

RINALDO FOCACCIA SICILIANO

Endocardites comunitárias por *Bartonella* spp. e *Coxiella burnetii*: Investigações etioepidemiológica e clínica em pacientes com endocardite com culturas negativas

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São
Paulo para obtenção do título de
Doutor em Ciências

Programa de Cardiologia
Orientadora: Dra. Tânia Mara
Varejão Strabelli

São Paulo

2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Siciliano, Rinaldo Focaccia

Endocardites comunitárias por *Bartonella* spp. e *Coxiella burnetii*: Investigações etioepidemiológica e clínica em pacientes com endocardite com culturas negativas / Rinaldo Focaccia Siciliano. -- São Paulo, 2014.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Cardiologia.

Orientadora: Tânia Mara Varejão Strabelli.

Descritores: 1.Endocardite 2.Endocardite/etiologia 3.Endocardite/epidemiologia
4.*Bartonella quintana* 5.*Bartonella henselae* 6.*Coxiella burnetii* 7.Sorologia
8.Prognóstico

USP/FM/DBD-067/14

DEDICATÓRIA

Aos meus pais,
Anna e Salvador, pelos valores morais transmitidos, minha maior herança.

À minha esposa Melissa e ao meu filho Frederico,
que coloriram minha vida com amor e alegria.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Dra. Tânia Mara Strabelli, pelo apoio e incentivo ao meu crescimento profissional e científico.

À Fabiana Cristina Pereira Dos Santos, Elvira Mendes do Nascimento e Silvia Colombo, pela contribuição fundamental na investigação sorológica.

Às amigas Vanessa Arias, Suzi França Neres, pela ajuda na obstinada investigação de dados clínicos.

Aos colegas e amigos Ana Catarina de Seixas Santos, Marcelo Magri, Rogério Zeigler e Cristhieni Rodrigues pela sincera disposição em ajudar nos momentos difíceis

À amiga Dra. Jussara Bianchi Castelli, pela competência e entusiasmo científico.

Ao Prof. Dr. Alfredo José Mansur, pelos ensinamentos e auxílio da elaboração dos artigos científicos.

Ao Dr. Moacyr Roberto Cuce Nobre e Dra. Ana Marli Christovam Sartori, pela contribuição em epidemiologia clínica.

Ao Dr. Ronaldo Cesar Borges Gryscek, amigo e incentivador.

Ao meu tio Roberto Focaccia, exemplo e estímulo para meu ingresso na medicina e infectologia.

À todos os pacientes que participaram deste estudo.

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de siglas e abreviaturas

Lista de símbolos

Lista de tabelas

Lista de figuras

Resumo

Abstract

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Diagnóstico etiológico das endocardites	3
1.2 Relevância das infecções por <i>Bartonella</i> spp. e <i>Coxiella burnetii</i>	5
<i>burnetii</i>	5
1.3 Endocardites por <i>Bartonella</i> spp. e <i>Coxiella burnetii</i>	7
2 OBJETIVOS	8
3 MÉTODOS	10
3.1 População do estudo	11
3.2 Delineamento do estudo	12
3.3 Definições	13
3.3.1 Endocardite com culturas negativas	13
3.3.2 Data do diagnóstico de endocardite	13
3.3.3 Endocardite por <i>Bartonella</i> spp.	13
3.3.4 Endocardite por <i>Coxiella burnetii</i>	13
3.4 Desfechos	14
3.4.1 Óbito intra-hospitalar	14
3.4.2 Óbito após alta hospitalar	14
3.5 Variáveis de estudo	15
3.6 Pesquisa de anticorpos	18
3.7 Caracterização histológica e microbiológica das amostras de tecido	19
3.7.1 Histologia	19
3.7.2 Microbiologia	22
3.8 Análise estatística	23

4 RESULTADOS	26
4.1 Caracterização da população	27
4.2 Investigação etiológica	29
4.2.1 Hemoculturas	29
4.2.2 Investigação tecidual	30
4.3 Uso de antibióticos antes da coleta das hemoculturas	32
4.4 Comparação entre endocardites com e sem micro-organismo identificado por culturas	33
4.5 Óbito intra-hospitalar	37
4.6 Sobrevida após a alta hospitalar	37
4.7 Recidivas e reinfecções	39
4.8 Óbitos intra-hospitalar em pacientes com endocardite com culturas negativas	39
4.8.1 Análise múltipla	43
4.9 Infecções por <i>Bartonella</i> spp. e <i>Coxiella burnetii</i>	44
4.9.1 Infecção por <i>Bartonella</i> spp	45
4.9.2 Infecção por <i>Coxiella burnetii</i>	52
5 DISCUSSÃO	56
5.1 Investigação microbiológica da vegetação valvar cardíaca	59
5.2 Endocardite por <i>Bartonella</i> spp. e <i>Coxiella burnetii</i>	61
5.3 Apresentação clínica das endocardites com culturas negativas	65
5.4 Prognóstico e fatores de risco para óbito nas endocardites com culturas negativas	66
5.5 Limitações do estudo	68
6 CONCLUSÕES	70
7 ANEXOS	79
8 REFERÊNCIAS	80
APÊNDICE	

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

Akin	<i>Acute Kidney Injury Network</i>
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
bpm	Batimento por minuto
CDC	<i>Centers for Diseases Control and Prevention</i>
DCEI	Dispositivos cardíacos eletrônicos implantáveis
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DP	Desvio padrão
EI	Endocardite infecciosa
<i>et al.</i>	e outros
Feve	Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo
H&E	Hematoxilina e eosina
Hacek	<i>Haemophilus parainfluenzae, H. aphrophilus, H. paraphrophilus, Actinobacillus actinomycetemcomitans, Cardiobacterium hominis, Eikenella corrodens e Kingella kingae</i>
HC-FMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i>
IC	Intervalo de confiança
IgG	Imunoglobulina G
IMC	Índice de massa corporal
InCor HC-FMUSP	Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
irpm	Incursões respiratórias por minuto
IV	Intravenoso
máx.	Máximo
mín.	Mínimo
MP	Marcapasso

NP	Não foi possível calcular
OR	<i>Odds Ratio</i>
PAS	Ácido periódico de schiff
PBS	<i>Phosphate buffered saline</i>
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i>
PRO-AIM	Programa de Aprimoramento das Informações de Mortalidade
RP	Razão de Prevalência
Seade	Fundação Sistema Estadual de Análise de Dados
Si3	Sistema Integrado de Informações Institucionais
UCIH	Unidade de Controle de Infecção Hospitalar
VO	Via oral
vs.	<i>versus</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

cels/mm ³	células por milímetro cúbico
cm	centímetro
g/dl	grama por decilitro
kg	quilograma
kg/m ²	quilograma por metro quadrado
mg	miligramas
mg/dl	miligramas por decilitro
mg/l	miligramas por litro
ml/kg/h	mililitro por quilograma por hora
mm	milímetro
mm ³	milímetro cúbico
mmHg	milímetro de mercúrio
mmol/l	milimol por litro
°C	graus Celsius
U/l	Unidade por litro

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Micro-organismos identificados mediante culturas em 170 casos de endocardites comunitárias – InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009.....	29
Tabela 2	Investigação histopatológica de micro-organismo em 113 amostras de biópsia e necrópsia de pacientes com endocardite comunitária segundo resultados das hemoculturas – InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009.....	30
Tabela 3	Características clínicas, laboratoriais e ecocardiográficas de 221 casos de endocardite comunitária segundo a identificação de etiologia por cultura – InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009.....	35
Tabela 4	Complicações e características evolutivas durante a internação de 221 casos de endocardite comunitária segundo a identificação de etiologia por cultura – InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009.....	36
Tabela 5	Descrição comparativa das variáveis quantitativas de 221 casos de endocardite comunitária de acordo com a identificação de etiologia por cultura – InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009.....	37
Tabela 6	Características demográficas e doenças associadas distribuídas de acordo com óbito intra-hospitalar em 51 episódios de endocardite comunitária com culturas negativas – InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009.	40

Tabela 7	Características clínicas e laboratoriais distribuídas de acordo com óbito intra-hospitalar em 51 episódios de endocardite comunitária com culturas negativas – InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009.....	41
Tabela 8	Complicações e características evolutivas durante a internação distribuídas de acordo com óbito intra-hospitalar em 51 episódios de endocardite comunitária com culturas negativas – InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009.....	42
Tabela 9	Descrição comparativa entre variáveis quantitativas de 51 casos de endocardite comunitária com culturas negativas segundo óbito intra-hospitalar – InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009.....	43
Tabela 10	Estimativas da Razão de Prevalência de letalidade por endocardite comunitária em pacientes com culturas negativas pelo modelo de regressão múltipla de Cox – InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009.....	44
Tabela 11	Resultados de sorologia, histologia e imuno-histoquímica em vegetação valvar cardíaca em pacientes com endocardite por <i>Bartonella</i> spp. ou <i>Coxiella burnetii</i> – InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009.....	45
Tabela 12	Distribuição das características clínicas, laboratoriais e ecocardiográficas de 51 casos de endocardite comunitária com culturas negativas segundo infecção por <i>Bartonella</i> spp. – InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009.....	47
Tabela 13	Estatística descritiva das variáveis quantitativas de 51 casos de endocardite comunitária com culturas negativas segundo infecção por <i>Bartonella</i> spp. – InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009.....	48

Tabela 14	Características epidemiológicas de 51 casos de endocardite comunitária com culturas negativas segundo infecção por <i>Bartonella</i> spp. – InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009.....	49
Tabela 15	Visibilização de cocobacilo Gram-negativo em amostra de tecido valvar de 25 casos de endocardite comunitária com culturas negativas segundo infecção por <i>Bartonella</i> spp. – InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009.....	51
Tabela 16	Características clínicas, ecocardiográficas e evolutivas de pacientes com diagnóstico de endocardite por <i>Bartonella</i> spp. – InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009.....	52

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Investigação dos casos de endocardite comunitária em adultos de acordo com o resultado das culturas, InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009.....	27
Figura 2	Investigação de micro-organismos por microbiologia e histologia em fragmentos de valva cardíaca obtidos por biópsia em endocardites de origem comunitária – InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009.....	32
Figura 3	Probabilidade acumulada de sobrevivência após alta hospitalar por endocardite de origem comunitária de acordo com a identificação de etiologia por cultura – InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009.....	38
Figura 4	Demonstração histológica de endocardite por <i>Bartonella</i> spp.	50

RESUMO

Siciliano RF. *Endocardites comunitárias por Bartonella spp. e Coxiella burnetii: Investigações etioepidemiológica e clínica em pacientes com endocardite com culturas negativas* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2014.

Endocardite infecciosa é uma doença associada à elevada morbidade e letalidade. O diagnóstico precoce e o reconhecimento de sua etiologia podem contribuir para o sucesso do tratamento antibiótico; entretanto, cerca de um quarto das endocardites permanece sem diagnóstico etiológico. Este estudo teve como objetivo principal identificar a frequência de endocardite por *Bartonella* spp. e *Coxiella burnetii* dentre as endocardites com culturas negativas comunitárias e avaliar os fatores preditores dessas infecções. Como objetivo secundário compararam-se as características clínico-laboratoriais e prognósticas entre as endocardites comunitárias com culturas negativas e positivas. Foram avaliados também os fatores associados à letalidade intra-hospitalar das endocardites com culturas negativas. Entre janeiro de 2004 e janeiro de 2009, foram investigados 369 episódios consecutivos de endocardite em pacientes atendidos no Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – InCor HC-FMUSP. Foram estudados os casos que ocorreram em adultos, classificados pelos critérios de Duke modificados como “endocardite definida” e de origem comunitária. Assim, foram incluídos 221 episódios de endocardite, 170 com culturas positivas e 51 com culturas negativas. Neste último grupo, foram feitas as pesquisas sorológicas (reação de imunofluorescência indireta) e histopatológica de *Bartonella* spp. e *Coxiella burnetii*. Consideraram-se positivos títulos de imunoglobulina G (IgG) ≥ 800 para *Bartonella henselae* e ou *Bartonella quintana*, e IgG antifase I para *C. burnetii* > 800 . O estudo histopatológico das valvas cardíacas foi capaz de identificar morfolologicamente a etiologia de 87% das endocardites com culturas negativas, enquanto que o método de Gram do tecido a fresco o fez

em somente 10% dos casos. As endocardites com culturas negativas apresentaram maior frequência de dispnéia à admissão ($p=0,001$), menor valor de proteína C reativa ($p=0,009$), menor Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo (Feve) ($p=0,022$) e necessitaram de mais tempo para o início do tratamento antibiótico para endocardite ($p<0,001$) quando comparadas àquelas com culturas positivas. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos na letalidade intra-hospitalar e na sobrevivência após alta hospitalar. Verificou-se que a presença de *diabetes mellitus* ($p=0,009$) ou sepse grave na admissão ($p=0,01$) esteve independentemente associada ao óbito intra-hospitalar entre as endocardites com culturas negativas. Dez casos de endocardite por *Bartonella* spp. (frequência 19,6% [IC95%: 9,8 – 33,1]) e quatro casos de endocardite por *Coxiella burnetii* (frequência 7,8% [IC95%: 2,2 – 18,9]) foram diagnosticados dentre os 51 episódios de endocardite com culturas negativas. As endocardites por *Bartonella* spp. apresentavam menor Feve ($p=0,025$), associação com a identificação de cocobacilo Gram-negativo no exame histológico da valva cardíaca ($p=0,001$) e presença de gato no domicílio ($p=0,001$). Conclusões: *Bartonella* spp. e *Coxiella burnetii* foram as etiologias de quase um terço (27,5%) das endocardites comunitárias com culturas negativas. A presença de gato no domicílio, Feve $\leq 45\%$, e a identificação de cocobacilo Gram-negativo no exame histológico da valva cardíaca em pacientes com endocardite com culturas negativas parecem estar associadas à infecção por *Bartonella* spp. O exame histológico da valva cardíaca permitiu a identificação morfológica do micro-organismo na maioria dos casos, mesmo quando as hemoculturas estavam negativas. Não se observou diferença na letalidade intra-hospitalar e na sobrevivência em longo prazo entre os dois grupos. A presença de *diabetes mellitus* ou sepse grave à admissão associou-se ao óbito hospitalar nas endocardites com culturas negativas.

Descritores: Endocardite; Endocardite/etiologia; Endocardite/epidemiologia;
Bartonella quintana; *Bartonella henselae*; *Coxiella burnetii*;
Sorologia; Prognóstico

ABSTRACT

Siciliano RF. *Community-acquired endocarditis due to Bartonella spp. and Coxiella burnetii: Etiologic, epidemiologic and clinical investigations in patients with culture-negative endocarditis* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2014.

Infective endocarditis is associated with high morbidity and lethality. Early diagnosis and recognition of the specific etiology can contribute to successful antibiotic treatment. However, approximately one-fourth of endocarditis cases remain without an etiologic diagnosis. This study aimed to identify the frequency of endocarditis caused by *Bartonella* spp. and *Coxiella burnetii* among cases of community-acquired culture-negative endocarditis and to also assess risk factors for such infections. As a secondary objective, the clinical, laboratory and prognostic features of community-acquired endocarditis were compared. Factors related to the in-hospital lethality of culture-negative endocarditis were also assessed. Between January 2004 and January 2009, 369 consecutive cases of endocarditis were investigated in patients attending the no *Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – InCor HC-FMUSP*. Cases occurring in adults, those classified by the modified Duke criteria as “defined endocarditis” and community-acquired cases were studied. In total, 221 cases of endocarditis comprising 170 culture-positive and 51 culture-negative cases were included. For the culture-negative cases, serology (indirect immunofluorescence reaction) and histopathological analyses for *Bartonella* spp. and *Coxiella burnetii* were performed. Cases were considered positive for *Bartonella henselae* or *Bartonella quintana* with IgG titers ≥ 800 and for *Coxiella burnetii* with antiphase I IgG titers > 800 . Histopathological studies of the cardiac valves were capable of morphologically identifying the etiology in 87% of the culture-negative endocarditis cases, whereas the Gram stain was only positive in 10% of cases using fresh tissue. Culture-negative endocarditis patients presented a

greater frequency of dyspnea on admission ($p=0.001$), lower C-reactive protein levels ($p=0.009$), and a lower left ventricular ejection fraction (LVEF) ($p=0.022$), and they required more time to start antibiotic therapy ($p<0.001$) when compared with culture-positive patients. There was no statistically significant difference between the two groups regarding in-hospital lethality or survival after hospital discharge. *Diabetes mellitus* ($p=0.01$) or severe sepsis on admission ($p=0.01$) were independently associated with in-hospital death for culture-negative endocarditis. Ten cases of endocarditis caused by *Bartonella* spp. (frequency 19.6% [IC95%: 9.8 – 33.1]) and 4 caused by *Coxiella burnetii* (frequency 7.8% [IC95%: 2.2 – 18.9]) were diagnosed among the 51 cases of culture-negative endocarditis. Endocarditis caused by *Bartonella* spp. was associated with lower LVEF values ($p=0.025$), the identification of Gram-negative coccobacilli in cardiac valve histology ($p=0.001$) and the presence of a cat in the patient's residence ($p=0.001$). Conclusions: *Bartonella* spp. and *Coxiella burnetii* were the causative etiology of almost one-third (27.5%) of the community-acquired cases of culture-negative endocarditis. The presence of a cat in the patient's residence, a LVEF $\leq 45\%$ and the identification of Gram-negative coccobacilli in the histological examination of the cardiac valve in patients with culture-negative endocarditis appear to be associated with *Bartonella* spp. as the causative etiology. Histological examination of the cardiac valves allowed for morphological identification of the causative microorganism in the majority of cases, even when blood cultures were negative. There was no difference in in-hospital lethality or long-term survival between the two groups. The presence of *diabetes mellitus* or severe sepsis at admission was associated with in-hospital death in cases of culture-negative endocarditis.

Descriptors: Endocarditis; Endocarditis/etiology; Endocarditis/epidemiology; *Bartonella quintana*; *Bartonella henselae*; *Coxiella burnetii*; Serology; Prognosis.

1 Introdução

Estudos realizados nas últimas décadas estimam que a incidência de endocardite em países europeus e nos Estados Unidos seja de dois a seis casos por 100 mil indivíduos por ano¹⁻⁴. No Brasil, a real prevalência das endocardites não é conhecida, mas se supõe que ela seja superior devido ao maior contingente de indivíduos portadores de valvopatia reumática crônica^{5,6}, doença que predispõe à endocardite e cuja incidência diminuiu de maneira acentuada na Europa e nos Estados Unidos nas últimas décadas^{7,8}.

Ainda hoje, hemoculturas são o principal método para diagnóstico etiológico das endocardites, porém 10% até 50% dos pacientes permanecem sem identificação do agente etiológico⁹⁻¹⁸. Poucos estudos avaliaram características clínicas e prognósticas de pacientes com endocardites com culturas negativas^{15,17,19-21}. A maioria destes trabalhos tem desenho retrospectivo, envolve casuísticas que não distinguem pacientes com infecções comunitárias ou de origem hospitalar e não existem estudos específicos com população brasileira.

Nos últimos anos, micro-organismos como *Bartonella* spp. e *Coxiella burnetii* têm sido imputados como etiologia de um número relevante de casos de endocardites com culturas negativas e sua distribuição varia de acordo com a região pesquisada^{9,12,16,22,23}. Embora infecções por estes micro-organismos sejam reconhecidas no Brasil²⁴⁻²⁸, não foram encontrados estudos capazes de estimar sua prevalência nas endocardites em nosso país.

Considerando que o tratamento antibiótico possa ser insuficiente quando o agente etiológico da endocardite não é reconhecido, postula-se que as endocardites com culturas negativas possam ter comportamentos clínico e evolutivo diferentes daqueles com cultura positiva e que *Bartonella* spp. e *Coxiella burnetii* possam ter importância entre as endocardites no Brasil.

1.1 Diagnóstico etiológico das endocardites

A endocardite infecciosa é uma infecção endovascular que tipicamente causa bacteremia de forma contínua a partir da vegetação valvar cardíaca, fonte da infecção. Esta condição é reconhecida desde meados do século passado com a percepção de que há um desprendimento contínuo de micro-organismos da vegetação para a corrente sanguínea e que, posteriormente, são depurados pelo sistema reticuloendotelial do fígado, baço e medula óssea²⁹. Assim, a investigação microbiológica com hemoculturas permanece como o principal método para identificação da etiologia das endocardites^{30,31}. Para maximizar a probabilidade de isolar o micro-organismo em sangue, sugere-se que nos casos suspeitos sejam coletadas três amostras de hemocultura (pelo menos uma aeróbia e uma anaeróbia) com 10 ml de sangue em cada amostra obtidas de veia periférica com técnica asséptica³². Mesmo assim, séries de casos de diversos países relatam que 12% a 60%^{9-16,18} das endocardites apresentam-se com hemoculturas negativas.

Uma das principais razões para que as hemoculturas resultem negativas é a administração de antibióticos previamente à coleta das amostras de sangue, pois inibe crescimento do micro-organismo em cultivo³³⁻³⁵. Observa-se, também, que pacientes com endocardite de comportamento clínico subagudo apresentam menor concentração de unidades formadoras de colônias de bactérias por mililitro de sangue³⁵, o que potencialmente poderia reduzir a sensibilidade das hemoculturas. Além disso, existe a possibilidade da ocorrência de micro-organismos que não crescem em meios de cultivo usuais (ex. *Coxiella burnetii*, microbactérias de crescimento rápido, *Legionella* spp. ou *Tropheryma whipplei*) ou que, embora cresçam, não podem ser facilmente identificados por técnicas microbiológicas rotineiras (ex. *Bartonella* spp., *Brucella* spp. e estreptococos com deficiência nutricional, entre outros). Tais micro-organismos foram revelados na última década em estudos que implementaram a investigação etiológica das endocardites por meio de sorologia, cultivo celular, reação em

cadeia da polimerase (PCR) e sequenciamento genético automatizado^{12,14,23,36,37}.

A utilização de técnicas de biologia molecular no diagnóstico etiológico de endocardites apresenta elevada sensibilidade quando aplicada à vegetação valvar (61%–100%), porém baixa sensibilidade em sangue periférico (< 20%)³⁸⁻⁴¹. Na maioria dos estudos, a investigação é iniciada com pesquisa de um gene comum para bactérias ou fungos e o micro-organismo é identificado com sequências de nucleotídeos específicos ou a partir de sequenciamento genético automatizado^{39,42}. Em estudos com pacientes com hemoculturas negativas que foram submetidos a tratamento cirúrgico, o emprego de amplificação por PCR e sequenciamento foi capaz de apontar a etiologia de mais da metade dos casos⁴²⁻⁴⁷. Uma limitação desta técnica é a possibilidade de falso positivo por contaminação da amostra ou persistência de DNA de bactérias em pacientes que tiveram endocardite no passado⁴⁸⁻⁵⁰. Em uma análise de 30 biópsias valvares de indivíduos com endocardite previamente tratada e sem evidência histológica de doença ativa, sete deles mantinham amplificação por PCR positiva para o mesmo micro-organismo⁴⁸⁻⁵⁰.

Bartonella spp. não pode ser identificada por meio de métodos microbiológicos empregados habitualmente na rotina das hemoculturas⁵¹. Já *Coxiella burnetii* requer cultura celular para seu desenvolvimento e laboratório com alto nível de biossegurança dada sua contagiosidade, o que torna sua aplicação prática bastante difícil. Desta forma, a testagem sorológica tem se mostrado um método seguro e de fácil realização para o diagnóstico etiológico das endocardites por estes dois patógenos³⁷. Estas infecções caracteristicamente apresentam títulos elevados de anticorpos circulantes e a imunofluorescência indireta apresenta alta sensibilidade e especificidade⁵². Em infecções crônicas causadas por *Coxiella burnetii*, títulos séricos de anticorpos IgG antifase I $\geq 1:800$ têm valor preditivo positivo de 98% e sensibilidade de 100%⁵³. Em endocardites causadas por *Bartonella* spp., títulos de IgG $\geq 1:800$ têm valor preditivo positivo de 95%, valor preditivo negativo de 99%, sensibilidade de 90% e especificidade de 99%⁵².

Tal acurácia levou à proposição de que resultado sorológico com titulação > 1:800 para *Bartonella* spp. ou *Coxiella burnetii* fosse incorporado como novo critério maior na classificação de Duke^{52,54} e isto tem sido aceito em recomendações internacionais para diagnóstico de endocardite^{32,55-57}. Em casos de endocardite, a investigação de *Bartonella* spp. e *Coxiella burnetii* por técnicas de biologia molecular, imuno-histoquímica ou cultura celular é restrita a pacientes submetidos à ressecção cirúrgica valvar³⁷. Assim, a sorologia pode ser particularmente útil na prática clínica, podendo ser aplicada a todos os pacientes suspeitos e revelar precocemente a etiologia da endocardite, possibilitando adequação da terapia antibiótica.

