



# MICROBIOLOGIA CLÍNICA PARA O CONTROLE DE INFECÇÃO RELACIONADA À ASSISTÊNCIA À SAÚDE

Módulo 3: Principais Síndromes Infeciosas





**MICROBIOLOGIA CLÍNICA PARA  
O CONTROLE DE INFECÇÃO  
RELACIONADA À ASSISTÊNCIA À SAÚDE**

Módulo 3: Principais  
Síndromes Infeciosas

Copyright © 2013 Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

Todos os direitos reservados. É permitida a reprodução parcial ou total dessa obra, desde que citada a fonte e que não seja para venda ou qualquer fim comercial.

A responsabilidade pelos direitos autorais de textos e imagens dessa obra é da área técnica.

A Anvisa, igualmente, não se responsabiliza pelas idéias contidas nessa publicação.

1ª edição – 2010

*Elaboração, distribuição e informações:*

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA

SIA Trecho 5, Área Especial 57

CEP: 71205-050 Brasília – DF

Tel.: (61) 3462-6000

Home page: [www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br)

*Diretoria*

Dirceu Brás Aparecido Barbano – Diretor-Presidente

Jaime Cesar de Moura Oliveira

José Agenor Álvares da Silva

*Adjuntos de Diretor*

Luiz Roberto Klassmann

Luciana Shimizu Takara

Neilton Araujo de Oliveira

Doriane Patrícia Ferraz de Souza

*Gerência Geral de Tecnologia em Serviços de Saúde*

– GGTES

Diana Carmem Almeida Nunes de Oliveira

*Gerência de Vigilância e Monitoramento em Serviços*

*de Saúde – GVIMS*

Magda Machado de Miranda Costa

*Coordenação Técnica:*

Ana Clara Ribeiro Bello dos Santos – Anvisa

Carlos Emílio Levy – Universidade de Campinas – SP

*Redação:*

Alessandro Lia Mondelli – Universidade Estadual de São Paulo (UNESP) – SP

Antônio Carlos Campos Pignatari – Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP) – SP

Antônia M. O. Machado – Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP) – SP

Caio Márcio Figueiredo Mendes – Universidade de São Paulo (USP-SP) e Laboratório Fleury – SP

Carlos Emílio Levy – Universidade de Campinas (UNICAMP) – SP

Elsa Masae Mamizuka – Universidade de São Paulo (USP) – SP

Igor Mimica – Santa Casa de São Paulo – SP

José A. Simões – Universidade de Campinas (UNICAMP) – SP

Lycia M. Jenné Mimica – Santa Casa de São Paulo – SP

Maria Rita Elmor de Araujo – Hospital Beneficência Portuguesa – SP

Marinês Dalla Valle Martino – Hospital Albert Einstein e Santa Casa de São Paulo – SP

Norma Fracalanza Travassos – Médica Infectologista – SP

*Revisão técnica – Anvisa:*

André Anderson Carvalho

Fabiana Cristina de Sousa

Heiko Thereza Santana

Magda Machado de Miranda

Suzie Marie Gomes

*Cooperação técnica:*

Termo de Cooperação nº 64

Organização Pan-Americana da Saúde

Organização Mundial da Saúde

Representação Brasil

Joaquin Molina – Representante

Enrique Vazquez – Coordenador da Unidade Técnica de Doenças Transmissíveis e Não-

Transmissíveis e Análise de Situação de Saúde

Rogério da Silva Lima – Consultor Nacional da Unidade Técnica de Doenças Transmissíveis e

Não-Transmissíveis e Análise de Situação de Saúde

*Projeto Gráfico e Diagramação:*

All Type Assessoria Editorial Ltda

*Capa:*

Camila Contarato Burns – Anvisa

### Ficha Catalográfica

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária

Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 3 : Principais Síndromes Infeciosas/Agência Nacional de Vigilância Sanitária.– Brasília: Anvisa, 2013.

150... il.9 volumes

ISBN

1. Infecção Relacionada à Assistência à Saúde – Controle. 2. Infecção em Serviços de Saúde. 3. Microbiologia Clínica. 4. Vigilância Sanitária em Serviços de Saúde. 5. Resistência microbiana. I. Título.

# SUMÁRIO

<b>Capítulo 1: Infecções do Trato Urinário</b> .....	<b>11</b>
1.1 Introdução .....	11
1.1.1 Importância clínica da Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. ....	11
1.1.2 Quanto a topografia, as ITUs são divididas em .....	11
1.1.3 Quanto a evolução, as ITUs podem limitar-se a episódio único ou isolado, a recidiva, a re-infecção e a infecção urinária crônica .....	12
1.1.4 Quanto à presença de fatores predisponentes ou agravantes as ITUs são classificadas em dois grupos .....	13
1.2 Epidemiologia e Fatores de Risco .....	13
1.3 Aspectos clínicos e patogênese .....	15
1.3.1 Adequação dos mecanismos de defesa do hospedeiro .....	16
1.3.2 Virulência do micro-organismo .....	16
1.4 Recursos para diagnóstico laboratorial com ênfase no microbiológico .....	18
1.4.1 Pesquisa da Leucocitúria .....	18
1.4.2 Bacterioscopia de urina .....	19
1.4.3 Outros dados laboratoriais que podem contribuir para o diagnóstico .....	21
1.5 Coleta, conservação e transporte .....	21
1.6 Processamento, interpretação e relatório microbiológico .....	22
1.7 Referências Bibliográficas .....	25
<b>Capítulo 2: Infecções de Ossos e Articulações</b> .....	<b>29</b>
2.1 Infecções ósseas (osteomielites) .....	29
2.1.1 Introdução .....	29
2.1.2 Epidemiologia .....	29
2.1.3 Patogênese .....	30
2.1.4 Fatores de risco .....	31
2.1.5 Diagnóstico laboratorial .....	32
2.2 Infecções articulares (artrite infecciosa ou séptica) .....	33
2.2.1 Introdução .....	33
2.2.2 Epidemiologia .....	33
2.2.3 Patogênese .....	33
2.2.4 Fatores de risco .....	34
2.2.5 Diagnóstico laboratorial .....	35
2.2.6 Processamento das amostras (líquido sinovial, aspirados, curetagens, raspados, exsudatos, tecidos e fragmentos ósseos) .....	35
2.3 Referências Bibliográficas .....	36
<b>Capítulo 3: Infecções da Pele e Tecido Subcutâneo</b> .....	<b>37</b>
3.1 Introdução .....	37

3.2	Lesões eritematosas e superficiais: aspectos clínicos e diagnóstico.....	38
3.2.1	Impetigo .....	38
3.2.2	Erisipela e celulite.....	38
3.2.3	Diagnóstico Laboratorial .....	39
3.2.4	Foliculite .....	39
3.2.5	Diagnóstico Laboratorial .....	40
3.2.6	Furunculose e Carbúnculo .....	40
3.2.7	Coleta de amostras de pele infectada.....	41
3.2.8	Paroníquia.....	42
3.2.9	Diagnóstico Laboratorial .....	43
3.3	Ulcerações e nódulos: aspectos clínicos e diagnóstico .....	43
3.4	Fístulas e queimados: aspectos clínicos e diagnóstico laboratorial.....	44
3.4.1	Fístulas .....	44
3.4.2	Diagnóstico Laboratorial .....	45
3.4.3	Queimados .....	45
3.4.4	Diagnóstico Laboratorial .....	46
3.5	Infecção em feridas cirúrgicas ou infecção do sítio cirúrgico: aspectos clínicos e diagnóstico laboratorial .....	47
3.5.1	Diagnóstico Laboratorial .....	48
3.6	Infecções complicadas e lesões causadas por mordedura: aspectos clínicos e diagnóstico laboratorial .....	50
3.6.1	Infecções complicadas .....	50
3.6.2	Diagnóstico Laboratorial .....	51
3.7	Infecções Complicadas por Mordeduras.....	52
3.7.1	Diagnóstico Laboratorial .....	52
3.8	Referências Bibliográficas.....	53
<b>Capítulo 4: Infecções Intestinais .....</b>		<b>55</b>
4.1	Introdução.....	55
4.1.1	<i>Escherichia coli</i> .....	58
4.2	Importantes associações nas infecções intestinais .....	61
4.3	Doenças gastrointestinais de origem alimentar (alimentos e água).....	63
4.3.1	Bactérias .....	63
4.3.2	Vírus.....	64
4.3.3	Parasitas.....	65
4.4	Diagnóstico Laboratorial .....	65
4.4.1	Considerações Gerais .....	65
4.4.2	Caldos de enriquecimento .....	67
4.4.3	Procedimento Geral.....	68
4.4.4	Relatório de resultados.....	70
4.5	Referências Bibliográficas.....	70

<b>Capítulo 5: Infecções Abdominais.....</b>	<b>71</b>
5.1 Introdução.....	71
5.1.1 Apresentação clínica e classificação .....	71
5.1.2 Agente etiológicos.....	73
5.1.3 Coleta e transporte / armazenamento das amostras.....	74
5.1.4 Processamento das amostras.....	74
5.2 Referências Bibliográficas.....	75
<b>Capítulo 6: Infecções do Sistema Nervoso Central.....</b>	<b>77</b>
6.1 Introdução.....	77
6.1.1 Principais processos infecciosos que comprometem o SNC.....	77
6.1.2 Natureza dos processos infecciosos do SNC.....	77
6.1.3 Via de acesso dos agentes infecciosos ao SNC.....	77
6.1.4 Principais causas de meningite aguda infecciosa.....	78
6.2 Dados epidemiológicos e etiologia de processos infecciosos do SNC.....	79
6.3 Diagnóstico laboratorial.....	81
6.3.1 Dados laboratoriais relevantes .....	81
6.3.2 Processamento de amostras – LCR.....	82
6.3.3 Exame microscópico do líquido .....	83
6.3.4 Cultura .....	83
6.3.5 Exame citológico do Líquor .....	83
6.3.6 Pesquisa de antígenos .....	84
6.3.7 Processamento de amostras – Abscesso cerebral.....	84
6.3.8 Etiologia.....	85
<b>Capítulo 7: Infecções Sistêmicas .....</b>	<b>87</b>
7.1 Introdução.....	87
7.2 Coleta de hemoculturas .....	89
7.2.1 Indicação clínica .....	89
7.2.2 Número de amostras.....	90
7.2.3 Hora, intervalos e local de coleta .....	91
7.2.4 Volume de sangue.....	92
7.2.5 Técnica de coleta .....	94
7.2.6 Tipos de frascos.....	95
7.3 Metodologias .....	96
7.3.7 Método manual.....	96
7.3.8 Método de Lise-centrifugação.....	98
7.3.9 Métodos Semi-automatizados.....	98
7.3.10 Métodos Automatizados (monitoração contínua) .....	99
7.3.11 Coleta de hemoculturas para diagnóstico de infecção relacionada a cateter vascular.....	101
7.3.12 Interpretação dos resultados .....	103

7.3.13	Limitações.....	104
7.3.14	Comunicação dos resultados.....	105
7.4	Referências Bibliográficas.....	105

## **Capítulo 8: Infecções Genitais ..... 109**

8.1	Introdução.....	109
8.1.1	Vaginose bacteriana.....	110
8.1.2	Diagnóstico laboratorial.....	111
8.1.3	Diagnóstico Laboratorial.....	113
8.1.4	Tricomoníase.....	114
8.1.5	Diagnóstico laboratorial.....	114
8.2	Infecção gonocócica.....	115
8.2.1	Fatores que envolvem a bactéria.....	115
8.2.2	Fatores que envolvem o hospedeiro.....	116
8.2.3	Características clínicas da doença.....	116
8.2.4	Diagnóstico laboratorial.....	117
8.2.5	Infecções causadas por <i>Chlamydia trachomatis</i> .....	118
8.2.6	Diagnóstico laboratorial.....	119
8.3	Infecções causadas por <i>Mycoplasma spp.</i> .....	120
8.3.1	Diagnóstico laboratorial.....	121
8.4	Referências Bibliográficas.....	122

## **Capítulo 9: Infecções do Trato Respiratório Superior ..... 123**

9.1	Introdução – Importância clínica e em Infecção Relacionada à Assistência à Saúde.....	123
9.2	Epidemiologia e fatores de risco.....	123
9.3	Aspectos clínicos e patogênese.....	124
9.3.1	Faringite.....	125
9.3.2	Laringite.....	126
9.3.3	Sinusites.....	126
9.3.4	Otites.....	127
9.3.5	Outras infecções.....	127
9.4	Recursos para o diagnóstico laboratorial.....	127
9.4.1	Métodos gerais.....	127
9.4.2	Métodos rápidos.....	128
9.4.3	Imunofluorescência.....	129
9.4.4	Métodos moleculares.....	129
9.5	Coleta, conservação e transporte.....	129
9.6	Processamento, interpretação e relatório microbiológico.....	130
9.7	Referências Bibliográficas.....	132

<b>Capítulo 10: Infecções do Trato Respiratório Inferior</b> .....	<b>133</b>
10.1 Introdução.....	133
10.1.1 Importância clínica e em Infecção Relacionada à Assistência à Saúde .....	133
10.2 Epidemiologia e fatores de risco .....	134
10.3 Aspectos clínicos e patogênese.....	137
10.4 Recursos para o diagnóstico laboratorial .....	137
10.5 Coleta, Transporte e Armazenamento .....	138
10.5.1 Escarro .....	138
10.5.2 Aspirado de secreção traqueal.....	139
10.5.3 Aspirado transtraqueal .....	140
10.5.4 Lavado brônquico não dirigido ou mini-BAL .....	141
10.5.5 Lavado bronco-alveolar .....	141
10.5.6 Biópsias .....	141
10.5.7 Punção biópsia pulmonar .....	142
10.5.8 Biópsia transbrônquica .....	142
10.5.9 Biópsia pulmonar .....	142
10.5.10 Toracoscopia .....	142
10.5.11 Derrame pleural .....	142
10.6 Processamento, interpretação e relatório microbiológico .....	142
10.6.1 Meios recomendados para processamento das amostras do trato respiratório.....	144
10.6.2 Alternativas de técnicas de semeadura e interpretação do número de colônias, no caso da utilização de técnicas quantitativas .....	144
10.6.3 Contagens bacterianas significativas .....	146
10.6.4 Outras considerações .....	146
10.7 Referências Bibliográficas.....	148



## APRESENTAÇÃO

A resistência microbiana é um grave problema mundial, estando associada ao aumento do tempo de internação, dos custos do tratamento e das taxas de morbidade e mortalidade dos pacientes. O uso indiscriminado e incorreto dos antimicrobianos na comunidade e no ambiente hospitalar é reconhecidamente um importante fator de risco para o aparecimento e a disseminação da resistência microbiana.

Nesse contexto, insere-se o Laboratório de Microbiologia, que tem como objetivo não apenas apontar o responsável por um determinado estado infeccioso, mas também indicar, através do monitoramento de populações microbianas, qual o perfil dos micro-organismos que estão interagindo com o organismo humano, possibilitando a indicação de tratamentos mais adequados. Para o desempenho satisfatório dessa função, é fundamental que os laboratórios de microbiologia possuam estrutura capaz de estabelecer informações sobre a melhor amostra biológica, reconhecer a microbiota e os contaminantes, identificar micro-organismos associados à infecção ou com propósitos epidemiológicos, obter resultados rápidos em casos de emergência, realizar o transporte rápido das amostras e manter uma educação contínua em relação aos aspectos da infecção relacionada à assistência à saúde.

Tendo em vista esses aspectos e considerando que a microbiologia é um campo muito dinâmico, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa, em cooperação com a Organização Pan-Americana da Saúde – OPAS, propõe a terceira revisão do Manual de Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde, buscando atualizar informações nos temas considerados essenciais e contando com um seleto e conceituado corpo editorial. O manual é composto por nove módulos, a saber: Módulo 1 – Biossegurança e manutenção de equipamentos em laboratório de microbiologia clínica; Módulo 2 – Controle externo da qualidade; Módulo 3 – Principais Síndromes Infecciosas; Módulo 4 – Procedimentos laboratoriais: da requisição do exame à análise microbiológica e laudo final; Módulo 5 – Tecnologias em Serviços de Saúde: descrição dos meios de cultura empregados nos exames microbiológicos; Módulo 6 – Detecção e identificação de bactérias de importância médica; Módulo 7 – Detecção e identificação de micobactérias de importância médica; Módulo 8 – Detecção e identificação de fungos de importância médica e Módulo 9 – Infecções virais.

A Anvisa e a OPAS esperam com essa publicação contribuir para que os laboratórios de microbiologia possam assimilar e alcançar novos níveis de complexidade laboratorial, atendendo às exigências e características próprias de cada unidade hospitalar, além de subsidiar a adoção de procedimentos básicos padronizados nesses serviços.



# Capítulo 1:

## Infecções do Trato Urinário

Marinês Dalla Valle Martino

### 1.1 Introdução

#### 1.1.1 Importância clínica da Infecção Relacionada à Assistência à Saúde

As infecções do trato urinário (ITU) estão entre as doenças infecciosas mais comuns na prática clínica, particularmente em crianças e adultos do sexo feminino, sendo apenas menos frequentes que as do trato respiratório. Em relação às Infecções Relacionadas a Assistência à Saúde (IRAS) representam cerca de 30 a 50% das infecções adquiridas em hospitais gerais.

#### 1.1.2 Quanto a topografia, as ITUs são divididas em

- Altas – que envolvem o parênquima renal (pielonefrite) ou ureteres (ureterites).
- Baixas – que envolvem a bexiga (cistite) a uretra (uretrite), e nos homens, a próstata (prostatite) e o epidídimo (epididimite).

**Significado de bacteriúria:** A investigação microbiológica de suspeita da infecção urinária pela urocultura permite identificar dois grupos de pacientes com bacteriúria  $\geq 100.000$  Unidades Formadoras de Colônias (U.F.C.) por mL de urina: **sintomáticos** e portanto com infecção urinária; **assintomáticos** e definidos como portadores de bacteriúria assintomática.

**Bacteriúria assintomática** ou infecção do trato urinário assintomática é a identificação de uma determinada contagem de bactérias, em urina colhida de forma apropriada, de um indivíduo sem sinais ou sintomas de infecção urinária. Usualmente, é utilizado o critério do crescimento  $\geq 10^5$  UFC/mL em 2 amostras de urina colhidas em um intervalo superior a 24 horas. Considerando esse valor de corte, a bacteriúria é confirmada em urina colhida através de sondagem em  $> 95\%$  dos casos; quando a quantificação é menor,

normalmente não há confirmação. Em mulheres jovens, a bacteriúria transitória é muito frequente, portanto se o critério de 2 amostras for considerado, a prevalência de bacteriúria assintomática diminui. Em homens esse critério é ainda mais discutível, sendo mais aceito o crescimento  $\geq 10^5$  UFC/mL em 1 única amostra. Bacteriúria associada a cateter é definida como a presença de sinais e sintomas compatíveis a ITU e crescimento bacteriano  $\geq 10^3$  UFC/mL de 1 ou mais patógenos em amostra colhida com cateter ou jato médio em pacientes que retiraram cateter uretral, supra-púbico ou uripen em um período inferior a 48 horas. A importância em diferenciar os grupos sintomáticos ou não é tanto do ponto de vista de conduta como prognóstico. Para o primeiro grupo há a necessidade de tratamento imediato, para o segundo grupo de pacientes, comumente constituído de meninas em idade escolar (1 a 2%) e de mulheres jovens com vida sexual ativa (5%), existe um risco maior de desenvolver ITU no futuro. Apesar disso, não implica necessariamente tratamento, pois cerca de 25% delas passam espontaneamente a ter uroculturas negativas no prazo de um ano. Um grupo importante identificado com bacteriúria assintomática que merece seguimento são as grávidas, uma vez que possuem um risco de 20 a 30 vezes maior em desenvolverem pielonefrite durante a gestação, probabilidade maior de parto prematuro e recém-nascidos de baixo peso. Nessas pacientes a recomendação do uso de antibiótico terapia é indicada, porém o mesmo não ocorre em diabéticos, indivíduos institucionalizadas e com cateteres vesicais.

### 1.1.3 Quanto a evolução, as ITUs podem limitar-se a episódio único ou isolado, a recidiva, a re-infecção e a infecção urinária crônica

- **Episódio único ou isolado:** ocorre uma única vez e resolve habitualmente pelo uso de antibiótico-terapia. Um segundo episódio isolado pode ocorrer sem relação temporal com o anterior. Entre 10 a 20% das mulheres irão apresentar no decorrer da vida pelo menos um episódio de infecção urinária.
- **Recidiva ou recaída de ITU:** por falha no tratamento o mesmo micro-organismo isolado previamente persiste no trato urinário, causando infecção ou bacteriúria assintomática. A persistência do mesmo micro-organismo por meses ou anos, leva a infecção urinária crônica.
- **Re-infecção:** é a ocorrência de um novo episódio de ITU, sem relação com o evento anterior, causado por outro micro-organismo, exceto que pela origem e frequência do agente etiológico que coloniza a região perineal, pode ser atribuída à mesma espécie bacteriana (ex: *E. coli*). Episódios repetidos de re-infecção não devem ser confundidos com infecção urinária crônica.
- **ITU crônica:** representa a persistência do mesmo micro-organismo por meses ou anos com recidivas após tratamento, no caso de pielonefrite

crônica, há associação com comprometimento da pelve e parênquima renal.

- **ITU recorrente:** ocasionalmente a recorrência é pela persistência do mesmo agente (recidiva), mas em cerca de 90% dos episódios ocorre por re-infecção, com meses de intervalo entre eles. Cerca de 20% das jovens após o episódio inicial de cistite tem infecções recorrentes, que caracterizam bem esse grupo. Dois ou mais episódios no período de 6 meses ou três ou mais no período de um ano definem as infecções recorrentes na mulher. Nos homens, a ITU recorrente é definida quando ocorrem dois ou mais episódios de ITU em um período de até 3 anos, lembrando a frequente associação com prostatite bacteriana crônica, nos pacientes sem fatores predisponentes.

#### 1.1.4 Quanto à presença de fatores predisponentes ou agravantes as ITUs são classificadas em dois grupos

- **ITU não complicada:** ocorre primariamente em mulheres jovens sexualmente ativas sem anormalidade anatômica ou funcional do aparelho genitourinário.
- **ITU complicada:** ocorre em indivíduos que já possuem alguma anormalidade estrutural ou funcional do processo de diurese, presença de cálculos renais ou prostáticos, doenças subjacentes em que haja predisposição a infecção renal (diabetes *melittus*, anemia falciforme, doença policística renal, transplante renal) ou na vigência de cateterismo vesical, instrumentação ou procedimentos cirúrgicos do trato urinário. Pelo maior risco, as ITU, em crianças, gestantes, homens e em pessoas com infecções do trato urinário alto, são consideradas infecções complicadas.

## 1.2 Epidemiologia e Fatores de Risco

As ITU podem ser encontradas em todas as faixas etárias. A bacteriúria pode variar de 0,1 a 1,9% dos neonatos a termo, alcançando 10% nos prematuros, sendo a incidência maior nos meninos até os três meses de idade e frequentemente acompanhada de bacteremia. A circuncisão de meninos e a amamentação com leite materno parecem ser fatores ligados ao menor risco de infecção.

A partir dos três meses, as meninas passam a ser mais acometidas e as infecções principalmente nos pré-escolares estão associadas a anormalidades congênitas. Nessa faixa etária, o risco para a menina é de cerca de 4,5% e para o menino de 0,5%. Essas infecções são frequentemente sintomáticas e acredita-se que os danos renais resultantes das ITUs ocorram durante esse período da vida.

Nos escolares a prevalência de bacteriúria é de 1,2% nas meninas e de 0,03% nos meninos, sendo em geral assintomática. As pacientes do sexo feminino com bacteriúria assintomática apresentam um risco de até 50% desenvolverem infecção sintomática quando iniciam a atividade sexual ou durante a gravidez. Portanto, a presença de bacteriúria na infância define a população de risco em relação ao desenvolvimento de ITU na fase adulta.

Na fase adulta até os 65 anos, a ITU em homens é extremamente baixa (menos de 0,1%), frequentemente associada com anormalidades anatômicas ou doença da próstata como também à instrumentação das vias urinárias. A prevalência de ITU é um pouco maior (1,5%) em homens jovens atendidos em serviços de doenças sexualmente transmissíveis.

Idosos (acima de 65 anos) apresentam prevalência de ITU com menores diferenças entre os sexos. Nas infecções comunitárias a prevalência atinge 20% nas mulheres e 10% nos homens, enquanto, nas infecções relacionadas a assistência à saúde (IRAS) essa prevalência é de aproximadamente 30%, podendo variar de acordo com o Serviço. Os fatores responsáveis pela incidência elevada de ITU nos idosos incluem:

- doença de base associada;
- doenças ou condições que dificultam o esvaziamento normal da bexiga (ex: cistocele e hipertrofia prostática);
- instrumentação das vias urinárias;
- manejo da incontinência urinária com cateter vesical;
- diminuição da atividade bactericida da secreção prostática;
- diminuição do glicogênio vaginal e aumento do pH vaginal.

Em mulher pós-menopausa as infecções recorrentes, com três ou mais culturas positivas e sintomáticas em um ano, ou dois episódios de ITU em seis meses, tem como fator predisponente a cistocele, incontinência e aumento do volume de urina residual.

Pacientes internados desenvolvem ITU mais frequentemente que pacientes comunitários, tendo em vista as condições gerais dos pacientes hospitalizados e a alta probabilidade de instrumentação do trato urinário, que são os maiores contribuintes para essa diferença.

A ocorrência de bacteriúria em pacientes hospitalizados sem cateterismo é estimada em 1%, e o risco de infecção varia de acordo com o sistema de drenagem utilizado, e a duração do cateterismo. No sistema aberto, atualmente em desuso, cerca de 100% dos pacientes apresentarão bacteriúria em 2 a 4 dias a partir da cateterização; no sistema fechado, 5 a 10% dos pacientes apresentarão bacteriúria para cada dia de cateterização. A importância da ITU relacionada a assistência à saúde está na sua elevada

frequência e principalmente por ser considerada a principal causa de bacteremia por Gram-negativos.

Outra ocorrência bastante observada em pacientes internados é a candidúria. Uma série de fatores de risco são apontados como: idade avançada, sexo feminino, uso de antimicrobianos, sondagem vesical, procedimento cirúrgico prévio e diabetes *mellitus*, sendo que a cateterização uretral por período prolongado ou qualquer outro procedimento de drenagem vesical estão associados a 83% dos casos. Muitos casos de candidúria são considerados assintomáticos. Extrapolando-se a conduta para bacteriúria assintomática, em que na maior parte dos pacientes não existe recomendação de tratamento, para candidúria pode não ser adequada; esses pacientes estão sondados e em Unidades de Terapia Intensiva, o que diminui a possibilidade da avaliação da expressão de sinais e sintomas. A presença de leucocitúria é outro dado que só pode ser valorizado se o paciente não estiver sondado por período prolongado e não apresentar bacteriúria.

Além dos pacientes sintomáticos, devem ser tratados recém-nascidos de baixo peso, pacientes que vão ser submetidos a procedimentos genito-urinários, transplantados renais e neutropênicos, mesmo com moderadas evidências de recomendação segundo a Sociedade Americana de Doenças Infeciosas (IDSA).

### 1.3 Aspectos clínicos e patogênese

As três possibilidades de um micro-organismo alcançar o trato urinário e causar infecção são: via ascendente, via hematogênica e via linfática. Pela via ascendente, o micro-organismo poderá atingir através da uretra, a bexiga, ureter e o rim. Essa via é a mais frequente, principalmente em mulheres (pela menor extensão da uretra) e em pacientes submetidos à instrumentação do trato urinário.

A via hematogênica ocorre devido a intensa vascularização do rim podendo o mesmo ser comprometido em qualquer infecção sistêmica; é a via de eleição para ITU por alguns micro-organismos como *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium tuberculosis*, sendo também a principal via das ITU em neonatos.

A via linfática é rara embora haja a possibilidade de micro-organismos alcançarem o rim pelas conexões linfáticas entre o intestino e o rim e/ou entre o trato urinário inferior e superior.

Após o micro-organismo atingir o trato urinário poderá ocorrer ou não infecção na dependência dos seguintes fatores:

### 1.3.1 Adequação dos mecanismos de defesa do hospedeiro

- propriedades antibacterianas da urina (elevada osmolalidade e baixo pH) e da mucosa do trato urinário (citocinas, mecanismos antiaderência);
- efeito mecânico da micção;
- resposta imune e inflamatória;
- integridade anatômica e funcional das vias urinárias;
- tamanho do inóculo (quanto maior o inóculo que alcança o rim, maior a chance de infecção). A medula renal é altamente susceptível a infecção por baixas contagens bacterianas, ocorrendo o inverso na córtex renal.

### 1.3.2 Virulência do micro-organismo

- aderência às células uroepiteliais e vaginais;
- resistência à atividade bactericida do soro;
- produção de hemolisina e fator citotóxico necrotizante tipo I.

Nos pacientes com cateterismo vesical, os micro-organismos atingem a bexiga através de três caminhos:

- a) no momento da inserção do cateter;
- b) através da luz do cateter;
- c) através da interface mucosa-cateter.

Por outro lado, os fatores envolvidos na fisiopatogênese das infecções urinárias associadas ao uso de cateteres vesicais são:

- fenômenos inflamatórios locais (corpo estranho);
- eliminação dos mecanismos habituais de defesa (esvaziamento incompleto da bexiga, alterações da imunidade local, via aberta de passagem até a bexiga);
- obstrução mecânica das glândulas periuretrais (facilitando quadros de uretrites e epididimites). Nos pacientes com prostatite ou epididimite, os micro-organismos atuam, principalmente, através do refluxo da urina infectada nos ductos prostáticos e ejaculatórios.

Neonatos e crianças até dois anos de idade com ITU podem ser totalmente assintomáticos ou apresentarem sintomas inespecíficos como: irritabilidade, diminuição da amamentação, menor desenvolvimento pondero-estatural, diarreia e vômitos, febre e apatia, etc. Cerca de 7% dos casos podem estar acompanhados de icterícia e de hepato-esplenomegalia. Crianças maiores já podem relatar: disúria, aumento da frequência urinária e dor abdominal.

Adultos com ITU baixa, limitada a uretra e bexiga, geralmente apresentam disúria frequente, urgência miccional e ocasionalmente dor na região supra-púbica. ITU altas, particularmente pielonefrite, são frequentemente acompanhadas pelos mesmos sintomas das infecções baixas, além de dor nos flancos e febre. Bacteremia quando presente poderá confirmar um diagnóstico de pielonefrite ou prostatite. (Tabela 1)

A microbiota normal da região periuretral é definida de acordo com a faixa etária e condições do paciente. Raramente, causam ITU, apresentando em geral contagem de colônias menor que 1000 UFC/mL, sendo constituída de: *Streptococcus viridans*, *Corynebacterium* spp. (difteróides), *Staphylococcus* spp. (exceto *Staphylococcus aureus* e *S. saprophyticus*) e *Lactobacillus* spp.

**Tabela 1** Manifestações clínicas e micro-organismos frequentemente associados com os vários tipos de ITUs.

Tipo de Infecção	Manifestação Clínica	Microrganismo isolado (a)	Diagnóstico e Contagem de colônias (UFC/mL)
Trato Urinário alto:			
Pielonefrite	<b>Aguda:</b> febre, náusea, calafrios, vômito, dor no flanco <b>Crônica:</b> assintomática	Enterobactérias como <i>E. coli</i> e outros Gram-negativos, <i>Enterococcus</i> spp., <i>Staphylococcus aureus</i>	$\geq 10^5$ *
Trato Urinário Baixo:			
1) Cistite	Disúria e aumento da frequência urinária	<i>Escherichia coli</i> Outros Gram Negativos <i>S. saprophyticus</i> , <i>Enterococcus</i> spp.	$\geq 10^5$ *
2) Uretrite	Disúria, aumento da frequência urinária, corrimento uretral	<i>Chlamydia trachomatis</i> (a) <i>Mycoplasma hominis</i> (b) <i>Ureaplasma urealyticum</i> (c) <i>Neisseria gonorrhoeae</i> (d) <i>Trichomonas vaginalis</i> (e) <i>Candida albicans</i> e spp. (f)	<b>Urocultura negativa</b> <b>a</b> – Diagnóstico por métodos moleculares <b>b e c</b> – Secreção uretral semeada em meios de cultura específicos. Alguns kits permitem contagem de colônias – significativo $>10^4$ UTC/mL. <b>d</b> – cresce em ACH e TM <b>e</b> – exame direto de urina de primeiro jato. <b>f</b> – Podem crescer no Ágar sangue, CLED ou meio cromogênico.

Tipo de Infecção	Manifestação Clínica	Microrganismo isolado (a)	Diagnóstico e Contagem de colônias (UFC/mL)
3) Prostatite	<b>Aguda:</b> febre, calafrios, dor lombar <b>Crônica :</b> assintomática ou semelhante aos sintomas da aguda	<i>N. gonorrhoeae, E. coli, Proteus</i> spp. e outras <i>enterobactérias</i> . <b>Menos frequente:</b> <i>Enterococcus</i> spp. <i>P. aeruginosa</i> e <i>Chlamydia trachomatis</i> *	Urocultura ou cultura de secreção prostática *diagnóstico por métodos moleculares

\* A valorização quantitativa depende da clínica e do agente, podendo valores inferiores a 105UFC/mL serem significativos. Os atuais critérios da Academia Americana de Pediatria para crianças entre 2 meses e 2 anos são de 50.000 U.F.C./mL.

### Infecção do Trato Urinário Relacionada a Assistência à Saúde:

Cistite Pielonefrite	Disúria e frequência urinária aumentada, na presença de SVD pode ser assintomático	<i>Escherichia coli</i> <i>Outras enterobactérias</i> <i>P. aeruginosa, Acinetobacter baumannii e Acinetobacter</i> spp., <i>Enterococos faecalis e Enterococcus faecium, Candida albicans, C. glabrata e Candida</i> spp. <i>Staphylococcus coag. neg.</i>	≥ 10 <sup>5</sup> *
----------------------	--	---	---------------------

## 1.4 Recursos para diagnóstico laboratorial com ênfase no microbiológico

A urocultura é considerado o exame padrão-ouro no diagnóstico laboratorial das ITU.

### Outros procedimentos

#### 1.4.1 Pesquisa da Leucocitúria

Reflete a possibilidade de resposta inflamatória do trato urinário. A causa mais comum é a infecção bacteriana que poderá ser confirmada pela urocultura; porém a leucocitúria poderá ser evidenciada nas situações clínicas apresentadas abaixo, cuja urocultura resulta negativa.

##### a) Leucocitúria não infecciosa:

- doença túbulo-intersticial (nefropatia por analgésicos e beta-lactâmicos);
- cálculos e corpos estranhos;
- terapia com ciclofosfamida;
- rejeição de transplante renal;
- trauma genitourinário;
- neoplasias;
- glomerulonefrite.

- b) Infecciosa (micro-organismos de difícil cultivo e que necessitam de procedimentos específicos de isolamento):
- Tuberculose e infecções causadas por micobactérias atípicas;
  - *Haemophilus influenzae*;
  - *Chlamydia* spp. e *Ureaplasma urealyticum*;
  - Gonococos;
  - Anaeróbios;
  - Fungos;
  - vírus (herpes, adenovírus, varicela-zoster);
  - Leptospiras.
- c) Outras causas infecciosas:
- durante ou até uma semana após o tratamento adequado da ITU;
  - Infecção “mascarada” pela antibiótico-terapia;
  - infecções adjacentes ao trato urinário (apendicite, diverticulite e prostatite).

Deve-se considerar também, e o que não é incomum, a hipótese de contaminação de coleta em paciente com leucorréia.

#### 1.4.2 Bacterioscopia de urina

Com a urina não centrifugada, e apenas homogeneizada, pegar uma alça com 10 mL de urina e depositar sobre uma lâmina de vidro, deixar secar, fixar na chama e corar pelo Gram. Com objetiva de imersão (1000x) fazer contagem. Se encontrar 1 ou mais bactérias por campo, sugere  $\geq 10^5$  U.F.C./mL. A presença de células epiteliais e vários tipos morfológicos de bactérias, sugere contaminação. A bacterioscopia também pode ser feita com urina centrifugada a fim de melhorar a sensibilidade, porém considerando-se o trabalho e tempo dispendido, acaba não sendo uma técnica indicada na rotina.

A pesquisa de leucocitúria e bacteriúria poderá ser realizada por diferentes métodos manuais e automatizados (Tabela 2).

**Tabela 2** Principais Métodos para Detecção de Leucocitúria e/ou Bacteriúria

Métodos	Princípios	Limites de Detecção
<b>MICROSCÓPICO:</b> Gram	Reconhecimento das bactérias por características morfo-tintoriais. Gram de 1 gota de urina não centrifugada .	$\geq 1$ bactéria em campo de imersão $\geq 10^5$ UFC/mL
Pesquisa de Leucócitos (Urina não centrifugada) observar entre lâmina e lamínula	Pequeno Aumento (10 x) Aumento 40x Grande Aumento (100 x)	30 leucócitos/campo 5 leucócitos/campo 1 a 2 leucócitos/campo
Pesquisa de leucócitos em câmara de contagem	Contagem de leucócitos na câmara de hemocitômetro	$\geq 10.000$ leucócitos/mL (valor clínico)
Sedimento Urinário	Determinação da presença de leucócitos no sedimento urinário	$\geq 10$ leucócitos p/ campo (valor clínico)
<b>TESTES QUÍMICOS</b> – Fitas Nitrato Redutase – teste de Griess	Bactérias Gram Negativas reduzem Nitrato a Nitrito	$\geq 10^4$ UFC/mL falso negativo em cocos Gram-positivos e <i>Pseudomonas</i> .
Esterase Leucocitária	Detecta a presença dessa enzima nos leucócitos	Equivale a 5 leucócitos/campo (40 x) -

Os testes utilizando fitas reagentes são considerados por terem mais sensibilidade do que especificidade para caracterização de ITU e tem bom valor preditivo para afastar infecção urinária. Altas doses de vitamina C podem dar falso teste negativo para nitrito na fita, e a presença de *Trichomonas* pode dar teste positivo para esterase leucocitária.

Tanto a avaliação do sedimento urinário quanto a determinação dos parâmetros químicos podem ser realizados através de metodologias automatizadas. Os valores de corte do número de leucócitos nessa situação vai depender do equipamento, variando de 10.000 a 30.000 leucócitos por mL.

Os métodos automatizados também podem avaliar bacteriúria. Entre estes equipamentos temos o UF-100 e UF-1000 (bioMerieux) que opera através de citometria de fluxo. Considerando valor de corte de 65 bactéria/mL and 100 leucócitos/mL tem sensibilidade de 98.2%, especificidade de 62.1%, valor preditivo negativo de 98.7%, valor preditivo positivo de 53.7%, podendo indicar redução de 43% de culturas realizadas.

Outra linha é a do IQ, que consiste em um analisador de microscopia, que captura as partículas presentes na urina, através de uma câmara e possui sistema de auto reconhecimento das partículas, classificando-as dentro das 12 categorias definidas: leucócitos, hemácias, piócitos, cilindro hialino, cilindros patogênicos, célula epitelial escamosa, célula epitelial não-escamosa, cristais, muco, espermatozóides, bactérias e leveduras.

### 1.4.3 Outros dados laboratoriais que podem contribuir para o diagnóstico

- **hematúria:** Além de ITU, quando detectada isoladamente sugere tuberculose renal, litíase renal, doença policística renal, cistite viral e trauma após cateterização.
- **hemocultura positiva:** Em pacientes com pielonefrite aguda a hemocultura é positiva em 25%. A bacteremia é também bastante frequente nos neonatos com infecção do trato urinário.

## 1.5 Coleta, conservação e transporte

### ■ Coleta:

Existe preferência pela primeira urina da manhã e, quando isso não é possível, que haja o maior tempo entre a coleta e a última micção. Esse tempo segundo a American Society for Microbiology (ASM) é de 2 horas.

Em crianças sem controle esfinteriano, a sondagem vesical e a punção suprapúbica são indicadas. A coleta obtida através de saco coletor, apesar de bastante difundida, é a que tem maior taxa de contaminação e resultados falso-positivos. Os resultados reportados por esse método tem maior significado quando negativos do que quando positivos. De qualquer forma, se o saco coletor for utilizado, deve ser trocado a cada 30 minutos.

