,8%
BGN pigmentado ^b	4	2,9%
<i>Fusobacterium</i> spp	2	1,4%
Total de Gram-negativos	98	70,5%
Cocos Gram-positivos		
<i>Peptostreptococcus</i> spp	19	13,7%
Bacilos Gram-positivos esporulados		
<i>Clostridium perfringens</i>	12	8,6%
<i>Clostridium</i> spp	7	5,0%
Bacilos Gram-positivos não esporulados ^c	3	2,2%
Total de Gram-positivos	41	29,5%

^a Percentual em relação ao total de espécimes analisadas; ^b *Porphyromonas*, *Prevotella*;

^c *Propionibacterium acnes*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*

Os materiais clínicos provenientes de abscessos proporcionaram maior riqueza quantitativa e qualitativa de isolamentos, seguindo-se as amostras clínicas provenientes de secreções e líquidos cavitários. Nas 18 hemoculturas positivas para bactérias anaeróbias, foram isoladas cinco tipos de bactérias anaeróbias, incluindo grupo *B. fragilis* (n=11), *Clostridium perfringens* (n=4) *Clostridium* spp (n=1),

Peptostreptococcus spp (n=1) e *Fusobacterium* spp (n=1). A origem dos isolados bacterianos e a positividade por material clínico são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Bactérias anaeróbias isoladas de 108 amostras clínicas provenientes de pacientes do Hospital de Clínicas da UFPR de Curitiba-PR

Espécimes clínicos	BGN				CGP	² BGP-Esp.		³ BGP-não Esp.	Total
	Grupo <i>B. fragilis</i>	<i>Bacteriodes</i> spp	¹ Pigmentados	spp	<i>Peptostreptococcus</i>	<i>C. perfringens</i>	<i>Clostridium</i> spp	<i>P. acnes</i> <i>Bifidobacterium</i> <i>Eubacterium</i>	
Abscessos	39	1	2	---	10	3	---	1	56
Secreções	14	7	1	---	5	2	3	2	34
Líquidos cavitários	16	---	1	1	2	2	3	---	25
Sangue	11	---	---	1	1	4	1	---	18
Biópsia	2	---	---	---	1	---	---	---	3
Bile	2	---	---	---	---	1	---	---	3
Total	84	8	4	2	19	12	7	3	139

¹ *Porphyromonas* e *Prevotella*, ²BGP-Esp.: bacilos Gram-positivos esporulados, ³BGP-não Esp. : bacilos Gram-positivos não esporulados.

5 DISCUSSÃO

As bactérias anaeróbias são agentes etiológicos clássicos de infecções em humanos e sua caracterização tem sido um grande desafio laboratorial.

Nas 108 amostras analisadas, 65,7% apresentaram cultivo misto, demonstrando a característica polimicrobiana das infecções anaeróbias. Resultados equivalentes obtidos por outros autores atestam a associação sinérgica bacteriana

existente nas infecções anaeróbias ^(2, 20). Neste trabalho, em 34,3% dos casos houve apenas o desenvolvimento de bactérias anaeróbias, reforçando o objetivo primordial do diagnóstico definitivo em casos da presença exclusiva de patógenos anaeróbios (Figura 1).

O número de anaeróbios encontrados foi superior ao número de amostras clínicas, levando a uma média de 1,3 isolados por amostra (Tabela 1). Valores superiores foram encontrados em estudos realizados por Quesada-Gómez e colaboradores (2008) ⁽²⁶⁾ e Brook e Frazier (2000) ⁽³⁾, os quais obtiveram respectivamente 2,1 e 1,7. Esta diferença pode ser explicada devido ao tipo de material pesquisado, pois neste trabalho foram incluídas outras amostras clínicas que não intra-abdominais, como por exemplo, sangue, onde usualmente se isola apenas um patógeno.

Assim como em outros estudos ^(10,18), as bactérias mais encontradas foram as Gram-negativas (Tabela 2), embora Quesada-Gómez e colaboradores relatam um maior isolamento de Gram-positivos ⁽²⁷⁾.

O microrganismo mais isolado foi do grupo *B. fragilis* (60,4%), o qual foi encontrado em todos os tipos de amostras clínicas analisadas. Este fato é confirmado por outros autores ^(7,8,19), que o apontam como o principal patógeno anaeróbio de importância clínica. A bactéria é geralmente isolada de infecções de origem endógena e sua patogenicidade tem sido atribuída a vários determinantes de virulência ⁽²⁸⁾, incluindo uma enterotoxina presente em algumas cepas, capaz de ocasionar câncer de cólon ⁽²⁹⁾.

