



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU

Fabio da Silva Yamashiro

**Centrifugação do Líquido Ascítico para
Diagnóstico Etiológico de Peritonite
Bacteriana Espontânea**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de
Doutor em Fisiopatologia em Clínica
Médica.

Orientador: Prof. Dr. Giovanni Faria Silva

Botucatu

2015

Fabio da Silva Yamashiro

Centrifugação do Líquido Ascítico para Diagnóstico Etiológico de Peritonite Bacteriana Espontânea

**Tese apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
Câmpus de Botucatu, para obtenção
do título de Doutor em Fisiopatologia
em Clínica Médica.**

Orientador: Prof. Dr. *Giovanni Faria Silva*

BOTUCATU
2015

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Yamashiro, Fabio da Silva.

Centrifugação do líquido ascítico para diagnóstico etiológico de peritonite bacteriana espontânea / Fabio da Silva Yamashiro. - Botucatu, 2015

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Giovanni Faria Silva

Capes: 40101118

1. Peritonite - Diagnóstico. 2. Ascite. 3. Fígado - Cirrose. 4. Líquido ascítico. 5. Infecção.

Palavras-chave: Ascite; Cirrose hepática; Infecção no hepatopata; Peritonite bacteriana espontânea; Tratamento da peritonite bacteriana espontânea.

Fabio da Silva Yamashiro

Centrifugação do Líquido Ascítico para Diagnóstico Etiológico de Peritonite Bacteriana Espontânea

**Exame Geral de Doutorado apresentado ao
Programa de Pós Graduação em Fisiopatologia em
Clínica Médica, da Faculdade de Medicina de
Botucatu.**

Orientador: Prof. Dr. *Giovanni Faria Silva*

Comissão examinadora:

Prof(a). Dra Ana Claudia de Oliveira.
Universidade Federal de São Carlos.
Faculdade de Medicina de São Carlos.

Prof(a). Dra Ana de Lourdes Candolo Martinelli.
Universidade de São Paulo.
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

Prof(a). Dr. Carlos Antônio Caramori.
Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho.
Faculdade de Medicina de Botucatu.

Prof. Dr Fernando Gomes Romeiro.
Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho.
Faculdade de Medicina de Botucatu.

Botucatu, 25 de Fevereiro de 2015.

Dedicatória

A minha esposa e companheira na grande viagem da vida FERNANDA BOLFI.

Aos meus pais MARLI DA SILVA YAMASHIRO e JOSÉ YASHUNORI YAMASHIRO, que com amor incondicional iluminam meus caminhos na jornada pela vida.

Agradecimentos

Primeiramente ao nosso *SENHOR* que nos guia na vida.

Ao meu orientador, Prof. Dr. GIOVANNI FARIA SILVA, pelo exemplo de médico, ensinamentos constantes e amizade.

Ao meu grande amigo, exemplo de médico e professor, Prof. Dr. FERNANDO GOMES ROMEIRO, incansável na sua dedicação ao próximo.

Ao meu amigo e mestre, Prof Dr. CARLOS ANTÔNIO CARAMORI, pelo incentivo, confiança e amizade.

À Prof. Dra. LICIANA VAZ DE ARRUDA SILVEIRA, pela colaboração na realização da análise estatística da tese.

À minha querida irmã TATIANA DA SILVA YAMASHIRO cujo o coração é repleto de bondade.

Aos RESIDENTES DA DISCIPLINA DE GASTROENTEROLOGIAS, pelo apoio, amizade e dedicação com que realizaram a assistência e o aprimoramento.

Aos PACIENTES que participaram do estudo.

À disciplina de Gastroenterologia e Nutrição da Faculdade de Medicina de Botucatu-SP, UNESP, na figura do(a)s amigo(a)s: Prof. Dr. WELLINGTON MACHADO, Prof. Dra. LÍGIA YUKIE SASSAKI, Dr. PEDRO PADULA NETO, Dr. DURVAL FERREIRA NETO, Dr. CASSIO VIEIRA DE OLIVEIRA, Dr. TALLES BAZEIA LIMA, Dr. JULIO PINHEIRO BAIMA.

À enfermeira MARI NILCE PERES, amiga e exemplo de dedicação ao próximo.

Ao mestre Prof. Dr. PEDRO ACHILLES.

Ao(à)s amigo(a)s: Dra. LUCIANA DA MATTA GRADELLA, Dra. LETÍCIA DE CAMPOS FRANZONI, Dra PAULA CAVALCANTE, Dr. FAUSTO ROLIN NETO, Dra. CLARISSA RIBEIRO VILLAR SENA, Dra. FERNANDA PLAZZI CARRARETO, Dr. FILIPE AZEVEDO, Dra. SUSANA CARLA PEREIRA DE SOUZA, Dra. EMILI CARDOSO, Dra. KELLY CRISTIAN LIMA OLIVEIRA.

A TODOS que de alguma forma colaboram na realização desse projeto e que eu possa involuntariamente ter me esquecido de mencionar.

Sumário

Resumo.....	1
Abstract	4
1. Introdução	7
1.1 Definições, apresentação clínica e complicações	8
1.2 Epidemiologia.....	9
1.3 Fisiopatologia	9
1.3.1 Da ascite na hipertensão portal associada à cirrose hepática.....	9
1.3.2 Da Peritonite Bacteriana Espontânea.....	11
1.4 Agentes etiológicos e diagnóstico.....	13
1.5 Papel do laboratório clínico na análise do líquido ascítico.....	14
1.6 A proteína C reativa no cirrótico.....	15
1.7 Avaliação da resposta ao tratamento da peritonite bacteriana espontânea.....	16
1.8 Opções para o diagnóstico laboratorial e microbiológico.....	16
2. Justificativa e relevância	18
3. Objetivos	21
3.1 Objetivo principal.....	21
3.2 Objetivo secundário	21
4. Materiais e métodos	22
4.1 Critérios de inclusão.....	23
4.2 Critérios de exclusão.....	23
4.3 Comitê de Ética	24
4.4 Casuística	24
4.5 Metodologia	25
4.6 Seguimento dos pacientes com PBE durante o tratamento	30

4.7	Análise dos dados.....	31
4.8	Análise estatística dos dados	32
5.	Resultados.....	33
5.1	Universo amostral e paciente selecionados para análise final	33
5.2	Características da amostra.....	35
5.3	Resultados da análise das culturas	38
5.4	Perfil de sensibilidade antibiótica.....	41
5.5	Resultados da análise do PCR em reposta ao tratamento.....	42
6.	Discussão	45
6.1	Considerações sobre o perfil da amostra.....	46
6.2	Considerações sobre a análise das culturas e o método de centrifugação	46
6.3	Considerações da análise do PCR em relação ao tratamento.....	47
6.4	Considerações em relação ao perfil de sensibilidade antibiótica.....	48
7.	Conclusões	49
8.	Referências Bibliográficas.....	51
9.	Anexos	61
9.1	Protocolo de Paracentese de Alívio e Diagnóstico.....	62
9.2	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	64
9.3	Protocolo de Tratamento da Peritonite Bacteriana	65
9.4	Classificação de Child Pugh e MELD.....	66
9.5	Ficha de coleta de dados durante atendimento do paciente.....	67
9.6	Certificação de Comitê de Ética em Pesquisa.....	68
9.7	Certificação do laboratório clínico HC FMB	69

Lista de Tabelas

Tabela 1: Características basais da amostra	36
Tabela 2: Perfil de bactérias isoladas quando ambas as culturas foram positivas	40

Lista de Figuras

Figura 1 -	Ilustração da fisiopatologia evolutiva da ascite na cirrose hepática	10
Figura 2 -	Ilustração da translocação bacteriana no hepatopata	12
Figura 3 -	Tubo seco estéril – com capacidade para 50ml	27
Figura 4 -	Centrifugação	28
Figura 5 -	Capela para manipulação estéril da amostra.....	28
Figura 6 -	Descarte do sobrenadante	29
Figura 7-8 -	Semeadura do precipitado em meios de cultura após a ressuspensão.....	29
Figura 9 -	Semeadura do precipitado em meio de cultura Bactec 3ml	30
Figura 10 -	Estufa para armazenamento da amostra por até 7 dias	30
Figura 11 -	Ilustração do seguimento durante o tratamento da PBE	31
Figura 12 -	Ilustração da amostra final do estudo	35

Lista de Gráficos

Gráfico 1 - Distribuição entre os sexos	36
Gráfico 2 - Distribuição entre as etiologias da doença hepática.....	37
Gráfico 3 - Apresentação clínica inicial.....	38
Gráfico 4 - Análise dos resultados das culturas.....	39
Gráfico 5 - Análise comparativa entre a positividade das culturas semeadura direta e semeadura pós centrifugação.....	40
Gráfico 6 - Bactérias isoladas nas culturas	41
Gráfico 7 - Gráfico de Dispersão representando a correlação entre PNM e PCR no controle de tratamento para PBE.....	43
Gráfico 8 - Curva ROC- área sob a curva para avaliação de resposta ao tratamento com relação do delta PCR e delta PMN.....	44

Lista de Abreviaturas

ANCN - ascite neutrocítica com cultura negativa

BQs - bioquímica sérica

CIVD - coagulação intra vascular disseminada

CEP - comitê de Ética em Pesquisa

CP - Child-Pugh

DNA - ácido desoxirribonucléico

EHPS - encefalopatia hepática porto sistêmica

EDTA - ácido etilenodiaminotetracético anticoagulante

GASA- gradiente entre a dosagem da albumina no soro e ascite

HAD - hormônio anti diurético

HDA - hemorragia digestiva alta

HIV- vírus da imunodeficiência humana

HVB - hepatite B crônica

HVC - hepatite C crônica

HC/FMB - UNESP - Hospital das Clínicas- Faculdade de Medicina de Botucatu -
Universidade Estadual Paulista

IRA - Insuficiência Renal Aguda

LA - líquido ascítico

MELD - *Model for End Stage Liver Disease*

PBE - peritonite bacteriana espontânea

PCR - proteína C reativa

PMN - polimorfo nucleares

RAA - renina-angiotensina-aldosterona

SD - sementeira direta

SNS - sistema nervoso simpático

SPC - sementeira pós centrifugação

TCLE - termo de consentimento livre esclarecido

Resumo

Yamashiro, F.S. CENTRIFUGAÇÃO DO LÍQUIDO ASCÍTICO PARA DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO DE PERITONITE BACTERIANA ESPONTÂNEA. 2015. 69 f. Dissertação (Doutorado) - Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2014.

As peritonites bacterianas espontâneas (PBE) são complicações infecciosas frequentes em pacientes com cirrose hepática e ascite. O diagnóstico é feito pela coleta de líquido ascítico e contagem de polimorfo nucleares (PMN). Valores acima de 250 PMN/mm³ são suficientes para o início do tratamento empírico com antibióticos. As PBE geralmente são causadas por enterobactérias Gram-negativas, entretanto atualmente observamos mudanças no perfil dos patógenos, com aumento de bactérias Gram-positivas e surgimento de cepas multi-resistentes. A sensibilidade da cultura do líquido ascítico semeado em frascos de cultura à beira do leito encontra-se em torno de apenas 20 a 40 %. O objetivo principal foi avaliar a positividade de culturas de líquido ascítico utilizando volume maior (50ml) com centrifugação e semeadura do líquido em laboratório. O objetivo secundário foi avaliar a correlação entre os valores de proteína C reativa (PCR) no sangue e PMN no líquido ascítico de pacientes em tratamento de PBE. O estudo observacional de 51 casos de PBE em adultos comparando resultados obtidos pelas análises da quantidade de PMN no líquido ascítico, da PCR sérica, das culturas à beira do leito e das culturas obtidas após centrifugação. Na amostra 90% dos casos foram do sexo masculino, sendo a principal etiologia da cirrose o uso abusivo de álcool (55%). O valor médio da PCR no diagnóstico foi 10,5 +/- 8,23. A positividade da cultura à beira do leito foi de 31%, porém utilizando a centrifugação essa taxa aumentou para 69%. Também houve boa correlação entre os valores de PCR sérica e PMN no líquido ascítico (R= 0,505 e P < 0,001). Obtivemos uma relação de área sob a curva de 0,9545 com intervalo de confiança de 0,8677-1,041 e P<0,001, sendo o ponto de corte para o delta PCR com correlação a resposta ao tratamento com uma queda de pelo menos 24% do valor do PCR inicial. Observamos no nosso estudo casos de resistência a antibióticos, *Echerichia coli* resistente a Sulfametoxazol-trimetropima e Levofloxacina utilizados para profilaxia primária e secundária ao

quadro de PBE ou mesmo no tratamento da mesma. O método de coleta associado a centrifugação mostrou-se superior à inoculação direta do líquido ascítico à beira do leito. O nível sérico da PCR mostrou boa correlação com os valores de PNM na avaliação de resposta ao tratamento, podendo ser mais uma ferramenta no tratamento da PBE.

Palavras-chave: Cirrose hepática; ascite, peritonite bacteriana espontânea, infecção no hepatopata, proteína C reativa, tratamento da peritonite bacteriana espontânea.

Abstract

Yamashiro, FS. CENTRIFUGATION OF ASCITIC FLUID TO THE DIAGNOSTIC ETIOLOGIC OF SPONTANEOUS BACTERIAL PERITONITIS. 2015. 69 f. Dissertation (PhD) - College of Medicine of Botucatu, São Paulo State University, Botucatu, 2014.

Spontaneous bacterial peritonitis (SBP) are common infectious complications in patients with liver cirrhosis and ascites. The diagnosis is made by collecting ascites and counting nuclear polymorph (PMN). Values above 250 PMN / mm³ are sufficient for the start of empirical treatment with antibiotics. The SBP are usually caused by Gram-negative enterobacteria, however currently observed changes in the profile of the pathogens, an increase of Gram-positive bacteria and emerging multi-resistant strains. The sensitivity of ascitic fluid bedside seeded in culture bottles culture is about only 20 to 40%. The main objective was to evaluate the positive ascites cultures using larger volume (50ml) centrifugation and seeding the liquid in the laboratory. The secondary objective was to evaluate the correlation between C-reactive protein levels (CRP) in the blood and in the ascites PMN of patients being treated for PBE. The observational study of 51 cases of SBP in adults comparing results obtained by analysis of the amount of PMN in ascites, serum CRP, cultures at the bedside and cultures obtained after centrifugation. In the sample 90% of the cases were male, being the main cause of cirrhosis the alcohol abuse (55%). The average value of PCR in diagnosis was 10.5 +/- 8.23. The positivity of culture at the bedside was 31%, but using centrifugation this rate increased to 69%. There was also a good correlation between the serum CRP levels in ascites and PMN (R = 0.505, P <0.001). The area ratio obtained under the curve of 0.9545 to 0.8677 to 1.041 confidence interval and P <0.001, with the cutoff delta PCR for correlation with treatment response to a decrease of at least 24% the value of the initial PCR. Observed in our study cases antibiotic resistance, *Escherichia coli* resistant trimethopim sulfamethoxazole and levofloxacin used for the primary and secondary prophylaxis EBP frame or the treatment thereof. The collection method associated with centrifugation was superior to direct inoculation of ascites at the bedside. Serum CRP levels showed a good correlation with the PNM values in the

evaluation of response to treatment, and may be another tool in the treatment of SBP.

Keywords: Liver cirrhosis; ascites, spontaneous bacterial peritonitis, infection of the liver disease, C-reactive protein, treatment of spontaneous bacterial peritonitis.

1. Introdução

1.1 Definições, apresentação clínica e complicações

Ascite é o acúmulo de líquido livre de forma patológica na cavidade abdominal. O termo ascite tem origem na palavra grega “askos” que significa saco ou conteúdo de um saco. Deste radical derivou “askites” e depois “ascite”. A principal causa de ascite é a cirrose hepática (80 a 90% dos casos) (GUINÉS, 1987; RUNYON, 1992, ANDRADE, 2009; GORDON, 2012), sendo o desenvolvimento da ascite um sinal da progressão e um marco na descompensação da cirrose hepática (ARROYO, 2009).