1.2 Relevância das infecções por *Bartonella* spp. e *Coxiella burnetii*

Bartonella spp. pertence ao grupo das alfa-proteobactérias como *Wolbachia* spp., *Rickettsia* spp., *Brucella* spp., *Ehrlichia* spp. e *Anaplasma* spp. Trata-se de um cocobacilo Gram-negativo pleomórfico, de crescimento intracelular facultativo, com particular tropismo para o parasitismo de eritrócitos e células endoteliais. Apresenta distribuição mundial e pode causar várias síndromes clínicas em indivíduos imunocompetentes e imunodeprimidos. As formas clínicas mais comuns são doença da arranhadura do gato, angiomatose bacilar e endocardite⁵⁸. As espécies patogênicas mais frequentes em humanos são *Bartonella henselae* e *Bartonella quintana*. Outra espécie de interesse clínico é *Bartonella bacilliformis*, causadora da doença de Carrion, mas de ocorrência restrita à região dos Andes, especialmente Peru, Equador e Colômbia. Mediante técnicas de biologia molecular, recentemente, outras espécies também foram reconhecidas como responsáveis por doença em humanos, tais como: *Bartonella vinsonii*, *Bartonella elizabethae* e *Bartonella koehlerae*⁵⁹⁻⁶¹.

Bartonella quintana tem como reservatório o homem e seu principal vetor são ectoparasitas, como piolhos, carrapatos e pulgas. Estudos desenvolvidos na França^{62,63} e nos Estados Unidos^{64,65} mostraram que a infecção por *Bartonella quintana* é encontrada com maior frequência em

indivíduos com má condição de higiene, como moradores de rua e alcoolistas. Já *Bartonella henselae* tem como principal reservatório o gato doméstico, embora cães também possam ser hospedeiros acidentais⁶⁶⁻⁶⁹. O principal vetor artrópode de *Bartonella henselae* é a pulga do gato (*Ctenocephalides felis*), imputada tanto na transmissão entre os felinos como para o homem⁶⁹. No Brasil, estudos em gatos saudáveis utilizando técnica de biologia molecular em sangue periférico encontraram 17% a 42% de infecção por *Bartonella* spp.⁷⁰. Em humanos, estudos soropidemiológicos detectaram anticorpos contra *Bartonella* spp. em 10,7% dos indivíduos saudáveis em zona rural da cidade Piau (MG)²⁴. Estudo semelhante em indivíduos infectados por HIV no Rio de Janeiro (RJ) encontrou soroprevalência de 24%²⁵. Embora formas clínicas como doença da arranhadura do gato ou angiomatose bacilar sejam bem conhecidas no Brasil, endocardite infecciosa foi pouco estudada⁷¹.

Coxiella burnetii é um cocobacilo Gram-negativo intracelular obrigatório responsável pela “febre Q”, zoonose mundialmente distribuída e que acidentalmente acomete o homem⁷². Seus hospedeiros naturais são principalmente bovinos, equinos e carneiros, que raramente adoecem⁷³. O modo mais conhecido de transmissão para humanos é a inalação de aerossóis emanados de placenta e excretas de animais infectados, mas também pode ocorrer pela ingestão de leite ou alimentos contaminados^{74,75}.

A infecção assintomática por *Coxiella burnetii* é comum. Uma investigação de surto na Austrália mostrou que somente 50% dos indivíduos portadores de anticorpos específicos tiveram doença clinicamente aparente⁷⁶. Sua apresentação clínica mais frequente é de quadro agudo semelhante à gripe com variados graus de pneumonite e hepatite associadas⁷⁷. A doença geralmente é benigna com baixa taxa de hospitalização e pouco diagnosticada. Óbitos são raros e frequentemente atribuídos à miocardite aguda^{77,78}. A forma crônica ocorre em aproximadamente 5% dos infectados, desenvolvendo-se de forma insidiosa ao longo de meses ou anos após a infecção aguda⁷⁹. A manifestação clínica mais frequente é endocardite, que ocorre em cerca de 80% dos casos

crônicos⁷⁷. Outras apresentações são osteomielite, infecção vascular e infecção de próteses ortopédicas.

Embora a infecção por *Coxiella burnetii* seja reconhecida no Brasil, ela é pouco estudada. Pesquisas sobre soroprevalência nos Estados de São Paulo e Minas Gerais encontraram positividade em baixos títulos (infecção pregressa) em cerca de 4% de população rural²⁴, 8% dos tratadores de rebanhos bovinos²⁶, 22% dos estudantes de medicina veterinária²⁸ e 29% dos trabalhadores de abatedouros²⁷. Existem poucas descrições de doença humana causada por *Coxiella burnetii* no Brasil⁸⁰⁻⁸⁵ e, possivelmente, se trata de doença subnotificada e/ou diagnosticada.

1.3 Endocardites por *Bartonella* spp. e *Coxiella burnetii*

Estudos de investigação de infecção por *Bartonella* spp. ou *Coxiella burnetii* entre pacientes com endocardite registraram diferentes frequências de acordo com a região geográfica avaliada. A frequência de infecção por *Bartonella* spp. e *Coxiella burnetii* variou de 0% a 20% e de 3% até 31%, respectivamente, em casuísticas internacionais de endocardites com culturas negativas^{9,12,16,22,23}. A importância desses micro-organismos como causa de endocardite em nosso meio não é conhecida. Os primeiros casos descritos no Brasil fazem parte da casuística deste estudo^{84,85}. Depois disso, foram encontrados outros casos relatos por outros autores, mas que não permitem uma estimativa de prevalência^{71,83,86}.

Justificativa

Diante da exiguidade de informações e se considerando o potencial para ocorrência de infecção por *Bartonella* spp. e *Coxiella burnetii* no Brasil, desenvolveu-se um estudo visando caracterizar as endocardites com culturas negativas e estimar a frequência de endocardites por *Bartonella* spp. e *Coxiella burnetii* em nosso meio.

Objetivo principal

Verificar a frequência de endocardite por *Bartonella* spp. e *Coxiella burnetii* dentre as endocardites com culturas negativas de origem comunitária e avaliar os fatores preditores dessas infecções.

Objetivos secundários

- a. Descrever e comparar as características clínicas, laboratoriais e ecocardiográficas das endocardites comunitárias com culturas negativas e positivas.
- b. Comparar a letalidade intra-hospitalar e a sobrevida após alta hospitalar entre as endocardites comunitárias com culturas negativas e positivas.
- c. Avaliar os fatores associados à letalidade nas endocardites com culturas negativas de origem comunitária.

3.1 População do estudo

O presente estudo avaliou prospectivamente pacientes com diagnóstico de endocardite atendidos no InCor HC-FMUSP no período de janeiro de 2004 a janeiro de 2009. A inclusão e exclusão dos pacientes foram realizadas respeitando os critérios a seguir descritos. O estudo recebeu a aprovação da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do HC-FMUSP.

a. Critérios de inclusão

- Pacientes com idade igual ou superior a 18 anos de ambos os sexos.
- Diagnóstico de endocardite infecciosa classificado como “definido” de acordo com os critérios de Duke modificados^{31,54,52}.
- Coleta de pelo menos duas amostras de hemoculturas para investigação microbiológica de endocardite.

b. Critérios de exclusão

- Endocardite hospitalar: paciente com sintomas atribuídos à endocardite iniciados 72 horas após a internação hospitalar ou até seis meses após procedimento invasivo hospitalar^{87,88}.
- Pacientes submetidos à hemodiálise nos últimos seis meses.
- Endocardite relacionada a dispositivos cardíacos eletrônicos implantáveis.
- Endocardite em prótese valvar precoce (início dos sintomas até 12 meses após seu implante).

3.2 Delineamento do estudo

Este foi um estudo do tipo coorte de início (*inception cohort*)⁸⁹⁻⁹¹.

A seleção dos pacientes foi realizada prospectivamente por busca ativa de casos suspeitos de endocardite. Os casos foram identificados por uma equipe composta por quatro médicos e dois enfermeiros da Unidade de Controle de Infecção Hospitalar (UCIH) por meio de visitas semanais a todas as unidades de internação do InCor HC-FMUSP. A partir do reconhecimento de caso suspeito de endocardite, o paciente foi acompanhado até a definição do diagnóstico e então selecionado para inclusão no estudo. Nos pacientes com endocardites com hemoculturas negativas, procedeu-se à coleta de sangue para sorologia para *Bartonella henselae*, *Bartonella quintana* e *Coxiella burnetii*. Foram obtidas informações quanto ao uso de antibióticos antecedendo a coleta das hemoculturas e dados epidemiológicos quanto à exposição a gatos, ectoparasitas e/ou contato com animais de fazenda. Os pacientes foram acompanhados até a alta hospitalar. Quando houve recidiva, apenas o primeiro episódio foi contabilizado para análise.

A investigação diagnóstica e a terapia antibiótica empírica para os casos de endocardite seguiram a padronização da UCIH do InCor HC-FMUSP (Apêndice). Quando o micro-organismo era identificado, seguia-se uma padronização internacional⁹² para seu tratamento. As hemoculturas foram enviadas e processadas no Serviço de Microbiologia da Divisão do Laboratório Central do HC-FMUSP. O sangue foi cultivado via sistema automatizado Bactec™ (BD Diagnostics, Sparks, Massachusetts, Estados Unidos) e a identificação dos micro-organismos foi realizada por provas bioquímicas convencionais e por meio do sistema de identificação automatizado VITEK 2® (BioMerieux, Marcy l'Étoile, França).

3.3 Definições

3.3.1 Endocardite com culturas negativas

Foi considerado caso de endocardite com culturas negativas aquele em que não houve identificação de micro-organismo em hemoculturas, cultura de fluidos/tecidos obtidos cirurgicamente de material embólico, valva cardíaca ou tecido perivalvar. A identificação de contaminantes habituais (bacilos difteroides, *Propionobacterium* spp., *Bacillus* spp., *Micrococcus* spp. ou estafilococo coagulase negativo) em apenas uma amostra de hemocultura ou em cultura de fragmento de tecido valvar obtido por cirurgia sem correspondente em hemocultura foi considerada contaminação.

3.3.2 Data do diagnóstico de endocardite

A data do diagnóstico de endocardite foi definida como a do início do antibiótico parenteral considerado adequado ao tratamento da endocardite⁹².

3.3.3 Endocardite por *Bartonella* spp.

Para diagnóstico de endocardite por *Bartonella* spp., foi considerada a presença de títulos de IgG ≥ 800 para *Bartonella henselae* e/ou *Bartonella quintana*⁵² em reação de imunofluorescência indireta. Devido à elevada possibilidade de reação cruzada de anticorpos⁹³, não se considerou a distinção das espécies por sorologia.

3.3.4 Endocardite por *Coxiella burnetii*

O diagnóstico de endocardite por *Coxiella burnetii* foi estabelecido a partir de sorologia (reação de imunofluorescência indireta) com títulos > 800 de IgG antifase I^{53,94}.

3.4 Desfechos

Foram avaliados os seguintes desfechos:

3.4.1 Óbito intra-hospitalar

A investigação de óbito intra-hospitalar foi realizada por acompanhamento médico aos pacientes durante a internação.

3.4.2 Óbito após alta hospitalar

A data de entrada de cada paciente nessa coorte foi a da alta hospitalar. Nesta etapa de seguimento, foram excluídos os pacientes que evoluíram para óbito durante a internação por endocardite. A data final do seguimento foi a do registro de óbito. Os óbitos foram pesquisados mediante as seguintes fontes de dados:

- Prontuário do InCor HC-FMUSP e prontuário eletrônico Si3.
- Bancos de dados da Secretaria de Saúde do Município de São Paulo (PRO-AIM) e do Estado de São Paulo (Fundação Sistema Estadual de Análise de Dados – Seade).
- Contato telefônico (residência do paciente).

Na data de encerramento da coorte (21/5/2012), foi realizada avaliação de sobrevida por pesquisa da data da última consulta/exame no InCor HC-FMUSP no prontuário eletrônico Si3 e por meio de contato telefônico. Foi finalizado o seguimento dos pacientes que se encontravam vivos nesta data. Quando não foi possível o contato telefônico, utilizou-se a data da última consulta/exame realizado no InCor HC-FMUSP como data final do seguimento. Desta forma, o tempo de sobrevida foi dado pela diferença entre a data do óbito ou da finalização do seguimento e a data da alta hospitalar.

3.5 Variáveis de estudo

As seguintes variáveis foram estudadas (Anexo A):

- Sexo.
- Idade ao diagnóstico de endocardite. Esta variável foi categorizada adotando-se a definição de idoso (≥ 60 anos)⁹⁵.
- Presença de doenças associadas (*diabetes mellitus*, hipertensão arterial sistêmica, insuficiência cardíaca, insuficiência renal crônica e pneumopatia crônica).
- Índice de Massa Corporal (IMC) calculado pela seguinte fórmula: $\text{IMC} = \text{peso}/(\text{estatura})^2$ (kg/m^2)⁹⁶. Esta variável foi categorizada a partir da definição de sobrepeso (≥ 25 kg/m^2) da Organização Mundial de Saúde⁹⁷.
- Exposição à infecção por *Bartonella* spp. ou *Coxiella burnetii*. Foram consideradas as seguintes variáveis para infecção por *Bartonella* spp.: situação de morador de rua, presença de gato no domicílio e relato de arranhadura/mordedura por gatos ou de ectoparasitose nos últimos seis meses antes do início dos sintomas atribuídos à endocardite. Quanto à *Coxiella burnetii*, foram considerados: habitar em zona rural, contato frequente com animais de fazenda ou hábito de consumir leite cru nos últimos seis meses antes do início dos sintomas atribuídos à endocardite.
- Recidiva. Adotou-se como recidiva a seguinte definição adaptada de Mansur *et al.*⁹⁸: novo diagnóstico de endocardite dentro de seis meses após o término do tratamento, com hemoculturas negativas ou com micro-organismo identificado do mesmo gênero e espécie e sem mudança na condição cardíaca predisponente.
- Localização da endocardite: foram classificadas como “endocardite do lado esquerdo” as que envolviam as valvas mitral ou aórtica e

“endocardites do lado direito” aquelas que acometiam as valvas pulmonar ou tricúspide.

- Presença de febre ($\geq 37,8$ °C) e/ou dispneia verificadas à admissão hospitalar ou por história clínica.
- Dosagem sérica de creatinina e proteína C reativa ao diagnóstico de endocardite. Foram considerados apenas os pacientes que tiveram exames colhidos com intervalo de até dois dias da data do diagnóstico de endocardite.
- Uso de antibiótico antecedendo a coleta das hemoculturas. Considerou-se o uso de qualquer antibiótico até sete dias antes da coleta da primeira hemocultura.
- Sepses graves ao diagnóstico de endocardite. Utilizou-se a definição de sepsis grave segundo Bone *et al.*⁹⁹:
 - Síndrome da resposta inflamatória sistêmica, definida pela presença de pelo menos dois dos critérios abaixo:
 - Temperatura corporal > 38 °C ou < 36 °C.
 - Frequência cardíaca > 90 bpm.
 - Frequência respiratória > 20 irpm.
 - Leucócitos > 12.000 cels/mm³ ou < 4.000 cels/mm³, ou presença de $> 10\%$ de formas imaturas do total de leucócitos.
 - Associada às manifestações de hipoperfusão tecidual ou disfunção orgânica, caracterizada por diurese $< 0,5$ ml/kg/h, tempo de protrombina $> 1,5$ segundo, contagem de plaquetas < 100.000 /mm³, bilirrubina total > 4 mg/dl, pressão arterial sistólica menor do que 90 mmHg ou valor de lactato sérico arterial > 1 mmol/l.

- Glomerulonefrite. Este diagnóstico foi considerado a partir dos seguintes achados¹⁰⁰:
 - Confirmação histológica por biópsia ou necropsia de glomerulonefrite.
 - Hematúria (>20.000 células/ml) associada à proteinúria (>0,5 g/l) ou leucocitúria (> 20.000 células/ml) ao diagnóstico de endocardite.
- Bloqueio atrioventricular ao eletrocardiograma.
- Embolia séptica.
- Ocorrência de insuficiência renal ou necessidade de diálise durante a internação. Para o diagnóstico desta insuficiência, foram utilizados os seguintes critérios adaptados de AKIN (do inglês Acute Kidney Injury Network)¹⁰¹: elevação durante a internação de 0,3 mg/dl ou de uma vez e meia da creatinina sérica dosada ao diagnóstico de endocardite.
- Tempo de tratamento antibiótico (em dias).
- Uso de aminoglicosídeos.
- Mudança do esquema antibiótico padrão. Foi considerada somente quando ocorreu substituição de algum dos antibióticos tidos como parte da terapia padrão para tratamento das endocardites comunitárias (Apêndice) por período superior a três dias. A adequação de algum destes antibióticos, a partir do reconhecimento da etiologia da endocardite de acordo com recomendação internacional⁹², não foi considerada mudança de antibiótico.
- Ocorrência de infecção hospitalar durante o tratamento da endocardite. Foram utilizados os critérios diagnósticos para infecções hospitalares definidos pelo Centers for Diseases Control and Prevention (CDC)¹⁰².

- Variáveis ecocardiográficas:
 - Graus de insuficiência valvar. Para a análise estatística, foram categorizados em dois grupos: insuficiência ausente ou leve e insuficiência moderada ou grave.
 - Presença de vegetação valvar.
 - Presença de escape sanguíneo periprótese.
 - Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo (Feve). O valor inferior a 45%^{103,104} foi classificado como baixa Feve.
 - Pacientes que possuíam ecocardiograma realizado antes do início dos sintomas atribuídos à endocardite foram avaliados quanto à ocorrência de “nova insuficiência valvar moderada ou grave” e “nova Feve \leq 45%”. Considerou-se “nova Feve \leq 45%” o paciente que apresentava Feve \leq 45% ao diagnóstico da endocardite e que, em ecocardiograma prévio, este valor era \geq 55%.
- Abscesso e fístula cardíaca. Foram avaliados por meio de achados de ecocardiografia e/ou cirurgia cardíaca.
- Tratamento cirúrgico da endocardite.

3.6 Pesquisa de anticorpos

A reação de imunofluorescência indireta foi utilizada para detecção dos anticorpos do tipo IgG nos soros dos pacientes. Todas as análises foram realizadas no Setor de Riquetsias do Instituto Adolfo Lutz de São Paulo e avaliadas por um mesmo observador. Utilizaram-se antígenos de *Bartonella henselae* e *Bartonella quintana* para reação de imunofluorescência indireta adquiridos do CDC, Atlanta, GA, USA (*Bartonella henselae*, RA2552, Lote 08-0039 e *Bartonella quintana*, RA2551, Lote 08-0038). A reação de imunofluorescência indireta para *Coxiella burnetii* foi feita utilizando-se

lâminas comerciais (SCIMEDX Corporation, Denville, New Jersey, USA) contendo antígenos de fases I e II em cada orifício da lâmina. Para realização da reação de imunofluorescência indireta, uma alíquota de soro foi diluída em solução salina tamponada com fosfato (Phosphate Buffered Saline – PBS) a 1:800 e 1:1600. As duas diluições foram colocadas sobre as lâminas contendo os antígenos e, após incubação em estufa (37 °C, 30 minutos), as lâminas foram lavadas com PBS. A cada uma delas foi adicionado o conjugado específico (imunoglobulina anti IgG humana marcada com fluoresceína – *Invitrogen*, Life Technologies do Brasil, ref. AHI0308) diluído 100 vezes no corante Azul de Evans (0,01%). Após nova incubação (37 °C, 30 minutos) e lavagem com PBS e água destilada, as lâminas foram cobertas com lamínula com glicerina tamponada (com 10% de PBS) na interface. A leitura das lâminas foi realizada em microscópio de fluorescência no aumento de 10 e 40 vezes. Foram considerados casos positivos: bactérias intra e extracelulares com formato característico da espécie, fluorescentes de contornos regulares e coloração verde-maçã densa e brilhante; o caso negativo foi: ausência de fluorescência intra e extracelular.

3.7 Caracterização histológica e microbiológica das amostras de tecido

As amostras valvares removidas por cirurgia cardíaca seguiram o fluxo de rotina de encaminhamento do hospital para o Laboratório de Anatomia Patológica do InCor HC-FMUSP e para o Serviço de Microbiologia da Divisão do Laboratório Central do HC-FMUSP.

3.7.1 Histologia

Neste estudo, foram usados os blocos e lâminas histológicas de valvas cardíacas (nativas ou próteses) do arquivo do Laboratório de Anatomia Patológica do InCor HC-FMUSP. As amostras de tecido foram

obtidas por remoção cirúrgica ou por meio de necrópsia, conforme a rotina do InCor HC-FMUSP.

O manuseio das valvas cardíacas ressecadas cirurgicamente ocorreu da seguinte forma:

- No centro cirúrgico:
 - Exame macroscópico.
 - Retirada de amostra para cultura ainda no campo cirúrgico.
 - Colocação do material remanescente em formol 10%.
 - Transferência do material para o laboratório de patologia.

- No laboratório de patologia:
 - Exame macroscópico com descrição em ficha apropriada.
 - Retirada de amostra para histologia.
 - Processamento para histologia e inclusão em parafina.
 - Exame histológico pela hematoxilina e eosina (H&E).
 - Efetuadas colorações histoquímicas para a pesquisa de agentes infecciosos pela rotina da Instituição:
 - Brown-Hopps.
 - Brown-Breen.
 - Ziehl-Neelsen.
 - Grocott.

Quando a amostra obtida era pequena, foi processada e incluída inteiramente em parafina para análise, com o objetivo de aumentar a sensibilidade. As valvas que apresentavam calcificação foram submetidas à descalcificação controlada previamente ao recorte e processamento da amostra para não prejudicar as análises posteriores. Isto foi realizado por imersão em solução aquosa meio a meio de ácido fórmico 50% e citrato de

sódio 20%, ou solução aquosa de ácido nítrico 5% por aproximadamente um a dois dias. Nos casos com culturas negativas, em que o exame tecidual foi diferente de coco Gram-positivo ou fungos, foram realizadas as colorações de Gimenez, Giemsa e Ácido Periódico de Schiff (PAS).

Todas as lâminas foram revisadas no Laboratório de Anatomia Patológica do InCor HC-FMUSP por um mesmo médico patologista e sem conhecimento prévio do resultado das culturas e sorologias.

O diagnóstico de endocardite infecciosa, tanto em valvas nativas quanto em próteses, foi baseado na presença de lesão valvar inflamatória caracterizada por vegetação contendo fibrina e células inflamatórias, com ou sem o achado de bactérias ou outros micro-organismos e sem as características morfológicas observadas na endocardite reumática, marântica ou lúpica¹⁰⁵.

A morfologia do micro-organismo nas amostras foi avaliada segundo descrição clássica¹⁰⁶ para bactérias (coco, bacilo, cocobacilo e filamentos) ou fungos (leveduras e hifas). Mediante a reação de Gram de tecido (Brown-Breen ou Brown-Hopps), foi considerado “infecção por Gram-positivo” quando pelo menos parte das bactérias encontradas apresentava coloração azul-violeta e “infecção por Gram-negativos ou Gram-positivos com alteração tintorial” quando encontradas somente bactérias com coloração vermelha-anfófila¹⁰⁷.

Nos pacientes que apresentaram sorologia positiva para *Bartonella henselae*, *Bartonella quintana* ou *Coxiella burnetii* e em que se dispunha de tecido valvar cardíaco, realizou-se a reação de imuno-histoquímica para o respectivo micro-organismo no Infectious Diseases Pathology Branch, no CDC ou no Laboratório de Anatomia Patológica do Instituto Adolfo Lutz de São Paulo.

A reação de imuno-histoquímica foi realizada de acordo com protocolo padrão. As lâminas foram colocadas a 60°C por 24 horas, em seguida foi realizada a desparafinização em xilol à temperatura ambiente por 40 minutos. Para a recuperação antigênica, as lâminas histológicas foram

colocadas em panela de pressão contendo solução de ácido cítrico a 10mM, pH 6.0, em ebulição por 3 minutos e 30 segundos. A atividade da peroxidase endógena foi inibida usando solução de peróxido de hidrogênio a 6% em três banhos de 10 minutos cada. Foram empregados os anticorpos policlonais anti-*Bartonella henselae* e anti-*Bartonella quintana* (diluição 1:5000) utilizados no Instituto Adolfo Lutz, que foram produzidos pelo Prof. Mário Camargo a partir de cepas fornecidas pelo Viral and Rickettsial Zoonoses Branch, Atlanta, USA. No CDC, foram empregados os seguintes anticorpos: monoclonal anti-*Bartonella henselae* (clone H2A10; Biocare Medical; diluição 1:100) e policlonais anti-*Bartonella quintana* (diluição 1:500) e anti-*Coxiella burnetii* (diluição 1:1000) produzidos no Rickettsial Zoonoses Branch, Atlanta, Estados Unidos. Foi utilizado o sistema de amplificação UltraVision LPValue Large Volume Detection System HRPPolymer (Thermo Scientific). Os sítios de imunorreatividade foram detectados usando cromógeno diaminobenzidina ou fosfatase. As lâminas foram contracoradas em solução de Hematoxilina de Harris por 1 minuto e a montagem foi realizada com Entellan (Merck) e lamínula. Foram submetidos ainda controles positivos e negativos para os agentes estudados. Devido à possibilidade de reação cruzada entre *Bartonella henselae* e *Bartonella quintana*, caracterizando-se alta sensibilidade dos anticorpos, os resultados foram interpretados como positivos para *Bartonella* spp.

