

# Principais Síndromes Infecciosas

**Módulo I**

## ÍNDICE

<b>1. Infecções do trato urinário</b> .....	<b>1</b>
Introdução .....	1
Patogênese.....	2
Epidemiologia e fatores de risco.....	3
Sinais e sintomas clínicos.....	3
Diagnóstico laboratorial .....	5
<b>2. Infecções de ossos e articulações</b> .....	<b>9</b>
Introdução .....	9
Microrganismos mais frequentes .....	9
Coleta e transporte do material .....	10
Processamento de amostra .....	10
<b>3. Infecções da pele e tecido subcutâneo</b> .....	<b>12</b>
Introdução .....	12
Lesões eritematosas e superficiais: aspectos clínicos e diagnóstico.....	12
Ulcerações e nódulos: aspectos clínicos e diagnóstico .....	14
Fístulas e queimados: aspectos clínicos e diagnóstico.....	15
Feridas cirúrgicas: aspectos clínicos e diagnóstico .....	17
Infecções complicadas e lesões causadas por mordedura: aspectos clínicos e diagnóstico.....	18
<b>4. Infecções intestinais</b> .....	<b>21</b>
Introdução .....	21
Principais causas infecciosas de desintéria.....	22
Associações entre os aspectos clínicos e os agentes etiológicos .....	24
Diagnóstico laboratorial .....	27
Relatório de resultados.....	28
<b>5. Infecções abdominais</b> .....	<b>30</b>
Agentes microbianos mais frequentes .....	30
Coleta e transporte do material .....	30
Processamento das amostras .....	30
<b>6. Infecções do sistema nervoso central</b> .....	<b>32</b>
Introdução .....	32
Dados epidemiológicos e etiologia de processos infecciosos do snc.....	33
Diagnóstico laboratorial .....	35
<b>7. Infecções sistêmicas</b> .....	<b>38</b>
Introdução .....	38
Fatores de risco para bacteremia e fungemia .....	38
Diagnóstico em hemoculturas.....	39
Infecção relacionada a cateter vascular.....	41
<b>8. Infecções genitais</b> .....	<b>43</b>
Introdução .....	43
Candidíase vulvo-vaginal .....	43
Tricomoníase .....	44
Vaginose bacteriana.....	45
Infecção gonocócica .....	46
Infecções por chlamydia trachomatis .....	48
Infecções por <i>mycoplasma</i> spp. ....	49
Outras infecções genitais e seus patógenos .....	50
<b>9. Infecções do trato respiratório superior</b> .....	<b>51</b>
Introdução .....	51
Quadro clínico, agentes etiológicos e diagnóstico laboratorial .....	51
<b>10. Infecções do trato respiratório inferior</b> .....	<b>53</b>
Pneumonia da comunidade .....	53
Pneumonia hospitalar.....	54
Diagnóstico laboratorial das pneumonias.....	56
Pacientes neutropênicos e imunossuprimidos .....	60
<b>11. Referências bibliográficas</b> .....	<b>62</b>

# 1. INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO

---

## INTRODUÇÃO

As infecções do trato urinário (ITU) estão entre as doenças infecciosas mais comuns na prática clínica, particularmente em crianças, adultos jovens e mulheres sexualmente ativas, sendo apenas menos frequente que as do trato respiratório. No meio hospitalar são as mais frequentes entre as infecções nosocomiais em todo o mundo. Do ponto de vista prático, por convenção, define-se como ITU tanto as infecções do trato urinário baixo (cistites) e como as do trato urinário alto (pielonefrites).

### Quanto à 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, permitiu identificar dois grupos de pacientes com bacteriúria  $\geq 100.000$  bactérias por ml de urina:

- Sintomáticos, e portanto com infecção urinária
- Assintomáticos, definidos como portadores de bacteriúria assintomática

A importância em diferenciar estes dois grupos é importante 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. Não implicando necessariamente em 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 pelo elevado risco de ITU são as gestantes, idosos e pacientes cateterizados.

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

- Episódio único ou isolado: ocorre uma única vez e resolve habitualmente pelo uso de antibioticoterapia. 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 – em consequência a falha no tratamento o mesmo microrganismo isolado previamente persiste no trato urinário, causando infecção ou bacteriúria assintomática. A persistência do mesmo microrganismo por meses ou anos, leva a infecção urinária crônica.
- Reinfeção - é a ocorrência de um novo episódio de ITU, sem relação com o evento anterior, causado por outro microrganismo, 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 reinfeção não devem ser confundidos com infecção urinária crônica.
- ITU crônica representa a persistência do mesmo microrganismo 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 reinfeção, com meses de intervalo entre eles. Cerca de 20% das jovens após o episódio inicial de cistite tem infecções recorrentes, que caracterizam bem este 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.

### 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 mellitus, anemia falciforme, doença policística renal, transplante renal) ou na vigência de cateterismo vesical, instrumentação ou procedimentos cirúrgicos do trato urinário. Pelo maior risco, as ITUs em crianças, gestantes, homens e infecções do trato urinário alto são consideradas infecções complicadas.

## PATOGÊNESE

As três possibilidades de um microrganismo alcançar o trato urinário e causar infecção são:

**Via ascendente:** o microrganismo poderá atingir através da uretra, a bexiga, ureter e o rim. Esta via é a mais freqüente, principalmente em mulheres (pela menor extensão da uretra) e em pacientes submetidos à instrumentação do trato urinário.

**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(s) por alguns microrganismos como *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Histoplasma spp.*, sendo também a principal via das ITU(s) em neonatos.

**Via linfática:** é rara embora haja a possibilidade de microrganismos alcançarem o rim pelas conexões linfáticas entre o intestino e o rim e/ou entre o trato urinário inferior e superior.

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

### 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 no córtex renal.

### Virulência do microrganismo

- 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 microrganismos atingem a bexiga através de três caminhos:

- no momento da inserção do cateter
- através da luz do cateter
- 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 microrganismos atuam, principalmente, através do refluxo da urina infectada nos ductos prostáticos e ejaculatórios.

## **EPIDEMIOLOGIA E FATORES DE RISCO**

As ITUs podem atingir 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 freqüentemente 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. Nesta faixa etária, o risco para a menina é de cerca de 4,5% e para o menino de 0,5%. Estas infecções são freqüentemente sintomáticas e acredita-se que os danos renais resultantes das ITUs ocorram durante este 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%), freqüentemente 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 ITUs com menores diferenças entre os sexos. Nas infecções comunitárias a prevalência atinge 20% nas mulheres e 10% nos homens, enquanto nas infecções hospitalares esta prevalência é de aproximadamente 30%. 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 2 dois episódios de ITU em seis meses, tem como fator predisponente a cistocele, incontinência e aumento do volume de urina residual.

Pacientes internados desenvolvem ITUs mais freqüentemente 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 esta 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 por cada dia de cateterização. A importância da ITU hospitalar está na sua elevada freqüência e principalmente por ser considerada a principal causa de bacteremia por Gram negativos.

## **SINAIS E SINTOMAS CLÍNICOS**

Neonatos e crianças até dois anos de idade com ITU(s) 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 sintomas como: disúria, freqüência e dor abdominal.

No diagnóstico de ITU em crianças menores de dois anos, pode ser feita apenas uma triagem com a urina obtida por coletor, se negativa tem valor diagnóstico de exclusão, mas se positiva, com ou sem leucocitúria, o diagnóstico final depende de coleta por punção supra-púbica ou de urina obtida por

sondagem vesical. Em crianças maiores de dois anos com controle esfinteriano, pode-se utilizar a urina de jato médio.

Adultos com ITU baixa, limitada a uretra e bexiga, geralmente apresentam disúria freqüente, urgência miccional e ocasionalmente dor na região particularmente pielonefrite, são freqüentemente acompanhadas pelos mesmos sintomas das infecções baixas, além supra-púbica. As ITUs altas, particularmente pielonefrite, são freqüentemente 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.

### AGENTES ETIOLÓGICOS DAS INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO

A flora normal da região periuretral é definida de acordo com a faixa etária e condições do paciente e, raramente, causam ITUs 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*), *Lactobacillus* spp.

### Manifestações clínicas e microrganismos freqüentemente associados com os vários tipos de ITUs.

	Tipo de Infecção	Manifestação clínica	Microrganismo isolado	Diagnóstico e contagem de colônias (UFC/ml)
Trato Urinário Alto	Pielonefrite	Aguda: febre, náusea, calafrios, vômito, dor no flanco	Enterobactérias: <i>E. coli</i> e outros grams negativos, <i>Enterococcus</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>	≥ 10 <sup>5</sup>
		Crônica: assintomática		
Trato Urinário Baixo	Cistite	Disúria e freqüência	<i>Escherischia coli</i> e outros grams negativos, <i>S. saprophyticus</i> , <i>Enterococcus</i>	≥ 10 <sup>5</sup>
		Disúria, freqüência, corrimento uretral		
	Uretrite	<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)	Urocultura negativa a) Diagnóstico por IFD b) e c) secreção uretral semeada em meios de cultura específicos. Alguns kits permitem contagem de colônias - ≥ 10 <sup>4</sup> ucf/ml d) cresce em ACH e TM e) exame direto de jato inicial de urina centrifugada f) podem crescer em ágar sangue ou CLED	
Infecção Hospitalar do Trato Urinário	Cistite Pielonefrite	Aguda: febre, calafrios, dor lombar	<i>N. gonorrhoeae</i> , <i>E. coli</i> , <i>Proteus</i> spp. e outras enterobactérias  Menos frequente: <i>Enterococcus</i> spp. <i>P. aeruginosa</i> e <i>Chlamydia trachomatis</i> *  Questionável: micoplasmas	Urocultura ou cultura da secreção prostática ≥ 10 <sup>3</sup> ucf/ml *diagnóstico por IFD
		Crônica: assintomática ou semelhante aos sintomas da aguda		
Infecção Hospitalar do Trato Urinário	Cistite Pielonefrite	Disúria e freqüência urinária na presença de SVD pode ser assintomático	<i>Escherischia coli</i> e outras enterobactérias <i>P. aeruginosa</i> <i>Acinetobacter</i> spp., Enterococos <i>Candida albicans</i> , <i>C. glabrata</i> e <i>Candida</i> spp. <i>Staphylococcus coag.</i> Neg	≥ 10 <sup>5</sup>

## DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

A maioria das ITUs é diagnosticada através de dados clínicos e laboratoriais como piúria e ou bacteriúria e também pela urocultura com contagem de colônias.