Uma grave complicação da cirrose descompensada é a peritonite bacteriana espontânea. A PBE é a infecção do líquido ascítico na ausência de um foco intra-abdominal evidente, sendo uma das principais complicações nos portadores de cirrose hepática com ascite (CALY, 1993; GARCÍA-TSAO, 1992; RIMOLA, 2000). Foi primeiramente descrita por *Conn* em 1964, como complicação infecciosa dos pacientes com cirrose de *Laennec*. Suas manifestações clínicas são insidiosas e por vezes bastantes inespecíficas, podendo ser assintomáticas em até 13% dos casos (SHEER, 2005) ou manifestarem-se por sinais ou sintomas como: irritação peritoneal, dor abdominal, febre, encefalopatia hepática, hipotermia, hipotensão, diarreia, hemorragia gastrointestinal, perda de resposta aos diuréticos e/ou deterioração da função renal e/ou hepática. (PINZELLO, 1983; LLOVET, 1993; TOLEDO, 1993; FIGUEIREDO, 1999; STRAUSS, 2003; ANGELOTTI, 2008; KOULAOUZIDIS, 2009). As taxas de mortalidade na PBE eram elevadas quando de sua caracterização clínica na década de 70, chegando a 90% (GINÉS, 1987; STRAUSS, 2003; GARCÍA -TSAO, 2005) mas com o entendimento de sua fisiopatologia e uso de profilaxia antibiótica (GINÉS, 1990) a mortalidade foi reduzida para menos da metade das taxas iniciais (LLOVET, 1993; GARCÍA -TSAO, 2005). A PBE quando não tratada de forma adequada ou não diagnosticada precocemente evolui para quadros graves (PARSI, 2008), muitas vezes com insuficiência renal e sepse, por isso representa ainda nos dias de hoje mortalidade ao redor de 20% a 30% (GARCÍA -TSAO, 2005; EASL, 2010), mas pode chegar a 90% quando o tratamento padrão for ineficiente (UMGELTE, 2009).

1.2 Epidemiologia

Estima-se que 50 % dos portadores de cirrose irão desenvolver ascite ao longo da vida, sendo a ascite uma manifestação de descompensação da cirrose hepática, com redução na qualidade de vida e sobrevida, estimada ao redor de 50 % em 2 a 5 anos a partir do seu surgimento (STRAUSS, 2003; EASL, 2010; AASLD, 2013).

A PBE acomete aproximadamente 10 a 34% dos pacientes cirróticos com ascite (LLACH, 1992; CALY, 1993; FERNÁNDEZ, 2002; GARCÍA-TSAO, 2005), sendo mais frequente em casos graves, representados pela classificação B e C de Child-Pugh, ambas perfazendo 96 a 97% dos casos (CORAL, 2002; SHEER, 2005; LATA, 2009). Em um estudo brasileiro a prevalência entre pacientes internados com cirrose e ascite foi de 11,1% com mortalidade de 21,9% (CORAL, 2002). Pacientes cirróticos internados por hemorragia gastrointestinal apresentam risco relativo de 4,3 para desenvolvimento de infecção durante a internação em comparação com os demais pacientes cirróticos hospitalizados (GARCÍA-TSAO, 1992; DESCHÊNES, 1999; BRAGA, 2006), mostrando que os índices de infecção têm relação direta com a gravidade da doença hepática. A taxa de recorrência de um episódio de PBE pode alcançar quase 70% em um ano nos pacientes cirróticos (GINÉS, 1990; GARCÍA-TSAO, 2005) comparados a 20% ao ano em cirróticos sem PBE prévia, o que torna um episódio prévio de PBE um fator de risco para o desenvolvimento de novos episódios (TITÓ, 1988).

1.3 Fisiopatologia

1.3.1 Da ascite na hipertensão portal associada à cirrose hepática

O desenvolvimento da ascite na cirrose hepática é o resultado de uma série de anormalidades anatômicas, hormonais e bioquímicas presentes na hepatopatia crônica. Três teorias foram elaboradas ao longo do tempo para explicar o surgimento da ascite no paciente portador de cirrose hepática: o “*underfill*” (baixo enchimento), o “*overflow*” (alto fluxo) e a vasodilatação; e

atualmente elas se complementam na explicação fisiopatológica do desenvolvimento da ascite. Nas fases iniciais da cirrose hepática observam-se alterações circulatórias decorrentes da distorção da arquitetura hepática, com aumento de resistência intrahepática ao fluxo sanguíneo, levando ao desenvolvimento de hipertensão sinusoidal. Posteriormente ocorre disfunção endotelial com produção esplâncnica de vasodilatadores, como o óxido nítrico, fazendo com que ocorra redução do retorno venoso e queda do volume arterial efetivo, que desencadeia o aumento do débito cardíaco, levando ao estado hiperdinâmico. Quando a queda do volume arterial efetivo supera a capacidade de compensação do débito cardíaco ocorre aumento da ativação do sistema-renina-angiotensina-aldosterona, com maior retenção de sódio e água, terminando no desenvolvimento de ascite (Figura 1). A saturação da capacidade de drenagem linfática hepática e abdominal também contribui para o acúmulo final de líquido na cavidade peritoneal. (ARROYO, 2009; ANDRADE, 2009; GORDON, 2012)

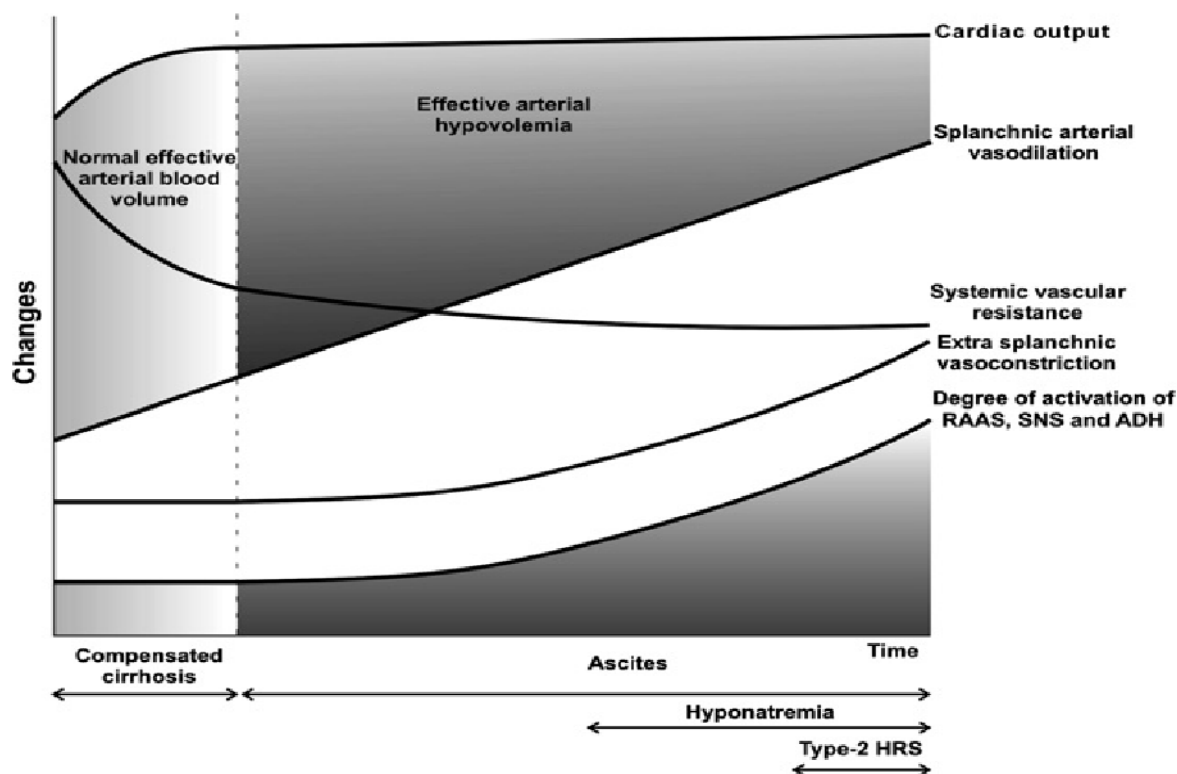


Figura 1 - Ilustração da fisiopatologia evolutiva da ascite na cirrose hepática

Nas fases iniciais, quando a cirrose é compensada, a vasodilatação esplâncnica é compensada por um aumento do débito cardíaco (levando a circulação hiperdinâmica). O volume efetivo de sangue arterial e a atividade de renina-angiotensina-aldosterona (RAA), sistema nervoso simpático (SNS) e hormônio anti diurético (HAD) são normais, apesar da redução da resistência vascular sistêmica. Com a progressão da doença hepática, a vasodilatação arterial esplâncnica aumenta, mas o débito cardíaco não, uma hipovolemia arterial se desenvolve, levando a ativação da RAA, SNS e ADH.

Adaptado de Arroyo V, Fernandez J, Ginès P Pathogenesis and Treatment of Hepatorenal Syndrome. Semin Liver Dis 2008; 28(1): 081-095

1.3.2 Da Peritonite Bacteriana Espontânea

Os seres humanos abrigam cerca de 100 trilhões de bactérias intestinais que, em termos de números, representa cerca de dez vezes mais células microbianas do que células eucarióticas (WIEST, 2014). A simbiose existente entre os seres humanos e a microbiota intestinal pode ser desequilibrada em diversas situações, para nosso estudo a PBE foi o ponto de enfoque.

O mecanismo fisiopatológico da PBE ainda não foi totalmente esclarecido (HALL, 1998), mas as hipóteses mais aceitas indicam que o edema causado pela hipertensão portal levaria a congestão na parede das alças do intestino, com conseqüente aumento da produção de radicais livres (CHIVA, 2003), alterações na barreira mucosa gastrointestinal (GARCÍA-TSAO, 1993) e o hipercrecimento bacteriano intestinal, favorecido pela lentidão do trânsito intestinal (STRAUSS, 2003; WIEST, 2003; GARCÍA-TSAO, 2004; GUARNER, 2005) permitindo a translocação de enterobactérias através do epitélio intestinal, que chegam aos linfonodos mesentéricos e à corrente sanguínea e ao líquido ascítico. A translocação bacteriana pode ser definida como passagem de bactérias e / ou produtos bacterianos (lipopolissacáridos, peptidoglicanos, muramil-dipeptidos, DNA bacteriano) a partir do intestino para os linfonodos mesentéricos (WIEST, 2014).

No líquido ascítico o mau funcionamento do mecanismo de fagocitose do sistema retículo-endotelial (GUARNER, 1997; PLATELL, 1998) e a diminuição da atividade da imunidade inata (representada pelo déficit na “opsonização”, deficiência de complemento e imunoglobulinas, diminuição da fagocitose neutrofílica e diminuição da destruição intracelular das bactérias), nos quadros de cirrose hepática avançada, permitiriam a proliferação bacteriana e a infecção (RIMOLA, 1984; RUNYON, 1988; GUARNER, 1995; CARUNTU, 2006; NEUGEBAUER, 2008). Em resumo, a PBE é resultado da translocação bacteriana através do intestino e a falha do sistema imune em erradicar patógenos provenientes da microbiota intestinal no paciente cirrótico (STRAUSS, 2003; SHEER, 2005). Notamos ainda fatores associados ao doente que incluem o alcoolismo, a desnutrição, a hemorragia digestiva alta e a ruptura de barreiras

naturais por meio da realização de exames invasivos, diagnósticos e terapêuticos, aos quais esses pacientes são frequentemente submetidos e que se associam a uma maior incidência de PBE (RIMOLA, 2000; GARCÍA-TSAO, 2001). Runyon na década de 90 demonstrou que pacientes em uso de diuréticos teriam aumento na concentração de proteínas do líquido ascítico e complemento, melhorando a atividade de “opsonização” no líquido ascítico fato que não ocorreria em pacientes submetidos à paracentese, assim o uso de diuréticos se mostrava, neste estudo, superior a paracentese, em relação a infecção do LA. Por outro lado, estudo randomizado comparando pacientes em uso de diuréticos e outros submetidos a paracentese, mostrou que a paracentese não eleva o risco de PBE podendo ser uma forma de tratamento segura nos pacientes com ascite (SOLÁ, 1995).

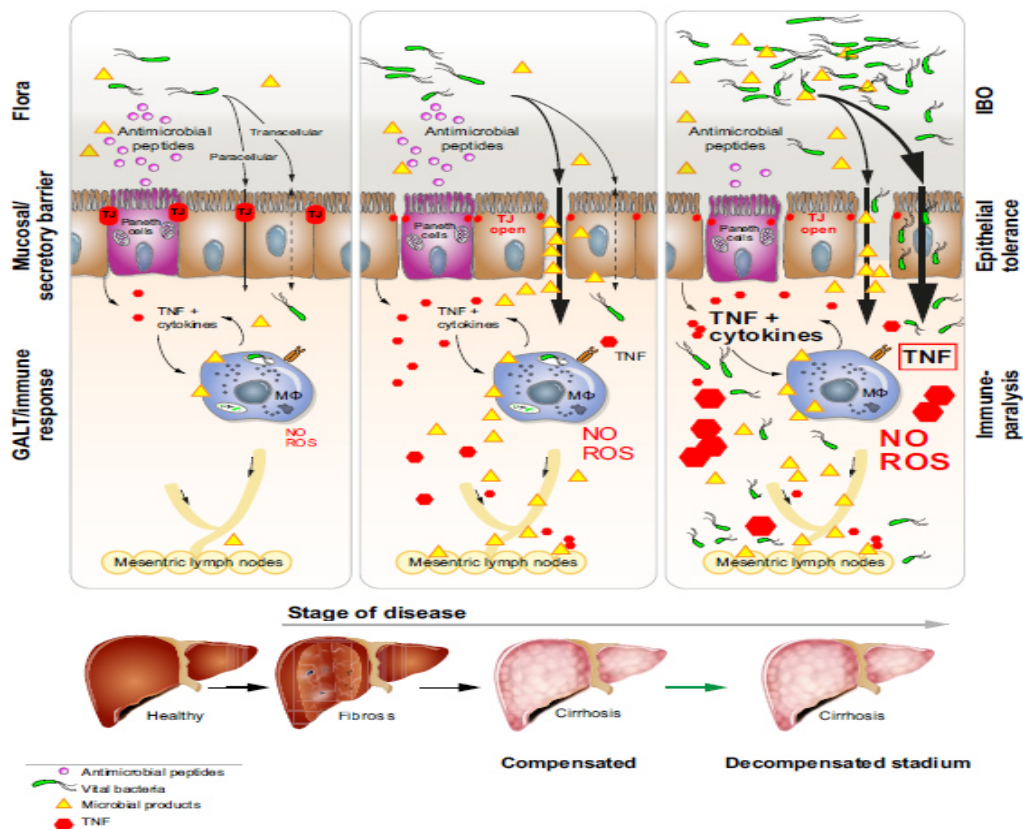


Figura 2 - Ilustração da translocação bacteriana no hepatopata.

Em condições normais e em diferentes estágios da doença hepática observamos os baixos níveis de translocação de bactérias representado um indivíduo saudável a esquerda. Na ilustração do meio há aumento na translocação paracelular de produtos bacterianos, estimulando uma resposta pró-inflamatória; com estes mediadores alterando a barreira mecânica e reduzindo a secreção, desequilibrando a microbiota. A direita representando a cirrose com ascite, observamos ao supercrescimento bacteriano e um estado de tolerância epitelial, permitindo a penetração de bactérias viáveis associada à paralisia imunológica.

Adaptado de: Wiest R, Lawson M and Geuking M. Pathological bacterial translocation in liver cirrhosis. *Journal of Hepatology*. 2014; 60:197-209

Estudos observaram que durante o processo de desenvolvimento da PBE há liberação de endotoxinas e ativação do sistema imune, desencadeando um estado hiperdinâmico e ativação da cascata inflamatória (GUARNER, 2005). Pacientes com atividade inflamatória intensa durante processo de PBE apresentaram mais disfunção renal e com isso maior mortalidade (ARBOL, 2003). Devido ao processo inflamatório sistêmico, estudos procuram correlacionar a elevação de marcadores inflamatórios como procalcitonina e PCR (proteína C reativa) com o diagnóstico de PBE, com sensibilidade/especificidade de 95/98 % e 67/92 % respectivamente (VIALON, 2000, LATA, 2009) e avaliar o prognóstico do paciente durante o curso da PBE (CHO, 2014).

1.4 Agentes etiológicos e diagnóstico

Classicamente, a PBE é causada, em cerca de 70% dos casos, por bactérias entéricas *Gram*-negativas (GARCÍA-TSAO, 1992; STRAUSS, 2003; GARCÍA-TSAO, 2005, EASL, 2010; AASLD, 2013), sendo estas mais comumente da família *Enterobacteriaceae*. A *Escherichia coli* representa até 75% dos casos (SORIANO, 1995, NAVASA, 1996; PARSI, 2004) enquanto os *Streptococcus spp* representam a maioria entre as *Gram*-positivas (RIMOLA, 2000; STRAUSS, 2003; GARCÍA-TSAO, 2005). No entanto, trabalhos recentes mostram uma mudança da epidemiologia bacteriana, especialmente em ambiente hospitalar, visto que a PBE hospitalar pode corresponder a 20 % dos casos de PBE em cirróticos (DESCHÊNES, 1999), havendo aumento considerável de agentes *Gram*-positivos e bactérias com multirresistência aos antibióticos (GARCÍA-TSAO, 2005; BEHAR, 2007; RIGGIO, 2009; UMGELTE, 2009; PECTASIDES, 2013). Tal fato deve-se a ampliação nas indicações de profilaxia em pacientes cirróticos, como na hemorragia digestiva alta, proteína baixa no líquido ascítico, bilirrubina sérica elevada e disfunção renal (INADOMI, 1997; GUARNER, 1999; GARCÍA-TSAO, 2001; GARCÍA-TSAO, 2005; FERNÁNDEZ, 2007; LATA, 2009; ARROYO, 2009). Mesmo com a profilaxia, a taxa de recorrência de novo episódio de PBE em um ano pode chegar a 70% (GINÉS, 1990; GARCÍA-TSAO, 2005), e em mais de 40% dos casos é necessário mudar o

antibiótico usado no tratamento profilático de forma empírica (ANGELONI, 2008).