Para crianças que apresentam controle de esfíncter, a urina colhida através do jato intermediário (JI) é preferível, uma vez que é menos traumática, apesar da possibilidade de contaminação com a microbiota, externa do trato genitourinário. A fim de essa contaminação ser minimizada, deve-se proceder a retração do prepúcio nos meninos e realizar o afastamento dos grandes lábios nas meninas. Essas recomendações também são válidas para os adultos.

A assepsia recomendada é com água e sabão. O uso de antissépticos foi muito discutido, considerando o argumentando poder de causar irritação local, diminuir as contagens bacterianas e no caso do PVPI, pode haver reação falso-positiva, na pesquisa da presença de sangue oculto. Por outro lado, alguns serviços já tem experiência positiva com o uso de clorexidina.

### ■ Conservação e Transporte

As amostras que não são imediatamente semeadas, devem ficar refrigeradas, e por um período não superior a 24 horas. Assume-se que as amostras podem ficar em temperatura ambiente por até 2 horas.

## 1.6 Processamento, interpretação e relatório microbiológico

A identificação da bactéria infectante isolada na cultura de urina é um dos fatores indicativos de infecção, porém existem micro-organismos que colonizam frequentemente a uretra distal de pacientes. Cerca de 10 a 20% das pacientes apresentam colonização da mucosa vaginal e da região periuretral por enterobactérias por essa razão, além da identificação de bactérias uropatógenas, a avaliação do número de unidades formadoras de colônias (UFC) por mL tornou-se um critério importante na interpretação da urocultura, já que os micro-organismos colonizantes geralmente apresentam-se em contagens baixas.

A semeadura da amostra poderá ser realizada através de diferentes métodos (Tabela 3).

**Tabela 3** Métodos para quantificação de bactérias na urina

Parâmetro	Método e Interpretação	Comentário
Semiquantitativa	Lamino-cultivo Dispstick ou Dip-slide	Técnica semiquantitativa
Quantitativa	Pour-plate 1 micro-organismo = 1000UFC/ mL	Método clássico padronizado, raramente utilizado pois é muito trabalhoso.
	Alça calibrada = 0,01 mL 1 colônia = 100 UFC/mL Alça calibrada = 0,001 mL 1 colônia = 1000 UFC/mL	Mais utilizada e de fácil execução

### a) Laminocultivo

O laminocultivo consiste de um recipiente plástico cilíndrico, onde pode também ser coletada a urina, com uma tampa ligada a um suporte plástico com duas faces contendo meios de cultura como CLED e Mc Conkey ou outras combinações. Essa técnica tem sido muito utilizada tanto por laboratórios com pequena rotina como aqueles de grande movimento pelos seguintes motivos:

- facilita a semeadura, pois não necessita de alça calibrada ou outra medida de volume;
- facilita o transporte da urina semeada utilizando o próprio recipiente do lamino-cultivo;
- fácil conservação do produto em temperatura ambiente por cerca de seis meses;
- identificação sumária dos principais patógenos encontrados, dependendo do produto adquirido.

Esses meios permitem identificar através de provas bioquímicas rápidas alguns dos principais gêneros de bactérias ou pelo menos sugerir ou afastar a presença de *E. coli*. A coleta deve seguir os padrões normais de assepsia e orientação e a semeadura é feita sobre o próprio laminocultivo, de forma que as faces do produto sejam colocadas uniformemente em contato com a urina, podendo ocorrer de duas formas:

- despejando-se a urina durante a coleta ou
- após coletada em frasco estéril, é semeada com um *swab* embebido na urina homogeneizada.

As principais desvantagens do método são:

- método é semiquantitativo;
- superfície menor de leitura e observação de crescimento;
- dificuldade em visualizar cultura mista.

b) Método Pour plate – Preparar previamente a diluição da urina para obtenção de um fator a ser utilizado na interpretação.

- 9,9 mL de salina + 0,1 mL da urina (c)
- 9,9 mL de salina + 0,1 mL da 1ª diluição ( $10^{-4}$ )
- Adicionar 1 mL da última diluição em placa de Petri (90 mm)
- Acrescentar o ágar C.L.E.D. (fundido), homogeneizando e incubando a 35-37° C em aerobiose durante 24 h.
- A leitura é feita multiplicando o número de colônias obtido, pelo fator de diluição, considerando que o resultado tem que ser expresso por mL ou seja multiplicar por  $10^5$

c) Semeadura com Alça Calibrada

Alguns trabalhos recomendam a semeadura das urinas somente com a alça calibrada 0,01 mL (10 mcL), procurando detectar-se contagem de colônias a partir de 100 UFC/mL, e outros com 0,001 mL (1 mcL), onde uma colônia com alça de 1 mcL = 1000 UFC/mL e uma colônia com alça de 10 mcL = 100 UFC/mL.

Esse método consiste em utilizar a urina não diluída, e fazer a semeadura utilizando-se uma alça de platina ou de plástico (disponível comercialmente), de diâmetro calibrado capaz de carrear uma quantidade fixa de urina (0,001 ou 0,01ml), padronizando desse modo o fator de diluição.

**Técnica:** Em sua execução a alça bacteriológica é introduzida em uma amostra de urina bem homogeneizada, fazendo-se movimentos para baixo e para cima no sen-

tido vertical. A alça carregada é então utilizada para inocular cada meio de cultura, fazendo-se, inicialmente, uma linha reta no centro da placa e completando-se o espalhamento com uma série de passagens em um ângulo de 90°, através da linha original. Importante item de controle de qualidade é utilizar alças calibradas periodicamente aferidas ou quando possível alças descartáveis.

**Meios de cultura:** As placas com meio seletivo (Mc Conkey ou EMB) e outro meio não seletivo (Ágar Sangue de Carneiro a 5%) deverão ser incubadas por 24-48 horas à 35-37°C. O meio C.L.E.D. (Cisteína-Lactose-Eletrólito Deficiente), permite crescimento das enterobactérias, impedindo o espalhamento dos *Proteus*, a maioria dos Gram-positivos e leveduras.

A utilização de meios cromogênicos (CHROMagar Orientation® e CPS ID2® e CPS ID3®) é uma prática bastante difundida. Apesar do custo mais elevado, permite a identificação presuntiva de alguns agentes (*E. coli* por exemplo), de outros com algumas provas básicas, de grupos bacterianos como KESC (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* e *Citrobacter*), orientação da identificação de *Streptococcus agalactiae* e *Enterococcus* spp.; ainda é útil na discriminação de culturas mistas. O princípio do meio é a ação sobre certos substratos como β-glucuronidase (β-GUR) e β-glucosidase (β-GLU).

O critério de diagnóstico tradicional de Kass (1956), determina a contagem  $\geq 10^5$  UFC/mL como limite indicativo de infecção urinária. Contudo, no caso de pacientes do sexo feminino apresentando infecção urinária sintomática não complicada, esse limite corresponde a uma alta especificidade e uma baixa sensibilidade. De fato, cerca de terça parte das mulheres com síndrome clínica de disúria, frequência, urgência e piúria e que melhoram com o uso de antimicrobianos, apresentam contagens entre  $10^2$  a  $10^4$  UFC/mL, segundo critério de Stamm (1982).

O mais importante é ressaltar que o resultado da urocultura deverá ser avaliado juntamente com os outros dados laboratoriais (pesquisa de bacteriúria e/ou leucocitúria) e clínicos (presença ou ausência de sintomas, fatores predisponentes, população de risco, etc.).

Normalmente as culturas de urina são mais valorizadas quando existe crescimento de somente um patógeno. Em situações especiais, como em pacientes com bexiga neurogênica e sondados, a presença de mais de um patógeno pode ser valorizada e consequentemente também existe indicação de teste de sensibilidade.

Os testes de sensibilidade devem seguir o recomendado pelo CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) para patógenos urinários, outros órgãos de padronização de testes de sensibilidade e Normas Técnicas vigentes, se for o caso.

Nos casos de suspeita clínica de ITU por anaeróbios, o material clínico adequado para cultura é a urina obtida por punção supra-púbica e semeada de acordo com as orientações desse manual para cultura de anaeróbios.

Quando houver suspeita de ITU fúngica, recomenda-se semear de acordo com as orientações desse manual referentes às infecções fúngicas. O mais frequente é que seja um caso de candidúria e portanto são válidas as considerações abaixo.

Não existe critério padronizado para diagnóstico de ITU por *Candida* spp. Nenhum estudo estabeleceu a importância da urocultura quantitativa e da leucocitúria para essa situação.

A presença de leveduras na urina pode estar associada desde a um quadro de candidíase disseminada, pielonefrite e cistite, ou somente refletir a colonização da bexiga, períneo ou do cateter vesical. A contaminação por outro lado, habitualmente é diferenciada da colonização ou ITU através da obtenção de nova amostra.

## 1.7 Referências Bibliográficas

ANDRIOLE, V.T (ed) Urinary Tract Infection Infect. Dis. Clin. North Am. 01(4): Sept.1976.

AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS, Subcommittee on Urinary Tract Infection, Steering Committee on Quality Improvement and Management. Diagnosis and management of initial UTIs in febrile infants and children aged 2 to 24 months. Pediatrics. 2011; 128(3):595–610.

ASSOCIAÇÃO MÉDICA BRASILEIRA – CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA – Projeto Diretrizes Infecções do Trato Urinário: Diagnóstico. Sociedade Brasileira de Infectologia e Sociedade Brasileira de Urologia. 2004. [http://www.projetodiretrizes.org.br/projeto\\_diretrizes/067.pdf](http://www.projetodiretrizes.org.br/projeto_diretrizes/067.pdf) (acesso em 10/03/2007).

ASSOCIAÇÃO MÉDICA BRASILEIRA – CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA – Projeto Diretrizes Prevenção de Infecção Hospitalar. Sociedade Brasileira de Infectologia. 2001. [http://www.projetodiretrizes.org.br/projeto\\_diretrizes/065.pdf](http://www.projetodiretrizes.org.br/projeto_diretrizes/065.pdf) (acesso em 10/03/2007).

BARRY, A.L., SMITH, P.B., TURCK, M. – CUMITECH 2. Laboratory diagnosis of urinary tract infection. Coord. Ed. T.L. Gavan. AMS. Washington. D.C., 1975.

BRUNATI, P., PINI, B., COLZANI, C., et al. Bacteriuria and leukocyturia: the role of automated flow cytometry compared with urine culture. J. Clin. Microbiol., 2010.

CARDOSO, C.L., MURARO, C.B., SIQUEIRA, V.L.D.; GUILHERMETTI, M. Simplified technique for detection of significant bacteriuria by microscopic examination of urine. J. Clin. Microbiol. 36: 820–823, 1998.

- CIRAGIL, P., GUL, M., ARAL, M., EKERBICER, H. Evaluatio of a new chromogenic médium for isoaltion and identification of common urinary tract pathogens. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 25: 108-111, 2006.
- CLARRIDGE, J.E., PEZZLO, M.T., VOSTI, K.L. CUMITECH 2A. Laboratory diagnosis of urinary tract infection. Coord. A.L. Weissfeld. AMS. Washington. D.C., 1987.
- CLARRIDGE, J.E., JOHNSON, J.R., PEZZLO, M.J. CUMITECH 2B. Laboratory diagnosis of urinary tract infection. Coord. A.L. Weissfeld. AMS. Washington, D.C., 1998.
- COLOMBO A.L., GUIMARAES, T. Candidúria: uma abordagem clínica e terapêutica. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 40(3):332-337, 2007.
- FORBES, B.A., GRANATO, P.A. Processing specimens for bacteria. IN: P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller. F.C. Tenover and R.H. Tenover (eds.) *Manual of Clinical Microbiology*, 9<sup>th</sup> ed. AMS. Washington, DC. 2007.
- FORBES, B.A., SAHM, D.S., WEISSFELD, A.S. Bayley & Scott's Diagnostic Microbiology, 10<sup>th</sup> Ed., St. Louis, C.V. Mosby Co., 1998.
- GRAHAM, J.C., GALLOWAY A. The laboratory diagnosis of urinary tract infection. *J. Clin. Pathol.* 54: 911-919, 2001.
- GUIDONI, M.G., TOPOROVSKI, J. Tratamento da infecção do trato urinário na infância in: *Recomendações – Atualização de Condutas em Pediatria*. Nº 3. Sociedade de Pediatria de São Paulo, 2002.
- HOOTON, T.M., SCHOLLES, D., STAPLETON, A.E. *et al.* A prospective study of asymptomatic bacteriuria in sexually active young women. *New Engl. J. Med.* 343: 992 – 997, 2000.
- HOOTON, T.M., STAMM, W.E. Diagnosis and treatment of uncomplicated urinary tract infections. *Infect. Dis. Clin. North. Am.* 11: 551-581, 1997.
- HOOTON, T.M., BRADLEY S.F., CARDENAS, D.D. *et al.* Diagnosis, Prevention, and Treatment of Catheter-Associated Urinary Tract Infection in Adults: 2009 International Clinical Practice Guidelines from the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*, vol 50(5), pg. 625-663, 2009.
- ISENBERG H.D. Urine Culture Procedure. In: *Clinical Microbiology Proceduces Handbook*, ASM, Washington, D.C. 1998.
- KASS, E.H. Assintomatic infections of the urinary tract. *Trans. Ass. Am. Phys.*, 69: 56-63, 1956.
- KAUFFMAN C.A. Candiduria. *Clin. Infect. Dis.* 41: S371-6, 2005.
- LIPSKY, BA. Prostatitis and urinary tract infection in men: what's new; what's true? *Am. J. Med.* 106: 327-334, 1999.
- MAHON, C.R., MANUSELIS Jr. G. Urinary Tract Infection. *Diagnostic Microbiology*, W.B Saunders Company, Philadelphia, 949-971, 1995.

- MARANGONI, D.N., SOARES, C.R., MOREIRA, B.M. Infecções do Trato Urinário. In. *Doenças Infecciosas Conduta Diagnóstica e Terapêutica*. Schechter M., Marangoni, D.V (eds). Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2ª ed. 425-455, 1998.
- NICOLLE, L.E., BRADLEY S., COLGAN R., RICE J.C., SCHAEFFER A., HOOTON T.M. Infectious Diseases Society of America Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Asymptomatic Bacteriuria in Adults. *Clin Infect Dis* 40: 643-54, 2005.
- RUSHTON H.G. Urinary tract infections in children. *Pediatr. Clin. North Am.* 44: 1133 1997.
- SOBEL, J.D., KAYE, D. Urinary tract infections in: Mandell and Bennett's. *Principles and Practice of Infectious Diseases* (eds) G.L. Mandell, J.E. Benett, R. Dolin, Churchill Livingstone, Philadelphia, 5<sup>th</sup> ed. 2000. 773-805.
- STAMM, W.E., HOOTON, T.M. Management of urinary tract infections in adults. *New Engl. J. Med.* 329(18): 1328-1334, 1993.
- STAMM, W.E. Measurement of piuria and its relation to bacteriuria. *Am. J. Med.*, 75(Suppl. 1B): 53-58, 1983.
- WALLACH, J.B. Interpretation of Diagnostic tests 7<sup>th</sup> ed, Lippincott, PA, 2000. 737-739.



## Capítulo 2: Infecções de Ossos e Articulações

*Igor Mimica  
Norma Fracalanza Travassos  
Lycia M. Jenné Mimica*

### 2.1 Infecções ósseas (osteomielites)

#### 2.1.1 Introdução

Osteomielite é uma infecção causada por micro-organismos que invadem os ossos. O tecido ósseo normal apresenta resistência natural às infecções, as quais, no entanto, podem ocorrer quando existe traumatismo, nutrição comprometida, presença de inóculo microbiano significativo e/ou presença de corpo estranho. Um processo infeccioso agudo do tecido ósseo caracteriza a OSTEOMIELITE AGUDA que, na ausência de tratamento ou tratada de forma inadequada, evolui, a partir de 10 dias, para a OSTEOMIELITE CRÔNICA, com necrose tecidual, processo inflamatório, presença de pus, sequestro ósseo, podendo comprometer partes moles e drenar através de fístula, com evolução lenta por semanas, meses ou anos.

O inóculo bacteriano é comumente introduzido no tecido ósseo por 3 vias:

- Hematogênica.
- Trauma cirúrgico ou não-cirúrgico, seguido de contaminação óssea por introdução do agente infeccioso.
- Invasão óssea por contiguidade de tecidos adjacentes infectados.

#### 2.1.2 Epidemiologia

- Osteomielite por via hematogênica depende da faixa etária: do nascimento à puberdade, ossos longos são mais frequentemente envolvidos; e nos adultos, os mais afetados são as vértebras.
- Osteomielite por trauma é responsável por 70% de infecções em fraturas.
- Osteomielite por contaminação de tecidos adjacentes ocorre com úlceras nos pés em 30% de pacientes diabéticos.

*Kingella kingae*, um bacilo Gram-negativo fastidioso, emerge como importante agente das infecções osteoarticulares em crianças, responsável por até 50% das infecções não diagnosticadas anteriormente em crianças menores de 2 anos de idade. Estudo mostrou a incidência de 14% desse isolado em 406 crianças com suspeita de infecção osteoarticular, resultante provavelmente de técnicas de isolamento mais precisas.

### 2.1.3 Patogênese

**Osteomielite hematogênica** ocorre principalmente na infância, mas, recentemente, tem sido encontrada com mais frequência em adultos.

**Na infância**, a metáfise dos ossos longos (tíbia, fêmur) é mais comumente envolvida, decorrente do maior fluxo sanguíneo nessa região; uma obstrução dos capilares que a irrigam gera uma área de necrose avascular. Trauma predispõe a criança à infecção, devido ao surgimento de hematoma e necrose óssea subsequente, lesão que pode ser infectada em decorrência de uma bacteremia transitória proveniente de qualquer foco. A infecção também pode se estender à epífise e espaço intra-articular, além do canal intramedular.

**No adulto**, a infecção envolve o disco intervertebral e as duas vértebras adjacentes, comprometendo o suprimento de nutrientes para o disco, resultando em necrose e estreitamento do mesmo. A diáfise dos ossos longos também pode ser infectada. Adultos com osteomielite vertebral com frequência têm história de infecção urinária precedente ou de uso de drogas intravenosas.

Apenas um agente patogênico é responsável pela osteomielite hematogênica, apesar de eventualmente detectarem-se infecções polimicrobianas. *Staphylococcus aureus* é o agente mais comum, mas o *Streptococcus pyogenes* e *Streptococcus agalactiae* são responsáveis por um número crescente de infecções ósseas, especialmente na infância, assim como os bacilos Gram-negativos em adultos. Pacientes com osteomielite hematogênica apresentam tecido mole normal envolvendo o osso. Se a terapia antimicrobiana direcionada ao patógeno isolado é iniciada antes da necrose extensiva do osso, o paciente tem excelente prognóstico.

**Osteomielite por introdução do agente infeccioso** ocorre quando o trauma séptico quebra a barreira do tecido que envolve o osso, com penetração do agente infectante na matriz. As condições predisponentes incluem fraturas expostas e redução cirúrgica com implantação de fixações metálicas internas. Ao contrário das osteomielites hematogênicas, as culturas são polimicrobianas. A necrose do osso e a destruição do tecido mole tornam essa forma de osteomielite difícil de tratar.

**Na osteomielite por contiguidade**, os pequenos ossos dos pés são comprometidos secundariamente a uma infecção adjacente em pacientes com insuficiência vascular generalizada, como é o caso dos diabéticos que desenvolvem celulite e úlceras de pele. A circulação sanguínea inadequada do tecido favorece a infecção por interromper a resposta inflamatória local. Aeróbios múltiplos e anaeróbios são geralmente isolados. O principal foco da terapia é interromper a infecção e manter a integridade funcional do membro comprometido. Infecções recorrentes ou novas ocorrem em muitos pacientes e a amputação da área afetada é quase sempre necessária. As osteomielites de contiguidade também ocorrem nas sinusites, abscessos dentários, mordeduras de animais, atividade de jardinagem e feridas com objetos perfurantes.

#### 2.1.4 Fatores de risco

**Osteomielite hematogênica** – na infância os fatores são os traumatismos recentes e hemoglobinopatias (anemia falciforme). No adulto são as infecções do trato urinário ou intervenção com instrumentação invasiva, infecção da pele, infecções respiratórias, o uso de catéteres intravasculares, injeção de drogas intravenosas, síndrome da imunodeficiência e endocardites.

**Osteomielite por introdução do agente infeccioso** – são as fraturas e próteses articulares. Os corpos estranhos permitem que os micro-organismos se fixem no material avascular das próteses e fixadores metálicos, através dos **biofilmes** que se formam quando o micro-organismo adere a uma superfície específica, se multiplica e secreta uma substância que os une firmemente uns aos outros; essa camada limosa de bactérias, em geral de natureza polisacarídica, é protegida de fatores como a ação dos antibióticos sistêmicos e dos elementos do sistema imunológico, formando colonizações em catéteres, próteses e fixações metálicas.

**Osteomielite por contiguidade** – são as lesões em qualquer sítio próximo ao osso. Na infecção iniciada, ocorrem alterações metabólicas locais, reações inflamatórias, tromboflebite, edema e pressão intra-óssea que aumentam a necrose isquêmica denominada **“sequestro”**, que surge quando a cortex óssea é danificada, abscessos com inflamação perióstica se desenvolvem, induzindo nova formação óssea nos tecidos moles adjacentes.

Sítios anatômicos e micro-organismos mais frequentes em relação ao quadro clínico:

- Trauma – Ossos longos: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp.*, *Haemophilus sp.*

- Anemia falciforme – Múltiplos: *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*
- Trato urinário – Vértebras: bacilos Gram-negativos, *Streptococcus* sp., *Enterococcus* sp.
- Infecção de pele – Vértebras: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* sp.
- Trato respiratório – Vértebras, Quadril, Joelho: *Streptococcus* sp., *Mycobacterium tuberculosis*
- Catéteres vasculares, Usuários de drogas – Vértebras, pélvis, clavícula: bacilos Gram-negativos, *Staphylococcus* sp., *Candida* sp.
- Imunodeficiência – Múltiplos: Fungos, *Mycobacterium* sp.
- Endocardite – Vértebras: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* sp.
- Fraturas – Local da fratura: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, bacilos Gram-negativos
- Prótese articular – Prótese: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*
- Úlceras de pele – Pé, perna: *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp., bacilos Gram-negativos, anaeróbios
- Sinusites – Crânio: *Streptococcus* sp., anaeróbios
- Abscesso dental – Mandíbula, maxilar: *Streptococcus* sp., anaeróbios
- Mordeduras – Mão: *Streptococcus* sp., anaeróbios, *Pasteurella* sp.
- Paroníquia – Dedos: *Staphylococcus aureus*
- Jardinagem – Mãos: *Sporothrix shenckii*
- Feridas perfurantes – Pés: *Pseudomonas* sp., anaeróbios, *Staphylococcus* sp.

### 2.1.5 Diagnóstico laboratorial

O agente etiológico da osteomielite deve ser determinado, pois não é previsível o suficiente para que uma rotina terapêutica seja estabelecida. Hemoculturas são positivas em 25 a 50% dos casos de osteomielite hematogênica na infância, mas em outras manifestações de infecção óssea, é útil em apenas 10%.

Culturas de aspirado de abscessos podem ser diagnósticas, embora culturas superficiais de feridas abertas e úlceras de pele e culturas da mucosa de seios da face não determinem o verdadeiro agente patogênico, pela presença de flora mista e colonização bacteriana local. Em pacientes com úlceras crônicas de pele, curetagem da base da úlcera, o agente isolado coincide com o do tecido ósseo em 75%.

Culturas de aspirado ósseo e biópsia por via percutânea ou debridamento cirúrgico são positivas em 70 a 93% dos casos, sendo que os aspirados devem ser coletados com seringa e agulha estéreis e enviados ao laboratório lacra-

dos, com a expulsão prévia do ar interno acumulado (Nota: agulhas devem ser descartadas previamente como medida de segurança). Os tecidos são enviados em frascos ou tubos estéreis, de preferência em pequeno volume de soro fisiológico para evitar ressecamento. Coleta de material para micobactérias, fungos e anaeróbios deve ser considerada quando a cultura bacteriana de rotina for negativa. O material coletado é preparado em lâminas para exame microscópico pela coloração de Gram e/ou Ziehl e é semeado em meios adequados para cultura de bactérias aeróbias e anaeróbias. Semeaduras em meios específicos para *Mycobacterium* e fungos são efetuadas quando solicitadas.

## 2.2 Infecções articulares (artrite infecciosa ou séptica)

### 2.2.1 Introdução

Artrite infecciosa ou séptica é uma reação inflamatória resultante da invasão direta do espaço articular por micro-organismos patogênicos, resultando em: dor, inchaço, vermelhidão, limitação dos movimentos, eventual destruição articular e permanente incapacidade se não tratada. Pode ser resultado de disseminação hematogênica e da infecção de tecido ou osso adjacente. Apesar dos significantes avanços na terapia, o impacto na morbidade e mortalidade continua inalterado. Apesar de qualquer articulação poder ser infectada, as mais comumente envolvidas são: joelho (53%), quadril (20%), ombro (11%), punho (9%), tornozelo (8%), cotovelo (7%). A infecção é mono-articular em 90% dos casos.

### 2.2.2 Epidemiologia

A artrite infecciosa ocorre em todas as faixas etárias, mas é mais comum em crianças. Homens são mais afetados que mulheres, exceto em pacientes com artrite reumatóide de base, quando as mulheres são mais afetadas. A incidência anual, em estudo realizado na Inglaterra, comprovado pelas culturas positivas, é de 1 para 62.500 casos. Qualquer micro-organismo pode invadir as articulações incluindo bactérias, fungos, vírus e protozoários, entretanto, a maioria dos casos de infecção é causada por bactérias piogênicas (estafilococos e estreptococos). As articulações são atingidas por várias vias, a mais comum sendo a via hematogênica. Outras menos comuns incluem inoculação direta durante artrocentese e artroscopia terapêutica, trauma, osteomielite adjacente, celulite, abscesso, tendosinovite e bursite séptica.

### 2.2.3 Patogênese

Assim que o micro-organismo penetra no espaço articular, inicia-se uma série de reações inflamatórias que podem levar à destruição articular e in-

capacidade permanente. A lesão articular pode evoluir mesmo após a erradicação do micro-organismo pela antibiótico-terapia, devido à persistência de antígenos bacterianos dentro da articulação, causando contínua resposta inflamatória.

#### 2.2.4 Fatores de risco

Fatores importantes incluem: idade acima de 60 anos, diabetes *mellitus*, imunodeficiências, pré-existência de artrite reumatóide e outras doenças degenerativas articulares, infecções de pele, uso de drogas intravenosas, condições debilitantes, neoplasias, leucemias, quimioterapia citotóxica, doença granulomatosa crônica, cirrose, hemoglobinopatias, artropatias e próteses articulares.

#### Micro-organismos envolvidos

<b>Gram-positivos</b>	Frequência : 60 a 90%
	<i>Staphylococcus aureus</i> (50 a 70 %)
	<i>Streptococcus grupo A B e C</i> (15 a 30%)
	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (6 a 20%)
	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (1 a 3%)
	<i>Enterococcus sp.</i> (<1%)
	<i>Corynebacterium sp.</i> (<1%)
<b>Gram-negativos</b>	Frequência : 5 a 25%
	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
	<i>Salmonella sp.</i>
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	<i>Escherichia coli</i>
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
	<i>Enterobacter sp.</i>
	<i>Brucella sp.</i>
	<i>Haemophilus influenza</i>
	<i>Kingella kingae</i>
<b>Anaeróbios</b>	Frequência (1 a 2%)
	<i>Fusobacterium sp.</i>
	<i>Bacteroides fragilis</i>

*Neisseria gonorrhoeae* é o agente mais comum de artrite séptica (USA) em indivíduos jovens sexualmente ativos. A incidência vem decrescendo nos

últimos anos, coincidindo com o advento do HIV e mudanças do comportamento sexual.

Artrite infecciosa viral é a segunda causa mais comum de artrite, depois da bacteriana.

Seguem-se as causadas por *Mycoplasma* em pacientes imuno-comprometidos, por *Borrelia burgdorferi* (Doença de Lyme), por *Mycobacterium* sp. com aumento da incidência nos últimos anos, por *Treponema pallidum* ocorrendo em qualquer estágio da sífilis. Finalmente a infecção articular por fungos, apesar de rara, decorre do aumento da incidência dos fungos oportunistas e surgimento de novas espécies em pacientes imuno-suprimidos ou imuno-deficientes.

### 2.2.5 Diagnóstico laboratorial

A suspeita de artrite séptica depende do quadro clínico apropriado, imagens e exame do líquido sinovial, porém o diagnóstico definitivo é feito pela cultura do líquido sinovial. Artrocentese é obrigatória quando infecção é considerada; todo o líquido aspirado deve ser enviado na própria seringa lacrada após a retirada do ar interno acumulado para: exame microscópico pela coloração de Gram e/ou Ziehl, semeadura em meios adequados para cultura de bactérias aeróbias e anaeróbias e contagem diferencial de leucócitos.

### 2.2.6 Processamento das amostras (líquido sinovial, aspirados, curetagens, raspados, exsudatos, tecidos e fragmentos ósseos)

#### **Para bactérias aeróbias:**

- Placa tripla: Ágar sangue/ Ágar McConkey/ Ágar azida sódica – usada para isolamento de Gram-positivos e Gram-negativos; o Ágar azida é útil para isolamento de Gram-positivos.
- Ágar-chocolate suplementado para bactérias fastidiosas incubadas em 5% de CO<sub>2</sub>.
- Frasco de hemocultura para volumes de líquido abaixo de 5 mL podem ser usados em equipamentos automáticos.
- Para líquidos com volume acima de 5 mL, centrifugar por aproximadamente 5 minutos cerca de 10 mL do material. Semear o sedimento em: placa tripla (Ágar sangue/Ágar azida sódica/Ágar McConkey) e Ágar chocolate.
- Tecidos: cortar assepticamente com tesoura e pinça estéreis em pequenos fragmentos e distribuí-los pelos meios indicados.
- Incubação: 18 a 24 horas em estufa a 35°C, se negativo, incubar por mais 24 horas.

**Para bactérias anaeróbias:**

- Brucella-ágar ou Trypticase Soy ágar acrescido de Vitamina K e Hemina.
- Tioglicolato para fragmentos de tecidos ou ossos. Proceder ao sub-cultivo antes da liberação do laudo.
- Frasco de hemocultura específico para anaeróbios para volumes de líquido abaixo de 5 mL pode ser usado em equipamento automático.
- Incubação: 48 horas em estufa a 35°C em jarra de anaerobiose, Se negativo, reincubar.

**Meios de cultura especiais:**

- Na suspeita clínica de micobactéria, semear em Lowestein-Jensen ou Middlebrook; incubar em estufa a 35°C por 40 a 50 dias para concluir que a cultura é negativa.
- Na suspeita clínica de fungos, semear em Sabouraud-glucose; incubar à temperatura ambiente por cerca de 30 dias. Recomenda-se semear um segundo tubo e incubação em estufa a 35°C para fungos sistêmicos.
- Em caso de suspeita clínica, outras culturas especiais podem ser disponibilizadas com meios específicos: *Mycoplasma* (meio A-7), e outros agentes fastidiosos.
- As culturas para vírus demandam estrutura laboratorial especializada em cultura celular.

## 2.3 Referências Bibliográficas

L. GOLDMAN, D. AUSIELLO, editors. Cecil Textbook of Medicine (2004); 22th edition; Saunders, Philadelphia, USA.

KIANG, K.M., OGUNMODEDE, F., JUNI, B.A., BOXRUD, D.J., GLENNEN, A., BARTKUS, J.M., CEBELINSKI, E.A., HARRIMAN, K., KOOP, S., FAVILLE, R., DANILA, R., LYNFIELD, R. Outbreaks of Osteomyelitis/Septic Arthritis caused by *Kingella kingae* among childcare center attendees. 2005. Pediatrics 116 (2): e206-e213.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Osteomyelitis/septic arthritis caused by *Kingella kingae* among day care attendees – Minnesota, 2003. MMWR Morb.MortalWkly. 2004. Rep.53: 241-243.

BARONS., RHONDA C. PEAKE, D.A., JAMES, M.S., CAROL A. KENNEDY, M.J., D. SINGLETON, SCHUENKES., editors. Medical Microbiology. 1996.4<sup>th</sup> edition; The University of Texas Medical Branch at Galveston, USA.

## Capítulo 3: Infecções da Pele e Tecido Subcutâneo

*Antonio Carlos Campos Pignatari  
Elsa Masae Mamizuka*

### 3.1 Introdução

A pele é o órgão mais acessível do corpo, um dos mais facilmente traumatizável e sujeito à infecção, sendo composta de duas camadas. Uma superficial denominada epiderme e a outra mais profunda denominada derme. Os folículos pilosos, as glândulas sebáceas e as glândulas sudoríparas abrem-se para a superfície cutânea. Abaixo da derme está a camada subcutânea adiposa, sob a qual localiza-se a fina membrana fascial que recobre os músculos, ligamentos e outros tecidos conjuntivos. O plano fascial cria espaço em várias partes do corpo, incluindo a cabeça, o pescoço, dedos, mãos e pés. A fascia é uma barreira que determina a extensão por onde a infecção pode se disseminar, mas pode também criar desafios terapêuticos devido à sua impermeabilidade, tendo de ser tratada cirurgicamente.

As infecções cutâneas envolvem uma grande diversidade de agentes etiológicos e mecanismos patogênicos múltiplos. Essas infecções são classificadas em primárias ou secundárias (dependendo da existência ou não de uma porta de entrada anterior à infecção), agudas ou crônicas (de acordo com a duração da infecção), podendo ainda ser mono ou polimicrobianas. As infecções que têm o foco primário em estruturas profundas podem manifestar-se como erupções cutâneas. As infecções primárias ocorrem em pacientes sem porta de entrada evidente (Ex: erisipelas). As infecções secundárias ocorrem, como complicações de lesões de pele (abrasões), traumas cirúrgicos ou feridas penetrantes. Tais infecções podem ser tanto monomicrobianas, tais como feridas infectadas por estafilococos, ou polimicrobianas, como em algumas condições gangrenosas causadas por estreptococos microaerófilos e anaeróbios. As infecções secundárias podem ser localizadas ou disseminadas, dependendo da extensão das doenças de base, ou precipitadas por algum trauma. Como exemplo de infecções agudas ou crônicas podemos citar um furúnculo estafilocócico que acaba

em poucos dias, enquanto que algumas infecções fúngicas crônicas podem durar meses ou anos.

## 3.2 Lesões eritematosas e superficiais: aspectos clínicos e diagnóstico

### 3.2.1 Impetigo

É uma infecção cutânea intra-epidérmica superficial que produz lesões eritematosas, podendo ser acompanhada de lesões pustulares ou bolhosas. O impetigo não bolhoso é normalmente causado por *Streptococcus pyogenes*, beta hemolítico do grupo A, enquanto que *Staphylococcus aureus* tem sido associado com a doença na forma bolhosa.

As lesões do impetigo não-bolhoso iniciam-se como pápulas eritematosas pequenas, que então formam vesículas (1 a 2 cm de diâmetro). Dentro de poucos dias as vesículas formam pus e se rompem. O exsudato purulento seca formando crostas finas características de coloração âmbar ou castanha, circundadas por um halo eritematoso. O exame microbiológico do material da lesão produz cultura de estreptococos do grupo A ou *S. aureus*.

O impetigo bolhoso causado por *S. aureus* é menos comum do que o causado por *S. pyogenes* e ocorre geralmente em crianças recém-nascidas. As lesões começam como vesículas e depois formam grupos característicos de bolhas superficiais flácidas (0,5 a 3,0 cm de diâmetro) com o mínimo ou nenhuma eritema circundante. As bolhas apresentam parede fina e rompem-se facilmente, revelando camada cutânea básica semelhante a queimadura de segundo grau, caracterizada como síndrome da pele escaldada. O exsudato pode ser seroso ou purulento e forma uma crosta fina marrom em desidratação.

### 3.2.2 Erisipela e celulite

A erisipela é uma infecção cutânea geralmente causada por estreptococo do grupo A, tendo sido descritos raros casos devidos a estreptococos C e G. A infecção envolve principalmente a derme e as partes mais superficiais do tecido subcutâneo com envolvimento proeminente dos linfáticos superficiais. A erisipela apresenta uma área cutânea endurecida, edematosa, avermelhada e dolorida, eventualmente com pequenas vesículas ou bolhas na superfície cutânea. O quadro clínico típico é caracterizado pelo aparecimento de alterações cutâneas com bordas elevadas e nitidamente demarcadas com pele adjacente normal ou não envolvida. O ataque agudo de febre e calafrio é notório com invariável presença de linfadenopatia.

Ao contrário da erisipela, a margem da área de celulite é pouco definida sem elevação central. O estreptococo do grupo A e o *S. aureus* são considerados os agentes etiológicos mais comuns. Algumas espécies de *Vibrio* e *Aeromonas* podem causar celulite após introdução do micro-organismo através da ferida ou laceração ocorrida durante a natação em água doce ou água do mar. A celulite causada por *H. influenzae* é relativamente rara, mas a forma distinta dessa infecção é que ela está geralmente associada com bacteremia e afeta tipicamente crianças de seis meses a 3 anos de idade.

### 3.2.3 Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico de impetigo é feito geralmente através das características clínicas das lesões. A confirmação bacteriológica geralmente não é necessária, mas pode-se cultivar em Ágar sangue o material obtido da base da lesão após lavagem com água e sabão, assepsia local com álcool a 70% e remoção da crosta. Evidência sorológica de infecção recente por *Streptococcus* do grupo A poderá ser utilizado no diagnóstico retrospectivo. A detecção do anti-corpo anti-Dnase B é um indicador mais sensível de infecção cutânea pelo estreptococo do que o título de ASLO (anti-estreptolisina O), provavelmente devido à inibição de estreptolisina pelos lipídios da pele presentes na lesão.

### 3.2.4 Folliculite

É uma infecção e inflamação dos folículos pilosos geralmente iniciada pelo bloqueio do folículo ou por pequenos traumas. A infecção é caracterizada por pápulas ou pústulas côncavas, perfuradas por pelo circundado por um halo eritematoso. A infecção é em geral causada pelo *S. aureus*. Embora a etiologia da folliculite possa ser confirmada por cultura do pus ou exsudato da lesão, essa prática geralmente não é necessária. Outras causas menos comuns de folliculite incluem membros da família Enterobacteriaceae (especialmente *Proteus* sp.). Essa pode ocorrer em pacientes com *Acne vulgaris* que recebem antibióticos orais por um período prolongado de tempo. Recentemente foram verificados surtos de folliculite através do uso de banheiras de hidromassagem e piscinas contaminadas com *Pseudomonas aeruginosa*. A erupção cutânea consiste de coceira, pápulas eritematosas ou pápulo-pustulosas.

A erupção não é única em aparência, mas tem distribuição característica envolvendo principalmente as nádegas, quadris, coxas e axilas. Essas são áreas onde se localizam as glândulas sudoríparas apócrinas as quais tendem a ser ocluídas quando se usam roupas apertadas. Além da erupção, muitos pacientes manifestam febre baixa, cefaleia, indisposição, dor de ouvido (devido à otite externa concomitante) e dor no peito (devido à mastite). A doença pode levar várias semanas, mas é geralmente autolimitada, de cura espontânea, não necessitando de terapia específica.

### 3.2.5 Diagnóstico Laboratorial

Na foliculite estafilocócica com pústulas pequenas, geralmente a bactéria não é vista no Gram e nem na cultura. Já na foliculite com pústulas maiores, o micro-organismo, geralmente *S. aureus*, pode ser recuperado na cultura.

### 3.2.6 Furunculose e Carbúnculo

O furúnculo ocorre em tecido cutâneo pela fricção e abafamento dos sítios onde se encontram os folículos (virilha, axila, pescoço e face). O *S. aureus* é o patógeno mais frequente. Tratamento com compressas quentes é geralmente adequado para pequenos furúnculos localizados. Antibióticos anti-estafilocócicos tais como oxacilina, cefalosporinas e clindamicina podem ser necessários na presença de febre ou na existência de celulite circundante, especialmente se o furúnculo ou carbúnculo estiveram localizados na face.