**Pesquisa da Piúria** - 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 piúria poderá ser evidenciada nas situações clínicas apresentadas abaixo, cuja urocultura resulta negativa.

a) 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 (microrganismos de difícil cultivo):

- 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 antibioticoterapia
- infecções adjacentes ao trato urinário (apendicite, diverticulite e prostatite)

A pesquisa de piúria poderá ser realizada por diferentes métodos manuais e automatizados:

Métodos	Princípios	Limites de Detecção
<b>Microscópico:</b> - Gram	Reconhecimento das bactérias por características morfo-tintoriais. Gram de uma gota de urina não ccentrifugada	$\geq 1$ bactéria em campo de imersão $\geq 10^5$ UFC/ml
<b>Pesquisa de Leucócitos</b> (urina não centrifugada): - lâmina e lamínula	Pequeno aumento 10x Aumento 40x Grande aumento 100x	30 leucócitos/campo 5 leucócitos/campo 1-2 leucócitos/campo
- câmara de contagem	Contagem na câmara de hemocítômetro	$\geq 10$ plócitos/ml (valor clínico)
- excreção urinária de leucócitos	Determinação da excreção	$\geq 400.000$ leucócitos/hora
- sedimento urinário	Determinação no sedimento	$\geq 10$ plócitos/ml (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 neg em cocos gram + e Pseudomonas
- esterase leucocitária	Detecta a presença dessa enzima nos leucócitos	Equivale a 5 leucócitos/campo 40x

Os testes utilizando fitas reagentes têm bom valor preditivo para afastar infecção urinária, no entanto apresentam baixo desempenho para sugerir ITU. 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.

### Valores de Sensibilidade, especificidade e valor preditivo (VP) dos testes nitrito e esterase leucocitária, para prever 10<sup>5</sup> UFC/ml

TESTE	Sensibilidade %	Especificidade %	VP (%) do teste positivo	VP (%) do teste negativo
Nitrito	69	90	57	94
Esterase leucocitária	71	85	47	94

#### Bacterioscopia de urina:

- Com a urina não centrifugada, e apenas homogeneizada, pegar uma alça com 10 µl 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  $\geq 10^5$  UFC.
- A presença de células epiteliais e vários tipos morfológicos de bactérias sugere contaminação.

**Bacteriúria** - a pesquisa de bacteriúria poderá ser realizada através da bacterioscopia da urina, testes bioquímicos e cultura de urina.

### QUANTIFICAÇÃO DA BACTERIÚRIA - CONTAGEM DE COLÔNIAS

A identidade da bactéria infectante isolada na cultura de urina é um dos fatores indicativos de infecção, porém não podemos esquecer que existem microrganismos que colonizam freqüentemente a uretra distal de pacientes, e que raramente causam ITUs. Cerca de 10 a 20% das pacientes apresentam colonização da mucosa vaginal e da região periuretral por enterobactérias por esta 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 microrganismos colonizantes geralmente apresentam-se em contagens baixas.

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, este limite corresponde a uma alta especificidade e uma baixa sensibilidade. De fato, cerca de terço das mulheres com síndrome clínica de disúria, freqüência, 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). Portanto, atualmente torna-se necessário que os laboratórios utilizem os critérios propostos por Stamm e comecem a detectar microrganismos a partir de  $10^2$  UFC/ml, principalmente nesta população de mulheres.

#### Comparação de Contagem de Colônias para ITU Baixa por coliformes.

Pesquisador	Urina	Sensibilidade	Especificidade	Valor Preditivo	
				Positivo	Negativo
Stamm (1982)	$\geq 10^2$ coliformes/ml	0.95	0.85	0.88	0.94
Kass (1956)	$\geq 10^5$ coliformes/ml	0.51	0.99	0.98	0.65

O resultado da urocultura deverá ser avaliado juntamente com os outros dados laboratoriais (pesquisa de bacteriúria e/ou piúria) e clínicos (presença ou ausência de sintomas, fatores predisponentes, população de risco, etc.). Considerando-se que as amostras de urina submetidas a cultura são provenientes de pacientes com sintomas de ITU e de pacientes assintomáticos com alto risco de Infecção.

Apresentamos na tabela seguinte os diversos métodos utilizados para a quantificação da urina e posterior identificação e antibiograma.



## Parâmetros para interpretação das uroculturas

Parâmetro	Método e Interpretação	Comentário
<b>Semi-Quantitativa</b>	Lamino cultivo e Dispstick ou Dip-slide	Técnica semi-quantitativa
<b>Quantitativa</b>	Pour-plate 1 microrganismo = 1000 UFC/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

### Lamino-cultivo

O lamino-cultivo consiste de um recipiente plástico cilíndrico, onde pode também ser coletado a urina, com uma tampa ligada a um suporte plástico com duas faces contendo meios de cultura como CLED e Mac Conkey ou outras combinações. Esta 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.

Estes meios permitem identificar através de algumas 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 lamino-cultivo, de forma que as faces do produto sejam colocadas uniformemente em contato com a urina.

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

As principais desvantagens do método são:

- o método é semi-quantitativo
- superfície menor de leitura e observação de crescimento

### 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 (10<sup>-2</sup>)
- 9,9 ml de salina + 0,1 ml da 1ª diluição (10<sup>-4</sup>)
- Adicionar 1 ml da última diluição em placa de Petri (150 mm)
- Acrescentar o Ágar Müller Hinton (fundido), homogeneizando e incubando à 35-37°C em aerobiose durante 24 h.
- A leitura é feita multiplicando o número de colônias obtido, pelo fator de diluição.

### Semeadura com Alça Calibrada

Alguns trabalhos recomendam a semeadura das urinas somente com a alça calibrada 0,01µl (10 µL), procurando detectar-se contagem de colônias a partir de 100 UFC/ml, outros trabalhos porém recomendam a semeadura de acordo com a origem da amostra como o proposto abaixo.

### Recomendação da Inoculação por Alça Calibrada segundo a origem da amostra clínica de urina

Amostra	0,001 ml ou 1 µl <sup>1</sup>	0,010 ml ou 10 µl <sup>2</sup>
Jato médio feminino		X

Jato médio masculino	X	
Cateter	X	
Punção Supra-púbica		X
Cistoscopia		X

<sup>1</sup>- uma colônia com alça de 1 µL = 1000 UFC/ml

<sup>2</sup>- uma colônia com alça de 10 µL = 100 UFC/ml

Utilizado para amostras onde a contagem de colônias baixa tem significado clínico

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 sentido 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 (Mac Conkey ou EMB) e outro meio não seletivo (Ágar Sangue de Carneiro a 5%) deverão ser incubadas 24 horas à 35-37°C, devendo este período ser prolongado quando as condições clínicas justificarem ou quando houver suspeita de infecção por Gram positivos (*Enterococos* e *Streptococcus agalactiae* ou leveduras). Atualmente utiliza-se muito o meio CLED, que permite crescimento das enterobactérias, impedindo o espalhamento dos *Proteus*, a maioria dos gram positivos e leveduras. É prudente a leitura em 48-72 horas quando a contagem de leucócitos ou a bacterioscopia sugerirem infecção urinária e não for verificado crescimento bacteriano em 24 horas.

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 deste manual para cultura de anaeróbios. Quando houver suspeita de ITU fúngica, recomenda-se semear de acordo com as orientações deste manual referentes às infecções fúngicas.

#### **Outros dados laboratoriais que podem contribuir para o diagnóstico:**

- Hematúria: quando detectada isoladamente sugere tuberculose renal, litíase renal, doença policística renal, cistite viral e trauma após cateterização.
- Proteinúria: resposta fisiológica à exercícios físicos prolongados ou postura ereta (proteinúria ortotástica)
- Hemocultura positiva: indica a presença de microrganismo na corrente sanguínea proveniente de um sítio conhecido (pulmão, osso, dente etc.) ou de um sítio desconhecido. Em pacientes com pielonefrite aguda a hemocultura é positiva em 25%. A bacteremia é também bastante freqüente nos neonatos com infecção do trato urinário.