As amostras clínicas provenientes de região abdominal apresentaram uma variada microbiota bacteriana, com predomínio de bacilos Gram-negativos do grupo *B. fragilis* (dados não mostrados). Outros trabalhos demonstram as infecções intra-abdominais como uma fonte comum de isolados anaeróbios, estando geralmente associadas à contaminação da cavidade peritoneal por conteúdo intestinal ⁽¹⁾.

Os bacilos Gram-negativos pigmentados (incluídos os gêneros *Prevotella* e *Porphyromonas*) foram isolados em baixa quantidade neste trabalho (2,9%). Outros autores citam este grupo como o menos frequente dos Gram-negativos ⁽²⁶⁾. De acordo com Hsu ⁽¹³⁾, *Prevotella bivia* tem sido associada à doença inflamatória pélvica, sendo que, segundo o autor, o diagnóstico correto poderia evitar infecções fulminantes em imunocomprometidos.

O gênero *Fusobacterium* spp (1,4%) foi o menos isolado entre os Gram-negativos, sendo apenas encontrado em líquido cavitário (líquido pleural) e sangue. Trabalhos realizados por outros autores confirmam este achado ^(2, 27). Marti e colaboradores (2008) demonstraram *Fusobacterium*, em associação com outras bactérias, causando pericardite purulenta, uma doença rara, mas associada a altas taxas de mortalidade ⁽²²⁾.

Entre os Gram-positivos mais isolados está *Peptostreptococcus* spp (13,7%). Infecções por essa bactéria podem ocorrer em todos os sítios anatômicos, porém são mais freqüentes em região de cabeça e pescoço, envolvendo a microbiota da cavidade oral, vias aéreas superiores, ouvido e faringe. Particularmente em sinusites, o envolvimento de bactérias anaeróbias, como *Peptostreptococcus*, contribui para a cronicidade do processo inflamatório⁽⁴⁾.

Nas amostras de sangue *C. perfringens* (n=4) foi o segundo patógeno mais encontrado, demonstrando sua característica invasiva como agente etiológico em bacteriemia ⁽⁹⁾. A bactéria também esteve presente em outros materiais biológicos estudados, como bile. Alguns autores relatam sua ocorrência neste material ⁽²¹⁾, além de outras amostras clínicas. Outras espécies de *Clostridium* foram encontradas, porém em menor quantidade (5,0%).

Neste trabalho o isolamento de *P. acnes* foi considerado como simples contaminante, embora a literatura relate processos infecciosos causados por esta bactéria ^(11,16). Cheung *et al.* (2008) relatam *P. acnes* participando de infecções polimicrobianas em pacientes submetidos à artroplastia de ombro⁽⁵⁾ Segundo Nisbet *et al.* (2007), *P. acnes* está implicado em processos infecciosos neurocirúrgicos ⁽²⁴⁾.

6 CONCLUSÃO

A natureza das bactérias isoladas, associada às dificuldades encontradas para a realização da metodologia de cultivo de anaeróbios, faz com que poucos laboratórios realizem sua análise. Acreditamos que a pesquisa de bactérias anaeróbias em amostras clínicas é relevante para o êxito terapêutico e formação de um perfil epidemiológico.

REFERÊNCIAS

1. BROOK, I. Microbiology and management of intra-abdominal infections in children. **Pediatr Int**, v. 45, n.2, p.123-9, 2003.
2. BROOK, I. Recovery of anaerobic bacteria from clinical specimens in 12 years at two military hospitals. **J Clin Microbiol**, v. 26, n. 6, p.1181-88, 1988.
3. BROOK, I.; E. H. FRAZIER. Aerobic and anaerobic microbiology in intra-abdominal infections associated with diverticulitis. **J Med Microbiol**, v.49, n.9, p. 827-30, 2000.
4. BROOK, I.; E.H. et al. Microbiology of transition from acute to chronic maxillary sinusitis. **J Med Microbiol**, v.45, n.5, p. 372-75, 1996
5. CHEUNG, E. V. et al. Infection associated with hematoma formation after shoulder arthroplasty. **Clin Orthop Relat Res**, v.466, n.6, p.1363-7, 2008.
6. DROLLETTE, D. D. Anaerobic indicators: a review. **Am J Med Technol**, v.35, n.12, Dec, p.758-60. 1969.
7. EDMISTON, C. E. et al. In vitro activities of moxifloxacin against 900 aerobic and anaerobic surgical isolates from patients with intra-abdominal and diabetic foot infections. **Antimicrob Agents Chemother**, v.48, n.3, Mar, p.1012-6, 2004.
8. FENNER, L. et al. Is the incidence of anaerobic bacteremia decreasing? Analysis of 114,000 blood cultures over a ten-year period. **J Clin Microbiol**, v.46, n.7, Jul, p.2432-4, 2008.
9. FUJITA, H. et al. Clinical and epidemiological features of Clostridium perfringens bacteremia: a review of 18 cases over 8 year-period in a tertiary care center in metropolitan Tokyo area in Japan. **Intern Med**, v.49, n.22, p.2433-7, 2010.
10. GOLDSTEIN, E. J. et al. In vitro activity of 11 antibiotics against 74 anaerobes isolated from pediatric intra-abdominal infections. **Anaerobe**, n.12, p.63-66, 2006.