3.7.2 Microbiologia

As valvas cardíacas ressecadas no centro cirúrgico foram enviadas ao Serviço de Microbiologia da Divisão do Laboratório Central do HC-FMUSP de acordo com a rotina do hospital. As amostras foram encaminhadas em frasco estéril contendo soro fisiológico 0,9%. No laboratório de microbiologia, estas foram imediatamente acondicionadas em caldo nutriente (tioglicolato) até o processamento ser realizado. O tecido valvar cardíaco foi cortado em porções menores com bisturi cirúrgico estéril. Uma parte deste material foi semeada em caldo de tioglicolato, incubado por

cinco dias a 35°C e diariamente checado quanto à turvação do meio. Os meios turvos foram semeados em ágar sangue e ágar chocolate e incubados por 48 horas em microaerofilia (CO² 5%). Com o crescimento bacteriano, as colônias isoladas foram submetidas à identificação por método automatizado VITEK 2[®] (BioMerioux, Marcy l'Étoile, França). Em outra parte do material foram feitas várias impressões do tecido em lâmina com auxílio de pinça estéril para a realização da coloração de Gram¹⁰⁸, cuja técnica foi feita somente quando solicitada por pedido médico de rotina.

3.8 Análise estatística

Para testar a hipótese de associação entre o resultado das culturas (positivas ou negativas) e cada uma das variáveis qualitativas, utilizou-se o teste qui-quadrado de *Pearson*. Para situações em que este teste não era apropriado, empregou-se o teste exato de Fisher. Em relação às variáveis quantitativas, após verificação de não normalidade pelo teste de Shapiro Wilk, empregou-se o teste não paramétrico de Mann-Whitney para comparação das médias entre pacientes com endocardites com culturas positiva e negativa.

Calcularam-se a letalidade por endocardite e o seu respectivo intervalo com 95% de confiança (IC95%). O mesmo foi feito para pacientes com culturas positivas e negativas e verificada a existência de associação com uso de teste qui-quadrado.

As curvas de sobrevida para o desfecho óbito após alta hospitalar, segundo resultado das culturas, foram feitas pelo estimador produto-limite, de Kaplan-Meier, e comparadas por meio do teste de logaritmo de escores (*log-rank*).

Em seguida, foi realizada análise para identificar os fatores associados ao óbito intra-hospitalar em pacientes com culturas negativas. Em estudos de corte transversal com desfechos binários, a associação entre exposição e desfecho é estimada pela Razão de Prevalência (RP). Quando

for necessário ajustar para potenciais variáveis de confusão, normalmente são usados modelos de regressão logística que produzem estimativas de *Odds Ratio* (OR). Porém, quando o risco para o desfecho for alto, o OR não é uma boa aproximação da RP, sendo, nesses casos, inadequado o seu uso¹⁰⁹⁻¹¹¹.

Neste estudo, levando-se em conta a elevada letalidade por endocardite (31%), estimaram-se a RP e seus respectivos IC95% para a análise univariada sobre a relação entre diversas variáveis e o desfecho óbito hospitalar por endocardite. As variáveis que apresentaram valor de p inferior a 0,20 foram selecionadas para análise múltipla. O modelo empregado nessa etapa foi o de regressão de Cox com variância robusta, o qual tem sido sugerido como boa alternativa para obter estimativas das RPs ajustadas para variáveis de confusão. Entretanto, este modelo geralmente é usado para analisar o tempo até um evento, ou seja, para desenhos longitudinais. Em estudos de corte transversal é possível atribuir o valor unitário ao tempo de seguimento de cada participante como estratégia para obtenção da estimativa por ponto da RP, pois não há seguimento real dos participantes nesse tipo de estudo. Além disso, o uso da regressão de Cox sem qualquer ajuste para análise de estudos com desenho transversal pode também levar a erros na estimativa do intervalo de confiança, que pode ser maior do que deveria. Nessas situações, o método de variância robusta também pode ser utilizado¹¹².

O processo de modelagem foi iniciado com a variável que apresentava o menor valor de p pelo teste de Wald e, em seguida, foram acrescentadas, sucessivamente, as demais com valor de p inferior a 0,20. As variáveis com valor de $p < 0,05$ à análise múltipla ficaram no modelo final. Por último, foram estimadas as RPs para cada uma dessas variáveis com seus respectivos IC95%.

No que tange à sorologia para *Bartonella* spp. e *Coxiella burnetii* entre as endocardites com culturas negativas, calcularam-se a frequência de cada sorologia e o seu respectivo IC95%.

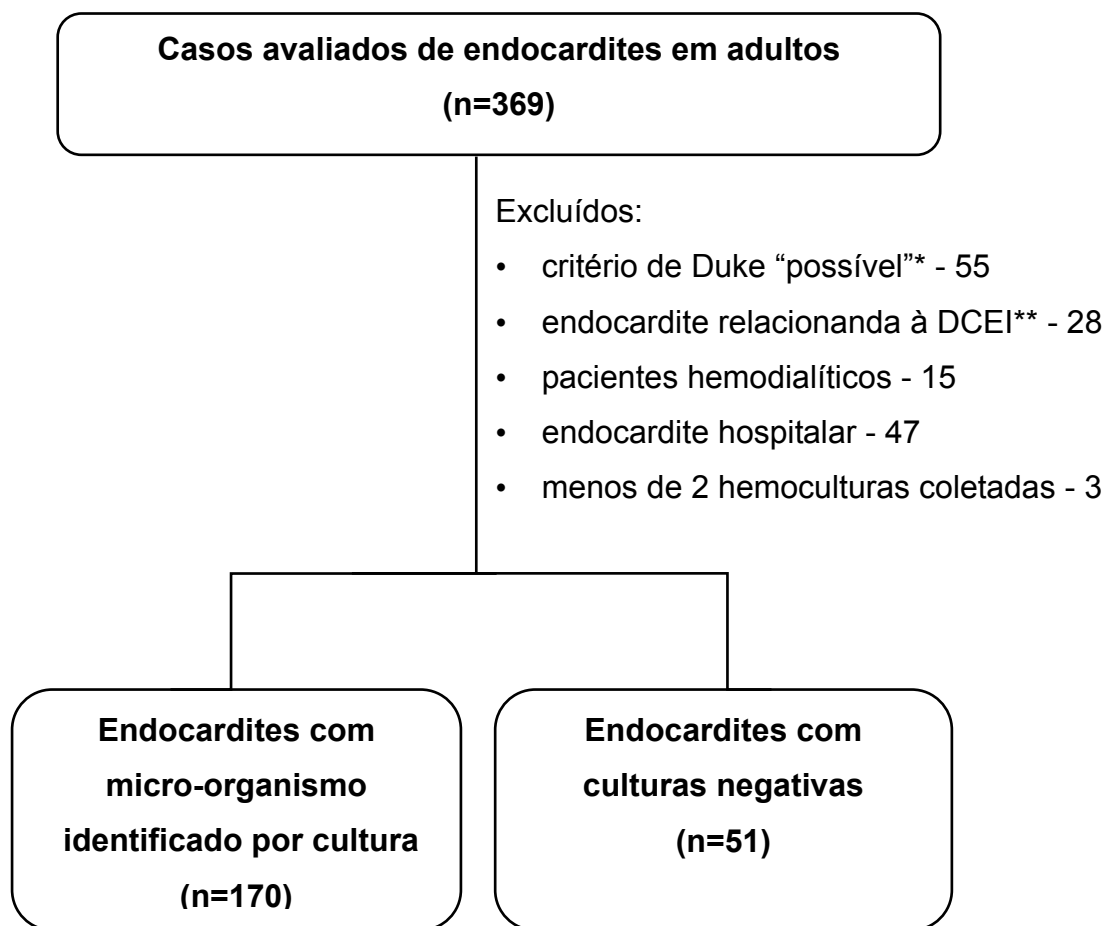
Com o propósito de avaliar os fatores associados à infecção por *Bartonella* spp. nas endocardites com culturas negativas de origem comunitária, empregou-se o teste exato de Fisher. Para as variáveis quantitativas, empregou-se o teste não paramétrico de Mann-Whitney para comparação dos grupos e quando este não era apropriado, usou-se o teste t-Student.

Neste estudo, adotou-se nível de significância de 5%.

Os dados foram inseridos no programa EPIDATA versão 3.0 (The EpiData Association, Odense, Dinamarca) e analisados no programa estatístico STATA versão 11.0 (StataCorp LP, College Station, Texas, Estados Unidos).

4.1 Características da população

Entre janeiro de 2004 e janeiro de 2009, foram avaliados 369 episódios consecutivos de endocardite em pacientes atendidos no InCor HC-FMUSP. Todos os casos de endocardite com culturas negativas arrolados neste estudo realizaram sorologia para *Bartonella henselae*, *Bartonella quintana* e *Coxiella burnetii*. A partir dos critérios de inclusão/exclusão, foram estudados 221 episódios de endocardite (Figura 1).



* Critérios de Duke modificados³¹. ** Dispositivos cardíacos eletrônicos implantáveis (DCEI)

Figura 1 Investigação dos casos de endocardite comunitária em adultos de acordo com o resultado das culturas, InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009

Ao serem considerados os 221 episódios de endocardite, verificou-se que a maioria ocorreu em pacientes do sexo masculino (65,2%), a mediana de idade foi 53 (mínimo 18 e máximo de 90 anos) e 207 casos ocorreram em valvas do lado esquerdo do coração. Endocardite em prótese valvar cardíaca ocorreu em 107 casos. Dentre os 114 episódios de endocardite em valva nativa, 79 (69%) ocorreram em pacientes com valvopatia preexistente (doença cardíaca reumática crônica em 29 casos, prolapso da valva mitral em 19 casos, cardiopatia congênita em 22 casos e episódio prévio de endocardite em nove casos). Apenas um episódio foi encontrado em usuário de drogas injetáveis.

Foram observadas doenças associadas em 158 episódios (68,8%). As mais frequentes foram hipertensão arterial sistêmica (91 – 41,2%), insuficiência cardíaca (78 – 35,3%), *diabetes mellitus* (25 – 11,3%), insuficiência renal crônica não dialítica (15 – 6,8%) e pneumopatia crônica (4 – 1,8%). Outras doenças associadas foram identificadas em 14,9% dos pacientes. A mediana do Índice de Massa Corporal foi de 23 kg/m² (mínimo 16 e máximo 39 kg/m²).

Quanto ao tratamento antibiótico usado, houve modificação do esquema inicialmente empregado em 38% dos casos. Isso se deu, na maioria das vezes (78%), por suspeita ou confirmação de infecção hospitalar associada à endocardite. Outras razões para modificação do esquema terapêutico inicial foram a ocorrência de evento adverso relacionado ao antibiótico (16%) e ausência de resposta clínica (6%). Os antibióticos mais frequentemente empregados nas substituições do esquema terapêutico inicial foram glicopeptídeos (81%) e beta-lactâmicos de amplo espectro antimicrobiano (74% deles foram carbapenêmicos e associação de beta-lactâmico com inibidores de beta-lactamase).

Tratamento cirúrgico da valva cardíaca por endocardite foi realizado 119 episódios.

4.2 Investigação etiológica

4.2.1 Hemoculturas

Foram coletados $6 \pm 3,3$ frascos de hemocultura dos pacientes com culturas negativas e $6 \pm 3,2$ frascos dos pacientes com cultura positiva ($p=0,989$). A partir da análise das culturas positivas, foram identificados micro-organismos patogênicos em 170 episódios de endocardite e foram observados 51 episódios com culturas negativas (frequência: 23,1% [IC95%: 17,2 – 28,5]). Os micro-organismos identificados estão descritos na Tabela 1. As principais características dos pacientes com endocardite com culturas negativas estão representadas no Anexo B.

Tabela 1 Micro-organismos identificados mediante culturas em 170 casos de endocardites comunitárias – InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009

Micro-organismo	n° (%)
Estreptococos grupo <i>viridans</i>	81 (47,6)
<i>Enterococcus</i> spp.	20 (11,7)
<i>Streptococcus bovis</i>	17 (10,0)
<i>Staphylococcus aureus</i>	14 (8,2)
Outros estreptococos	11 (6,5)
Hacek	10 (5,9)
Estafilococos coagulase negativo	6 (3,5)
<i>Haemophilus influenzae</i>	3 (1,8)
<i>Candida</i> spp.	1 (0,6)
Outros micro-organismos	7 (4,1)

Hacek – *Haemophilus parainfluenzae*, *H. aphrophilus*, *H. paraphrophilus*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens* e *Kingella kingae*.

4.2.2 Investigação tecidual

Foram analisadas por histologia 113 amostras de tecido valvar cardíaco, sendo 104 obtidas por remoção cirúrgica e nove por meio de autópsia. Em todos os tecidos examinados (58 em valva nativa e 55 próteses), notou-se característica morfológica consistente com endocardite. Foram identificados micro-organismos em 91% (103/113) dos casos. Em 19 deles (16,8%), o laudo emitido anteriormente pela rotina não referia a presença de micro-organismo e, em três casos, o micro-organismo que havia sido caracterizado morfológicamente como coco foi reclassificado para cocobacilo. Os micro-organismos encontrados foram agrupados segundo suas características morfológicas e tintoriais (Tabela 2).

Tabela 2 Investigação histopatológica de micro-organismo em 113 amostras de biópsia e necrópsia de pacientes com endocardite comunitária segundo resultados das hemoculturas – InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009

Micro-organismo em tecido valvar cardíaco	Hemoculturas		Valor <i>p</i>
	Positivas n° (%)	Negativas n° (%)	
Coco Gram-positivo	66 (75,9)	12 (46,2)	0,004
Coco “vermelho”	10 (11,5)	3 (11,5)	0,999
Cocobacilo	1* (1,1)	7** (26,9)	<0,001***
Bacilo Gram-negativo	1 (1)	0 (0)	NP
Bactéria filamentosa	1 (1,1)	1 (3,8)	0,409***
Fungo	1 (1)	0 (0)	NP
Ausente	7 (8)	3 (11,5)	0,694
Total	87 (100)	26 (100)	

*Cocobacilo Gram-positivo. ** Cocobacilos Gram-negativos. ***Teste exato de Fisher. Não foi possível calcular (NP).

Dentre as amostras de tecido valvar cardíaco removidas cirurgicamente, 99 foram cultivadas e 46 examinadas a fresco por coloração de Gram. Foram identificados micro-organismos patogênicos em 17,4% (8/46) dos casos por exame direto (Gram) e em 5% (5/99) por cultura. Dentre os episódios onde houve identificação de micro-organismos identificados por cultura, todos ocorreram em pacientes com hemoculturas positivas e houve correspondência tanto do gênero/espécie quanto do perfil de sensibilidade com a bactéria identificada em hemocultura (*S. aureus* = 1, *Candida* spp. = 1, estreptococos do grupo viridans = 2 e *Enterococcus* spp. = 1). Em cinco amostras cultivadas houve crescimento de micro-organismo considerado contaminante.

Em 40 episódios foi feita a pesquisa de micro-organismos tanto por citologia (Gram) como por análise histológica em cortes de material parafinado. Em 17,5% (7/40) deles foi visibilizado micro-organismo em ambos os métodos; em 70% (28/40), a coloração histopatológica foi positiva, mas o Gram foi negativo e em todos os episódios onde a histologia foi negativa, não se identificou micro-organismo pelo método de Gram. Houve concordância entre a morfologia e a característica tintorial dos micro-organismos identificados por método de Gram ou histologia e aqueles encontrados em hemoculturas.

Uma comparação da investigação de micro-organismos no tecido valvar por microbiologia e histologia, de acordo com as hemoculturas, é apresentada na Figura 2.

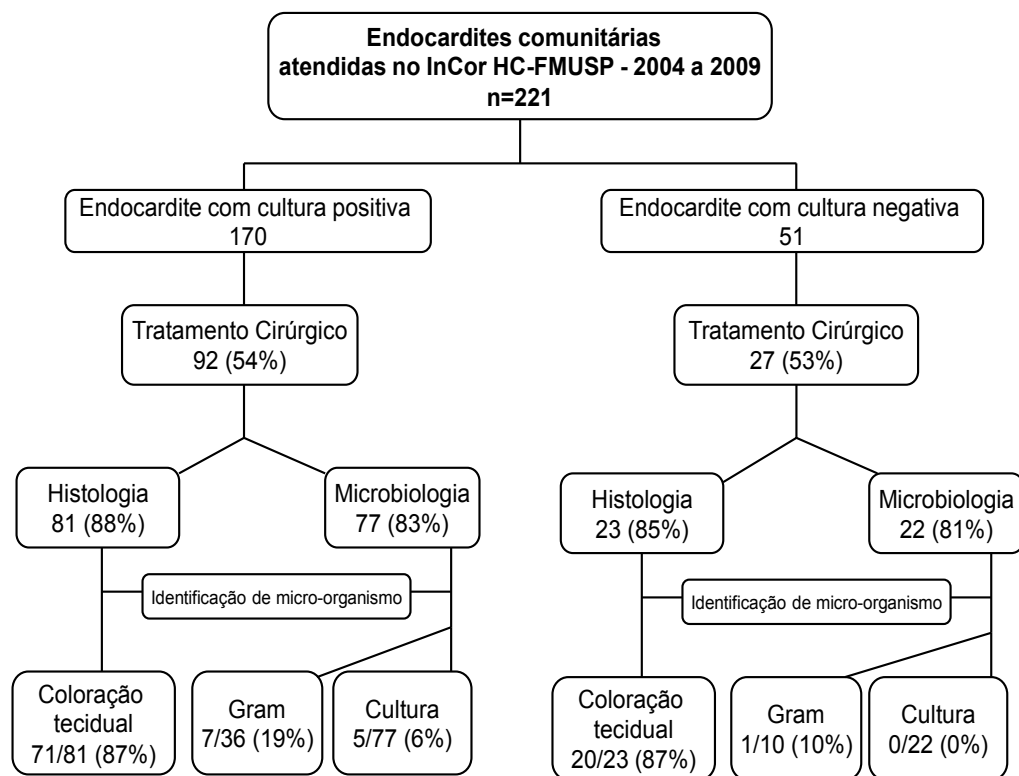


Figura 2 Investigação de micro-organismos por microbiologia e histologia em fragmentos de valva cardíaca obtidos por biópsia em endocardites de origem comunitária – InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009

4.3 Uso de antibióticos antes da coleta das hemoculturas

Nos 51 episódios de endocardite com culturas negativas, 24 pacientes (47,1%) utilizaram algum antibiótico antes da coleta das hemoculturas. Em 13 casos (54,2% – 13/24), pelo menos uma dose do antibiótico foi administrado por via endovenosa e nos demais ele foi usado somente por via oral. Cinco (20,8% – 5/24) pacientes receberam antibiótico por prescrição de médico do InCor HC-FMUSP, 18 (75% – 18/24) por prescrição de médicos de outros serviços em hospitalização prévia ou atendimento ambulatorial externo e apenas um (4,2% – 1/24) fez

automedicação. A mediana de tempo de uso de antibiótico até a coleta das hemoculturas foi de sete dias (mínimo = 1 e máximo = 14 dias) e a mediana de tempo entre a última dose e a coleta das hemoculturas foi de um dia (mínimo = 0 e máximo = 7 dias).

4.4 Comparação entre endocardites com e sem micro-organismo identificado por culturas

Optou-se por categorizar algumas variáveis quantitativas tomando-se como base o valor da mediana com pequenas aproximações por conveniência: proteína C reativa (mediana 80mg/l), tempo de tratamento com antibiótico (mediana 38 dias), tempo de tratamento com aminoglicosídeo (mediana 14 dias), tempo de internação (mediana 43 dias) e tempo entre a internação e o início de tratamento antibiótico para endocardite (mediana um dia).

As análises comparativas das endocardites, de acordo com a identificação de micro-organismos por cultura, estão representadas nas Tabelas 3 e 4. Verificou-se que, dentre os pacientes com culturas negativas, 64,7% apresentavam dispneia ao diagnóstico de endocardite, sintoma relatado por uma parcela significativamente menor dos casos com cultura positiva (35,5% – $p < 0,001$). A maioria (68,4%) das endocardites com cultura positiva apresentou proteína C reativa ≥ 80 mg/l ao diagnóstico, enquanto isto foi observado em apenas 37,8% daquelas com culturas negativas ($p = 0,001$).

Quanto aos dados ecocardiográficos à admissão hospitalar, Feve $\leq 45\%$ foi mais frequente no grupo com culturas negativas (24%) do que no grupo com cultura positiva (9,1% – $p = 0,006$). Foi possível avaliar ecocardiograma realizado previamente à endocardite em 138 pacientes. Estes exames foram realizados com mediana de 17 meses antes do início dos sintomas de endocardite e 133 deles tinham medidas de Feve em ambos os exames. A partir desta análise, depreendeu-se que o grupo

culturas negativas teve maior proporção de “nova Feve \leq 45%” do que o grupo cultura positiva (17,9% vs. 4,8% – $p=0,034$). Não houve diferença estatisticamente significativa quanto à ocorrência de “nova insuficiência valvar moderada ou grave” nos grupos avaliados ($p=0,677$).

Constatou-se também que, enquanto 31,4% dos episódios de endocardite com culturas negativas precisaram de mais de dois dias desde a internação até que fosse iniciado tratamento antibiótico adequado para endocardite, isso ocorreu em somente 15,9% dos casos com cultura positiva ($p=0,014$).

Em uma análise sem a categorização das variáveis que eram originalmente quantitativas (Tabela 5), observou-se associação entre as endocardites com culturas negativas e menores valores de proteína C reativa ($p<0,001$), maior número de dias para início de tratamento antibiótico adequado para endocardite ($p<0,001$) e menores valores de Feve ($p=0,022$) ao diagnóstico quando comparadas às endocardites com culturas positivas, à semelhança da avaliação qualitativa.

Tabela 3 Características clínicas, laboratoriais e ecocardiográficas de 221 casos de endocardite comunitária segundo a identificação de etiologia por cultura – InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009

Variáveis	Culturas		Valor p
	Positivas n° (%)	Negativas n° (%)	
Sexo feminino	62/170 (36,5)	15/51 (29,4)	0,353
Idade ≥ 60 anos	74/170 (43,5)	16/51 (31,4)	0,121
Presença de doença associada	118/170 (69,4)	34/51 (66,7)	0,711
Ausência de valvopatia preexistente	26/170 (15,3)	11/51 (21,6)	0,292
Prótese valvar	85/170 (50,0)	22/51 (43,1)	0,390
Valvopatia reumática	65/170 (39,2)	24/51 (48,0)	0,265
Valvopatia degenerativa	12/170 (7,1)	4/51 (8,0)	0,763*
Prolapso valva mitral	17/170 (10,0)	2/51 (3,9)	0,256*
Cardiopatía congênita	24/170 (14,1)	9/51 (17,6)	0,535
Tempo de sintomas ≥ 30 dias	75/169 (44,4)	28/51 (54,9)	0,187
Dispneia	60/169 (35,5)	33/51 (64,7)	<0,001
Febre	153/169 (90,5)	44/51 (86,3)	0,384
Glomerulonefrite	34/136 (25,0)	10/47 (21,3)	0,607
Proteína C reativa ≥ 80 mg/l	78/114 (68,4)	14/37 (37,8)	0,001
Sepse grave	61/170 (35,9)	19/51 (37,3)	0,858
Tempo entre internação e início de antibiótico para endocardite > 2 dias	27/170 (15,9)	16/51 (31,4)	0,014
Endocardite do lado esquerdo	161/170 (94,7)	46/51 (90,2)	>0,999*
Endocardite em mais de uma valva	16/170 (9,4)	1/51 (2,0)	0,130*
Fevê ≤ 45%	15/164 (9,1)	12/50 (24,0)	0,006
Nova Feve ≤ 45%	5/105 (4,8)	5/28 (17,9)	0,034*
Insuficiência valvar moderada ou grave	123/168 (73,2)	38/51 (74,5)	0,854
Nova insuficiência valvar moderada ou grave	47/120 (43,1)	14/32 (48,3)	0,677
Presença de vegetação	129/168 (76,8)	42/51 (82,3)	0,400

Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo (Fevê). * Teste exato de Fisher.

Tabela 4 Complicações e características evolutivas durante a internação de 221 casos de endocardite comunitária segundo a identificação de etiologia por cultura – InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009

Variáveis	Culturas		Valor <i>p</i>
	Positivas n° (%)	Negativas n° (%)	
Insuficiência renal	85/170 (50,0)	29/51 (53,9)	0,390
Diálise	36/170 (21,2)	11/51 (21,6)	0,952
Bloqueio atrioventricular	28/170 (16,5)	4/51 (7,8)	0,125*
Infecção hospitalar	46/170 (27,1)	14/51 (27,5)	0,956
Abscesso miocárdico	44/170 (25,9)	15/51 (29,4)	0,617
Fístula cardíaca	4/170 (2,4)	4/51 (7,8)	0,085*
Embolização	58/170 (34,1)	18/51 (35,3)	0,877
Tratamento antibiótico > 42 dias	30/170 (17,6)	11/51 (21,6)	0,527
Uso de aminoglicosídeo	133/170 (78,2)	40/51 (78,4)	0,976
Mudança do antibiótico padrão	61/170 (35,9)	23/51 (45,1)	0,253
Tratamento cirúrgico da endocardite	92/170 (54,1)	27/51 (52,9)	0,376
Tempo de internação > 42 dias	73/170 (42,9)	27/51 (52,9)	0,208

* Teste exato de Fisher.