Prostatite - Cerca de 50% dos homens em algum momento da vida irão apresentar sintomas sugestivos de prostatite, embora apenas 5-10% serão caracterizados como casos agudos ou crônicos. Os demais apresentarão quadros inflamatórios não infecciosos. O diagnóstico de prostatite bacteriana aguda é, muitas vezes, confundido nos homens abaixo de 50 anos com infecção urinária. A prostatite pode ser detectada com base em uroculturas positivas, ou cultura de secreção prostática com presença de neutrófilos na secreção. Os sintomas, geralmente, são intensos na infecção aguda, enquanto que na prostatite crônica eles são insidiosos, manifestando-se por infecções urinárias repetidas, ou sintomas genitourinários irritativos ou obstrutivos.

Na fase aguda é contra-indicada a coleta de secreção prostática pela dor, embora o toque retal cuidadoso já possa sugerir este diagnóstico, documentado por urocultura. Os principais agentes são a *E. coli*, *Proteus* spp., e outras enterobactérias, sendo menos freqüente o enterococo. É controverso o papel de estafilococos, *Gardnerella*, *Haemophilus*, *Chlamydia*, *Mycoplasma*, *Trichomonas* e vírus.

## 2. INFECÇÕES DE OSSOS E ARTICULAÇÕES

### INTRODUÇÃO

O tecido ósseo normal apresenta resistência natural às infecções, que, no entanto, podem ocorrer quando este tecido é traumatizado, sua nutrição comprometida, pela 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 osteomielite crônica, com necrose tecidual, processo inflamatório, presença de pus, seqüestro ósseo, podendo comprometer partes moles e podendo drenar através de fístula, com evolução lenta por semanas meses ou anos.

O inóculo bacteriano comumente é introduzido pelo trauma, contigüidade (úlceras), via hematogênica (bacteremia ou êmbolo), introdução de corpo estranho (próteses) e quebra de barreiras (procedimentos cirúrgicos), etc.

A correta identificação do agente etiológico e seu teste de sensibilidade aos antimicrobianos é de fundamental importância para as perspectivas de sucesso terapêutico. Não se recomenda fazer avaliação microbiológica com base em material obtido com swab do orifício de drenagem de fístula, de ferida, úlcera, etc.

A amostra clínica para o isolamento do agente deve ser obtida por procedimento cirúrgico ou por punção biópsia aspirativa com técnica asséptica e material suficiente para:

- Bacterioscopia pelo Gram, equando indicado coloração de Ziehl Neelsen
- Exame histopatológico (recomendável)
- Cultura para bactérias aeróbias e facultativas
- Caso indicado cultura para fungos, micobactérias e anaeróbios.

### MICROORGANISMOS MAIS FREQUENTES

#### OSTEOMIELITE

**Hematogênica** – *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* spp., *S. agalactiae* (recém-nascido), *Salmonella* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida* spp. (cateter).

#### Associação com quadros clínicos

<b>Pós-trauma</b>	<i>Streptococcus</i> spp., <i>Propionibacterium</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp., Enterobactérias, <i>Staphylococcus</i> spp., bactérias anaeróbias.
<b>Pós-operatório</b>	Fixação de fratura: Coliformes, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> Esternotomia: <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>S. epidermidis</i> Colocação de próteses: <i>S. epidermidis</i> , <i>S. aureus</i> , Enterobactérias e <i>Pseudomonas</i> spp..
<b>Pós-mordida de animal</b>	<i>Pasteurella multocida</i> , <i>Eikenella corrodens</i> .
<b>Insuficiência vascular</b>	Enterobactérias, anaeróbios.
<b>Anemia falciforme</b>	<i>Salmonella</i> spp. e <i>Streptococcus pneumoniae</i> .
<b>Pé diabético e úlcera de decúbito</b>	<i>Streptococcus</i> spp., Anaeróbios, Gram negativos.
<b>Infecção por HIV</b>	<i>Bartonella henselae</i>

<b>Imunossuprimidos</b>	<i>Aspergillus</i> spp., Complexo <i>M. avium</i> , <i>Candida</i> spp.
<b>Usuários de droga endovenosa e pacientes que fazem hemodiálise crônica</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<b>Locais onde as doenças tem alta prevalência</b>	<i>M. tuberculosis</i> , <i>Brucella</i> spp.,
<b>Infecção hospitalar</b>	Enterobactérias e <i>Pseudomonas aeruginosa</i>

## ARTRITE SÉPTICA

- *Neisseria gonorrhoeae*
- *Staphylococcus aureus*
- *Streptococcus pyogenes*
- *Streptococcus pneumoniae*
- *Streptococcus* spp.
- *Enterococcus* spp.
- Enterobactérias

<b>Crônica e monoarticular</b>	<i>Brucella</i> spp., <i>Nocardia</i> spp., <i>Mycobacterium</i> spp., Fungo
<b>Por faixa etária</b>	<p><u>Até 3 meses</u>: <i>S. aureus</i>, Enterobacterias, <i>S. agalactiae</i> (grupo B) e <i>Neisseria gonorrhoeae</i>.</p> <p><u>3 meses a 14 anos</u>: <i>S. aureus</i> (27%), <i>S. pyogenes</i> (14%), <i>S. pneumoniae</i> (14%), <i>Haemophilus influenzae</i> (3%), bacilos Gram negativos (6%), <i>Neisseria gonorrhoeae</i> e <i>N. meningitidis</i> (14%) e desconhecida (36%).</p> <p><u>Adultos</u>: <i>N. gonorrhoeae</i>, <i>S. aureus</i>, <i>Streptococcus</i> spp., raramente bacilos gram negativos.</p>

## PRÓTESES ARTICULARES

- *S. aureus*
- *Staphylococcus* spp (coagulase negativos)

### Artrite reacional ou Síndrome de Reiter

Pode ocorrer após semanas infecção por: *Chlamydia trachomatis*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*, *Shigella*, *Salmonella*.

Poliartrite assimétrica que pode acompanhar de uretrite, conjuntivite, uveíte e rash cutâneo. É importante lembrar como diagnóstico diferencial de artrite migratória causada pela febre reumática, pós-infecção, por *Streptococcus pyogenes*.

## COLETA E TRANSPORTE DO MATERIAL

Estas amostras deverão ser colhidas através de procedimentos invasivos: punções ou durante o ato cirúrgico. Observando-se os cuidados de assepsia para que a amostra coletada não seja contaminada.

A secreção ou líquidos serão aspirados com o auxílio de agulha e seringa estéreis e colocados em frasco estéril ou em meio de transporte para anaeróbios facultativos e estritos (caldo de tioglicolato) - eventualmente mantidos na própria seringa, nunca usando a agulha para obstruir a seringa, pelo risco de acidentes. Eentão encaminhados rapidamente ao laboratório de microbiologia.

## PROCESSAMENTO DE AMOSTRA

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

### **Avaliação da qualidade do material encaminhado:**

Identificação adequada, frasco/meio de transporte correto, volume da amostra suficiente para os testes requeridos, data/horário da coleta.

### **Coloração de Gram:**

Serão observados forma, coloração e agrupamento dos microrganismos, além da presença de células (leucócitos íntegros ou degenerados, inclusões bacterianas, etc). Se houver suspeita de microrganismos álcool-ácido resistentes, preparar também lâminas para coloração de Ziehl Neelsen, e na suspeita de fungos, preparação de azul de lactofenol ou de algodão.

### **Semeadura em meios adequados:**

<b>Meios de cultura para bactérias aeróbias</b>	<p><u>Ágar sangue</u></p> <ul style="list-style-type: none"><li>▪ Incubar a 35°C durante 18 a 24 h</li><li>▪ Verificar crescimento bacteriano:<ul style="list-style-type: none"><li>– se negativo, incubar mais 24 h</li><li>– se positivo, identificar o microrganismo</li></ul></li></ul> <p><u>Ágar chocolate suplementado</u></p> <ul style="list-style-type: none"><li>▪ Incubar a 35°C em jarra com 5% CO<sub>2</sub> durante 18 a 24 h</li><li>▪ Verificar o crescimento bacteriano:<ul style="list-style-type: none"><li>– se negativo, reincubar</li><li>– se positivo, proceder à identificação do microrganismo</li></ul></li></ul>
<b>Meios de cultura para bactérias anaeróbias</b>	<p><u>Brucella ágar acrescido de vitamina K (menadiona) e hemina</u></p> <ul style="list-style-type: none"><li>▪ Incubar a 35°C em jarra de anaerobiose durante 48 h</li><li>▪ Verificar crescimento<ul style="list-style-type: none"><li>– se negativo, repicar a amostra do tioglicolato a cada 48 h até completar 7 dias</li><li>– se positivo, proceder à identificação da bactéria</li></ul></li></ul>
<b>Culturas especiais</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>▪ Se houver suspeita clínica de micobactérias, semear em meios especiais (Lowenstein Jensen ou Middlebrook); aguardar 60 dias para concluir a cultura como negativa.</li><li>▪ Se houver suspeita clínica de fungos, semear em Ágar Sabouraud-glicose; incubar à temperatura ambiente durante 4 semanas.</li><li>▪ Em caso de suspeita clínica, outras culturas especiais podem ser disponibilizadas com meios específicos: culturas para Legionela, Micoplasma, Clamídia e outros agentes fastidiosos.</li><li>▪ As culturas para vírus demandam estrutura laboratorial especializada em cultura celular. Quando realizadas devem ser finalizadas com a tipagem monoclonal de cada vírus suspeito.</li></ul>

### 3. INFECÇÕES DA PELE E TECIDO SUBCUTÂNEO

---

#### 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. Estas 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.

#### LESÕES ERITEMATOSAS E SUPERFICIAIS: ASPECTOS CLÍNICOS E DIAGNÓSTICO

##### IMPETIGO

É uma infecção cutânea intra-epidérmica superficial que produz lesões eritematosas, podendo ser acompanhados 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 pús 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 pura de estreptococos do grupo A ou cultura mista de *S. pyogenes* e *S. aureus*, embora o estafilococo seja geralmente considerado mais uma invasão secundária do que patógeno primário.