O furúnculo é um abscesso que se inicia no folículo piloso como um nódulo avermelhado, tornando-se doloroso e amolecido. O carbúnculo é mais profundo e extenso, apresentando-se frequentemente como abscessos subcutâneos múltiplos envolvendo vários folículos e glândulas sebáceas, drenados através dos folículos pilosos.

O carbúnculo pode estar associado com febre, mal-estar e pode se complicar pela celulite ou bacteremia. Tanto o furúnculo como o carbúnculo ocorrem em tecido cutâneo pela fricção e abafamento dos sítios onde se encontram os folículos (virilha, axila, pescoço e face). O *S. aureus* é o patógeno mais frequente.

Nos últimos anos têm sido relatados, *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina – MRSA associada à comunidade (CA-MRSA) envolvendo infecções em crianças ou adultos imunocompetentes, associados a diversos fatores de risco. A maioria das infecções causadas por CA-MRSA principalmente em crianças inclui pele e tecidos moles (SSTIs), especialmente celulite, abscesso, e foliculite. O CA-MRSA é tipicamente caracterizado pela presença de SCC-mec tipo IV, V, VII que mostram sensibilidade a antibióticos não-beta-lactâmicos e possui o gene que codifica a Leucocidina de Pantón-Valentine (PVL). PVL é uma leucotoxina que pode lisar a membrana celular de neutrófilos humanos, embora a sua importância na patogênese seja ainda controversa. Evidências recentes sugerem que PVL também possa inativar mitocôndria e culminar na sua apoptose. Em modelos animais, a PVL tem demonstrado atividade dermonecrótica. Talvez este fato possa explicar a fisiopatologia das lesões cutâneas características, associadas a infecções de pele e tecidos moles (SSTIs). Recentemente, a importância da PVL em SSTIs e nas pneumonias necrosantes tem sido colocada em questão. Alguns autores acham que

a presença ou a ausência de genes para PVL em cepas de MRSA não afeta a virulência desta bactéria em modelos de sepse ou SSTIs, quando testado em modelo de camundongo e que a sua presença, não diminui a sobrevivência de neutrófilos, nos ensaios *in vitro*.

### 3.2.7 Coleta de amostras de pele infectada

- A coleta de espécimes da pele com infecções superficiais, como: lesões superficiais, feridas ou abscessos abertos e erupções cutâneas são em geral feitas com auxílio de *swabs*. A pele em geral encontra-se colonizada com microbiota local e podem contaminar a amostra se não for adequadamente coletada. Caso tenha suspeita de infecção que envolva bactérias anaeróbias este procedimento não é adequado.
- Colheita e Transporte: As amostras devem ser coletadas após descontaminação adequada da pele para reduzir a presença de micro-organismo contaminante, com auxílio de um *swab* estéril e transportado em meio de Amies.

#### A. Exame de GRAM da amostra de feridas da pele

- Notar a presença de células polimorfonucleares, células epiteliais de descamação e micro-organismos.
- Interpretar o aspecto morfo-tintorial das bactérias e quantificá-los de acordo com as diretrizes de interpretação da coloração do Gram quantitativo.

Nº de Neutrófilos	Quantidade de células por campo de microscópio objetiva de 10x				
	Valor Q para neutrófilos	Valor Q para a presença de células epiteliais de descamação seguindo-se os códigos numéricos			
		0	1-9	1-24	>=25
		0	-1	-2	-3
0	0	(1)	0	0	0
1-9	1+	1	0	-1	-2
1-24	2+	+2	+1	0	-1
>=25	3+	+3	+2	+1	0

Considerar o valor do Q para a célula de descamação e para a quantidade de neutrófilos. Somar os dois valores de Q juntos. Os espécimes clínicos com valores de Q positivos pressupõem conter número elevado de patógenos em potencial e o número diminuído de contaminantes em potencial. As amostras clínicas com valores negativos ou zero pressupõem a presença de contaminação com a flora local. As espécimes clínicas com ausência de células de descamação ou neutrófilos são classificadas com valor 1, permitindo assim que os

pacientes neutropênicos ou aqueles com processos necróticos, ou com secreções graves, sejam interpretadas de forma aceitável.

Nota: O primeiro conjunto de números da tabela refere-se a valores de Q somente para as células epiteliais de descamação. Os quatro conjuntos seguintes de números são os valores Q para a soma dos neutrófilos e células epiteliais de descamação.

#### B. Interpretação de resultados de cultura

- Proceder ao exame das placas após incubação de 24 e 48 horas. Os patógenos em potencial incluem: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*. Crescimento denso, de cultura pura, de outros micro-organismos predominantes que mostre consistência com a coloração de Gram poderá ser significativo se for observado  $\geq 1+$  neutrófilo polimorfonuclear.

#### C. Teste de Sensibilidade a antimicrobianos

- Realizar o teste de acordo com as diretrizes de emissão de laudos e protocolo do laboratório.

#### Relatório de resultados:

- **Coloração de Gram:** Emitir resultado quantitativo da presença de células epiteliais de descamação, de neutrófilos, e micro-organismos. Caso o valor de Q seja negativo, adicionar comentário no relatório tais como: O exame bacterioscópico do Gram indica potencial contaminação com a flora da pele.
- **Cultura:**
  - Resultado Negativo: Não crescimento, ou crescimento de outro tipo da flora normal, dependente de sítio de onde foi isolado – seguindo-se o protocolo do laboratório.
  - Resultado Positivo: Quantificar todos os isolados significativos e relatar o resultado juntamente com o teste adequado de sensibilidade. Na presença da microbiota de pele relatar também a quantidade.

#### 3.2.8 Paroníquia

É uma infecção superficial na prega da unha que pode ser aguda ou crônica. As infecções agudas são geralmente devidas a *Staphylococcus aureus*, que poderá ser cultivado de drenagem purulenta.

Tratamento com compressas quentes são geralmente adequadas, embora a incisão cirúrgica e drenagem sejam necessárias. A paroníquia crônica é ge-

ralmente associada com imersões frequentes das mãos em água de sabão, sendo o agente mais comum a *Candida* sp.

### 3.2.9 Diagnóstico Laboratorial

Poderá ser confirmado pela cultura do aspirado ou drenagem do pus em aerobiose no Ágar Sangue.

#### Diagnóstico de lesões eritematosas superficiais

Doenças e Síndromes	Agente etiológico mais frequente	Diagnóstico Laboratorial
Impetigo	<i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	Gram, Cultura em Ágar Sangue ou Ágar Chocolate
Erisipela	<i>Streptococcus pyogenes</i> (grupo A), eventualmente outros sorogrupos (G,C ou B) <i>S. aureus</i>	Gram, Cultura em Ágar Sangue, Ágar chocolate, Caldo trypticase soja
Celulite	<i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>S. aureus</i> Menos frequentes: Enterobactérias, <i>Pasteurella</i> spp., <i>Aeromonas</i> spp., <i>Clostridium</i> spp., <i>B. anthracis</i> , <i>Erysipelotrix</i> spp.	Gram, Cultura em Ágar Sangue, Ágar Chocolate, Ágar Mac Conkey, Caldo tioglicolato, Caldo trypticase soja.
Foliculite, Furúnculos	<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram, Cultura em Ágar Sangue
Paroníquia	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> , <i>Candida</i> spp.	Gram, Cultura em Ágar em Sangue
Micoses superficiais	<i>Candida</i> spp., <i>Epidermophyton</i> spp., <i>Microsporum</i> spp.	KOH 10%, Ágar Sabouraud, Dextrose + cloranfenicol e cicloheximida

### 3.3 Ulcerações e nódulos: aspectos clínicos e diagnóstico

Nas ulcerações cutâneas geralmente há uma perda parcial do tecido dérmico ou epidérmico. Nódulos são focos inflamatórios onde a maior parte da camada superficial cutânea está intacta. Uma variedade de bactérias e fungos causa lesões nodulares ou ulceradas do tecido cutâneo, ou ambas, após inoculação direta. Exemplos importantes incluem: *Corynebacterium diphtheriae*, *Bacillus anthracis*, *Nocardia* spp., *Mycobacterium marinum* e *Sporotrix schenckii*.

Alternativamente, as infecções cutâneas podem ocorrer após a disseminação hematogênica de micro-organismos que eclodem na pele provenientes de outros focos de infecção. Por exemplo, *P. brasiliensis* e *Cryptococcus neoformans* podem apresentar a infecção pulmonar primária com disseminação hematogênica para sítios extrapulmonares, tais como tecidos moles e cutâneos. A microscopia e a cultura são os principais métodos para diagnóstico laboratorial. Contudo, existem alguns testes sorológicos disponíveis para certos micro-organismos, incluindo alguns fungos.

## Diagnóstico de ulcerações e nódulos

Doenças e Síndromes	Agente Etiológico	Diagnóstico Laboratorial
Lesões esporotricóides	<i>Sporotrix schenckii</i> , <i>Mycobacterium marinum</i>	Gram, Ziehl, PAS, Gomori Metenamina, cultura de biópsia para micobactérias, Ágar Sangue (selado com parafilme durante 4 semanas), Sabouraud dextrose com cloranfenicol e cicloheximida.
Blastomicose, Criptococose	<i>Paracoccidioides brasiliensis</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i>	Cultura em Ágar Sangue, Sabouraud, dextrose + cloranfenicol + cicloheximida, Tinta da china e/ou calcofluor para <i>C. neoformans</i> .
Difteria cutânea	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Coloração de Gram/ Albert Layburn, Meios de Loeffler e Ágar cistina-telurito.
Antraz	<i>Bacillus anthracis</i>	Cultura em Ágar Sangue e Ágar Sangue telurito

Diagnóstico laboratorial – Gomori Metenamina cultura de biópsia para micobactérias

## 3.4 Fístulas e queimados: aspectos clínicos e diagnóstico laboratorial

### 3.4.1 Fístulas

Os principais agentes etiológicos e os recursos para diagnóstico laboratorial encontram-se na Tabela a seguir.

Fístula é uma comunicação entre o tecido profundo infectado ou abscesso através do tecido subcutâneo abrindo-se sobre a superfície cutânea. Isso ocorre em infecções profundas como em osteomielites, piomiosites, linfadenites ou abscessos intra-abdominais. As infecções de próteses como as de quadril e fêmur, cirurgias cada vez mais frequentes, são causas comuns de fístulas de longa duração, cujo tratamento não responde ao uso isolado de antimicrobianos exigindo quase sempre a retirada da prótese. Em muitos casos a infecção é polimicrobiana e os germes que colonizam as porções cutâneas da fístula podem ser diferentes dos encontrados no tecido profundo. Por essa razão, as culturas feitas a partir do material que exsuda para a superfície cutânea da fístula podem ser enganosas.

Vários micro-organismos de infecções do tecido mole são caracterizados através do trato fistulizado. O *Staphylococcus aureus* produz abscessos profundos e secreta pus espesso. A linfadenite cervical causada por micobactéria, especialmente a tuberculose cervical, pode produzir drenagem crônica da fístula denominada escrófulo. A actinomicose é uma infecção cérvico-facial extremamente dolorida e edemaciada ao redor do ângulo do queixo que drena secreção aquosa contendo os denominados grãos de enxofre (devido a cor amarelada). Esses grânulos amarelados são constituídos de

massas bacterianas, medindo geralmente 2 mm de diâmetro. Quando não tratada, a actinomicose progride para uma fistulização crônica. A fonte de tal micro-organismo é a cavidade oral do próprio paciente e a má higiene bucal provavelmente constitui o fator desencadeante. A maduromicose plantar ocorre quando os micro-organismos do solo como *Nocardia* sp. e vários fungos (ex: *Petriellidium boydii*, *Madurella mycetomatis* e *Phialophora verrucosa*) são inoculados em tecidos moles do pé e produzem múltiplos abscessos com fístulas e às vezes osteomielites.

### 3.4.2 Diagnóstico Laboratorial

A cultura é extremamente prejudicada pela dificuldade na obtenção das amostras clínicas provenientes do trato fistulizado. Existe uma baixa correlação entre os resultados de cultura do material superficial e aqueles obtidos de tecidos profundos infectados. Se for realizada uma exploração cirúrgica, pode-se então fazer cultura do material obtido das porções mais profundas da fístula. É possível ainda obter material para cultura através de punção ou cateterização da fístula com cuidados de assepsia. Se aparecerem sintomas generalizados como febre e calafrios é indicada a realização da hemocultura, que poderá revelar micro-organismos mais significativos.

O procedimento para cultura pode ser o mesmo feito com feridas cirúrgicas e deve ser programado para recuperar tanto bactérias aeróbias como anaeróbias.

### Diagnóstico de Fístulas

Doenças e Síndromes	Agente Etiológico	Diagnóstico Laboratorial
Actinomicose	<i>Actinomyces</i> spp.	Gram, cultura em anaerobiose à 37°C, em Ágar Sangue e em caldo por 1-2 semanas.
Maduromicose Maduromicose podal	<i>Madurella mycetomatis</i> , <i>Phialophora verrucosa</i> , <i>Petriellidium boydii</i>	KOH 10%, cultura em Ágar Sabouraud com e sem cloranfenicol + Cicloheximida.
Tuberculose	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Ziehl-Neelsen, auramina, cultura em meio de Lowenstein-Jensen, PCR
Infecções mistas ou foco crônico	<i>Staphylococcus aureus</i> , Enterobactérias, <i>Pseudomonas</i> spp.	Gram, cultura do aspirado ou do tecido profundo em ágar-sangue e ágar Mac Conkey

### 3.4.3 Queimados

Historicamente, o estreptococo hemolítico e o estafilococo foram os micro-organismos mais comumente encontrados em infecções de queimados. Com o advento dos antimicrobianos, tais infecções foram substituídas por

*Staphylococcus aureus* oxacilina-resistentes (ORSA), bacilos Gram-negativos, notadamente *Pseudomonas aeruginosa* e leveduras como a *Candida albicans* ou fungos filamentosos como *Fusarium* sp.

#### 3.4.4 Diagnóstico Laboratorial

A superfície queimada contém tecido morto e fluido rico em proteínas. Micro-organismos da flora do próprio paciente ou do meio ambiente colonizam essa superfície. O crescimento dos germes sobre tal superfície continua até que esteja presente uma densa carga microbiana. Quando a concentração bacteriana for grande o suficiente, ocorre infiltração dos tecidos mais profundos provocando infecção generalizada com bacteremia. Os estudos sugerem que a ocorrência de invasão, seguida de complicações, está associada à contagem bacteriana de  $10^5$  UFC/grama de tecido. Isso leva ao desenvolvimento de métodos quantitativos, tanto em esfregaços como em culturas como também para as biópsias cirurgicamente removidas das queimaduras.

Foi demonstrado que culturas somente de tecidos superficiais são inadequadas e frequentemente enganosas. Consequentemente, a cultura de tecido profundo é empregada em muitos laboratórios, apesar de tal procedimento ser também controverso devido à dificuldade na interpretação. Embora a biópsia tenha sido amplamente empregada, os resultados mostram inadequações. As queimaduras nem sempre são colonizadas e a seleção dos sítios da biópsia é importante. Esse conceito levou ao emprego de uma variedade de técnicas para estimar em que profundidade os micro-organismos se disseminam. Tais métodos incluem uma variedade de técnicas histopatológicas e microbiológicas.

**Cultura e bacterioscópico quantitativo** – o esfregaço e a cultura quantitativa são realizados com biópsias removidas cirurgicamente da queimadura. Enquanto alguns preferem no mínimo 0,5g de tecido outros aceitam uma porção menor. Escolhe-se uma área com sinais de infecção, após limpeza do local retira-se um fragmento de tecido vivo que deve ser acondicionado em recipiente estéril.

No laboratório a biópsia é pesada, empregando-se balança com precisão de 0,001g. O tecido então é homogeneizado em caldo ou salina com volume conhecido utilizando-se um liquidificador ou homogeneizador elétrico. O material é diluído à razão de 10 até  $10^{-5}$  (peso/vol.) e semeado em vários meios de cultura, incluindo o ágar sangue e ágar Mac Conkey e em casos suspeitos cultura para bactérias anaeróbias estritas. Os germes isolados são identificados e submetidos a estudos de sensibilidade. E o valor quantitativo

de cada micro-organismo isolado é calculado a partir do peso inicial da biópsia e da diluição empregada.

Os métodos para testar a sensibilidade de drogas de uso tópico foram desenvolvidos, porém não são de emprego rotineiro por falta de padronização e porque o significado clínico continua duvidoso.

O bacterioscópico quantitativo pode ser realizado ao mesmo tempo, segundo o método desenvolvido por Magee e cols. Uma quantidade conhecida do homogeneizado é espalhada por uma área total de 1 cm<sup>2</sup> em uma lâmina e deixado para secar. A coloração é feita e 10 campos são examinados com objetiva de imersão com aumento de 100 vezes. Uma série de cálculos permite a determinação de contagem bacteriana em termos de micro-organismos por grama de tecido.

**Técnicas histopatológicas** – as técnicas histopatológicas foram usadas para detectar infecções fúngicas e na tentativa de localizar o micro-organismo no tecido queimado.

Os métodos histopatológicos apresentam uma série de desvantagens:

- A quantidade do tecido examinado é muito pequena sendo limitado para pequenos cortes feitos a partir de biópsia.
- O reconhecimento do germe em corte histológico é muito mais difícil em lâminas coradas necessitando de microscopista experiente.
- A concentração bacteriana necessária para permitir seu reconhecimento embora ainda não estabelecida parece ser em torno de 10<sup>5</sup> UFC ou mais por grama de tecido.
- O método histopatológico necessita de cultura simultânea para obter a identificação e o antibiograma dos micro-organismos.

Embora a correlação entre cultura e exame histopatológico, em geral, seja boa, às vezes ocorrem discrepâncias.

### **3.5 Infecção em feridas cirúrgicas ou infecção do sítio cirúrgico: aspectos clínicos e diagnóstico laboratorial**

A infecção em ferida cirúrgica ou infecção do sítio cirúrgico ocorre quando a mesma é contaminada com micro-organismos, geralmente em período intra-operatório ou imediatamente no peri-operatório. A fonte de bactérias pode incluir sítios colonizados do corpo dos pacientes, tais como narinas, cavidade oral, trato genital feminino,

trato alimentar e a pele. A equipe médica e de enfermagem representam fonte potencial de infecção assim como o ambiente do hospital.

Os fatores de risco do hospedeiro que podem contribuir para a patogênese da infecção cirúrgica incluem obesidade, diabetes *mellitus*, insuficiência vascular e imunodeficiências. Os fatores microbiológicos incluem a carga microbiana e a virulência de cada germe. Podem contribuir para a probabilidade da infecção fatores cirúrgicos e pré-operatórios, tais como a duração da operação, intercorrências levando a contaminações, condições hemodinâmicas com baixa perfusão tecidual, má hemostasia, presença de corpo estranho e de tecido desvitalizado. Para iniciar uma infecção na presença desses fatores de risco, a carga infectante do agente infeccioso é muito menor que a necessária para causar infecção em tecido saudável.

A taxa de infecção varia em função do grau de contaminação do sítio cirúrgico. O procedimento cirúrgico pode ser classificado como limpo, potencialmente contaminado, contaminado e infectado. Nessa classificação, o risco de infecção pós-operatória está implícito. Além disso, as infecções de sítios remotos, por exemplo, infecção do trato urinário, colocam o paciente em cirurgia num alto risco de infecção pós-operatória.

Os principais patógenos são: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Pseudomonas* spp., *Enterococcus* spp., *Bacteroides* spp., etc. Algumas feridas que parecem infectadas podem não apresentar patógeno em cultura, enquanto outras apresentarão crescimento de múltiplas espécies.

As feridas superficiais começam frequentemente na sutura cirúrgica e podem apresentar dor, calor, edema e rubor. O pus pode exsudar-se, principalmente quando são removidos um ou mais pontos para permitir a livre drenagem. A exsudação mal cheirosa pode sugerir presença de bactérias anaeróbias, mas também pode resultar de outras bactérias como *Proteus* spp.

Os micro-organismos como *Mycobacterium chelonae* e *Mycobacterium fortuitum* podem causar infecção, complicando a cirurgia cardíaca ou mamoplastia, cirurgia ocular e outras cirurgias limpas. Tais micro-organismos podem causar doenças crônicas desfigurantes.

### 3.5.1 Diagnóstico Laboratorial

O volume do pus aspirado ou o *swab* pesadamente impregnado com o pus pode ser examinado microbiologicamente. O esfregaço e a coloração do Gram poderão dar algumas indicações da variedade da flora infectante. Alguns laboratórios fazem de rotina a cultura do exudato de ferida superficial para germes aeróbios e facultativos em ágar sangue e ágar Mac Conkey

assim como cultura em caldo. Cultura para bactérias anaeróbias de feridas superficiais na ausência clínica é caro e improdutivo.

Material purulento de feridas profundas ou de feridas que mostram bolhas de gás deve ser cultivado para germes anaeróbios assim como para aeróbios e facultativos.

O *Mycobacterium chelonae* e o *Mycobacterium fortuitum*, embora classificados como micobactérias de crescimento rápido e capazes de crescer em meios simples, geralmente necessitam de uma a seis semanas para crescer em cultura primária. Tais micro-organismos, especialmente *M. chelonae*, podem ser erradamente identificados como difteróides numa cultura em caldo, a menos que se realize coloração para pesquisa de bacilos álcool-ácido resistentes.

Quando se relata isolamento de micro-organismos em feridas infectadas é essencial levar-se em conta a origem da amostra clínica. Assim, todos os estafilococos coagulase-negativa isolados de feridas de esternotomia infectadas ou associados com cirurgia vascular ou de implante ortopédico devem ser considerados como potencialmente patogênicos fazendo-se o antibiograma.

Inversamente, baixo número de estafilococos coagulase-negativa associado com flora entérica em ferida infectada de incisão no cólon deveria ser descartada não devendo realizar antibiograma nesse caso. A razão dessa conduta é que tal micro-organismo não constitui problema clínico e irá desaparecer quando outros patógenos forem eliminados.

### Diagnóstico de Infecção de Feridas Cirúrgicas

Infecções	Agente Etiológico	Diagnóstico Laboratorial
Infecção pós-operatória simples	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Streptococcus</i> grupo A, Enterobactérias, Enterococos, <i>Bacteroides</i> spp., <i>Clostridium</i> spp.	Gram, Cultura do pus, aspirado ou tecido em ágar Sangue, ágar Mac Conkey, Caldo tioglicolato empregando cultura em aerobiose e meio seletivo para anaeróbios em ambiente de anaerobiose estrita.
Infecção de feridas complicadas	<i>Streptococcus</i> grupo A, <i>Staphylococcus aureus</i> , Enterobactérias, <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Vibrio vulnificus</i> , <i>Bacteroides</i> spp., <i>Clostridium</i> spp., cocos anaeróbios, cocos microaerófilos, <i>Fusobacterium</i> spp.	Gram, Cultura em aerobiose, em jarra de anaerobiose e microaerofilia (método da vela) do pus ou tecido. Ágar sangue, Ágar Mac Conkey, Caldo tioglicolato, Ágar enriquecido e seletivo para anaeróbios estritos.

## 3.6 Infecções complicadas e lesões causadas por mordedura: aspectos clínicos e diagnóstico laboratorial

### 3.6.1 Infecções complicadas

As infecções complicadas da pele e de estruturas subjacentes podem ocorrer após cirurgia ou trauma.

A classificação dessas infecções é difícil devido à superposição do sítio anatômico afetado, ao micro-organismo responsável e à manifestação clínica. Muitas dessas infecções são graves, de progressão rápida, e associadas com altas taxas de mortalidade.

A gangrena infecciosa é doença rara onde as necroses bolhosas da pele podem estar associadas com bacteremia e lesões metastáticas. Essa doença é frequentemente fatal. A gangrena sinérgica, às vezes referida como “gangrena de Meleney”, é em geral uma complicação da cirurgia do trato alimentar. Tal infecção inicia-se como uma úlcera próxima à ferida e pode se disseminar para afetar mais a parede abdominal anterior. A gangrena gasosa está geralmente associada com *Clostridium perfringens*, micro-organismo que tanto pode colonizar a ferida sem causar doença como pode causar celulite grave, estender-se para a musculatura evoluindo para mionecrose e, com frequência, para o órbita. Essa infecção pode estar mais associada com supuração aquosa e fina do que com exsudato purulento. Uma síndrome semelhante de necrose muscular pode ser causada por *Aeromonas hydrophila* e *Vibrio vulnificus*, enquanto a celulite pode ainda ser causada por *Vibrio* spp., *Klebsiella* spp., *Escherichia coli* e/ou outros anaeróbios que não *Clostridium* spp. tais como *Bacteroides* spp. e cocos.

A fasciíte necrosante inicia-se geralmente como ferida cirúrgica do abdômen e dissemina-se lateralmente para os flancos, até a linha de mamilo e desce para a região inguinal. O tecido que recobre a pele parece normal no início da doença, tornando-se vermelho azulado conforme a doença progride. O pus pode ser drenado através da pele dos flancos ou de outras partes da ferida original.

A “doença de Fournier” é uma forma de fasciíte necrotizante que afeta a região do períneo ou escroto, onde as camadas superficiais da pele enegrecem e descamam. Pode haver envolvimento de bactérias anaeróbias como *Bacteroides* spp. *Fusobacterium* spp., *Clostridium* spp. e cocos Gram-positivos, bem como bactérias facultativas como Enterobactérias, estafilococos, enterococos. Os estreptococos microaerófilos são vistos frequentemente em sinergia gangrenar ou associados com *S. aureus* e membros da família Enterobacteriaceae. A infecção pode se complicar e estender-se para os músculos da perna quando há

comprometimento vascular, assim como em pacientes com diabetes *mellitus*. Pode existir mionecrose extensiva causada por anaeróbios como *Clostridium* spp., cocos anaeróbios e *Bacteroides* spp. em área de insuficiência vascular. A flora facultativa também pode estar presente, incluindo *Proteus* spp.

### 3.6.2 Diagnóstico Laboratorial

As bactérias comumente isoladas de feridas infectadas incluem *S. aureus*, *S. pyogenes* (grupo A), cocos anaeróbios, *Clostridium* spp., especialmente *C. perfringens*, membros da família Enterobacteriaceae, *Bacteroides* spp. e *Fusobacterium* spp.

Para pesquisa laboratorial eficiente necessita-se da coleta de volume adequado (até 5mL) de aspirado de pus ou biópsia de tecido. As amostras clínicas líquidas podem ser transportadas em tubos para transporte de anaeróbios ou sacos plásticos com ambiente anaeróbio; se não houver disponibilidade de nenhum desses meios de transporte, pode-se utilizar a própria seringa onde se colheu o material clínico, enviando-se o material o mais rápido possível ao laboratório. Recomenda-se processar o material dentro da primeira hora.

Os cortes de tecido devem ser enviados ao laboratório em tubo com salina para manter a umidade. Tecidos para análise microbiológica não devem ser colocados em formol, podendo ser colocados em meio de transporte.

A coloração de Gram pode indicar uma variedade de micro-organismos associados com a lesão e uma terapia presuntiva poderá ser guiada pelo resultado do Gram. No caso particular da mionecrose causada por *C. perfringens*, o agente pode ser facilmente reconhecido por sua morfologia de bacilo Gram-positivo típico com extremidade angular. Nesses casos, nota-se pouca quantidade de pus na amostra.

As amostras podem ser cultivadas em ágar sangue ou ágar Mac Conkey. Os germes facultativos comuns irão aparecer em 24 horas. O exame microbiológico de todas essas infecções requer cultura para bactérias anaeróbias, assim como para aeróbios e anaeróbios facultativos.

### Diagnóstico de Infecções Complicadas

Quadro Clínico	Agente Etiológico	Diagnóstico Laboratorial
Fasciite Necrotizante	<i>S. pyogenes</i> ou anaeróbios associados a bactérias facultativas	Ágar sangue, Ágar Mac Conkey, Caldo tioglicolato.
Gangrena de Fournier	<i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>Enterococcus</i> spp., anaeróbios estritos, etc.	Ágar sangue, Ágar Mac Conkey, Caldo tioglicolato.

### 3.7 Infecções Complicadas por Mordeduras

Os ferimentos de mordeduras tanto de humanos como de animais podem ser contaminados com a flora oral do agressor, assim como podem ser causados por traumas relacionados à cavidade oral, tendo como primeiras lesões as causadas por dentadas ou decorrentes de mastigação.

#### 3.7.1 Diagnóstico Laboratorial

A cultura de mordedura recente não está indicada, pois o seu resultado não tem aplicação clínica. O melhor material para cultura é geralmente o pus aspirado da profundidade da ferida ou a cultura feita durante a incisão e drenagem dessa amostra ou debridamento da ferida infectada. Deve-se realizar cultura tanto para bactérias aeróbias quanto para anaeróbias com uma variedade de meios de cultura para auxiliar na separação prévia dos micro-organismos misturados.

#### Diagnóstico de Lesões Causadas por Mordeduras

Mordeduras	Agente Etiológico	Diagnóstico Laboratorial
Mordedura de animais	<i>Pasteurella multocida</i> (cão e gato), <i>Streptobacillus moniliformis</i> (rato), Anaeróbios, <i>Capnocytophaga</i> spp. (cão), <i>Staphylococcus aureus</i> (cão e gato)	Gram, Ágar sangue, Ágar Mac Conkey, Hemocultura
Mordedura e arranhadura de gatos	<i>Bartonella henselae/quintana</i>	Histologia, cultura em ágar sangue com 5-10% CO <sub>2</sub> , PCR
Mordeduras humanas	<i>Streptococcus viridans</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Eikenella corrodens</i> , <i>Capnocytophaga</i> , Anaeróbios estritos, etc.	Gram, cultura de aeróbios em Ágar sangue, Ágar Mac Conkey, Ágar chocolate e cultura em anaerobiose em meio enriquecido e seletivo para anaeróbios.

### 3.8 Referências Bibliográficas

BABA T., TAKEUCHI F., KURODA M., YUZAWA H., AOKI K., OGUCHI A., NAGAI Y., IWAMA N., ASANO K., NAIMI T., et al. Genome and virulence determinants of high virulence community-acquired MRSA. *Lancet* 359:1819–1827, 2002.

DAVID, M.Z., DAUM, R.S. CUMITECH 23, Infections of the skin and subcutaneous tissues. 1988. ASM Press. Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Epidemiology and Clinical Consequences of an Emerging Epidemic. *CLINICAL MICROBIOLOGY. REVIEWS* , 23:(3) ,616-687, 2010.

FRANK A.L., MARCINAK J.F., MANGAT P.D., TJHIO J.T., KELKAR S., SCHRECKENBERGER P.C., QUINN J.P. Clindamycin treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in children. *Pediatr Infect Dis J* 21:530-534, 2002.

HUSSAIN F.M., BOYLE-VAVRA S., BETHEL C.D., DAUM R.S. Current trends in community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at a tertiary care pediatric facility. *Pediatr Infect Dis J* 19:1163–1166, 2000.

ISENBERG, H. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*, American Society for Microbiology. Washington DC. 1992.

KAPLAN S.L., HULTEN K.G., GONZALEZ B.E., HAMMERMAN W.A., LAMBERTH L., VERSALOVIC J., MASON E.O. Three-year surveillance of community acquired *Staphylococcus aureus* infections in children. *Clin Infect Dis* 40:1785-1791, 2005.

MILLER, J.M. *A Guide to Specimen Management in Clinical Microbiology*, American Society for Microbiology. Washington DC. 1996.

MURRAY, P.R. *ASM Pocket Guide to Clinical Microbiology*. American Society for Microbiology. Washington DC. 1996

PATRICK R. MURRAY, E.J.O., BARON, J.H., JORGENSEN, M.L., LANDRY, M.L, PFALLEA.R., *Manual of Clinical Microbiology*, 9<sup>th</sup> ed.,: American Society of Microbiology Washington, DC. 2000.

Procedures/Guidelines for the Microbiology Laboratory Procedures Guidelines, In: College of Physicians & Surgeons of Saskatchewan Laboratory Quality Assurance Program 1<sup>o</sup> Edition. p.44. 2010.



## Capítulo 4: Infecções Intestinais

*Alessandro Lia Mondelli  
Elsa Masae Mamizuka  
Carlos Emílio Levy*

### 4.1 Introdução

A doença diarreica ainda continua a figurar como um dos maiores problemas da saúde humana. Foi estimada uma ocorrência de um bilhão de episódios de diarreia, no mundo, por ano em crianças abaixo de cinco anos de idade, resultando em 2,5 milhões de óbitos. A diarreia é particularmente devastadora em crianças que sofrem concomitantemente de doenças infecciosas, como sarampo, imunodeficiência e subnutrição protéica, fatores muito frequentes nos países em desenvolvimento. Em tais países, estima-se que a criança apresenta três a quatro vezes mais episódios de diarreia por ano do que as que vivem em países de elevado nível de saneamento básico e com sistemas adequados de suprimento de água.

Embora a morbidade e a mortalidade, devido à doença diarreica, sejam mais importantes em crianças lactentes, essa enfermidade tem impacto importante também em adultos. Os adultos, em média, sofrem de um a dois episódios de diarreia anualmente. Esse fato resulta em custos econômicos devido à utilização das fontes de recursos para saúde e perda da produtividade.

As causas das síndromes gastrointestinais acompanhadas de dor, diarreia ou disenteria podem ser:

- Infecciosas, causadas por bactérias, fungos (menos frequentes), vírus, parasitas e protozoários.
- Não infecciosas, alérgicas, causadas por erro alimentar, envenenamento, etc.

O custo para se fazer um exame de fezes visando todos os patógenos em potencial descritos na literatura é proibitivo. Devem ser desenvolvidas estratégias para assegurar a maior taxa de positividade possível, uma vez que a coprocultura tem custo alto por resultado positivo.

A identificação daqueles casos de doenças diarréicas causadas por agentes que necessitam de terapia que não seja apenas a hidratação oral é de particular relevância. Também é importante identificar o agente etiológico responsável por surtos de toxinfecção alimentar, para que as técnicas de manuseio alimentar possam ser notificadas para prevenir transmissões posteriores.

A maioria dos casos de diarreia comunitária em adultos é de causa inflamatória, e as fezes podem ser triadas para verificar a presença de leucócitos por meio da coloração de azul de metileno. Entretanto, a sensibilidade da pesquisa de leucócitos nas fezes é menor que 90%. A ausência de leucócitos não poderá descartar agentes causadores de diarreia inflamatória, mas a presença desses pode diferenciar dos agentes causadores de diarreia não inflamatória, incluindo micro-organismos toxigênicos, como *Vibrios*, *E. coli* (ETEC), agentes virais e certos agentes parasitários.

Nos meses de inverno, as crianças com diarreia devem ser triadas primeiro para Rotavírus e, somente quando o exame for negativo, as amostras fecais devem ser testadas para outros patógenos bacterianos.

Um papel importante que o laboratório desempenha no controle da diarreia de pacientes da comunidade é na detecção de surtos de fontes comuns. O laboratório deve notificar às autoridades da Saúde Pública toda vez que houver crescente isolamento de patógenos entéricos. Por exemplo, em muitas instituições infantis como a creche, o isolamento de mais de um caso de *Shigella* spp. em crianças menores de cinco anos de idade, dentro de um período de uma semana, poderá sugerir um surto de shigelose.

Considera-se como diarreia de origem hospitalar quando o episódio ocorre após três dias de internação. Essa definição é razoável quando se reconhece que certos pacientes serão admitidos no hospital devido a sintomas de diarreia (especialmente em crianças pequenas) ou com episódio de diarreia autolimitada, geralmente induzida por vírus durante ou próximo ao momento da internação.

Em crianças, o Rotavírus é a causa principal de infecção relacionada à assistência à saúde sendo esse o único agente para o qual as fezes de crianças com diarreia desenvolvida no hospital devem ser rotineiramente pesquisadas. Atualmente a vacinação contra o Rotavírus tem demonstrado resultados eficazes ao seu combate. Em adultos, os estudos têm mostrado que o *Clostridium difficile* é o único agente bacteriano confiavelmente detectado em fezes de pacientes com diarreia de origem hospitalar.

Deve-se entender também que alguns pacientes, particularmente os imunocomprometidos e em destaque os portadores de HIV, podem estar infectados com mais que

um agente e que o encontro de um agente infeccioso não exclui a possibilidade da presença de outros; assim, o exame deve ser realizado de forma completa.

### Principais agentes das diarreias infecciosas

<b>Evacuação acompanhada de tenesmo, sangue, muco e dor</b>	<p>Disenteria bacilar: <i>Shigella dysenteriae</i>, <i>Shigella flexneri</i>, <i>Shigella sonnei</i>, <i>Shigella boydii</i>, <i>E. coli</i> (EIEC)</p> <p>Campilobacteriose: <i>Campylobacter jejuni</i></p> <p>Disenteria amebiana: <i>Entamoeba histolytica</i></p> <p>Protozoários: <i>Balantidium coli</i>, <i>Giardia lamblia</i></p> <p>Parasitose: <i>Schistosoma mansoni</i>, <i>Strongyloides stercoralis</i>, <i>Trichinella spiralis</i>, <i>Cyclospora</i> spp., <i>Microsporidium</i> spp.</p> <p>Vibriose: <i>Vibrio cholerae</i> e <i>Vibrio parahaemolyticus</i></p> <p>Salmonelose: <i>Salmonella typhimurium</i> e outras Salmoneloses</p> <p>Febre tifóide: <i>Salmonella typhi</i></p> <p>Febre Entérica: <i>Salmonella choleraesuis</i>, <i>Salmonella paratyphi</i></p> <p>Yersiniose – <i>Yersinia enterocolítica</i></p> <p>Proctite gonocócica – <i>Neisseria gonorrhoeae</i></p> <p>Proctite Sifilítica – <i>Treponema pallidum</i></p> <p>Proctite Chlamydial – <i>Chlamydia Trachomatis</i></p> <p>Proctite Herpética – Herpes simples vírus</p>
<b>Diarreia</b>	<p>Intoxicação alimentar: <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Bacillus cereus</i>, <i>Clostridium perfringens</i>, <i>Clostridium botulinum</i></p> <p><i>E. coli</i> enterotoxigênica (ETEC)</p> <p><i>E. coli</i> enterohemorrágica (EHEC)</p> <p><i>E. coli</i> enteropatogênica (EPEC)</p> <p><i>E. coli</i> entero-agregativa (EAEC)</p> <p><i>E. coli</i> difusamente aderente (DAEC)</p> <p>Enterocolite necrotizante do recém-nascido, enterocolite pseudomembranosa (<i>Clostridium difficile</i>), diverticulite, tífite ou enterocolite do neutropênico/imunossuprimido</p> <p><i>Helicobacter pylori</i></p> <p>Rotavírus</p> <p>Norovírus (Norwalk vírus)</p>

Nas últimas duas décadas expandiu-se bastante o conhecimento sobre agentes virais, bacterianos e protozoários e os mecanismos pelos quais a diarreia é produzida (induzida). Por exemplo:

- Retocolite ulcerativa e doença de Crohn.
- Diarreia crônica causada por *Cryptosporidium* spp. e por *Isospora* spp., reconhecidos como um dos maiores problemas em pacientes imunossuprimidos.
- Surtos de diarreia devido à contaminação da rede de água pública com *Giardia lamblia*.

A detecção dos patógenos entéricos bacterianos é dificultada pela presença de microflora fecal normal abundante e complexa. Tal flora aparece logo após o nascimento, envolvendo o intestino grosso durante o primeiro mês de vida, principalmente em resposta à mudança da dieta alimentar. Por volta do primeiro aniversário, a microflora

intestinal é totalmente estabelecida e permanece durante a vida inteira, a menos que seja induzida uma grande mudança pela terapia antimicrobiana.

A flora fecal obtida de adulto normal contém entre  $10^{11}$  -  $10^{12}$  micro-organismos por grama de fezes, dos quais mais de 99% são anaeróbios estritos, predominantemente os pertencentes aos gêneros: *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium* e *Propionibacterium*. Quando comparados com a microflora fecal facultativa, essa é mais modesta em número e variedade, com  $10^8$  –  $10^9$  organismos por grama de fezes.

O desafio para o microbiologista clínico é a tentativa de detectar vários enteropatógenos em meio incrivelmente complexo. As infecções intestinais ocorrem em função de fatores ligados ao hospedeiro, como baixa acidez gástrica que reduz significativamente a dose infectante, como sua microbiota, imunidade, motilidade, etc., e fatores ligados ao agente, destacando-se os fatores de virulência e inóculo.