Tabela 5 Descrição comparativa das variáveis quantitativas de 221 casos de endocardite comunitária de acordo com a identificação de etiologia por cultura – InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009

Variáveis	Culturas		Valor p^*
	Positivas	Negativas	
	Mediana (mín. – máx.)		
Idade (anos)	56 (18 – 89)	45 (18 – 83)	0,070
Tempo de internação (dias)	39 (1 – 248)	44 (7 – 116)	0,229
Tempo entre internação e início de antibiótico para endocardite (dias)	0 (0 – 35)	2 (0 – 24)	<0,001
Tempo de tratamento antibiótico (dias)	40 (1 – 70)	42 (5 – 99)	0,295
Tempo de sintomas (dias) (n=220)	22 (1 – 127)	31 (1 – 353)	0,077
Tempo de uso de aminoglicosídeo (dias) (n=173)	14 (1 – 42)	14 (2 – 42)	0,865
Tempo até tratamento cirúrgico (dias)	8 (0 – 80)	7 (0 – 37)	0,257
Creatinina sérica (mg/dl) (n=220)	1,2 (0,5 – 5,9)	1,2 (0,3 – 5,6)	0,718
Fevre (%) (n=214)	65 (25 – 87)	62 (32 – 81)	0,022
Proteína C reativa (mg/l) (n=151)	108 (17 – 347)	58 (7 – 199)	<0,001

Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo (Feve). * Teste de Mann-Whitney.

4.5 Óbito intra-hospitalar

Neste estudo, 73 pacientes faleceram durante a internação hospitalar (letalidade de 33% [IC95%: 26,9 – 39,7]). Não houve diferença estatisticamente significativa ($p=0,774$) na letalidade intra-hospitalar comparando-se as endocardites com culturas negativas (31,4% [IC95%: 19,1 – 46]) e culturas positivas (33,4% [IC95%: 26,5 – 41,2]).

4.6 Sobrevida após a alta hospitalar

No que se refere à letalidade após a alta hospitalar, verificou-se que, ao final do estudo, em 1º/2/2013, 119 (80,4%) dos 148 pacientes que

tiveram alta hospitalar continuavam vivos e 23 (15,5%) faleceram. Não havia informações relativas ao desfecho para seis deles, correspondendo a uma perda de 4,1% da casuística analisada. Destes, cinco apresentaram hemocultura positiva. O tempo de sobrevida dos pacientes após a alta hospitalar variou de quatro dias a nove anos. Observou-se que cinco anos após a alta hospitalar, 85,3% deles estavam vivos.

A comparação da estimativa de sobrevida após alta hospitalar por meio da curva de Kaplan-Meier não apresentou diferença com significância estatística ($p=0,471$) entre os grupos com culturas positivas e negativas (Figura 3).

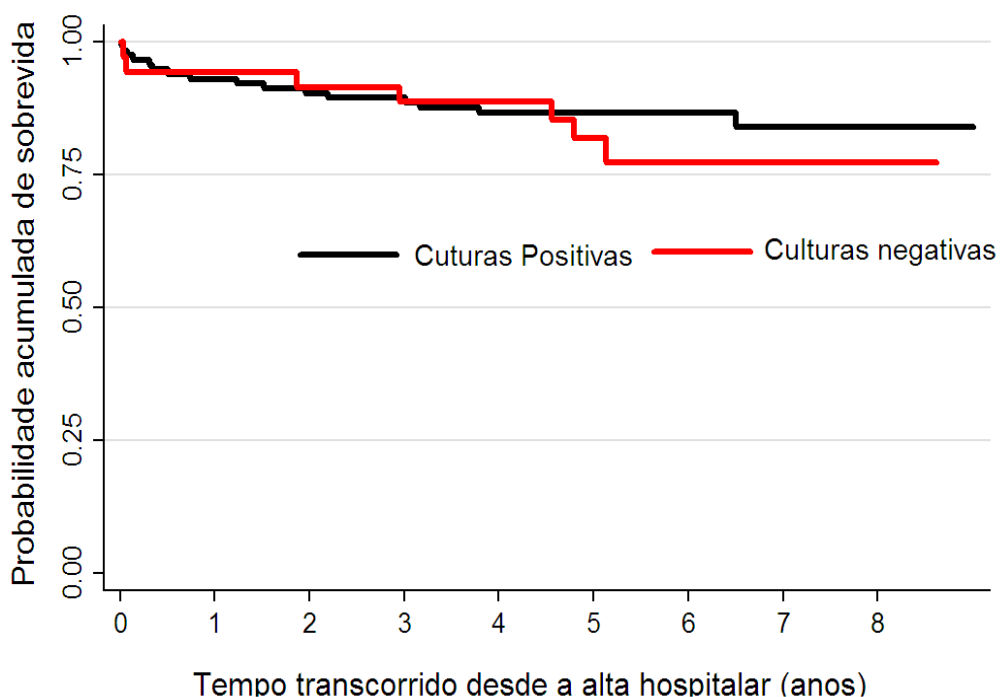


Figura 3 Probabilidade acumulada de sobrevivência após alta hospitalar por endocardite de origem comunitária de acordo com a identificação de etiologia por cultura – InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009

4.7 Recidivas e reinfecções

Vinte e um pacientes apresentaram novo episódio de endocardite no período de seguimento. Houve apenas quatro episódios de recidiva, dois em cada grupo.

4.8 Óbito intra-hospitalar em pacientes com endocardite com culturas negativas

Dentre os 51 episódios de endocardite com culturas negativas, registraram-se 16 óbitos durante a internação (31,4% [IC95%: 19,1 – 45,9]).

Os dados obtidos neste estudo mostraram associação entre óbito hospitalar em pacientes com endocardite com culturas negativas e as seguintes variáveis: idade \geq 60 anos ($p=0,011$), presença de *diabetes mellitus* ($p=0,001$), insuficiência renal crônica ($p<0,001$), pneumopatia crônica ($p<0,001$), endocardite em mais de uma valva ($p<0,001$), sepse grave à admissão ($p=0,004$) e ocorrência de embolização ($p=0,038$) (Tabelas 6, 7 e 8). Em uma análise sem a categorização das variáveis que eram originalmente quantitativas, observou-se também uma associação entre aumento da idade ($p=0,025$) e óbito hospitalar (Tabela 9).

Tabela 6 Características demográficas e doenças associadas distribuídas de acordo com óbito intra-hospitalar em 51 episódios de endocardite comunitária com culturas negativas – InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009

Variáveis		TOTAL n°	Óbitos n° (%)	RP	IC95% (RP)	Valor p
Sexo	Feminino	15	5 (33,3)	1	0,38 – 2,20	0,846
	Masculino	36	11 (30,6)	0,92		
Idade (anos)	< 60	35	7 (20,0)	1	1,27 – 6,25	0,011
	≥ 60	16	9 (56,2)	2,81		
IMC (kg/m ²) (n=50)	< 25	38	11 (29,0)	1	0,44 – 2,98	0,771
	≥ 25	12	4 (33,3)	1,15		
Ausência de valvopatia preexistente	Não	40	14 (35,0)	1	0,53 – 1,34	0,466
	Sim	11	2 (18,2)	1,22		
EI prévia	Não	46	14 (30,4)	1	0,41 – 4,24	0,647
	Sim	5	2 (40,0)	1,31		
Hipertensão arterial sistêmica	Não	30	7 (23,3)	1	0,81 – 4,18	0,148
	Sim	21	9 (42,9)	1,84		
<i>Diabetes mellitus</i>	Não	46	12 (26,1)	1	1,58 – 5,94	0,001
	Sim	5	4 (80,0)	3,07		
Insuficiência cardíaca preexistente	Não	33	8 (24,2)	1	0,82 – 4,09	0,139
	Sim	18	8 (44,4)	1,83		
Insuficiência renal crônica	Não	49	14 (28,6)	1	2,24 – 5,47	<0,001
	Sim	2	2 (100)	3,50		
Pneumopatia crônica	Não	50	15 (30,0)	1	2,17 – 5,11	<0,001
	Sim	1	1 (100)	3,33		
Outras doenças associadas	Não	43	13 (30,2)	1	0,45 – 3,42	0,677
	Sim	8	3 (37,5)	1,24		

Endocardite infecciosa (EI). Índice de Massa Corporal (IMC). Razão de Prevalência (RP).

Tabela 7 Características clínicas e laboratoriais distribuídas de acordo com óbito intra-hospitalar em 51 episódios de endocardite comunitária com culturas negativas – InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009

Variáveis		TOTAL n°	Óbitos n° (%)	RP	IC95% (RP)	Valor p
Tempo de sintomas (dias)	< 30	23	8 (34,8)	1	0,36 – 1,86	0,637
	≥ 30	28	8 (28,6)	0,82		
Dispneia	Não	18	4 (22,2)	1	0,61 – 4,38	0,327
	Sim	33	12 (36,4)	1,64		
Febre	Não	7	4 (57,1)	1	0,21 – 1,07	0,074
	Sim	44	12 (27,3)	0,48		
Proteína C reativa (mg/l) (n=37)	< 80	23	8 (34,8)	1	0,30 – 2,26	0,704
	≥ 80	14	4 (28,6)	0,82		
Sepse grave	Não	32	5 (15,6)	1	1,51 – 9,12	0,004
	Sim	19	11 (57,9)	3,71		
HMC coletadas sem uso prévio de antibióticos	Não	27	11 (40,7)	1	0,21 – 1,27	0,149
	Sim	24	5 (20,8)	0,51		
Tempo entre internação e início de antibiótico para endocardite (dias)	≤ 2	35	11 (31,4)	1	0,63 – 3,49	>0,999
	> 2	16	5 (31,3)	1,48		
EI do lado esquerdo	Não	5	1 (20,0)	1	0,26 – 10,06	0,598
	Sim	46	15 (32,6)	1,63		
EI em mais de uma valva	Não	50	15 (30,0)	1	2,17 – 5,11	<0,001
	Sim	1	1 (100)	3,33		
Infecção por <i>Bartonella</i> spp.	Não	41	12 (29,3)	1	0,55 – 3,38	0,499
	Sim	10	4 (40,0)	1,37		
Infecção por <i>Coxiella</i> <i>burnetii</i>	Não	47	15 (31,9)	1	0,13 – 4,58	0,786
	Sim	4	1 (25,0)	0,78		

Razão de Prevalência (RP). Hemocultura (HMC). Endocardite infecciosa (EI).

Tabela 8 Complicações e características evolutivas durante a internação distribuídas de acordo com óbito intra-hospitalar em 51 episódios de endocardite comunitária com culturas negativas – InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009

Variáveis		TOTAL n°	Óbitos n° (%)	RP	IC95% (RP)	Valor p
Feve (%) (n=50)	> 45	38	11 (28,9)	1	0,81 – 2,60	0,380
	≤ 45	12	5 (41,7)	1,52		
Nova Feve ≤ 45% (n=28)	Não	23	7 (30,4)	1	0,37 – 4,64	0,671
	Sim	5	2 (40,0)	1,31		
Insuficiência valvar moderada ou grave	Não	13	5 (38,5)	1	0,32 – 1,77	0,516
	Sim	38	11 (29,0)	0,75		
Nova insuficiência valvar moderada ou grave (n=32)	Não	18	6 (33,3)	1	0,29 – 2,5	0,778
	Sim	14	4 (28,2)	0,86		
Uso de aminoglicosídeo	Não	11	4 (36,4)	1	0,33 – 2,08	0,683
	Sim	40	12 (30,0)	0,83		
Uso de aminoglicosídeo > 14 dias (n=40)	Não	15	9 (36,0)	1	0,75 – 1,54	0,477
	Sim	25	3 (20,0)	0,50		
Tratamento cirúrgico da EI	Não	24	9 (37,5)	1	0,30 – 1,58	0,383
	Sim	27	7 (25,9)	0,69		
Bloqueio A-V no eletrocardiograma	Não	47	15 (31,9)	1	0,13 – 4,58	0,786
	Sim	4	1 (25,0)	0,78		
Infecção hospitalar	Não	37	10 (27,0)	1	0,70 – 3,57	0,266
	Sim	14	6 (42,9)	1,58		
Abscesso miocárdico	Não	36	10 (27,8)	1	0,63 – 3,27	0,384
	Sim	15	6 (40,0)	1,44		
Fístula cardíaca	Não	47	13 (27,7)	1	0,54 – 3,86	0,457
	Sim	4	2 (50,0)	1,45		
Embolização	Não	33	7 (21,2)	1	1,05 – 5,31	0,038
	Sim	18	9 (50,0)	2,36		

Bloqueio atrioventricular (Bloqueio A-V). Endocardite infecciosa (EI). Fração de ejeção do ventrículo esquerdo (Feve). Razão de Prevalência (RP).

Tabela 9 Descrição comparativa entre variáveis quantitativas de 51 casos de endocardite comunitária com culturas negativas segundo óbito intra-hospitalar – InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009

Variáveis	Óbito		Valor p^*
	Não	Sim	
	Mediana (mín.-máx.)		
Idade	43 (18 – 77)	63 (14 – 83)	0,025 [#]
IMC (kg/m ²)	22 (18 – 32)	23 (18 – 33)	0,542
Tempo entre a internação e o diagnóstico de endocardite (dias)	1 (0 – 17)	2 (0 – 24)	0,933
Tempo de sintomas (dias)	31 (4 – 353)	29 (1 – 337)	0,951
Creatinina sérica (mg/dl)	1,1 (0,3 – 5,6)	1,2 (0,5 – 4,2)	0,193
Fevre (%) (n=50)	63,0 (35 – 75)	59,5 (32 – 81)	0,755
Proteína C reativa (mg/l) (n=37)	45 (7 – 199)	63 (10 – 178)	0,697

Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo (Fevre). Índice de Massa Corporal (IMC). * Teste de Mann-Whitney. [#] Teste t-Student.

4.8.1 Análise múltipla

As variáveis pneumopatia crônica, endocardite em mais de uma valva e insuficiência renal crônica não foram utilizadas na análise múltipla por apresentarem apenas um ou dois pacientes com a referida ocorrência. As seguintes variáveis foram analisadas no modelo final da análise múltipla: *diabetes mellitus* ($p=0,001$), sepse grave ($p=0,004$), idade ≥ 60 anos ($p=0,011$), embolização ($p=0,038$), febre ($p=0,074$), insuficiência cardíaca preexistente ($p=0,139$), hipertensão arterial sistêmica ($p=0,148$), hemoculturas coletadas sem uso prévio de antibióticos ($p=0,149$) e creatinina sérica ($p=0,193$).

Identificou-se que a letalidade intra-hospitalar nos pacientes com endocardite com culturas negativas esteve independentemente associada à ocorrência de sepse grave e de *diabetes mellitus* (Tabela 10). A letalidade em pacientes com endocardite com culturas negativas e sepse grave foi 3,32

vezes maior que naqueles sem sepse grave e 2,32 maior naqueles que apresentavam *diabetes mellitus*.

Tabela 10 Estimativas da Razão de Prevalência de letalidade por endocardite comunitária em pacientes com culturas negativas pelo modelo de regressão múltipla de Cox – InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009

Variáveis	RP _{br}	RP _{aj} (IC95%)	Valor p
Sepse grave	3,71	3,32 (1,34 – 8,23)	0,010
<i>Diabetes mellitus</i>	3,07	2,32 (1,23 – 4,37)	0,009

Razão de Prevalência bruta (RP_{br}). Razão de Prevalência ajustada (RP_{aj}).

4.9 Infecções por *Bartonella* spp. e *Coxiella burnetii*

Dez casos apresentaram endocardite por *Bartonella* spp. (frequência: 19,6% [IC95%: 9,8 – 33,1]) e quatro por *Coxiella burnetii* (frequência: 7,8% [IC95%: 2,2 – 18,9]). Em nove pacientes com endocardite por *Bartonella* spp. ou *Coxiella burnetii*, as vegetações valvares foram submetidas à análise imuno-histoquímica e todas resultaram positivas, em correspondência com o resultado da sorologia (Tabela 11).

Tabela 11 Resultados de sorologia, histologia e imuno-histoquímica em vegetação valvar cardíaca em pacientes com endocardite por *Bartonella* spp. ou *Coxiella burnetii* – InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009

Caso	Sorologia IgG*			Imuno-histoquímica de vegetação valvar cardíaca			Micro-organismo em histologia (BB e BH)
	<i>B. henselae</i>	<i>B. quintana</i>	Antifase I <i>C. burnetii</i>	<i>B. quintana</i>	<i>B. henselae</i>	<i>C. burnetii</i>	
1	≥1600	≥1600	<800	Positivo	Positivo	...	Cocobacilo Gram-negativo
2	≥1600	≥1600	<800	Positivo	Negativo	...	Cocobacilo Gram-negativo
3	≥1600	≥1600	<800	Positivo	Positivo	...	Ausente
4	≥1600	≥1600	<800
5	≥1600	≥1600	<800	Positivo	Positivo	...	Cocobacilo Gram-negativo
6	≥1600	≥1600	<800	Positivo	Positivo	...	Cocobacilo Gram-negativo
7	≥1600	≥1600	<800
8	=800	<800	<800
9	≥1600	≥1600	<800
10	=800	≥1600	<800	Positivo	Negativo	...	Cocobacilo Gram-negativo
11	<800	<800	≥1600	Positivo	Cocobacilo Gram-negativo
12	<800	<800	6400	Positivo	Ausente
13	<800	<800	25600	Positivo	Ausente
14	<800	<800	51200

* Reação de imunofluorescência indireta. Brown-Breen (BB). Brown-Hopps (BH).

4.9.1 Infecção por *Bartonella* spp.

Os pacientes com endocardite causada por *Bartonella* spp. apresentaram menor Feve ao diagnóstico quando comparados aos demais pacientes com endocardites com culturas negativas (Tabelas 12 e 13). Enquanto 60% dos pacientes com bartonelose apresentavam Feve ≤ 45%, o

mesmo ocorreu em somente 15% daqueles sem infecção por *Bartonella* spp. ($p=0,007$ – Tabela 12). Ao se tratar a variável Feve como contínua (Tabela 13), verificou-se que, de forma semelhante à análise qualitativa, aqueles com infecção por *Bartonella* spp. apresentaram menores valores de Feve ao diagnóstico de endocardite ($p=0,025$).

Vinte e oito casos puderam ser avaliados quanto à ocorrência de “nova Feve $\leq 45\%$ ”, o que se deu em maior proporção entre as infecções por *Bartonella* spp. (66,7% vs. 4,5%; $p=0,003$ – Tabela 12). Numa análise da Feve como variável contínua, verificou-se que pacientes com infecção por *Bartonella* spp. apresentaram redução da Feve à admissão quando comparados com ecocardiograma prévio ao início dos sintomas de endocardite (Feve média preexistente de 69%, DP 3.9 vs. Feve média na admissão de 42%, DP 16, $p=0,017$). Não foi observada, entretanto, diferença estatisticamente significativa entre a Feve preexistente e aquela aferida à admissão nos demais pacientes com endocardite com culturas negativas sem infecção por *Bartonella* spp. (Feve média preexistente de 62%, DP 13.1 vs. Feve média na admissão de 63,5%, DP 10,4, $p=0,185$).

Tabela 12 Distribuição das características clínicas, laboratoriais e ecocardiográficas de 51 casos de endocardite comunitária com culturas negativas segundo infecção por *Bartonella* spp. – InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009

Variáveis	Infecção por <i>Bartonella</i> spp.		Valor p*
	Presente n° (%)	Ausente n° (%)	
Sexo feminino	1/10 (10,0)	14/41 (34,1)	0,246
Idade ≥ 60 anos	3/10 (30,0)	13/41 (31,7)	0,999
IMC ≥ 25 kg/m ²	1/10 (10,0)	11/40 (27,5)	0,416
Presença de doença associada	8/10 (80,0)	34/41 (63,4)	0,463
Ausência de valvopatia preexistente	3/10 (30,0)	8/41 (19,5)	0,669
Endocardite prévia	1/10 (10,0)	4/41 (9,8)	0,999
Tempo de sintomas ≥ 30 dias	8/10 (80,0)	20/41 (48,8)	0,091
Dispneia	8/10 (80,0)	25/41 (61,0)	0,462
Febre	9/10 (90,0)	35/41 (85,4)	0,999
Tempo para início de antibiótico para endocardite > 2 dias desde a internação	4/10 (40,0)	12/41 (29,3)	0,705
Mais de uma valva acometida	0/10 (0)	1/41 (2,4)	NP
Proteína C reativa ≥ 80 mg/l	2/8 (25,0)	12/29 (41,4)	0,683
Sepse grave	4/10 (40,0)	15/41 (36,6)	0,999
Feve ≤ 45%	6/10 (60,0)	6/40 (15,0)	0,007
Nova Feve ≤ 45%	4/6 (66,7)	1/22 (4,5)	0,003
Insuficiência valvar moderada ou grave	8/10 (80,0)	30/41 (73,2)	0,703
Nova insuficiência valvar moderada ou grave	3/6 (50,0)	11/26 (42,3)	0,999
Glomerulonefrite (n=47)	3/10 (30,0)	10/37 (27,0)	0,999
Presença de vegetação	9/10 (90,0)	33/41 (80,5)	0,667

Índice de Massa Corporal (IMC). Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo (Feve). Não foi possível calcular (NP). * teste exato de Fisher.

Tabela 13 Estatística descritiva das variáveis quantitativas de 51 casos de endocardite comunitária com culturas negativas segundo infecção por *Bartonella* spp. – InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009

Variáveis	Infecção por <i>Bartonella</i> spp.		Valor p^*
	Presente	Ausente	
	Mediana (mín. – máx.)		
Idade	51,5 (21 – 70)	45,0 (14 – 83)	0,982**
IMC (kg/m ²)	21,5 (18 – 25)	22,0 (18 – 33)	0,260
Tempo entre internação e início de antibiótico para endocardite (dias)	2 (0 – 24)	1 (0 – 17)	0,196
Tempo de sintomas (dias)	54 (6 – 108)	27 (1 – 353)	0,148
Creatinina sérica (mg/dl)	1,3 (0,8 – 3,1)	1,1 (0,3 – 5,6)	0,249
Feve (%)	42,5 (32 – 81)	63,5 (35 – 75)	0,013
Proteína C reativa (mg/l)	53 (15,7 – 123)	58 (7 – 199)	0,685

Índice de Massa Corporal (IMC). Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo (Feve).

* Teste Mann Whitney. ** Teste t-Student.

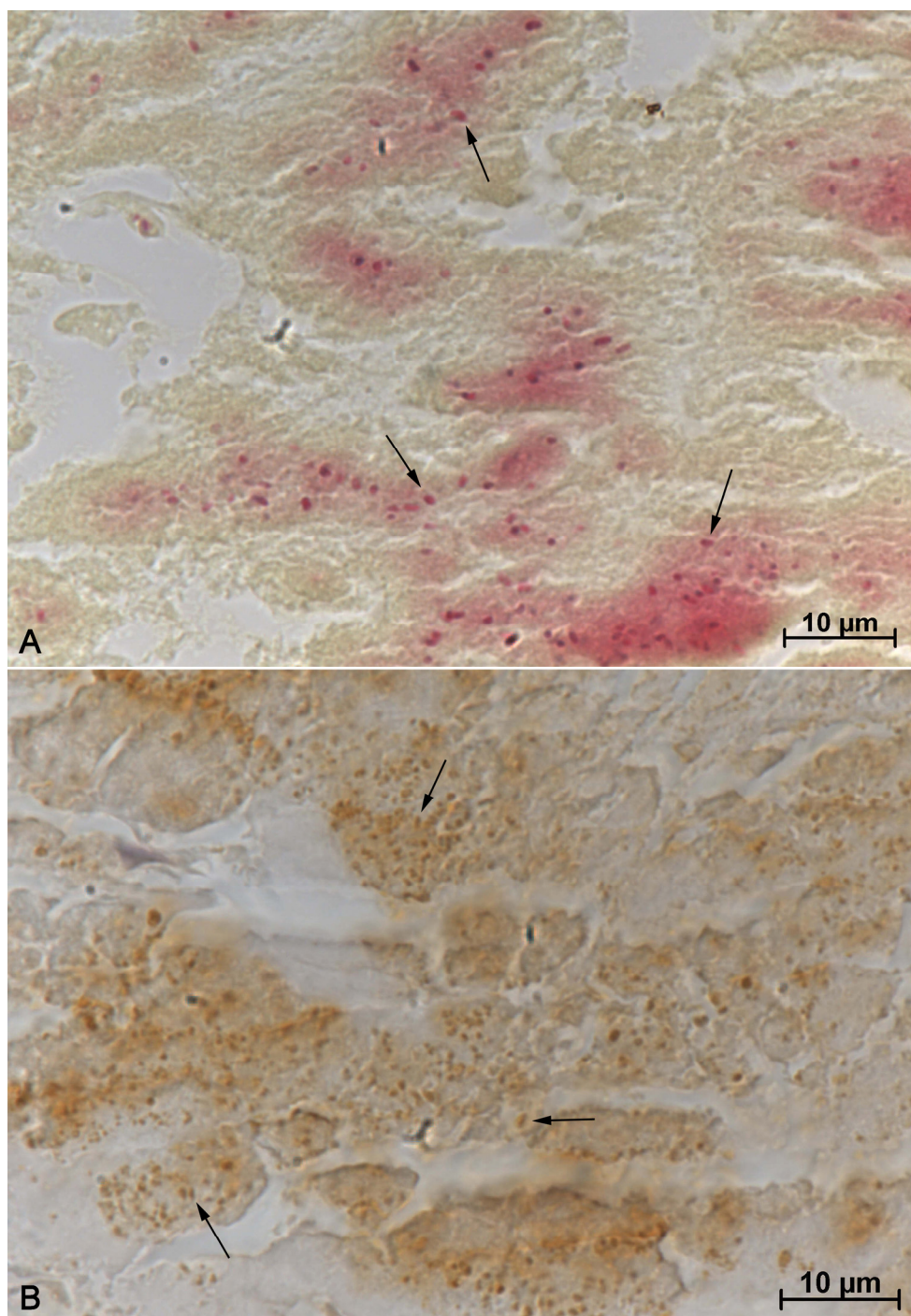
Quanto à epidemiologia, nota-se uma associação entre episódios de endocardite por *Bartonella* spp. e a presença de gato no domicílio do paciente ($p=0,001$) (Tabela 14). Enquanto 60% dos pacientes com endocardite causada por *Bartonella* spp. possuíam gato doméstico, isso ocorreu em somente 7,3% dos pacientes sem infecção por *Bartonella* spp.