11. Haidar, R. et al. Propionibacterium acnes causing delayed postoperative spine infection: review. **Scand J Infect Dis**, v.42, n.6-7, p.405-11, 2010.
12. Holdeman, L. V. et al. **Anaerobic laboratory manual**. 3ed. Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg: Southern Printing, 1975.
13. Hsu, G. J. et al. Chest wall abscess due to Prevotella bivia. **J Zhejiang Univ Sci B**, v.10, n.3, Mar, p.233-6, 2009.
14. Hung, M. N. et al. Community-acquired anaerobic bacteremia in adults: one-year experience in a medical center. **J Microbiol Immunol Infect**, v.38, n.6, Dec, p.436-43, 2005.
15. Huang, C.R., Lu, C.H., Chuang, Y.C., Chen, S.F., Tsai, N.W., Chang, C.C., Lui, C.C., Wang, H.C., Chien, C.C., Chang, W.N.,. Clinical characteristics and therapeutic outcome of Gram- negative bacterial spinal epidural abscess in adults. **J. Clin. Neurosci.**, 18(2): 213-217, 2011
16. Kranick, S. M. et al. Propionibacterium acnes brain abscess appearing 10 years after neurosurgery. **Arch Neurol**, v.66, n.6, Jun, p.793-5, 2009.
17. Lee, E. H. et al. Evaluation of the Vitek 2 ANC Card for Identification of Clinical Isolates of Anaerobic Bacteria. **J Clin Microbiol**, v.49, n.5, May, p.1745-9, 2011.
18. Lin, W. J. et al. Bacteriology and antibiotic susceptibility of community-acquired intra-abdominal infection in children. **J Microbiol Immunol Infect**, v.39, n.3, Jun, p.249-54, 2006.
19. Liu, C. Y. et al. Increasing trends in antimicrobial resistance among clinically important anaerobes and Bacteroides fragilis isolates causing nosocomial infections: emerging resistance to carbapenems. **Antimicrob Agents Chemother**, v.52, n.9, Sep, p.3161-8, 2008.
20. Lu, Y. et al. Bile anaerobic bacteria detection and antibiotic susceptibility in patients with gallstone. **Hepatobiliary Pancreat Dis Int**, v.2, n.3, Aug, p.431-4, 2003.
21. Lupinacci, R. M. et al. Emphysematous cholecystitis. **ABCD Arq Bras Cir Dig**, v.22, n.4, p.235-6, 2009.

22. MARTI, V. et al. Purulent pericarditis with cardiac tamponade caused by anaerobic agents. **Rev Port Cardiol**, v.27, n.7-8, p.959-64, 2008.
23. MURRAY, P. R., E. J. Baron, et al. **Manual of Clinical Microbiology**. 9 ed ASM Press, 2007.
24. NISBET, M. et al. Propionibacterium acnes: an under-appreciated cause of post-neurosurgical infection. **J Antimicrob Chemother**, v.60, n.5, p.1097-103, 2007.
25. PAPAPARASKEVAS, J. et al. Moxifloxacin resistance is prevalent among Bacteroides and Prevotella species in Greece. **J Antimicrob Chemother**, v.62, n.1, Jul, p.137-41, 2008.
26. QUESADA-GÓMEZ, C. et al. Anaerobic bacteria as etiological agents of intraabdominal infections from a Costa Rican hospital. **Rev. Panam. Infectol**, v.10, n.4, p.13-17, 2008.
27. QUESADA-GÓMEZ, C. et al. Bacterias anaerobias aisladas en muestras clínicas de un hospital regional de adultos de Costa Rica. **Rev Biomed**, n.18, p.89-95, 2007.
28. SUTTER, V. L. et al. Wadsworth anaerobic bacteriology manual. 4ed. **Belmont Star Publishing**. 1985
29. WU, S. et al. A human colonic commensal promotes colon tumorigenesis via activation of T helper type 17 T cell responses. **Nat Med**, v.15, n.9, Sep, p.1016-22, 2009.