Pela baixa concentração de bactérias no líquido ascítico em comparação com outros fluidos orgânicos, ao redor de uma bactéria por mililitro (RIMOLA, 2000; CHINNOCK, 2009), a taxa de diagnóstico por meio da cultura do líquido ascítico com o método de coleta e semeadura direta (RUNYON, 1986; RIMOLA, 2000; EASL, 2010, BADAWEY, 2013) encontra-se em torno de 20 a 40%, mesmo nos pacientes com quadro clínico e polimorfo nucleares (PMN) >250 células/mm³ (ANGELONI, 2008; ARAUJO, 2008). Na prática clínica temos obtido baixa positividade na cultura do líquido ascítico (menos de 40%) além do atraso nos resultados impossibilitando conduta mais rápida nos casos de resistência bacteriana ao antibiótico empiricamente empregado (RIMOLA, 2000; PARSI, 2008, 2013; BADAWEY, 2013). Também relacionado a baixa concentração de bactérias, observamos positividade da coloração de *Gram* perto de 10%, nos pacientes submetidos a paracentese, não permitindo antecipação da descrição do patógeno, pouco auxiliando no manejo do paciente (CHINNOCK, 2008).

1.5 Papel do laboratório clínico na análise do líquido ascítico

Na avaliação da etiologia do líquido ascítico, o gradiente entre a dosagem da albumina no soro e ascite (GASA) é associada em 96,7% dos casos com hipertensão portal, quando o resultado é maior que 1,1 (RUNYON, 1992). Os quadros de PBE com celularidade acima de 250 PMN/mm³ no líquido ascítico apresentam sensibilidade de 80 a 100% e especificidade de 86 a 100% para o diagnóstico de PBE e já constituem indicação formal para início do tratamento empírico, que consiste no uso de cefalosporinas de terceira geração (RIMOLA, 2000; MCGIBBON, 2007; EASL, 2010; AASLD, 2013). O método padrão ouro para contagem de PMN no líquido ascítico é a contagem manual pro meio da microscopia (RIMOLA, 2000). Estudos comparando o método manual de contagem de PMN e a contagem automatizada em aparelhos de contagem de leucócitos séricos mostraram sensibilidade de 100% e especificidade de 97,7% para o diagnóstico de PBE (RIGGIO, 2008). Os PMN têm meia vida curta (19

horas) e permanecem estáveis no LA mesmo diante de uma diurese estimulada por meio de medicamentos, ao contrário dos leucócitos totais (ANDRADE, 2009). O diagnóstico de certeza é feito pelo isolamento de um microrganismo da cultura do LA, considerado padrão ouro para o diagnóstico de PBE (MCGIBBON, 2007). Se a cultura é negativa, um diagnóstico de ascite neutrocítica cultura negativa (ANCN) pode ser feito, desde que excluído o uso recente de antibióticos e outras causas para ascite neutrocítica (hemorragia, carcinomatose, pancreatite) (RIMOLA, 2000; EASL, 2010; AASLD, 2013).

Pacientes com ANCN comportam-se clínica e laboratorialmente como pacientes com PBE e são considerados uma falha da técnica de cultura (RUNYON, 1984). A semeadura de frascos de hemocultura com líquido ascítico à beira do leito tem melhorado bastante a sensibilidade das técnicas de culturas, mas ainda falhando em mais da metade dos casos (RUNYON, 1986; RIMOLA, 2000; EASL, 2010; GUSTOT, 2012; PECTASIDES, 2013).

Bacterioascite é definida pela contagem de PMN do líquido ascítico abaixo de 250 células/mm³ e uma cultura positiva. Cerca de 1/3 dos pacientes com bacterioascite podem desenvolver PBE (RIMOLA, 2000), e o melhor fator preditivo para isto é a presença de sinais e sintomas de infecção. O curso clínico é variável entre os pacientes não tratados (RIMOLA, 2000).

1.6 A proteína C reativa no cirrótico

A proteína C reativa (PCR), uma proteína inflamatória não específica de fase aguda, foi primeiramente descrita em 1930 por Francis, produzida pelos hepatócitos, com meia vida média de 19h, foi por muitos anos renegada até ressurgir na década de 90 como marcador de evolução e monitoração dos quadros de sepse (HIRSCHFIELD, 2003). Mesmo sendo uma proteína, em que o principal local de produção é o fígado, ela pode ser usada em pacientes com doença hepática para avaliação do *status* inflamatório (VICENT, 2005; CHOE, 2005) e como marcador de mortalidade (DI MARTINO, 2012; CHO, 2014).

1.7 Avaliação da resposta ao tratamento da peritonite bacteriana espontânea

O controle da resposta ao tratamento antibiótico permanece controverso, sendo preconizado que pacientes com cirrose hepática avançada e sintomas típicos de descompensação do quadro hepático ou clínico associado à PBE poderiam ter a resposta terapêutica ao uso de antibiótico avaliada com base na melhora clínica, deixando-se a paracentese de controle para documentar a esterilidade da cultura e a diminuição drástica do PMN no líquido ascítico, assim não sendo necessária paracentese de controle de forma rotineira (AASLD, 2013). Outros importantes *Guidelines* sugerem que se a contagem de neutrófilos no líquido ascítico não diminuir para menos de 25% do valor de pré-tratamento após 2 dias de tratamento com antibióticos, há uma alta probabilidade de falha na resposta à terapia (EASL, 2010; GUSTOT, 2012; BADAWEY, 2013).

1.8 Opções para o diagnóstico laboratorial e microbiológico

Novos métodos diagnósticos de PBE como fitas reagentes para elastase de leucócitos aplicadas ao líquido ascítico, por método colorimétrico, demonstraram alto poder preditivo positivo e alta especificidade (CASTELLOTE, 2003; BRAGA, 2006; ARAUJO, 2008). Um estudo mostrou o uso de fitas reagentes na checagem de resposta ao tratamento através de exames do líquido ascítico no quinto dia do curso de antibiótico e sua não reação considerada como boa resposta ao tratamento (CASTELLOTE, 2010). Dosagens de pH <7,35 do líquido ascítico foram apontadas como preditivas para diagnóstico de PBE (WONG, 2008, LATA, 2009). A dosagem de lactoferrina no líquido ascítico demonstrou sensibilidade e especificidade de 95,5 e 97 %, para o diagnóstico de PBE, respectivamente (PARSI, 2008). O uso de microarrays de ácido desoxirribonucléico (DNA) provou-se quatro vezes mais rápido na identificação de patógenos que o cultivo de bactérias, com eficácia semelhante, mas ainda pouco disponível e dispendioso (SUGIHARA, 2009).

Estudos de pacientes em diálise peritoneal com baixa positividade da cultura do líquido de diálise mostraram uma substancial melhora no diagnóstico de infecção no líquido de diálise com o método de centrifugação de 50 mL de líquido (VON GRAEVENITZ, 1986) e semeadura em frascos de cultura no laboratório elevado a positividade das culturas de 20 para 75% e amplamente comparada com a coleta de 10 ml. Atualmente esta técnica encontra-se *em Guideline* da especialidade (CHEN 2007; LI, 2010).

2. Justificativa e Relevância

A peritonite bacteriana espontânea é uma grave complicação dos pacientes com cirrose hepática e ascite. Buscando a redução da mortalidade nos pacientes cirróticos, estudos mostram cada vez mais indicações para o uso de antibiótico profilaxia (ARROYO, 2009) e um aumento na incidência de bactéria *Gram* positivas e *Gram* negativas resistentes a cefalosporina de terceira geração (UMGELTE, 2009). Mesmo com a profilaxia, a taxa de recorrência de novo episódio de PBE em 1 ano pode chegar a 70% (GINÉS, 1990; GARCÍA-TSAO, 2005) e em mais de 40% dos casos é necessário mudar o antibiótico usado no tratamento profilático de forma empírica (ANGELONI, 2008). A cultura do LA pode ser negativa em 40 a 60 % dos casos impondo uma dificuldade na identificação do germe assim como na avaliação de resistência antibiótica.

Diante da gravidade da PBE no paciente com cirrose hepática, aumento da resistência bacteriana associada à dificuldade de isolamento do germe no LA; propusemos o estudo do método de coleta de 50 mL de líquido ascítico e semeadura após centrifugação em frascos de cultura no laboratório, submetendo o método a comparação com a técnica de semeadura direta, visando otimizar o isolamento de germes na cultura do líquido ascítico nos pacientes com PBE.

Avaliando o status inflamatório do paciente cirrótico durante a infecção esperamos que a PCR ultrasensível apresente boa correlação com a queda dos PNM no LA na punção de controle em 48h, auxiliando no manejo clínico do paciente podendo ser evitada a punção do LA para o controle do tratamento da PBE.

3. Objetivos

3.1 Objetivo principal

Comparar dois métodos para a coleta de cultura do LA (semeadura direta e semeadura após a centrifugação) em relação a sua capacidade de identificação de patógenos, causadores de PBE, nos pacientes com cirrose hepática, ascite e com mais de 250 polimorfos nucleares por milímetro cúbico no líquido ascítico.

3.2 Objetivo secundário

Avaliar nos pacientes com diagnóstico de PBE o comportamento da PCR ultrasensível sérica e sua capacidade de inferir a resposta ao tratamento, quando coletada no momento do diagnóstico e na punção de controle em 48 horas.

4. Material e Métodos

Foram convidados a participar do estudo os portadores de cirrose hepática com ascite e que tinham indicação de serem submetidos à punção do líquido ascítico, atendidos nos ambulatórios de Hepatologia, pronto socorro e também os pacientes internados nas enfermarias do Hospital das Clínicas FMB/UNESP.

4.1 Critérios de inclusão:

- Portadores de cirrose hepática e hipertensão portal com ascite (gradiente albumina sérica - albumina líquido ascítico > 1.1, evidências clínicas, laboratoriais, imagem ou anatomopatológico de cirrose hepática);
- Indicação de paracentese diagnóstica em quadros suspeitos de PBE: quadro clínico de febre, dor abdominal, encefalopatia hepática, desidratação, insuficiência renal aguda, diarreia ou hemorragia digestiva alta (conforme protocolo de paracentese do serviço de Gastroenterologia e Nutrição do Hospital das Clínicas FMB/UNESP- Anexo 1);
- Indicação de paracentese diagnóstica na ascite de início recente ou sem investigação prévia;
- Idade acima de 18 anos.

4.2 Critérios de exclusão:

- Ascite não associada à hipertensão portal (carcinomatose peritoneal, tuberculose peritoneal, ascite pancreática, ascite cardíaca);
- Procedimentos cirúrgicos intra-abdominais nos últimos 3 meses;
- Neoplasias não primárias do fígado;
- Hemoperitônio;
- Contra indicação à punção (CIVD, celulite de parede abdominal e distensão abdominal sem possibilidade de realização de ultrassonografia para orientar a punção ou sem local adequado para punção);
- Gravidez;

- A não coleta pareada dos exames de culturas (pelos dois métodos) no momento do diagnóstico de PBE;
- A não coleta dos exames de PCR sérico no momento do diagnóstico ou na punção de controle em 48h.

4.3 Comitê de Ética

O estudo foi aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade Estadual Paulista (Protocolo CEP 3662-2010), conforme demonstrado no anexo 6.

4.4 Casuística

A amostra estudada foi calculada para 52 pacientes atendidos no Hospital das Clínicas FMB/UNESP, Botucatu-SP, para análise do objetivo principal, segundo o cálculo estatístico com poder amostral de 0,95 e levando em conta a hipótese de que a coleta a beira do leito tem resultado positivo de 40% e com o centrifugado pode - se atingir até 80% de positividade.

Fórmula para cálculo do tamanho amostral para correlação linear entre variáveis quantitativas.

$$n = 4 + \left(\frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})}{0,5 \cdot \ln \left(\frac{1+r}{1-r} \right)} \right)^2$$

n - tamanho da amostra; $Z_{\alpha/2}$ - valor do erro α , usualmente: 1,96 (5%); Z_{β} - valor do erro β , usualmente: 0,84 (20%); r - coeficiente de correlação linear (Pearson ou Spearman)

Os pacientes foram orientados sobre o procedimento, paracentese diagnóstica ou alívio (independente da autorização para inclusão de seus dados no estudo), assim como sua indicação clínica, necessidade de realização e riscos, conforme o protocolo do serviço de Gastroenterologia e Nutrição do Hospital das Clínicas FMB/UNESP (Anexo 1). Os pacientes incluídos no estudo autorizaram por

escrito, em termo de consentimento livre e esclarecido (aprovado pelo comitê de ética - Anexo 2), o uso de seus dados assim como a coleta de material biológico para realização de exames. Nos casos que o paciente encontrava-se incapacitado de autorizar a realização do procedimento, seu responsável o fez. Os pacientes não alfabetizados tiveram os termos do estudo informados pela leitura na íntegra do termo de consentimento livre e esclarecido. Em todos os casos foram seguidos os protocolos do Hospital das Clínicas FMB/UNESP.

4.5 Metodologia

A paracentese foi realizada conforme as normas técnicas adotadas pelo protocolo do serviço de Gastroenterologia e Nutrição do Hospital das Clínicas FMB/UNESP (Anexo- 1) que consiste em orientar o/a paciente sobre o procedimento, pegar material necessário, manter o/a paciente em decúbito dorsal com cabeceira elevada a 30 graus e fazer a punção, após exame clínico, no terço distal entre a cicatriz umbilical e crista ilíaca anterior esquerda. Foram utilizados paramentação estéril, antissepsia, anestesia tópica, punção com cateter de flebotomia 16 - 14, punção no mesmo local e na direção em que foi feita a anestesia, utilizando técnica em Z (Anexo 1). Quando necessário solicitado auxílio do exame de Ultrassonografia para a marcação do melhor local de punção.

Realizada a coleta de líquido ascítico pela punção, sendo retirado aproximadamente 80 mL do material para análise, distribuídos da seguinte forma:

Punção diagnóstica ou suspeita de infecção:

- Celularidade e contagem diferencial (frasco de hemograma, com EDTA[ethylenediaminetetraacetic acid anticoagulant] - 5 mL)
- Cultura e Gram em laboratório (tubo seco de 50 mL - estéril, centrifugado e realização de sementeado em Bactec 3mL e placas específicas de crescimento, seguido de pesquisa de bactérias com coloração de Gram após a ressuspensão)

- Cultura com semeadura direta (semeado 10 mL no frasco de hemocultura à beira do leito).
- Proteína do líquido ascítico (frasco de exames bioquímicos - 5 mL)

Se a coleta não ocorreu no horário padrão de funcionamento do setor de microbiologia, o LA foi semeado apenas no frasco de hemocultura à beira do leito (RUNYON, 1986; RIMOLA, 2000), não sendo realizadas a coleta em tubo seco de 50 mL e a coloração de *Gram*.

Nos casos com necessidade de alívio foram retirados volumes maiores conforme protocolo do serviço (Anexo1).

Todo o material coletado foi devidamente identificado e encaminhado imediatamente ao Laboratório de análises clínicas do Hospital das Clínicas FMB/UNESP e seus resultados conferidos pelo médico assistente para a realização de medidas terapêuticas conforme o protocolo de peritonite bacteriana espontânea do serviço de Gastroenterologia e Nutrição do Hospital das Clínicas FMB/UNESP (Anexo 3).

O líquido ascítico coletado no tubo seco de 50 mL (Figura 3) foi imediatamente encaminhado e centrifugado em laboratório a 3 mil RPM por 15 minutos (centrífuga Excelsa II - Figura 4) e levado à câmara de fluxo (Figura 5), onde foram desprezados 45 mL do sobrenadante e o precipitado de 5 mL foi levemente agitado de forma manual para que houvesse a ressuspensão do sedimento no próprio LA para homogeneizar o mesmo (Figura 6). A ressuspensão com próprio líquido sem a adição de soro fisiológico 0,9% estéril à amostra foi uma modificação realizada no nosso estudo para reduzir a possibilidade de contaminação durante a manipulação. Foi feita a seguir semeadura em placas de cultura Ágar sangue (para bactérias anaeróbicas, *Gram* positivas e negativas) e Ágar *MacConkey* (*Gram* negativas), incubada por 24 h a 35 graus *Celsius* (Figuras 7-8), para avaliação pelo método qualitativo do possível germe isolado. O material de ressuspensão foi submetido também a coloração de *Gram* e semeadura em frasco de hemocultura, Bactec pediátrico de 3 mL (Figura 9) condicionado em incubadora por até 7 dias (Figura 10).