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.

##### 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 microrganismo 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 desta infecção é que ela está geralmente associada com bacteremia e afeta tipicamente crianças de seis meses a 3 anos de idade.

### **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 anticorpo 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.

### **FOLICULITE**

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 pêlo circundado por um halo eritematoso. A infecção é em geral causada pelo *S. aureus*. Embora a etiologia da foliculite possa ser confirmada por cultura do pús ou exsudato da lesão, esta prática geralmente não é necessária. Outras causas menos comuns de foliculite incluem membros da família Enterobacteriaceae (especialmente *Proteus sp.*). Esta pode ocorrer em pacientes com *Acne vulgaris* que recebem antibióticos orais por um período prolongado de tempo. Recentemente foram verificados surtos de foliculite 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. Estas 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, cefaléia, 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.

### **Diagnóstico Laboratorial**

Na foliculite estafilocócica, geralmente a bactéria não é vista no Gram e nem na cultura. Já na foliculite por *Pseudomonas*, o microrganismo pode ser recuperado de pústulas maiores, embora na maioria dos casos a cultura também se apresenta negativa.

### **FURUNCULOSE E CARBÚNCULO**

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 freqüentemente 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 freqüente. Tratamento com compressas quentes é geralmente adequado para pequenos furúnculos localizados. Antibióticos anti-estafilocócicos tais como oxacilina 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.

### **PARONÍQUIA**

É uma infecção superficial na prega da unha que pode ser aguda ou crônica. As infecções agudas são 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 geralmente associada com imersões frequentes das mãos em água de sabão, sendo o agente mais comum a *Candida sp.*

### Diagnóstico Laboratorial

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

### Diagnóstico de lesões eritematosas superficiais

Doenças e Síndromes	Agente etiológico mais freqüente	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)	Gram, Cultura em Ágar Sangue, Ágar chocolate, Caldo trypticase soja
Celulite	<i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>S. aureus</i> Menos freqüentes: Enterobactérias, <i>Pasteurella spp.</i> , <i>Aeromonas spp.</i> , <i>Clostridium spp.</i> , <i>B. anthracis</i> , <i>Erysipelotrix spp.</i>	Gram, Cultura em Ágar Sangue, Ágar Chocolate, Ágar Mac Conkey, Caldo tioglicolato, Caldo trypticase soja.
Foliculite, Furúnculos e Carbúnculo	<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram, Cultura em Ágar Sangue
Paroníquia	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Candida spp.</i>	Gram, Cultura em Ágar em Sangue
Micoses superficiais	<i>Candida spp.</i> , <i>Epidermophyton spp.</i> , <i>Microsporum spp.</i>	KOH 10%, Ágar Sabouraud, Dextrose + cloranfenicol e cicloheximida

## 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 microrganismos 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 microrganismos, 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 Methenamina, auramina, cultura de biópsia para <i>Mycobacterium</i> , 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 + ciclohexemida, 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

## FÍSTULAS E QUEIMADOS: ASPECTOS CLÍNICOS E DIAGNÓSTICO

### FÍSTULAS

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

Fístula é uma comunicação entre o tecido profundo infectado ou abscesso através do tecido subcutâneo abrindo-se sobre a superfície cutânea. Isto 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 esta razão as culturas feitas a partir do material que exsuda para a superfície cutânea da fístula podem ser enganosas.

Vários microrganismos de infecções do tecido mole são caracterizados através do trato fistulizado. O *Staphylococcus aureus* produz abscessos profundos (carbúnculo) e secreta pús espesso. A linfadenite cervical causada por micobactéria, especialmente a tuberculose cervical, pode produzir drenagem crônica da fístula denominada escrófulo. A actinomicose classicamente definida como queixo granuloso 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). Estes 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 microrganismo é a cavidade oral do próprio paciente e a má higiene bucal provavelmente constitui o fator desencadeante. A maduromicose plantar ocorre quando os microrganismos 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.

### 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 microrganismos 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 spp.</i>	Gram, cultura em anaerobiose à 37°C, em Ágar Sangue e em caldo por 1-2 semanas.
Maduromicos e	<i>Madurella mycetomatis</i> , <i>Phialophora verrucosa</i> ,	KOH 10%, cultura em Ágar Sabouraud com e

Maduromicos podal	<i>Petrellidium boydii</i>	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

## QUEIMADOS

Historicamente, o estreptococo hemolítico e o estafilococo foram os microrganismos 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.*

### Diagnóstico Laboratorial

A superfície queimada contém tecido morto e fluido rico em proteínas. Microrganismos da flora do próprio paciente ou do meio ambiente colonizam esta 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. Isto 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 inadequados e freqüentemente enganosos. Conseqüentemente, 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. Este conceito levou ao emprego de uma variedade de técnicas para estimar em que profundidade os microrganismos se disseminam. Tais métodos incluem uma variedade de técnicas histopatológicas e microbiológicas.

Cultura e bacterioscópico quantitativo - o esfregaço e a cultura quantitativa são realizadas 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 0,001 g. 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 microrganismo 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 microrganismos por grama de tecido.

Técnicas histopatológicas - as técnicas histopatológicas foram usadas para detectar infecções fúngicas e na tentativa de localizar o microrganismo 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 ao redor 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 microrganismos.

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

## **FERIDAS CIRÚRGICAS: ASPECTOS CLÍNICOS E DIAGNÓSTICO**

A infecção em ferida cirúrgica ocorre quando a mesma é contaminada com microrganismos, geralmente em período intra-operatório ou imediatamente no peri-operatório. A fonte de bactérias pode incluir sítios colonizados do corpo dos pacientes, tais como, as 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 melitus, 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. Nesta classificação o risco de infecção pós-operatória está implícito. Além disso, as infecções de sítios remotos, por exemplo, infecção do trato urinário, coloca 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 freqüentemente na sutura e podem apresentar dor, calor, edema e rubor. O pús 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 microrganismos como *Mycobacterium chelonae* e *Mycobacterium fortuitum* podem causar infecção, complicando a cirurgia cardíaca ou mamoplastia, cirurgia ocular e outras cirurgias limpas. Tais microrganismos podem causar doenças crônicas desfigurantes.

### **Diagnóstico Laboratorial**

O volume do pús aspirado ou o swab pesadamente impregnado com o pús pode ser examinado microbiologicamente. O esfregaço e a coloração do Gram poderá 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 microrganismos especialmente *M. chelonae*, pode ser

erradamente identificado como difteróide numa cultura em caldo, a menos que se realize coloração para pesquisa de bacilos álcool-ácido resistentes.

Quando se relata isolamento de microrganismos 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 neste caso. A razão dessa conduta é que tal microrganismo 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 pús, 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 pús ou tecido. Ágar sangue, Ágar Mac Conkey, Caldo tioglicolato, Ágar enriquecido e seletivo para anaeróbios estritos.

## INFECÇÕES COMPLICADAS E LESÕES CAUSADAS POR MORDEDURA: ASPECTOS CLÍNICOS E DIAGNÓSTICO

### 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 microrganismo responsável e à manifestação clínica. Muitas destas 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. Esta doença é freqüentemente 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*, microrganismo que tanto pode colonizar a ferida sem causar doença como pode causar celulite grave, estender-se para a musculatura evoluindo para mionecrose e, com freqüência, para o óbito.

Esta 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 fasciite necrotizante 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 pús pode ser drenado através da pele dos flancos ou de outras partes da ferida original. A "doença de Fournier" é uma forma de fasciite 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 freqüentemente 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 diabete 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.

### 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 pús 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 microrganismos 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. Nestes casos nota-se pouca quantidade de pús 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.

## 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.

### 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 pús aspirado da profundidade da ferida ou a cultura feita durante a incisão e drenagem desta 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 microrganismos misturados.

### Diagnóstico de Lesões Causadas por Mordeduras

<b>Mordeduras</b>	<b>Agente Etiológico</b>	<b>Diagnóstico Laboratorial</b>
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.

## 4. INFECÇÕES INTESTINAIS

---

### INTRODUÇÃO

A doença diarréica continua a figurar como o maior problema da saúde humana. Foi estimada uma ocorrência de um bilhão de episódios de diarréia no mundo por ano em crianças abaixo de cinco anos de idade, resultando em 5 milhões de óbitos. A diarréia é particularmente devastadora em crianças que sofrem concomitantemente de doenças infecciosas, como sarampo, imunodeficiência e subnutrição protéica, fatores muito freqüentes nos países em desenvolvimento. Em tais países, estima-se que a criança apresenta três a quatro vezes mais episódios de diarréia 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 diarréica sejam mais importantes em crianças lactentes, esta enfermidade tem impacto importante também em adultos. Os adultos em média sofrem de um a dois episódios de diarréia anualmente. Este 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, diarréia ou desinteria podem ser:

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

O custo para se fazer um exame de fezes de qualquer paciente para 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 um 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 importância. 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 diarréia comunitária em adultos é de causa inflamatória e, as fezes, podem ser triadas para verificar a presença de leucócitos através 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 diarréia inflamatória, mas a presença destes pode diferenciar dos agentes causadores de diarréia não inflamatória, incluindo microrganismos toxigênicos como Vibrios, *E. coli* (ETEC), agentes virais e certos agentes parasitários.