Tabela 14 Características epidemiológicas de 51 casos de endocardite comunitária com culturas negativas segundo infecção por *Bartonella* spp. – InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009

Variáveis	Infecção por <i>Bartonella</i> spp.		Valor <i>p</i>
	Presente n° (%)	Ausente n° (%)	
Gato doméstico	6/10 (60)	3/41 (7,3)	0,001
Mordedura de gato	0/10 (0)	0/41 (0)	NP
Arranhadura de gato	2/10 (20)	0/41 (0)	NP
Morador de rua	2/10 (20)	0/41 (0)	NP
Ectoparasitose	2/10 (20)	0/41 (0)	NP
Consumo de leite cru	1/10 (10)	5/41 (12,2)	0,999
Contato com gado	3/10 (30)	7/41 (17,1)	0,424
Zona rural	1/10 (10)	6/41 (14,6)	0,999

NP: não foi possível calcular.

Do ponto de vista histopatológico, dentre as 26 amostras de tecido valvar de pacientes com endocardite com culturas negativas estudadas, observou-se a presença de cocobacilo no tecido valvar em sete casos (Figura 4). Seis deles eram cocobacilos Gram-negativos e somente um Gram-positivo (este último sem infecção por *Bartonella* spp.). Houve associação entre infecção por *Bartonella* spp. e a presença de cocobacilo Gram-negativo em tecido valvar cardíaco (83% vs. 5%, $p=0,001$). Ao se considerar a sorologia para *Bartonella* spp. como padrão ouro para diagnóstico, a visibilização de cocobacilo Gram-negativo no tecido valvar resultou em sensibilidade de 83,3% e especificidade de 94,7% (Tabela 15).



A imagem "A" mostra a típica morfologia cocobacilar (setas) de *Bartonella* spp. corada pelo método histoquímico de Brown-Hopps (caso 1). Na imagem "B", observa-se a reação imuno-histoquímica do mesmo caso com os microorganismos marcados com o anticorpo policlonal contra *Bartonella quintana* (setas). [imagens fotografadas com lente objetiva de x100 na imersão com óleo]

Figura 4 Demonstração histológica de endocardite por *Bartonella* spp.

Tabela 15 Visibilização de cocobacilo Gram-negativo em amostra de tecido valvar de 25 casos de endocardite comunitária com culturas negativas segundo infecção por *Bartonella* spp. – InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009

Cocobacilo Gram-Negativo em histologia	Endocardite por <i>Bartonella</i> spp.	
	Presente	Ausente
Presente	5	1
Ausente	1	18

Não foi realizada análise múltipla, em virtude do baixo número de episódios com o desfecho infecção por *Bartonella* spp. nesta casuística. As principais características clínicas, ecocardiográficas e evolutivas dos pacientes com endocardite por *Bartonella* spp. estão apresentadas na Tabela 16.

Tabela 16 Características clínicas, ecocardiográficas e evolutivas de pacientes com diagnóstico de endocardite por *Bartonella* spp. – InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009

Caso	Idade/ Sexo	Tipo de valva	Feve prévia % (n° meses [*])	Feve à admissão %	Feve pós- endocardite % (n° meses ^{**})	Complicações relacionadas à endocardite	Tratamento cirúrgico	Causa do óbito hospitalar
1	35/M	Prótese aórtica	...	56	60 (23)	...	Sim	...
2	65/M	Aórtica nativa	75 (1)	81	...	Abscesso perivalvar	Sim	Choque cardiogênico
3	52/M	Prótese aórtica	68 (2)	32	Não	Arritmia maligna
4	31/F	Prótese mitral	70 (5)	51	66 (4)	...	Não	...
5	60/M	Aórtica nativa	...	40	60 (40)	Abscesso perivalvar + fístula	Sim	...
6	58/M	Aórtica nativa	...	66	65 (1)	...	Sim	...
7	70/M	Aórtica nativa	65 (51)	45	...	Abscesso perivalvar + embolia cerebral	Não	Choque séptico e cardiogênico
8	41/M	Prótese aórtica	64 (41)	37	18 (14)	Abscesso perivalvar	Sim	...
9	21/M	Mitral nativa	70 (43)	37	60 (1)	...	Não	...
10	51/M	Aórtica nativa	...	32	Sim	Choque cardiogênico

* Número de meses desde o último ecocardiograma até o início dos sintomas de endocardite; ** Número de meses desde a alta até o primeiro ecocardiograma. Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo (Feve).

4.9.2 Infecção por *Coxiella burnetii*

Apenas quatro pacientes apresentaram infecção por *Coxiella burnetii* e, portanto, não foi possível realizar análise estatística para identificar fatores preditores desta infecção. Por se tratar de doença raramente identificada no Brasil, optou-se por descrever os episódios de endocardite por *Coxiella burnetii* (a numeração dos casos segue aquela apresentada na Tabela 11).

Paciente 11: masculino, 41 anos, natural e procedente de São Felipe (BA), admitido com queixa de dispneia progressiva há 12 meses, sudorese vespertina e emagrecimento de 5kg. Lavrador, tinha contato com gado bovino e referia ingestão de leite cru habitualmente. Ao exame físico apresentava sopro diastólico 4+/6+ em foco aórtico e hepatoesplenomegalia. Exames séricos à admissão: aspartato aminotransferase (AST) 75 U/l, alanina aminotransferase (ALT) 76 U/l, albumina sérica 2,6 g/dl, fração gama na eletroforese de proteínas 2,4 g/dl, proteína C reativa 2,07 mg/l e hemoglobina 9,2 g/dl. O ecocardiograma transesofágico mostrou valva aórtica com dupla disfunção e insuficiência grave. No quinto dia de internação obteve-se resultado de sorologia positiva para *Coxiella burnetii* e passou a receber doxiciclina 100 mg Via Oral (VO) e ciprofloxacino 500 mg VO 12/12h. No entanto, a partir da terceira semana da antibioticoterapia retornaram os sintomas de insuficiência cardíaca, além de febre baixa, e o paciente foi submetido à cirurgia de troca valvar aórtica. Apresentou sangramento no pós-operatório imediato e acentuada piora clínica devido a choque séptico de origem pulmonar e veio a óbito no quinto dia pós-operatório. Foi identificada endocardite associada a presença de pequenos cocobacilos Gram-negativos no exame histológico valvar.

Pacientes 12: masculino, 45 anos, natural e procedente de Capim Grosso (BA), apresentou-se com queixa de febre, perda de seis quilos nos últimos dois meses e dispneia aos esforços. História prévia de doença valvar reumática crônica e implante de prótese valvar biológica aórtica há 14 meses. Referia consumo de leite cru e vida rural com contato com gado bovino. À admissão, apresentava proteína C reativa de 35 mg/l e hemoglobina de 12,2 g/dl. Ecocardiograma mostrou prótese valvar aórtica com insuficiência leve e vegetação de 1,7 cm. Após uso empírico de vancomicina 1g intravenoso (IV) 12/12h e gentamicina 60 mg IV 8/8h por 12 dias sem melhora dos sintomas, obteve-se resultado positivo da sorologia para *Coxiella burnetii* e este esquema antibiótico foi substituído por doxiciclina 100 mg VO e ciprofloxacino 400 mg IV 12/12h. Houve remissão da febre após cinco dias e o ecocardiograma realizado após dois meses não

mostrou mais vegetação valvar. Paciente recebeu alta e fez uso de doxiciclina 100 mg VO e ciprofloxacino 500 mg VO 12/12h por quatro anos. Foi acompanhado em ambulatório com boa tolerância da medicação, remissão da febre e da perda de peso. Após cerca de dois anos de tratamento, mantinha dispneia aos médios e pequenos esforços e foi submetido a nova troca valvar. Realizou controle sorológico, que evidenciou queda dos títulos de IgG antifase I para *Coxiella burnetii* de 6.400 para < 800 após três anos de tratamento.

Paciente 13: feminina, 34 anos, natural e procedente de Novo Repartimento (PA). Apresentou-se com queixa de febre baixa intermitente há um ano, perda de peso de oito quilos e dispneia progressiva no período. História prévia de doença valvar reumática crônica e troca de valva mitral dois anos antes da admissão. Residia em fazenda com criação de gado bovino e consumia leite cru. Ao exame, apresentava-se emagrecida com baço palpável a 25 cm do rebordo costal esquerdo. Exames séricos à admissão: hemoglobina 8,2 mg/dl, AST 33 U/l, ALT 16 U/l, albumina 2,6 g/dl, creatinina 1,1 mg/dl, fração gama na eletroforese de proteínas 4,9 g/dl e proteína C reativa 61 mg/l. Ecocardiograma transesofágico evidenciou vegetação em prótese mitral com insuficiência valvar importante. Na primeira semana de internação, fez diagnóstico sorológico de endocardite por *Coxiella burnetii* e recebeu tratamento com doxiciclina 100 mg VO e ciprofloxacino 400 mg IV 12/12h. Houve remissão da febre e melhora do estado geral; foi submetida à cirurgia de troca de valva mitral na mesma internação. Não foram identificados micro-organismos no exame histológico da valva cardíaca. Após alta, recebeu doxiciclina 100 mg VO e ciprofloxacino 500 mg VO 12/12h por quatro anos com recuperação do peso e regressão completa da esplenomegalia. Foi realizado controle sorológico no quarto ano de tratamento que mostrou queda nos títulos sorológicos de IgG antifase I para *Coxiella burnetii* de 25.600 para 3.200.

Paciente 14: masculino, 64 anos, natural e procedente de Sete Barras (SP), procurou pronto atendimento com queixa de febre há três meses, edema generalizado e dispneia progressiva até médios esforços. Era proveniente de

área rural e trabalhava como criador de pequeno rebanho de gado leiteiro, consumia leite cru e derivados eventualmente. Ao exame, apresentava baço palpável até 15 cm do rebordo costal esquerdo. História pregressa de doença reumática valvar crônica e troca de valva aórtica por prótese biológica há 18 meses. Exames séricos à admissão: proteína C reativa 96 mg/l, hemoglobina 8,9 g/dl, AST 10 U/l, ALT 7 U/l, albumina 3g/dl, creatinina 2,1 mg/dl e fração gama na eletroforese de proteínas de 2,6 g/dl. Ecocardiograma evidenciou vegetação em prótese valvar aórtica e insuficiência moderada. Iniciou tratamento empírico para endocardite com oxacilina 2g IV 4/4h e ampicilina 2g IV 4/4h. Após cinco dias, teve diagnóstico sorológico de endocardite por *Coxiella burnetii* e o esquema antibiótico foi substituído por doxiciclina 100 mg VO e ciprofloxacino 400 mg IV 12/12h. Houve remissão da febre e melhora clínica. Recebeu alta e manteve tratamento com doxiciclina 100 mg VO e ciprofloxacino 500 mg VO 12/12h por quatro anos sem recrudescência do quadro infeccioso. Controle sorológico realizado no quarto ano de tratamento mostrou queda de títulos de IgG antifase I para *Coxiella burnetii* de 51.200 para 12.800. Cerca de um ano após o término do tratamento para endocardite, foi novamente internado por insuficiência cardíaca descompensada e submetido à cirurgia para troca de valva aórtica. Faleceu no pós-operatório por choque cardiogênico associado à pneumonia hospitalar. O exame histológico da valva removida cirurgicamente não evidenciou sinais de endocardite.

No presente estudo, a frequência de endocardites com culturas negativas foi de 22,5% (IC95%: 17,2 – 28,5). Frequências mais elevadas de endocardites com culturas negativas foram descritas na Argélia (56%)⁹, África do Sul (55%)¹⁸, Paquistão (48%)¹⁵ e Eslováquia (39%)¹¹. Entretanto, estudos em países como Itália, Japão, Suécia, França, Reino Unido e Espanha revelaram frequências mais baixas deste grupo de endocardites (12% a 25%^{10,13,14,16,17}). No Brasil, trabalhos pioneiros com grandes casuísticas de endocardite realizados no InCor HC-FMUSP em São Paulo registraram frequência de pacientes com culturas negativas de 13,8% a 17,3%^{98,113}. Embora com número menor de pacientes, outras publicações brasileiras mostraram frequência de 40,3% (75/186) de endocardites com culturas negativas no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná em Curitiba¹¹⁴ e de 39,3% (66/168) no Hospital Universitário de Ribeirão Preto¹¹⁵.

A variação na proporção de casos com culturas negativas entre nossa casuística e aquela encontrada em outros países pode-se dever aos seguintes fatores:

- Frequência de pacientes que utilizaram antibiótico antecedendo a coleta das hemoculturas.
- Técnica microbiológica empregada.
- Prevalência regional de micro-organismos que não são identificados por hemocultura, como *Coxiella burnetii*, *Bartonella* spp. ou outras endemias.

O uso de antibióticos antes da coleta de hemoculturas tem elevado potencial de inibir o crescimento bacteriano e tornar as hemoculturas falsamente negativas. Um estudo³⁵ com endocardite estreptocócica na década de 1960 constatou que a administração prévia de antibióticos reduziu a incidência de hemoculturas positivas de 97% para 91% ($p < 0,02$). Quase a metade (47%) dos pacientes com endocardite e culturas negativas

incluídos nesta coorte recebeu algum agente antibiótico antes da coleta de hemoculturas. Casuísticas de endocardites com culturas negativas de outros países reportam proporção semelhante de pacientes com uso prévio de antibiótico (ex: Espanha: 40%¹⁹, Suécia: 48%¹²⁰ e Paquistão: 52%¹⁵). Pode-se afirmar que esta prática se dá com maior frequência em pacientes com culturas negativas do que naqueles com hemoculturas positivas^{116,117}. Após o uso de antibióticos, podem ser necessárias semanas desde a sua interrupção para que novas hemoculturas tornem-se positivas³⁵.

Em nossa casuística, a mediana de tempo de tratamento com antibiótico até a coleta das hemoculturas foi de sete dias, sendo que, em 52% dos casos, este foi administrado por via endovenosa. Desta forma, a prática de coleta de hemoculturas após o início de tratamento com antibiótico pareceu ser o principal fator para a ocorrência de culturas negativas em nosso estudo. Suas causas, talvez, sejam múltiplas, mas provavelmente estão associadas à não suspeição de endocardite por parte dos médicos que prestaram os primeiros atendimentos aos pacientes com sintomas iniciais da doença. A maioria destas prescrições (79%) ocorreu em serviços de saúde externos à nossa Instituição. Posteriormente, estes pacientes foram encaminhados ou espontaneamente procuraram atendimento no InCor HC-FMUSP.

Este estudo desenvolveu-se em período anterior à resolução da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, que proíbe a venda de antibióticos em farmácias sem receita médica¹¹⁸; porém, somente um paciente recebeu antibiótico por meio de automedicação. Deve-se destacar que o desenho prospectivo da investigação aqui realizada permite melhor confiabilidade na informação quanto ao uso de antibióticos antecedendo a admissão hospitalar, dado que pode ser de difícil obtenção em casuísticas retrospectivas de endocardite, subestimando sua ocorrência.

Além do uso de antibióticos antecedendo a coleta de sangue, a sensibilidade das hemoculturas em pacientes com suspeita de endocardite está associada ao número de hemoculturas coletadas e à técnica utilizada.

Estudo prévio em pacientes com endocardite com cultura positiva verificou que duas amostras de hemoculturas são capazes de diagnosticar 78% dos casos positivos e quatro amostras são capazes de reconhecer 90% deles¹¹⁹. As amostras de sangue obtidas neste trabalho foram coletadas com volume e número em conformidade com recomendações internacionais^{32,55}. Técnicas de hemocultivo manuais apresentam menor sensibilidade e maior risco de contaminação das amostras quando comparadas aos métodos automatizados¹²⁰. Assim, a frequência de hemoculturas positivas observada no presente estudo pode diferir de outros trabalhos realizados com casuísticas de décadas passadas ou daquelas originadas de hospitais que ainda utilizam métodos manuais de cultivo.

A relevância da infecção por *Bartonella* spp. e *Coxiella burnetii* entre as endocardites com culturas negativas será discutida a seguir.

5.1 Investigação microbiológica da vegetação valvar cardíaca

A capacidade de identificação do agente etiológico da endocardite por cultivo da vegetação removida cirurgicamente foi inferior àquela obtida por hemocultura. Estes dados são concordantes a estudo prévio com 300 episódios de endocardite realizado em nossa Instituição, onde o cultivo da vegetação valvar cardíaca foi capaz de identificar a etiologia em apenas 15% dos casos¹¹³. Dois estudos prévios procuraram determinar a acurácia deste tipo de cultura para diagnóstico de endocardite entre pacientes submetidos à cirurgia valvar cardíaca. A sensibilidade/especificidade encontrada nestes estudos foi 13%/98%¹²¹ e 25%/72%¹²², respectivamente. A baixa sensibilidade deve-se, principalmente, ao fato de que a maioria dos pacientes com endocardite encontrava-se em tratamento com antibióticos no momento da cirurgia cardíaca^{123,124}. Para Morris *et al.*¹²⁴, pacientes com endocardite operados antes de completar 25% do tempo proposto para a terapia antibiótica tiveram maior positividade no cultivo da vegetação.

Quando tratados apenas os casos de endocardite com hemoculturas

negativas, poucos estudos avaliaram o impacto da cultura, citologia e histologia da vegetação valvar no diagnóstico etiológico destas infecções^{117,121,124,125}. Ao serem analisados tais estudos, os resultados de cultura encontrados não foram homogêneos, com taxas de positividade de 8% a 29%. Estas variações podem ser justificadas de acordo com a técnica de cultivo empregada, a proporção de pacientes que foram operados mais precocemente (receberam menos dias de antibióticos) e as diferenças na rotina de encaminhamento, processamento e cultivo das amostras.

Em nosso estudo não se notou crescimento bacteriano nas 22 amostras de vegetação valvar cultivadas de pacientes com hemoculturas negativas. Talvez, a modificação de algumas rotinas em nossa Instituição possa aumentar sua sensibilidade, como o rápido encaminhamento das amostras coletadas no centro cirúrgico para o laboratório de microbiologia e o uso de meio enriquecido (tioglicolato) para transporte das amostras.

Além da baixa sensibilidade no cultivo da vegetação, outra questão a ser considerada é a possibilidade de contaminação das amostras de vegetações valvares desde o seu manuseio na sala cirúrgica até seu processamento no laboratório de microbiologia. Estudos prévios apontam que 7% a 23% das amostras de vegetação valvar cultivadas de pacientes submetidos à cirurgia cardíaca podem resultar em falsos positivos^{121,122,126}. Em nossa observação, 50% dos micro-organismos identificados foram considerados contaminantes.

A visibilização direta de micro-organismos nos esfregaços a fresco de biópsia de vegetação corados pelo Gram também tiveram baixa positividade (17% de todas as amostras analisadas e apenas 10% quando restritos aos casos com hemoculturas negativas). Outros autores verificaram sensibilidade de 30% da coloração de Gram em esfregaços de vegetação valvar provenientes de pacientes com hemoculturas positivas. Surpreendentemente, Morris *et al.*¹²⁴ atingiram taxa de positividade de 60% por meio do mesmo método em pacientes com endocardite com culturas negativas. A sensibilidade do Gram pode sofrer influência da forma como o

material é processado (maceração ou corte e impressão na lâmina) ou do tempo e dedicação para exame das lâminas coradas, mais criterioso em estudos prospectivos que nas análises da rotina.

No presente estudo, os métodos histopatológicos possibilitaram a detecção de micro-organismos em 91% das amostras de vegetação valvar de pacientes com endocardite com culturas negativas. Este percentual foi superior ao observado por outros autores (15% a 71%)^{117,124,125}. A inclusão geralmente total da lesão para o estudo tecidual, o uso de múltiplas colorações histoquímicas e a cuidadosa revisão por patologista experiente poderiam explicar os resultados superiores aqui relatados em comparação com outros estudos de natureza retrospectiva. O exame histopatológico apresenta a vantagem adicional de corroborar para o diagnóstico de endocardite ao verificar a presença do processo inflamatório no tecido valvar relacionado ao parasito. Isso é particularmente interessante nas endocardites com culturas negativas, quando outros dados clínicos, laboratoriais e ecocardiográficos não foram suficientes para a conclusão do diagnóstico¹²⁷. Além disso, estes pacientes podem ser beneficiados pelo ajuste do tratamento antibiótico, conforme a identificação morfológica do agente etiológico (coco Gram-positivo, bacilo Gram-negativo ou fungo).

Diante destes resultados, nos casos de endocardite com hemoculturas negativas submetidos a tratamento cirúrgico, sugere-se priorizar o exame histológico ao cultivo do fragmento de tecido valvar, especialmente quando há escassez de material biológico.

5.2 Endocardite por *Bartonella* spp. e *Coxiella burnetii*

O estudo aqui realizado revelou de forma pioneira, em estudo prospectivo com investigação sistemática, que quase um terço (27,5%) das endocardites com culturas negativas em nosso meio tem como etiologia *Bartonella* spp. (19,6%) ou *Coxiella burnetii* (7,8%). Ao se comparar a frequência destes micro-organismos entre casuísticas de endocardites com

culturas negativas em diferentes países, percebe-se nítida variação de ocorrência^{9,12,16,22,23}. Na França²², episódios de endocardites com culturas negativas investigados sistematicamente com sorologia, biologia molecular e imuno-histoquímica apontaram frequência de 12,4% de infecção por *Bartonella* spp. e 37% de infecção por *Coxiella burnetii*. Diferentemente, um estudo realizado na Tunísia²³ verificou elevada ocorrência de infecção por *Bartonella* spp. (32,5%) e somente 2,5% de infecção por *Coxiella burnetii* entre endocardites com culturas negativas. Um outro estudo realizado na Suécia¹⁶ não observou infecção por *Bartonella* spp. dentre 71 casos de endocardite com culturas negativas investigados.

Além da variação regional dos níveis endêmicos de *Bartonella* spp. e *Coxiella burnetii*, a sensibilidade dos métodos empregados na detecção destes micro-organismos também pode contribuir para frequências tão díspares. No estudo francês²² com 749 casos de endocardite com culturas negativas, a sorologia foi a técnica de maior utilidade, reconhecendo o diagnóstico de 47% dos casos (sendo 10% *Bartonella* spp. e 37% *Coxiella burnetii*). Estes autores verificaram que PCR/sequenciamento aplicado diretamente à vegetação valvar ou após sua passagem por cultura celular foi capaz de detectar a etiologia de 66% dos casos. Contudo, sua aplicação em sangue periférico teve sensibilidade de apenas 14%.

Outro fator que pode influenciar a frequência de infecção por *Bartonella* spp. e *Coxiella burnetii* entre as endocardites com culturas negativas é a forma de seleção da casuística. Ao se tomar como exemplo este mesmo estudo Francês, por ser um laboratório de referência em riquetsioses, pode-se supor que as amostras recebidas tenham sido selecionadas na sua origem e superestimem a frequência destes micro-organismos naquele país.

No Brasil, os primeiros relatos de casos autóctones de endocardite por *Bartonella* spp. e *Coxiella burnetii* foram publicados em 2006⁸⁵ e fazem parte desta casuística. No Rio de Janeiro, uma série retrospectiva⁸³ investigou a etiologia de 51 pacientes com endocardite com culturas

negativas submetidos a tratamento cirúrgico por técnica de PCR em vegetação valvar e encontrou dois casos de infecção por *Bartonella* spp. (4%) e um por *Coxiella burnetii* (2%). Outra série⁸⁶ de 46 pacientes com endocardites com culturas negativas oriundos de hospitais de São Paulo foram investigados por PCR para *Bartonella* spp. em sangue periférico e foram diagnosticados 13 casos (28%). Estes estudos reforçam a importância da infecção por *Bartonella* spp. e *Coxiella burnetii* entre as endocardites com culturas negativas no Brasil.