### Dose infectante de patógenos intestinais

<i>Shigella</i>	10 – $10^2$ organismos
<i>Campylobacter jejuni</i>	$10^2$ – $10^6$ organismos
<i>Salmonella</i>	$10^5$ organismos
<i>E. coli</i>	$10^8$ organismos
<i>Vibrio cholerae</i>	$10^8$ organismos
<i>Giardia lamblia</i>	10 – $10^2$ cistos
<i>Entamoeba histolytica</i>	10 – $10^2$ cistos
<i>Cryptosporidium parvum</i>	1 – $10^3$ oocistos

#### 4.1.1 *Escherichia coli*

As categorias de *E. coli* mais importantes como potenciais causadoras de diarreia são: *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) ou produtora de toxina Shiga, *E. coli* enterotoxinogênica (ETEC), *E. coli* enteropatogênica (EPEC) e *E. coli* enteroinvasora (EIEC). Outras *E. coli* produtoras de toxina e outros fatores de virulência, como a *E. coli* enteroagregativa (EAEC) foram descritas, mas de importância clínica ainda não bem definida.

EHEC – *E. coli* produtoras de toxina Shiga (verotoxina) características são a O157: H7, mas mais de uma centena de outros sorotipos podem produzir essa toxina. A *E. coli* O157: H7 é a mais bem estudada e está relacionada a síndrome hemolítico urêmica, caracterizada por trombocitopenia, anemia hemolítica e insuficiência renal aguda. Em geral, é encontrada em produtos de origem animal como carne, leite e derivados, mas pode também ser dis-

seminada por meio de água não clorada, alimentos, etc. A dose infectante é baixa, por isso pode ser transmitida de pessoa a pessoa. A sorotipagem é o método de triagem mais comum, existindo antissoro específico para O157 H:7 ; *E. coli* O104:H4 ou teste com partículas de látex, devendo a cepa ser enviada ao laboratório de referência para confirmação.

EPEC – *E. coli* produtoras de enterotoxinas LT e ST não são distinguidas de outras *E. coli* por métodos bioquímicos e sua caracterização somente é realizada por laboratórios de referência, o que dificulta seu diagnóstico. É comum em crianças e uma das causas da diarreia dos viajantes. Raramente encontrada em surtos.

EPEC – As *E. coli* enteropatogênicas conhecidas como clássicas são dezenas de sorotipos de *E. coli* não produtoras de enterotoxina e não invasoras, que são causa frequente de diarreia em crianças em países em desenvolvimento, podendo ocorrer em surtos hospitalares. O quadro clínico característico é a diarreia severa, não sanguinolenta, prolongada, associada à má-absorção e desnutrição. O diagnóstico é realizado por triagem com soros polivalentes contendo anticorpos contra antígenos somáticos (O) e capsulares (K) específicos para os sorotipos prevalentes. Existem comercialmente soros monovalentes para caracterização específica. A sorotipagem pode dar resultado falso positivo, que pode ser reduzido com sorologia para antígenos H ou provas de virulência em laboratórios de referência.

EIEC – São *E. coli* que invadem as células epiteliais do cólon, causando síndrome semelhante à causada pela *Shigella* com diarreia aquosa, cólica e eventualmente diarreia sanguinolenta. São menos frequentemente isoladas que as *E. coli* anteriormente descritas. Em geral, as cepas são lisina desaminase negativas e imóveis. Existem comercialmente soros polivalentes e monovalentes contra os sorotipos prevalentes. A duração do período de incubação pode sugerir alguma etiologia específica principalmente quando há surtos.

EAEC – Também causa a diarreia dos viajantes e a diarreia persistente em crianças.

### Principais Sorogrupos de *Escherichia coli* de importância médica

Organismo	Sintomas	Sorotipos polivalente/ monovalente	Observações
EPEC – <i>E. coli</i> enteropatogênica	Vômitos, febre, diarreia, fezes com muco	A/O111, O119, O55, O26 B/O114, O125, O142, O158 C/O86, O126, O127, O128	Pesquisar somente em crianças com até 1 ano de idade
EIEC – <i>E. coli</i> enteroinvasiva	Diarreia com sangue e muco	A/O28ac, O29, O136, O144, O152 B/O112ac, O124, O143, O164, O167	
EHEC – <i>E. coli</i> entero-hemorrágica	Diarreia aquosa, sanguinolenta, febre, dor abdominal	O157: H7	
EAEC – <i>E. coli</i> enteroaderente	Diarreia		Apresenta aderência a células Hep-2 e HeLa
ETEC – <i>E. coli</i> enterotoxigênica	Diarreia aquosa profunda		Pesquisa de produção de enterotoxina LT e ST

### Sinais e sintomas associados à patogenia da doença diarreica

Diarreia		
Variável	Por Produção de Toxina	Por Invasão Tecidual
Consistência das fezes	Aquosa	Pastosa
Volume fecal	Grande	Pequena
Vômito	Presente	Ausente
Febre	Ausente	Presente
Desidratação	Importante	Leve
Sintomas após inoculação	Poucas horas a 2 dias	1 a 3 dias
Leucócitos nas fezes	Negativo	Presentes
Sangue e muco nas fezes	Negativo	Presentes
Local de infecção	Intestino delgado	Intestino grosso

A procura do agente etiológico de diarreia, disenteria ou dor abdominal, deve contar com a colaboração importante do médico, fornecendo informações clínicas e, se possível, a suspeita clínica para orientar quais os agentes a serem pesquisados. Constituem informações importantes:

- Idade do paciente.
- Principais sintomas: diarreia, presença de sangue, pus ou muco, tenesmo, dor abdominal, frequência e volume das evacuações, febre, quadro simultâneo em outras pessoas do convívio.
- É imunossuprimido? Diarreia após uso de antibióticos? etc.

## 4.2 Importantes associações nas infecções intestinais

- **Ingestão de frutos do mar:** em especial ostras, induz a pesquisa de *Vibrio parahaemolyticus* e Norovirus (vírus Norwalk).
- **Viagem a países tropicais:**
  - sem leucócitos nas fezes: *E. coli* enterotoxinogênica (ETEC), Rotavírus e Norovirus (Norwalk vírus), ou parasitas.
  - com leucócitos nas fezes: *Shigella* spp., *Salmonella* spp., *E. coli* (EIEC), *Campylobacter jejuni* e *Entamoeba histolytica*.
- **Disenteria** (muco, sangue e pus, com dor à evacuação): *Entamoeba histolytica*, *Shigella* spp., *E. coli* (EIEC).
- **Fezes com sangue, sem leucócitos fecais:** deve-se suspeitar de EHEC (O157: H7), pode estar acompanhada de síndrome hemolítico-urêmica, principalmente em crianças. Existe a possibilidade de amebíase.
- **Diarreia sanguinolenta com leucócitos:** *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Shigella* spp. e *E. coli* (EIEC).
- **Diarreia secretória**, cujo quadro importante é a desidratação, podendo evoluir para o choque e as fezes apresentam aspecto de água de arroz, sugerindo o diagnóstico de cólera.
- **Diarreia e vômito significativo**, em crianças pequenas sugere Rotavírus.
- **Diarreia crônica ou subaguda** tem duração >14 dias, com ou sem flatulência, pode-se direcionar o exame para o diagnóstico de giardíase. Lembrar de ciclosporiase e criptosporidiose. Ou na suspeita de uma síndrome apendicular pode-se sugerir uma yersiniose.
- **Diarreia acompanhada de artrite reativa e eritema nodosum:** *Yersinia enterocolitica*
- **Enterite aguda em indivíduos sadios, diarreia dos viajantes como a pseudoapendicite:** *Campylobacter jejuni*
- **Em pacientes imunossuprimidos** considerar os seguintes agentes: *Cytomegalovirus*, *Cryptosporidium*, *Microsporidium*, *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Sal-*

*monella* spp., *Campylobacter* spp., *Shigella* spp., toxina do *Clostridium difficile*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Mycobacterium* spp., *Isospora belli*

- **Em surtos de gastroenterocolite**, deve ser considerada a presença dos seguintes patógenos: *S. aureus*, *B. cereus*, *C. perfringens*, *Cryptosporidium* spp., ETEC, *Vibrio* spp., *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Shigella* spp., EIEC e *Cyclospora* spp. Na toxi-infecção alimentar, a doença resulta da ingestão direta de enterotoxinas pré-formadas no alimento contaminado, sendo os exemplos mais comuns o *Staphylococcus aureus* enterotoxigênico, *B. cereus* e *C. perfringens*.
- **Intoxicação com incubação de curta duração**, acompanhado de vômito, pode-se sugerir uma intoxicação de origem alimentar causada por toxina de *Staphylococcus aureus* ou *Bacillus cereus*.
- **Gastroenterite viral** é a segunda maior causa de doença em países desenvolvidos, após as infecções virais do trato respiratório; e o Rotavírus é a maior causa de gastroenterite viral em países desenvolvidos e em desenvolvimento.

### Mecanismos de patogenicidade dos principais agentes de diarreia

Produção de Toxina	Invasão Tecidual	Aderência
<i>Aeromonas</i> spp., <i>Bacillus cereus</i>	<i>Campylobacter jejuni</i> <i>Edwardsiella tarda</i>	<i>E. coli</i> enteropatogênica (EPEC)
<i>Clostridium botulinum</i> , <i>Clostridium difficile</i> , <i>C. perfringens</i>	<i>E. coli</i> invasiva (EIEC)	<i>E. coli</i> enteroaderente (EAEC)
<i>E. coli</i> enterotoxinogênica (ETEC)	<i>Plesiomonas shigelloides</i>	<i>E. coli</i> enterohemorrágica (EHEC)
<i>E. coli</i> enterohemorrágica (EHEC)	<i>Salmonella</i> spp.	
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Shigella</i> spp.	
<i>Vibrio cholerae</i> , <i>V. parahaemolyticus</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>	

## 4.3 Doenças gastrointestinais de origem alimentar (alimentos e água)

### 4.3.1 Bactérias

Agente etiológico	Início dos sintomas	Dados clínicos mais comuns	Diagnóstico
<i>Bacillus cereus</i> - toxina causando vômito	1-6 h	Vômitos, diarreia ocasional; Comum em surtos de toxinfecção alimentar.	Isolamento nas fezes ou no alimento: 10 <sup>5</sup> UFC/g. Meio seletivo para <i>Bacillus cereus</i> .
<i>Bacillus cereus</i> – toxina causando diarreia	6-24 h	Diarreia e dor abdominal.	Idem.
<i>Campylobacter</i>	2-5 até 10 d	Diarreia geralmente sanguinolenta, dor abdominal e febre.	Coprocultura em meio específico (Karmali).
<i>Clostridium botulinum</i>	2 h a 8 d média: 12-48h	Distúrbios visuais, fraqueza progressiva, com paralisia descendente e bilateral. Sem diarreia.	Pesquisa de toxina no soro, fezes, coprocultura.
<i>Clostridium perfringens</i>	6-24 h	Diarreia, cólicas abdominais.	Isolamento nas fezes ou no alimento > 10 <sup>5</sup> UFC/g.
<i>E. coli</i> Enterohemorrágica (EHEC) O157: H7	1-10 d média: 4-5 d	6% das crianças com síndrome hemolítico-urêmica e também pode ocorrer em adultos. Púrpura trombocitopênica e insuficiência renal aguda; diarreia sanguinolenta é característica, fortes cólicas abdominais.	Isolamento de <i>E. coli</i> O157: H7 nas fezes e/ou alimento – (soroaglutinação) CHROMagar O157.
<i>E. coli</i> enterotoxinogênica (ETEC)	6-48 h	Diarreia, náuseas, cólicas abdominais.	Coprocultura para isolamento e testes p/ enterotoxina ST/LT.
<i>E. coli</i> enteropatogênica (EPEC)	Variável	Diarreia, febre, cólicas abdominais.	Coprocultura para isolamento e sorotipagem.
<i>E. coli</i> enteroinvasora (EIEC)	Variável	Diarreia que pode ser sanguinolenta, febre, cólicas abdominais.	Coprocultura para isolamento e sorotipagem.
<i>Listeria monocytogenes</i> – forma diarreia	9-32 h	Diarreia, febre, cólicas abdominais.	Coprocultura em caldo de enriquecimento (caldo Fraser, caldo Listeria) e meio seletivo para <i>Listeria</i> spp.
<i>Salmonella typhi</i>	3-60 d média: 7-14 d	Febre, anorexia, indisposição, cefaleia, mialgia, diarreia e constipação podem se alternar.	Coprocultura em caldo de enriquecimento e meios seletivos; títulos de anticorpos específicos.

Agente etiológico	Início dos sintomas	Dados clínicos mais comuns	Diagnóstico
Outras salmoneloses	6-10 d média: 6-48 h	Diarreia, em geral com febre e cólicas abdominais.	Coprocultura em caldo de enriquecimento e meios seletivos Salmonella-Shigella, Hektoen.
<i>Shigella</i> spp.	12 h a 6 d média: 2-4 d	Diarreia com tenesmo, muco, múltiplas evacuações de pequeno volume, cólicas e febre.	Coprocultura com caldo de enriquecimento e meios seletivos (Salmonella-Shigella).
<i>Staphylococcus aureus</i>	30 min. a 8 h média: 2-4 h	Vômitos e diarreia. Comum em surtos de toxi-infecção alimentar.	Coprocultura em meio seletivo (Baird-Parker, Vogel-Johnson ou Ágar manitol sal) e demonstração de toxina.
<i>Vibrio cholerae</i>	1-5 d	Diarreia aquosa geralmente acompanhada de vômitos.	Coprocultura em meio seletivo (Ágar TCBS) e isolamento de cepa produtora de toxina.
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	4-30 h	Diarreia.	Coprocultura em meio TCBS.
<i>Yersinia enterocolitica</i>	1-10 d média: 4-6 d	Diarreia e dor abdominal geralmente severa.	Isolamento em meio seletivo ou Salmonella-Shigella com incubação em geladeira.

#### 4.3.2 Vírus

##### Por agente e/ou agravo

Agente etiológico	Início dos sintomas	Dados clínicos mais comuns	Diagnóstico
Rotavírus	15-77 h média: 1-2 d	Início súbito, com vômitos e diarreia, principalmente em crianças, ocasionalmente dor abdominal e sintomas respiratórios. Surtos hospitalares.	Testes por aglutinação com partículas de látex ou Elisa Imunoensaio (EIA) com anticorpos poli ou monoclonais.
Norovírus (Norwalk vírus) e outros enterovírus	15-77 h média: 1-2 d	Vômitos, cólicas, diarreia e cefaleia.	Laboratórios de Saúde Pública. Enviar fezes conservadas a menos 20°C.

### 4.3.3 Parasitas

Agente etiológico	Início dos sintomas	Dados clínicos mais comuns	Diagnóstico
<i>Cryptosporidium parvum</i>	2-28 d média: 7 d	Diarreia, náusea, vômito e febre.	Pesquisa com coloração de Ziehl modificado ou imunofluorescência / Elisa.
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	1-11 d média: 7 d	Fadiga, diarreia insidiosa.	Pesquisa nas fezes.
<i>Giardia lamblia</i>	3-25 d média: 7 d	Diarreia, flatulência, cólicas, náuseas e fadiga.	Fezes, aspirado duodenal ou biópsias – pesquisa direta ou técnica imunológica.

## 4.4 Diagnóstico Laboratorial

### 4.4.1 Considerações Gerais

- Amostras de fezes recém-emitidas devem ser transportadas para o laboratório preferencialmente, dentro de 30 minutos após a coleta e processadas no prazo de duas horas. Caso contrário deverá ser transferida para um recipiente contendo meio de transporte com Cary-Blair.
- Quando possível selecionar porções de fezes contendo muco, e/ou sangue e/ou pus.
- Salina glicerinada e tamponada é indicada para *Salmonella* e *Shigella*.
- Cary Blair é indicado para todos os patógenos bacterianos intestinais, exceto *Shigella*. No caso do *Clostridium difficile*, as fezes devem ser congeladas a menos 20°C ou submetidas ao teste rapidamente. Para a detecção de toxinas de *C. difficile*, as fezes para teste devem ser enviados em um recipiente estéril sem o meio de transporte.
- O *swab* retal pode ser adequado para a detecção de patógenos em infecções agudas, mas **Não** são amostras clínicas ideais para o diagnóstico de rotina.
- Fezes e aspirados gastrointestinais podem ser transportados sob refrigeração em frascos estéreis, e biópsias podem ser conservadas com um pouco de salina em frasco estéril.
- Materiais inadequados para processamento: fezes ou material do trato digestivo transportado a temperatura ambiente sem meio de transporte, amostras contaminadas com urina ou papel higiênico, *swab* seco ou sem sinais de fezes, biópsias secas; amostras em recipientes com contaminação externa; amostras sem identificação. Em todos esses casos a enfermeira ou o médico deverá ser notificado para solicitação de nova amostra.

- Pesquisa de leucócitos e eosinófilos: deve-se enviar fezes frescas para exame (não *swab*) ou em meio de transporte.
- A pesquisa positiva de eosinófilos no muco, é sugestiva de diarreia de causa alérgica.
- Diarreia por toxina tem curta duração e é negativa a pesquisa de leucócitos, sangue e presença de muco. Diagnóstico laboratorial difícil, pois o agente costuma não estar presente.
- Para pesquisa de *Campylobacter* há necessidade de meio de cultura específico.
- Uma história de emprego recente de antibiótico-terapia prolongada deve ser considerada para direcionar a pesquisa de toxina de *Clostridium difficile* como uma das etiologias. Em pacientes adultos que desenvolvem diarreia em  $\geq 3$  dias após a internação, o *Clostridium difficile* é em geral o agente patogénico mais comum. As fezes desses pacientes devem ser testadas somente para a presença de toxina A e B.
- Os antibióticos mais frequentemente associados à diarreia por *C. difficile* são: cefalosporinas, ampicilina, amoxicilina, outros derivados de penicilinas, macrolídeos, tetraciclina e sulfazotrim.

Quando não houver informações clínicas ou pedido específico, a rotina recomendada é a pesquisa dos seguintes agentes:

- *Salmonella*, *Shigella*, *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Yersinia*: podem ser isolados em Mac Conkey e Salmonella-Shigella. Recomenda-se também incluir a cultura para *Campylobacter*, que exige meio específico. No caso de fezes com sangue, pesquisar EHEC.
- Em coprocultura de crianças até 1 ano considera-se rotina a pesquisa de *Salmonella*, *Shigella*, EPEC, (*E. coli* enteropatogênica), EIEC (*E. coli* enteroinvasora) e EHEC (*E. coli* entero-hemorrágica). Deve-se incluir também a pesquisa de *Yersinia enterocolítica*, *Aeromonas* e *Plesiomonas*.

## Características de alguns meios de cultura e sua interpretação

Meio de cultura	Finalidade do meio	Aspectos das colônias suspeitas	Procedimento de identificação
MC (MacConkey)	Isolamento de enterobactérias	Lactose negativa (transparente ou sem cor) suspeita de <i>Salmonella</i> spp., <i>Shigella</i> spp. e <i>E. coli</i> invasivas Lactose positiva (cor-de-rosa) suspeita de <i>E. coli</i>	Rugai ou EPM-MILi e sorotipagem
Bem (eosin Methylene blue)	Isolamento de enterobactérias	Transparente ou roxo-claro – suspeita de <i>Salmonella</i> spp. Roxo-escuro com brilho metálico – suspeita de <i>E. coli</i>	Rugai ou EPM-MILi e sorotipagem
HE (ágar Hektoen Enteric)	Seletivo para <i>Salmonella</i> e <i>Shigella</i> Contém indicador da produção de sulfeto de hidrogênio (H <sub>2</sub> S)	Azul ou verde-azulado – suspeita de <i>Salmonella</i> spp. (com ou sem centro negro), <i>Shigella</i> spp. Amarela – suspeita de <i>E. coli</i>	Rugai ou EPM-MILi e sorotipagem
SS ( <i>Salmonella</i> – <i>Shigella</i> )	Seletivo para <i>Salmonella</i> spp. Pode inibir <i>Shigella</i> spp. Contém indicador da produção de sulfeto de hidrogênio (H <sub>2</sub> S)	Incolor (com ou sem o centro negro) – suspeita de <i>Salmonella</i> spp. Incolor – suspeita de <i>Shigella</i> spp. Colônias negras – suspeita de <i>Salmonella</i> spp. Colônias cor-de-rosa – suspeita de <i>E. coli</i>	Rugai ou EPM-MILi e sorotipagem
VB (verde-brilhante)	Seletivo para <i>Salmonella</i> spp.	Vermelha, rosa forte ou translúcida circundadas de vermelho – suspeita de <i>Salmonella</i> spp. Amarela – suspeita de <i>Klebsiella</i> spp.	Rugai ou EPM-MILi e sorotipagem
AS Campy ou Karmali	Seletivo para <i>Campylobacter</i>	Acinzentada, brilhante e irregular suspeita de <i>Campylobacter</i>	Identificação bioquímica Coloração com fucsina de Ziehl ou safranina (1m)

## 4.4.2 Caldos de enriquecimento

Indicado para detectar baixo número de *Salmonella* ou *Campylobacter* em portadores. Muitos laboratórios estão abandonando o uso de caldos de enriquecimento pela baixa recuperação de patógenos.

Caldo GN (Gram Negativo) – enriquecimento de *Salmonella* e *Shigella* spp.  
Caldo Selenito F – principalmente *Salmonella* spp. Caldo tetrionato – apenas algumas espécies de *Salmonella* spp. e exclui *S. typhi* e *S. paratyphi*.

Campy-tioglicolato – apenas para pesquisa de portadores de *C. jejuni* Salina fosfatada e tamponada pH 7,6 – para semear fezes e conservar em geladeira por três semanas para pesquisa de portadores de *Yersinia enterocolitica*, mas não indicado para rotina.

#### 4.4.3 Procedimento Geral

1. Semear uma alçada de fezes em meio diferencial, em meio seletivo, no meio de Skirrow modificado ou Karmali para *Campylobacter*, e 3 a 4 alçadas em caldo de enriquecimento. O meio para isolamento de *Campylobacter* spp. deve ser incubado em jarra com gerador de microaerofilia, a 42°C, para haver inibição do crescimento de outras bactérias.
2. Incubar as placas de MC e SS a 35 ± 1°C por 18 a 24 horas e o caldo de enriquecimento a 35 ± 1°C por 12 a 18 horas.
3. Após 12 a 18 horas de incubação, semear uma amostra da superfície do caldo de enriquecimento em uma placa de meio seletivo.
4. As colônias suspeitas do primeiro plaqueamento são repicadas no meio de Rugai ou EPM-MILi.

#### Colônias suspeitas no MC e SS que devem ser identificadas:

- MC – Colônias lactose positiva e lactose negativa.
  - SS – Colônias incolores pequenas produtoras ou não de H<sub>2</sub>S.
  - Recomendamos repicar ao menos 3 a 5 colônias com morfologia diferente, de cada placa, para o meio de identificação.
5. Incubar a placa semeada do caldo de enriquecimento e o meio de identificação a 35 ± 1°C por 18 a 24 horas.
  6. Após 48 horas abrir a jarra de microaerofilia e verificar se há crescimento de colônias suspeitas de *Campylobacter* spp. Fazer um esfregaço em uma lâmina da colônia suspeita e corar com fucsina de Ziehl (0,1%) ou safranina por 1 minuto.

Morfologia sugestiva – bacilos corados em rosa, delicados, em forma de vírgula ou “asa de gaivota”.

7. Quando na leitura do meio de identificação houver suspeita de algum patógeno significativo, realizar provas bioquímicas complementares (se necessário) e soroaglutinação.
  - *E. coli* – identificar o sorogrupo a que pertence.
  - *Salmonella* spp. – deve ser feita soroaglutinação.
  - *Shigella* spp. – deve ser feita soroaglutinação para identificar as diferentes espécies, *S. dysenteriae*, *S. boydii*, *S. sonnei* e *S. flexneri*.
  - Todas as aglutinações podem ser realizadas adicionando 0,5 mL de solução fisiológica diretamente do meio de identificação e seguir a recomendação do fabricante dos anti-soros. Homogeneizar bem para fazer uma suspensão densa. A suspensão bacteriana, preparada em solução fisiológica, deve ser suficientemente espessa para apresentar aspecto leitoso. Qualquer que seja o antígeno, esse e o soro devem ser bem misturados para formar uma suspensão homogênea. Reações de aglu-

tinação positivas ocorrem dentro de 2 minutos; reações mais demoradas devem ser consideradas negativas.

8. Da placa semeada a partir do caldo de enriquecimento, repicar no meio de identificação as colônias suspeitas e incubar a  $35 \pm 1^\circ\text{C}$  por mais 18 a 24 horas.
9. Liberar o resultado das bactérias confirmadas por meio de soroaglutinação.
10. Ler os meios de identificação repicados da placa proveniente da semeadura do caldo de enriquecimento e proceder à soroaglutinação quando necessária para confirmar a identificação.

### Procedimentos Gerais para o Isolamento dos principais Agentes Bacterianos de Infecção Intestinal

Microrganismo	Mecanismo de Patogenicidade	Técnica	Enriquecimento	Meios de cultura
<i>Campylobacter, C. jejuni</i>	Invasão	Culturas incubadas em ambiente de microaerofilia à $42^\circ\text{C}$ .	Não	Ágar p/ Campylobacter com suplementos de antibióticos como o meio de Skirrow, Campy-BAP(Blaser), etc.
<i>Escherichia coli</i> Enteropatogênica, <i>E. coli</i> Invasora	Enterotoxinas (LT e ST) – Invasão	24-48 h aerobiose, $35-37^\circ\text{C}$ .	Não	Ágar Mac Conkey ou Ágar eosina azul de metileno.
<i>E. coli</i> enterohemorrágica O157: H7 e outras	Verotoxinas (toxina Shiga-like)	24-48h aerobiose, $35-37^\circ\text{C}$ .	Não	Ágar diferencial: Ágar Mac Conkey sorbitol (SMAC) ou Ágar Mac Conkey
<i>Salmonella</i> spp.	Invasão	24-48h aerobiose, $35-37^\circ\text{C}$ .	Selenito F *, Caldo tetracionato *, Caldo GN *.	Ágar Salmonella-Shigella, Mac Conkey ou Ágar xilose-lisina-desoxicolato (XLD) ou Ágar Hektoen enterico (HE)
<i>Vibrio cholerae, V. parahaemolyticus</i>	Toxina colérica Toxinas	24-48h aerobiose, $35-37^\circ\text{C}$ .	Água peptonada alcalina por 6-12 h.	Ágar TCBS, cresce em Mac Conkey.
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Invasão		Salina glicerinada tamponada à $4-5^\circ\text{C}$ por três semanas, não recomendado.	Ágar Salmonella-Shigella, Ágar Mac Conkey e meio seletivo: Ágar cefsulodina-irgasan-novobiocina

\* atualmente questiona-se a necessidade do uso de caldos de enriquecimento, ficando a critério de cada usuário.

#### 4.4.4 Relatório de resultados

Com o reconhecimento do número crescente de agentes bacterianos causadores de diarreia, tornou-se importante a identificação específica de micro-organismos para o qual as amostras fecais são examinadas.

- É incorreto emitir o resultado como “não foram isolados patógenos”, se as fezes foram cultivadas somente para recuperar alguns patógenos. Ao invés disso o relatório deve afirmar “não foram isoladas *Salmonella*, *Shigella* e *Campylobacter*” ou para algum outro patógeno efetivamente pesquisado.
- O protocolo deverá prever também laudos relatando a ausência da flora fecal Gram negativa e a presença de quantidade significativa de micro-organismos como *S. aureus*, leveduras e *Pseudomonas aeruginosa*.
- Se as amostras fecais ou as cepas isoladas forem enviadas ao Laboratório de Referência para trabalho posterior, tais como pesquisa da presença de toxina de *C. difficile* ou sorotipagem de cepas de *Salmonella*, o relatório para os referidos exames deve incluir o nome do laboratório de referência e as provas realizadas (sorotipagem e determinação das toxinas, etc.)

#### 4.5 Referências Bibliográficas

COLLEGE OF PHYSICIANS & SURGEONS OF SASKATCHEWAN. Procedures/Guidelines for the Microbiology Laboratory Procedures Guidelines, In: Laboratory Quality Assurance Program 1º Edition. p.44. 2010.

MURRAY P.R., BARON E.J., JORGENSEN J.H., LANDRY M.L., PFALLER M.A. In: Manual of Clinical Microbiology, 9<sup>th</sup> ed. American Society of Microbiology; Washington, DC. 2007.

ISENBERG, H. Clinical Microbiology Procedures Handbook, American Society for Microbiology. Washington DC. ,1992.

CUMITECH 12A. Diagnosis of Bacterial Diarrhoea. ASM Press,1992.

## Capítulo 5: Infecções Abdominais

*Lycia M. Jenné Mimica*

### 5.1 Introdução

Infecções abdominais incluem um grupo heterogêneo de condições, desde as relativamente benignas como apendicite aguda, até as associadas com alta morbidade e mortalidade como as pancreatites necrotizantes e as peritonites difusas. Tipicamente se desenvolvem no paciente de comunidade que se apresenta na emergência com dor abdominal e manifestações clínicas de abdômen agudo. Entretanto, essas infecções também podem aparecer no paciente hospitalizado, mais comumente como uma complicação da doença de base ou de procedimentos invasivos. A apresentação dessas últimas infecções é frequentemente insidiosa e atípica, com morbidade e mortalidade significativas.

As infecções abdominais no paciente hospitalizado diferem das comunitárias em sua apresentação clínica, sítios envolvidos e características microbiológicas. São também associadas a maior morbidade e mortalidade. Mais do que dor abdominal aguda, a principal manifestação clínica é a disfunção de algum órgão com início súbito. O sucesso da conduta depende de suporte hemodinâmico, antibiótico-terapia adequada, e medidas de controle apropriadas à situação clínica.

A evolução das infecções abdominais é definida por vários fatores relacionados, incluindo a microbiologia, localização anatômica, órgãos envolvidos e ainda a idade do paciente, as co-morbidades, o estado imunológico, tratamentos prévios, e estado nutricional do paciente.

#### 5.1.1 Apresentação clínica e classificação

Infecções abdominais podem cursar dentro da cavidade peritoneal ou na área do retroperitônio, e podem ainda ser classificadas tendo como base a estrutura anatômica envolvida.

- 1) Peritonite: primária, secundária, terciária e relacionada à diálise peritoneal
- 2) Abscesso intra-abdominal localizado em:
  - Peritônio
  - Fígado
  - Baço
  - Músculo psoas
  - Espaço retro peritoneal
- 3) Complicações pós-cirúrgicas
- 4) Infecções do trato biliar
- 5) Infecções pancreáticas
- 6) Apendicite
- 7) Diverticulite
- 8) Enterocolite necrotizante
- 9) Tiflíte
- 10) Megacolon tóxico

As infecções da cavidade peritoneal provocam inflamação do peritônio, resultando em peritonite primária, secundária ou terciária. Dependendo do grau de comprometimento, a peritonite pode ser caracterizada como localizada (abscesso intraperitoneal) ou difusa.

Apendicite e diverticulite são as causas mais comuns de abscesso localizado, e as perfurações intestinais de peritonite difusa. O risco de mortalidade está relacionado diretamente à extensão da disfunção do órgão comprometido.

A peritonite primária se desenvolve espontaneamente, é mais comum em pacientes cirróticos, por translocação bacteriana do lúmen intestinal para a cavidade peritoneal, facilitada pela baixa atividade antimicrobiana do líquido ascítico. O diagnóstico é feito pela aspiração e cultura do líquido ascítico. Em pacientes hospitalizados, os cocos Gram-positivos (incluindo o MRSA) são os agentes predominantes.

A peritonite secundária acontece como consequência de quebra de barreira do trato gastrointestinal, como perfuração do estômago ou duodeno por úlcera, cirurgias, apendicites ou diverticulites, e outros.

A peritonite terciária é a que acontece até 48 horas após a aparente boa resposta ao tratamento da peritonite bacteriana (primária ou secundária); é mais frequente em pacientes graves, de unidades de tratamento intensivo. Por esse motivo, sua flora microbiana é especial: *Staphylococcus* coagulase negativos, *Enterococcus*, *Candida*, *Enterobacter* e *Pseudomonas*, ou seja, patógenos típicos

de origem hospitalar. Com alta taxa de mortalidade (acima de 50%), é atribuída ao comprometimento imunológico desse grupo de doentes.

Com relação às infecções retroperitoneais, a pancreatite necrotizante leva desde a abscessos, até infecções disseminadas.

As bactérias isoladas desses quadros frequentemente pertencem à flora microbiana local, com exceção de infecções pós-procedimentos onde é mais comum a identificação de agentes com características de flora microbiana hospitalar.

### 5.1.2 Agente etiológicos

- Infecções intra-abdominais (peritonite pós-trauma de vísceras ocas): Enterobactérias (*Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Enterobacter* spp.), *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* spp., anaeróbios (*Bacteroides* spp., *Fusobacterium* spp., *Veillonella* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Propionibacterium* spp.).
- Abscesso intra-abdominal: incluindo apendicite, diverticulite. As mesmas bactérias do item anterior, e ainda: *Clostridium* spp., *Eubacterium* spp., *Streptococcus pyogenes* e outros *Streptococcus*.
- Peritonite Bacteriana Primária: Enterobactérias (2/3), *Streptococcus pneumoniae* (15%), enterococos (6-10%) e anaeróbios < 1%.
- Peritonite associada à diálise peritoneal: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulase negativos*, *Pseudomonas aeruginosa*, enterobactérias e 20% com cultura negativa.
- Infecções hepáticas, incluindo abscessos: *Streptococcus* spp., *Escherichia coli*, *Proteus* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Fusobacterium* spp., *Bacteroides* spp., *Enterococcus* spp., *Entamoeba histolytica*, *Leishmania donovani* (kala-azar), Microsporidia.
- Granuloma hepático: *Mycobacterium tuberculosis*, outras micobactérias, *Brucella* spp., *Histoplasma capsulatum*, *Coxiella burnetii*, *Treponema pallidum* (sífilis secundária), *Echinococcus*, *Schistosoma*, Citomegalovírus, vírus Epstein-Barr. Pacientes da América do Norte ou outros continentes, pode-se incluir a *Francisella tularensis* e *Coccidioides immitis*.
- Infecções pancreáticas: *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Candida* spp., *Pseudomonas* spp. e outros bacilos Gram-negativos não fermentadores da glicose, *Streptococcus* spp., *Torulopsis glabrata*, *Haemophilus* spp., *Corynebacterium* spp., *Serratia marcescens*.
- Abscesso esplênico: os anteriores, e ainda *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Bacteroides* spp., *Fusobacterium* spp., *Propionibacterium* spp., *Clostridium*

spp., *Fusobacterium* spp., *Aspergillus* sp., *Leishmania donovani*, Microsporídia.

### 5.1.3 Coleta e transporte / armazenamento das amostras

Essas amostras são habitualmente colhidas através de procedimentos invasivos: punções, laparoscopia ou durante ato cirúrgico. Deverão ser observados cuidados de assepsia para que a amostra coletada não seja contaminada. A secreção ou líquidos (peritoneal, ascítico) serão aspirados com o auxílio de agulha/seringa estéreis, colocados em frasco com meio de transporte para anaeróbios facultativos e estritos (caldo de tioglicolato) e encaminhados ao laboratório de microbiologia no máximo em 2 horas. Se houver coleta de fragmento de tecido, esse deverá ser levado imediatamente se houver solicitação de cultura quantitativa. Se não, poderá ser também incluído em tioglicolato para transporte.

### 5.1.4 Processamento das amostras

No laboratório de microbiologia, essas amostras serão processadas nas seguintes etapas:

1. Avaliação da qualidade do material encaminhado: identificação adequada, frasco ou meio de transporte correto, volume da amostra suficiente para os testes requeridos, data e horário da coleta.
2. Realizar coloração de Gram do esfregaço do material em lâmina: serão observados forma, coloração e agrupamento dos micro-organismos, além da presença de células (leucócitos íntegros ou degenerados, inclusões bacterianas, e outros). Se houver suspeita de micro-organismos álcool-ácido resistentes, preparar também lâminas para coloração de Ziehl Neelsen e auramina, e na suspeita de fungos, preparação de azul de lactofenol ou de algodão e calcofluor.
3. Proceder à semeadura em meios adequados:
  - Meios de cultura para bactérias aeróbias:
  - Ágar sangue e ágar Mac Conkey : incubar a 35°C durante 18 a 24 horas; verificar crescimento bacteriano em ambas as placas; se negativo, incubar mais 24 horas; se positivo, identificar o(s) micro-organismo(s).
  - Ágar chocolate suplementado: incubar a 35°C em jarra com 5% CO<sub>2</sub> durante 18 a 24 horas, verificando o crescimento bacteriano; se negativo, reincubar por mais 24 horas; se positivo, proceder à identificação do micro-organismo.
  - Meios de cultura para bactérias anaeróbias estritas:
    - Ágar infusão de cérebro coração ou Ágar Brucella acrescidos de vitamina K e hemina: incubar a 35°C em jarra com gerador de anaerobiose durante 48 horas; verificar crescimento; se negativo, repicar

a amostra do tioglicolato em meio suplementado com hemina e vitamina K a cada 48 h até completar 7 dias; se positivo, proceder à identificação da bactéria.

- O material pode ser semeado paralelamente em meio seletivo e enriquecido para anaeróbios como o ágar sangue com hemácias rompidas, adicionado de Kanamicina e Vancomicina (LKV) seletivo para *Bacteroides* e *Prevotella*.
- Se houver suspeita clínica de micobactérias, semear também em meios especiais (Lowenstein Jensen ou Middlebrook); aguardar 60 dias para reportar a cultura como negativa.
- Se houver suspeita clínica de fungos, semear também em Ágar Sabouraud glicose; incubar a temperatura ambiente durante quatro semanas.

Após identificação do agente, devem ser realizados os testes de susceptibilidade, seguindo os padrões do CLSI (Committee for Laboratory Standards Institute) vigentes para grupo de patógenos: enterobactérias, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, não fermentadores, anaeróbios, fungos e se necessário, até micobactérias.

O resultado da cultura e do teste de susceptibilidade devem ser analisados e reportados com critério, tentando minimizar o risco de informar ao responsável pelo tratamento do paciente resultado de contaminação ou flora normal, o que ocorre principalmente quando existe um grande número de bactérias de várias espécies nos sítios de infecção envolvidos na etiologia das infecções abdominais.

## 5.2 Referências Bibliográficas

BARON, E.J., FINEGOLD, S.M. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 12<sup>th</sup> Ed., CV Mosby, St. Louis, 2007.

ISENBERG, H.D. Clinical Microbiology Procedures Handbook, American Society for Microbiology, Washington, DC, 1998.

ISENBERG, H.D. Essential Procedures for Clinical Microbiology, 2<sup>nd</sup> edition American Society for Microbiology, Washington, DC, 2004.

KONEMAN, W.E., ALLEN, D.S., JANDA, M.W., SCHRECKENBERGER C.P. AND WINN JR., C.W. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 6<sup>th</sup> Ed., Lippincott, Philadelphia, 2006.

MANDELL G.L., BENNETT, J.E., DOLIN, R. Principles and Practices of Infectious Diseases, 6<sup>th</sup> Ed., Churchill Livingstone, New York, 2005.

MARSHALL, J.C. Intra-abdominal Infections. *Microbes and Infection* 6 (2004) 1015-1025.

MILLER, J.M. *A Guide to Specimen Management in Clinical Microbiology*. 3<sup>rd</sup> edition. American Society for Microbiology, Washington, DC, 2004.

MURRAY, P.R., BARON, E.J., PFALLER, M.A., TENOVER, F.C., YOLKEN R.H. *Manual of Clinical Microbiology*, 8<sup>th</sup> Ed., American Society for Microbiology, Washington, DC, 2003.

SHULMAN, S.T., PHAIR, J.P., PETERSON, L.R., WARREN, J.R. *The Biological and Clinical Basis of Infectious Diseases*, 5<sup>th</sup> Ed., Saunders, Philadelphia, 1997.

THOMPSON, A.E., MARSHALL J.C., OPAL S.M. Intraabdominal Infections in Infants and Children: descriptions and definitions. *Pediatr. Crit. Care med.* 2005; 6 (suppl) S30-S35.