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

Estudos de vigilância realizados por Laboratórios de Referência, como triagem de fezes para vários agentes por um período de 3 a 6 meses e a avaliação do impacto destes estudos na taxa de positividade do exame de fezes, poderão auxiliar na determinação de quais microrganismos deverão ser incluídos na triagem de rotina pelos laboratórios que atendem a comunidade.

Um outro papel importante que o laboratório desempenha no controle da diarréia de pacientes da comunidade é na detecção de surtos de fontes comuns. O laboratório deve notificar as 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.

A diarréia de origem hospitalar é descrita na literatura como um episódio que ocorreu após três dias de internação. Esta definição é razoável quando se reconhece que certos pacientes, serão admitidos no hospital devido a sintomas de diarréia (especialmente em crianças pequenas) ou pode ter episódio de diarréia auto-limitada, geralmente induzida por vírus durante ou próximo ao momento da internação.

Em crianças, o Rotavírus é a causa principal de infecção hospitalar sendo este o único agente para o qual as fezes de crianças com diarréia desenvolvida no hospital devem ser rotineiramente

pesquisadas. 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 CAUSAS INFECCIOSAS DE DESINTERIA

<b>Evacuação acompanhada de tenesmo, sangue, muco e dor</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Desintéria bacilar: <i>Shigella</i> spp., <i>E. coli</i> (EIEC)</li> <li>- <i>Campylobacter jejuni</i></li> <li>- Desintéria amebiana: <i>Entamoeba histolytica</i></li> <li>- Outros protozoários: <i>Balantidium coli</i>, <i>Giardia lamblia</i></li> <li>- Parasitas: <i>Schistosoma mansoni</i>, <i>Strongyloides stercoralis</i>, <i>Trichinella spiralis</i>, <i>Cyclospora</i> spp., <i>Microsporidium</i> spp.</li> <li>- <i>Vibrio cholerae</i> e <i>Vibrio parahaemolyticus</i></li> <li>- Febre tifóide: <i>Salmonella typhi</i> e outras Salmoneloses</li> <li>- Yersiniose - <i>Yersinia enterocolitica</i></li> <li>- Proctite gonorréica, sífilítica, por <i>Chlamydia</i> e herpética</li> </ul>
<b>Diarréia</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Intoxicação alimentar por <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Bacillus cereus</i>, <i>Clostridium perfringens</i>, <i>Clostridium botulinum</i></li> <li>- <i>E. coli</i> enterotoxigénica (ETEC)</li> <li>- <i>E. coli</i> enterohemorrágica (EHEC)</li> <li>- <i>E. coli</i> enteropatogénica (EPEC)</li> <li>- <i>E. coli</i> entero-agregativa (EaggEC)</li> <li>- <i>E. coli</i> difusamente aderente (DAEC)</li> <li>- Enterocolite necrotizante do recém-nascido, enterocolite pseudomembranosa (<i>Clostridium difficile</i>), diverticulite, <i>tiflite</i> ou <i>enterocolite do neutropênico/imunossuprimido</i></li> <li>- <i>Helicobacter pylori</i></li> <li>- Rotavírus</li> <li>- Norwalk vírus</li> </ul>

Nas últimas duas décadas o conhecimento sobre agentes virais, bacterianos e protozoários e os mecanismos pelos quais a diarreia é produzida (induzida) expandiu-se bastante. 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 aidéticos
- Surtos de diarreia devido à contaminação da rede de água pública com *Giardia lamblia*.

A detecção do patógenos entéricos bacterianos é complicada 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  $10^{11}$  -  $10^{12}$  microrganismos por grama de fezes, das quais 99% são anaeróbios estritos, predominantemente os pertencentes aos gêneros: *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium* e *Propionibacterium*. Quando comparados com a microflora fecal facultativa, esta 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 <sup>2</sup> UFC/ml
<i>Campylobacter jejuni</i>	10 <sup>2</sup> – 10 <sup>6</sup> UFC/ml
<i>Salmonella</i>	10 <sup>5</sup> UFC/ml
<i>E. coli</i>	10 <sup>8</sup> UFC/ml
<i>Vibrio cholerae</i>	10 <sup>8</sup> UFC/ml
<i>Giardia lamblia</i>	10 – 10 <sup>2</sup> cistos
<i>Entamoeba histolytica</i>	10 – 10 <sup>2</sup> cistos
<i>Cryptosporidium parvum</i>	1 – 10 <sup>3</sup> oocistos

---

### ESCHERICHIA COLI

As cepas mais importantes com potencial de causar diarreia são: *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) ou produtora de toxina Shiga, *E. coli* enterotoxigena (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 (EaggEC) foram descritas, mas de importância clínica ainda não bem definida.

EHEC - *E. coli* produtoras de toxina Shiga (verocitotoxina) características são a O157:H7, mas mais de uma centena de outros sorotipos podem produzir esta toxina. A *E. coli* O157:H7 é a mais bem estudada e esta 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 disseminada através de água não clorada, alimentos, etc. Dose infectante é baixa, por isso pode ser transmitida de pessoa a pessoa. A sorotipagem é o método de triagem mais comum, existindo antígeno específico para O:157 (simples) ou teste com partículas de latex, devendo a cepa ser enviada ao laboratório de referência para confirmação.

ETEC - *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.

## Sintomas associados a patogenia da doença diarréica

Variável	Produção de Toxina	Invasão Tecidual
Consistência das fezes	Aquosa	Amolecida
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 diarréia, desenteria ou dor abdominal, deve-se contar com a colaboração importante do médico, dando informações clínicas e se possível a suspeita clínica para orientar quais os agentes a serem pesquisados. Constituem informações importantes:

- Idade do paciente
- Principais sintomas: diarréia, presença de sangue, pus ou muco, tenesmo, dor abdominal, frequência e volume das evacuações, febre, quadro simultâneo em outras pessoas do convívio.
- É imunossuprimido? Diarréia após uso de antibióticos? etc.
- Pedido específico quando suspeitar de agentes como cólera e campylobacter.
- No exame proto-parasitológico é necessário especificar a pesquisa de *Cryptosporidium* spp. e *Isospora belli*.

## ASSOCIAÇÕES ENTRE OS ASPECTOS CLÍNICOS E OS AGENTES ETIOLÓGICOS

- **Ingestão de frutos do mar:** em especial ostras, induz a pesquisa de *Vibrio parahaemolyticus*, e vírus Norwalk.
- **Viagem a países tropicais:**
  - sem leucócitos nas fezes: *E. coli* enterotoxinogénica (ETEC), Rotavírus e 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 a evacuação): amebíase, shigelose, *E. coli* (EIEC).
- **Fezes com sangue, sem leucócitos fecais:** deve-se suspeitar de EHEC (O157:H7), pode estar acompanhada de síndrome hemolítico-urémica, principalmente em crianças. Existe a possibilidade de amebíase.
- **Diarréia sanguinolenta com leucócitos:** salmonelose, campilobacteriose, shigelose e *E.coli* (EIEC).
- **Diarréia secretória**, cujo quadro importante é a desidratação podendo evoluir para o choque e cujas fezes apresentam aspecto de água de arroz, sugerindo o diagnóstico de cólera.
- **Diarréia e vômito significativo**, em crianças pequenas sugere Rotavírus.
- **Diarréia crônica ou subaguda**, com ou sem flatulência, pode-se direcionar o exame para o diagnóstico de giardíase. Outras causas de (>10 dias), com perda de peso, lembrar de ciclosporiase e criptosporidiose. Ou na suspeita de uma síndrome apendicular pode-se sugerir uma yersiniose.

- **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*.
- **Dor abdominal** sugerindo apendicite, lembrar de *Yersinia enterocolítica*.
- **Diarréia acompanhada de artrite**: *Yersinia enterocolítica*
- **Em pacientes imunossuprimidos** considerar:
  - Vírus: Citomegalovírus, *Herpes simplex* vírus, vírus Coxsackie, Rotavírus,
  - Bactérias: *Salmonella* spp., complexo *Mycobacterium avium*
  - Parasitas: *Cryptosporidium* spp., *Isospora belli*, *Strongyloides stercoralis*, *Entamoeba coli*, e *Giardia lamblia*.
- **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*.
- **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 diarréia

Produção de Toxina	Invasão	Adesão
<i>Aeromonas</i> , <i>Bacillus cereus</i>	<i>Campylobacter</i> spp.	<i>E. coli</i> enteropatogênica
<i>Clostridium difficile</i> , <i>C. perfringens</i>	<i>E. coli</i> enteroinvasora	<i>E. coli</i> enteroaderente
<i>E. coli</i> enterotoxinogênica ETEC	<i>Plesiomonas shigelloides</i>	<i>E. coli</i> enterohemorrágica
<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>	

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

#### Bactérias

Agente etiológico	Início dos sintomas	Dados clínicos mais comuns	Diagnóstico
<i>Bacillus cereus</i> - toxina de vômito	1-6 h	Vômitos, diarréia ocasional; Comum em surtos de toxi-infecção alimentar.	Isolamento nas fezes ou no alimento: $10^5$ UFC/g. <i>Bacillus cereus</i> (Seletive Medium Oxoid).
<i>Bacillus cereus</i> - toxina de diarréia	6-24 h	Diarréia e dor abdominal.	Idem
<i>Campylobacter</i>	2-5 até 10 d	Diarréia 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 diarréia.	Pesquisa de toxina no soro, fezes, coprocultura.
<i>Clostridium perfringens</i>	6-24 h	Diarréia, cólicas abdominais.	Isolamento nas fezes ou no alimento $> 10^5$ UFC/g.