Na prática clínica, o reconhecimento de fatores de risco para estes micro-organismos poderia direcionar a investigação das endocardites com culturas negativas. Neste estudo, encontrou-se uma associação entre endocardite causada por *Bartonella* spp. e a mera presença de gato no domicílio do paciente. Um estudo¹²⁸ francês revelou associação entre endocardite causada por *Bartonella henselae* e arranhadura/mordedura de gato e/ou contato com pulgas de gato. Já endocardite por *Bartonella quintana* associou-se à população em situação de rua, alcoolismo ou infestação por piolhos.

Outra evidência de infecção por *Bartonella* spp. foi a identificação de bactérias com forma cocobacilar Gram-negativo no exame histológico da vegetação valvar cardíaca. Estudos com casuísticas de endocardite por *Bartonella* spp. não fazem menção precisa da sensibilidade do exame histológico para a identificação morfológica deste micro-organismo¹²⁸⁻¹³⁰. A detecção microscópica em tecido de cocobacilos ou bacilos pleiomórficos também foi verificada em outras formas clínicas de bartonelose, por exemplo, doença da arranhadura do gato, porém com baixa positividade¹³¹⁻¹³³. É possível que a maior concentração de micro-organismos na vegetação valvar possa facilitar sua visibilização histológica em comparação com estudos em biópsias de linfonodo na doença da arranhadura do gato. Para maior sensibilidade, recomenda-se a coloração da prata (Warthin-Starry)¹³⁴; porém, esta é uma reação mais dispendiosa e de difícil interpretação uma vez que o fundo de prata que se precipita em tecido necrótico e nos macrófagos pode resultar em falso-positivo¹³². A caracterização morfológica

do micro-organismo como cocobacilo pode ser difícil e exige atenção do patologista para este aspecto histológico. Isso se deve ao fato de a *Bartonella* spp. ter dimensão menor que bactérias usuais (ex. *S. aureus*, *Streptococcus* spp.) e que cocobacilos quando seccionados transversalmente em lâminas histológicas podem simular cocos. Em nosso estudo, a revisão histológica reclassificou três casos de cocos para cocobacilos. Dentre os cocobacilos Gram-negativos que classicamente causam endocardite, destaca-se o grupo HACEK. Trata-se de um grupo de bactérias que causam endocardite de origem comunitária com prevalência atualmente estimada de 1%-5%^{8,135-137}, semelhante ao encontrado neste estudo. Embora no passado tenha sido apontado como causa de endocardites com culturas negativas dado seu crescimento lento em hemoculturas manuais, atualmente são identificados com mais facilidade por hemoculturas automatizadas. Estudos recentes^{138,139} mostram que o fato de prolongar o tempo de incubação das hemoculturas automatizadas além do habitual (cinco dias) não aumenta a capacidade de identificação deste grupo de bactérias. Outros micro-organismos patogênicos que têm morfologia de cocobacilos raramente causam endocardite. Dentre eles, os Gram-negativos mais comuns são: *Pasteurella* spp., *Brucella* spp., *Bordetella* spp., *Francisella* spp., *Moraxella* spp. e os Gram-positivos: *Listeria* spp., *Erysipelothrix* spp., *Corynebacterium* spp. e *Rhodococcus* spp.

Em relação à *Coxiella burnetii*, este estudo descreveu apenas quatro pacientes com tal infecção e não foi possível análise de fatores associados. Todos apresentavam evidência de valvopatia cardíaca preexistente, eram originários de zona rural, tinham contato com animais de fazenda e consumiam leite cru. Um estudo retrospectivo¹⁴⁰ com 302 pacientes com diagnóstico de “febre Q” nos Estados Unidos verificou que valvopatia cardíaca preexistente foi muito mais frequente entre os 102 pacientes que tiveram endocardite como apresentação clínica da doença (93% vs. 3%). Outros estudos constataram uma correlação epidemiológica entre pacientes com infecção por *Coxiella burnetii* e a atividade pecuária, vida rural ou consumo de leite não pasteurizado^{77,141}. Entretanto, foram observados

surtos urbanos de infecção por *Coxiella burnetii* a partir da dispersão pelo vento de poeira contaminada por quilômetros de distância¹⁴²⁻¹⁴⁵.

5.3 Apresentação clínica das endocardites com culturas negativas

Em nosso estudo, embora a presença de febre à admissão não tenha diferido entre os grupos, outros autores^{17,19,21} notaram que pacientes com endocardites com culturas negativas apresentam menor frequência de febre à admissão. Por outro lado, verificaram-se valores menores da proteína C reativa nas endocardites com culturas negativas. Uma possível explicação para isso seria o fato de que o processo inflamatório sistêmico possa ser menos intenso nesse grupo de pacientes, talvez devido à maior prevalência de micro-organismos de crescimento lento ou de curso clínico modificado pelo uso prévio de antibióticos.

Não foram encontradas diferenças entre as endocardites com culturas negativas e positivas quanto às complicações cardíacas ou sistêmicas de endocardite. De acordo com outros autores, houve menor frequência de complicações, como embolia¹⁴⁶ e abscesso perivalvar^{17,21,146,147} nas endocardites com culturas negativas.

Notou-se maior frequência de dispneia e Feve mais baixas à admissão nos pacientes com endocardites com culturas negativas. Outros três estudos encontraram maior frequência de sinais de insuficiência cardíaca à admissão nos pacientes com endocardite com culturas negativas quando comparadas àqueles com cultura positiva^{17,19,21}. A disfunção do miocárdio associada à sepse poderia justificar uma redução transitória na Feve, mas a proporção de sepse grave não diferiu entre os grupos.

Interessante destacar que a infecção por *Bartonella* spp. esteve particularmente associada com redução da Feve no grupo com culturas negativas. Por exemplo, dentre os cinco pacientes com endocardite com culturas negativas que apresentaram “nova Feve \leq 45%”, quatro apresentavam infecção por *Bartonella* spp. Miocardite aguda, arritmias

malignas e cardiomiopatia crônica têm sido associadas com infecção por *Bartonella* spp. em humanos¹⁴⁸⁻¹⁵⁶, bem como nos seus reservatórios (gatos e cães)¹⁵⁷⁻¹⁶². Uma série de 71 casos de endocardite em cães verificou que a infecção por *Bartonella* spp. esteve associada com maior frequência de insuficiência cardíaca congestiva quando comparada com outras etiologias¹⁶¹.

É de nosso conhecimento dois estudos com casuísticas maiores de endocardite por *Bartonella* spp., porém a ocorrência de insuficiência cardíaca congestiva ou alteração da Feve não foram avaliadas¹²⁸⁻¹³⁰. Redução da Feve abaixo de 40% foi observada em dois casos relatados de endocardite por *Bartonella* spp. em humanos^{150,154}. Em um deles¹⁵⁴ houve documentação de elevação de troponina sugerindo miocardite associada à endocardite; contudo, não foi realizada necrópsia ou biópsia do miocárdio para comprovação. Pelo menos cinco outros casos de miocardite associada à *Bartonella* spp. em humanos foram descritos, porém sem endocardite associada^{151,152,155}.

5.4 Prognóstico e fatores de risco para óbito nas endocardites com culturas negativas

Nas endocardites, a demora para identificação do micro-organismo ou o resultado negativo das hemoculturas pode, de alguma forma, retardar a introdução de antibiótico e/ou impossibilitar um tratamento específico. Com isso, embora se possa supor pior prognóstico entre as endocardites com culturas negativas, este estudo não verificou diferença na letalidade hospitalar ou na sobrevida em longo prazo entre os grupos. Nos últimos 20 anos, foram encontrados sete estudos^{15,17,19,21,146,147,163} que compararam a letalidade intra-hospitalar das endocardites com culturas negativas e positiva. Apenas um deles¹⁴⁷ encontrou diferença entre os grupos, com maior sobrevida dos pacientes com culturas negativas. Todavia, neste estudo apenas 25% dos casos com culturas negativas foram classificados

como endocardite “definida”, segundo os critérios de Duke modificados³¹, enquanto 85% dos casos com cultura positiva obedeceram a este critério. No presente estudo, restringiu-se a análise àqueles com endocardite classificada como “definida”.

Outros autores²⁰ avaliaram a sobrevida em longo prazo entre pacientes com culturas positivas e negativas, mas se restringiram a casos de endocardite submetidos a tratamento cirúrgico da valva cardíaca. Segundo este estudo, os pacientes com endocardites com culturas negativas tiveram pior sobrevida tardia quando comparados àqueles com micro-organismo identificado por cultura.

No presente estudo, a realização sistemática de sorologia nas endocardites com culturas negativas permitiu diagnóstico e tratamento específico de infecções por *Bartonella* spp. e *Coxiella burnetii*, o que pode ter influenciado positivamente a sobrevida dos pacientes com culturas negativas. O tratamento empírico habitualmente recomendado por guias internacionais^{32,55,56} para endocardites com culturas negativas não contempla infecção por *Coxiella burnetii* e pode ser menos eficaz nas infecções por *Bartonella* spp. O tratamento de *Coxiella burnetii* requer terapia prolongada (até quatro anos) com antibióticos com atividade para micro-organismos intracelulares (ex: doxiciclina e hidroxicloroquina)^{164,165}.

Nas infecções por *Bartonella* spp., os aminoglicosídeos são um dos poucos antibióticos com atividade bactericida e já foi relatado que seu uso por tempo menor que 14 dias associa-se com maior letalidade¹²⁹. Neste estudo, à luz do resultado da sorologia, a maior parte dos pacientes com endocardite por *Bartonella* spp. recebeu associação de aminoglicosídeo com beta-lactâmico por pelo menos 14 dias. Os pacientes com infecção por *Coxiella burnetii* receberam quatro anos da associação de ciprofloxacino e doxiciclina.

A presença de *diabetes mellitus* e a ocorrência de sepse grave à admissão das endocardites com culturas negativas associaram-se independentemente ao óbito hospitalar. Estas duas condições clínicas já

foram descritas previamente como fatores de pior prognóstico nas infecções bacterianas, inclusive endocardite¹⁶⁶⁻¹⁷¹. Existem poucos trabalhos específicos sobre fatores relacionados a óbito nos pacientes com endocardite com culturas negativas. Estudo¹⁵ com 86 casos de endocardite com culturas negativas no Paquistão, em uma análise univariada, observou associação entre óbito hospitalar e as seguintes variáveis: endocardite “definida” segundo a classificação de Duke, presença de insuficiência cardíaca, insuficiência renal e embolia. Outros autores¹⁴⁷ encontraram maior letalidade hospitalar em pacientes com endocardites com culturas negativas que não receberam aminoglicosídeo como parte de esquema antibiótico empírico (3,5%) em comparação com os que receberam aminoglicosídeo associado a beta-lactâmico ou glicopeptídeo (13%). Em nosso estudo, não houve diferença na letalidade hospitalar com ou sem uso de aminoglicosídeo como parte do esquema terapêutico com antibiótico.

5.5 Limitações do estudo

A casuística relativamente pequena de endocardite por *Bartonella* spp. e *Coxiella burnetii* limitou a análise estatística dos fatores associados a estas infecções.

A interpretação clínica da observação de maior ocorrência de dispneia e redução da Fave no grupo com culturas negativas foi limitada, uma vez que não foram avaliados sinais e sintomas suficientes para o diagnóstico de insuficiência cardíaca congestiva.

Deve-se também ressaltar que a sensibilidade dos critérios de Duke pode ser reduzida quando as culturas forem negativas. Uma revisão dos valores individuais de cada componente dos critérios de Duke mostrou que os critérios microbiológicos tiveram a maior importância relativa para o diagnóstico de endocardite¹⁷². Neste estudo foram avaliados 67 casos de endocardite com confirmação histológica e observou-se que 53% dos casos caracterizados como diagnóstico “definitivo”, mediante os critérios de Duke,

tornaram-se “possível” ou “rejeitado” quando os critérios maiores microbiológicos foram subtraídos. Assim, casos com hemoculturas negativas classificados como endocardite “possível”, e portanto excluídos deste estudo, podem, na realidade, tratar-se de endocardite^{15,33,173}.

- a. *Bartonella* spp. e *Coxiella burnetii* foram as etiologias de quase um terço (27,5%) das endocardites com culturas negativas de origem comunitária.
- b. A presença de gato no domicílio, Feve \leq 45% e a identificação de cocobacilo Gram-negativo no exame histológico da valva cardíaca em pacientes com endocardite com culturas negativas parecem estar associadas à infecção por *Bartonella* spp.
- c. Em comparação com as endocardites com cultura positiva, aquelas com culturas negativas necessitaram de maior tempo para início de tratamento antibiótico adequado desde a internação e apresentaram maior frequência de dispnéia à admissão, assim como valores mais baixos de Feve e de proteína C reativa sérica.
- d. O exame histológico da valva cardíaca permitiu identificar a morfologia do micro-organismo que causou a endocardite na maioria dos casos, inclusive quando as hemoculturas estavam negativas.
- e. Não se encontrou diferença na letalidade intra-hospitalar e na sobrevivência em longo prazo entre as endocardites com culturas negativas e positivas.
- f. A presença de *diabetes mellitus* (RP=2,32) ou sepse grave (RP=3,32) à admissão associou-se ao óbito hospitalar nas endocardites com culturas negativas.

Anexo A Exemplo de ficha de coleta de dados clínicos, laboratoriais e ecocardiográficos

Identificação: |_|_|_|_|_|

Nº de registro do paciente: _____

Nome do paciente: _____

Sexo: 1. Masculino 2. Feminino

Data de nascimento: ____/____/____

Telefones: _____ / _____
 _____ / _____

COMORBIDADES	SIM	NÃO	
Apresentou comorbidades?	1	2	
Hipertensão	1	2	
<i>Diabetes mellitus</i>	1	2	
Dx de ICC prévia	1	2	
IRC não dialítica	1	2	
IRC dialítica	1	2	
DPOC	1	2	
Outra Qual? _____	1	2	
Peso	_____ kg		
Altura	_____ m		

PREDISPOSIÇÃO	SIM	NÃO	IGNORADO	
Valvopatia prévia conhecida?	1	2		
Doença reumática?	1	2	9	
Valvopatia degenerativa?	1	2		
Tipo de valvopatia degenerativa	_____			
Prótese	1	2	9	
Tipo de prótese (1=biológica 2=metálica 9=Ign 0=não se aplica)	1	2	9	0
Data do implante da prótese	___/___/___			
Prolapso mitral	1	2		
Cardiopatia congênita	1	2		
Tipo de cardiopatia congênita	_____			
Uso de drogas injetáveis	1	2		
Endocardite prévia	1	2		
Data da última endocardite	___/___/___			
Número de endocardites prévias	_____			
Este caso é uma recidiva?	1	2	0	
Outra predisposição? Qual? _____	1	2		

MICROBIOLOGIA	SIM	NÃO		
Cultura positiva?	1	2		
Micro-organismo	_____			
HMC + ?	1	2		
Número de HMC + ?	_____			
Número de HMC colhidas	_____			
Vegetação foi positiva?	1	2	0	
Micro-organismo isolado na vegetação	_____			

ENDOCARDITE			
Data da internação	___/___/___		
Data do diagnóstico	___/___/___		
Data do primeiro sintoma	___/___/___		
Petéquias?	1	2	
Dispneia?	1	2	
Data do início da dispneia	___/___/___		
Febre?	1	2	
Data do primeiro dia de febre	___/___/___		
PCR mais próximo do DX	_____mg/dl		
Data do PCR	___/___/___		

ECOCÁRDIO AO DIAGNÓSTICO	SIM	NÃO	IGNORADO	NÃO SE APLICA
Eco transesofágico?	1	2		
Data do eco	___/___/___			
Fração de ejeção _____ %				
Grau de insuf. valvar 1=ausente 2=leve 3=moderado 4=grave 9=ign				
Grau de insuf. AÓRTICA	1	2	3	4 9
Grau de insuf. MITRAL	1	2	3	4 9
Grau de insuf. TRICÚSPIDE	1	2	3	4 9
Grau de insuf. PULMONAR	1	2	3	4 9
Vegetação?	1	2	9	
Aórtica	1	2	0	
Mitral	1	2	0	
Tricúspide	1	2	0	
Pulmonar	1	2	0	
Mais de uma valva com vegetação?	1	2	0	
Tamanho da maior vegetação	_____mm			
Escape periprotético?	1	2	9	0
Abscesso?	1	2	9	
Fístula?	1	2	9	

COMPLICAÇÕES				
	SIM	NÃO	NÃO SE APLICA	
Embolia	1	2		
Data da primeira embolia	____/____/____			
SNC	1	2	0	
Baço	1	2	0	
Fígado	1	2	0	
Rins	1	2	0	
Outro sítio de embolia _____	1	2	0	
Glomerulonefrite	1	2		
Sepse	1	2		
Pior grau de sepsis (1=sepsis 2=grave 3=choque 0 não se aplica)	1	2	3	0
Creatinina ao diagnóstico	_____			
Creatinina na alta	_____			
Maior creatinina na internação	_____			
Necessidade de diálise	1	2	9	
Disritmia cardíaca?	1	2	9	
Tipo de disritmia	_____			
Bloqueio ao ECG?	1	2	9	
Maior grau do bloqueio	1ºGrau	2ºGrau	3ºGrau	Não se aplica
	1	2	3	0

Tempo de antibiótico total	_____ dias		
Uso de aminoglicosídeos?	1	2	9
Tempo de uso de aminoglicosídeos	_____ dias		
ATB	_____ _____ _____ _____		
Infecção hospitalar durante internação?	1	2	9
Número de infecções hospitalares	_____		

DESFECHO	SIM	NÃO	NÃO SE APLICA
Óbito?	1	2	
Data do óbito?	___/___/___		
Data da alta	___/___/___		
Data da última consulta/exame	___/___/___		
Nova endocardite após esta?	1	2	
Número de novas endocardites	_____		
Data da primeira recidiva/reinfecção	___/___/___		

TRATAMENTO CIRÚRGICO	SIM	NÃO	NÃO SE APLICA
Necessidade de cirurgia cardíaca?	1	2	
Data da primeira cirurgia	___/___/___		
Necessidade de troca valvar?	1	2	0

HISTOLOGIA			
	SIM	NÃO	
Micro-organismo identificado?	1	2	
Tipo micro-organismo	_____ bactérias (coco, bacilo, cocobacilo, filamentos ou fungos)		

EPIDEMIOLOGIA	SIM	NÃO	IGNORADO	NÃO SE APLICA
Zona rural?	1	2	9	0
Gato no domicílio	1	2	9	0
Mordedura de gato há seis meses	1	2	9	0
Arranhadura de gato há seis meses	1	2	9	0
Leite cru	1	2	9	0
Gado	1	2	9	0
Morador de rua	1	2	9	0
Ectoparasitas há um ano	1	2	9	0

SOROLOGIA

Sorologia colhida?	1	2	0	
Data da sorologia	____/____/____			
Sorologia positiva?	1	2	9	0
<i>Coxiella burnetii</i> > 800?	1	2	9	0
Título <i>Coxiella</i> anti phase 1	_____			
<i>Bartonella henselae</i> ≥ 800?	1	2	9	0
Título <i>Bartonella henselae</i>	_____			
<i>Bartonella quintana</i> ≥ 800?	1	2	9	0
Título <i>Bartonella quintana</i>	_____			

Anexo B Principais características clínicas e laboratoriais dos pacientes com endocardite comunitária com culturas negativas – InCor HC-FMUSP (São Paulo) – 2004 a 2009

Prontuário	Nome	Idade	Sexo	Valva		Sorologia		Antibiótico		Complicações				
				Prótese	Esquerda	<i>C. burnetii</i>	<i>Bartonella spp.</i>	Uso de aminoglicosídeo	Sepse grave	Cirurgia valvar	Embolia	Abscesso	Obito hosp.	
55432160C	FBL	34	M	N	S	N	N	N	S	N	N	N	N	N
55373367J	AFS	66	M	N	S	N	N	N	S	N	S	S	N	N
55457845E	CFP	22	M	N	S	S	N	N	N	N	N	N	N	S
5158854H	LCAF	55	F	S	S	N	N	S	S	N	S	N	N	S
55459390E	RCR	51	M	S	N	N	S	S	N	S	N	N	N	N
5280053A	CAC	56	M	N	S	N	S	S	S	N	S	N	S	S
5001978K	ABS	53	M	N	N	N	S	S	N	N	N	N	N	S
5278600E	JNSS	23	M	S	S	S	N	S	S	N	S	N	N	N
2064444F	PSF	27	M	S	S	S	N	S	N	S	N	N	N	N
2921280D	MAS	57	M	N	S	N	S	S	N	S	N	S	N	N
55381432B	CSS	69	M	N	S	N	N	N	S	N	S	S	S	N
2273558B	OS	27	M	N	S	N	N	S	S	N	S	N	N	N
5229762F	MC	39	M	N	S	N	N	N	N	N	N	N	N	N
5085388H	ACS	19	F	S	S	N	N	S	N	N	N	N	N	N
44207058F	AM	85	F	N	S	N	N	S	N	N	N	N	N	N
55482863H	JSS	73	F	N	N	N	N	S	N	N	N	N	N	N
55468301H	ASA	22	M	S	S	N	N	S	S	N	S	S	N	N
5030062J	JLG	75	F	N	S	N	N	S	N	N	N	N	N	N
5366324E	MJS	81	M	S	S	N	N	S	N	S	S	S	S	N
5269081E	IF	43	F	N	S	N	N	S	N	N	S	N	N	N
5050179F	RA	50	M	S	S	N	N	S	N	S	N	N	N	S
13856152D	ASS	45	M	N	S	N	N	S	N	S	S	S	S	N
2127730C	MGA	85	M	S	S	N	N	S	S	S	N	N	N	N
55409010E	AB	58	F	N	S	N	N	S	N	S	N	S	N	N
55446217C	TAJP	74	F	S	S	N	N	S	N	S	S	S	S	N
13807798I	CPS	63	M	S	S	N	N	S	N	N	N	N	N	N
5087283G	RDF	30	M	S	S	N	N	S	N	N	S	N	N	N
2314369H	NA	18	M	N	S	N	N	S	S	S	N	S	S	S
13751899K	MCS	57	M	S	S	S	N	N	S	S	N	S	N	N
5230930D	ALB	68	F	S	S	N	N	S	N	N	N	N	N	N
5189504A	SMS	50	F	N	S	N	N	N	S	S	S	S	N	N
55455790I	JFM	53	M	N	S	N	S	S	N	N	S	N	N	N
5278410J	GBS	73	M	N	S	N	N	S	S	S	S	S	S	N
5118359C	JCF	22	F	S	S	N	N	S	S	S	S	S	S	S
55420980C	QMPL	91	F	S	S	N	N	S	N	N	N	N	N	N
55471030H	FFR	64	F	N	S	N	S	S	N	N	N	N	N	N
13705481D	DLC	27	M	N	S	N	N	S	N	S	S	N	N	S
55380737A	JMI	62	M	N	S	N	N	S	N	N	N	N	N	S
55477349I	MRB	44	M	N	N	N	N	S	N	S	N	N	N	N
3325101A	GSM	40	F	S	S	N	S	N	N	S	N	N	N	S
5363708F	DSA	62	F	N	S	N	N	N	S	S	S	S	N	S
5129038K	MIM	77	M	N	S	N	N	S	N	N	N	N	S	S
5227843F	AIOJ	71	M	S	S	N	N	S	S	S	S	S	S	N
5238868F	FRM	69	M	N	S	N	N	S	N	S	S	S	N	S
55444464D	FCO	49	M	N	S	N	N	S	N	N	N	S	S	S
55481676D	JAS	54	M	S	S	N	N	S	S	N	N	N	N	S
55402100F	PNF	26	M	S	N	N	N	N	N	S	N	N	N	N
5201321J	VAS	66	M	N	S	N	S	N	S	N	S	N	N	N
5298573F	WSS	61	F	S	S	N	N	N	N	S	N	N	N	N
55421107C	VAS	29	F	N	S	N	S	S	N	N	N	S	S	S
55436510D	VJG	68	M	S	S	N	N	S	N	N	S	S	S	N

- 1 Correa de Sa DD, Tleyjeh IM, Anavekar NS, Schultz JC, Thomas JM, Lahr BD, Bachuwar A, Pazdernik M, Steckelberg JM, Wilson WR, Baddour LM. Epidemiological trends of infective endocarditis: a population-based study in Olmsted County, Minnesota. *Mayo Clin Proc.* 2010;85(5):422-6.
- 2 Delahaye F, Goulet V, Lacassin F, Ecochard R, Selton-Suty C, Hoen B, Etienne J, Briancon S, Leport C. Characteristics of infective endocarditis in France in 1991. A 1-year survey. *Eur Heart J.* 1995;16(3):394-401.
- 3 Hoen B, Alla F, Selton-Suty C, Beguinot I, Bouvet A, Briancon S, Casalta JP, Danchin N, Delahaye F, Etienne J, Le Moing V, Leport C, Mainardi JL, Ruimy R, Vandenesch F. Changing profile of infective endocarditis: results of a 1-year survey in France. *JAMA.* 2002;288(1):75-81.
- 4 Tleyjeh IM, Abdel-Latif A, Rahbi H, Scott CG, Bailey KR, Steckelberg JM, Wilson WR, Baddour LM. A systematic review of population-based studies of infective endocarditis. *Chest.* 2007;132(3):1025-35.
- 5 Alves Meira ZM, de Castilho SR, Lins Barros MV, Maria Vitarelli A, Diniz Capanema F, Moreira NS, Moreira Camargos PA, Coelho Mota CC. Prevalence of rheumatic fever in children from a public high school in Belo Horizonte. *Arq Bras Cardiol.* 1995;65(4):331-4.
- 6 Muller RE. *Estudo longitudinal de pacientes portadores de cardiopatia reumática no Rio de Janeiro* [Dissertação]. Rio de Janeiro: FIOCRUZ; 2008.
- 7 Tibazarwa KB, Volmink JA, Mayosi BM. Incidence of acute rheumatic fever in the world: a systematic review of population-based studies. *Heart.* 2008;94(12):1534-40.