## Capítulo 6: Infecções do Sistema Nervoso Central

*Antonia M. O. Machado  
Carlos Emílio Levy*

### 6.1 Introdução

O Sistema Nervoso Central (SNC) compreende o cérebro e a medula, envolvendo ainda meninges, vasos sanguíneos, nervos cranianos e espinhais.

#### 6.1.1 Principais processos infecciosos que comprometem o SNC

- Meningite aguda
- Meningite crônica
- Encefalite, mielite e neurite
- Abscesso cerebral
- Empiema subdural, abscesso epidural e flebite intracraniana supurativa
- Infecções associadas a procedimentos invasivos e dispositivos implantados no SNC

#### 6.1.2 Natureza dos processos infecciosos do SNC

- Bactérias
- Vírus
- Fungos
- Protozoários

#### 6.1.3 Via de acesso dos agentes infecciosos ao SNC

- Via hematogênica (principal)
- Via direta, através de trauma e procedimentos invasivos (cirúrgicos)
- Por contiguidade (rinofaringe, mediastino posterior, espaço retroperitoneal, etc.)
- Ascensão de vírus por nervos periféricos

#### 6.1.4 Principais causas de meningite aguda infecciosa

- Bacteriana: *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *N. meningitidis*, Enterobactérias, *Streptococcus agalactiae* (grupo B), *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus spp.*, *M. tuberculosis*
- Meningite por outros agentes ou não determinada
- Foco supurativo para-meningeo (abscesso cerebral, sinusite paranasal, empiema subdural, abscesso epidural, etc.)
- Espiroquetas: *T. pallidum*, *Borrelia burgdorferi* (doença de Lyme, *Leptospira spp.*)
- Rickettsias
- Protozoários: *Naegleria fowleri*, *Strongiloides stercoralis*
- Vírus: Echovírus e Coxsackievírus, Sarampo, Arbovírus, Herpesvírus, Corio-meningite linfocítica, HIV, Adenovírus, Poliovírus
- Fungos: *Cryptococcus spp.*, *Candida spp.*, *Histoplasma capsulatum*, *Aspergillus spp.* e outros fungos filamentosos oportunistas
- *Pneumocystis carinii* e *Paracoccidioides brasiliensis*

#### Causas mais frequentes de meningite infecciosa crônica

Meninges	Lesões Focais	Encefalite
tuberculose cryptococose histoplasmose candidíase sífilis brucelose	actinomicose blastomicose cisticercose aspergilose nocardiose esquistossomose toxoplasmose	citomegalovírus enterovírus sarampo outras encefalites a vírus

#### Causas mais frequentes de encefalomielite

Vírus (mais importante)	Enterovírus e herpes-vírus
Riquetsias	Doença de Lyme
Bacteriana	<i>Mycoplasma spp.</i> , brucelose, listeriose e erlichiose, endocardite bacteriana subaguda, sífilis e leptospirose, tuberculose, Nocardia e Actinomicose
Fúngica	Criptococose, histoplasmose, <i>Pneumocystis carinii</i>
Amebas	<i>Naegleria</i> e <i>Acanthamoeba</i>
Protozoários	Toxoplasma, plasmodium, tripanosomíase
Outras	Doença de Behçet, Doença da arranhadura do gato

### Principais agentes etiológicos do Abscesso Cerebral

<i>Streptococcus</i> spp. (viridans)	60-70%
<i>Bacteroides</i> spp.	20-40%
Enterobactérias	23-33%
<i>Staphylococcus aureus</i>	10-15%
Fungos	10-15%
<i>S. pneumoniae</i>	<1%
<i>H. influenzae</i>	<1%
<i>Nocardia</i> spp., <i>Listeria</i> spp.	<1%
Protozoários e helmintos	<1%

Em populações de pacientes imunocomprometidos e distribuições regionais podem evidenciar predomínio diferente dos seguintes agentes etiológicos:

- Bactérias: *M. tuberculosis* e *Nocardia* spp.
- Fungos: *Aspergillus* spp., *Candida* spp., *Cryptococcus* spp. e outros fungos oportunistas.
- Parasitas: estrogiloidíase, *Entamoeba histolytica*, cisticercose e toxoplasmose.

## 6.2 Dados epidemiológicos e etiologia de processos infecciosos do SNC

As frequências relativas com que as diferentes espécies bacterianas e fungos causam meningite comunitária depende da faixa etária.

- Período neonatal – *S.agalactiae* (Grupo B), *E. coli* (antígeno K1) e *Listeria monocytogenes*.
- < 2 anos – *S.pneumoniae* e *N.meningitidis*.
- 2 a 18 anos – *N.meningitidis*.
- > 18 anos *S.pneumoniae*.

A *Listeria monocytogenes* é responsável por 8% dos casos gerais, sendo mais frequentes no período neonatal e em indivíduos > 60 anos.

O número de casos de meningite pelo *Haemophilus influenzae* sofreu uma redução de 94% após a introdução da vacina conjugada de polissacarídeo-proteína para esse agente.

Em pacientes imunocomprometidos é alta a frequência de *Cryptococcus neoformans*.

♦ **Infecção Relacionada à Assistência à Saúde**

Enterobactérias, *Acinetobacter* spp., *Pseudomonas* spp., *Candida* spp., *Staphylococcus* spp.

**Outros Dados Epidemiológicos**

<b>Surtos epidêmicos</b>	<b>Meningococo, vírus, especialmente enterovírus</b>
Nadar em lagoas	Amebas (protozoários), <i>Aeromonas</i> spp.
Contato com hamster, ratos e animais silvestres	Coriomeningite linfocítica, <i>Pasteurella</i> spp.
Inundações	Leptospirose
Contato com pombos, cavernas	Criptococose, histoplasmose
Prisão, AIDS	Tuberculose
Meningite recorrente	Pneumococo
Infecção do trato respiratório superior	Vírus, hemófilos, pneumococo, meningococo
Associado à pneumonia comunitária	Pneumococo, hemófilos
Associado à sinusite e otite	Pneumococo, <i>Haemophilus</i> , anaeróbios
Associado à celulite	<i>Streptococcus</i> spp., <i>Staphylococcus</i> spp.
Abscesso cerebral	Anaeróbios ( <i>Actinomyces</i> spp. e outros), <i>Nocardia</i> spp.
Trauma craniano	Fechado – pneumococo, Gram-negativos Aberto – Gram-negativos, <i>Staphylococcus</i> spp.
Fístula liquórica (otorréia ou rinorréia)	Pneumococo, Gram-negativos, <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Haemophilus influenzae</i>
Diabetes	Pneumococo, Gram-negativos, <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Cryptococcus</i> spp.
Alcoolismo e esplenectomia	Pneumococo
Endocardite bacteriana	<i>Streptococcus</i> spp. e outros Gram-positivos
Petéquias e rash cutâneo	Meningococo, sarampo, echovírus, leptospirose
Prótese em SNC	<i>S. Epidermidis</i> , <i>S. aureus</i> e outros gram-positivos, <i>Acinetobacter</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp., enterobactérias
Leucemia, linfoma, corticoterapia	Pneumococo, Gram-negativos, <i>Cryptococcus</i> spp., <i>M. tuberculosis</i>
AIDS e imunossupressão severa (transplantes)	<i>Cryptococcus</i> spp., <i>M. tuberculosis</i> , <i>Aspergillus</i> spp. e outros fungos filamentosos, <i>Pneumocystis carinii</i>

## Fatores Predisponentes e Etiologia de Abscesso Cerebral

Otite média e mastoidite	Estreptococos aeróbios e anaeróbios, <i>Bacteroides fragilis</i> , Enterobacterias
Sinusite frontoetmoidal e sinusite esfenoidal	<i>Streptococcus</i> spp., <i>Bacteroides</i> spp., Enterobactérias, <i>S. aureus</i> , <i>Haemophilus</i> spp.
Sepse dental	<i>Fusobacterium</i> spp., <i>Bacteroides</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp.
Trauma craniano penetrante infecção pós-cirúrgica	<i>Staphylococcus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp., Enterobactérias, <i>Clostridium</i> spp.
Doença cardíaca congênita	<i>Streptococcus</i> spp., <i>H. influenzae</i>
Abscesso pulmonar, empiema e bronquiectasia	<i>Fusobacterium</i> spp., <i>Actinomyces</i> spp., <i>Bacteroides</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp., <i>Nocardia</i> spp.
Endocardite bacteriana	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus</i> spp.
Paciente imunocomprometido	<i>Toxoplasma gondii</i> , Fungos, Enterobactérias, <i>Nocardia</i> spp.

## 6.3 Diagnóstico laboratorial

### 6.3.1 Dados laboratoriais relevantes

- Esfregaço do sedimento corado pelo Gram pode revelar a etiologia: bacteriana, fúngica (fungos leveduriformes ou filamentosos), tendo uma sensibilidade de 60 a 90% e especificidade próxima de 100% quando realizada por profissionais bem treinados, principalmente quando se trata de pneumococo, meningococo e *Haemophilus* spp.
- A positividade depende da concentração bacteriana, variando de 25% quando a concentração de UFC (unidades formadoras de colônias) for  $10^3$  ou menos, até 97% quando a concentração for igual ou superior a  $10^5$  UFC. A cultura do LCR revela o agente etiológico em até 90% dos casos de meningite bacteriana.
- A positividade do Gram também varia conforme o agente etiológico, sendo de 90% para o pneumococo, 86% para o hemófilos, 75% para o meningococo, menos de 50% para *Listeria monocytogenes* e 50% para outros Gram-negativos. A coloração de Gram não cora bactérias como os micoplasmas e, evidentemente, não detecta os vírus.
- Chances de se obter informações sobre a etiologia pelo Gram ou pela cultura se reduzem a menos de 50% quando há uso prévio de antimicrobianos, podendo o LCR ficar estéril em 90-100% dos casos após 24 a 36 horas de antibiótico-terapia adequada.
- Tinta da china e calcofluor: detecta *Cryptococcus* ou presença de movimentos amebóides (amebas).

- Esfregaços corados pelo método de Ziehl Neelsen e auramina: são utilizados para a detecção de bacilo álcool/ácido resistentes (BAAR).
- Aglutinação com partículas de látex (sensibilidade de 70 a 90%): existem testes disponíveis para detectar meningococo (A e C), hemófilos tipo B, pneumococo (polivalente), *Streptococcus* do grupo B, *E. coli* K1 e *Cryptococcus* spp. Alguns kits não incluem o meningococo B ou podem ter uma sensibilidade inferior para esse antígeno. Existem também testes baseados em co-aglutinação de *Staphylococcus*, que tem uma sensibilidade um pouco inferior à aglutinação pelo látex. Esses testes vêm sendo cada vez menos utilizados pelo elevado custo.
- Teste do Limulus pode ser utilizado para detectar endotoxina de bactérias Gram negativas, tendo alta sensibilidade e especificidade para concentrações  $\geq 10^3$  UFC/mL mas é uma metodologia raramente utilizada.
- Cultura em Ágar chocolate pode confirmar a etiologia bacteriana e permitir o estudo das sensibilidades aos antimicrobianos.
- Os vírus podem ser pesquisados por métodos diretos ou cultura para vírus com tipagem. A pesquisa monoclonal e o PCR representam os métodos de maior praticidade, especificidade e sensibilidade que se dispõe na atualidade.

### 6.3.2 Processamento de amostras – LCR

Devido à importância vital do SNC, e, portanto, a gravidade do quadro clínico que acompanha a maioria das doenças e a urgência do diagnóstico em uma área topográfica estéril, a eficiência é um aspecto crítico (rapidez, testes adequados e cuidados para evitar contaminação). Coletar o LCR antes de iniciar a antibiótico-terapia é a regra.

LCR deve ter máxima prioridade devendo ser processado imediatamente. Avalie e anote o volume e o aspecto do LCR.

**LCR por punção lombar ou de reservatório de próteses** (*vide* técnica para coleta de LCR).

Coletar o segundo tubo, obtendo idealmente os seguintes volumes considerando a necessidade das diferentes culturas:

- 1 a 2 mL para o Gram, pesquisa de antígeno e cultura para bactérias aeróbias. Para cultura o Liquor pode ser inoculado diretamente no meio, colocando de 5 a 10 gotas diretamente no tubo com ágar chocolate durante a punção, previamente aquecidos a 35°C, preparados há menos de 30 dias. Caso haja suspeita de bactéria anaeróbia inocular em caldo de tioglicolato.

- 2 mL para exame direto e cultura para fungos.
- Para micobacterias são necessários  $\geq 2$  ml (para coloração de Ziehl e cultura para micobactérias).
- 2-3 mL para provas virológicas.

Obs.: O líquido deverá ser coletado em tubo estéril e transportado para o laboratório em até 2 horas, em temperatura ambiente. Não refrigerar.

### 6.3.3 Exame microscópico do líquido

- Se o líquido estiver turvo ou com volume  $\leq 1$  ml não centrifugar, mas se estiver límpido ou volume  $\geq 1$  mL centrifugar em tubo cônico (2.500 a 3.000 rpm, por 15 a 20 minutos).
- O sobrenadante será para realizar a prova do látex.
- O sedimento será utilizado para a microscopia. Esfregaços corado pelo Gram Ziehl-Neelsen e tinta da china,

### 6.3.4 Cultura

- Inocular o líquido em Ágar chocolate e Ágar sangue.
- Incubar em 5 a 10% de CO<sub>2</sub>, à 35-36°C.
- Fazer a 1ª leitura em 24 horas, se positiva fazer identificação e o teste de suscetibilidade aos antimicrobianos (seguindo as normas do CLSI).
- Se a cultura estiver negativa reincubar e fazer leituras diária até completar 72 horas.
- Se positivo informar o médico imediatamente.

Obs.: É importante realizar a hemocultura em casos mais graves, pois a bacteriemia é demonstrável em até 50% dos casos de meningite pelo meningococo ou pneumococo.

### 6.3.5 Exame citológico do Líquor

- A contagem normal de leucócitos no líquido é  $< 5$  células /mm<sup>3</sup>, todas mononucleares.
- Na meningite bacteriana está aumentada com predomínio inicial de polimorfonucleares ( $>80\%$ ), podendo aparecer subsequente linfócitos. Quando há uma contagem muito alta, é importante atentar para a possibilidade de ruptura intraventricular de abscesso cerebral.
- A meningite causada pela *M.tuberculosis* caracteristicamente produz pleiocitose linfocítica.
- Glicose: valores  $< 30$ mg/dl ou menos que 50% dos níveis séricos, em 50% dos pacientes, sugerem meningite bacteriana, fúngica ou por micobacterias.

- Proteínas: valores > 100mg/dl, sendo que elevações extremas podem sugerir bloqueios subaracnóide secundários principalmente às meningites crônicas.

### 6.3.6 Pesquisa de antígenos

- A pesquisa direta de antígeno pode antecipar o diagnóstico de meningite bacteriana em várias horas.
- A sensibilidade do teste de aglutinação do látex pode chegar a 90% para a detecção dos agentes mais prevalentes nas meningites.
- Em caso de antibiótico-terapia prévia ou demora no transporte, onde poderá ocorrer alterações morfológicas ou na viabilidade das células bacteriana a utilização do teste é de grande utilidade.
- Como o teste detecta polissacarídeos em suspensão usa-se o sobrenadante para realizar a prova. Alguns testes, para aumentar a sensibilidade do teste, solicitam a colocação da amostra em banho maria fervente por 5 minutos. Consulte e siga sempre as orientações do produto adquirido, principalmente quanto ao padrão de aglutinação e o tempo da reação.

### 6.3.7 Processamento de amostras – Abscesso cerebral

#### ***Abscesso Cerebral***

O abscesso cerebral é um distúrbio que corresponde apenas a 2% das lesões expansivas intracranianas, mas geralmente progridem rapidamente e frequentemente afetam as estruturas meníngeas.

- Obter o material por punção e aspiração, mantendo-o na seringa para ser enviado ao laboratório. Como a participação de anaeróbios é importante, o material deve ser colhido em frascos com vácuo ou na própria seringa.
- Manipular material de SNC com luvas, evitar aerossol e encaminhar o mais rápido possível ao laboratório. Amostras para virologia devem ser encaminhadas ao laboratório rapidamente à temperatura ambiente. As pesquisas monoclonais de vírus exigem que as células estejam íntegras. Apenas material para investigações futuras e pesquisas por métodos moleculares de agentes RNA deve ser obrigatoriamente conservado entre -20 a -70°C.

#### ***Amostras de aspirado de abscesso e de material obtido em cirurgia ou em necropsia***

- Semear em placa de ágar chocolate e incubar em jarra com vela a 35°C.
- Semear em placa com ágar brucella e suplementos hemina e vitamina K para cultura de anaeróbios em jarra apropriada com gerador de anaerobiose a 35°C.

- Semear em placa de ágar sangue em estufa a 35°C.
- Semear em tubo de caldo tioglicolato a 35°C.
- Fazer esfregaço, fixar e corar pelo Gram. Reservar o resto do material.

### 6.3.8 Etiologia

#### ***Os micro-organismos patogênicos variam muito dependendo da circunstância clínica***

Os mais frequentemente isolados são os estreptococos aeróbios e microaerófilos e os anaeróbios gram-negativos, como o Bacteróides e a *Prevotella* spp. Menos isolados são os aeróbios gram-negativos e os *Staphylococcus* spp. *Actinomyces*, *Nocardia* e *Cândida*, apesar de menos frequentes, também podem ser isolados. Podem ocorrer culturas mistas, isto é com mais de um agente e podendo em até 30% dos casos a cultura ser negativa.

#### ***Fungos: leveduriformes ou dimórficos***

- *Cândida* – exame direto com Lactofenol e semear em ágar Sabouraud dextrose (ASD)
- *Cryptococcus* spp. – tinta da china para melhor caracterização; semear em BHI ágar
- *Histoplasma capsulatum* – semear em BHI, ágar glutamina
- Filamentosos e oportunistas em geral – semear em ASD



## Capítulo 7: Infecções Sistêmicas

*Maria Rita Elmor de Araujo*

### 7.1 Introdução

Bacteremia é o termo que designa a indicação da presença de micro-organismos viáveis na corrente sanguínea. É um fenômeno de grande relevância diagnóstica, pois frequentemente está associado a um aumento considerável nas taxas de morbidade e mortalidade, além de representar uma das mais significativas complicações no processo infeccioso, o que torna a hemocultura um exame de importante valor preditivo de infecção.

A maioria dos episódios sépticos tem origem hospitalar e com certa frequência envolvem micro-organismos que apresentam grande resistência aos antimicrobianos, estando associados a taxas de mortalidade com tendência a serem superiores às dos episódios que ocorrem na comunidade (38).

Nesse contexto, o laboratório clínico tem um papel extremamente importante no manejo de pacientes com bacteremia, uma vez que a hemocultura positiva para micro-organismos patogênicos é um indicador altamente específico de Infecção da Corrente Sanguínea (ICS), permitindo que a identificação do agente e o antibiograma auxiliem na orientação da terapia antimicrobiana, cuja aplicação precoce tem demonstrado redução significativa na mortalidade (10,11).

A bacteremia primária é assim denominada por ter origem no próprio sistema circulatório ou pela entrada direta de micro-organismos na corrente sanguínea, através de agulhas, infusões contaminadas, cateteres ou outros dispositivos vasculares.

A bacteremia secundária ocorre através de drenagem de pequenos vasos sanguíneos ou linfáticos, seguindo para a corrente circulatória como consequência de um foco de infecção definido em outro sítio do organismo.

As fontes mais comuns de ICS em geral (incluindo de origem comunitária e hospitalar) são: dispositivos intravasculares (19%), trato geniturinário (17%), trato respiratório (12%), intestino e peritônio (5%), pele (5%), trato biliar (4%), abscesso intra-abdominal (3%), outros sítios (8%) e de sítios desconhecidos (27%) (1).

Conceitualmente, as bacteremias se classificam em **transitória**, **intermitente**, **contínua** ou de **escape**.

A do tipo **transitória**, que em geral é rápida (com duração que pode variar de alguns minutos a poucas horas), é a mais comum, e ocorre após a manipulação de algum tecido infectado como em casos de abscessos, furúnculos e celulites; durante algum procedimento cirúrgico envolvendo tecidos contaminados ou colonizados como em procedimentos dentários; manipulações geniturinárias como cistoscopia, cateterização ou dilatação uretral; abortamento ou endoscopias digestivas; e cirurgias que envolvem áreas contaminadas, como ressecção transuretral de próstata, histerectomia vaginal e debridamento de queimaduras. Este tipo de bacteremia também ocorre em algumas infecções agudas, localizadas ou sistêmicas, como pneumonias, meningites, artrites sépticas e osteomielites (2).

Já quando a bacteremia se manifesta em intervalos variáveis de tempo (com o mesmo micro-organismo) é denominada de **intermitente**. Geralmente este tipo ocorre em processos infecciosos relacionados a abscessos intra-abdominais, pélvicos, perinefréticos, hepáticos, prostáticos e outros, configurando assim causas frequentes de febre de origem indeterminada.

A bacteremia **contínua** é característica da endocardite infecciosa aguda e subaguda e de outras infecções endovasculares. Este padrão também é encontrado nas primeiras semanas da febre tifóide e na brucelose (8).

A bacteremia de **escape** ("*breakthrough*") ocorre mesmo enquanto o paciente esteja recebendo antibioticoterapia sistêmica apropriada (germe sensível). Quando se dá no início da terapêutica, geralmente deve-se a concentrações insuficientes do antimicrobiano atingidas na corrente sanguínea (é interessante lembrar que nas estafilococcias é comum haver escape nos primeiros dias de tratamento, mesmo sob condições adequadas de antibioticoterapia). Já os episódios de escape que ocorrem tardiamente geralmente se dão por drenagem inadequada do foco infeccioso ou por debilidade das defesas do hospedeiro (9).

Na maioria das vezes, as bacteremias são causadas por um único micro-organismo. Contudo, em algumas situações, caracterizam-se por etiologia polimicrobiana.

O termo **sepsse** refere-se à condição pela qual a resposta do organismo ao agente infeccioso se manifesta, por meio de sinais e sintomas da doença, como a síndrome da resposta inflamatória sistêmica, independentemente da presença ou não de hemocultura positiva.

A detecção de bacteremia ou fungemia pode remeter a uma falha nas defesas do hospedeiro em localizar e neutralizar determinada infecção em seu foco inicial, ou eventual insucesso na remoção ou drenagem de determinado foco infeccioso. No paciente imunocompetente, geralmente as defesas naturais respondem prontamente à presença de micro-organismos estranhos. Essa eliminação pode ser menos eficiente quando se trata de micro-organismos encapsulados ou é mais eficaz quando o paciente já apresenta anticorpos contra o organismo infectante. Há situações determinadas em que essa eliminação é menos efetiva, como nos casos de infecções a partir de focos intravasculares, na presença de dispositivos invasivos (pela formação de biofilme) ou em endocardites.

As condições que predispoem um paciente ao quadro de bacteremia ou fungemia incluem a idade, doenças de base, medicamentos (corticóides, quimioterápicos, drogas citotóxicas) e alguns procedimentos médicos invasivos (cateteres e procedimentos endoscópicos). O risco é maior nas faixas etárias extremas e nos pacientes portadores de doenças hematológicas, neoplasias, diabetes mellitus, insuficiência renal em diálise, cirrose hepática, imunodepressão e grandes queimaduras. Alguns procedimentos cirúrgicos são também predisponentes, particularmente os do trato geniturinário e gastrointestinal (1).

## 7.2 Coleta de hemoculturas

### 7.2.1 Indicação clínica

Idealmente, a coleta deve ser feita antes do início da antibioticoterapia de pacientes que configurem quadro clínico sugestivo de infecção e suficiente para serem submetidos à internação e que apresentem febre ( $> 38^{\circ}\text{C}$ ) ou hipotermia ( $< 36^{\circ}\text{C}$ ), leucocitose ( $> 10.000/\text{mm}^3$ , especialmente com desvio à esquerda) ou granulocitopenia absoluta ( $< 1000$  leucócitos/ $\text{mm}^3$ ).

Em crianças pequenas com quadro de queda do estado geral sem explicação, e em idosos, principalmente acompanhado de mal estar, mialgia ou sinais de acidente vascular cerebral devem ser investigados.

Nos casos em que houver suspeita de foco de infecção provável, é desejável também a coleta de materiais representativos dos outros sítios (por exemplo: liquor, urina, fezes, secreções, abscessos etc.).

### 7.2.2 Número de amostras

Para maior clareza, definimos neste documento que a coleta de **uma amostra** de hemocultura corresponde a **uma punção**. Cada punção corresponde a dois frascos para adultos ou um frasco para pacientes pediátricos até 13 kg (Tabela 2).

Baseado em dados que se referem à positividade cumulativa de hemoculturas e coletadas durante episódios sépticos comprovados, recomenda-se coletar no mínimo duas até quatro amostras por episódio infeccioso, o que permite o isolamento do agente bacteriano ou fúngico em mais de 95% dos eventos. Estudos de décadas anteriores indicaram que ao se obter somente uma hemocultura, havia cerca de 80 a 90% de chance de recuperação, em duas amostras aumentaria significativamente para > 88% e em três amostras em até > 99% de recuperação (39,40). Já estudos mais recentes têm mostrado que as chances de recuperação com somente uma amostra fica em torno de 70%, duas amostras em torno de 80 a 90%, três amostras entre 96 a 98 % e quatro amostras >99%, desafiando-se os conceitos tradicionais de que 2 a 3 amostras eram suficientes, sugerindo que podem ser necessárias de 3 a 4 amostras para ótima recuperação dos agentes (17,35).

Acredita-se que possíveis explicações para esse fato sejam que com as metodologias atuais mais sensíveis, tornou-se possível a detecção de baixos níveis de bacteremia com mais pacientes em uso prévio de antimicrobianos e talvez pela diferença metodológica de análise dos estudos (2).

Concluindo, o número de amostras deve ser de no mínimo 2 e no máximo 4 mostras por episódio infeccioso. Um maior número de amostras traz pouco benefício, aumentando os custos, trabalho e risco de provocar anemia, sem aumento significativo da positividade (2).

Tal amostragem também representa o volume de sangue adequado para o isolamento, e permite auxiliar na interpretação do resultado, de acordo com o número de amostras positivas dentre as coletadas para indicar provável contaminante ou bacteremia verdadeira.

O número de hemoculturas positivas em função do número total de amostras coletadas (punções em diferentes sítios) é uma ferramenta muito útil para interpretação do significado clínico, pois ao contrário dos casos de pa-

cientes com bacteremias verdadeiras, os contaminantes geralmente crescem somente em uma amostra (quando duas ou mais são obtidas). Portanto, a coleta de uma amostra única deve ser inibida, já que um número substancial de bacteremias pode não ser detectado e impossibilita a discriminação de possíveis contaminantes(2,17,35).

A política do laboratório associada aos protocolos médicos da instituição deve estar apta a criar mecanismos para desencorajar a coleta de amostra única e instituir ou garantir a coleta de ao menos duas amostras de hemoculturas por episódio infeccioso (com exceção de pacientes pediátricos de baixo peso ou com outras limitações), de acordo a viabilidade local.

### 7.2.3 Hora, intervalos e local de coleta

De forma prática, a coleta deve ser indicada precocemente ao início dos sintomas de infecção e antes do início da antibioticoterapia. Se o paciente estiver em vigência de antimicrobianos, as hemoculturas devem ser obtidas imediatamente antes da administração da próxima dose (vale). Preferencialmente são coletadas por punção venosa, tão logo se inicie o aumento de temperatura do paciente. A coleta de sangue arterial não está associada com aumento da sensibilidade e não é recomendada, em princípio.

O uso de antitérmicos não interfere nos resultados de hemoculturas.

Cada amostra deve ser coletada de punções separadas e de sítios anatômicos diferentes. Vários frascos com sangue de uma mesma punção são considerados uma mesma amostra ou cultura de sangue (2).

Poucos estudos avaliam sistematicamente a hora e o intervalo ótimo entre amostras sucessivas. Estudos experimentais mostraram que, após um influxo de bactérias na corrente sanguínea, ocorre um tempo de latência de aproximadamente uma hora até que ocorram sintomaticamente calafrios seguidos de febre (13).

Alguns autores classicamente recomendam a coleta de amostras em intervalos arbitrários de 30 a 60 minutos. No entanto, Thomson e col. observaram que não há diferenças significativas entre os índices de positividade de hemoculturas obtidas em diferentes tempos em relação ao pico febril (14) e Li e col. demonstraram que não há diferenças na recuperação de hemoculturas num período de 24 horas quando obtidas simultaneamente ou em intervalos separados (15).

O estado clínico do paciente é que vai determinar o momento e o intervalo entre as coletas (Tabela 1). Em geral, nas infecções agudas, recomenda-se a coleta de duas a três amostras (dois frascos por punção/amostra) em curto espaço de tempo, ou seja, sequenciais ou dentro de 1 hora. A coleta de hemoculturas em intervalos maiores de 1 a 2 horas entre as amostras pode ser recomendada para monitorar ou documentar bacteremia contínua em pacientes com suspeita de endocardite ou infecção endovascular associada a dispositivos invasivos (ex.: cateter vascular) (16).

As hemoculturas, preferencialmente, não devem ser coletadas a partir de cateter, exceto para diagnóstico de infecção relacionada ao dispositivo. Neste caso, a amostra obtida através do cateter deve ser sempre acompanhada por uma ou duas amostras de veia periférica, de forma sequencial ou concomitante, identificando corretamente as amostras quanto ao local de punção. As respectivas coletas devem ser representadas por um mesmo volume de sangue, para que sejam comparáveis quanto ao tempo de positividade (7), quando este dado for disponível por metodologia automatizada.

**Tabela 1** Recomendações para coleta de hemoculturas em diferentes condições ou síndromes infecciosas

Condição ou Síndrome infecciosa	
Suspeita de bacteremia ou fungemia primária ou secundária (endocardite, meningite, osteomielite, artrite, pneumonia etc.)	Obter 2-3 amostras, uma após a outra, de diferentes sítios anatômicos, logo após o início dos sintomas
Febre de origem indeterminada (ex. abscessos ocultos, febre tifóide, brucelose ou outra síndrome infecciosa não diagnosticada)	Obter 2-3 amostras, uma após a outra, de diferentes sítios anatômicos, inicialmente. Se negativas nas primeiras 24-48h de incubação, obter mais duas amostras, uma após a outra, de diferentes sítios anatômicos
Suspeita de bacteremia ou fungemia com hemoculturas persistentemente negativas	Considerar métodos alternativos de hemoculturas, específicos para aumentar a recuperação de micobactérias, fungos ou micro-organismos fastidiosos

Adaptado de: Baron, E.J, M.P. Weinstein, W.M.Dunne Jr, P. Yagupsky, D.F. Welsh e D.M. Wilson. *Cumitech 1C, Blood Cultures IV*. Coordinating Ed. E.J. Baron. ASM Press, 2005. Washington D.C.

#### 7.2.4 Volume de sangue

Esta é uma das variáveis mais críticas para a positividade do exame, pois quanto maior o volume, maior será a chance de positividade. Todavia, devemos respeitar a idade do paciente (adulto ou criança) e o volume recomendado pelo fabricante para os tipos de frascos utilizados, mantendo a proporção de sangue / caldo de cultura de 1:5 a 1:10 (2).

Para adultos, coleta-se 5 a 10ml de sangue por frasco em cada punção, totalizando 20ml, distribuídos pelo número de frascos indicados, ou seja, um par de frascos por punção / amostra (17), conforme resumido na Tabela 3.

Na suspeita de fungos dimórficos ou filamentosos (ex.: Histoplasma) ou micobactérias, o indicado é coletar 5 a 10mL por frasco (conforme instruções do fabricante), de duas a três amostras, coletadas com o intervalo de ao menos um dia entre elas (2).

Para crianças, o volume ótimo de sangue ainda não está bem definido, mas os dados da literatura demonstram que há uma relação direta entre o volume de sangue obtido e a detecção de ICS. Estudos anteriores já demonstraram que amostras de sangue com volume maior ou igual a 1 mL detectaram mais bacteremias que amostras com volumes inferiores a 1 mL. Kellogg e col. documentaram que a bacteremia de baixo grau, com contagem inferior a 10 UFC/mL (Unidades Formadoras de Colônias / mL) ocorria em 68% dos lactentes até dois meses e 60% das crianças do nascimento até 15 anos e em 23% dos episódios, tinha contagem inferior ou igual a 1 UFC/mL (18,19).

De acordo com as recomendações do CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) (16) o volume de sangue extraído em crianças deveria ser de até 1% da volemia. Entretanto, os estudos de Kellogg e col., baseando-se na premissa de que até 4 a 4,5% da volemia caracteriza um índice seguro e da relação entre volemia e peso do paciente, as recomendações para coleta em crianças está resumida na tabela 2 (18). Porém, de forma prática, ainda é impossível estabelecer volumes ótimos para crianças muito pequenas ou prematuras.

**Tabela 2** Volume de sangue sugerido para hemoculturas de lactentes e crianças

Peso (Kg)	Volemia (mL)	Volume de sangue por amostra (mL)		Volume total de sangue (mL)	% da volemia
		Cultura nº1	Cultura nº 2		
≤1	50 – 99	2	-	2	4
1,1 – 2	100 – 200	2	2	4	4
2 – 12,9	>200	4	2	6	3
13 – 36	>800	10	10	20	2,5
>36	>2.200	20-30	20-30	40-60	1,8-2,7

Adaptado de: Baron, E.J, M.P. Weinstein, W.M.Dunne Jr, P. Yagupsky, D.F. Welsh e D.M. Wilson. *Cumitech 1C, Blood Cultures IV*. Coordinating Ed. E.J. Baron. ASM Press, 2005. Washington D.C. (2).

Kellogg, J.A. Manzella, J.P. e D.A. Bankert. *Frequency of low-level bacteremia in children from birth to fifteen years of age. J. Clin. Microbiol.* 2000. 38:2181-2185 (18).

**Tabela 3** Tipos de frascos e volume de sangue sugeridos por amostra de hemocultura

	Crianças até 13 kg	Crianças de 13 a 36 kg	Crianças > 36 kg e Adultos
Frasco AERÓBIO <sup>a</sup>	1 a 4 mL	5 mL	5 a 10 mL
Frasco ANAERÓBIO <sup>a</sup>	-	5 mL	5 a 10 mL
Volume total/amostra	1 a 4 mL <sup>b</sup>	10 mL	20 mL

<sup>a</sup> Ver recomendações do fabricante

<sup>b</sup> Em lactentes com extrema dificuldade de coleta pode-se coletar um volume não inferior a 0,5ml.

### 7.2.5 Técnica de coleta

A antissepsia adequada da pele é parte fundamental do processo e é o fator que determina a probabilidade de uma hemocultura positiva ser considerada contaminação ou infecção. Os dados disponíveis até o momento mostram que a tintura de iodo 1-2% (álcool iodado) ou preparações com clorexidine alcoólico 0,5% parecem ser equivalentes entre si e ambos apresentam menores taxas de contaminação do que preparações de iodo-povidine (PVPI) (23). Clorexidine tem a vantagem de ser incolor e menos irritante para a pele. Recomenda-se que, devido à possibilidade de toxicidade, seja feita a remoção destes antissépticos com álcool da pele de neonatos após a coleta ou utilizar apenas álcool 70% (16).

De acordo com a padronização de antissépticos de cada instituição, o seguinte roteiro para coleta pode ser proposto:

- Preparar o material, dispor a etiqueta de identificação no frasco, anotando o nome do paciente, leito, data, hora e local de coleta (sítio anatômico), imediatamente ao procedimento. *ATENÇÃO: Não colar a etiqueta de identificação sobre o código de barras do frasco.*
- Limpar a tampa de borracha com algodão embebido em álcool 70%. Manter o algodão sobre o frasco até o momento da punção ou proceder conforme as instruções do fabricante.
- Escolher o melhor local de punção para a coleta de sangue. Colocando o garrote e apalpando livremente as veias do paciente para escolher a mais calibrosa e menos móvel. Soltar o garrote.
- Fazer a antissepsia com clorexidine alcoólico 0,5%, friccionando a pele em círculos semi-abertos a partir do ponto a ser puncionado. Secar por 30 segundos. Em seguida, aplicar novamente clorexidine alcoólico 0,5% utilizando novo algodão ou gaze. Esperar cerca de 30 segundos para secar, repetir o procedimento por mais uma vez e aguardar secar.

**Nota:** clorexidine alcoólico para limpeza da pele pode ser substituído por álcool-iodado ou álcool 70%, dependendo da padronização da instituição. Não voltar a tocar o local onde foi feita antissepsia, a não ser com luvas estéreis (se

necessária nova palpação do local). Se houver suspeita de contaminação da área, repetir o procedimento de antisepsia.

- Colocar novamente o garrote e puncionar a veia com agulha e seringa ou dispositivo para coleta a vácuo, sem tocar diretamente no local de punção.
- Coletar de 5 a 10ml de sangue (adultos) ou de 1 a 4ml de sangue (crianças) para cada frasco.
- Ao retirar a agulha, fazer compressão local com algodão seco, sem flexionar o braço.
- Transferir a amostra para os frascos de hemocultura, colocando primeiramente o sangue no frasco ANAERÓBIO (sem troca de agulhas). Se a coleta for realizada com escalpe e adaptador próprio (sistema de coleta fechado a vácuo), inocular primeiro o frasco AERÓBIO. Importante lembrar que, nesse caso, os frascos de hemocultura devem permanecer em pé durante toda a etapa de coleta, para evitar refluxo para a veia do paciente. Observar o volume correto observando a guia de marcação na etiqueta do próprio frasco, já que a maioria deles não tem volumes de aspiração à vácuo calibrados.
- Utilizar um conjunto de seringa – agulha ou dispositivo próprio de coleta a vácuo para cada punção/amostra.
- Dispensar o material de punção em local apropriado (caixa de perfurocortante).

Se a amostra for obtida a partir de cateter vascular, deve ser realizada a antisepsia do local a ser puncionado com álcool 70% (dispositivo) ou clorexidine alcoólico (pele) conforme instruções acima e não é necessário descartar o volume inicial de sangue ou lavar o acesso com salina para eliminar heparina ou outros anticoagulantes, pois a alta concentração protéica dos meios de cultura normalmente neutraliza o efeito antimicrobiano eventual do anticoagulante (16,30,31).

Além disso, o descarte do volume inicial de sangue do cateter com o intuito de evitar contaminação é assunto controverso e esta prática ainda é realizada em muitas instituições, mesmo nas pediátricas, onde o volume de sangue é ponto crítico. Porém, estudo realizado por Dwivedi e col. em 2009 (36), demonstrou que o descarte da alíquota inicial não diminui a chance de contaminação da amostra, tornando esta prática desnecessária.

#### 7.2.6 Tipos de frascos

Tradicionalmente um par de hemoculturas (equivalente a uma amostra ou uma punção) compreende um frasco aeróbio e um anaeróbio.

Estudos anteriores, das décadas de 80 e início dos anos 90, indicavam que a recuperação de anaeróbios estava em declínio, já que alguns dados deram fundamentação ao conceito de que os frascos anaeróbios deveriam ser dirigidos a casos selecionados. Sendo assim, alguns autores preconizaram o uso de rotina de somente frascos aeróbios (20, 21).

Apesar da proporção de ICS causadas por anaeróbios ter diminuído progressivamente, há estudos que mostram que a coleta do par incluindo o frasco anaeróbio leva ao aumento do isolamento de *Staphylococcus* spp., *Enterobacteriaceae*, alguns *Streptococcus* spp. e *Enterococcus* spp., anaeróbios estritos e facultativos, além de garantir volume de sangue mais adequado de amostra por punção para melhor recuperação dos patógenos (22).

Além disso, grande parte dos meios comerciais disponíveis é capaz de detectar o crescimento de leveduras no frasco aeróbio. Portanto, recomenda-se que, preferencialmente, as hemoculturas de rotina incluam frascos pareados de hemocultura aeróbia e anaeróbia (16).

O uso de um frasco aeróbio, somente, muitas vezes é preconizado em instituições onde há dificuldades relativas a acordos de ressarcimento por parte da fonte pagadora ou quando não há consenso para a solicitação do exame. Alguns autores sugerem que pode haver benefício na coleta de dois frascos aeróbios nas instituições em que a prevalência de leveduras seja elevada (2).