A contagem de PMN no líquido ascítico foi realizada no Laboratório de Citologia do HC UNESP pelo método de *Fuchs*, com contagem manual em microscopia e foi realizada a contagem diferencial nos caso com leucócitos maiores que 100 células/mm³.

A análise bioquímica do líquido ascítico e sérica foi realizada no Laboratório de Bioquímica do HC-UNESP. Método de bioquímica seca no aparelho da marca *Johnson e Johnson* modelo *Vitrus 950*. A análise bioquímica do PCR ultrasensível sérica foi realizada pelo método de imunorreação no aparelho da marca *Johnson e Johnson* modelo *Vitrus 950*.



Fonte: Prof. Dra. Jaqueline Caramori

Figura 3 - Tubo seco estéril - com capacidade para 50ml



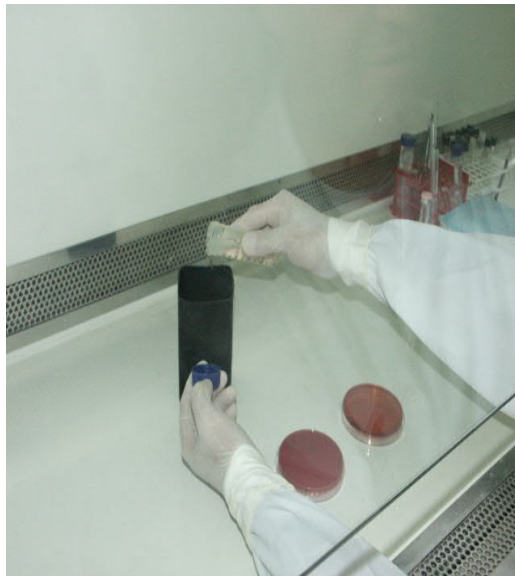
Fonte: Prof. Dra. Jaqueline Caramori

Figura 4 - Centrifugação



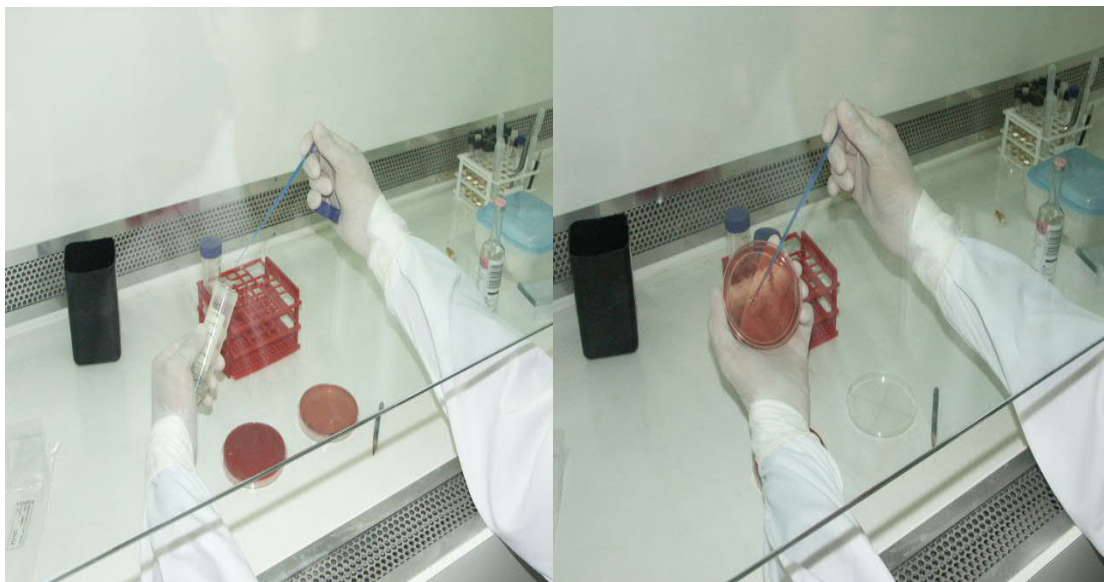
Fonte: Prof. Dra. Jaqueline Caramori

Figura 5 - Capela para manipulação estéril da amostra



Fonte: Prof. Dra. Jaqueline Caramori

Figura 6 - Descarte do sobrenadante



Fonte: Prof. Dra. Jaqueline Caramori

Fonte: Prof. Dra. Jaqueline Caramori

Figura 7-8 - Semeadura do precipitado em meios de cultura após ressuspensão



Fonte: Prof. Dra. Jaqueline Caramori

Figura 9 - Semeadura do precipitado em meio de cultura Bactec 3ml



Fonte: Prof. Dra. Jaqueline Caramori

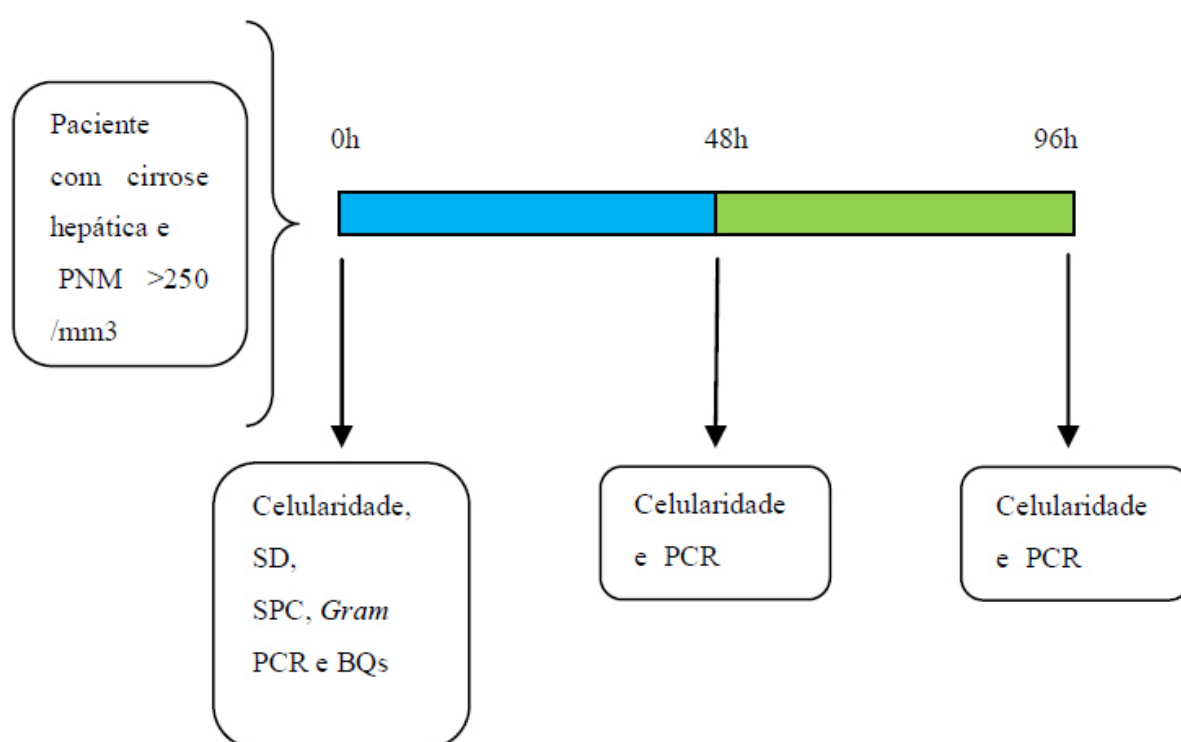
Figura 10 - Estufa para armazenamento da amostra por até 7 dias

4.6 Seguimento dos pacientes com PBE durante o tratamento

Os pacientes portadores de cirrose hepática com diagnóstico de PBE (>250 PMN/mm³) colheram amostras do líquido ascítico no momento do diagnóstico para a realização de sementeira em frascos de cultura direta e após

centrifugação no laboratório, associados à semeadura em placas de cultura e coloração de *Gram*. Foram colhidas em conjunto amostras de sangue para a realização de exames bioquímicos, no momento do diagnóstico.

Os pacientes foram seguidos por 48h com a realização de nova punção para avaliação da resposta ao tratamento por meio da avaliação da celularidade do líquido ascítico e nova coleta de bioquímicos. Os casos que necessitaram de troca do antibiótico por ausência de resposta foram seguidos por mais 48h com realização de novos exames.



PNM: polimorfos nucleares, SD: semeadura direta, SPC: semeadura pós centrifugação, BQs: Bioquímica sérica, PCR: proteína C reativa.

O paciente portador de cirrose hepática com diagnóstico de PBE pela celularidade foi submetido a coleta de amostras pareadas para os dois métodos de cultura além da coleta de exames séricos. Em 48h foi avaliada a resposta com a coleta pareada de PCR sérica e PMN do líquido ascítico, caso não apresentasse queda de pelo menos 25 % dos PNM em relação ao valor inicial o paciente foi seguido por mais 48h após a troca de antibiótico.

Figura 11 - Ilustração do seguimento durante o tratamento da PBE

4.7 Análise dos dados

Foram coletados dados epidemiológicos dos pacientes (idade e sexo), quadro clínico inicial ao ser atendido no serviço (febre, dor abdominal,

encefalopatia hepática, desidratação, insuficiência renal aguda, diarreia, hemorragia digestiva alta), origem do paciente com PBE (comunitária ou nosocomial), foram consideradas comunitárias as infecções diagnosticadas até 72h da admissão hospitalar (RIMOLA, 1981; GUARNER, 1997). Também foram obtidas informações de antecedentes pessoais (etiologia da hipertensão portal, uso de diuréticos e profilaxia antibiótica). Avaliamos a função hepática (classificação de Child-Pugh e escore MELD-*Model for End Stage Liver Disease* - anexo 4) e analisamos: a contagem de polimorfo nucleares (PMN) no líquido ascítico, bioquímica do líquido ascítico (proteína total), resultado da cultura do líquido ascítico e identificação do agente causador.

Avaliamos também o comportamento da PCR (proteína C reativa- mg/dL) sérica no momento do diagnóstico e na punção de controle em 48 horas, quando foi avaliado se houve resposta ao tratamento (queda de mais de 25 % da contagem de PMN - RIMOLA, 2000; na punção de 48h) ou necessidade de troca de antibiótico (guiado ou não pelo antibiograma e perfil de sensibilidade). Avaliamos a coloração de *Gram* após a re-suspensão do centrifugado de 50 ml de líquido ascítico. Os resultados foram confrontados com a literatura atualmente disponível.

4.8 Análise estatística dos dados

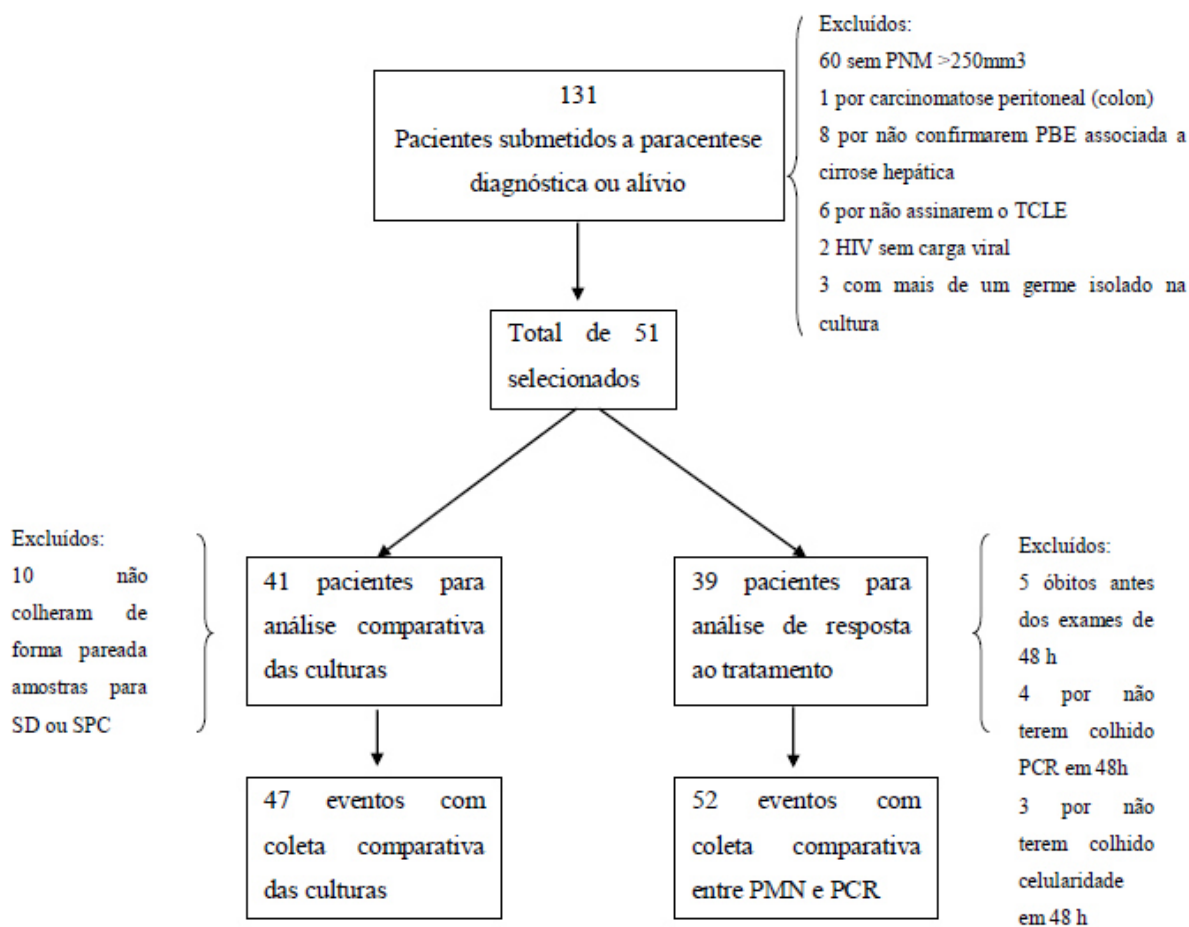
As variáveis categóricas foram analisadas dispostas em tabelas de frequências absolutas e relativas. Nas variáveis contínuas com distribuição normal, utilizou-se estatística descritiva, com valores de média e desvio padrão.

Para verificar se existe correlação entre a queda dos leucócitos na punção de controle em 48 h e PCR com variáveis não categóricas, foi utilizado o teste de correlação de *Sperman* sendo considerado significativa a associação quando $P < 0,05$. Também foi realizada a análise da área sobre a curva para a diferença entre o PCR inicial e em 48h, sendo esta diferença chamada de delta PCR e correlacionada com a resposta ao tratamento aceita como adequada quando observada queda de pelo menos 25% dos PNM em relação ao valor inicial.

5. Resultados

5.1 Universo amostral e paciente selecionados para análise final

Foram avaliados 131 pacientes com indicação de punção do líquido ascítico para a coleta de material com objetivo diagnóstico ou por necessidade de alívio para conforto do paciente. Após a análise individualizada de cada caso e obedecendo aos critérios de exclusão e inclusão, foram retirados 80 pacientes da análise final, sendo que, 60 pacientes apresentaram no momento da punção no exame de celularidade do líquido ascítico menos que 250 PNM/mm³, outro foi retirado da análise por apresentar carcinomatose peritoneal (cólon como sítio primário) diagnosticado no momento do transplante hepático, 6 não confirmaram que a PBE estava associada a cirrose hepática, 2 por apresentarem infecção pelo vírus da imunodeficiência humana sem o conhecimento da carga viral, 3 pacientes apresentaram mais de um germe isolado na cultura e outros 8 não assinaram o TCLE (Figura 11). Desta forma incluímos um total de 51 pacientes na análise os quais preencheram os critérios de inclusão e não apresentaram nenhum dos critérios de exclusão.



PNM: polimorfos nucleares, SD: semeadura direta, SPC: semeadura pós cetrifugação, PCR: proteína C reativa, HIV- vírus da imunodeficiência humana

Figura 12 - Ilustração da amostra final do estudo.