- 8 Tleyjeh IM, Steckelberg JM, Murad HS, Anavekar NS, Ghomrawi HM, Mirzoyev Z, Moustafa SE, Hoskin TL, Mandrekar JN, Wilson WR, Baddour LM. Temporal trends in infective endocarditis: a population-based study in Olmsted County, Minnesota. *JAMA*. 2005;293(24):3022-8.
- 9 Benslimani A, Fenollar F, Lepidi H, Raoult D. Bacterial zoonoses and infective endocarditis, Algeria. *Emerg Infect Dis*. 2005;11(2):216-24.
- 10 Cecchi E, Forno D, Imazio M, Migliardi A, Gnani R, Dal Conte I, Trincheri R. New trends in the epidemiological and clinical features of infective endocarditis: results of a multicenter prospective study. *Ital Heart J*. 2004;5(4):249-56.
- 11 Krcmery V, Gogova M, Ondrusova A, Buckova E, Doczeova A, Mrazova M, Hricak V, Fischer V, Marks P. Etiology and risk factors of 339 cases of infective endocarditis: report from a 10-year national prospective survey in the Slovak Republic. *J Chemother*. 2003;15(6):579-83.
- 12 Lamas CC, Eykyn SJ. Blood culture negative endocarditis: analysis of 63 cases presenting over 25 years. *Heart*. 2003;89(3):258-62.
- 13 Nakatani S, Mitsutake K, Hozumi T, Yoshikawa J, Akiyama M, Yoshida K, Ishizuka N, Nakamura K, Taniguchi Y, Yoshioka K, Kawazoe K, Akaishi M, Niwa K, Nakazawa M, Kitamura S, Miyatake K. Current characteristics of infective endocarditis in Japan: an analysis of 848 cases in 2000 and 2001. *Circ J*. 2003;67(11):901-5.
- 14 Raoult D, Casalta JP, Richet H, Khan M, Bernit E, Roveery C, Branger S, Gouriet F, Imbert G, Bothello E, Collart F, Habib G. Contribution of systematic serological testing in diagnosis of infective endocarditis. *J Clin Microbiol*. 2005;43(10):5238-42.

- 15 Siddiqui BK, Tariq M, Jadoon A, Alam M, Murtaza G, Abid B, Sethi MJ, Atiq M, Abrar S, Smego RA, Jr. Impact of prior antibiotic use in culture-negative endocarditis: review of 86 cases from southern Pakistan. *Int J Infect Dis.* 2009;13(5):606-12.
- 16 Werner M, Andersson R, Olaison L, Hogevik H. A clinical study of culture-negative endocarditis. *Medicine (Baltimore).* 2003;82(4):263-73.
- 17 Zamorano J, Sanz J, Almeria C, Rodrigo JL, Samedi M, Herrera D, Aubele A, Mataix L, Serra V, Moreno R, Sanchez-Harguindei L. Differences between endocarditis with true negative blood cultures and those with previous antibiotic treatment. *J Heart Valve Dis.* 2003;12(2):256-60.
- 18 Koegelenberg CF, Doubell AF, Orth H, Reuter H. Infective endocarditis in the Western Cape Province of South Africa: a three-year prospective study. *QJM.* 2003;96(3):217-25.
- 19 Ferrera C, Vilacosta I, Fernandez C, Lopez J, Olmos C, Sarria C, Revilla A, Vivas D, Saez C, Rodriguez E, San Roman JA. Reassessment of Blood Culture-Negative Endocarditis: Its Profile Is Similar to That of Blood Culture-Positive Endocarditis. *Rev Esp Cardiol.* 2012;65(10):891-900.
- 20 Murashita T, Sugiki H, Kamikubo Y, Yasuda K. Surgical results for active endocarditis with prosthetic valve replacement: impact of culture-negative endocarditis on early and late outcomes. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2004;26(6):1104-11.
- 21 Zamorano J, Sanz J, Moreno R, Almeria C, Rodrigo JL, Samedi M, Herrera D, Aubele A, Mataix L, Serra V, Sanchez-Harguindey L. Comparison of outcome in patients with culture-negative versus

- culture-positive active infective endocarditis. *Am J Cardiol.* 2001;87(12):1423-5.
- 22 Fournier PE, Thuny F, Richet H, Lepidi H, Casalta JP, Arzouni JP, Maurin M, Celard M, Mainardi JL, Caus T, Collart F, Habib G, Raoult D. Comprehensive diagnostic strategy for blood culture-negative endocarditis: a prospective study of 819 new cases. *Clin Infect Dis.* 2010;51(2):131-40.
- 23 Znazen A, Rolain JM, Hammami N, Kammoun S, Hammami A, Raoult D. High prevalence of *Bartonella quintana* endocarditis in Sfax, Tunisia. *Am J Trop Med Hyg.* 2005;72(5):503-7.
- 24 da Costa PS, Brigatte ME, Greco DB. Antibodies to *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia typhi*, *Coxiella burnetii*, *Bartonella henselae*, *Bartonella quintana*, and *Ehrlichia chaffeensis* among healthy population in Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2005;100(8):853-9.
- 25 Lamas CC, Mares-Guia MA, Rozental T, Moreira N, Favacho AR, Barreira J, Guterres A, Boia MN, de Lemos ER. *Bartonella* spp. infection in HIV positive individuals, their pets and ectoparasites in Rio de Janeiro, Brazil: serological and molecular study. *Acta Trop.* 2010;115(1-2):137-41.
- 26 Ribeiro-Netto A, Nikitin T, Ribeiro IF. Q Fever Study in S Ao Paulo. 3. Prevalence among Milkers and Dairy Farm Workers. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1964;6:255-7.
- 27 Riemann HP, Brant PC, Behymer DE, Franti CE. *Toxoplasma gondii* and *Coxiella burnetii* antibodies among Brazilian slaughterhouse employees. *Am J Epidemiol.* 1975;102(5):386-93.

- 28 Riemann HP, Brant PC, Franti CE, Reis R, Buchanan AM, Stormont C, Behymer DE. Antibodies to *Toxoplasma gondii* and *Coxiella burnetii* among students and other personnel in veterinary colleges in California and Brazil. *Am J Epidemiol.* 1974;100(3):197-208.
- 29 Beeson PB, Brannon ES, Warren JV. Observations on the Sites of Removal of Bacteria from the Blood in Patients with Bacterial Endocarditis. *J Exp Med.* 1945;81(1):9-23.
- 30 Durack DT, Lukes AS, Bright DK. New criteria for diagnosis of infective endocarditis: utilization of specific echocardiographic findings. Duke Endocarditis Service. *Am J Med.* 1994;96(3):200-9.
- 31 Li JS, Sexton DJ, Mick N, Nettles R, Fowler VG, Jr., Ryan T, Bashore T, Corey GR. Proposed modifications to the Duke criteria for the diagnosis of infective endocarditis. *Clin Infect Dis.* 2000;30(4):633-8.
- 32 Habib G, Hoen B, Tornos P, Thuny F, Prendergast B, Vilacosta I, Moreillon P, de Jesus Antunes M, Thilen U, Lekakis J, Lengyel M, Muller L, Naber CK, Nihoyannopoulos P, Moritz A, Zamorano JL. Guidelines on the prevention, diagnosis, and treatment of infective endocarditis (new version 2009): the Task Force on the Prevention, Diagnosis, and Treatment of Infective Endocarditis of the European Society of Cardiology (ESC). Endorsed by the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) and the International Society of Chemotherapy (ISC) for Infection and Cancer. *Eur Heart J.* 2009;30(19):2369-413.
- 33 Cecchi E, Parrini I, Chinaglia A, Pomari F, Brusasco G, Bobbio M, Trincherro R, Brusca A. New diagnostic criteria for infective endocarditis. A study of sensitivity and specificity. *Eur Heart J.* 1997;18(7):1149-56.

- 34 Madico GE, Rice PA. 16S-Ribosomal DNA to diagnose culture-negative endocarditis. *Curr Infect Dis Rep.* 2008;10(4):280-6.
- 35 Werner AS, Cobbs CG, Kaye D, Hook EW. Studies on the bacteremia of bacterial endocarditis. *JAMA.* 1967;202(3):199-203.
- 36 Werner M, Fournier PE, Andersson R, Hogevik H, Raoult D. Bartonella and Coxiella antibodies in 334 prospectively studied episodes of infective endocarditis in Sweden. *Scand J Infect Dis.* 2003;35(10):724-7.
- 37 Brouqui P, Raoult D. Endocarditis due to rare and fastidious bacteria. *Clin Microbiol Rev.* 2001;14(1):177-207.
- 38 Bosshard PP, Kronenberg A, Zbinden R, Ruef C, Bottger EC, Altwegg M. Etiologic diagnosis of infective endocarditis by broad-range polymerase chain reaction: a 3-year experience. *Clin Infect Dis.* 2003;37(2):167-72.
- 39 Breitkopf C, Hammel D, Scheld HH, Peters G, Becker K. Impact of a molecular approach to improve the microbiological diagnosis of infective heart valve endocarditis. *Circulation.* 2005;111(11):1415-21.
- 40 Millar B, Moore J, Mallon P, Xu J, Crowe M, McClurg R, Raoult D, Earle J, Hone R, Murphy P. Molecular diagnosis of infective endocarditis--a new Duke's criterion. *Scand J Infect Dis.* 2001;33(9):673-80.
- 41 Rothman RE, Majmudar MD, Kelen GD, Madico G, Gaydos CA, Walker T, Quinn TC. Detection of bacteremia in emergency department patients at risk for infective endocarditis using universal 16S rRNA primers in a decontaminated polymerase chain reaction assay. *J Infect Dis.* 2002;186(11):1677-81.

- 42 Miyazato A, Ohkusu K, Tabata M, Uwabe K, Kawamura T, Tachi Y, Ezaki T, Niinami H, Mitsutake K. Comparative molecular and microbiological diagnosis of 19 infective endocarditis cases in which causative microbes were identified by PCR-based DNA sequencing from the excised heart valves. *J Infect Chemother*. 2012;18(3):318-23.
- 43 Boussier R, Rogez S, Francois B, Denes E, Ploy MC, Garnier F. Two-step bacterial broad-range polymerase chain reaction analysis of heart valve tissue improves bacteriological diagnosis of infective endocarditis. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2013;75(3):240-4.
- 44 Grijalva M, Horvath R, Dendis M, Erny J, Benedik J. Molecular diagnosis of culture negative infective endocarditis: clinical validation in a group of surgically treated patients. *Heart*. 2003;89(3):263-8.
- 45 Marin M, Munoz P, Sanchez M, del Rosal M, Alcala L, Rodriguez-Creixems M, Bouza E. Molecular diagnosis of infective endocarditis by real-time broad-range polymerase chain reaction (PCR) and sequencing directly from heart valve tissue. *Medicine (Baltimore)*. 2007;86(4):195-202.
- 46 Podglajen I, Bellery F, Poyart C, Coudol P, Buu-Hoi A, Bruneval P, Mainardi JL. Comparative molecular and microbiologic diagnosis of bacterial endocarditis. *Emerg Infect Dis*. 2003;9(12):1543-7.
- 47 Vondracek M, Sartipy U, Aufwerber E, Julander I, Lindblom D, Westling K. 16S rDNA sequencing of valve tissue improves microbiological diagnosis in surgically treated patients with infective endocarditis. *J Infect*. 2011;62(6):472-8.
- 48 Branger S, Casalta JP, Habib G, Collard F, Raoult D. Streptococcus pneumoniae endocarditis: persistence of DNA on heart valve material 7 years after infectious episode. *J Clin Microbiol*. 2003;41(9):4435-7.

- 49 Lang S, Watkin RW, Lambert PA, Littler WA, Elliott TS. Detection of bacterial DNA in cardiac vegetations by PCR after the completion of antimicrobial treatment for endocarditis. *Clin Microbiol Infect.* 2004;10(6):579-81.
- 50 Rovey C, Greub G, Lepidi H, Casalta JP, Habib G, Collart F, Raoult D. PCR detection of bacteria on cardiac valves of patients with treated bacterial endocarditis. *J Clin Microbiol.* 2005;43(1):163-7.
- 51 Tierno PM, Jr., Inglima K, Parisi MT. Detection of Bartonella (Rochalimaea) henselae bacteremia using BacT/Alert blood culture system. *Am J Clin Pathol.* 1995;104(5):530-6.
- 52 Fournier PE, Mainardi JL, Raoult D. Value of microimmunofluorescence for diagnosis and follow-up of Bartonella endocarditis. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2002;9(4):795-801.
- 53 Dupont HT, Thirion X, Raoult D. Q fever serology: cutoff determination for microimmunofluorescence. *Clin Diagn Lab Immunol.* 1994;1(2):189-96.
- 54 Fournier PE, Casalta JP, Habib G, Messana T, Raoult D. Modification of the diagnostic criteria proposed by the Duke Endocarditis Service to permit improved diagnosis of Q fever endocarditis. *Am J Med.* 1996;100(6):629-33.
- 55 Gould FK, Denning DW, Elliott TS, Foweraker J, Perry JD, Prendergast BD, Sandoe JA, Spry MJ, Watkin RW, Working Party of the British Society for Antimicrobial C. Guidelines for the diagnosis and antibiotic treatment of endocarditis in adults: a report of the Working Party of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67(2):269-89.

- 56 Nishimura RA, Carabello BA, Faxon DP, Freed MD, Lytle BW, O'Gara PT, O'Rourke RA, Shah PM. ACC/AHA 2008 Guideline update on valvular heart disease: focused update on infective endocarditis: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines endorsed by the Society of Cardiovascular Anesthesiologists, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, and Society of Thoracic Surgeons. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52(8):676-85.
- 57 Thuny F, Grisoli D, Collart F, Habib G, Raoult D. Management of infective endocarditis: challenges and perspectives. *Lancet*. 2012;379(9819):965-75.
- 58 Anderson BE, Neuman MA. Bartonella spp. as emerging human pathogens. *Clin Microbiol Rev*. 1997;10(2):203-19.
- 59 Avidor B, Graidy M, Efrat G, Leibowitz C, Shapira G, Schattner A, Zimhony O, Giladi M. Bartonella koehlerae, a new cat-associated agent of culture-negative human endocarditis. *J Clin Microbiol*. 2004;42(8):3462-8.
- 60 Daly JS, Worthington MG, Brenner DJ, Moss CW, Hollis DG, Weyant RS, Steigerwalt AG, Weaver RE, Daneshvar MI, O'Connor SP. Rochalimaea elizabethae sp. nov. isolated from a patient with endocarditis. *J Clin Microbiol*. 1993;31(4):872-81.
- 61 Roux V, Eykyn SJ, Wyllie S, Raoult D. Bartonella vinsonii subsp. berkhoffii as an agent of afebrile blood culture-negative endocarditis in a human. *J Clin Microbiol*. 2000;38(4):1698-700.
- 62 Brouqui P, Lascola B, Roux V, Raoult D. Chronic Bartonella quintana bacteremia in homeless patients. *N Engl J Med*. 1999;340(3):184-9.

- 63 Badiaga S, Brouqui P, Raoult D. Autochthonous epidemic typhus associated with *Bartonella quintana* bacteremia in a homeless person. *Am J Trop Med Hyg.* 2005;72(5):638-9.
- 64 Spach DH, Kanter AS, Dougherty MJ, Larson AM, Coyle MB, Brenner DJ, Swaminathan B, Matar GM, Welch DF, Root RK, et al. *Bartonella* (*Rochalimaea*) *quintana* bacteremia in inner-city patients with chronic alcoholism. *N Engl J Med.* 1995;332(7):424-8.
- 65 Comer JA, Flynn C, Regnery RL, Vlahov D, Childs JE. Antibodies to *Bartonella* species in inner-city intravenous drug users in Baltimore, Md. *Arch Intern Med.* 1996;156(21):2491-5.
- 66 Brenner EC, Chomel BB, Singhasivanon OU, Namekata DY, Kasten RW, Kass PH, Cortes-Vecino JA, Gennari SM, Rajapakse RP, Huong LT, Dubey JP. *Bartonella* infection in urban and rural dogs from the tropics: Brazil, Colombia, Sri Lanka and Vietnam. *Epidemiol Infect.* 2012:1-8.
- 67 Chomel BB, Abbott RC, Kasten RW, Floyd-Hawkins KA, Kass PH, Glaser CA, Pedersen NC, Koehler JE. *Bartonella henselae* prevalence in domestic cats in California: risk factors and association between bacteremia and antibody titers. *J Clin Microbiol.* 1995;33(9):2445-50.
- 68 Koehler JE, Glaser CA, Tappero JW. *Rochalimaea henselae* infection. A new zoonosis with the domestic cat as reservoir. *JAMA.* 1994;271(7):531-5.
- 69 Zangwill KM, Hamilton DH, Perkins BA, Regnery RL, Plikaytis BD, Hadler JL, Cartter ML, Wenger JD. Cat scratch disease in Connecticut. Epidemiology, risk factors, and evaluation of a new diagnostic test. *N Engl J Med.* 1993;329(1):8-13.

- 70 Crissiuma A, Favacho A, Gershony L, Mendes-de-Almeida F, Gomes R, Mares-Guia A, Rozental T, Barreira J, Lemos E, Labarthe N. Prevalence of Bartonella species DNA and antibodies in cats (*Felis catus*) submitted to a spay/neuter program in Rio de Janeiro, Brazil. *J Feline Med Surg*. 2011;13(2):149-51.
- 71 Lamas C, Curi A, Boia M, Lemos E. Human bartonellosis: seroepidemiological and clinical features with an emphasis on data from Brazil - a review. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2008;103(3):221-35.
- 72 Raoult D. Q fever: still a query after all these years. *J Med Microbiol*. 1996;44(2):77-8.
- 73 Stoker MG, Marmion BP. The spread of Q fever from animals to man; the natural history of a rickettsial disease. *Bull World Health Organ*. 1955;13(5):781-806.
- 74 Arricau Bouvery N, Souriau A, Lechopier P, Rodolakis A. Experimental *Coxiella burnetii* infection in pregnant goats: excretion routes. *Vet Res*. 2003;34(4):423-33.
- 75 Woldehiwet Z. Q fever (coxiellosis): epidemiology and pathogenesis. *Res Vet Sci*. 2004;77(2):93-100.
- 76 Dupuis G, Petite J, Peter O, Vouilloz M. An important outbreak of human Q fever in a Swiss Alpine valley. *Int J Epidemiol*. 1987;16(2):282-7.
- 77 Raoult D, Tissot-Dupont H, Foucault C, Gouvernet J, Fournier PE, Bernit E, Stein A, Nesri M, Harle JR, Weiller PJ. Q fever 1985-1998. Clinical and epidemiologic features of 1,383 infections. *Medicine (Baltimore)*. 2000;79(2):109-23.

- 78 Fournier PE, Etienne J, Harle JR, Habib G, Raoult D. Myocarditis, a rare but severe manifestation of Q fever: report of 8 cases and review of the literature. *Clin Infect Dis*. 2001;32(10):1440-7.
- 79 Maurin M, Raoult D. Q fever. *Clin Microbiol Rev*. 1999;12(4):518-53.
- 80 Lemos ER, Rozental T, Mares-Guia MA, Almeida DN, Moreira N, Silva RG, Barreira JD, Lamas CC, Favacho AR, Damasco PV. Q fever as a cause of fever of unknown origin and thrombocytosis: first molecular evidence of *Coxiella burnetii* in Brazil. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2011;11(1):85-7.
- 81 Rozental T, Mascarenhas LF, Rozenbaum R, Gomes R, Mattos GS, Magno CC, Almeida DN, Rossi MI, Favacho AR, de Lemos ER. *Coxiella burnetii*, the agent of Q fever in Brazil: its hidden role in seronegative arthritis and the importance of molecular diagnosis based on the repetitive element IS1111 associated with the transposase gene. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2012;107(5):695-7.
- 82 Do Valle LA, Bassoi ON, Castro RM, Ferreira JM. [Q fever in Sao Paulo; first clinical case confirmed by serological studies]. *Rev Paul Med*. 1955;46(6):447-56.
- 83 Lamas Cda C, Ramos RG, Lopes GQ, Santos MS, Golebiovski WF, Weksler C, Ferraiuoli GI, Fournier PE, Lepidi H, Raoult D. Bartonella and *Coxiella* infective endocarditis in Brazil: molecular evidence from excised valves from a cardiac surgery referral center in Rio de Janeiro, Brazil, 1998 to 2009. *Int J Infect Dis*. 2013;17(1):e65-6.
- 84 Siciliano RF, Ribeiro HB, Furtado RH, Castelli JB, Sampaio RO, Santos FC, Colombo S, Grinberg M, Strabelli TM. [Endocarditis due to *Coxiella burnetii* (Q fever): a rare or underdiagnosed disease? Case report]. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2008;41(4):409-12.

- 85 Siciliano RF, Strabelli TM, Zeigler R, Rodrigues C, Castelli JB, Grinberg M, Colombo S, da Silva LJ, Mendes do Nascimento EM, Pereira dos Santos FC, Uip DE. Infective endocarditis due to *Bartonella* spp. and *Coxiella burnetii*: experience at a cardiology hospital in Sao Paulo, Brazil. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1078:215-22.
- 86 Correa FG, Pontes CL, Verzola RM, Mateos JC, Velho PE, Schijman AG, Selistre-de-Araujo HS. Association of *Bartonella* spp bacteremia with Chagas cardiomyopathy, endocarditis and arrhythmias in patients from South America. *Braz J Med Biol Res.* 2012;45(7):644-51.
- 87 Ben-Ami R, Giladi M, Carmeli Y, Orni-Wasserlauf R, Siegman-Igra Y. Hospital-acquired infective endocarditis: should the definition be broadened? *Clin Infect Dis.* 2004;38(6):843-50.
- 88 Peetermans WE, Hill EE, Herijgers P, Claus P, Herregods MC, Verhaegen J, Vanderschueren S. Nosocomial infective endocarditis: should the definition be extended to 6 months after discharge. *Clin Microbiol Infect.* 2008;14(10):970-3.
- 89 Dekkers OM, Egger M, Altman DG, Vandembroucke JP. Distinguishing case series from cohort studies. *Ann Intern Med.* 2012;156(1 Pt 1):37-40.
- 90 Haynes RB, Mulrow CD, Huth EJ, Altman DG, Gardner MJ. More informative abstracts revisited. *Ann Intern Med.* 1990;113(1):69-76.
- 91 Sackett DL, Haynes RB, Guyatt GH, Tugwell P. *Clinical epidemiology: a basic science for clinical medicine.* 2nd ed. Boston: Little, Brown; 1991.
- 92 Gilbert DN MR, Eliopoulos GM, Sande, MA. *Sanford Guide to Antimicrobial Therapy.* 34 ed. Dallas, Estados Unidos: Antimicrobial

Therapy Inc; 2004.

- 93 Dalton MJ, Robinson LE, Cooper J, Regnery RL, Olson JG, Childs JE. Use of Bartonella antigens for serologic diagnosis of cat-scratch disease at a national referral center. *Arch Intern Med*. 1995;155(15):1670-6.
- 94 Rolain JM, Lecom C, Raoult D. Simplified serological diagnosis of endocarditis due to Coxiella burnetii and Bartonella. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2003;10(6):1147-8.
- 95 Organização das Nações Unidas. *Assembléia Mundial sobre envelhecimento: resolução 39/125*. Viena 1982.
- 96 Jelliffe DB, Jelliffe EF. Underappreciated pioneers. Quetelet: man and index. *Am J Clin Nutr*. 1979;32(12):2519-21.
- 97 Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. *World Health Organ Tech Rep Ser*. 2000;894:1-253.
- 98 Mansur AJ, Dal Bo CM, Fukushima JT, Issa VS, Grinberg M, Pomerantzeff PM. Relapses, recurrences, valve replacements, and mortality during the long-term follow-up after infective endocarditis. *Am Heart J*. 2001;141(1):78-86.
- 99 Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest*. 1992;101(6):1644-55.