Quando a amostra obtida possuir volume total inferior ao preconizado por frasco, o maior volume de sangue deve ser inoculado no frasco aeróbio para que não haja perda na detecção de bacteremias causadas por *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* ou leveduras, que são aeróbios estritos. O menor volume restante deve ser inoculado no frasco anaeróbio.

Ao ser coletada mais de uma amostra, anotar nos respectivos frascos (aero e anaero) quais frascos são do mesmo local de punção ou sítio anatômico (ex.: 1ª amostra, veia periférica, cateter etc.).

## 7.3 Metodologias

### 7.3.7 Método manual

Atualmente os laboratórios que ainda se valem de metodologias manuais, em sua grande maioria, utilizam meios de cultura comerciais, aeróbios e/ou anaeróbios, para a realização de hemoculturas. Trata-se geralmente de caldo infusão cérebro-coração (BHI) ou caldo caseína digerida de soja (TSB) para

aeróbios, facultativos e leveduras; e caldo Columbia para anaeróbios que devem favorecer o crescimento da maioria dos micro-organismos, inclusive dos considerados fastidiosos (2).

Além do frasco contendo caldo BHI ou TSB, o método manual mais interessante inclui meio bifásico, sendo uma fase líquida e outra sólida, permitindo a observação de crescimento na superfície do ágar.

A maioria destes meios tem na sua composição o anticoagulante SPS (0,025 a 0,05%), o qual apresenta ação inibidora para lisozimas, além de certa ação inibitória frente a determinadas concentrações de aminoglicosídeos e polimixinas, pode ter ação inibitória para algumas frações do complemento e inibe parcialmente a fagocitose. Por outro lado este anticoagulante pode aduzir certa ação inibidora para o isolamento de determinados micro-organismos, como por exemplo, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Peptostreptococcus* spp., *Moraxella catarrhalis* e outros. Daí a recomendação de acrescentar gelatina na concentração de 1,2% na composição destes meios para inibir parcialmente o efeito nocivo do SPS, quando há suspeita de um dos agentes acima citados (2).

Embora ainda utilizado por razões de custos, o método manual não é o mais indicado por apresentar baixa sensibilidade (quando comparado com métodos automatizados), ser mais trabalhoso, além de favorecer a possibilidade de contaminação das amostras examinadas e de acidentes com perfurocorantes durante o processamento e repiques sucessivos.

Um período de sete dias de incubação e agitação periódica dos frascos é um fator importante para maior positividade; subcultivos deve ser realizado durante este prazo. Tanto os frascos de hemocultura como as placas de subcultivos, devem ser mantidos à temperatura de  $35 \pm 2^\circ\text{C}$ . O primeiro subcultivo (cultura cega) pode ser feito após 12 – 18 horas, em placa de ágar-chocolate com incubação em atmosfera de  $\text{CO}_2$ , por no mínimo 48 horas e observada diariamente para verificar a presença de colônias. Além dos subcultivos para cultura cega, deve ser realizada a inspeção visual dos frascos diariamente a partir de 6 – 12 horas à procura de sinais de hemólise, turbidez, produção de gás, bolhas, película de crescimento, grumos, etc. que podem ser sinais de positividade até o 7º dia. Nestes casos, a amostra deve ser subcultivada imediatamente e preparada lâmina para microscopia (Gram). A inspeção visual e o subcultivo são fundamentais, e o crescimento é incrementado na medida em que é feita a agitação do frasco (26). Culturas cegas sequenciais e subcultivo terminal não acrescentam ao resultado, desde que as amostras fiquem

sedimentadas e seja feita inspeção visual diária (27, 28). A grande maioria dos micro-organismos é isolada nas primeiras 72 horas.

Mediante a presença de microscopia com morfologia suspeita e sem crescimento no subcultivo em aerobiose ou caso haja crescimento somente no frasco anaeróbio, suspeita-se de anaeróbios. Neste caso, uma alíquota da amostra deve ser subcultivada em placa de ágar-sangue (preferencialmente enriquecido com hemina e vitamina K), e incubada em atmosfera de anaerobiose por 48 – 72 horas.

Em suspeitas diagnósticas de micro-organismos de crescimento mais lento, períodos mais prolongados de incubação devem ser indicados.

O frasco Signal (Oxoid®) apresenta um dispositivo de detecção de produção de CO<sub>2</sub> em que se pode visualizar facilmente a positividade da amostra, não sendo necessário o subcultivo periódico (cultura cega). Este frasco apresenta custo relativamente elevado, semelhante aos equipamentos automatizados e tem lugar em instituições que processam número pequeno de amostras, sem justificativa de instalação de automação.

### 7.3.8 Método de Lise-centrifugação

Durante muitos anos foi considerado o padrão-ouro para hemoculturas. O sistema Isolator® (laboratórios Wampole) constitui de tubo a vácuo adulto e pediátrico contendo uma substância lisante de leucócitos e hemácias, liberando micro-organismos intracelulares. Os tubos são centrifugados e, após desprezar-se o sobrenadante (contendo debris celulares, agentes antimicrobianos, plasma e complemento), o sedimento contendo o suposto agente etiológico é semeado em qualquer tipo de meio inclusive para patógenos especiais como *Legionella*, Micobactérias e fungos. Tem ainda a possibilidade de se fazer a contagem de colônias por mL de sangue (cultura quantitativa). Este método tem como limitação o custo elevado e o fato de ser trabalhoso, o que inviabiliza o processamento de grande número de amostras.

### 7.3.9 Métodos Semi-automatizados

O sistema Hemobac Trifásico (Probac®) é composto por um laminocultivo com duas fases acoplado à parte superior de um recipiente plástico contendo caldo suplementado com extrato de levedura e SPS que pode ser acrescido de substâncias para neutralização de antimicrobianos. As faces do laminocultivo contêm ágar-chocolate, ágar Sabouraud e ágar MacConkey. Os frascos acoplados são incubados em estufa própria que faz a inversão periódica do caldo sobre o laminocultivo. A positividade é visualizada por meio de um indicador colorimétrico de CO<sub>2</sub>. A bacterioscopia, a identificação e o an-

tibiograma são processados diretamente a partir de colônias desenvolvidas no laminocultivo, não havendo necessidade de subcultivo, estabelecendo maior agilidade na obtenção do resultado.

O sistema Septi-Check<sup>®</sup> (BBL, BD Diagnostic Systems) apresenta princípio semelhante e a inversão do frasco é feita manualmente.

#### 7.3.10 Métodos Automatizados (monitoração contínua)

Atualmente existem diversos equipamentos automatizados no mercado para a realização de hemoculturas que apresentam grande vantagem em relação às metodologias manuais, principalmente no que se refere à rapidez dos resultados e à diminuição do trabalho técnico. Geralmente os protocolos são de cinco dias de incubação, mas a grande maioria dos resultados positivos ocorre nas primeiras 48 horas.

As metodologias utilizadas pelos equipamentos automatizados disponíveis no Brasil, como por exemplo, BACTEC<sup>®</sup> modelos FX, série 9000 (9050, 9120, 9240) ou MGIT (Becton Dickinson Diagnostic Instrument Systems, Sparks, MD, USA) e BacT/ALERT<sup>®</sup> 3D 60/120/240 (bioMérieux, Durham, NC, EUA), têm como base a detecção por fluorescência ou colorimetria.

Inúmeros trabalhos mostram as vantagens dessas metodologias e a opção da escolha do equipamento, em geral, está mais relacionada ao custo do equipamento e/ou de seus frascos de consumo. Seguem alguns dos benefícios:

- Contínuo monitoramento pelo sistema (leitura em minutos).
- Maior sensibilidade e rapidez para detecção de positividade da amostra (agitação).
- Possibilidade de criação de banco de dados dos micro-organismos isolados e dados demográficos, além do interfaceamento com o sistema do laboratório, o que facilita a liberação dos resultados negativos.
- Determinação do tempo para positividade de cada frasco, auxiliando no diagnóstico de infecções relacionadas a cateter.
- Menor risco de contaminação laboratorial, pois o repique só é realizado em amostras positivas.
- Não é necessário repicar amostra negativa.
- Economia de tempo e material (agulha, seringa e placas com meios de cultura para repiques) com menor risco de manipulação.
- Os frascos de plástico possuem a vantagem de serem mais leves e provocarem menos risco de acidentes.

A principal desvantagem do método é o custo ainda elevado, algumas vezes não compensados pelas fontes pagadoras.

Para os laboratórios que dispõem de metodologias automatizadas, existe a possibilidade do uso de meios de cultura com resinas ou carvão que apresentam ação inibitória para antimicrobianos, útil para pacientes que receberam antibioticoterapia prévia.

Os frascos aeróbios devem manter área suficiente de volume de ar para permitir crescimento de bactérias aeróbias estritas como *Pseudomonas aeruginosa* e leveduras, enquanto os frascos para anaeróbios devem ter uma mistura de gases livres de oxigênio, evitando-se a introdução de ar durante a coleta. Agitação do meio é um fator importante para facilitar a multiplicação bacteriana, principalmente dos aeróbios estritos e facultativos.

Pacientes com infecção avançada pelo HIV, bem como outros imunossuprimidos, têm risco elevado de infecções por *Mycobacterium tuberculosis* e pelo complexo *Mycobacterium avium*, assim como por *Histoplasma capsulatum*. Nestes casos, a inoculação do sangue concentrado (sistema de lise-centrifugação Isolator®) pode ser feita em ágar Lowenstein-Jensen ou caldo Middlebrook 7H11 ou usar os frascos específicos de sistemas automatizados como MYCOF® (BACTEC – BD®) ou MB/BACT® (BacT/ALERT – bioMerieux®) (41).

Em geral, a maioria dos meios comercializados para automação tem desempenho semelhante para os patógenos usuais. Apesar da recomendação de coletar amostras antes do início da antibioticoterapia, muitos pacientes já estão recebendo antimicrobianos no momento da coleta, diminuindo potencialmente a chance de positividade. Os meios contendo resinas ou carvão ativado tendem a levar ao aumento da recuperação de micro-organismos incluindo *Staphylococcus* spp., *Enterobacteriaceae* e leveduras, propiciando o aumento da positividade em pacientes recebendo antimicrobianos e, em contrapartida, a recuperação de mais contaminantes, tipo *Staphylococcus coagulase negativo* (SCN) (2).

Em situações rotineiras, utilizando-se o método automatizado de monitoração contínua, recomenda-se que os frascos de hemocultura sejam incubados por cinco dias para bactérias aeróbias, anaeróbias e a grande maioria das leveduras (16), e 42 dias para frascos especiais para outros fungos e micobactérias (32), ou conforme instruções do fabricante.

**Nota:** apesar de a maioria dos fungos dimórficos crescerem em meios de hemocultura convencionais o crescimento pode levar até quatro semanas.

Por isso, o uso de automação não é totalmente confiável e outro método deve ser usado quando há suspeita de infecção por fungo filamentosos ou dimórfico, se possível, hemocultura por lise-centrifugação e semeadura em Ágar (33), além da coleta de outros materiais do provável sítio de infecção. Para o crescimento de *Malassezia furfur*, é necessário suplementar o meio com lípidos (ex. óleo de oliva) (16).

### 7.3.11 Coleta de hemoculturas para diagnóstico de infecção relacionada a cateter vascular

Cateteres intravenosos são notáveis fontes de bacteremia e fungemia, assim como complicações infecciosas no local da inserção. Os mesmos cuidados para inserção devem ser adotados na retirada do cateter. A pele ao redor do cateter deve ser cuidadosamente desinfetada com solução iodada ou de clorexidina. Após a secagem da solução sobre a pele (cerca de 30 segundos a 1 minuto), o cateter é removido cuidadosamente. O excesso de antisséptico sobre a pele pode ser removido, ao final, com álcool 70%.

O segmento distal (que estava inserido na veia do paciente), de aproximadamente 5cm, é assepticamente cortado com auxílio de tesoura estéril, colocado em um frasco estéril seco, e remetido em um prazo mínimo (1 hora) ao laboratório.

O método descrito por Maki é o mais amplamente utilizado para determinar a relação entre colonização do cateter e infecção. O segmento distal do cateter é rolado (deve-se evitar a esfregação) 4 a 5 vezes sobre a superfície de uma placa de ágar-sangue, com auxílio de uma pinça estéril. Após incubação, durante 18 – 24 horas à 35°C, preferencialmente em atmosfera de CO<sub>2</sub>, é realizada a contagem de colônias. É recomendável fazer uma nova observação da placa após 48 – 72 h. Essa técnica avalia somente a superfície externa do cateter. Considera-se o crescimento de  $\geq 15$  UFC (Unidades Formadoras de Colônias) por placa como sugestivo de colonização do cateter (34).

Na ausência de cultura semiquantitativa, a infecção relacionada ao dispositivo vascular também pode ser diagnosticada clinicamente quando há drenagem de secreção purulenta na junção da pele com o cateter e realizando-se a cultura desse material.

A técnica mais sensível é a cultura quantitativa, em que o segmento do cateter é imerso em caldo e sonificado (ultrassom) para a liberação dos micro-organismos aderidos nas superfícies intra e extraluminal. Em seguida são executadas diluições e culturas quantitativas a partir do caldo, após sonicação. O crescimento de  $\geq 100$ UFC/mL na ausência de sinais inflamatórios sugere

colonização e, na presença destes, infecção relacionada ao cateter. O crescimento de  $\leq 15$  UFC/placa (Maki) ou  $< 100$  UFC/mL (sonicação) é considerado indeterminado e vai depender de outros critérios para diagnóstico (34).

Ambas as metodologias requerem a retirada do dispositivo vascular, que na maioria dos casos resultam em culturas negativas.

Em paralelo, testes diagnósticos mais conservadores têm sido usados com relativo sucesso para preservar o cateter, principalmente nos pacientes com difícil acesso venoso ou com cateteres de longa permanência. Estes compreendem a coleta de hemoculturas pareadas e simultaneamente obtidas, uma através do cateter central e outra de veia periférica. Em estudos já realizados, demonstrou-se que se a contagem de colônias/mL da amostra de sangue obtida pelo cateter for no mínimo 4 vezes maior que a da amostra obtida da veia periférica, significa alto valor preditivo positivo de infecção relacionada ao dispositivo vascular (que pode ser realizado pelo método de lise-centrifugação – Isolator®)(42).

Partindo desse princípio, amostras de igual volume, coletadas pareadas do cateter e da veia periférica, podem ser inoculadas simultaneamente em frascos de hemocultura de sistemas automatizados de monitoração contínua. O tempo para detecção de positividade é diretamente proporcional ao inóculo inicial; portanto, se a diferença no tempo de positividade for maior que 2 horas, mais precoce do frasco coletado do cateter em relação ao da veia periférica, está frequentemente relacionada a infecções devido ao cateter. Esta metodologia apresenta sensibilidade variável a depender do tipo de cateter, tempo de permanência e presença de outros focos infecciosos à distância, mas apresenta um alto valor preditivo negativo, principalmente para cateteres de longa permanência, o que pode evitar em muitos casos a retirada desnecessária dos mesmos (3,4,6,7).

Hemoculturas obtidas a partir de dispositivos intravasculares, como cateteres ou *ports*, são associadas com maior taxa de contaminação (cerca de 10%) do que amostras coletadas por venopunção (2 – 3%) (36,37). Em casos específicos, onde há a necessidade de coleta através de dispositivos, esta deve ser sempre acompanhada de 1 ou 2 amostras de veia periférica para auxiliar na interpretação do resultado. Em caso de impossibilidade de coleta por veia periférica, colher duas amostras de duas vias diferentes do cateter (34).

### 7.3.12 Interpretação dos resultados

Por muitos anos tem sido consenso entre clínicos e microbiologistas que a hemocultura é um dos testes laboratoriais mais importantes para o diagnóstico de infecções graves.

O índice de positividade pode variar bastante de acordo com o tipo e o grau de complexidade da instituição (atendimento primário ou terciário, comunitário ou acadêmico), sendo em média de 10 a 15% (37). Quando esse índice diminui para valores muito baixos (< 5%) ou aumenta muito (>15%), é conveniente que seja revista a adequação dos pedidos de hemoculturas pelo corpo clínico. Outro indicador que pode ser usado para monitorar se o pedido de exames está sendo apropriado é auditar o número de hemoculturas por 1000 pacientes-dia, que deve ficar entre 103 e 188 (2).

Alguns micro-organismos têm alto valor preditivo positivo para bacteremia verdadeira (> 90%), mesmo quando isolado em somente uma amostra como, por exemplo: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e outras *Enterobacteriaceae*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Brucella* spp., *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Listeria monocytogenes*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae*, membros do grupo *Bacteroides fragilis*, *Candida* spp. e *Cryptococcus* spp., os quais quase sempre representam infecção verdadeira (1, 25).

*Streptococcus viridans*, *Enterococcus* spp. e *Staphylococcus* coagulase negativo (SCN) representam em média respectivamente 38%, 78% e 15% de bacteremias verdadeiras (1).

Alguns tipos de micro-organismos são mais frequentemente associados com contaminação (< 5% de chance de bacteremia verdadeira) como *Corynebacterium* spp., *Micrococcus* spp., *Bacillus* spp. e *Propionibacterium acnes* (1).

Outros patógenos mais raros costumam estar relacionados à imunossupressão causada por câncer ou leucemia, como *Aeromonas*, *Bacillus*, *Campylobacter*, *Capnocytophaga*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Listeria*, *Mycobacterium*, *Rhodococcus*, *Salmonella typhimurium*, *Streptococcus* do grupo G e também membros do grupo *Streptococcus gallolyticus* (grupo *Streptococcus bovis*) (1, 29).

Quando uma hemocultura é inesperadamente positiva (na ausência de sinais ou sintomas) ou quando somente uma dentre várias amostras é positiva para um determinado micro-organismo, este pode eventualmente ser considerado um contaminante.

Os índices de contaminação aceitáveis ficam em torno de 1 a 3%, sendo tolerável até 5%, podendo ser maiores em unidades de emergência e pediatria. Portanto, preferencialmente, as unidades devem ser monitoradas separadamente (24).

Nos últimos anos, tornou-se evidente que micro-organismos antes considerados quase sempre contaminantes, como por exemplo, *Staphylococcus coagulase negativo* (SCN), passaram a ser cada vez mais comumente isolados e algumas vezes associados a infecções verdadeiras (principalmente relacionadas a dispositivos invasivos), frequentemente confundindo a avaliação clínica (1). Além disso, hemoculturas falsamente positivas levam a trabalho extra ao laboratório, realização de exames adicionais, uso desnecessário de antibióticos e tempo prolongado de internação, com aumento dos custos.

Portanto, toda hemocultura positiva, com germes potencialmente contaminantes, deve ser criteriosamente avaliada, incluindo pacientes neonatos e lactentes, pela dificuldade de coleta em diferentes sítios anatômicos (25).

Muitos desses casos não são suficientemente avaliados somente pela identificação do gênero / espécie. O número de amostras positivas sobre o número de amostras coletadas tem mostrado ser útil na interpretação do significado de hemoculturas positivas. Ao contrário de pacientes com endocardite ou outra infecção da corrente sanguínea, nos quais a maioria dos frascos é positiva, nos casos de contaminação, geralmente somente uma amostra (dentre duas ou mais coletadas) apresenta positividade. Enfatize-se aqui que a coleta de uma amostra única perde todo o significado, tornando impossível essa avaliação. Esse é um dos motivos pelos quais se recomenda a coleta de no mínimo duas amostras de hemocultura de sítios diferentes (além de garantir um volume de sangue adequado) (1).

Ainda e apesar disso, alguns estudos mostram que mesmo uma única amostra com SCN pode ser indicativa de infecção em determinadas situações (principalmente associadas a cateter intravascular) e em pacientes de alto risco, encontrar mais de uma hemocultura positiva para bactérias normalmente consideradas contaminantes como *Corynebacterium spp.* e *Bacillus spp.*, pode ter significado clínico (1, 12).

### 7.3.13 Limitações

Ainda não existe um padrão-ouro para o diagnóstico de ICS. Os métodos em uso requerem de horas a dias de incubação para detectar o crescimento de micro-organismos. Não há um sistema comercial disponível ou meio de cultivo capaz de possibilitar a detecção de todos potenciais patógenos.

Num futuro próximo, é provável que os sistemas baseados em cultivo passem a ser substituídos ou complementados por métodos moleculares ou de espectrometria de massa com a possibilidade de se tornarem mais sensíveis e rápidos.

#### 7.3.14 Comunicação dos resultados

O exame mais importante a ser realizado em qualquer hemocultura sinalizada como positiva é a coloração de Gram. É altamente provável que essa informação descritiva das características morfotintórias, juntamente com os dados do paciente, irá ditar a escolha da antibioticoterapia primária com impacto positivo na escolha terapêutica e na evolução clínica (5).

Portanto, o resultado parcial de hemoculturas deve ser considerado de alta prioridade para notificação ao médico assistente, inclusive por escrito. É sempre útil rever outras culturas do mesmo paciente, para identificar possíveis pistas da identificação do agente. O número de hemoculturas positivas sobre o total de amostras enviadas e o tempo de positividade também devem ser analisados ao reportar os resultados. Estudos mostram que um período curto para a notificação do resultado ao médico consiste de importante fator para diminuir o tempo de internação e propiciar melhor evolução do paciente. Este deve ser considerado um “resultado crítico”.

## 7.4 Referências Bibliográficas

- WEINSTEIN, M.P., TOWNS M.L., QUARTEY S.M., MIRRETT S., REIMER L.G., PARMIGIANI G., RELLER L.B. The clinical significance of positive blood cultures in the 1990's; a prospective comprehensive evaluation of the microbiology, epidemiology and fungemia in adults. *Clin. Infect. Dis.* 1997. 24:584-602.
- BARON, E.J., WEINSTEIN M.P., DUNNE W.M. JR., YAGUPSKY P., WELCH D.F., WILSON D. M. *Cumitech 1C, Blood Cultures IV*. Coordinating ed. E.J. Baron. 2005. ASM Press, Washington D.C.
- ARAUJO, M.R.E. Como pode ser feito o diagnóstico microbiológico das infecções relacionadas a cateter? em *Microbiologia Clínica: 156 perguntas e respostas / Caio Marcio Figueiredo Mendes*. [et al] – São Paulo: Sarvier, 2005, p. 98.
- O'GRADY, N.P., M. ALEXANDER, E.P. DELLINGER, J.L. GERBERDING, S.O. HEARD, MAKI D.G. Guidelines for the Prevention of Intravascular Device – Related Infections. *MMWR* August 9, 2002/51 (RR10);1-26.
- BEEKMANN, S.E., D.J. DIEKEMA, K.C. CHAPIN, and G.V. DOERN. Effects of Rapid Detection of Blood stream Infections on Length of Hospitalization and Hospital Charges. *J. Clin. Microbiol.* 2003. 41(7):3119-3125.

SIEGMAN-INGRA, Y., A.M., ANGLIM, D.E. SHAPIRO, K.A. ADAL, B.A. STRAIN, FARRB.M. Diagnosis of Vascular-Related Bloodstream Infection: a Meta-Analysis. *J. Clin. Microbiol.* 1997. 35(4):928-936.

BLOT, F., E. SCHMIDT, G. NITENBERG, TANCREDEC., LECRERCQB., LAPLANCHE A., ANDREMONT D.A. Earlier Positivity of Central Venous versus Peripheral-Blood Cultures Is Highly Predictive of Catheter-Related Sepsis. *J. Clin. Microbiol.* 1998. 36(1):105-109.

RELLER, L.B. Laboratory procedures in the management of infective endocarditis. Em A.L. Bisno (ed.) *Treatment of Infective Endocarditis*. Grune&Stratton, New York, N.Y. 1981, p.235-267.

ANDERSON, E.T., YOUNGL.S., HEWITT W.L. Simultaneous antibiotic levels in "breakthrough" gram negative bacteremia. *Am. J. Med.* 1976. 4: 493-497.

KREGER, B. E., CRAVEN D. E., MCCABE W.R. Gram-negative bacteremia. IV. Re-evaluation of clinical features and treatment in 612 patients. *Am. J. Med.* 1980. 68:344-355.

SCHIMPF, S., SATTERLEE W., YOUNG V. M., SERPICK A. Empiric therapy with carbenicillin and gentamicin for febrile patients with cancer and granulocytopenia. *N. Engl. J. Med.* 1971. 284:1061-1065.

WEINSTEIN, M.P. Blood Culture Contamination: Persisting Problems and Partial Progress. *J. Clin. Microbiol.* 2003, 41(6): 2275–2278.

BENNETT JR, I.L., BEESON P.B. Bacteremia: a consideration of some experimental and clinical aspects. 1954. *Yale J Biol Med* 26:241-262.

THOMSON JR, R.B, EVANS B.L., SOUTHERLAND J.L. Collecting of Blood Culture. *Generalist Microbiology Tech Sample N° G-1*. American Society of Clinical Pathologists, Northfield, Ill. 1991.

LI, J., PLORDE J.J., CARLSON L.C. Effects of volume and periodicity on blood cultures. *J. Clin. Microbiol.* 1994. 32:2829-2831.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). *Principles and Procedures for Blood Cultures; Approved Guideline*. CLSI document M47-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania, USA, 2007.

COCKERILL, F.R., WILSON J.W., VETTER E.A., GOODMAN A.M., TORGERSON C.A., HARMSEN W.S., SCHLECK C.D., ILSTRUPT D.M., WASHINGTON II J.A., WILSON W.R. Optimal test parameters for blood cultures. *Clin. Infect. Dis.* 2004. 38:1724-1730.

KELLOG, J.A., MANZELLA J.P., BANKERT D.A. Frequency of low-level bacteremia in children from birth to fifteen years of age. *J. Clin. Microbiol.* 2000. 38:2181-2185.

SZYMZCAK, E.G, BARR J.T., DURBIN W.A., GOLDMAN D.A. Evaluation of blood culture procedures in a pediatric hospital. *J. Clin. Microbiol.* 1979. 9:88-92.

- GOMES, J., BARROS V., RUIZ J. Clinical significance of anaerobic bacteremias in a general hospital. A prospective study from 1988 a 1992. *Clin. Invest.* 1993; 71:595-599.
- DORSHER, C.W., ROSENBLATT J.E., WILSON W.R., ILSTRUP D.M. Anaerobic bacteremia: decreasing rate over a 15 year period. *Rev. Infect. Dis.* 1991; 13:633-636.
- RILEY, J.A., B.J. HEITER AND P.P. BOURBEAU. Comparison of recovery of blood culture isolates from two BacT/ALERT FAN aerobic blood culture bottle with recovery from one FAN aerobic bottle and one FAN anaerobic bottle. *J. Clin. Microbiol.* 2003; 41:213-217.
- MIMOZ, O., KARIM A., MERCAT A., CASSERON B., FALISSARD B., PARKER F., RICHARD C., SAMIL K., NORDMANN P. Chlorhexidine compared with povidone-iodine as skin preparation before blood culture: a randomized controlled trial. *Ann. Intern. Med.* 1999. 131: 834-837.
- SOUVENIR, D., ANDERSON D.E., PALPANT S., MROCH H., ASKIN S., ANDERSON J., CLARIDGE J., EILAND J, MALONE C., GARRISON M.W., WATSON P., CAMPBELL D.M.L. Blood cultures positive for coagulase-negative staphylococci: antiseptic, pseudobacteremia and therapy of patients. *J. Clin. Microbiol.* 1998. 36:1923-1926.
- RICHTER, S.S., J.L. BEEKMANN, J.L. CROCO, J. DIEKEMA, F.P. KOONTS, M.A. PFALLER, DOERN G.V. Minimizing the workup of blood culture contaminants: implementation and evaluation of laboratory-based algorithm. *J. Clin. Microbiol.* 2002. 40:2437-2444.
- DUNNE, W.M., LAROCCO. Blood culture systems. In: Cimolai, N. (ed.), *Laboratory Diagnosis of Bacterial Infections*. Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y. 2001.
- CAMPBELL, J., WASHINGTON II J.A. Evaluation of the necessity for routine terminal subcultures of previous negative blood cultures. *J. Clin. Microbiol.* 1980. 12:576-587.
- GILL, V.J. Lack of clinical relevance in routine terminal subculturing of blood cultures. *J. Clin. Microbiol.* 1981. 14:116-118.
- BEEBE, J., KONEMAN, E.W. Recovery of uncommon bacteria from blood: association with neoplastic disease. *J. Clin. Microbiol.* 1995. 8 (3): 336-356.
- WARREN, J.R., GRAHAM F. The effect of heparin on the growth of bacteria and yeast. *J. Bacteriol.* 1950; 60:171-174.
- CHRISTMAN, J.F., DOHERTY D.G. The antimicrobial action of heparin. *J. Bacteriol.* 1956; 72:433-435.
- CRUMP, J.A., TANNER, D.C., MIRRETT, S., MCKNIGHT, C.M., RELLER, L.B. Controlled Comparison of BACTEC 13A, MYCO/F LYTIC, BacT/ALERT MB, and ISOLATOR 10 Systems for Detection of Mycobacteremia. 2003. *J. Clin. Microbiol.* 2003; 41(5): 1987-1990.
- BILLE, J., L. STOCKMAN, G.D. ROBERTS, HORSTMEIER, C.D., ILSTRUP, D.M. Evaluation of lysis centrifugation system for recovery of yeast and filamentous fungi from blood. *J. Clin. Microbiol.* 1983; 18: 469-471.

MERMEL, L.A, ALLON M., E. BOUZA, D.E., CRAVEN FLYNN P., O'GRADY N.P., I. RAAD, RIJNDERS B.J.A., SHERERTZ R.J., WARREN,D.K. *Clinical Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Intravascular Catheter-Related Infection: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA).*

LEE, A., MIRRET L., RELLER, B., WEINSTEIN, M.P. Detection of Bloodstream Infection in Adults: How Many Blood Cultures are Needed. *J. Clin. Microbiol.* 2007. 45(11): 3546-3548.

DWIVEDI.S, BHALLA R., HOOVER, D.R., WEINSTEIN, M. P. Intravenous-Catheter-Drawn Blood Cultures does not Reduce Contamination Rates in Discarding the Initial Aliquot of Blood. *J.Clin. Microbiol.* 2009. 47(9):2950-2951.

WEINSTEIN,M.P., DOERN, G.V. A Critical Appraisal of the Role of the Diagnosis of Bloodstream Infections. *J. Clin. Microbiol.* 2011. 49(9 Supplement):S26-S29.

ROSE, R., HUNTING, K.H.,TOWNSEND T.R., WENZEL, R.P. Mobidity / mortality and economics of hospital-acquired infections: a controlled study. 1977. *South Med J.* 70:1268-1272.

WEINSTEIN, M.P., RELLER, L.B., MURPHY, J.R., LICHTENSTEIN, K.A. The clinical significance of positive blood cultures: a comprehensive analysis of 500 episodes of bacteremia and fungemia in adults. I. Laboratory and epidemiologic observations. 1983. *Rev. Infect. Dis.* 5:35-53.

WASHINGTON, J.A, II. Blood cultures: principles and techniques. *Mayo Clin. Proc.* 1975; 50:91-98.

MUNIER, G., BLACK,D., SNYDERJ. Evaluation of BacT/ALERT blood culture media for the detection and recovery of *Histoplasma capsulatum* from blood, abstr. C-101, p.140. Abstr.104<sup>th</sup> Gen. Meet. Am. Soc. Microbiol. 2004. American Society for Microbiology, Washington, DC.

CAPDEVIL, J.A., PLANES, A.M., PALOMAR, M. GASSER, I., ALMIRANTE, B., PAHISSA, A., CRESPO, E., MARTINEZ-VAZQUEZ, J.M. Value of differential quantitative blood cultures in the diagnosis of catheter-related sepsis. 1992. *J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 11:403-407.

## Capítulo 8: Infecções Genitais

José A. Simões  
Caio Márcio Figueiredo Mendes  
Carlos Emílio Levy

### 8.1 Introdução

Os micro-organismos que colonizam o trato genital feminino incluem lactobacilos, difteróides, *Gardnerella vaginalis*, estafilococos coagulase negativos, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus* spp., estreptococos alfa e gama hemolíticos, *Escherichia coli*, leveduras e vários anaeróbicos. Dessa forma, diz-se que a vagina possui um verdadeiro ecossistema vaginal, cujo equilíbrio depende fundamentalmente do predomínio absoluto dos lactobacilos. A flora vaginal normal possui aproximadamente  $10^8$  UFC/mL de fluido vaginal, sendo que 90% deve ser de lactobacilos.

Muitas infecções do trato genital feminino têm origem em micro-organismos endógenos. A patogenicidade deles pode ser facilitada por fatores do hospedeiro, como por infecções primárias causadas por outros micro-organismos como: *herpes simplex* vírus (HSV), o vírus papiloma humano (HPV), *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, ou ainda com infecções específicas como aquelas causadas pela *Neisseria gonorrhoeae*. Além disso, hábitos e comportamentos inadequados (sobretudo de higiene e vestuário íntimos) podem prejudicar o crescimento dos lactobacilos e favorecer o crescimento e predomínio de outras bactérias, causando um desequilíbrio da flora vaginal e, conseqüentemente, predispor a uma vulvovaginite.

As vulvovaginites são conceituadas como sendo um processo infeccioso e/ou inflamatório que acomete o trato genital inferior (abaixo do OI do colo uterino). De um modo geral, se manifestam através de um corrimento vaginal, cujas características podem ser bastante variáveis. O corrimento pode se apresentar associado a um ou mais desses sintomas: mau odor, prurido, dor ou ardor ao urinar, dor às relações sexuais e sensação de desconforto pélvico. Todavia é importante salientar que esses sinais e sintomas são inespecíficos e ainda que muitas vulvovaginites podem ser completa-

mente assintomáticas. Por isso, fazer o diagnóstico no “palpite” é um erro profissional muito sério que geralmente não resolve o problema e, até mesmo, pode agravá-lo.

O Laboratório de Microbiologia deve estar capacitado para detectar os principais agentes das infecções genitais, particularmente aqueles causadores das doenças sexualmente transmissíveis (DST): *Neisseria gonorrhoeae*, *Treponema pallidum*, *Haemophilus ducreyi*, *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum* e *Mycoplasma hominis*. Já para o diagnóstico correto das vulvovaginites a melhor contribuição que o laboratório pode oferecer na prática é a microscopia do conteúdo vaginal, quer seja a fresco como corada pelo Gram. Nesse sentido, seria fundamental que a apresentação desses resultados fosse padronizada de maneira mais fácil e clara para que o médico solicitante consiga interpretá-los. A cultura não-quantitativa para aeróbios e em meios de rotina não tem valor na prática diagnóstica das vulvovaginites, pois a vagina possui uma microbiota riquíssima e muito variada conforme dito anteriormente.

### Principais Causas de Vulvovaginites

INFECCIOSAS	NÃO-INFECCIOSAS
Vaginose bacteriana	Atrófica
Candidíase vulvovaginal	Traumática
Tricomoníase	Irritativa (irritantes químicos e outros)
Vaginose citolítica	Alérgica
Cervicites	Psicossomática
<b>HSV-2</b>	Dermatoses
<b>HPV</b>	Líquen
<b>N. Gonorrhoeae</b>	Behcet
<b>C. Trachomatis</b>	Distrofias
	Dermatite de contato

#### 8.1.1 Vaginose bacteriana

A vaginose bacteriana (VB) é a vaginite mais comum e a principal causa de corrimento vaginal e mau odor entre as mulheres na idade reprodutiva. Embora ainda seja encarada por muitos como sendo um problema médico menor, a VB tem sido cada vez mais associada a várias complicações obstétricas e ginecológicas, e inclusive com o aumento no risco de aquisição e transmissão do vírus da imunodeficiência humana (HIV). As principais complicações relacionadas com a VB na gravidez incluem a prematuridade, corioamnionite, endometrite puerperal e infecção pós-cesárea.

A VB é definida como sendo uma síndrome clínica caracterizada por um supercrescimento de várias bactérias potencialmente patogênicas da vagina, levando a uma importante alteração do ecossistema e do fluido vaginais. A alteração da flora vaginal que ocorre na VB, consiste principalmente na diminuição ou ausência de lactobacilos vaginais e um aumento de *G. vaginalis*

e outras bactérias potencialmente patogênicas (*Prevotella*, *Peptostreptococcus*, *Mobiluncus*, micoplasmas, etc). Portanto, o simples fato de se encontrar *Gardnerella* num exame de Papanicolau de rotina numa mulher assintomática não significa que ela tenha necessariamente uma VB.

Atualmente admite-se que a VB seja uma doença relacionada à atividade sexual, porém sem ser considerada uma DST propriamente dita. A detecção de VB entre virgens é um argumento contrário à uma transmissão sexual como sendo a forma única e exclusiva para aquisição de VB. Outra evidência contra uma transmissão sexual exclusiva decorre dos consistentes achados de que o tratamento dos parceiros não previne a recorrência da VB.

### 8.1.2 Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico de VB é um tanto quanto complicado se considerarmos a natureza polimicrobiana dessa infecção, pois a cultura de um único micro-organismo coletado a partir da vagina não promove um bom e acurado diagnóstico, especialmente se não for uma cultura quantitativa. A cultura para *G. vaginalis* é positiva em todos os casos de VB, e pode ser detectada em até 50% de mulheres sadias assintomáticas. Dessa maneira, a cultura vaginal, isoladamente, não deve fazer parte do diagnóstico de vaginose bacteriana. Nem tampouco a simples presença da G.V. significa que a mulher tenha VB, conforme já dissemos.

No diagnóstico prático da VB, os seguintes critérios são utilizados (Critérios de Amsel):

- presença de um corrimento fluido, homogêneo;
- pH vaginal >4,5;
- liberação de odor de peixe quando adicionado hidróxido de potássio (KOH) a 10% ao fluido vaginal;
- e presença de células epiteliais vaginais intensamente recobertas por bactérias ao exame a fresco do conteúdo vaginal, as chamadas "clue cells".

A presença de três desses critérios é compatível com o diagnóstico de VB. É importante ressaltar que os dois últimos critérios são considerados de maior peso.

Por motivos práticos, e para uma melhor e mais objetiva padronização, alguns autores têm proposto outros métodos para simplificar o diagnóstico de VB através do exame bacterioscópico, isoladamente. Atualmente, a standardização do diagnóstico de VB utilizada tanto na prática como em investigações científicas baseia-se nos chamados critérios de Nugent. Essa técnica

avalia especificamente alguns tipos morfológicos de bactérias no esfregaço vaginal corado pelo Gram, criando um sistema de pontuação baseado na semiquantificação de *Lactobacillus*, *G. vaginalis*, *Prevotella ssp* e *Mobiluncus ssp*. Uma pontuação de 7 a 10 é considerada como diagnóstica para a VB.

### Critério de Nugent para o diagnóstico da vaginose bacteriana baseado no esfregaço vaginal corado pelo método de Gram

Tipo morfológico dos microorganismos	Pontuação segundo a quantidade de micro-organismo				
	Nada	1+	2+	3+	4+
Bacilos longos Gram +	4	3	2	1	0
Cocobacilos Gram -	0	1	2	3	4
Bacilos curvos Gram -	0	1	1	2	2

0 – 3 pontos = Normal

4 – 6 pontos = Intermediário

7 – 10 pontos = Vaginose bacteriana

A citologia oncótica (Papanicolaou) do colo uterino também pode ajudar no diagnóstico presuntivo da VB. Apesar de não ser o método ideal, dentro da nossa realidade pode ter uma grande importância pela frequência e facilidade com que é realizada na prática diária. Todavia deve-se ressaltar que o uso da citologia do colo uterino para o diagnóstico de VB possui algumas limitações. Além disso, é indispensável um bom diálogo com o citopatologista, no intuito de uma conscientização sobre a importância de uma melhor avaliação das alterações na flora vaginal (em especial os lactobacilos e as “clue cells”), e não apenas das alterações citopatológicas no esfregaço.

### **Candidíase vulvovaginal (CV)**

A candidíase vulvovaginal (CV) continua sendo uma das mais frequentes razões que fazem a mulher procurar o ginecologista. Pode-se dizer que a CV afeta a maioria das mulheres pelo menos uma vez em suas vidas, sendo estimado que 75% das mulheres terão pelo menos um episódio de CV durante a vida reprodutiva. Metade delas terá pelo menos mais de um episódio e aproximadamente 5% apresentarão episódios recorrentes. Antes da menarca e em mulheres pós-menopausadas, a ocorrência de CV é bem mais rara, uma vez que está intimamente associada com os níveis estrogênicos. O mecanismo imune local da vagina também está associado com a frequência dos episódios de CV na mulher. Além disso, a presença de fatores predisponentes são responsáveis pelo aparecimento da CV.