5.2 Características da amostra

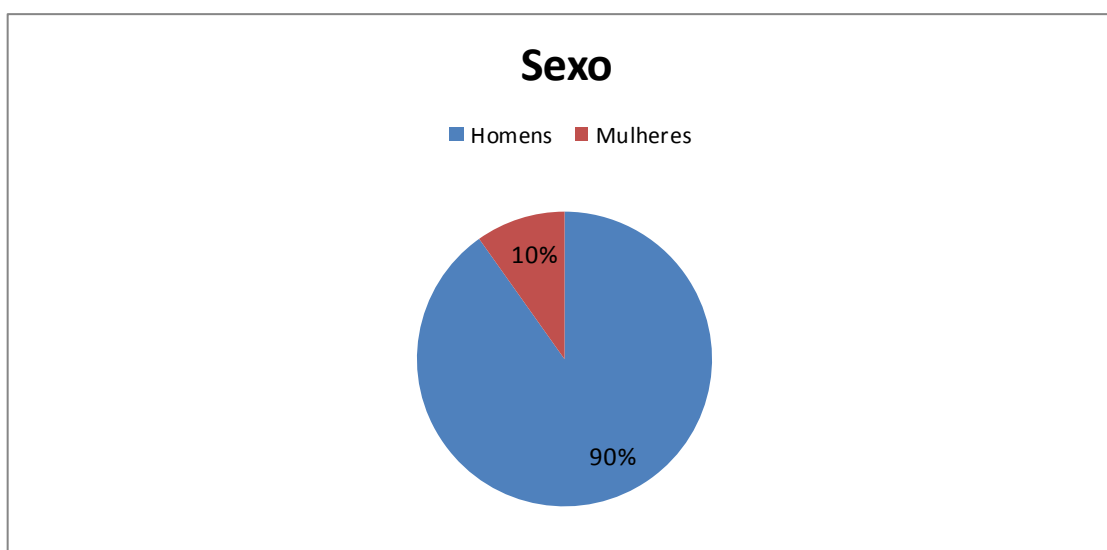
As características basais dos pacientes do estudo, incluindo sexo, idade, etiologia da doença hepática, níveis séricos de PCR no momento do diagnóstico PBE, pontuação da classificação de *Child- Pugh*, *MELD* e positividade geral das culturas estão apresentadas na Tabela 1 e detalhadas nos gráficos 1, 2 e 3.

Tabela 1 - Características da amostra

Característica	Média +/- DP ou (%)
Sexo (Masculino/Feminino)	(90/10)
Idade (anos)	52,57 +/- 14,05
Etiologia da doença hepática	
Álcool	(55%)
HVC	(17%)
HVB	(4%)
DHGNA	(10%)
Outras	(14%)
PCR médio no diagnóstico da PBE	10,5 +/- 8,23
CP médio no diagnóstico da PBE	10,7 +/- 1,76
MELD médio no diagnóstico da PBE	20,02 +/- 6,62
Positividade da cultura	
Semeadura direta	31%
Semeadura pós centrifugação	69%

HVC: hepatite C crônica, HVB: hepatite B crônica, DHGNA: doença hepática gordurosa não alcoólica, CP: *Child- Pugh*, MELD: *Model for End Stage Liver Disease*

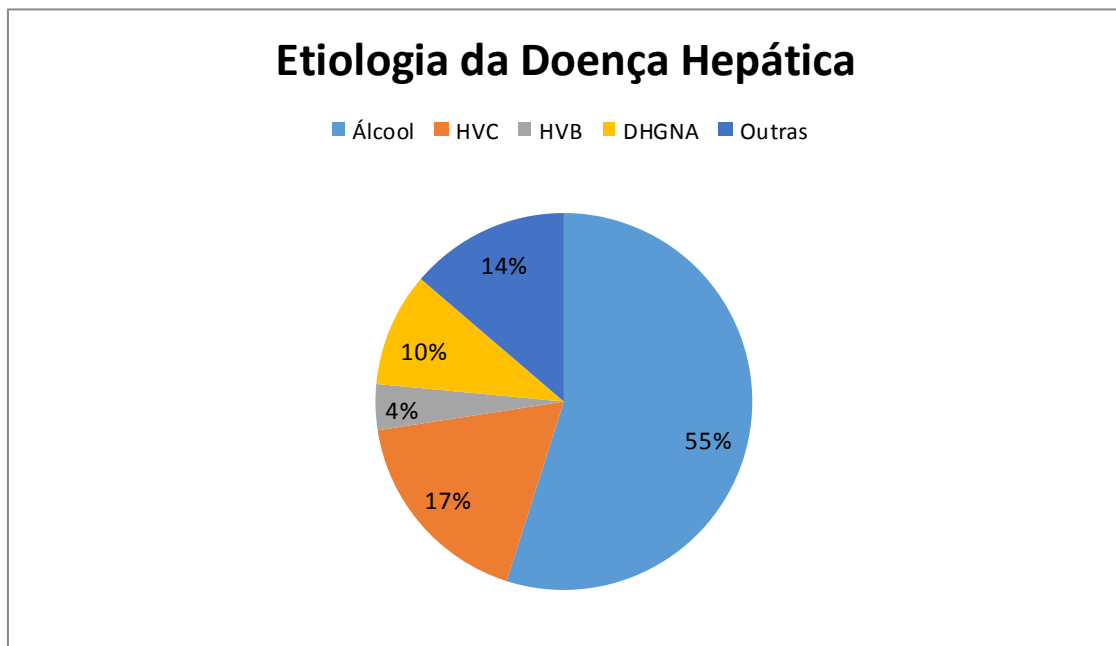
Realizada a categorização por sexo obtivemos uma distribuição com 46 pacientes do sexo masculino e 5 pacientes do sexo feminino.



Predomínio na amostra do sexo masculino

Gráfico 1 - Distribuição entre os sexos.

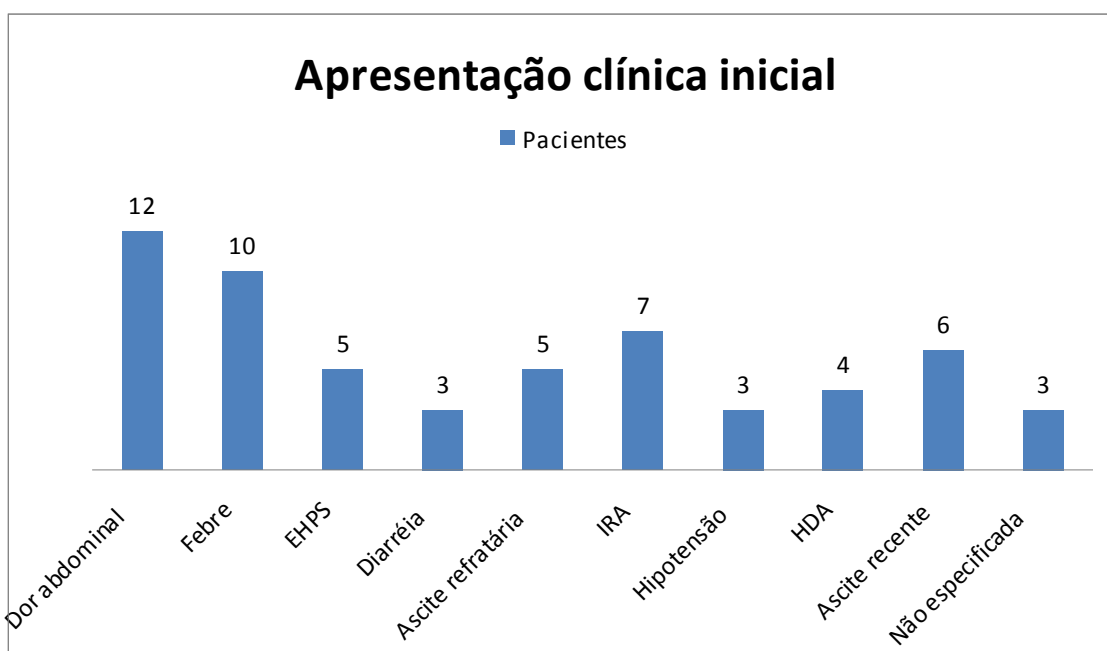
Na avaliação sobre as principais etiologias associadas à doença hepática nos pacientes do estudo encontramos o uso de álcool em 28 casos, hepatite C em 9 casos, hepatite B em 2, doença hepática gordurosa em 5 e outras causas em 7 pacientes (sendo a criptogênica em 5, deficiência de alfa 1 anti tripsina em 1 e doença de Wilson em outro)



HVC: hepatite C crônica, HVB: hepatite B crônica, DHGNA: doença hepática gordurosa não alcoólica.

Gráfico 2 - Distribuição entre as etiologias da doença hepática.

Na avaliação sobre as principais manifestações observamos que o mesmo paciente apresentou apresentado mais de um sinal ou sintoma associado ao quadro clínico inicial de PBE.



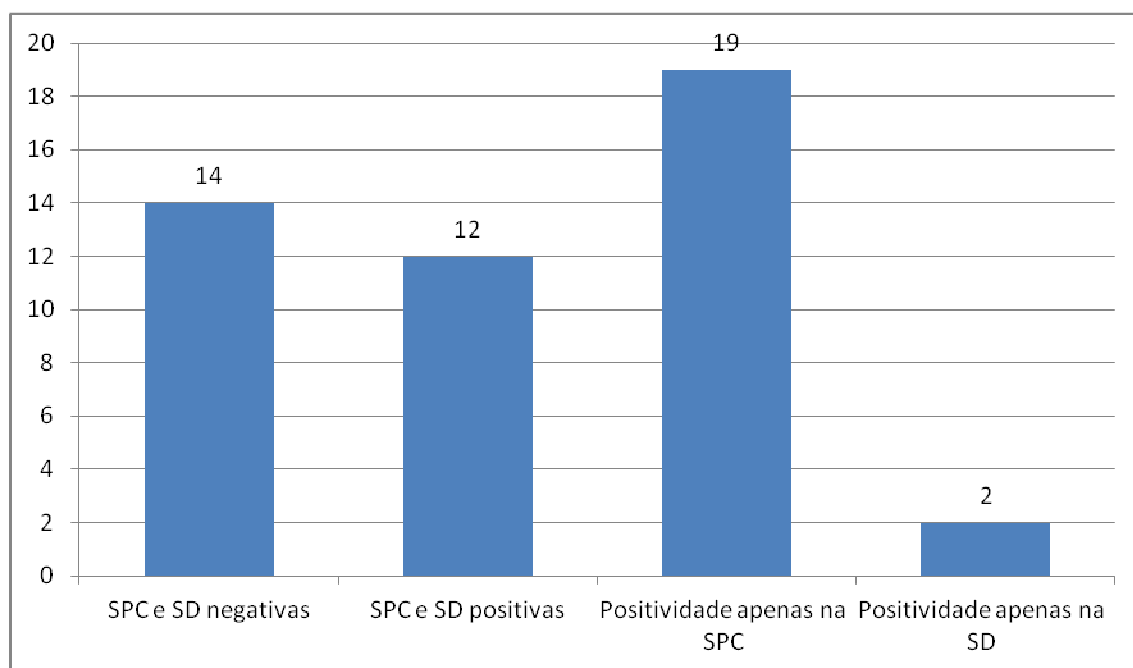
EHPS: encefalopatia hepática porto sistêmica, IRA: insuficiência renal aguda, HDA: Hemorragia digestiva alta.

Gráfico 3 - Apresentação clínica inicial

5.3 Resultados da análise das culturas

Para análise do resultado das culturas foram selecionados 51 pacientes, sendo que 10 pacientes foram excluídos da análise de comparação entre as culturas por não terem colhido de forma pareada a amostra para semeadura direta ou a amostra para semeadura pós centrifugação no momento do diagnóstico da PBE. Os 41 pacientes que colheram ambas as culturas (SD e SPC) foram analisados, sendo que, 4 pacientes tiveram mais de um episódio de PBE (após critérios de resolução do evento anterior e com intervalo médio entre os eventos de 47 dias \pm 10,5 dias, totalizando 6 novos eventos) e foram submetidos a nova coleta de ambas as culturas neste novo episódio - totalizando 47 eventos comparativos e estes foram submetidos a análise entre a positividade da cultura. Desta forma, para a análise comparativa entre os dois métodos de coleta para cultura, selecionamos 41 pacientes com um total de 47 eventos. Destes 47 eventos 14 apresentaram em ambas as formas de coleta ausência de germes isolados, 12 apresentaram nas duas formas de coleta germes isolados, 19 eventos mostraram crescimento de germes apenas na cultura realizada após

centrifugação e 2 eventos mostraram crescimento de germes apenas na cultura realizada por sementeira direta.



SPC: sementeira pós centrifugação, SD: sementeira direta

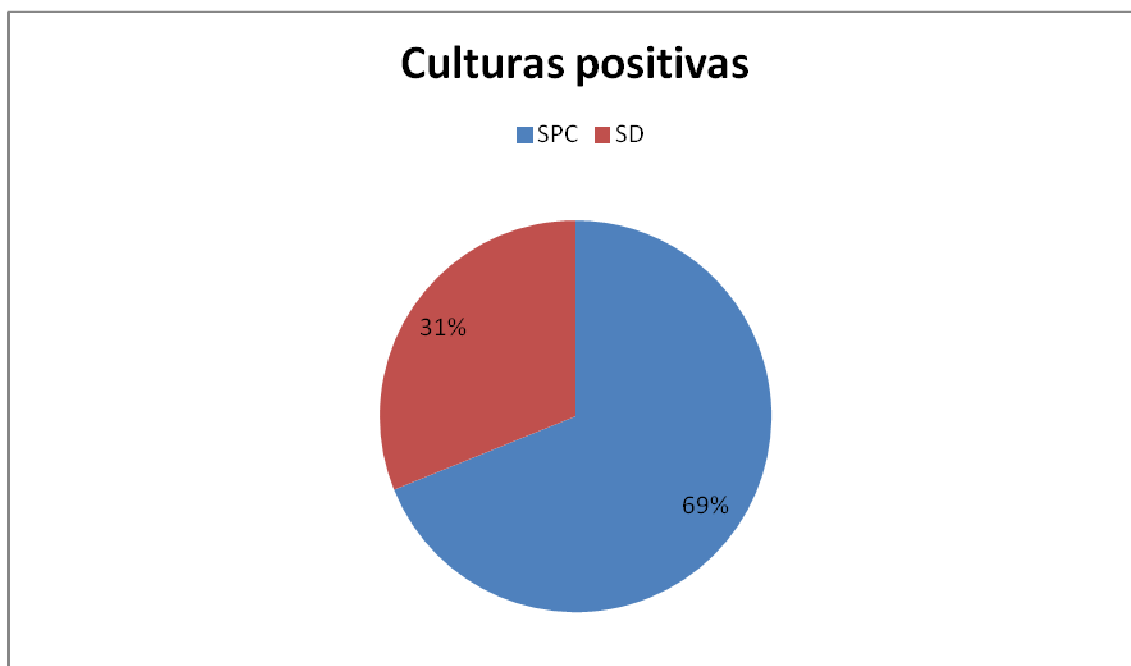
Gráfico 4 - Análise dos resultados das culturas

Quando ambas as amostras (SD e SPC) apresentaram resultados positivos, os germes isolados foram rigorosamente os mesmos em um total de 12 eventos:

Tabela 2 - Perfil de bactérias isoladas quando ambas as culturas foram positivas

Centrifugado pré semeadura	Semeadura direta
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Klebsiella pneumonia</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Enterococcus SP</i>	<i>Enterococcus SP</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Streptococcus viridans</i>	<i>Streptococcus viridans</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Klebsiella pneumonia</i>

Ao analisar a positividade entre a cultura por semeadura direta e o cultura por semeadura pós centrifugação, observamos:



SPC: semeadura pós centrifugação, SD: semeadura direta

Gráfico 5 - Análise comparativa entre a positividade das culturas semeadura direta e semeadura pós centrifugação.

Setenta por cento (33/47) dos episódios de PBE no estudo apresentaram cultura positiva para o exame do líquido ascítico. Destes 33 episódios a *Escherichia coli* foi o microrganismo etiológico mais comum (46%), seguido por *Klebsiella pneumonia* (15%), espécies de *Streptococcus sp* (15%) e *Eterococcus faecalis* (9%). Outras bactérias isoladas são também apresentada no gráfico 6.

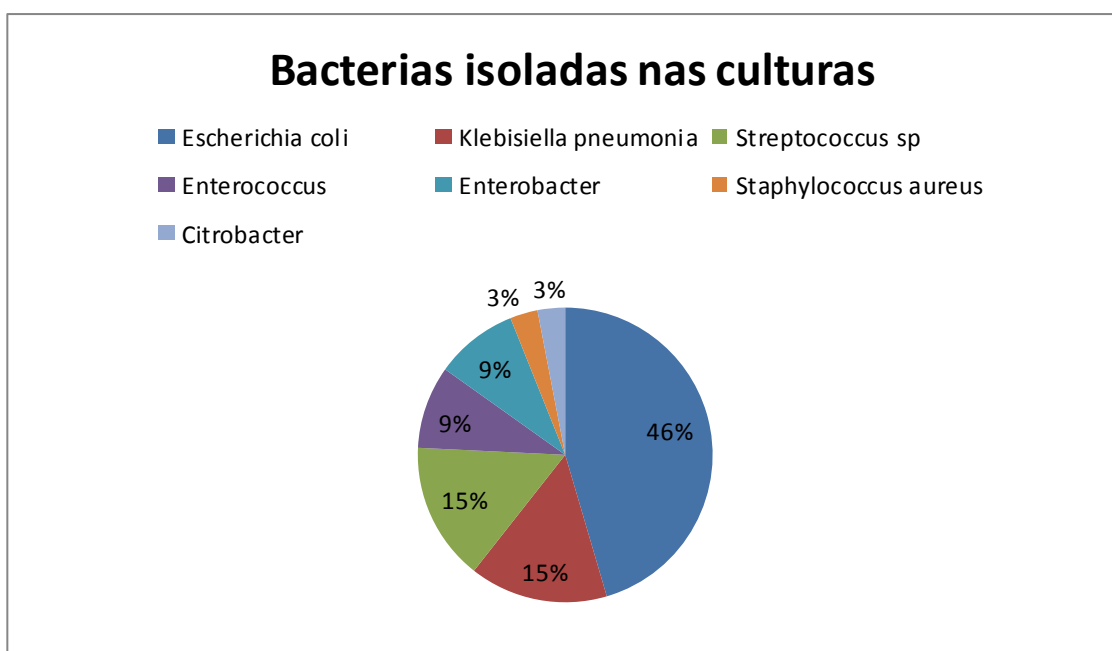


Gráfico 6 - Bactérias isoladas nas culturas.