<i>E. coli</i> Enterohemorrágica (EHEC) O157:H7	1-10 d média: 4-5 d	6% das crianças com síndrome hemolítico-urêmica, 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-Oxoid) e meio seletivo (Listeria Seletive Medium / Oxoid).
<i>Salmonella typhi</i>	3-60 d média: 7-14 d	Febre, anorexia, indisposição, cefaléia, mialgia, diarreia e constipação podem se alternar.	Coprocultura em caldo de enriquecimento e meios seletivos; títulos de anticorpos específicos.
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> e outros	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.

## Vírus

Agente etiológico	Início dos sintomas	Dados clínicos mais comuns	Diagnóstico
Rota vírus	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.

Norwalk (calicivírus ) e outros enterovírus	15-77 h média: 1-2 d	Vômitos, cólicas, diarreia e cefaléia.	Laboratórios de Saúde Pública. Enviar fezes conservadas a menos 20°C.
---	-------------------------	--	--

## 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 Ziehl modificado ou imunofluorescência / Elisa.
<i>Cyclospora cayentanensis</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 imunológicas.

## DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

- Uma história de emprego recente de antibioticoterapia prolongada deve ser considerada para direcionar a pesquisa de toxina de *Clostridium difficile* como uma das etiologias. Outras possibilidades são o *S. aureus*, *Candida* spp. e *P. aeruginosa*.
- Os antibióticos mais frequentemente associados à diarreia por *C. difficile* são: cefalosporinas, ampicilina, amoxicilina, outros derivados de penicilinas, macrolídeos, tetraciclina e sulfazotrim.
- Quando possível selecionar porções de fezes contendo muco, e/ou sangue e/ou pús.
- A pesquisa de eosinófilos no muco positiva é sugestiva de diarreia de causa alérgica.
- Diarreia por toxina tem curta duração, pesquisa de leucócitos, sangue e presença de muco negativa. Diagnóstico laboratorial difícil, pois o agente costuma não estar presente.
- Para cultura de *Campylobacter* há necessidade de meio de cultura específico.
- Pesquisa de leucócitos e eosinófilos: deve-se enviar fezes frescas para exame (não swab) ou em meio de transporte.

## MEIOS DE TRANSPORTE

- Salina glicerizada 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.
- 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. Em geral o meio de transporte inviabiliza a pesquisa de leucócitos nas fezes, sugestivo de agente invasor.
- Materiais inapropriados para processamento: fezes ou material do trato digestivo transportado a temperatura ambiente sem meio de transporte, swab seco ou sem sinais de fezes, biópsias secas.

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* enterohemorrágica). Deve-se incluir também a pesquisa de *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas* e *Plesiomonas*.

## CARACTERÍSTICAS DE ALGUNS MEIOS SÓLIDOS

- Ágar Mac Conkey e Ágar Eosin Metilene Blue (EMB) são meios diferenciais, mas não seletivos entre os Gram negativos entéricos.
- O Ágar Salmonella-Shigella funciona bem para para as *Salmonella* mas pode inibir Shigella.
- O Ágar xilose-lisina-desoxicolato (XLD) é recomendado para *Salmonella* e *Shigella*, mesmo as mais exigentes.
- Ágar Hektoen entérico (HE) é adequado para *Salmonella* e *Shigella*
- Ágar verde brilhante (VB) é seletivo para *Salmonella sp*, mas não é indicado para *Salmonella typhi* e *S. paratyphi*.
- Ágar sulfito de bismuto (Wilson & Blair) é seletivo para *Salmonella*.

### 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 tetracionato - apenas algumas espécies de Salmonella spp e exclui *S. typhi*.

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.

## RELATÓRIO DE RESULTADOS

Com o reconhecimento do número crescente de agentes bacterianos causadores de diarreia, tornou-se importante a identificação específica de microrganismos 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 microrganismos 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 determinação das toxinas, etc.)

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

Microrganismo	Mecanismo de Patogenicidade	Técnica	Enriquecimento	Meios de cultura
<i>Campylobacter</i> , <i>C. jejuni</i>	Invasão	Culturas incubadas em ambiente de microaerofilia à 42°C.	não	Ágar p/ <i>Campylobacter</i> 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°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°C.	não	Ágar diferencial: Ágar Mac Conkey sorbitol (SMAC) ou Ágar Mac Conkey
<i>Salmonella</i> spp.	Invasão	24-48h aerobiose, 35-37°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</i> , <i>V. parahaemolyticus</i>	Toxina colérica Toxinas	24-48h aerobiose, 35-37°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°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.

## 5. INFECÇÕES ABDOMINAIS

---

### AGENTES MICROBIANOS MAIS FREQUENTES

- Intrabdominais (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 intrabdominal: incluindo apendicite, diverticulite. As mesmas bactérias do item anterior, e ainda: *Clostridium* spp., *Eubacterium* spp., *S. pyogenes* e *Streptococcus* spp.
- Peritonite Bacteriana Espontânea Primária: Enterobactérias (2/3), *S. pneumoniae* (15%), enterococos (6-10%) e anaeróbios < 1%.
- Peritonite associada a diálise peritoneal crônica: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*, enterobactérias e 20% estéril.
- Infecções hepáticas, incluindo abscessos: *Streptococcus* spp., *Escherichia coli*, *Proteus* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Fusobacterium* spp., *Bacteroides* spp., *Enterococcus* spp., *Entamoeba histolytica*, *Leishmania donovani* (kalazar), microsporidiose.
- Granuloma hepático: *M. tuberculosis*, *Mycobacterium* spp., *Brucella* spp., *Histoplasma capsulatum*, *Coxiella burnetii*, *T. pallidum* (sífilis secundária), *Echinococcus* spp., *Schistosoma* spp., Citomegalovírus, vírus Epstein-Barr. Pacientes da América do Norte ou outros continentes pode-se incluir a *Francisella tularensis* e *Coccidioides immitis*.
- Infecções pancreáticas: *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Candida* spp., *Pseudomonas* spp., *Streptococcus* spp., *Trulopsis 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* spp., *Leishmania donovani*, microsporidiose.

### COLETA E TRANSPORTE DO MATERIAL

Estas 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 logo ao laboratório de microbiologia.

### PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

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

- Avaliação da qualidade do material encaminhado: identificação adequada, frasco/meio de transporte correto, volume da amostra suficiente para os testes requeridos, data/horário da coleta.
- Coloração de Gram do esfregaço do material em lâmina: serão observados forma, coloração e agrupamento dos microrganismos, além da presença de células (leucócitos íntegros ou degenerados, inclusões bacterianas, etc). Se houver suspeita de microrganismos 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.
- Semeadura em meios adequados:
  - Meios de cultura para bactérias aeróbias: Ágar sangue, Ágar Mac Conkey - incubar a 35°C durante 18 a 24 horas, verificar crescimento bacteriano em ambas as placas; se negativo, incubar mais 24 hs; se positivo, identificar o(s) microrganismo(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; se positivo, proceder a identificação do microrganismo.
- Meios de cultura para bactérias anaeróbias estritas: Ágar infusão de cérebro coração ou Brucella Ágar acrescido de vitamina K e hemina - incubar a 35°C em jarra com gerador de anaerobiose durante 48 hs; verificar crescimento; se negativo, repicar a amostra do tioglicolato suplementado com hemina e vitamina K a cada 48 h até completar 7 dias; se positivo, proceder à identificação da bactéria. Pode-se semear em paralelo 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 diagnosticar a cultura como negativa.
- Se houver suspeita clínica de fungos, semear também em Ágar Sabouraud glicose; incubar a temperatura ambiente durante 4 semanas.

## 6. INFECÇÕES DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

---

### INTRODUÇÃO

O sistema nervoso central (SNC) compreende o cérebro e a medula, envolvendo ainda meninges, vasos sanguíneos, nervos cranianos e espinhais.

#### 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

#### Natureza dos processos infecciosos do SNC

- Bactérias
- Vírus
- Fungos
- Protozoários

#### 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

#### Principais causas de meningite aguda infecciosa

- Bacteriana: bacterioscopia positiva (Gram), cultura e/ou pesquisa de antígenos positiva. *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, Coriomeningite 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	actinomicose	citomegalovírus
cryptococose	blastomicose	enterovírus
histoplasmose	cisticercose	sarampo
candidíase	aspergilose	outras encefalites a vírus
sífilis	nocardiose	
brucelose	esquistossomose	
	toxoplasmose	

## Causas mais frequentes de encefalomielite

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

## DADOS EPIDEMIOLÓGICOS E ETIOLOGIA DE PROCESSOS INFECCIOSOS DO SNC

### Idade

- 0 a 4 semanas - *E. coli*, *S. agalactiae* (grupo B), *L. monocytogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus* spp. e *Herpes simplex virus 2*
- 4-12 semanas - *S. agalactiae*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *H. influenzae*
- 3 meses a 10 anos - vírus, pneumococo, *H. influenzae* e meningococo, enterovirus, herpes vírus 1.
- Adulto jovem - vírus e meningococo
- Adulto - pneumococo e meningococo
- Idosos - pneumococo, Gram negativos, *Listeria monocytogenes*.