A CV não é considerada como doença sexualmente transmitida, pois a *Candida* spp. também faz parte da microbiota vaginal normal. A *Candida* spp. pode ser isolada em até 30% das mulheres saudáveis e assintomáticas, ou seja, sem qualquer corrimento vaginal anormal. Assim, o simples achado da

*Candida ssp.* num exame laboratorial de rotina (por exemplo, no Papanicolaou) não significa necessariamente que a mulher tenha a doença candidíase vaginal clínica. Episódio individual de candidíase vulvovaginal parece não estar relacionado à faixa etária nem ao número de parceiros ou frequência de relações sexuais. Além disso, o tratamento do parceiro não diminui a taxa de recorrência da CV.

A grande maioria das cepas isoladas da vagina (85-90%) correspondem a espécies da *Candida albicans*. Os restantes 10-15% são *Candidas não albicans*, predominando-se a *C. glabrata*. Estima-se que essa proporção de infecções por cepas *não albicans* venha aumentando progressivamente nos últimos anos. Clinicamente, ambas são indistinguíveis, causando sintomatologia muito semelhante. Entretanto, as cepas *não-albicans* geralmente são muito mais resistentes às terapias habituais.

### **Fatores predisponentes**

A *Candida* é um micro-organismo dimórfico, e pode ser tido como comensal ou patogênico, na dependência dos seus fatores próprios de virulência e dos fatores de defesa do hospedeiro. Os esporos representam a forma de transmissão e geralmente estão associados com a colonização assintomática da vagina. Ao contrário, a forma germinativa (com a produção de micélios) constitui a forma de invasão tissular e usualmente é encontrada nos casos sintomáticos.

Portanto, para que ocorra a candidíase vaginal clínica, o fungo precisa vencer a batalha com o meio vaginal e invadir a mucosa, causando sintomatologia na mulher. Geralmente, isso é favorecido por alguns fatores classicamente reconhecidos como predisponentes para a CV: gravidez, uso de anticoncepcionais orais de alta dosagem, diabetes mellitus descompensado, uso de corticóides, imunossupressores e antibióticos. Além disso, alterações na resposta imunológica, hábitos de higiene e vestuário inadequados, e contatos com alérgenos e/ou irritantes da genitália.

### **8.1.3 Diagnóstico Laboratorial**

O diagnóstico laboratorial é facilmente realizado no laboratório de microbiologia, a partir do conteúdo vaginal ou secreção uretral. Podem ser utilizados os seguintes métodos:

- Exame direto a fresco e/ou após coloração pelo método de Gram.
- Exame colpocitológico pelo Papanicolaou.
- Isolamento em meios de cultura comuns (Ágar Sangue, Ágar Sabouraud) com identificação da espécie (*albicans* ou *não-albicans*)

- Identificação das leveduras por métodos automatizados ou através de provas clássicas como: auxonograma, zimograma e pesquisa de tubo germinativo.
- Antifungigrama com drogas específicas: miconazol, fluconazol, ketoconazol, itraconazol, clotrimazol e nistatina.
- Pesquisa de *Candida albicans* por metodologia de sondas de DNA.

#### 8.1.4 Tricomoniase

A *Trichomonas vaginalis* é ainda a DST curável mais prevalente no mundo todo afeta aproximadamente 180 milhões de mulheres em todo o mundo. Todavia, em muitos países industrializados a prevalência da tricomoníase tem diminuído nas últimas décadas. A *Trichomonas vaginalis* é identificada em 30-40% dos homens, parceiros sexuais de mulheres infectadas. Ela também está associada com outras DST. Na mulher, a tricomoníase varia de portadora assintomática até doença aguda inflamatória. Em mulheres grávidas, sem tratamento, está associada com ruptura de membranas, nascimento prematuro e celulite pós-histerectomia.

#### 8.1.5 Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico laboratorial da tricomoníase pode ser realizado através de exames diretos, cultura ou técnicas moleculares. O pH vaginal está marcadamente elevado e há aumento do número de leucócitos polimorfonucleares. A visualização de *Trichomonas* móveis pelo exame direto a fresco é positiva em cerca de 50-70% dos casos confirmados em cultura. Embora os *Trichomonas* possam ser visualizadas através de esfregaços pelo Papanicolaou, a sensibilidade é de apenas 60-70%.

Microbiologistas experientes visualizam facilmente essas estruturas pelo método de Gram que detecta também as formas imóveis.

As técnicas de cultura possuem alta sensibilidade (95%) e devem ser realizadas quando os exames diretos são negativos e o pH está aumentado na presença de numerosos leucócitos polimorfonucleares.

Um diagnóstico rápido pode ser realizado através de “Kits” usando sondas de DNA e anticorpos monoclonais com sensibilidade de 90% e especificidade de 99,8%. Os testes mais frequentemente utilizados são:

- Exame direto a fresco e/ou após coloração pelo Gram
- Exame colpocitológico pelo Papanicolaou
- Isolamento em meios de cultura específicos (Roiron, Kupferberg, Diamond)
- Pesquisa pela metodologia de sondas de DNA

## 8.2 Infecção gonocócica

Apesar de ser uma DST bem documentada de longa data, ainda continua sendo de difícil controle. Isso deve-se ao fato de que o homem é o único hospedeiro natural e a forma de transmissão mais comum é a via sexual.

A doença envolve primariamente o trato genito-urinário podendo ocorrer várias complicações, entre as quais, endocardite, meningite, artrite e pielonefrite. As infecções causadas por *Neisseria gonorrhoeae* na mulher incluem uretrite, cervicite, podendo invadir as glândulas de Bartholin e de Skene. A partir dessas estruturas, a infecção pode disseminar-se para o endométrio, trompas ovarianas, ovários, superfície peritoneal e estruturas contíguas, causando a Doença Inflamatória Pélvica (DIP). Muitos casos de DIP estão primariamente associados com outros patógenos, como *Chlamydia trachomatis* e uma gama variada de bactérias anaeróbias e facultativas. A oftalmia neonatal ocorre em recém-nascidos, de mães portadoras, havendo contaminação no canal do parto. A infecção no homem se apresenta usualmente sob a forma de uretrite aguda. Entre os sintomas precoces estão: a sensação de desconforto e dor uretral.

A resposta inflamatória inicial é um corrimento mucoide, seguido por um exudato purulento que aparece 2 a 5 dias após a relação suspeita. A infecção pode progredir da uretra anterior para a uretra posterior em 10 a 14 dias. Os sintomas incluem aumento da disúria, poliúria e ocasionalmente febre e dor de cabeça. As glândulas, dutos e vesículas do trato genito-urinário podem tornar-se sítios de complicações locais. Infecção crônica da próstata, vesícula seminal e epidídimo, bem como estreitamento uretral, podem ocorrer. Dentre os fatores que contribuem para o aumento da incidência da gonorréia estão: a bactéria, o hospedeiro e as características clínicas da doença.

### 8.2.1 Fatores que envolvem a bactéria

- Resistência aos antibióticos e variação antigênica. O aparecimento de cepas de gonococo pouco sensíveis aos antibióticos tem causado muito interesse nos últimos anos, no campo das DST e tem sido objeto de extensas investigações em muitas regiões do mundo.
- Reinfecção, o que sugere que a infecção não proporciona uma resposta protetora do hospedeiro. Indivíduos infectados produzem resposta adequada com anticorpos anti-*N. gonorrhoeae*, sendo essa resposta o IgA contra as proteínas da superfície bacteriana. Por que então essas pessoas não se tornam imunes a reinfecção? A razão principal é que *N. gonorrhoeae* varia seus antígenos de superfície, especialmente os antígenos dos "pili" de modo que a resposta IgA original se torna rapidamente obsoleta. No caso dos "pili", a bactéria possui um repertório antigênico que pode chegar a 1 milhão de variações antigênicas.

### 8.2.2 Fatores que envolvem o hospedeiro

- Aumento da promiscuidade – o risco individual de contrair a gonorréia depende não somente da frequência de exposição sexual, mas também da prevalência da doença na população de onde são tomados os parceiros sexuais. Assim, indivíduos com grande número de diferentes parceiros sexuais possuem um maior risco de contrair gonorréia. Alguns trabalhos demonstram o encontro de gonorréia e sífilis 20 vezes mais frequente em homens com mais de 4 parceiras sexuais do que em homens com única parceira sexual.
- Uso de contraceptivos – o uso correto do preservativo de borracha é eficaz na profilaxia da gonorréia genital. O uso de contraceptivos orais, entretanto, aumenta entre os seus usuários o risco de contrair a gonorréia seja pelo aumento do número de parceiros como pela maior frequência de relação sexual.
- Aumento de mobilidade populacional – altas taxas de deslocamentos geográficos e sociais acompanhados de solidão e privação de direitos aumentam a frequência de relações sexuais e leva a altas taxas de prevalência da gonorréia nessas populações.
- Homossexualidade – a gonorréia é altamente prevalente entre os homossexuais. Em centros urbanos, os homossexuais masculinos contribuem de forma acentuada para a propagação da gonorréia.
- Recidivas – pacientes com infecções gonocócicas repetidas contribuem de forma intensa para o aumento da incidência de gonorréia. Assim, pacientes que continuam a ter relação sexual sob as mesmas condições e com o mesmo tipo de população possuem alto risco de contrair uma segunda infecção. A recidiva é um problema significativo em pacientes jovens.

### 8.2.3 Características clínicas da doença

A doença envolve primariamente o trato gênito-urinário podendo, entretanto, desenvolver várias complicações, entre as quais, endocardite, meningite, artrite e pielonefrite. O gonococo invade as células do hospedeiro por um processo semelhante ao da fagocitose. Os sinais clínicos de infecção são aparentemente devidos a migração de leucócitos e ativação do complemento no sítio da infecção.

A persistência do gonococo no hospedeiro é provavelmente causada pela sua fagocitose por células epiteliais, um processo que o protege então da atividade fagocítica dos leucócitos. O gonococo produz também uma IgA protease que inativa a IgA secretora.

#### 8.2.4 Diagnóstico laboratorial

O gonococo é uma bactéria frágil. As amostras clínicas submetidas a cultura devem ser semeadas imediatamente, pois a bactéria se auto-lisa com muita facilidade e é sensível a variações de temperatura. As amostras devem ser obtidas sempre antes do início do uso de antimicrobianos.

Quando é necessário transportar a amostra até o laboratório, medidas adequadas devem ser tomadas, como o uso de meios de transporte adequados ao gonococo. Para amostras obtidas de articulações, a cultura deve ser realizada em meio hipertônico contendo 20% de sacarose ou 20% de soro de cavalo, pois nessas amostras, o gonococo se encontra na forma L, desprovida de parede celular e não cresce nos meios habituais. A não observância dessas recomendações implica a obtenção de culturas negativas.

Os seguintes exames podem ser utilizados:

- Exame direto pelo método de Gram: esfregaços de amostras genitais femininas são muito menos confiáveis para fins diagnósticos do que as do sexo masculino. A sensibilidade do método de Gram nesse caso é de apenas 50%, quando comparado à cultura. Portanto, não deve ser utilizado como método diagnóstico definitivo na mulher.
- Detecção de antígenos por enzima-imunoensaio.
- Isolamento em meios de cultura específicos (Thayer-Martin ou similar).
- Identificação das colônias através de provas bioquímicas manuais ou automatizadas, imunofluorescência direta ou co-aglutinação.
- Técnicas moleculares como pesquisa pela metodologia de sondas de DNA (captura híbrida) ou por técnicas de amplificação (PCR).
- Pesquisa de beta-lactamase.

## Diagnóstico Laboratorial das Infecções por *N. gonorrhoeae*

Paciente	Local das amostras		Exames
	Primários	Secundários	
Feminino	Endocérvice	Reto, uretra, faringe	Gram, Cultura e/ou técnicas moleculares
Masculino	Uretra		Gram
Masculino homossexual	Uretra, reto, faringe		Gram, Cultura e/ou técnicas moleculares
DIP feminino	Sangue, endocérvice, reto	Faringe <sup>a</sup> , lesão pele <sup>b</sup> , fluido de articulação <sup>b</sup> , uretra	Cultura e/ou técnicas moleculares
DIP masculino	Sangue, uretra	Faringe <sup>a</sup> , lesão pele <sup>b</sup> , fluido de articulação <sup>b</sup> , reto <sup>c</sup>	Cultura e/ou técnicas moleculares

<sup>a</sup> – se possuir história de contato orogenital.

<sup>b</sup> – se presente.

<sup>c</sup> – se possuir história de contato anogenital.

### 8.2.5 Infecções causadas por *Chlamydia trachomatis*

As clamídias são bactérias parasitas intracelulares obrigatórias, patógenos importantes amplamente distribuídos através do reino animal. Somente poucas espécies são patogênicas para o homem. A *Chlamydia psittaci* causa psitacose, a *Chlamydia trachomatis* causa infecção ocular, respiratória e no trato genital e a *Chlamydia pneumoniae* causa pneumonia atípica.

### Síndromes humanas por *Chlamydia trachomatis*

Sorotipos	Sexo	Síndrome
A, B, Ba, C	ambos	tracoma, conjuntivite, queratite
	mulher	uretrite não gonocócica, cervicite, endometrite, salpingite, peri-hepatite
D, E, F, G, H, I, J, K	homem	uretrite não gonocócica, prostatite, epididimite
	ambos	conjuntivite, proctite, síndrome de Reiter
	recém-nascidos	oftalmia neonatorum, pneumonia
L1, L2, L3	ambos	linfogranuloma venéreo

A *Chlamydia* é, do ponto de vista metabólico, incapaz de produzir sua própria energia e, dessa maneira, retira ATP da célula hospedeira, sendo denominada de parasita energética. A *Chlamydia trachomatis* infecta somente o homem e é usualmente transmitida por contato pessoal, isto é, sexualmente, ou através do canal do parto. No tracoma, a bactéria é transmitida por contato dos olhos com os dedos ou com fômites contaminados.

A infecção por clamídia tornou-se altamente prevalente, mas devido sua natureza mais branda, ela não tem sido reconhecida e, muitas vezes, permanece sem tratamento. Os estudos epidemiológicos de infecção por clamídia têm documentado uma prevalência substancial do micro-organismo em adultos jovens e ativos sexualmente. Esses estudos relatam taxas de prevalência na faixa de 5% a 20% entre mulheres que frequentam clínicas de planejamento familiar; frequências mais altas de 20-40% foram notadas entre mulheres e jovens adolescentes sexualmente ativas que frequentavam clínicas de DST e em cerca de 25% de todas as mulheres atendidas em clínicas ginecológicas.

Aproximadamente 8% de todas as mulheres jovens atendidas em maternidades, sem sintomas de infecção urogenital, são portadoras de *C. trachomatis*. Da mesma maneira, pelo menos 3% dos homens atendidos em clínicas de DST, sem sintomas genito-urinários, são portadores de *C. trachomatis*. Aproximadamente 50% das uretrites não gonocócicas (UNG) são causadas por esse agente.

As infecções por clamídia coexistem frequentemente com a gonorréia. Nos Estados Unidos e regiões da Europa, 35-50% das mulheres com gonorréia apresentam infecção simultânea por clamídia; além disso, os estudos mostram também que 20-25% dos homens heterossexuais com gonorréia estão infectados também por *C. trachomatis*.

A uretrite é a manifestação mais comum da infecção por clamídia, no homem. Ela é duas vezes mais frequente que a gonorréia em algumas populações e sua incidência tem aumentado. *C. trachomatis* virtualmente é responsável por todas as complicações da uretrite não gonocócica.

Na mulher as infecções causadas por *Chlamydia trachomatis* incluem cervicite mucopurulenta, síndrome uretral, endometrite e salpingite. Embora a infecção seja assintomática em 70-80% dos casos, a mulher portadora de cervicite por clamídia poderá vir a ter sérias complicações se não for tratada. Uma cervicite prolongada, sem o tratamento adequado, pode se estender ao endométrio e às trompas, causando Doença Inflamatória Pélvica (DIP), sendo a esterilidade, a gravidez ectópica e a dor pélvica crônica, as principais sequelas. Além disso, na mulher grávida, o risco é duplo, para ela e para seu concepto.

#### 8.2.6 Diagnóstico laboratorial

Tanto *Chlamydia* como gonococo, graças às recentes utilizações dos testes moleculares, apresentam atualmente uma alta possibilidade de diagnóstico. Anteriormente, o teste mais confiável capaz de identificar *Chlamydia* era o isolamento em cultura de células vivas. Embora as culturas ainda sirvam

como “padrão ouro”, elas são tecnicamente complicadas e demoradas, além de custosas. Por isso, não são realizadas na prática.

As amostras para testes moleculares podem ser coletadas em água ou salina estéreis e transportadas à temperatura ambiente ou congeladas. Os testes moleculares para diagnóstico de *C. trachomatis* produzem resultados rápidos, confiáveis e custo com tendência a diminuir cada vez mais. A amostra adequada deve ser coletada da forma tradicional com *swab* ou escova endocervical. O exame também pode ser realizado a partir de urina de primeiro jato o que, todavia, pode reduzir sua sensibilidade no diagnóstico da cervicite, endometrite e salpingite.

Os exames para o diagnóstico de *Chlamydia* incluem:

- Exame direto, de raspado de mucosa cervical, pelo método da Imunofluorescência Direta ou por técnica Imunoenzimática.
- Isolamento em cultura de células MacCoy e identificação por técnica de Imunofluorescência (não realizável na prática).
- Pesquisa por metodologia molecular: Hibridização ou captura híbrida; PCR com detecção por hibridização; Testes sorológicos. RFC, IF-IgG, IF-IgM.

### Testes laboratoriais no diagnóstico das infecções genitais por *Chlamydia*

Cultura	Citologia			Sorologia			Téc. Moleculares	
	Giemsa	IFD	EIA	RFC	IF-IgG	IF-IgM	PCR	Sondas DNA
Positiva: material de raspado de mucosas	Não recomendada	Positiva	Positiva	Negativa ou positiva título baixo <sup>1</sup>	Positiva soros pareados	Eventualmente positiva <sup>2</sup>	Positiva	Positiva

<sup>1</sup> consideram-se títulos baixos até 1: 16 e títulos altos de 1: 32 ou mais. Maior valor diagnóstico que títulos altos é a elevação de 4x o título entre amostras de soro no início da doença e 2 semanas após.

<sup>2</sup> positiva nas primeiras semanas da infecção.

IFD: imunofluorescência direta

EIA: método imuno-enzimático

RFC: reação de fixação do complemento

### 8.3 Infecções causadas por *Mycoplasma spp.*

Alguns micoplasmas são habitantes normais do trato genito-urinário, sobretudo em mulheres. Em ambos os sexos, a presença de micoplasma no trato genital está diretamente relacionada com o número de parceiros sexuais. O *M. hominis* pode ser isolado de 30-70% das mulheres assintomáticas, enquanto o *U. realyticum* é encontrado no

trato genital de 40-80% das mulheres sexualmente ativas. Além disso, outras espécies de micoplasmas podem ocorrer no trato genital inferior, tais como: *M. fermentans* e *M. genitalium* com pequeno significado clínico.

O *M. hominis* está fortemente associado à infecção das trompas ovarianas e a abscessos tubo-ovarianos. Ele pode ser isolado através de hemoculturas em cerca de 10% das mulheres com febre puerperal e no líquido sinovial de pacientes com artrite.

O *U. urealyticum* é comum no trato genital feminino, porém a sua associação com doença é bastante discutível. Ele tem sido associado à ocorrência de doenças pulmonares em prematuros com baixo peso que contraíram o micro-organismo durante o nascimento. Existe evidência de associação entre o *Ureaplasma urealyticum* e infertilidade.

### 8.3.1 Diagnóstico laboratorial

Os micoplasmas são bactérias desprovidas de parede celular, são pleomórficas e somente crescem em meios hipertônicos, contendo 20% de soro de cavalo e extrato de levedura. O método de Gram não tem valor na pesquisa dessa bactéria.

Como fazem parte da microbiota genital normal, as culturas para seu isolamento necessitam ser quantitativas. Títulos iguais ou superiores a 10<sup>3</sup> UTC (unidades trocadoras de cor) são considerados clinicamente significativos. Em alguns casos pode ser necessária a realização do antibiograma que é feito em meio sólido ou líquido, utilizando-se pelo menos duas concentrações de cada antibiótico. Os antibióticos frequentemente utilizados incluem: tetraciclina, eritromicina, roxitromicina, ofloxacina e tianfenicol.

Testes sorológicos não são utilizados na rotina para infecções genitais por micoplasmas.

Os principais testes utilizados no diagnóstico de infecções genitais por micoplasmas incluem:

- Cultura quantitativa de materiais, tais como: secreção vaginal, uretral, cervical, urina de 1º. jato, esperma e líquido prostático em meios U-9, M-42 e A-7. Apenas títulos iguais ou maiores que 10<sup>3</sup> UTC (unidades trocadoras de cor) são clinicamente significativos.
- Testes sorológicos: utilizados somente para infecções pulmonares ou articulares.
- Antibiograma: tetraciclina, eritromicina, roxitromicina, ofloxacina e tianfenicol são testados rotineiramente.

## 8.4 Referências Bibliográficas

- Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines 2002. MMWR 2002;51(No. RR-6): 84p.
- Faro S, Soper DE, eds. Infectious Diseases in Women. 1<sup>st</sup> ed. Philadelphia, Pennsylvania: Saunders Company, 2001: 702p.
- Holmes KK, Mardh PA, Sparling PF, Lemon SM, Stamm WE, Piot P, Wasserheit JN, eds. Sexually Transmitted Diseases. 3<sup>rd</sup> ed. New York, NY: McGraw-Hill, 1999: 1454p.
- Ministério da Saúde. Brasil. Manual de controle das doenças sexualmente transmissíveis. 3<sup>a</sup> Ed. 1999: 138p.
- Simões JA, Giraldo PC, Fagundes A. Prevalence of cervicovaginal infections during gestation and accuracy of clinical diagnosis. Infect Dis Obstet Gynecol 1998;6: 129-33.
- Simões JA. Corrimento vaginal: um guia prático para o manuseio. Femina-março 1999;27(2): 161-67.
- Halbe, HW. Ed. \*Tratado de Ginecologia\*, 3<sup>a</sup>. edição, São Paulo, Editora ROCA Ltda., 2000.

## Capítulo 9:

### Infecções do Trato Respiratório Superior

Marinês Dalla Valle Martino

#### 9.1 Introdução – Importância clínica e em Infecção Relacionada à Assistência à Saúde

As infecções do trato respiratório superior são as mais comuns que ocorrem no ser humano.

A maioria das infecções de vias aéreas superiores são autolimitadas, de etiologia viral, porém, outras são provocadas por bactérias e exigem tratamento antimicrobiano.

São consideradas IVAS (infecções de vias aéreas superiores) infecções da laringe, nasofaringe, orofaringe, nariz, seios paranasais e ouvido médio.

Nas publicações de incidência de Infecções relacionadas a Assistência a Saúde (IrAS), essas infecções não têm o mesmo destaque das pneumonias, infecções relacionadas a cateter e infecções urinárias, porém até mesmo pela falta de definição do agente etiológico nas infecções virais, podem ser subnotificadas.

#### 9.2 Epidemiologia e fatores de risco

A microbiota do trato respiratório superior de um indivíduo é influenciada por vários fatores como: idade, estado imunitário, condições do ambiente, uso prévio de antimicrobianos, internação anterior e esquema de vacinação.

A identificação de uma bactéria patogênica ou potencialmente patogênica não necessariamente indica seu envolvimento na infecção, pois esses micro-organismos podem também ser detectados em portadores como é o exemplo do *Haemophilus*

*influenzae*. Desse modo, o conhecimento da microbiota normal do trato respiratório superior é essencial para a interpretação dos resultados da cultura.

A orofaringe contém uma microbiota mista com grande densidade de bactérias aeróbias, anaeróbias facultativas e anaeróbias estritas, incluindo: *Streptococcus* alfa hemolíticos e não hemolíticos, *Streptococcus* beta hemolíticos não pertencentes ao grupo A, *Neisserias* não patogênicas, *Haemophilus* spp., difteróides, *Staphylococcus* sp., *Micrococcus* spp. e anaeróbios (*Bacteroides* spp., *Fusobacterium* spp., *Veillonella* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Actinomyces* spp.).

Alguns patógenos como *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, enterobactérias e leveduras como *Candida albicans* podem ser componentes transitórios da microbiota da orofaringe em indivíduos saudáveis, sem desenvolvimento de doença.

O trato respiratório abaixo da laringe não possui flora residente normal. A mucosa nasal anterior é frequentemente colonizada por *Staphylococcus epidermidis* e difteróides, e alguns indivíduos são portadores intermitentes ou definitivos de *Staphylococcus aureus*, por outro lado, os seios paranasais e o ouvido médio não possuem flora microbiana.

A principal causa de faringite bacteriana é o *Streptococcus pyogenes*. Esse micro-organismo é especialmente prevalente entre as crianças na faixa etária entre 5 e 12 anos aonde representam 30% de todos os casos de faringite; em adultos estão associados a somente 10% dos casos. A incidência é maior durante o final do outono, inverno e início da primavera. Por outro lado, o *S.pyogenes* pode ser caracterizado como portador assintomático, por período variável de tempo, em alguns indivíduos.

### 9.3 Aspectos clínicos e patogênese

As infecções podem ser adquiridas através da exposição direta do agente, que pode ser inalado do ambiente.

Dentre as barreiras frente às infecções, são importantes: cílios da mucosa do trato respiratório, muco, secreção de imunoglobulinas e reflexo de tosse.

De acordo com o descrito anteriormente, a microbiota do trato respiratório superior é abundante e sobrevive normalmente em situação de equilíbrio com o hospedeiro. Essa microbiota tem ainda um papel na prevenção, quanto a aquisição de patógenos exógenos.

Clinicamente, os sinais e sintomas das infecções bacterianas e virais não são específicos. Porém, algumas manifestações como conjuntivite, coriza, exantema, tosse, lesões ulcerativas e diarreia estão mais frequentemente associadas com quadros virais.

Muitas vezes, os quadros respiratórios superiores e seus respectivos agentes etiológicos não podem ser separados dos quadros respiratórios inferiores.

### 9.3.1 Faringite

Esse termo refere-se a inflamação e/ou infecção da faringe (orofaringe, nasofaringe, hipofaringe, adenóides) e área tonsilar; é uma condição clínica responsável por uma das mais frequentes infecções comunitárias.

Geralmente, a transmissão dessas infecções, como é o caso das infecções estreptocócicas, se faz pela disseminação de aerossóis ou fômites; o contato direto (*Neisseria gonorrhoeae* e *Treponema pallidum*) é uma forma mais rara.

O agente mais frequente de faringite bacteriana é o *Streptococcus pyogenes*. Alguns vírus tais como: adenovírus, herpes simplex, influenza, parainfluenza, coxsackie A e EBV (mononucleose infecciosa), produzem faringite acompanhada de rinorréia, tosse, exantema e às vezes febre. Ainda, a faringite pelo vírus HIV pode ser a primeira manifestação da doença. É discutível o papel dos *Streptococcus* beta hemolíticos do grupo C e G, mas de qualquer forma não estão associados a sequelas como a febre reumática.

A proteína M, que é um antígeno de superfície do *Streptococcus pyogenes*, é importante na patogenicidade do agente, impedindo sua fagocitose. O quadro de escarlatina é associado com a produção da toxina eritrogênica.

**Tabela 1** Principais agentes etiológicos de faringites

Agente	Manifestação clínica	Estimativa de casos (%)
Rhinovírus	Resfriado	20
Coronavírus	Resfriado	5
Adenovírus	Doença respiratória aguda ou febre faringo-conjuntival	5
Herpes simplex vírus	Gengivite, estomatite e faringite	4
Outros vírus	Herpangina, mononucleose, etc,	≤ 1
Influenza vírus	Gripe	2
Parainfluenza vírus	Resfriado	2
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Faringite, amigdalite e escarlatina	15-30

Agente	Manifestação clínica	Estimativa de casos (%)
Streptococcus beta hemolitico do grupo C	Faringite e amigdalite	5
C.diphtheriae, Neisseriae gonorrhoeae, Arcanobacterium haemolyticum, Mycoplasma pneumoniae	Difteria Faringite Faringite Faringite, pneumonia	Raramente

### 9.3.2 Laringite

A laringite é uma manifestação comum do trato respiratório superior caracterizada por congestão nasal, rinorréia, tosse, dor de garganta e febre. As faixas etárias mais acometidas compreendem crianças com idade mais avançada, adolescentes e adultos.

A laringite aguda, na grande maioria das vezes, é de etiologia viral. Culturas para pesquisa de agentes bacterianos são indicadas apenas na suspeita de difteria, que se encontra atualmente entre as raras causas da doença.

A laringotraqueobronquite aguda é caracterizada clinicamente por rouquidão, tosse, estridor laríngeo e febre. Pode se estender à traquéia e algumas vezes até mesmo aos brônquios. Mais frequente em crianças entre 3 meses e 3 anos.

Da mesma forma que nas laringites, os vírus são os agentes mais envolvidos.

A epiglote, geralmente tem etiologia bacteriana sendo o *Haemophilus influenzae* tipo b o micro-organismo classicamente descrito. Trata-se de quadro extremamente raro nos dias de hoje, graças à vacinação. Acomete crianças entre 2 a 6 anos. Clinicamente manifesta-se com aparecimento abrupto de febre, dor de garganta e agitação.

Outras espécies bacterianas como *Haemophilus influenzae* não tipável, *Haemophilus parainfluenzae*, *Streptococcus pyogenes* e *Staphylococcus aureus* podem estar envolvidas

### 9.3.3 Sinusites

Os seios paranasais comunicam-se com a cavidade nasal, sendo então susceptíveis a infecções por micro-organismos habitantes do trato respiratório superior. A sinusite aguda é frequentemente secundária à infecção viral de vias aéreas superiores; outros fatores predisponentes são: alergia, desvio do septo nasal, pólipos, e em pacientes hospitalizados, entubação orotraqueal prolongada.

A infecção de seios paranasais pode se propagar a tecidos adjacentes, como células etmoidais (levando a celulite periorbital), abscessos cerebrais e meningites. Os micro-organismos mais comumente identificados são *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* não b, anaeróbios estritos, *Streptococcus* spp., e *Branhamella catarrhalis*. Em sinusites de origem intra-hospitalar, os agentes mais frequentes são: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, e fungos como *Candida* spp.

#### 9.3.4 Otites

- **Otite Média:** infecção do ouvido médio, geralmente acomete crianças entre 3 meses e 3 anos de idade. Os agentes mais comumente isolados são *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* e *Streptococcus pyogenes*.
- **Otite Externa:** infecção do canal auditivo externo, geralmente causada por *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus* spp. e *Staphylococcus aureus*. Pode ocorrer em indivíduos de qualquer idade, mas é mais frequente em pacientes de 7 a 12. Nadadores e indivíduos que têm contato com água contaminada são mais susceptíveis. A infecção profunda (otite maligna externa) é mais associada a imunodeprimidos e diabéticos.

#### 9.3.5 Outras infecções

- **Candidíase oral:** comum em neonatos e pacientes imunocomprometidos, principalmente após utilização de antibióticos de largo espectro; o diagnóstico é direto, feito através de esfregaço em lâmina do exudato corado pelo Gram ou KOH, onde são visualizadas leveduras.

## 9.4 Recursos para o diagnóstico laboratorial

### 9.4.1 Métodos gerais

A bacterioscopia é útil quando são obtidos materiais de sítios estéreis mas nem sempre é indicada em outras situações. No caso de suspeita das faringites estreptocócicas, a coloração de Gram não deve ser realizada, uma vez que a microbiota local é abundante.

As bactérias associadas aos quadros respiratórios, de uma forma geral, podem ser detectadas através de culturas.

A cultura é considerada o padrão-ouro para o diagnóstico da faringite estreptocócica. As reações sorológicas (anti-estreptolisina-O/ASLO) para a fase aguda da doença não têm indicação, e somente tem valor para confirmação

prévia da infecção em indivíduos com glomerulonefrite difusa aguda e febre reumática.

Diversos são os recursos laboratoriais para o diagnóstico dos vírus, abrangendo testes rápidos, detecção com uso de imunofluorescência, até métodos moleculares. A utilização de cultura de células e Shell vial está abandonada em laboratórios de rotina.

Nas infecções fúngicas como a candidíase oral, o diagnóstico pode ser feito de forma direta, através de esfregaço em lâmina do exudato corado pelo Gram ou KOH, onde são visualizadas leveduras.

#### 9.4.2 Métodos rápidos

Os testes rápidos para a pesquisa de *Streptococcus pyogenes* têm sensibilidade que varia com a metodologia (látex e imunocromatográfico por exemplo) de 70 a 95 % e especificidade ao redor de 95%. Quando esses testes rápidos não são confirmados por cultura, pode ser devido a presença de *Streptococcus milleri* (micro-organismo da microbiota da orofaringe) que expressam o carboidrato do grupo A, *S.pyogenes* dependentes de piridoxina para o seu crescimento (nesse caso, é um teste verdadeiro, não confirmado pela cultura), formas não hemolíticas de *S.pyogenes* (nesse caso, o teste também é um positivo verdadeiro). Resultados de cultura positiva para *S.pyogenes* com teste rápido negativo podem ser explicados pela pequena quantidade de *S.pyogenes* na orofaringe, e conseqüentemente baixa quantidade de antígeno presente. O teste não diferencia o estado de portador.

Esses testes são também disponíveis para o diagnóstico do vírus Influenza: Directigen Flu A B (BD) e Influenza Test Kit (Quickvue). Apresentam sensibilidade acima de 70% e especificidade superior a 90%. Apesar do custo elevado, podem contribuir no diagnóstico das doenças virais diminuindo o uso de antimicrobianos. São fáceis de realizar, com resultado disponível em poucos minutos e não requerem profissionais especializados para a realização, desde que sejam bem treinados.

Ainda, são também utilizados para detecção do Vírus Respiratórios Sincicial (BD Directigen EZ RSV). Possuem sensibilidade reportada de uma forma geral em torno de 77%, porém é referendada como bastante inferior em indivíduos adultos (25%) e superior para crianças (88%); de qualquer forma possuem alta especificidade (96%).

### 9.4.3 Imunofluorescência

A detecção dos vírus respiratórios, além da forma isolada, pode ser realizada utilizando-se “Kits” de triagem que compreende os seguintes vírus: adenovírus, influenza A e B, parainfluenza 1, 2 e 3 e VRS. Com exceção dos adenovírus, a imunofluorescência tem sensibilidade comparável a cultura de células ou superior (no caso do VRS) para a identificação dos vírus respiratórios.

### 9.4.4 Métodos moleculares

O diagnóstico laboratorial, através de métodos moleculares, deve ter foco fundamental na identificação de micro-organismos fastidiosos como *Mycoplasma pneumoniae* (cuja cultura requer procedimento extremamente específico) e *Chlamidia pneumoniae* (identificado anteriormente com cultura de células, mas o anticorpo de fluorescência utilizado na sua detecção não tem mais registro no Brasil). Trata-se de método preferencial quando disponível para diagnóstico dos vírus. Esses métodos já estão disponibilizados para diagnóstico dos vírus e atualmente estão disponíveis painéis para diagnóstico de mais de 20 vírus.

## 9.5 Coleta, conservação e transporte

- Faringe: o *swab* para coleta de material de orofaringe deve ser de Dacron ou alginatados. Quando for permanecer por período superior a 2 horas após a coleta para o processamento, meios de transporte são recomendados e podem permanecer por até 24 horas à temperatura ambiente.
  - Para isolamento de *Neisseria* spp. recomendam-se *swab* de Dacron ou rayon.
  - As amostras devem ser representativas das tonsilas, faringe posterior e de outras áreas inflamadas. Deve-se ter o cuidado de não tocar a língua e a úvula.
  - No caso de suspeita de *M. pneumoniae* as melhores amostras são da orofaringe ou nasofaringe.
- Nasofaringe: o material coletado para diagnóstico da infecção deve ser aspirado através do nariz; utilizado para o diagnóstico de coqueluche (*swab* de garganta, narina e *placas de tosse* não são recomendados), *Mycoplasma* e alguns casos de difteria. Para detecção de meningococo a amostra deve ser coletada com *swab* ou por aspiração e semeada imediatamente em meios adequados. Deve ser lembrado que para detecção de portadores de meningococo, deve ser coletado material com *swab* de arame, e semeado imediatamente em meios adequados.
  - Pode-se utilizar aspirado nasofaríngeo ou *swab* combinado (nasal e um de orofaringe) na pesquisa do vírus Influenza.
- Nariz: Mais do que 50% dos *Staphylococcus aureus* isolados em amostras de processos infecciosos de origem hospitalar são resistentes a oxacilina (MRSA). Alguns autores associam a colonização nasal por esse micro-organismo com o aumento do risco de infecção relacionada à assistência à saúde em pacientes submetidos

a cirurgias (cardíaca, por exemplo) e a programas de diálise peritoneal contínua (CADP). Nesses casos de risco, colher material para pesquisa de *Staphylococcus aureus* pode ser útil. A coleta de *swab* nasal é a forma mais recomendada para detectar portadores de MRSA, já que as narinas são os sítios mais frequentes de colonização. Após a coleta, o *swab* pode ser inserido em um meio de transporte e mantido em temperatura ambiente. O ágar manitol é recomendado para a semeadura da amostra. Com a finalidade de diminuir o tempo de liberação da amostra e o trabalho laboratorial, os meios cromogênicos bem como a detecção a presença de PBP 2 a através de testes com látex, podem ser utilizados.

- **Laringe:** a coleta de material diretamente da epiglote, em casos de epiglote, é contraindicada por duas razões: a manipulação ou irritação da epiglote edemaciada pode provocar quadro de obstrução, e o isolamento de *H. influenzae b* pode não ocorrer. Portanto, o diagnóstico desses casos é fundamentalmente clínico; hemoculturas (>50% dos casos são bacterêmicos) podem confirmar a etiologia.
- **Orelha:** As amostras para diagnóstico de otite externa podem ser obtidas com *swab*, por aspiração ou através de debridamento cirúrgico. No caso da obtenção de fluidos e tecidos, quando não processados em 2 horas, devem ser mantidos refrigerados.
  - O diagnóstico etiológico das infecções do ouvido médio é realizado através de cultura do fluido do ouvido médio. A obtenção desse material implica a realização de timpanocentese, porém não é realizado de rotina, a não ser que haja indicação clínica de drenagem. As amostras podem ficar à temperatura ambiente após a coleta.
- **Seios para-nasais:** nas sinusites, o método de referência implica procedimento invasivo no seio envolvido, para obtenção da amostra. Amostras obtidas com *swab* da nasofaringe ou narina anterior, escarro e saliva são inaceitáveis para o diagnóstico microbiológico de sinusites.

## 9.6 Processamento, interpretação e relatório microbiológico

Os meios de cultura mais utilizados para semeadura de materiais obtidos da orofaringe são o ágar chocolate (com sangue de cavalo), ágar sangue de carneiro (principalmente em casos que não se pretenda crescimento de *Haemophilus* spp.) incubados em atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub> e ágar MacConkey. A atmosfera de anaerobiose é utilizada para o isolamento de *Streptococcus pyogenes*; enquanto que a presença de CO<sub>2</sub> é útil para o isolamento de alguns agentes como o *Arcanobacterium* spp., por outro lado, pode aumentar a multiplicação da microbiota normal da orofaringe.

A semeadura do *swab* deve ser realizada em 1/6 da placa, e depois expandida para os quatro quadrantes com auxílio de uma alça. Esse procedimento vai permitir a semi-

-quantificação do crescimento. A depressão da alça no ágar é indicada para melhor observação da beta-hemólise.

As placas devem ser incubadas na temperatura de 35-37°C e avaliadas inicialmente após 18-24 horas. Caso não haja crescimento, podem ser re-incubadas para leitura final em 48 horas.

Para cultura do bacilo diftérico deve-se encaminhar o material para Laboratório de Saúde Pública. O meio seletivo é o ágar sangue cistina-telurito. O bacilo também cresce em ágar sangue, sendo opcional fazer enriquecimento em ágar Loeffler.

Os mesmos meios indicados para a semeadura das amostras da orofaringe são recomendados para outros materiais do trato respiratório superior.