5.4 Perfil de sensibilidade antibiótica

O isolamento do germe pelos métodos de cultura permitiu a realização do teste de sensibilidade antibiótica para cada cepa identificada, observou-se que para a bactéria *Escherichia coli*, o germe mais comumente isolado nos pacientes deste estudo, houve um perfil de sensibilidade a ceftriaxona, ciprofloxacina, levofloxacina e sulfametoxazol-trimetropima, sendo observada em 3 cepas a resistência à amicacina, levofloxacina e sulfametoxazol-trimetropima. A *Klebsiella pneumonia* apresentou sensibilidade a ceftriaxona, ciprofloxacina, levofloxacina e sulfametoxazol-trimetropima, sem isolamento de germes resistentes. A bactéria *Streptococcus sp* apresentou sensibilidade a oxacilina,

vancomicina, ciprofloxacina e sulfametoxazol-trimetropima, sendo observada em 2 cepas a resistência à eritromicina e levofloxacina. O germe *Enterococcus* apresentou sensibilidade a oxacilina, vancomicina, levofloxacina e sulfametoxazol-trimetropima, sendo observada em 1 cepa a resistência à ciprofloxacina e norfloxacina. A bactéria *Enterobacter* apresentou sensibilidade a ceftriaxona, ciprofloxacina e levofloxacina, não sendo observada resistência aos antibióticos testados. O *Staphylococcus aureus* apresentou sensibilidade a oxacilina, vancomicina, ciprofloxacina e clindamicina, não sendo observada resistência aos antibióticos testados. O *Citrobacter* apresentou sensibilidade a ceftriaxona, ciprofloxacina, levofloxacina e sulfametoxazol-trimetropima, sem isolamento de germes resistentes.

5.5 Resultados das análises do PCR em reposta ao tratamento

Para análise da variação do PCR sérico em relação aos PNM no líquido ascítico (no momento do diagnóstico, em 48 h para avaliação a resposta ao tratamento ou após nova coleta em 96h nos casos em que houve necessidade de troca de antibiótico - figura 11) selecionamos 51 pacientes. Foram excluídos 5 por óbito antes da realização dos exames de 48 h, 4 por não terem colhido PCR em 48h, 3 por não terem colhido celularidade em 48 h. Sendo assim selecionados para a análise final 39 pacientes, os quais colheram durante o episódio de PBE nos dois momentos (PCR sérico e PNM do LA diagnóstico e controle). Observamos que 5 pacientes do estudo apresentaram mais de um episódio de PBE (após critérios de resolução do evento anterior e com intervalo médio entre os eventos de 47 dias $-/+$ 10,5 dias, totalizando 8 novos eventos) permitindo a monitorização (sérica e do LA) de resposta ao tratamento e 5 pacientes que não responderam ao primeiro ciclo de antibióticos sendo necessária a troca de antibiótico, seguidos de nova avaliação a resposta terapêutica monitorizada em conjunto com a coleta de celularidade e PCR. Passamos a denominar para avaliação comparativa entre a variação do PCR sérico e a variação dos PNMs no LA diante do tratamento antibiótico, como evento, o que permitiu a análise de 52 eventos e estes foram submetidos a análise comparativa entre a queda ou

elevação do PNM do líquido e a queda ou elevação do PCR sérico em relação ao valor do início do tratamento.

A análise de correlação entre Delta PCR (queda ou elevação) e Delta PMN (queda ou elevação) mostrou-se pelo coeficiente de correlação de *Spearman*, com $R= 0,505$ e $P < 0,001$. A representação gráfica desta correlação pode ser demonstrada pelo Gráfico de Dispersão representando a correlação entre PNM e PCR no controle de tratamento para PBE.

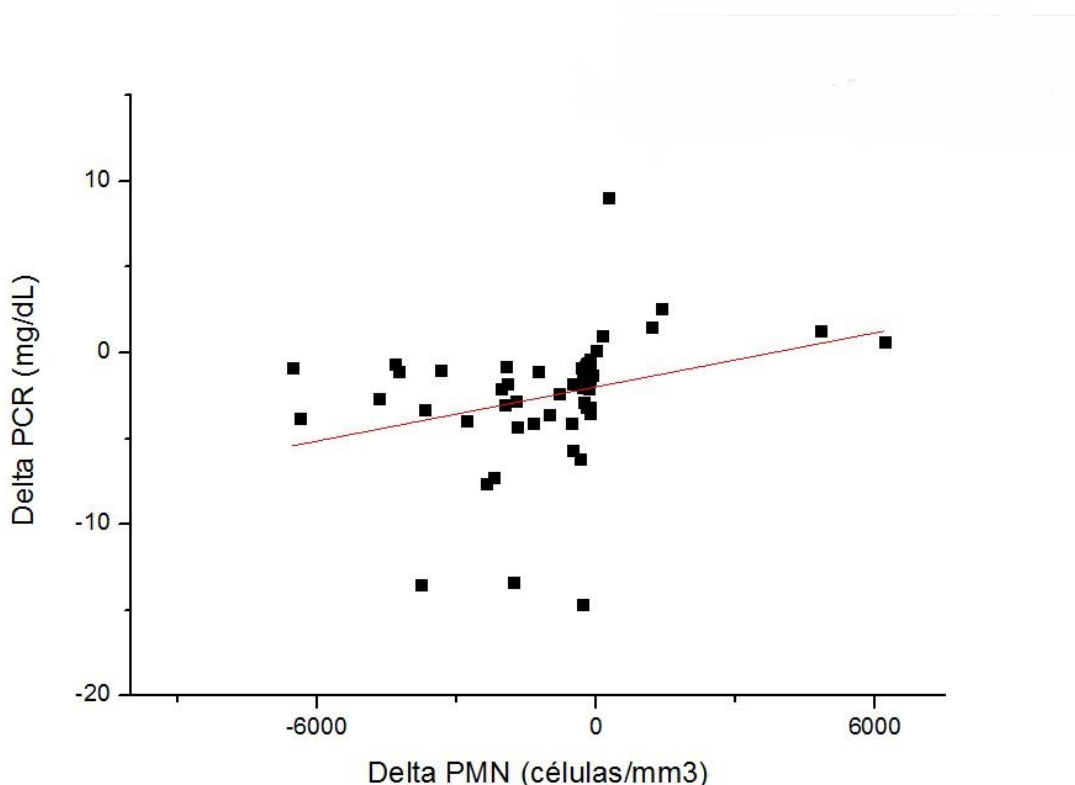


Gráfico 7 - Gráfico de Dispersão representando a correlação entre PNM e PCR no controle de tratamento para PBE.

Realizamos a análise da área sobre a curva em relação a variação dos PNM (razão de queda entre o início e 48h ou razão de queda entre 48h e 96h) tendo como resposta positiva ao tratamento a queda de pelo menos 25 % dos PMN em relação ao ponto inicial, após um período de 48h de tratamento ou troca de antibiótico. Obtivemos uma relação de área sob a curva de 0,9545 com intervalo de confiança de 0,8677-1,041 e $P < 0,001$, sendo o ponto de corte para o delta

PCR com correlação a resposta ao tratamento com uma queda de pelo menos 24% do valor do PCR inicial.

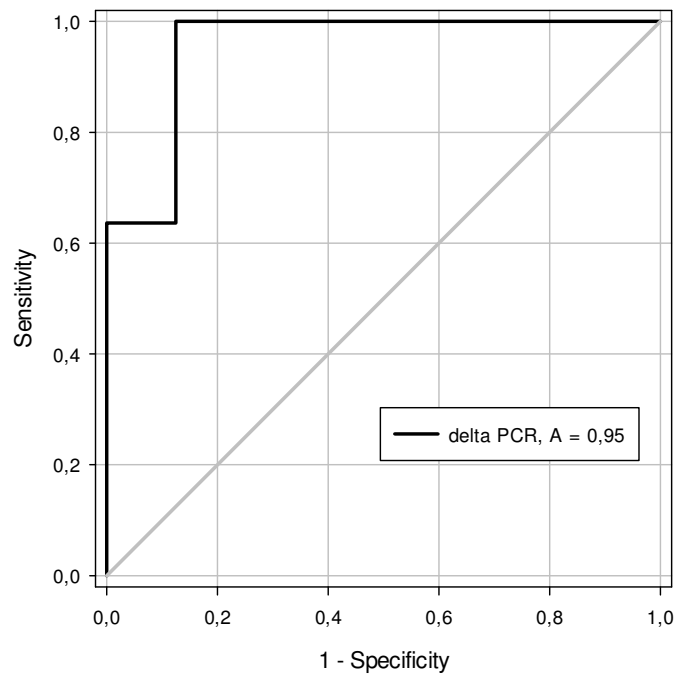


Gráfico 8 - Curva ROC- área sob a curva para avaliação de resposta ao tratamento com relação do delta PCR e delta PMN.

6. Discussão

6.1 Considerações sobre o perfil da amostra

Nossa amostra representa o padrão típico de cirrose hepática encontrado no Brasil, isto é, predominância do sexo masculino e etiologia alcoólica, fatos também evidenciados por CALY e FIGUEIREDO (1993,1999 respectivamente). A média de idade foi de $52,57 \pm 14,05$ anos, similar a relatada em outras séries nacionais (CORREIA, 1975 e MATTOS, 1992).

A prevalência de homens no nosso estudo pode ter sido associada ao perfil de pacientes etilistas, muitas vezes ativos, sendo este um fator contribuinte para o desenvolvimento da ascite e favorecimento da PBE (RIMOLA, 2000; GARCÍA-TSAO, 2001).

As apresentações clínicas iniciais mais prevalentes associadas ao quadro de PBE no estudo foram: dor abdominal e febre, fato também observado em outro estudo nacional de STRAUSS (2003), sendo estes os sintomas de mais fácil percepção pelo paciente e seus familiares levando a procura ao atendimento médico.

6.2 Considerações análise das culturas e o método de centrifugação

A peritonite bacteriana espontânea é uma grave complicação dos pacientes com cirrose hepática e ascite, temos atualmente uma taxa de mortalidade de 20% a 30% (LLOVET,1993; GARCÍA -TSAO,2005), mas podendo chegar a 90% quando o tratamento padrão for ineficiente (UMGELTE, 2009). Buscando a redução da mortalidade nos pacientes cirróticos, estudos mostram cada vez mais indicações para o uso de profilaxia com antibióticos (ARROYO, 2009; EASL, 2010; AASLD, 2013), favorecendo a seleção de germes resistentes aos antibióticos (O'LEARY, 2008; ANGELONI, 2008; UMGELTE, 2009). O surgimento de cepas resistentes provoca uma mudança no tratamento da PBE levando ao uso de antibióticos cada vez mais potentes. O padrão ouro para diagnóstico etiológico da PBE, a cultura semeada a Beira leito (semeadura direta), não tem se mostrado eficaz em 60% dos casos o que dificulta o uso da antibiótico terapia guiada pela resposta ao antibiograma. O perfil bacteriano

isolado em culturas com predomínio de *Escherichia coli* encontra-se em concordância com os achados na literatura (CALY, 1993; STRAUSS, 2003; GUSTOT, 2012; BADAWEY, 2013).

A porcentagem de cultura positiva com a coleta e semeadura imediata a beira leito foi semelhante as taxas encontradas em outros estudos (EASL, 2010; GUSTOT, 2012; BADAWEY, 2013). O método de coleta utilizando um volume maior (50mL) de líquido ascítico associado a centrifugação e semeadura em meio de cultura em laboratório, mostrou-se, neste estudo, superior ao padrão ouro que consiste na semeadura do líquido a beira do leito (10ml).

A implementação de um protocolo no serviço para a realização do exame de cultura após centrifugação e controle rotineiro dos procedimentos, pode manter ou melhorar a positividade do exame. Este procedimento necessita de encaminhamento imediato ao laboratório além de uma equipe treinada para a realização do mesmo, gerando maiores despesas, que poderão ser compensadas com uma possível redução do custo de tratamento.

6.3 Considerações da análise do PCR em relação ao tratamento

A PCR é uma proteína positiva de fase aguda que se liga aos diferentes substratos. Embora o exato mecanismo *in vivo* da função da PCR durante a inflamação não sejam bem conhecidos, é notório o papel da PCR no reconhecimento e eliminação de agentes patogênicos externos, substâncias endógenas potencialmente tóxicas libertadas a partir de tecidos danificados e por estimular a imunidade celular e humoral (SCHULTZ, 1990).

A PCR é uma proteína produzida pelo fígado e mesmo pacientes com doença hepática avançada apresentam aumento da sua produção durante processos inflamatórios, mas quanto mais grave é a disfunção hepática subjacente, menor o nível de PCR em resposta a infecção (CHOE, 2005).

No presente estudo, verificou-se que a variação do nível sérico PCR acompanhou a variação PNM no seguimento de reposta ao tratamento de forma linear e com boa correlação, podendo ser mais uma ferramenta na avaliação do paciente ao tratamento da PBE.

O nível sérico da PCR pode auxiliar a equipe médica a tomar decisões em especial nos pacientes que não respondem ao tratamento, incluindo os com disfunção hepática.

6.4 Considerações em relação ao perfil de sensibilidade antibiótica

A caracterização do germe pela otimização do método de cultura tem sido uma busca na tentativa de guiar o tratamento da PBE avaliando o perfil de resistência bacteriana, principalmente em relação as crescentes indicações de profilaxia antibióticas, sejam elas primárias ou secundárias (EASL, 2010; AASLD, 2013). Observamos no nosso estudo casos de resistência a antibióticos, como a *Echerichia coli* resistente a sulfametoxazol-trimetropima e levofloxacina utilizados para profilaxia primária, secundária e no tratamento da PBE.

7. Conclusões

O método de semeadura pós centrifugação de 50 mL de líquido ascítico pode aumentar a positividade da cultura em relação ao método de coleta e semeadura direta.

A PCR permanece estável e pode ser utilizada como marcador de seguimento da resposta ao tratamento da PBE somada a avaliação da resposta clínica do paciente; podendo colaborar na avaliação da necessidade de troca de antibiótico ou continuidade do tratamento.

Estudos com maiores número de casos e estudos multicêntricos serão necessários para confirmar ou refutar nossos achados.