- 100 Neugarten J, Gallo GR, Baldwin DS. Glomerulonephritis in bacterial endocarditis. *Am J Kidney Dis*. 1984;3(5):371-9.
- 101 Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG, Levin A. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care*. 2007;11(2):R31.
- 102 Horan TC, Andrus M, Dudeck MA. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Control*. 2008;36(5):309-32.
- 103 Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, Picard MH, Roman MJ, Seward J, Shanewise JS, Solomon SD, Spencer KT, Sutton MS, Stewart WJ. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *J Am Soc Echocardiogr*. 2005;18(12):1440-63.
- 104 Bocchi EA, Braga FG, Ferreira SM, Rohde LE, Oliveira WA, Almeida DR, Moreira Mda C, Bestetti RB, Bordignon S, Azevedo C, Tinoco EM, Rocha RM, Issa VS, Ferraz A, Cruz FD, Guimaraes GV, Montera Vdos S, Albuquerque DC, Bacal F, Souza GE, Rossi Neto JM, Clausell NO, Martins SM, Siciliano A, Souza Neto JD, Moreira LF, Teixeira RA, Moura LZ, Beck-da-Silva L, Rassi S, Azeka E, Horowitz E, Ramires F, Simoes MV, Castro RB, Salemi VM, Villacorta Junior H, Vila JH, Simoes R, Albanesi F, Montera MW. [III Brazilian Guidelines on Chronic Heart Failure]. *Arq Bras Cardiol*. 2009;93(1 Suppl 1):3-70.

- 105 Shoen F. Doenças do coração. In: Robbins SC, Cotran RS, Kumar V, Collins T, editors. *Patologia estrutural e funcional* 6th ed. Philadelphia: Guanabara Koogan; 2000. p. 515-8.
- 106 Alterthum F. Morfologia e estrutura da célula bacteriana. In: Alterthum F, Trabulsi FR, editors. *Microbiologia*. 5th ed. Rio de Janeiro: Atheneu; 2008. p. 7-8.
- 107 Roskell DE, Bowler IC, Barnes P. Treated bacterial endocarditis as a histological mimic of fungal infection. *J Clin Pathol*. 1998;51(7):539-40.
- 108 Isenberg HD. *Clinical microbiology procedures handbook*. 2nd ed. Washington, DC: ASM Press; 2004.
- 109 Barros AJ, Hirakata VN. Alternatives for logistic regression in cross-sectional studies: an empirical comparison of models that directly estimate the prevalence ratio. *BMC Med Res Methodol*. 2003;3:21.
- 110 Davies HT, Crombie IK, Tavakoli M. When can odds ratios mislead? *BMJ*. 1998;316(7136):989-91.
- 111 Coutinho LM, Scazufca M, Menezes PR. Methods for estimating prevalence ratios in cross-sectional studies. *Rev Saude Publica*. 2008;42(6):992-8.
- 112 Lin DY, Wei LJ. The Robust Inference for the Cox Proportional Hazards Model. *J Am Stat Assoc*. 1989;84(408):1074-8.
- 113 Mansur AJ, Grinberg M, Cardoso RH, da Luz PL, Bellotti G, Pileggi F. Determinants of prognosis in 300 episodes of infective endocarditis. *Thorac Cardiovasc Surg*. 1996;44(1):2-10.

- 114 Costa MA, Wollmann DR, Jr., Campos AC, Cunha CL, Carvalho RG, Andrade DF, Loures DR. Risk index for death by infective endocarditis: a multivariate logistic model. *Rev Bras Cir Cardiovasc.* 2007;22(2):192-200.
- 115 Ruiz Junior E, Schirmbeck T, Figueiredo LT. A study of infectious endocarditis in Ribeirao Preto, SP-Brazil. Analysis of cases occurring between 1992 and 1997. *Arq Bras Cardiol.* 2000;74(3):217-31.
- 116 Hampton JR, Harrison MJ. Sterile blood cultures in bacterial endocarditis. *Q J Med.* 1967;36(142):167-74.
- 117 Pesanti EL, Smith IM. Infective endocarditis with negative blood cultures. An analysis of 52 cases. *Am J Med.* 1979;66(1):43-50.
- 118 Brasil. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n. 44 de 26 de outubro de 2010. Dispõe sobre o controle de medicamentos à base de substâncias classificadas como antimicrobianos, de uso sob prescrição médica, isoladas ou em associação e dá outras providências. *Diário Oficial da União.* 2012 28 out.;Seção 1:76.
- 119 Belli J, Waisbren BA. The number of blood cultures necessary to diagnose most cases of bacterial endocarditis. *Am J Med Sci.* 1956;232(3):284-8.
- 120 Weinstein MP. Current blood culture methods and systems: clinical concepts, technology, and interpretation of results. *Clin Infect Dis.* 1996;23(1):40-6.
- 121 Greub G, Lepidi H, Rovey C, Casalta JP, Habib G, Collard F, Fournier PE, Raoult D. Diagnosis of infectious endocarditis in patients undergoing valve surgery. *Am J Med.* 2005;118(3):230-8.

- 122 Munoz P, Bouza E, Marin M, Alcalá L, Rodríguez Creixems M, Valerio M, Pinto A. Heart valves should not be routinely cultured. *J Clin Microbiol.* 2008;46(9):2897-901.
- 123 Mekontso Dessap A, Zahar JR, Voiriot G, Ali F, Aissa N, Kirsch M, Brun-Buisson C. Influence of preoperative antibiotherapy on valve culture results and outcome of endocarditis requiring surgery. *J Infect.* 2009;59(1):42-8.
- 124 Morris AJ, Drinkovic D, Pottumarthy S, Strickett MG, MacCulloch D, Lambie N, Kerr AR. Gram stain, culture, and histopathological examination findings for heart valves removed because of infective endocarditis. *Clin Infect Dis.* 2003;36(6):697-704.
- 125 Zauner F, Gluck T, Salzberger B, Ehrenstein B, Beutel G, Robl F, Hanses F, Birnbaum D, Linde HJ, Audebert F. Are histopathological findings of diagnostic value in native valve endocarditis? *Infection.* 2013;41(3):637-43.
- 126 Giladi M, Szold O, Elami A, Bruckner D, Johnson BL, Jr. Microbiological cultures of heart valves and valve tags are not valuable for patients without infective endocarditis who are undergoing valve replacement. *Clin Infect Dis.* 1997;24(5):884-8.
- 127 Kupferwasser LI, Darius H, Muller AM, Martin C, Mohr-Kahaly S, Erbel R, Meyer J. Diagnosis of culture-negative endocarditis: the role of the Duke criteria and the impact of transesophageal echocardiography. *Am Heart J.* 2001;142(1):146-52.
- 128 Fournier PE, Lelievre H, Eykyn SJ, Mainardi JL, Marrie TJ, Bruneel F, Roure C, Nash J, Clave D, James E, Benoit-Lemercier C, Deforges L, Tissot-Dupont H, Raoult D. Epidemiologic and clinical characteristics of *Bartonella quintana* and *Bartonella henselae* endocarditis: a study

- of 48 patients. *Medicine (Baltimore)*. 2001;80(4):245-51.
- 129 Raoult D, Fournier PE, Vandenesch F, Mainardi JL, Eykyn SJ, Nash J, James E, Benoit-Lemerrier C, Marrie TJ. Outcome and treatment of Bartonella endocarditis. *Arch Intern Med*. 2003;163(2):226-30.
- 130 Raoult D, Fournier PE, Drancourt M, Marrie TJ, Etienne J, Cosserat J, Cacoub P, Poinignon Y, Leclercq P, Sefton AM. Diagnosis of 22 new cases of Bartonella endocarditis. *Ann Intern Med*. 1996;125(8):646-52.
- 131 Min KW, Reed JA, Welch DF, Slater LN. Morphologically variable bacilli of cat scratch disease are identified by immunocytochemical labeling with antibodies to Rochalimaea henselae. *Am J Clin Pathol*. 1994;101(5):607-10.
- 132 Caponetti GC, Pantanowitz L, Marconi S, Havens JM, Lamps LW, Otis CN. Evaluation of immunohistochemistry in identifying Bartonella henselae in cat-scratch disease. *Am J Clin Pathol*. 2009;131(2):250-6.
- 133 Lamps LW, Gray GF, Scott MA. The histologic spectrum of hepatic cat scratch disease. A series of six cases with confirmed Bartonella henselae infection. *Am J Surg Pathol*. 1996;20(10):1253-9.
- 134 Maggi RG, Kempf VAJ, Chomel BB, Breitschwerdt EB. Bartonella. In: Versalovic J, editor. *Manual of clinical microbiology*. 10th ed. Washington, Estados Unidos: ASM Press; 2011.
- 135 Chambers ST, Murdoch D, Morris A, Holland D, Pappas P, Almela M, Fernandez-Hidalgo N, Almirante B, Bouza E, Forno D, del Rio A, Hannan MM, Harkness J, Kanafani ZA, Lalani T, Lang S, Raymond N, Read K, Vinogradova T, Woods CW, Wray D, Corey GR, Chu VH. HACEK infective endocarditis: characteristics and outcomes from a large, multi-national cohort. *PloS one*. 2013;8(5):e63181.

- 136 Ferreiros E, Nacinovich F, Casabe JH, Modenesi JC, Swieszkowski S, Cortes C, Hernan CA, Kazelian L, Varini S. Epidemiologic, clinical, and microbiologic profile of infective endocarditis in Argentina: a national survey. The Endocarditis Infecciosa en la Republica Argentina-2 (EIRA-2) Study. *Am Heart J.* 2006;151(2):545-52.
- 137 Selton-Suty C, Celard M, Le Moing V, Doco-Lecompte T, Chirouze C, lung B, Strady C, Revest M, Vandenesch F, Bouvet A, Delahaye F, Alla F, Duval X, Hoen B. Preeminence of Staphylococcus aureus in infective endocarditis: a 1-year population-based survey. *Clin Infect Dis.* 2012;54(9):1230-9.
- 138 Baron EJ, Scott JD, Tompkins LS. Prolonged incubation and extensive subculturing do not increase recovery of clinically significant microorganisms from standard automated blood cultures. *Clin Infect Dis.* 2005;41(11):1677-80.
- 139 Petti CA, Bhally HS, Weinstein MP, Joho K, Wakefield T, Reller LB, Carroll KC. Utility of extended blood culture incubation for isolation of Haemophilus, Actinobacillus, Cardiobacterium, Eikenella, and Kingella organisms: a retrospective multicenter evaluation. *J Clin Microbiol.* 2006;44(1):257-9.
- 140 Fenollar F, Fournier PE, Carrieri MP, Habib G, Messana T, Raoult D. Risks factors and prevention of Q fever endocarditis. *Clin Infect Dis.* 2001;33(3):312-6.
- 141 Bayer RA. Q fever as an occupational illness at the National Institutes of Health. *Public Health Rep.* 1982;97(1):58-60.
- 142 Hawker JI, Ayres JG, Blair I, Evans MR, Smith DL, Smith EG, Burge PS, Carpenter MJ, Caul EO, Coupland B, Desselberger U, Farrell ID, Saunders PJ, Wood MJ. A large outbreak of Q fever in the West

- Midlands: windborne spread into a metropolitan area? *Commun Dis Public Health*. 1998;1(3):180-7.
- 143 Amitai Z, Bromberg M, Bernstein M, Raveh D, Keysary A, David D, Pitlik S, Swerdlow D, Massung R, Rzotkiewicz S, Halutz O, Shohat T. A large Q fever outbreak in an urban school in central Israel. *Clin Infect Dis*. 2010;50(11):1433-8.
- 144 Parker NR, Barralet JH, Bell AM. Q fever. *Lancet*. 2006;367(9511):679-88.
- 145 Tissot-Dupont H, Torres S, Nezri M, Raoult D. Hyperendemic focus of Q fever related to sheep and wind. *Am J Epidemiol*. 1999;150(1):67-74.
- 146 Krcmery V, Hricak V, Babelova O. Culture negative endocarditis: analysis of 201 cases. *Scand J Infect Dis*. 2007;39(4):384.
- 147 Werner M, Andersson R, Olaison L, Hogevik H. A 10-year survey of blood culture negative endocarditis in Sweden: aminoglycoside therapy is important for survival. *Scand J Infect Dis*. 2008;40(4):279-85.
- 148 A HF, van der Loo B, G MS, Zbinden R, Duru F, Brunckhorst C, Rousson V, Delacretaz YE, Stuber T, Oechslin EN, Follath F, Jenni R. Serological evidence for the association of Bartonella henselae infection with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Clin Cardiol*. 2008;31(10):469-71.
- 149 Correa FG, Pontes CL, Verzola RM, Mateos JC, Velho PE, Schijman AG, Selistre-de-Araujo HS. Association of Bartonella spp bacteremia with Chagas cardiomyopathy, endocarditis and arrhythmias in patients from South America. *Braz J Med Biol Res*. 2012;45(7):644-51.

- 150 Dimopoulos S, Eleftherakis E, Charitos C, Sakellaridis T, Sinapidis D, Kostis E, Toumanidis S, Efsthathiou E. Bartonella quintana endocarditis as a cause of severe aortic insufficiency and heart failure. *Hellenic J Cardiol.* 2012;53(6):476-9.
- 151 Holmberg M, McGill S, Ehrenborg C, Wesslen L, Hjelm E, Darelid J, Blad L, Engstrand L, Regnery R, Friman G. Evaluation of human seroreactivity to Bartonella species in Sweden. *J Clin Microbiol.* 1999;37(5):1381-4.
- 152 McGill S, Hjelm E, Rajs J, Lindquist O, Friman G. Bartonella spp. antibodies in forensic samples from Swedish heroin addicts. *Ann N Y Acad Sci.* 2003;990:409-13.
- 153 Meininger GR, Nadasdy T, Hruban RH, Bollinger RC, Baughman KL, Hare JM. Chronic active myocarditis following acute Bartonella henselae infection (cat scratch disease). *Am J Surg Pathol.* 2001;25(9):1211-4.
- 154 Montcriol A, Benard F, Fenollar F, Ribeiri A, Bonnet M, Collart F, Guidon C. Fatal myocarditis-associated Bartonella quintana endocarditis: a case report. *J Med Case Rep.* 2009;3:7325.
- 155 Pipili C, Katsogridakis K, Cholongitas E. Myocarditis due to Bartonella henselae. *South Med J.* 2008;101(11):1186.
- 156 Wesslen L, Ehrenborg C, Holmberg M, McGill S, Hjelm E, Lindquist O, Henriksen E, Rolf C, Larsson E, Friman G. Subacute bartonella infection in Swedish orienteers succumbing to sudden unexpected cardiac death or having malignant arrhythmias. *Scand J Infect Dis.* 2001;33(6):429-38.
- 157 Fenimore A, Varanat M, Maggi R, Schultheiss P, Breitschwerdt E,

- Lappin MR. Bartonella spp. DNA in cardiac tissues from dogs in Colorado and Wyoming. *J Vet Intern Med.* 2011;25(3):613-6.
- 158 Nakamura RK, Zimmerman SA, Lesser MB. Suspected Bartonella-associated myocarditis and supraventricular tachycardia in a cat. *J Vet Cardiol.* 2011;13(4):277-81.
- 159 Pesavento PA, Chomel BB, Kasten RW, McDonald KA, Mohr FC. Pathology of bartonella endocarditis in six dogs. *Vet Pathol.* 2005;42(3):370-3.
- 160 Kordick DL, Brown TT, Shin K, Breitschwerdt EB. Clinical and pathologic evaluation of chronic Bartonella henselae or Bartonella clarridgeiae infection in cats. *J Clin Microbiol.* 1999;37(5):1536-47.
- 161 Sykes JE, Kittleson MD, Chomel BB, Macdonald KA, Pesavento PA. Clinicopathologic findings and outcome in dogs with infective endocarditis: 71 cases (1992-2005). *J Am Vet Med Assoc.* 2006;228(11):1735-47.
- 162 Breitschwerdt EB, Atkins CE, Brown TT, Kordick DL, Snyder PS. Bartonella vinsonii subsp. berkhoffii and related members of the alpha subdivision of the Proteobacteria in dogs with cardiac arrhythmias, endocarditis, or myocarditis. *J Clin Microbiol.* 1999;37(11):3618-26.
- 163 Hoen B, Selton-Suty C, Lacassin F, Etienne J, Briancon S, Leport C, Canton P. Infective endocarditis in patients with negative blood cultures: analysis of 88 cases from a one-year nationwide survey in France. *Clin Infect Dis.* 1995;20(3):501-6.
- 164 Raoult D. Treatment of Q fever. *Antimicrob Agents Chemother.* 1993;37(9):1733-6.

- 165 Raoult D, Houpijian P, Tissot Dupont H, Riss JM, Arditi-Djiane J, Brouqui P. Treatment of Q fever endocarditis: comparison of 2 regimens containing doxycycline and ofloxacin or hydroxychloroquine. *Arch Intern Med.* 1999;159(2):167-73.
- 166 Delahaye F, Alla F, Beguinot I, Bruneval P, Doco-Lecompte T, Lacassin F, Selton-Suty C, Vandenesch F, Vernet V, Hoen B. In-hospital mortality of infective endocarditis: prognostic factors and evolution over an 8-year period. *Scand J Infect Dis.* 2007;39(10):849-57.
- 167 Chirillo F, Bacchion F, Pedrocco A, Scotton P, De Leo A, Rocco F, Valfre C, Olivari Z. Infective endocarditis in patients with diabetes mellitus. *J Heart Valve Dis.* 2010;19(3):312-20.
- 168 Aksoy O, Sexton DJ, Wang A, Pappas PA, Kourany W, Chu V, Fowler VG, Jr., Woods CW, Engemann JJ, Corey GR, Harding T, Cabell CH. Early surgery in patients with infective endocarditis: a propensity score analysis. *Clin Infect Dis.* 2007;44(3):364-72.
- 169 Fine MJ, Smith MA, Carson CA, Mutha SS, Sankey SS, Weissfeld LA, Kapoor WN. Prognosis and outcomes of patients with community-acquired pneumonia. A meta-analysis. *JAMA.* 1996;275(2):134-41.
- 170 Thomsen RW, Hundborg HH, Lervang HH, Johnsen SP, Schonheyder HC, Sorensen HT. Diabetes mellitus as a risk and prognostic factor for community-acquired bacteremia due to enterobacteria: a 10-year, population-based study among adults. *Clin Infect Dis.* 2005;40(4):628-31.
- 171 Kornum JB, Thomsen RW, Riis A, Lervang HH, Schonheyder HC, Sorensen HT. Type 2 diabetes and pneumonia outcomes: a population-based cohort study. *Diabetes Care.* 2007;30(9):2251-7.

- 172 Rognon R, Kehtari R, Francioli P. Individual value of each of the Duke criteria for the diagnosis of infective endocarditis. *Clin Microbiol Infect.* 1999;5(7):396-403.
- 173 Habib G, Derumeaux G, Avierinos JF, Casalta JP, Jamal F, Volot F, Garcia M, Lefevre J, Biou F, Maximovitch-Rodaminoff A, Fournier PE, Ambrosi P, Velut JG, Cribier A, Harle JR, Weiller PJ, Raoult D, Luccioni R. Value and limitations of the Duke criteria for the diagnosis of infective endocarditis. *J Am Coll Cardiol.* 1999;33(7):2023-9.

Apêndice



GUIA DE ORIENTAÇÃO PARA DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DE INFECÇÕES UNIDADE DE CONTROLE DE INFECÇÃO HOSPITALAR INCOR HC-FMUSP

Tânia Mara Varejão Strabelli

Rinaldo Focaccia Siciliano

Cristhieni Rodrigues

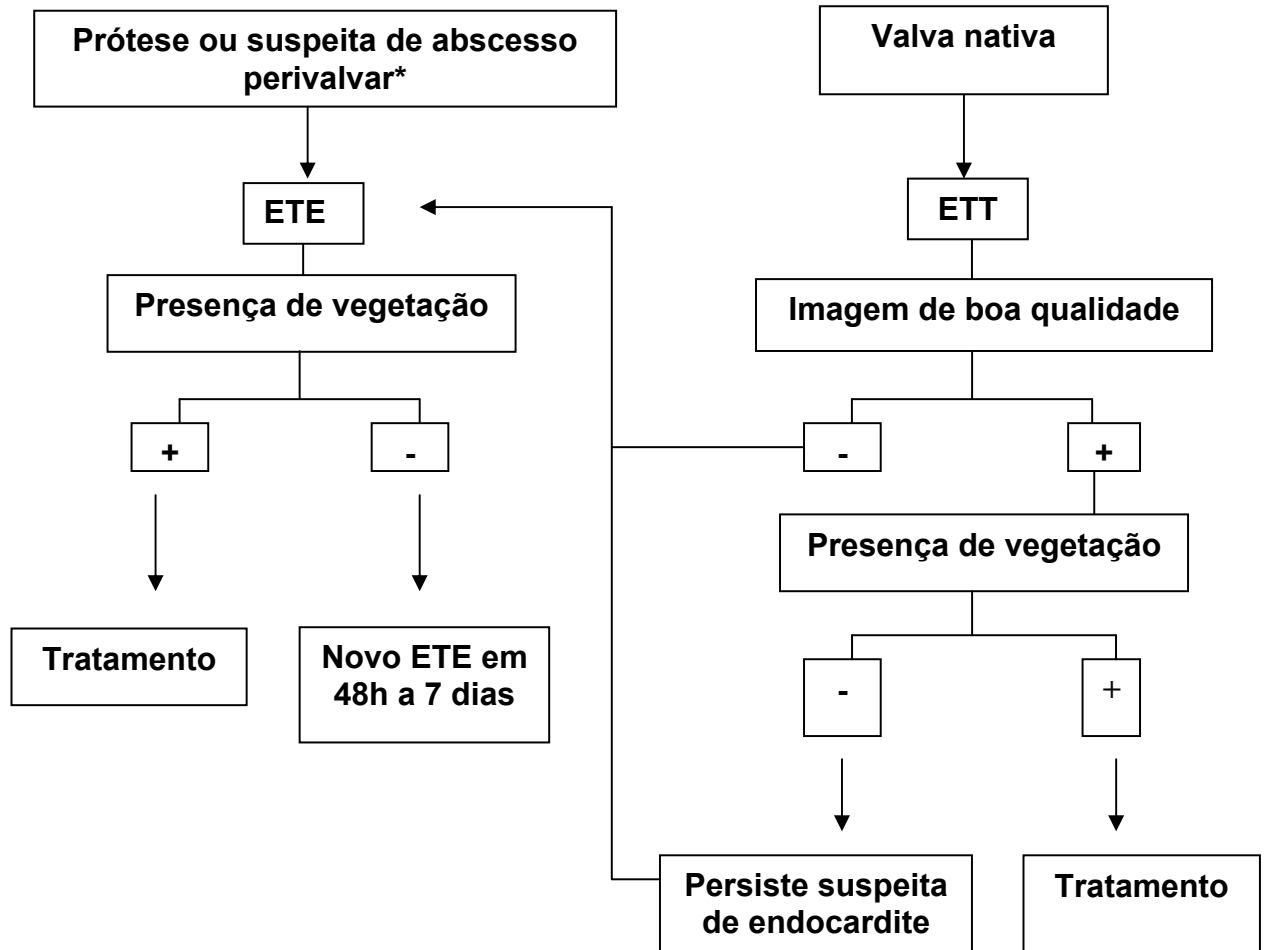
Rogério Zeigler

Endocardite Infecçiosa

Investigação diagnóstica

Coletar **três pares de hemoculturas (meio aeróbio e anaeróbio) em punções venosas periféricas independentes**, sob cuidados de higienização da pele com anti-sépticos e preferencialmente antes da introdução de antibióticos. Em pacientes adultos, deve-se **coletar 10 ml de sangue por frasco**, não sendo recomendada a coleta por aspiração de cateteres pelo risco de contaminação da amostra. Não há diferença quanto à sensibilidade para sangue arterial ou venoso. **Sugere-se intervalo de 30 a 60 minutos entre as coletas das hemoculturas**, mas este pode ser reduzido nos casos agudos com apresentação grave pela urgência do início da terapia antibiótica empírica.

Fluxograma para investigação ecocardiográfica de caso suspeito de endocardite infecciosa



ETE: Ecocardiograma Transesofágico, ETT: Ecocardiograma Transtorácico

* Surgimento de novo bloqueio atrio-ventricular ou paciente em tratamento apropriado para endocardite que mantém bacteremia persistente, embolizações recorrentes ou novo sopro também devem ser investigados ativamente com ETE para pesquisa de abscesso perivalvar.

Tratamento antibiótico empírico nas endocardites com culturas negativas em adultos

Situação	Antibioticoterapia	Duração/ semanas
Valva nativa ou prótese valvar implantada há mais de 12 meses	Pen G cristalina 3-4 milhões 6X/24h ou	4-6
	ampicilina 2g iv 4/4h +	4-6
	Oxacilina 2g 6X/24h	4-6
	± Gentamicina 1 mg/Kg 3X/24h	2
	Alternativa	
	Oxacilina 2g 6X/24h+	4-6
Ceftriaxone 2g/24h+	4-6	
± Gentamicina 1 mg/Kg 3X/24h	2	
Prótese valvar implantada há menos de 12 meses	Vancomicina 15mg/kg 2X/24h +	6
	Rifampicina 300mg 3X/24h +	6
	Gentamicina 1 mg/Kg 3X/24h	2-4