### INFECÇÃO HOSPITALAR

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

## OUTROS DADOS EPIDEMIOLÓGICOS

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

<b>Otite média e mastoidite</b>	Estreptococos aeróbios e anaeróbios, <i>Bacteroides fragilis</i> , Enterobactérias
<b>Sinusite frontoetmoidal e sinusite esfenoidal</b>	<i>Streptococcus</i> spp., <i>Bacteroides</i> spp., Enterobactérias, <i>S. aureus</i> , <i>Haemophilus</i> spp.
<b>Sepse dental</b>	<i>Fusobacterium</i> spp., <i>Bacteroides</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp.
<b>Trauma craniano penetrante infecção pós-cirúrgica</b>	<i>Staphylococcus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp., Enterobactérias, <i>Clostridium</i> spp.
<b>Doença cardíaca congênita</b>	<i>Streptococcus</i> spp., <i>H. influenzae</i>

**Abscesso pulmonar, empiema e bronquiectasia**

*Fusobacterium* spp., *Actinomyces* spp., *Bacteroides* spp., *Streptococcus* spp, *Nocardia* spp

**Endocardite bacteriana**

*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp.

**Paciente imunocomprometido**

*Toxoplasma gondii*, Fungos, Enterobactérias, *Nocardia* spp.

## DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

### DADOS LABORATORIAIS RELEVANTES

- Gram do sedimento 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.
- 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 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 antibioticoterapia adequada.
- Tinta da china e calcofluor: detecta *Cryptococcus* ou presença de movimentos amebóides (amebas)
- Coloração de Ziehl Neelsen e auramina: micobactérias
- 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 este antígeno. Existem também testes baseados em coaglutinação de *Staphylococcus*, que tem uma sensibilidade um pouco inferior à aglutinação pelo látex. Estes testes vem 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.
- 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.

### 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). Obter qualquer amostra antes de iniciar uso de antimicrobianos.

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:

- 1-2 ml para Gram, pesquisa de antígenos e cultura (na falta de plantão de microbiologia pode ser semead a cultura [5 a 10 gotas] diretamente durante a punção para coleta do LCR, em tubos de ágar chocolate, previamente aquecidos a 35°C, preparados há menos de 30 dias); pode-se semear

um tubo com ágar sangue (base Mueller Hinton ou Ágar brucella) e um tubo com caldo tioglicolato caso haja suspeita de anaeróbios

- 2 ml para exame direto e cultura para fungos (se indicado)
- 2 ml para coloração de Ziehl e cultura para micobactérias (se indicado)
- 2-3 ml para provas virológicas (se indicado)

### **Exame da cultura**

- Durante 72 horas observe diariamente a presença de crescimento nas placas e tubos com ágar chocolate. Pode-se prolongar a incubação para o total de sete dias.
- No tubo com caldo deve ser observada turvação diariamente e descartado após 7 dias. Caso haja crescimento, fazer um Gram e semear em placa de ágar chocolate para isolamento, identificação e antibiograma.
- Em casos de hemófilos e neisserias fazer o teste da beta-lactamase com discos de nitrocefina (Cefinase)
- Se positivo, comunicar o médico imediatamente.
- Em caso de pneumococos, testar a penicilina usando discos de oxacilina 1 micrograma. Se halo para oxacilina  $\geq 20$ mm, a cepa é sensível à penicilina. Halo  $\leq 19$  mm encaminhar a cepa a um Laboratório de Referência ou fazer teste da Concentração Inibitória Mínima (CIM), podendo ser usado o E-test:
  - Penicilina  $\leq 0,06$  microgramos/ml = cepa sensível
  - Penicilina 0,12 a 1 microgramos/ml = cepa de sensibilidade intermediária.
  - Penicilina  $\geq 2,0$  microgramos/ml = cepa resistente

### **Interpretação do exame**

- Contagem de glóbulos brancos =  $> 1.200 \text{ mm}^3$  sugere meningite bacteriana (valores menores não excluem).
- Predomínio de mononucleares ( $< 50\%$  de neutrófilos) sugere meningite não bacteriana ou parcialmente tratada.
- Glicose  $< 30 \text{ mg}/100 \text{ ml}$  sugere meningite bacteriana, por micobactéria ou fúngica.
- Proteínas  $> 150 \text{ mg}/100 \text{ ml}$  sugere meningite bacteriana.
- Cloretos  $< 110 \text{ mEq}/\text{L}$  sugere meningite por tuberculose se afastada outra etiologia bacteriana. Atualmente pouco utilizado devido a disponibilidade de testes mais específicos.
- Lactato no LCR  $> 35 \text{ mg}/100 \text{ ml}$  é sugestivo de meningite bacteriana.

### **PESQUISA DE ANTÍGENOS**

Pode detectar a presença de microrganismos, mesmo na vigência de antibioticoterapia. Os testes detectam polissacarídes em suspensão, por isso deve-se usar o sobrenadante. Alguns testes solicitam prévia colocação da amostra para teste em banho-maria (fervente) por 5 minutos. Consulte e siga as orientações do produto adquirido.

- Colocar as gotas de látex no cartão, orientando-se conforme a indicação de cada teste.
- A seguir depositar uma gota do sobrenadante do LCR ao lado da gota de latex.
- Usar um bastão ou alça flambada para cada teste.
- Observar a aglutinação conforme padrão e no tempo descrito por cada fabricante.

Aglutinações que ocorrerem com mais de um anticorpo devem ser relatadas como indeterminadas ou não interpretável. Pode-se tentar diluir o LCR em salina 1:2 ou 1:4. Repetir os testes e observar os resultados.

### **Rotina de Plantão**

Se não for possível encaminhar ao Laboratório de Microbiologia (plantão de fim de semana) ou porque sua rotina é lenta, o LCR deve ser processado pelo laboratório de urgência (plantão) ou por médicos ou analistas treinados para os seguintes procedimentos:

- Colher 5 a 10 gotas do LCR diretamente da punção em 1 tubo de Ágar chocolate de preparação recente e previamente aquecido a  $35^\circ\text{C}$  ou:

- Centrifugar 1 a 2mL do LCR entre 2.500 a 3.000 rpm, por 15 minutos.
- Cuidadosamente, flambar a boca do tubo e em condições assépticas (fluxo laminar ou atrás de um bico de Bunsen), e, para os testes de aglutinação aspirar 0,5 a 1mL do sobrenadante com ponteira estéril (ou pipeta plástica estéril ou pipeta Pasteur com ponta fina de vidro, conectada a um bulbo de borracha ou pêra de aspiração). Deixar 0,5 a 1mL para cultura e Gram. Flambar novamente.
- Agitar no vortex o tubo com o resto do sobrenadante e sedimento. Em condições assépticas (vide acima), semear 3-4 gotas do material em placa de ágar-chocolate e, se disponível, também em placa de ágar-sangue e em tubo com caldo tioglicolato sem indicador.
- Colocar as placas e tubo na estufa entre 35 a 37°C, sendo a placa de Ágar chocolate em jarra com vela e umidade (CO<sub>2</sub> e umidade).
- Depositar 1 gota do material no centro de uma lâmina de vidro previamente desengordurada em álcool, para fazer o esfregaço.
  - no caso de amostras límpidas, pode-se depositar duas gotas e fazer esfregaço menos extenso, quando mais purulento, fazer esfregaço mais espalhado.
  - deixar secar e fixar rapidamente no calor
  - fazer a coloração de Gram e anotar o resultado

### PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS – ABCESSO CEREBRAL

#### **Abscesso Cerebral** (vide técnica para coleta de material)

- 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.
- Caso o Gram revele:
  - diplococos Gram negativos: sugestivo de *Neisseria* spp.
  - cocos Gram positivos em cachos agrupados: *Staphylococcus aureus* (ou coagulase neg.)
  - cocos Gram positivos em cadeias longas ou aos pares: *Streptococcus* (*S. pneumoniae* ou outros estreptococos aeróbios ou anaeróbios)
  - bacilos Gram positivos: *Listeria* spp., *Corynebacterium* spp. (contaminante ou em derivações), esporulados (*Bacillus* ou *Clostridium*).
  - suspeita de bacilo da tuberculose: fazer coloração de Ziehl-Neelsen ou auramina e se confirmado, semear em Lowenstein Jensen ou outro meio específico.
  - ramificados: *Actinomyces* ou *Nocardia* (fazer Ziehl Neelsen)
  - cocobacilo Gram negativo: hemófilos, *Brucella*, *Pasteurella* sp, etc.
  - *Acinetobacter* spp. (Infecção Hospitalar (IH) em derivações e próteses do SNC)
  - bacilo Gram negativo: enterobactérias, *Pseudomonas* spp. (IH)
  - Fungos: leveduriformes ou dimórficos.
    - Candida* - 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

## **7. INFECÇÕES SISTÊMICAS**

---

### **INTRODUÇÃO**

A presença de microrganismos viáveis no sangue do paciente pode levar a um considerável aumento da morbidade e da mortalidade. Devemos também lembrar que este fato representa uma das mais importantes complicações do processo infeccioso, o que torna a hemocultura um exame de significativo valor preditivo de infecção.

A maioria dos episódios sépticos é de origem hospitalar e, às vezes, resultado de microrganismos que apresentam grande resistência aos antimicrobianos, com uma mortalidade bem superior aos episódios que ocorrem na comunidade.