8. Referências Bibliográficas

Andrade DR, Andrade Jr, DR, Galvão FHF, Santos SA. Ascite - Estado da arte baseado em evidências. *Ver Assc Med Bras* 2009;55(4): 489-96

Angeloni S, Leboffe C et al. Efficacy of current guidelines for the treatment of spontaneous bacterial peritonitis in the clinical practice. *World J Gastroenterol*. 2008 May;14(17):2757-62

Araujo A., Lopes AB., Michalczuk MT., Stifft J., Nardelli E., Escobar G., Rossi G. and Álvares-da Silva M. Is there yet any place for reagent strips in diagnosing spontaneous bacterial peritonitis in cirrhotic patients? An accuracy and cost-effectiveness study in Brazil. *J Gastrol Hepatol* 2008; 23:1895-1900

Arbol LR, Urman J, Fernández J, González M, Navasa M, Monescillo A, Albillos A, Jiménez W and Arroyo V. Systemic, Renal and Hepatic Hemodynamic Derangement in Cirrhotic Patients With Spontaneous Bacterial Peritonitis 2003;38(5):1210-1218

Arroyo V, Fernandez J, Ginès P Pathogenesis and Treatment of Hepatorenal Syndrome. *Semin Liver Dis*. 2008; 28(1): 081-095

Badawy AA. et al. Antibiotics and spontaneous bacterial peritonitis. *World J Gastroenterol* 2013. February 28; 19(8): 1271-1277

Behar P, Almeida PRL, Camargo NS, Arenz M, Tovo CV Galperim B. Peritonite bacteriana espontânea: impacto das mudanças da microbiologia. *Arq Gastrol* 2007; 44: 68-72

Braga LL, Souza MH et al. Diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis in cirrhotic patients in northeastern Brazil by use of rapid urine-screening test. *Sao Paulo Med J*. 2006 May 4;124(3):141-4

Caly WR, Strauss E. A prospective study of bacterial infections in patients with cirrhosis. *J hepatol* 1993;18:353-358

Caruntu FA, Benea L. Spontaneous Bacterial peritonitis : Pathogenesis, Diagnosis, Treatment. *J Gastrointest Liver Dis* 2006;15 (1) 51-56

Castellote A, López C, Gornals J, Tremosa G, Fariña ER, Baliellas C, Domingo A and X Xiol. Rapid Diagnosis of Spontaneous Bacterial Peritonitis by Use of Reagent Strips. *Hepatology* 2003;37:893-896

Castellote A, Girbau X, Ariza S, Salord X, Vazquez T, Lobatón R, Rota and X Xiol. Usefulness of reagent strips for checking cure in spontaneous bacterial peritonitis after short-course treatment. *Aliment Pharmacol Ther* 2010;31:125-130

Chen K H, Chang C T, Weng S M, Yu C C, Fang J T, Huang J Y, Yang C W and Hung C C. Culture-Negative Peritonitis: A Fifteen-Year Review. *Renal Failure*, 29:177-181, 2007

Chinnock B, Fox C, Hendey GW. Gram's Stain of Peritoneal Fluid is Rarely Helpful in the Evaluation of the Ascites Patient. *Ann Emerg Med*. 2009 Jul;54:78-82

Chiva M, Guarner C et al. Intestinal mucosal oxidative damage and bacterial translocation in cirrhotic rats. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2003 Feb;15(2):145-50

Choe KW, Park WB, Lee CS, Jang HC, Kim HB, Lee HS, Oh M. Production of C reactive protein in *Escherichia coli*-infected patients with liver dysfunction due liver cirrhosis. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2005; 51: 227-230

Cho Y. et al. High-sensitivity C-reactive Protein Level is an Independent Predictor of Poor Prognosis in Cirrhotic Patients With Spontaneous Bacterial Peritonitis. *J Clin Gastroenterol* 2014;48:444-449

Conn HO. Spontaneous peritonitis and bacteremia in Laennec's cirrhosis caused by enteric organisms. A relatively common but rarely recognized syndrome. *Ann Intern Med* 1964;60: 568-680

Coral G, de Mattos AA et al. Prevalence and prognosis of spontaneous bacterial peritonitis. Experience in patients from a general hospital in Porto Alegre, RS, Brazil (1991-2000). *Arq Gastroenterol*. 2002 Jul-Sep;39(3):158-62

Correia JP, Conn Ho. Spontaneous Bacterial Peritonitis in cirrhosis: endemic or epidemic? *Med Clin North Am* 1975; 59:936-81

Deschênes M, Villeneuve JP. Risk factors for the development of bacterial infections in hospitalized patients with cirrhosis. *Am J Gastroenterol*. 1999Aug;94(8):2193-7

Di- Martino V, Cervoni JP, Thévenot Thierry, Weil D, Muel E, Barbot O, Sheppard F Monnet E. C reactive protein predicts short-term mortality in patients with cirrhosis. *Journal of Hepatology* 2012; 56: 1299-1304

EASL Clinical Practice Guidelines on The Management of Ascites, Spontaneous Bacterial Peritonitis and Hepatorenal Syndrome in Cirrhosis. European Association for the Study of the Liver. *Journal of Hepatology* 2010; 53; 397-417

Fernández J, Navasa M *et al*. Bacterial Infections in Cirrhosis: epidemiological Changes with Invasive Procedures and Norfloxacin Prophylaxis *Hepatology* 2002; 35(1):140-148

Fernández J, Navasa M *et al*. Primary Prophylaxis of Spontaneous Bacterial Peritonitis Delayz Hepatorrenal Syndrome and improves Survival in Cirrhosis *Gastroenterology* 2007; 133:818-24

Figueiredo FAF., Coelho HSM. e Soares JAS. Peritonite bacteriana espontânea na cirrose hepática: prevalência, fatores preditivos e prognóstico. *Rev Ass Med Brasil* 1999;45(2): 128-136

García-Tsao G. Spontaneous bacterial peritonitis. *Gastroenterol Clin North Am*. 1992;21:257-75.

García-Tsao G. Current Management of the Complications of Cirrhosis and Portal Hypertension: Variceal Hemorrhage, Ascites, and Spontaneous bacterial peritonitis . *Gastroenterol*. 2001;120:726-48.

García-Tsao G, Albillos A *et al*. Bacterial translocation in acute and chronic portal hypertension. *Hepatology*. 1993 Jun;17(6):1081-5

García -Tsao G and Wiest R. Gut microflora in the pathogenesis of the complications of irrhosis. *Best Paractice & research Clinical Gastroenterology*. 2004; 18(2):353-372

- García-Tsao G. Bacterial Infections in cirrhosis: treatment and prophylaxis. *J Hepatol.* 2005;42 Suppl(1):S85-92.
- Ginés P, Quintero E, Arroyo V, *et al.* Compensated cirrhosis. *Hepatology.* 1987(1):122-128
- Ginés P, Rimola A *et al.* Norfloxacin prevents spontaneous bacterial peritonitis recurrence in cirrhosis: results of a double-blind, placebo-controlled trial. *Hepatology.* 1990 Oct,12(4 Pt 1):716-24
- Guarner, C. - Macrophage function in cirrhosis and the risk of bacterial infection: comments. *Hepatology* 1995;22: 367-369
- Guarner C, Soriano G. Spontaneous bacterial peritonitis. *Semin Liver Dis.* 1997; 17(3):203-217
- Guarner C, *et al.* Risk of a First Community-Acquired Spontaneous Bacterial Peritonitis in Cirrhotics With Low Ascitic Fluid Protein Levels *Gastroenterol* 1999; 117:414-419
- Guarner C, Soriano G. Bacterial translocation and its consequences in patients with cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2005 Jan;17(1):27-31
- Gomez F., Ruiz P. and Schreiber AD. - Macrophage function in cirrhosis and the risk of bacterial infection. *N Engl J Med* 1994;331: 1122-1128
- Gordon FD. Ascites. *Clin Liver Dis* 2012; 16 :285-299
- Gustot T; Fernandez J. Management of bacterial infections in cirrhosis. *Journal of Hepatology* 2012; S1-S12
- Hall JC., Hell K A., Papadimitriou JM. and Platell C. The Pathobiology of Peritonitis. *Gastroenterology* 1998;114:185-196
- Hirschfield GM, Pepys MB. C reactive protein: a critical update. *The Journal of Clinical Investigation.* 2003; 111; 12 1805- 1812

Inadomi J, Sonnenberg A. Costa-Analysis of Prophylactic Antibiotics in Bacterial Peritonitis. *Gastroenterology* 1997;113:1289-1294

Koulaouzidis A, Bhat S, Saeed AA. Spontaneous bacterial peritonitis. *World J Gastroenterol.* 2009 Mar 7;15(9):1042-9

Lata J, Stiburek O, Kopacova M. Spontaneous bacterial peritonitis: A severe complication of liver cirrhosis. *World J of Gastroenterology* 2009;15(44):5505-5510

Li P Kam-Tao, et al Peritoneal dialysis-related infections Recommendations:2010 Update. *Peritoneal Dialysis International* 2010;30:393-423

Llach J, Rimola A, Navasa M, Gines P, Salmeron JM, Gines A, Arroyo V, Rodes J. Incidence and predictive factors of first episode of spontaneous bacterial peritonitis in cirrhosis with ascites: relevance of ascitic fluid protein concentration. *Hepatology* 1992;16:724-727

Llovet JM, Planas R, Morillas R. et al. Short term prognosis of cirrhotics with spontaneous bacterial peritonitis: multivariate study. *Am J Gastroenterol.* 1993;88(3):388-92

Luca A, Garcia-Pagán JC, Bosh J, Feu F, Jiménez W, Ginés A, Fernández M, Escorsell A, Arroyo V and Rodés J. Beneficial Effects of Intravenous Albumin Infusion on the Hemodynamic and Humoral Changes After Total Paracentesis *Hepatology.* 1995;22: 753-58

Mattos AA, Lima JP. Spontaneous Bacterial Peritonitis (SBP) and its variants in a general hospital in Brazil. *J Hepatol* 1992;16 (1): S102.

McGibbon A, Chen GI, Peltekian KM and Zanten S V. An Evidence-Based Manual for Abdominal Paracentesis. *Dig Dis Sci* 2007;52:3307-3315

Navasa M, et al Randomized, Comparative Study of Oral Ofloxacin Versus intravenous Cefotaxime in Spontaneous Bacterial Peritonitis. *Gastroenterology* 1996; 111:1011-1017

Neugebauer H, Hartmann P *et al.* Bacterial translocation increases phagocytic activity of polymorphonuclear leucocytes in portal hypertension: priming independent of liver cirrhosis. *Liver Int.*2008 Sep;28(8):1149-57

O'Leary, J .G; *et al.* Indications for liver transplantation. *Gastroenterology.* 2008;134:1764-1776

Parsi MA, Atreja A and Zein NN.Spontaneous bacterial peritonitis: Recent data on incidence and treatment. *Cleveland Clinical j of medicine* 2004;71(7):569-576

Parsi MA, *et al.* Ascitic Fluid Lactoferrin for Diagnosis of Spontaneous Bacterial Peritonitis. *Gastroenterology* 2008;135:803-807

Pectasisdes D, Alexopoulou A, Papadopoulos N, Elipoulos DG, Alexaki A, Tsiriga A, Toutouza M. Increasing frequency of gram- positive cocci and gram - negative multidrug- resistant bacteria in spontaneous bacterial peritonitis. *Liver international.* 2013; 33:975-981

Platell C, Hall JC, Heel KA, Papadimitriou JM. The pathobiology of peritonitis. *Gastroenterology* 1998; 114:185-196

Pinzello G, Simonetti RG,Craxi A, Di Piazza S, Spano C, Pagliaro L. Spontaneous bacterial peritonitis: a prospective investigation in predominattly noalcoholic cirrhotic patients. *Hepatology* 1983;3:545-549

Riggio O , Angeloni S,Parente A, Leboffe C Pinto G, Aronne T. Merli M. Accuracy of the automated cell counters for managemnet of spontaneous bacterial peritonitis. *World J Gastroenterol.* 2008;145698-5694

Riggio O.;Angeloni S. Ascitic fluid analysis for diagnosis and monitoring of spontaneous bacterial peritonitis. *World J Gastroenterol.* 2009 August21;15(31)3845-3850

Rimola A., Soto R., Bory F., Arroyo V., Piera C. andd Rodés, J. - Reticuloendothelial system phagocytic activity in cirrhosis and its relation to bacterial infections and prognosis. *Hepatology* 1984; 4: 53-58

- Rimola A, García-Tsao G *et al.* Diagnosis, treatment and prophylaxis of spontaneous bacterial peritonitis: a consensus document. *International Ascites Club. J Hepatol.* 2000 Jan;32(1):142-53
- Runyon BA and Hoefs JC. Culture-negative neutrocytic ascites: A variant of spontaneous bacterial peritonitis. *J Hepatology* 1984;4: 1209- 1211
- Runyon, BA. Low-protein concentration ascitic fluid is predisposed to spontaneous bacterial peritonitis. *Gastroenterology* 1986;91: 1343-1346
- Runyon BA, Hoefs JC., Morgan TR. Ascitic fluid analysis in malignancy-related ascites. *Hepatology* 1988;8:1104- 1109
- Runyon, B A. - Patients with deficient ascitic fluid opsonic activity are predisposed to spontaneous bacterial peritonitis. *Hepatology* 1988; 95: 632-635
- Runyon BA, Canawati HN. and Akriviadis EA. -Optimization of ascitic fluid culture technique. *Gastroenterology* 1988; 95:1351 -1355
- Runyon, BA, Montano AA, Akriviadis EA, Atillon MR, Irving MA,McHutchison JG. The serum-ascites albumin gradient is superior to the exudates-transudate concept in differential diagnosis of ascites. *Ann Intern Med* 1992;117: 215-220
- Runyon, B.A. - Bacterial infections in patients with cirrhosis. *J Hepatol* 1993;18: 271-272.
- Runyon BA, AASLD. Introduction to the revised American Association for the Study of Liver Diseases practice guideline management of adult patients with ascites due to cirrhosis 2012. *Hepatology* 2013; 57:1651.
- Schultz DR, Arnold PI. Properties of four acute phase proteins: C-reactive protein, serum amyloid A protein, alpha 1-acid glycoprotein, and fibrinogen. *Semin Arthritis Rheum.* 1990;20:129-147
- Sheer TA,Runyon BA. Spontaneous Bacterial Peritonitis. *DigDis.*2005;23:39-46

- Solá R, Montserrat A, Colli S, Vila MC, Oliver MI and Arroyo V. Spontaneous Bacterial Peritonitis in Cirrhotic Patients Treated Using Paracentesis or Diuréticos: Results of a Randomized Study *Hepatology* 1995; 21(2):340-344
- Soriano G, Coli P, Guarner C, Such J, Sánchez F, Prats G and Vilardell F. Escherichia Coli capsular Polysaccharide and Spontaneous bacterial peritonitis in Cirrhosis. *Hepatology* 1995;21:(3) 668-73
- Strauss E. Caly W.R. Peritonite bacteriana espontânea. *Rev.Soc.Bras.Med Trop.* nov-dez 2003;36(6)711-717
- Sugihara T, Koda M et al. Rapid identification of bacterial species with bacterial DNA microarray in cirrhotic patients with spontaneous bacterial peritonitis. *Intern Med.* 2009;48(1):3-10
- Tito L., Rimola A., Ginés P., Llach J., Arroyo V. and Rodes J. Recurrence of spontaneous bacterial peritonitis in cirrhosis: frequency and predictive factors. *Hepatology* 1988;8: 27-31
- Toledo C, Salmeron JM, Rimola A, Navasa M, Arroyo V, Llach J, Gines A, Gines P, Rodes J. Spontaneous bacterial peritonitis in cirrhosis: predictive factors of infection resolution and survival in patients treated with cefotaxime. *Hepatology* 1993;17:251-257
- Umgelter A, Reindl W et al. Failure of Current Antibiotic First-Line Regimens and Mortality in Hospitalized Patients with Spontaneous Bacterial Peritonitis. *Infection.* 2009 Feb;37(1):2-8
- Viallon A., Zeni F. et al. Serum and ascetic procalcitonin levels in cirrhotic patients with spontaneous bacterial peritonitis: diagnostic value and relationship to pro-inflammatory cytokines. *Intensive Care Med.* (2000) 26;1082-1088
- Vincent JL, Bota DP, Nuffelen MV, Zakariah AN. Serum levels of C reactive protein and procalcitonin in critically ill patients with cirrhosis of the liver. *J Lab clin Med.* December 2005;146; 6:347-351

Von Graevenitz A, Hächler H, Vogt K, Binswanger U. Centrifugation of 50 ml of peritoneal fluid is sufficient for microbiological examination in continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD) patients with peritonitis. *Infection*. 1986 May-Jun;14(3):102-4.

Wiest R and Rath HC. Bacterial translocation in the gut. *Best Practice & research Clinical Gastroenterology*. 2003; 17(3):397-425

Wiest R, Lawson M and Geuking M. Pathological bacterial translocation in liver cirrhosis. *Journal of Hepatology*. 2014; 60:197-209

Wong C L., *et al* Does This Patient Have Bacterial Peritonitis or Portal Hypertension? How Do I Perform a Paracentesis and Analyze the results? *JAMA*.2008;299(10)1166-1178

9. Anexos

Anexo 1

PARACENTESE DE ALÍVIO OU DIAGNÓSTICA

Indicações de paracentese de alívio: desconforto respiratório/abdominal ou ascite refratária, ou seja, sem resposta a diuréticos ou com complicações pelo uso de diuréticos (disfunção renal, encefalopatia, etc.)

Indicações de paracentese diagnóstica: Aumento do volume abdominal sem causa aparente, sinais de irritação peritoneal, febre, encefalopatia hepática, hipotermia, hipotensão, diarreia, falta de resposta aos diuréticos e/ou deterioração da função renal. Ascite de início recente sem investigação prévia.

Orientar paciente sobre o procedimento, pegar material necessário (ver item 1). Paramentação estéril, anti-sepsia, anestesia tópica e punção com cateter de flebotomia 16 – 14. Punção no mesmo local e direção em que foi feita a anestesia, utilizando técnica em Z (ver item 2).

O local da punção deverá ser determinado através do exame físico propedêutico, mas se o Houver qualquer dúvida sobre o local de punção deverá ser realizada ultrassonografia.

Exames séricos: hemograma, albumina sérica, função renal, eletrólitos, coagulograma.

Exames do líquido ascítico:

Primeira punção (diagnóstica e de alívio):

1.GASA (gradiente albumina sérica – albumina líquido ascítico > 1,1 indica hipertensão portal)

2.Cultura a beira do leito (semear 10 mL no frasco de hemocultura à beira do leito).