Na suspeita de infecções por anaeróbios, caso a amostra tenha indicações para processamento, usar meios e condições apropriadas para o cultivo dessas bactérias.

Para interpretação e liberação de relatórios de material do trato respiratório superior, as considerações seguintes devem ser avaliadas:

- Nas infecções de orofaringe, o principal patógeno a ser identificado é o *Streptococcus pyogenes*. As principais falhas que podem ocorrer nessa rotina são:
  - identificação de *Streptococcus* do grupo A não pyogenes (o diferencial seria fazer a prova do PYR que somente é positiva para *Streptococcus pyogenes*)
  - cepas de *Streptococcus* do grupo B, C e G que são bacitracina sensível (através da sensibilidade à sulfa-trimetoprim poderia se descartar os grupos C e G)
- Algumas espécies de *Haemophilus* já foram isoladas de casos de faringite onde nenhuma outra etiologia foi relacionada. Porém, pela alta frequência em que aparecem colonizando o trato respiratório superior não devem ser reportados rotineiramente.
- Não existem evidências da associação dos *Streptococcus agalactiae* em casos de faringite.
- Em pacientes hospitalizados o trato respiratório superior pode ser colonizado por *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *Klebsiella pneumoniae* e outras enterobactérias. Esses micro-organismos não são patógenos de faringe e não devem ser reportados nos resultados de rotina. Porém, se o paciente for imunocomprometido, e houver solicitação do médico, essas bactérias serão consideradas para laudo e teste de sensibilidade.
- De acordo com o Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI), os testes de sensibilidade para *Streptococcus pyogenes* não devem ser realizados de rotina em laboratórios clínicos, visto que, até o momento, não foi relatada resistência à penicilina, que é a droga de escolha. Portanto, é aconselhável que se coloque uma nota no

laudo do exame com essa explicação e somente sejam realizados testes com drogas alternativas, em pacientes alérgicos.

- Nas amostras do ouvido externo, a presença de *S.aureus*, *Streptococcus* beta hemolíticos, bacilos Gram-negativos e anaeróbios isoladamente, normalmente são interpretados como o agente etiológico. Crescimentos com culturas mistas são mais difíceis de serem interpretados.

## 9.7 Referências Bibliográficas

BISNO, A.L. Acute pharyngitis. N. Engl. J. Med. 344(3): 205-211, 2001.

ISENBERG, H.D. Upper Respiratory Tract culture Procedure. In: Clinical Microbiology Procedures Handbook, ASM, Washington, D.C. 1998

LANDRY, M.L., FERGUSON, D. Simulfluor Respiratory Screen for Rapid Detection of Multiple Respiratory Viruses in Clinical Specimens by Immunofluorescence Staining. J Clin Microbiol 38: 708-711, 2000.

MURRAY, P.R. (ed): ASM Pocket Guide to Clinical Microbiology, ASM Press Washington DC, 1996.

WAITES, K.,B., SAUBOLLE, M.A., TALKINGTON, D.,F., MOSER, S.A., BASELSKI, V., CUMITECH 10A. Laboratory Diagnosis of Upper Respiratory Tract Infections. American Society for Microbiology. Washington DC, 2005.

## Capítulo 10: Infecções do Trato Respiratório Inferior

*Marinês Dalla Valle Martino  
Carlos Emílio Levy*

### 10.1 Introdução

#### 10.1.1 Importância clínica e em Infecção Relacionada à Assistência à Saúde

Apesar dos progressos diagnóstico-terapêuticos, as pneumonias ainda representam a causa mais importante de morte atribuída à doença infecciosa nos países desenvolvidos, em parte pela dificuldade de se estabelecer o agente etiológico e dirigir a terapêutica específica, pela grande diversidade de agentes possíveis. Cerca de 30 a 60% da pneumonias adquiridas na comunidade não revelam nenhum agente entre os mais frequentemente pesquisados e isoladas, ficando apenas com diagnóstico clínico ou de imagem.

Em relação às Infecções Relacionadas a Assistência à Saúde (IRAS), as infecções do trato respiratório inferior têm grande importância pela frequência em que ocorrem e pela morbidade associada. Essas infecções são classificadas basicamente em quadros de traqueobronquite e pneumonia.

A pneumonia de origem hospitalar é definida como aquela que aparece após um período maior ou igual a 48 horas de admissão e não está incubada no momento da hospitalização. Segundo dados relatados pela American Thoracic Society, ocorre entre 6 a 10 casos a cada 1000 admissões hospitalares e a segunda maior causa de infecções relacionadas à assistência à saúde nos Estados Unidos da América do Norte, associada a elevada morbi-mortalidade. Pacientes com pneumonia hospitalar têm um aumento de permanência hospitalar entre 7 a 9 dias.

Entre essas pneumonias, aquelas associadas à ventilação mecânica, quer através de entubação oro-traqueal ou traqueostomia, são as mais frequen-

tes. São definidas para pacientes sob ventilação mecânica em um período igual ou superior a 48 horas. Nesta situação a incidência de infecção é de 7 a 21 vezes maior à que ocorre em pacientes que não necessitam de respirador.

Dentre as infecções relacionadas à assistência à saúde, a infecção pulmonar é a que leva à morte com maior frequência, principalmente na Unidade de Terapia Intensiva. A prevalência de pneumonias varia entre 10 e 65%, com 13 a 55% de casos fatais.

Nesse mesmo tipo de Unidade, dados do National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) mostram a taxa de infecção respiratória associada à ventilação mecânica por 1000 procedimentos-dia, variando de 5 casos em UTI pediátrica a 13 casos em UTI cirúrgica.

## 10.2 Epidemiologia e fatores de risco

As amplas variações de agentes nas pneumonias comunitárias ocorrem de acordo com a população estudada e fatores epidemiológicos (época do ano, surtos, faixa etária, etc.). Nas crianças a distribuição tem particularidades marcantes com diferentes faixas etárias, em função da experiência imunológica com os potenciais agentes infecciosos, o que reduziu a frequência nas comunidades vacinadas (Tabelas 1 e 2).

**Tabela 1** Agentes mais isolados em pneumonias da comunidade

Agente	Prevalência (%)
Streptococcus pneumoniae	20-60
Staphylococcus aureus	3-5
Anaeróbios da cavidade oral	6-10
Moraxella catarrhalis	1-3
Outros Gram-negativos	3-10
Chlamydia pneumoniae	5-17
Legionella pneumophila	2-8
Vírus respiratórios	2-15

**Tabela 2** Distribuição da frequência de agentes etiológicos em função da idade

Idade	Agente por ordem de frequência
Do nascimento até 20 dias	<i>Streptococcus agalactiae</i> (B), Enterobactérias, Citomegalovirus <i>Listeria monocytogenes</i>
3 semanas a 3 meses	<i>Chlamydia trachomatis</i> , Vírus respiratório sincicial, Parainfluenza vírus 3, <i>S. pneumoniae</i> , <i>Bordetella pertussis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>
4 meses a 4 anos	Vírus respiratório sincicial, Parainfluenza vírus, influenza vírus, adenovirus, rinovirus, <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
5 a 15 anos	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> , <i>Chlamydia pneumoniae</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i>

Existe uma associação entre fatores predisponentes e agentes etiológicos, que podem facilitar a pesquisa ou interpretação de achados microbiológicos (Tabelas 3 e 4):

**Tabela 3** Associação entre fatores predisponentes e agentes etiológicos

Fator	Agente Etiológico
Alcoolismo	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , Anaeróbios, Enterobactérias
Doença obstrutiva pulmonar crônica e fumante	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i> , <i>Legionella</i> spp.
Asilos e outras comunidades de assistência	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , Enterobactérias, <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>S. aureus</i> , Anaeróbios, <i>Chlamydia pneumoniae</i>
Má higiene dentária	Anaeróbios
Exposição a pombos ou fezes	<i>Histoplasma capsulatum</i> (Histoplamose)
Exposição a pássaros	<i>Chlamydia psittaci</i> (Psitacose)
Exposição a coelhos	<i>Francisella tularensis</i> (Tularemia)
Exposição a animais da área rural ou gata recém-parida	<i>Coxiella burnetii</i> (febre Q-areas endêmicas)
Infecção por HIV precoce	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>P. jrovecii</i>
Viagem ao sudeste norte-americano	<i>Coccidioides immitis</i>
Surtos de gripe	Influenza vírus, <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> (A)
Pneumonia de aspiração	Anaeróbios e pneumonia química
Doença pulmonar crônica: fibrose cística ou bronquiectasia	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , complexo <i>Burkholderia cepacia</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>
Usuário de drogas	<i>S. aureus</i> , Anaeróbios, <i>Mycobacterium tuberculosis</i>

**Tabela 4** Outras causas mais raras de pneumonia

Agentes associados a pneumonia	Exposição
Anthrax ( <i>Bacillus anthracis</i> )	Animais em área rural ou suas fezes
Brucelose ( <i>Brucella</i> spp.)	Animais, leite não pasteurizado, cuidados veterinários
Leptospirose ( <i>Leptospira</i> spp.)	Roedores silvestres, água contaminada com urina de animal doente, animais domésticos doentes
Pasteurella multocida	Cães e gatos contaminados
Tifo murino ( <i>Yersinia pestis</i> )	Ratos, esquilos, coelhos e outros roedores silvestres
Hantavirus	Urina, fezes e saliva de roedores silvestres

Os agentes mais frequentemente isolados nas pneumonias hospitalares são:

- Enterobactérias: *Klebsiella* spp., *E. coli*, *Enterobacter* spp.
- Bacilos Gram-negativos não fermentadores: *P. aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, etc.
- Cocos Gram-positivos, principalmente *Staphylococcus aureus*.
- Outros agentes, tais como *Legionella pneumophila* e Vírus Respiratório Sincicial (VRS) aparecem em casos de surto e em pacientes imunodeprimidos, assim como *Aspergillus* spp. e *Pneumocystis carinii*.

**Tabela 5** Patógenos isolados em 4.389 pneumonias em UTI nos Estados Unidos no período de 1992 –97 NNIS

Patógenos	%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	21
<i>Staphylococcus aureus</i>	20
<i>Enterobacter</i> spp.	9
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8
<i>Acinetobacter</i> spp.	6
<i>Candida albicans</i>	5
<i>Escherichia coli</i>	4
<i>Enterococcus</i> spp.	2
Outras enterobactérias	8
Outros fungos	2,8

O momento de aquisição da pneumonia nosocomial é um fator de risco associado ao agente e a evolução do paciente. Episódios que ocorrem nos primeiros dias da hospitalização têm melhor prognóstico e usualmente são causados por micro-organismos mais sensíveis, desde que o paciente não tenha história de hospitalização nos últimos 90 dias.

O aumento das taxas de mortalidade estão associados à presença de bacteremia, especialmente por *Pseudomonas aeruginosa* ou *Acinetobacter* spp.

### 10.3 Aspectos clínicos e patogênese

A microbiota da orofaringe é constituída de inúmeras espécies bacterianas, cuja concentração chega a alcançar  $10^{10}$  a  $10^{12}$  UFC/mL. De acordo com a doença de base, estado imunitário, uso de antimicrobianos entre outras causas, poderá haver mudança dessa microbiota, tanto em relação às espécies (normal são Gram-positivos) quanto ao perfil de sensibilidade dos agentes.

De maneira geral, os micro-organismos podem alcançar o trato respiratório pela aspiração de secreções da orofaringe, inalação de aerossóis contendo bactérias, translocação de micro-organismos do trato gastro-intestinal ou disseminação hematogênica de um foco a distância. Ainda, para que a infecção respiratória ocorra é necessário existir a perda das defesas do hospedeiro, um inóculo suficiente para alcançar o trato respiratório ou a presença de um micro-organismo altamente virulento.

Vários critérios utilizados para definição de pneumonia hospitalar foram propostos. Em geral, incluem a presença de um novo ou progressivo infiltrado pulmonar, febre, leucocitose e secreção traqueo-brônquica purulenta.

Muitos desses achados são inespecíficos já que febre pode ser causada por diversos fatores como: reação a drogas, infecção em outro foco, transfusão sanguínea e resposta inflamatória extrapulmonar. O mesmo ocorre com a congestão pulmonar, presente em: embolia pulmonar, atelectasia, insuficiência cardíaca, hemorragia pulmonar, trauma pulmonar, tumor, aspiração química e reação a drogas.

### 10.4 Recursos para o diagnóstico laboratorial

- Cultura de diferentes amostras do trato respiratório inferior
- Hemocultura (1 a 16% de positividade)
- Testes rápidos de detecção de antígenos
- Exames sorológicos (imunofluorescência, ELISA, etc.)

O diagnóstico das infecções do trato respiratório inferior do ponto de vista microbiológico pode ser dificultado pela contaminação da amostra no trato respiratório superior, durante a coleta. Portanto, a seleção da amostra é o primeiro aspecto a ser considerado.

A busca do agente etiológico é um aspecto importante dos últimos manuais sobre o manejo das pneumonias nosocomiais das Sociedades Torácica e de Doenças Infecciosas Americana, onde destaca-se que:

- a cultura do trato respiratório inferior deve ser coletada em todos os pacientes antes que seja instituída a antibiótico-terapia;
- metodologias quantitativas ou semiquantitativas podem ser utilizadas;
- as amostras para cultura do trato respiratório inferior podem ser obtidas broncoscopicamente ou não e cultivadas com técnicas quantitativas ou semiquantitativas;
- as culturas quantitativas aumentam a especificidade no diagnóstico das pneumonias nosocomiais;
- resultado negativo de cultura do trato respiratório inferior pode ser utilizado como critério para descontinuar a antibiótico-terapia, caso não tenha havido mudança de antibiótico nas últimas 72 horas;
- os resultados de cultura do trato respiratório inferior podem ser utilizados no descalonamento da antibiótico-terapia, uma vez que o paciente tenha resposta clínica.

## 10.5 Coleta, Transporte e Armazenamento

Várias são as amostras que podem ser utilizadas para o diagnóstico das infecções respiratórias e que podem ser obtidas através de técnicas broncoscópicas ou não (Tabela 6).

**Tabela 6** Critérios de aceitação de amostras clínicas para exame

Amostras aceitáveis	Amostras inaceitáveis
Escarro	Saliva (enviada como escarro)
Aspirado traqueal ou transtraqueal	Escarro coletado por 24 horas
Lavado bronco-alveolar, Escovado Brônquico e Biópsia Brônquica	Swab endotraqueal Cânula ou tubo endotraqueal
Punção pulmonar e Biópsia pulmonar	

As técnicas broncoscópicas caracterizam-se pela possibilidade de visualizar diretamente a árvore respiratória levando a menor risco de dano e direcionamento do fibroscópio ao local desejado; as não broncoscópicas podem ser realizadas mais rapidamente com menor risco de desaturação de oxigênio.

### 10.5.1 Escarro

Apesar de ser útil em pacientes com tosse produtiva e com capacidade de expectorar e a presença de escarro purulento encontrar-se na maioria dos

critérios utilizados para o diagnóstico de pneumonias, a análise dessa secreção é bastante controversa do ponto de vista de sensibilidade e especificidade.

Alguns aspectos da análise macroscópica do escarro podem ser úteis para sugestão de agentes ou patologias: cor, quantidade, consistência e cheiro.

- Escarro purulento – pneumonia bacteriana (embora nas pneumonias por vírus ou micoplasma a infecção secundária pode oferecer os mesmos achados em cerca de 30 a 50% dos casos)
- Expectoração matinal, abundante e fétida – bronquiectasia
- Expectoração escassa ou aquosa (mucóide) – pneumonias atípicas
- Escarro avermelhado, mucóide – *Klebsiella pneumoniae*
- Escarro fétido associado a pneumonia aspirativa – anaeróbios

O escarro pode ser obtido através da amostra expectorada ou induzida após nebulização com solução salina.

A remoção de próteses e gargarejo com água imediatamente antes da coleta pode reduzir substancialmente a contaminação da amostra. O único cuidado é impedir o uso de substâncias com conteúdo bactericida.

Prefere-se colher a primeira amostra de escarro da manhã, por ser um material mais concentrado, utilizando-se para análise a porção mais purulenta. A coleta por um período de 24 horas é totalmente inadequada, já que durante o dia passa a ocorrer diluição da amostra e morte de alguns agentes fastidiosos em contrapartida ao supercrescimento bacteriano de outros micro-organismos.

A amostra deve ser encaminhada diretamente ao laboratório e se não processada no prazo de 1-2 horas pode resultar em perda de patógenos fastidiosos e em proliferação de bacilos Gram-negativos (enterobactérias e Não fermentadores).

De qualquer forma, é aceitável como condições de transporte e armazenamento para todas as amostras do trato respiratório a estabilidade por 2 horas à temperatura ambiente e por até 24 horas refrigerada.

### 10.5.2 Aspirado de secreção traqueal

Apesar do aspirado de secreção traqueal ser rapidamente obtido em pacientes entubados, essa é uma amostra bastante questionável, devido a sua baixa especificidade. Isso deve-se ao fato de que a colonização endotraqueal ocorre rapidamente após a entubação e ventilação mecânica.

A utilização de técnicas quantitativas de aspirados endotraqueais feito às cegas, com o objetivo de diferenciar colonização de infecção, com os valores de corte de  $> 10^5$  UFC/mL, foi proposta por alguns autores (Jourdain & cols, 1995). A sensibilidade preditiva de pneumonia associada a ventilação foi comparável com o BAL e com a técnica do escovado protegido, embora menos específico. Alguns trabalhos mostram até 82% de sensibilidade e 83% de especificidade para o aspirado endotraqueal, mas ainda é tema controverso. Estudo em nosso meio (Camargo *et al*, 2004) demonstrou que as culturas quantitativas de aspirado traqueal com valores de corte de  $10^5$  UFC/mL e  $10^6$  UFC/mL mostraram aumento da especificidade (48% e 78% respectivamente) em relação as culturas qualitativas (23%) mas diminuíram a sensibilidade (26% e 65% respectivamente) quando comparadas aos achados qualitativos (81%).

A American Thoracic Society (2005) considera o ponto de corte de  $> 10^6$  UFC/mL para discriminar colonização de infecção. Caso tenha ocorrido mudança de antibiótico-terapia recente ou as evidências clínicas sejam muito sugestivas, pode-se utilizar o critério de  $> 10^5$  UFC/mL.

É importante ressaltar dois aspectos para uso do resultado microbiológico: 1. fundamental estar associado a evidências clínicas de pneumonia, como piora da ventilação, aumento e mudança de aspecto da secreção traqueal, mudança do padrão radiológico pulmonar, aparecimento ou mudança do padrão de febre, etc e 2. que os critérios de seleção do material mostrem predomínio de leucócitos/células epiteliais, evidenciando a representatividade do material colhido.

Estudo canadense (The Critical Care Trial Group, 2006) concluiu que o uso adequado do aspirado traqueal e o lavado bronco-alveolar estão associados com a mesma evolução clínica e uso de antimicrobianos.

Independentemente da metodologia empregada, tende a mostrar resultados mais favoráveis associados ao valor preditivo negativo e sua melhor indicação é quando não se pode fazer a broncoscopia. A mortalidade da pneumonia associada à ventilação mecânica não mostrou diferença quando a terapêutica se baseou em técnicas broncoscópicas ou não.

### 10.5.3 Aspirado transtraqueal

Trata-se de uma técnica bastante utilizada na década de 70, mas que atualmente devido aos riscos que leva para o paciente (enfisema subcutâneo, estímulo vaso-vagal, hemoptise), está preterido em função do aparecimento de procedimentos mais promissores. Outro fato relevante é o elevado nú-

mero de resultados falso-positivos, pelo isolamento de flora colonizadora do trato respiratório superior.

#### 10.5.4 Lavado brônquico não dirigido ou mini-BAL

Método simples, de baixo custo e seguro recomendado para rotina de vigilância bacteriológica em pacientes ventilados mecanicamente.

No estudo que levou a essas conclusões, observou-se que durante dias anteriores ao paciente apresentar um quadro de pneumonia, havia aumento significativo de um número inferior ou igual a  $10^3$  UFC/mL para maiores ou iguais a  $10^5$  UFC/mL; ainda revelou queda do número de colônias em pacientes que responderam a antibiótico-terapia, em contraste com aqueles que mostraram uma progressiva deterioração clínica, para os quais não existiu queda significativa na contagem de colônias. Sensibilidade entre 63-100% e especificidade entre 66 e 96%.

#### 10.5.5 Lavado bronco-alveolar

No lavado bronco-alveolar obtém um maior volume de amostra, o que aumenta a sensibilidade do método e permite que se realize um maior número de procedimentos diagnósticos além da cultura, após a citocentrifugação da amostra. Dentre eles incluem-se colorações para identificação de organismos específicos, porcentagem de macrófagos e leucócitos contendo micro-organismos (nas pneumonias considera-se relevante acima de 2%), e presença de fibras de elastina como indicador de necrose pulmonar. São referidos valores de sensibilidade e especificidade para o lavado bronco-alveolar variando de 80-100% e 75-100%. 5.7. BAL ou lavado bronco-alveolar – No lavado bronco-alveolar recupera-se 5 a 10 vezes o volume de bactérias do escovado, visto que a diluição de 1 mL de secreção se faz em 10 a 100mL de soro fisiológico, de forma que a contagem de  $10^4$ UFC/mL a partir do material recebido no laboratório, representa  $10^5$  a  $10^6$  UFC/mL na secreção pulmonar.

Em pacientes com forte suspeita clínica de pneumonia, valores de cada agente isolado a partir de  $10^3$ - $10^4$  UFC/mL podem também ser significativos e o uso de antimicrobianos estaria recomendado.

#### 10.5.6 Biópsias

Podem ser feitas de formas variadas: percutânea, através de broncoscopia, por meio do fibroscópio, pela toracoscopia e a céu aberto. Indicado nos casos de imunocomprometidos e crianças com má evolução à terapêutica empírica.

#### 10.5.7 Punção biópsia pulmonar

Trata-se de um procedimento que, quando resulta em cultura positiva, é bastante fidedigno, já que os problemas com contaminação com a flora do trato respiratório superior inexistem.

Os relatos da literatura revelam que, em situações variadas, o diagnóstico etiológico das infecções, com essa técnica, ocorreu entre 30% a 82% dos casos estudados e falso-negativos de cerca de 18%. Complicações mais importantes são pneumotórax e sangramento em casuísticas que variam de 5 a 39%.

#### 10.5.8 Biópsia transbrônquica

Os resultados diagnósticos são semelhantes à punção pulmonar aspirativa, mas revelaram menor índices de complicações.

#### 10.5.9 Biópsia pulmonar

A biópsia a céu aberto, método definitivo para o diagnóstico das pneumonias, é um procedimento pouco realizado. Está indicada em casos sem melhora clínica, em que não foi possível isolar o micro-organismo por outras técnicas ou que há necessidade de diagnóstico específico com maior rapidez. Convém salientar que de nada adianta obter boas amostras para estudo microbiológico quando se emprega técnica laboratorial convencional, morosa e de baixa sensibilidade.

#### 10.5.10 Toracoscopia

A toracoscopia tem sido pouco utilizada, embora resultados sejam muito favoráveis, com achados diagnósticos superiores a 90% e baixa taxa de complicações.

#### 10.5.11 Derrame pleural

O derrame pleural costuma ocorrer, aproximadamente, em pneumonias causadas por: pneumococo 10%, Bacilos Gram-negativos 50-70% e *Streptococcus pyogenes* (grupo A) 95%.

### 10.6 Processamento, interpretação e relatório microbiológico

Para o escarro, a avaliação da qualidade da amostra, considerando a proporção entre o número de células epiteliais e leucócitos, é um procedimento que deve ser considerado de rotina, para caracterizar a aceitabilidade da mesma.

Através da coloração de Gram (observação de pelo menos 10 campos com aumento de 10X), as amostras devem ser classificadas em grupos de acordo com as Tabelas 7 e/ou 8. São significativos os materiais do grupo 5 (Tabela 7) ou quando a quantidade de células epiteliais, neutrófilos e muco resultarem em somatória positiva (Tabela 8). Recomenda-se que escarros não qualificados, não sejam semeados e que o fato seja reportado ao requisitante do exame.

No caso da necessidade do processamento da amostra nessas condições, é recomendável que se evidencie de alguma forma que a amostra processada não é a mais recomendável. Faz exceção a essa regra escarro com o objetivo de diagnosticar presença de micobactérias, vírus, fungos (*Paracoccidioides brasiliensis*, *Histoplasma* spp., etc.) e aquele proveniente de paciente imunodeprimido.

**Tabela 7** Avaliação da qualidade do escarro

Grupos	Células epiteliais	Leucócitos
Grupo 1	≥25	≤10
Grupo 2	≥25	10-25
Grupo 3	≥25	≥25
Grupo 4	10-25	≥25
Grupo 5	<10	≥25

**Tabela 8** Avaliação da qualidade do escarro

Número de Neutrófilos	"Score"
< 10	0
10-25	+1
>25	+2
Presença de Muco	+1
Número de Células Epiteliais	
10-25	-1
>25	-2

Segundo os achados de Lentino e Lucks relatados por Koneman *et al.* (1997) a interpretação do resultado das culturas de escarro em relação às pneumonias foi de que:

- 26,5% de amostras de escarro purulento eram de pacientes mostrando nenhum sinal clínico ou radiológico de pneumonia.
- 40% das amostras de escarro provenientes de pacientes com pneumonia não eram profundamente expectorados, refletindo a presença de secreção oral.
- Somente 10% de pacientes produzindo escarro não purulento tinham pneumonia.

- Somente 56,8% dos pacientes com pneumonia produziam escarro purulento.

Ainda em casos comprovados de pneumonia pneumocócica, com bacteremia e escarro revelando o pneumococo na coloração de Gram podem apresentar cerca de 50% de culturas de escarro negativas.

A presença de enterobactérias em culturas de escarro devem ser interpretadas com muita cautela pois em cerca de 1/3 das culturas essas bactérias provenientes da orofaringe podem contaminar o material obtido para análise.

#### 10.6.1 Meios recomendados para processamento das amostras do trato respiratório

- ágar sangue,
- ágar MacConkey,
- ágar chocolate e
- ágar sangue suplementado para anaeróbios, para amostras clínicas para as quais recomenda-se fazer o isolamento de anaeróbios.
- Quando é indicada cultura para *Legionella* spp., Fungos, Micobactérias, *Chlamydia* e Vírus, acrescentam-se os meios necessários a essas rotinas específicas.

A pesquisa por imunofluorescência com anticorpos monoclonais, e os métodos moleculares são mais recomendados para a detecção desses micro-organismos.

#### 10.6.2 Alternativas de técnicas de semeadura e interpretação do número de colônias, no caso da utilização de técnicas quantitativas

- após homogeneização da amostra, semear 10 µL, diretamente nas placas, utilizando-se alças calibradas descartáveis ou pipeta com ponteiros estéreis (Tabela 9).

**Tabela 9** Correlação entre o número de colônias e crescimento bacteriano com semeadura de 10 µL.

Nº de colônias na placa após incubação "overnight"	Interpretação em UFC/mL
<10	<10 <sup>3</sup>
10 a 100	10 <sup>3</sup> a 10 <sup>4</sup>
100 a 1000	10 <sup>4</sup> a 10 <sup>5</sup>
>1000	>10 <sup>5</sup>

- diluições seriadas:
  - 1/10 – 10µL com alça calibrada semeado no ágar chocolate,

- 1/100 – 1mL do material diluído em 9 mL de solução salina; semear 10µL dessa solução, com alça calibrada, na placa de ágar chocolate,
  - 1/1000 – usar a solução anterior e semear 1µL com alça calibrada na placa de ágar MacConkey,
  - Para expressão do resultado em mL, o número de colônias obtido deverá ser corrigido pelo fator da diluição e correlacionado com a quantidade de amostra semeada.
- c) com diluição da amostra de 1: 20 (0,5 mL de fluido em 9,5mL de solução salina estéril). Desse caldo semeia-se 50µl em cada um dos meios selecionados (Tabela 10).

**Tabela 10** Correlação entre o número de colônias e crescimento bacteriano com diluição de 1:20

Nº de colônias na placa após Incubação "overnight"	Interpretação em UFC/mL
2-24	$10^3$
25-249	$10^4$
$\geq 250$	$10^5$

- d) Com fluidificação da amostra para secreção traqueal quantitativa:
- **d.1** preparação da diluição:
    - usando seringa, aspirar 1 mL da amostra e homogeneizá-la com 1 mL de fluidificante.
    - homogeneizar a amostra e deixá-la descansar à temperatura ambiente por 15 minutos.
    - homogeneizar novamente e diluir toda amostra em 8 mL de salina estéril (diluição 1: 10)
  - **d.2** semeadura:
    - semear 1 µl da diluição (diluição final 1: 10.000), usando pipeta automática ou alça calibrada, fazendo estrias para contagem de colônias nos seguintes meios :
    - 1 placa de ágar sangue e incubá-lo em jarra com gerador de CO<sub>2</sub>, em temperatura entre 34° a 37°C
    - 1 placa de ágar Mac Conckey e incubar em estufa com temperatura entre 34° C a 37° C
    - semear também a amostra sem diluição em ágar Chocolate e incubá-la com gerador de CO<sub>2</sub>, em temperatura entre 34° C a 37° C
  - **d.3** Triagem do crescimento:
    - para calcular a quantificação do nº de UFC/mL, seguir a Tabela 11:

**Tabela 11** Correlação entre o número de colônias e crescimento bacteriano

Nº de colônias crescidas	Fatoração correspondente
Crescimento obtido <b>somente</b> em ágar chocolate	$< 10^5$
1 a 9	$< 10^5$
10 a 15	$1 \times 10^5$
16 a 25	$2 \times 10^5$
26 a 35	$3 \times 10^5$
36 a 45	$4 \times 10^5$
46 a 55	$5 \times 10^5$
56 a 65	$6 \times 10^5$
66 a 75	$7 \times 10^5$
76 a 85	$8 \times 10^5$
86 a 95	$9 \times 10^5$
A partir de 100	$\geq 10^6$

### 10.6.3 Contagens bacterianas significativas

O cálculo dos valores limítrofes para definição de infecção, para amostras do trato respiratório, deriva da concentração de micro-organismos encontrada em culturas do tecido pulmonar infectado. Comparando-se o número de bactérias na amostra, estima-se o número na secreção original. As infecções pulmonares clinicamente significativas contêm: pelo menos  $10^4$  UFC/g de tecido.

**Tabela 12** Significado das contagens bacterianas em relação à amostra clínica

Material	Volume obtido	Fator de diluição	Valor significativo
Aspirado endotraqueal	$\geq 1$ mL	1	$10^5 - 10^6$ UFC/mL
Lavado broncoalveolar (BAL)	1mL diluído em 10 a 100mL	1/10 – 1/100	$10^4$ UFC/mL

### 10.6.4 Outras considerações

Em pacientes neutropênicos e imunossuprimidos, além dos agentes relatados como causa de pneumonia em crianças e adultos, devem ser valorizados achados clinicamente compatíveis com isolamento de:

- Bactérias: *Streptococcus viridans*, *Corynebacterium jeikeium*, *Bacillus* spp., *Legionella* spp., *Mycobacterium* spp., *Nocardia* spp., *Rhodococcus* spp.
- Fungos: *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Candida* spp., *P. carinii*, *Cryptococcus neoformans*.
- Protozoários: *Toxoplasma gondii*, *Strongyloides stercoralis*.

Para diagnóstico de pneumonia por *Pneumocystis jirovecii* em pacientes com HIV ou imunossuprimidos, o escarro pode ser útil em mais de 50% dos casos, pelo uso da coloração de Giemsa ou Gomori methenamina prata ou azul de

toluidina ou ainda de imunofluorescência, com anticorpos monoclonais que apresenta uma sensibilidade de 80% e especificidade de 90%.

No diagnóstico de legionelose (*Legionella pneumophila*) o escarro ou outros materiais obtidos por vias invasivas ou não podem ser utilizados no diagnóstico pela imunofluorescência direta com anticorpos monoclonais. Métodos rápidos imunocromatográficos para detecção do antígeno na urina também podem ser utilizados. Esses testes somente detectam *Legionella pneumophila* sorogrupo 1, porém essa é a que tem maior incidência nas infecções.

Os recursos imunológicos para teste no escarro (Elisa e imunofluorescência) oferecem baixa sensibilidade e especificidade para caracterização da pneumonia por *Chlamydia pneumoniae*. Os métodos moleculares seriam uma alternativa quando disponíveis.

Quando agentes como *Mycobacterium tuberculosis*, *Legionella* spp., e *Pneumocystis carinii* são encontrados no escarro, devem ser considerados patogênicos, independentemente da avaliação de qualidade do escarro.

Isolados de *Candida* spp. não devem ser reportados em secreção traqueal.

Para diagnóstico de *Mycobacterium tuberculosis* além da baciloscopia, cultura e métodos moleculares que já vem sendo utilizados, existe também a possibilidade do uso de um sistema fechado que é denominado Xpert MTB/RIF. Este sistema consiste em um PCR em tempo real, que automaticamente faz a extração, amplificação e detecção da presença do agente, bem como da resistência a rifampicina diretamente da amostra. Todo o processo ocorre em um período inferior a 2 horas.

O desempenho deste método mostrou sensibilidade acima de 92%, podendo chegar a 100% em amostras com baciloscopia positiva e valores menores nos casos de baciloscopia negativa. A especificidade também se evidenciou alta com valores acima de 97%. Para detecção de resistência a rifampicina tanto a sensibilidade quanto a especificidade mostraram-se elevadas.

Ainda, para finalizar o avaliação do diagnóstico molecular de tuberculose, deve-se citar também a linha Genotype MTB para identificação e detecção de resistência, que é um método revelado por cromatografia.

Os métodos moleculares citados no capítulo de capítulo anterior também são indicados para diagnóstico de infecções respiratórias virais do trato respiratório inferior.

## 10.7 Referências Bibliográficas

A'COURT, C.H.D., GARRARD, C.S., CROOK, D., BOWLER, I., CONLON, C. et al. Microbiology lung surveillance in mechanically ventilated patients, using non-directed bronchial lavage and quantitative culture. *Quarterly J. Med.* 86: 635-648, 1993.

AMERICAN THORACIC SOCIETY DOCUMENTS – Guidelines for the management of adults with Hospital-acquired, ventilator-associated and healthcare-associated Pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 171: 388-416, 2005

BASELSKI, V.S., WUNDERINK, R.G. Bronchoscopic Diagnosis of Pneumonia. *Clin. I Microbiol. Rev.* 7(4): 533 – 558, 1994.

BARTLLET, R.C. *Medical Microbiology: Quality Cost and Clinical Relevance.* New York, John Wiley & Sons, 1974.

BERNSTEIN, JM. Treatment of community-acquired pneumonia – IDSA Guidelines CHEST. 115: 9S – 13S, 1999.

BOEHME, C.C., NABETA, P., HILLEMANN, D. et al. Rapid molecular detection of tuberculosis end rifampin resistance. *N Engl J Med* 2010; 363:1005-1015, 2010.

CAMARGO, L.F., De Marco, F.V., BARBAS, C.S., HOELZ, C.S., BUENO, M.A., AMADO, V.M., CASERTA, R., MARTINO, M.D., PASTERNAK, J., KNOBEL, E. Ventilator associated pneumonia: comparison between quantitative and qualitative cultures of tracheal aspirates. *Crit care*, 8(6): R422-30, 2004.

CANADIAN CRITICAL CARE TRIALS GROUP. A randomized trial of diagnostic techniques for ventilator-associated pneumonia. *N Engl J Med* 355: 2619-30, 2006

DONOWITZ, G.R., MANDELL, G.L. Acute Pneumonia in: Mandell G.L., J.E. Bennett, R. Dolin, *Principles and Practices of Infectious Diseases*, Fifth ed. Churchill Livingstone, New York, 2000, 717-750.

GARNER, J.S., JARVIS, W.M., EMORII, T.G. CDC definitions for nosocomial infections. *Ann. J. Infect. Control* 16: 128-140, 1988.

GRUSON, D, HILBERT, G. VALENTINO, R, VARGAS, F, et al. Utility of fiberoptic bronchoscopy in neutropenic patients admitted to intensive care unit with pulmonary infiltrates. *Crit Care Med* 2000, 28(7): 2224-2230

HAYNER, C.E., BAUGHMAN, R.P. Nosocomial Pneumonia: A review of diagnostic approaches. *Infect. Med.* 12 (7): 322 – 330, 1995.

ISEMBERG, H.D. Collection, transport, and manipulation of clinical specimens and initial laboratory concerns, in: *Essential Procedures for Clinical Microbiology.* ASM Press. Washington DC, 1998.

- JACOBS, J.A., DE BRAUWER, E.I.G.B., CORNELISSEN, E.I.M., DRENT, M. Accuracy and precision of quantitative calibrated loops in transfer of bronchoalveolar lavage fluid. *J. Clin. Microbiol.* 38(6): 2117-2121, 2000.
- JOURDAIN, B., NOVARA, A., JOLU-GUILLOU, M.L. et al. Role of quantitative cultures of endotracheal aspirates in the diagnosis of nosocomial pneumonia. *Am J Resp. Crit. Care Med.* 52: 241-246, 1995.
- KONEMAN, E.W., ALLEN, S.D., JANDA, W.M., SCHRECKENBERGER, P.C., WINN Jr, W.C. Guidelines for the collection, transport, analysis, and reporting of cultures from specific specimens sources. in: *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 5<sup>th</sup> ed., Lippincot, 1997. 121-170.
- MCINTOSH, K. Community-acquired pneumonia in children. *N. Engl. J. Med.* 346(6): 429 – 437, 2002.
- MEDURI, G.C. Diagnosis and differential diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Clin. Chest Med.* 16(1): 61-93, 1995.
- MIMICA, I., DONOSO, E., HOWARD, J.E., LEDERMANN, G.W. Lung Puncture in the Etiological Diagnosis of Pneumonia. *Amer. J. Dis. Child* 122: Oct 1971.
- MURRAY, P.R. (ed): *ASM Pocket Guide to Clinical Microbiology*, ASM Press Washington DC, 1996.
- MURRAY, P.R., WASHINGTON, J.A. Microscopy and bacteriological analysis of expectorated sputum. *Mayo Clin. Proc.* 50: 339-334, 1975.
- National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS). *MMWR.* March 3, 2000, 49, 8.
- RICHARDS, M.J., EDWARDS, J.R., CULVER, D.H., GAYNES, R.P. Nosocomial infections in medical intensive care units in the United States. *Crit. Care Med.* 27(5): 887-892, 1999.
- ROLSTON, K.V.I. The spectrum of pulmonary infections in cancer patients. *Current Opinion in Oncology.* 13: 218-23, 2001.
- SHARP, S.E., ROBINSON A., SAUBOLLE, M., CRUZ, M.S., CARROLL, K., BASELSKI, V. *CUMITECH 7B. Lower Respiratory Tract Infections.* Coord. S.E. Sharp. ASM Press. Washington, D.C., 2004.
- SAN PEDRO, G. ARE QUANTITATIVE CULTURES USEFUL IN THE DIAGNOSIS OF HOSPITAL-ACQUIRED PNEUMONIA? *CHEST* 119(2)385S-390S, 2001
- WIBLIN, R.T. Nosocomial Pneumonia in: *Hospital Infection Control*, Wenzel (ed.) 807-819, 1997

Agradecimentos aos colaboradores que participaram como revisores da edição anterior desse fascículo na versão “on line” de 2004 a 2007 no site da ANVISA

Claude André Solari – Sociedade Brasileira de Microbiologia / São Paulo SP

José Carlos Serufo – Sociedade Brasileira de Medicina Tropical / Faculdade de Medicina da UFMG

Lauro Santos Filho – Departamento de Ciências Farmacêuticas da UFPB / João Pessoa PB

Sílvia Figueiredo Costa – Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP





**Acesse o site  
da ANVISA**

Baixe o leitor de QR  
Code em seu celular e  
fotografe este código

Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa  
SIA Trecho 5 - Área especial 57 - Lote 200  
CEP: 71205-050  
Brasília - DF  
Telefone: 61 3462 6000

**[www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br)**  
**[www.twitter.com/anvisa\\_oficial](https://www.twitter.com/anvisa_oficial)**  
**Anvisa Atende: 0800-642-9782**  
**[ouvidoria@anvisa.gov.br](mailto:ouvidoria@anvisa.gov.br)**