3.Celularidade e contagem diferencial (frasco de hemograma – 5 mL - tampa roxa)- checar se há PBE

4.Cultura e Gram em laboratório (tubo seco de 50 ml – tampa azul – estéril)

5.Proteína (frasco de exames bioquímicos – 5 mL- tampa vermelha)

Se a coleta não ocorrer no horário padrão de funcionamento do setor de Microbiologia ou aos finais de semana, semear apenas no frasco de hemocultura à beira do leito.

A partir da segunda punção (apenas de alívio):

1.Celularidade e contagem de diferencial (frasco de hemograma – 5 mL - tampa roxa)- checar se há PBE

Se PMN \geq 250 células/mm³ : vide protocolo de PBE.

Se Proteína do líquido ascítico < 1g/dl, mesmo sem PBE, iniciar profilaxia com norfloxacin 400 mg/dia ou sulfametoxazol trimetoprin 400/80 mg de 12/12 h.

Ao retirar mais de 5 litros, repor 8 g de Albumina Humana 20% (1 frasco contém 10 g de albumina) para cada litro retirado (do total). Não retirar mais que 15 litros por punção pelo risco de complicações após a paracentese.

Ascite por carcinomatose peritoneal: não repor albumina, realizar retirada total e colher citopatológico com pelo menos 50 ml de líquido.

Ascite quilosa (aspecto sugestivo): não repor albumina, realizar retirada total. Colher triglicerídios do líquido.(triglicérides no líquido >200 mg/dL)

Ascite pancreática: não repor albumina, realizar retirada total e colher amilase do líquido.(amilase no líquido ascítico >1000 mUI/L)

Obs: Os pacientes que apresentarem resultados de cultura positiva e PMN < 250 células/mm³ (bacterioascite) devem ser convocados para nova punção e coleta

1- Material – geralmente já existem pacotes prontos no PS e nas enfermarias:

1 campo estéril para montar a mesa e dispor os outros materiais;

1 campo estéril oftálmico para o local de punção;

Gaze estéril (+/- 5 pacotes);

Avental estéril, luvas estéreis, gorro e máscara;

Degermante para a pele – clorohexidine alcoólico;

Pinça Cherron e cuba rim para colocar o degermante;

Cateter de flebotomia calibroso (14 ou 16 se punção de alívio, menores se apenas diagnóstica);

2 Agulhas 30x7 (para aspiração da lidocaína e anestesia tópica);

Lidocaína 2% sem vaso constritor;

Equipo estéril para conectar ao cateter de flebotomia;

Frasco de coleta de bioquímicos (frasco de tampa vermelha);

Frasco de coleta de celularidade (frasco de hemograma - tampa roxa);

Espadrappo para manter a outra extremidade do equipo dentro do recipiente de coleta;

Recipiente de coleta do líquido (cálice).

2- Técnica em Z: consiste na retração da pele em sentido dorsal com a ponta dos dedos do médico, para que o ponto de entrada na pele seja diferente do ponto de entrada no peritônio. O ideal é que enquanto um profissional executa a punção outra pessoa o auxilie com essa manobra.

Anexo 2



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO” CAMPUS DE BOTUCATU
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA



BOTUCATU, SP – RUBIÃO JUNIOR – CEP. 18618-970 – CP. 584 – FONE-(14) 3822-2969 – FAX (14) 3822-2238

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Venho por meio deste documento convidá-lo a participar do projeto “CENTRIFUGAÇÃO DO LÍQUIDO ASCÍTICO PARA DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO DE PERITONITE BACTERIANA” que será realizado pelo pesquisador *Fabio da Silva Yamashiro*, orientado pelo Professor Doutor *Giovanni Faria Silva*.

O objetivo deste projeto é a identificação de patógenos, causadores de peritonite bacteriana espontânea, em pacientes com cirrose hepática e ascite, através da otimização da técnica de cultura do após centrifugação de 50 mL de líquido ascítico e semeadura em frascos de cultura no laboratório em relação a semeadura a beira do leito.

A sua participação é muito importante para a geração de informações, que futuramente poderão ser úteis para os profissionais de saúde e pacientes portadores de cirrose hepática.

Se você permitir que sejam coletadas informações sobre de dados epidemiológicos e resultados dos exames, será guardado sigilo sobre a sua identidade. As informações coletadas serão codificadas somente com número de identificação.

Caso você não aceite participar desse projeto, isso não acarretará em nenhum prejuízo, nem afetará o seu acompanhamento médico habitual.

Sua assinatura indica que você leu este formulário, esclareceu todas as suas dúvidas e consente que as referidas informações sejam coletadas. Você receberá uma cópia deste formulário.

Declaro que li, entendi e recebi respostas adequadas a todas as minhas perguntas sobre este projeto e concordo em participar voluntariamente.

Nome e assinatura do paciente ou responsável. Local e data

Nome e assinatura do profissional que realizou as explicações

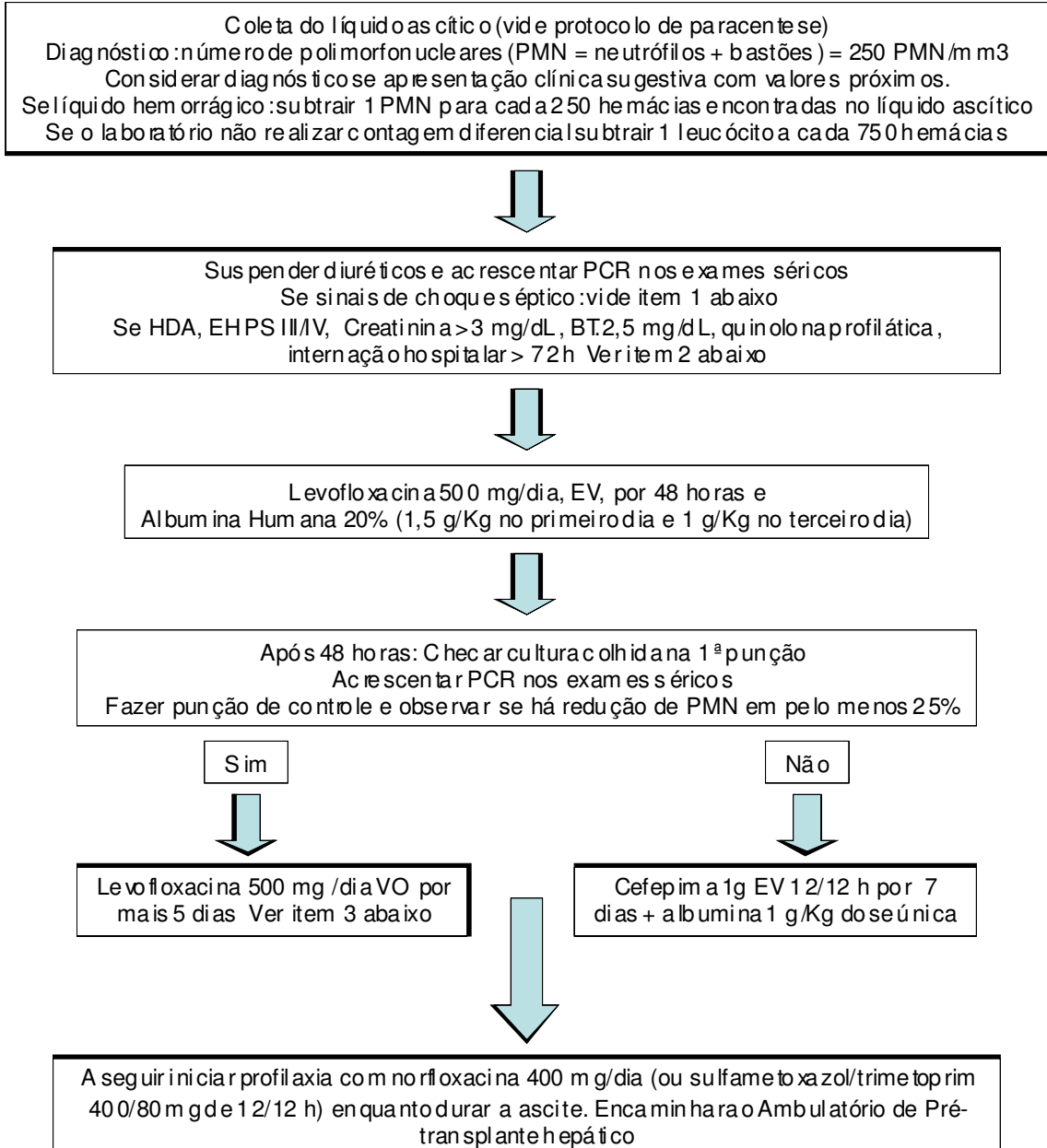
Assinatura do responsável pelo estudo – Fabio da Silva Yamashiro - Telefone: 14-3811 6213 / 14-38116143

Comitê de Ética em Pesquisa Tel: 14-38116143

Departamento de Clínica Médica – Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP

Anexo 3

PERITONITE BACTERIANA ESPONTÂNEA (PBE)



1. Se sinais de sepse ou choque séptico: colher 2 hemoculturas pareadas e uma urocultura. Iniciar Ceftriaxone 2g EV de 12/12h e albumina humana 20% (1,5 g/Kg no primeiro dia e 1 g/Kg no terceiro dia). Iniciar protocolo para Choque séptico (Rivers) e solicitar vaga em UTI.
2. Iniciar cefepima conforme descrito acima.
3. Paciente sem complicações e com boa resposta à levofloxacina EV: transicionar para VO e manter tratamento em regime ambulatorial até completar 7 dias. A seguir iniciar profilaxia.

Anexo 4

Classificação de Child- Pugh modificada (Child 1964 , Pugh 1973)

	1	2	3
Ascite	Não	Moderada	Severa
Encefalopatia	Não	Grau I ou II	Grau III ou IV
Albumina	>3,5	2,8 a 3,5	<2,8
Bilirrubina total	<2	2 a 3	>3
Tempo de protrombina	Até 3 segundos	4 a 5 segundos	> 6 segundos

A= 5 ou 6 pontos; B= 7 a 9 pontos; C = 10 a 15 pontos

Fórmula para cálculo do MELD:

MELD: $0,957 \times \text{Log e (creatinina mg/dl)} + 0,378 \times \text{Log e (bilirrubina mg/dl)} + 1,12 \times \text{Log e (INR)} + 0,643 \times 10$

Anexo 5

Protocolo de Paracentese, centrifugação, PBE, PCR e profilaxia primária.

N: _____	Etiqueta do paciente
----------	----------------------

Contato: _____
Telefone: () _____

Data da punção: ____/____/____. Idade: ____ anos.

CH por: OH(), HCV(), HVB(), DHGNA(), HAI(), criptogênica(), outras: _____

Uso de Inibidor de bomba: Sim(), Não(). Uso de Beta bloqueador: Sim(), Não().
Uso de antibiótico profilaxia: Sim(), Não(). Obs: _____

Indicação da paracentese: alívio(), dor abdominal(), EHPs(), febre(), diarreia(), HDA(), hipotensão(), IRA(), refratário aos diuréticos(), hipotermia(), ascite de início recente()

Ascite: discreta(), moderada(), tensa(). EHPs: ausente(), grau I/II(), grau III/IV()

RNI: ____% / _____. Albumina sérica : ____ g/dL. Bilirrubina total: ____ mg/dL.

Na: ____ mmol/L. K: ____ mmol/L. Creat: ____ mg/dL. Uréia: ____ mg/L.

Hb: ____ g/dl. Ht: ____%. Plaq: ____ mil/mm³. Leucócios: ____ mm³. Neutrófilos ____ mm³

MELD: _____. Child: ____ () GASA: _____

Leucócitos: ____ mm³. PMN: ____ células/mm³. Proteína do líquido ascítico: ____ g/dL.

Cultura colher sempre os dois quando houver suspeita de PBE: 10 ml em frasco de hemocultura a beira do leito(). Tubo seco com 50 ml para centrifugação e semeadura em laboratório()

Resultado da cultura Bactec -PS: positiva(), Negativa(). Centrifugado: positiva(), Negativa().
Resultado do Gram: positivo(), Negativo(). Sem germe isolado()

Patógeno isolado: _____ PCR: ____ mg/dL

Quantidade de líquido retirado: _____ ml. Reposição de albumina: _____ g.

Internação: Sim (), Não (). Local de internação: _____.

Parcentese realizada em paciente com: () < 72 h ou () > 72 h de internação.

PCR 48h: ____ mg/dL. PMN após em 48h: ____ células/mm³. Queda > 25% Sim (), Não ()

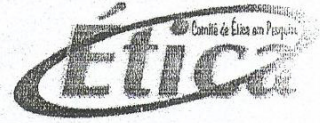
Albumina Humana 20% (1,5 g/Kg no primeiro dia e 1 g/Kg no terceiro dia): Sim() ou Não ()

ATB: () Levofloxacina, () cefalosporina de 3 geração.

Anexo 6



Universidade Estadual Paulista
Faculdade de Medicina de Botucatu



Distrito Rubião Junior, s/nº - Botucatu - S.P.
CEP: 18.618-970
Fone/Fax: (0xx14) 3811-6143
e-mail secretaria: capellup@fmb.unesp.br
e-mail coordenadoria: tsarden@fmb.unesp.br



Registrado no Ministério da Saúde
em 30 de abril de 1997

Botucatu, 13 de setembro de 2.010

OF. 416/2010 - CEP

Ilustríssimo Senhor
Prof. Dr. Giovanni Faria Silva
Departamento de Clínica Médica da
Faculdade de Medicina de Botucatu

Prezado Dr. Giovanni,

De ordem do Senhor Coordenador deste CEP, informo que Projeto de Pesquisa (Protocolo CEP 3662-2010) "**Centrifugação do líquido ascítico para diagnóstico etiológico de peritonite bacteriana espontânea**", a ser conduzido por Fábio da Silva Yamashiro, orientada por Vossa Senhoria, com a colaboração do Prof. Dr. Carlos Antonio Caramori e Fernando Gomes Romeiro, recebeu do relator **parecer favorável** aprovado em reunião de 13 de setembro de 2.010.

Situação do Projeto: **APROVADO**. Ao final da execução deste Projeto, apresentar ao CEP "**Relatório Final de Atividades**".

Atenciosamente,

Alberto Santos Capelluppi
Secretário do CEP

Anexo 7

LOGIA BÁSICA qui Gram	HEMATOLOGIA Hematologia Automação Hematisocopia Rescúloitos Manual	PSA Total Quantitativo	<h1>2009</h1> <h2>Certificado de Proficiência em Ensaios Laboratoriais</h2> <p>Certificamos que o(a)</p> <p>Unesp - Universidade Estadual Paulista</p> <p>Campus de Botucatu - Fac.de Medicina Rubião Junior Botucatu/SP</p> <p>participou, com assiduidade do Ensaio de Proficiência e obteve ótimo desempenho nos exames listados, durante o ano de 2009.</p>
LOGIA ESPECIALIZADA Bacia BAAR Is estabilidade	HORMÔNIOS beta HCG Cortisol Estradiol FSH GH Insulina LH Progesterona Prolactina PTH SHBG Sulfato de D-HEA T3 Livre Testosterona Total Tiroglobulina TSH	PARASITOLOGIA Parasitas Identificação Resúvius Sangue Oculto	
CA a 3	IMUNOLOGIA Antiestrofolina O Anti-Tiroperoxidase Clomogilovius IgG Fator Reumatóide Protina C Reativa Rubeta IgG Toxoplasmose IgG	PROTEÍNAS Alfa-1-Glicoprotina ácida Complemento C3 Complemento C4 Eletoforese das Proteínas Imunoglobulina IgA Imunoglobulina IgE Imunoglobulina IgG Imunoglobulina IgM	
Total ai	LIQUOR Bacteriosocopia GRAM Células Neutrofilicas Glicose Hemácias Leucócitos Mononucleares Pesquisas BAAR Pesquisas diretas para fungos Pálmito/nucleares Proteínas Totais	PROTEÍNAS ESPECÍFICAS Alfa 1-antipsina Cervicoplasmia	
HDL	MARCADORES CARDÍACOS CK-MB atividade CK Total LDH total Troponina I	SCIOLOGIA Anti- HTLV Tragem Chagas Quantitativo Sífilis Qualitativo Tragem	
Alcalina	MARCADORES TUMORAIS Beta-2-microglobulina CA 125 CA 15-3 CA 15-9 CEA Quantitativo PSA Livre	URINAUSE DOSAGEM Acido Úrico Amilase Cálcio Total Creatinina Fósforo Glicose Magnésio Potássio Proteínas Totais Sódio Uréia	
Total ai		URINAUSE EAS Eritrina Corpos Celulares Densidade Glicose Hemoglobina Hemolisada Héris pH Proteínas Sedimento por campo Urobilogeno	
TERAPÉUTICAS			
ai na D RIA			




Sociedade Brasileira de Patologia Clínica
Medicina Laboratorial

Control.Lab

111 a parte de N.º 2909
* Por educação continuada
Data 25/12/2009
99740Y030 - CIRCORGE