A invasão do sangue por microrganismos geralmente ocorre por um dos seguintes mecanismos:

1. Penetração a partir de um foco primário de infecção, através de vasos linfáticos e daí até o sangue.
2. Entrada direta na corrente sanguínea, via agulhas ou outros dispositivos vasculares, como catéteres.

A presença de bacteremia ou fungemia representa também uma falha nas defesas do hospedeiro em localizar e neutralizar uma determinada infecção em seu foco inicial, ou também numa eventual falha médica em remover ou drenar um foco infeccioso. Geralmente, num paciente imunocompetente, as defesas naturais respondem prontamente à presença de microrganismos estranhos. Esta eliminação pode ser menos eficiente quando os microrganismos são encapsulados, ou mais eficiente quando o paciente já apresenta anticorpos contra o organismo infectante. Existem também situações em que esta eliminação não é eficaz, como nos casos de infecções com focos intravasculares ou em endocardites.

Conceitualmente, ainda se classificam as bacteremias em transitória, intermitentes ou contínuas. A do tipo transitória, que em geral é rápida com duração de alguns minutos a poucas horas, é a mais comum e ocorre após uma manipulação de algum tecido infectado (abscessos e furúnculos), durante algum procedimento cirúrgico que envolve algum tecido contaminado ou colonizado (cavidade oral, cistoscopia, endoscopia) ou ocorre em algumas infecções agudas como pneumonia, meningite, artrite e osteomielite. Quando a bacteremia se manifesta, com intervalos variáveis de tempo (com o mesmo microrganismo) é denominada de intermitente. Geralmente este tipo de bacteremia ocorre em processos infecciosos relacionados a abscessos intra-abdominais, pneumonias e outras. A bacteremia contínua é característica da endocardite infecciosa e de outras infecções intravasculares.

As bacteremias na grande maioria das vezes são causadas por um único microrganismo, porém em algumas situações são de etiologia polimicrobiana.

Embora qualquer infecção localizada possa se disseminar para o sangue, a bacteremia e/ou fungemia geralmente são mais freqüentemente devidas à dispositivos intra-vasculares (catéteres), infecções abdominais, infecções dos tratos respiratório e urinário. Bacteremia e fungemia são termos que simplesmente identificam a presença de bactérias ou fungos no sangue. Sepsis é a presença de sintomas clínicos de infecção na presença ou não de hemocultura positiva.

### **FATORES DE RISCO PARA BACTEREMIA E FUNGEMIA**

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

### **MICRORGANISMOS FREQUENTEMENTE ENVOLVIDOS**



Destacam-se as prevalências de *S. aureus* e de *E. coli*, sendo que na última década nota-se um significativo aumento na incidência de casos devidos a estafilococos coagulase negativos, o que pode causar dificuldade na interpretação dos resultados microbiológicos, pois cerca de 85% destes isolamentos podem representar contaminação ao invés de uma bacteremia verdadeira.

Entre os agentes que na última década se tornaram prevalentes, destacam-se os enterococos, os fungos e as micobactérias relacionadas aos pacientes portadores do HIV. As bacteremias causadas por bactérias anaeróbias são muito raras. Em crianças, o perfil de microrganismos assemelha-se ao da população adulta (os microrganismos são similares aos que ocorrem na população adulta), mas há uma maior prevalência de bacteremias por estafilococos, e , principalmente, por *S. pneumoniae*, meningococos e hemófilos.

A identificação do microrganismo isolado fornece um valor preditivo importante.

- Alguns microrganismos em cerca de 90% dos casos sugerem uma infecção verdadeira como *S. aureus*, *E. coli* e outras enterobactérias, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. pneumoniae* e *Candida albicans*.
- Outros agentes como *Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp. e *Propionibacterium acnes*, raramente representam uma verdadeira bacteremia (menos de 5% dos casos são verdadeiros).
- Os *S. viridans*, Enterococos e *Staphylococcus* coagulase negativos representam em média respectivamente 38%, 78% e 15% de bacteremias verdadeiras.
- Considera-se aceitável um percentual entre 3 a 5% de hemoculturas contaminadas.

#### **Patógenos raros relacionados à imunossupressão causada por câncer ou leucemia**

- *Aeromonas hydrophila*
- *Bacillus* spp.
- *Campylobacter* spp.
- *Capnocytophaga* spp.
- *C. septicum*
- *Corynebacterium jeikeium*
- *L. monocytogenes*
- *Mycobacterium fortuitum/chelonei*
- *Rhodococcus equii*
- *S. typhimurium*
- *Streptococcus* do grupo G
- *Streptococcus bovis*

## **DIAGNÓSTICO EM HEMOCULTURAS**

### **NÚMERO DE AMOSTRAS**

Recomenda-se colher duas a três amostras por episódio de bacteremia ou sepse, que permite o isolamento do agente bacteriano ou fúngico em 95% dos eventos. Duas ou três amostras também representam volume de sangue adequado para o isolamento, também permitem interpretar pelo número de amostras positivas o provável contaminante do isolamento do agente etiológico. Um número maior de amostras traz pouco benefício, aumentando o custo, trabalho e depletando o paciente.

### **PROCEDIMENTOS E INTERVALO DE COLETA**

As amostras são coletadas por punção venosa, uma após a outra em locais diferentes, logo que inicie o pico febril ou a bacteremia. Preferencialmente não colher de cateter, exceto para diagnóstico de infecção ou colonização do cateter; colher uma a duas amostras periféricas e uma de cateter. Para adultos em cada punção coleta-se 8 a 10 ml de sangue em frascos para aeróbios ou opcionalmente a segunda ou terceira coleta em frasco para anaeróbios.

### **VOLUME DE SANGUE**

É uma das variáveis mais críticas para a positividade do exame. Quanto maior o volume coletado, maior será a positividade do mesmo. Temos que respeitar a idade do paciente (adulto ou criança) e o volume recomendado de acordo com os tipos de frascos aeróbios e anaeróbios utilizados na realização dos exames.

O volume recomendado para coleta de cada punção de adulto é de 20 a 30 ml, distribuídos pelo número de frascos indicados pela sua capacidade e respeitando a proporção de 1 ml de sangue para cada 10 ml ou no mínimo 5 ml de caldo.

Como as bacteremias em crianças tem cerca de 100 a 1000 bactérias/ml em comparação com < 1 a 10 bactérias/ml nos adultos, o volume pode ser menor (3 a 5ml), respeitando-se também a proporção de no mínimo 1:5 até 1:10 de sangue e meio de cultura ou orientação do fabricante.

### PROCEDIMENTOS POR METODOLOGIAS MANUAIS

- Embora amplamente utilizada por razões de custos, não é a metodologia mais indicada, por ser mais trabalhosa, além de favorecer a possibilidade de contaminação das amostras examinadas.
- Além do frasco contendo caldo BHI ou peptona de soja, o meio manual mais interessante inclui uma fase líquida e outra sólida, como o meio de Castañeda, permitindo a observação de crescimento na superfície do ágar.
- Um mínimo de sete dias de incubação e agitação moderada dos frascos são fatores importantes para uma maior positividade das amostras; pelo menos três subcultivos enriquecidos em ágar chocolate devem ser realizados durante este prazo. Tanto os frascos de hemocultura como os subcultivos, devem ser mantidos à temperatura de 36 a 37°C.
- O primeiro subcultivo pode ser feito após 24 horas de incubação, o segundo após 72 horas e o terceiro após uma semana.
- A grande maioria dos microrganismos é isolada nas primeiras 72 horas após a coleta do sangue. Em suspeitas diagnósticas de microrganismos de crescimento mais lento, períodos mais prolongados de incubação devem ser indicados. Comumente incuba-se à temperatura entre 35 a 37°C.
- A observação dos frascos pode ser feita diariamente, procurando-se evidências macroscópicas de crescimento de microrganismos como: hemólise, turbidez, produção de gás, bolhas, película de crescimento, grumos, etc.

### SISTEMAS AUTOMATIZADOS DE HEMOCULTURA

No intuito de se processar as hemoculturas de um modo mais eficiente, nos últimos anos alguns sistemas automatizados para a execução destes exames foram desenvolvidos.

O primeiro sistema comercial automatizado foi o Bactec modelo 460, que usa metodologia radiométrica (Becton Dickinson Microbiology Systems). Esta metodologia detectava o crescimento microbiano através da monitorização da concentração de CO<sub>2</sub> marcado com carbono 14 presente no frasco, medindo a liberação na atmosfera dos frascos devido ao metabolismo microbiano. O aparelho registrava um valor através da sua medição por um contador de radiação beta e anotava esse valor por um número conhecido como índice de crescimento. Atualmente essa metodologia está em uso praticamente somente para a detecção de micobactérias e também para realização de testes de avaliação de sensibilidade aos tuberculostáticos.

Atualmente existem no mercado diversos outros aparelhos automatizados para a realização de hemoculturas que apresentam grande vantagem em relação às metodologias manuais, principalmente no que se refere à rapidez dos resultados e diminuição do trabalho técnico. Geralmente os protocolos são de cinco dias, mas a grande maioria dos resultados positivos ocorre nas primeiras 48 horas. As metodologias utilizadas pelos novos aparelhos automatizados (Bactec 9120/9240, BacT/Alert 120/240, ESP 128/256/384 e Vital 200/300/400) são baseadas em métodos colorimétricos, fluorescentes ou de pressão.

Sistema Isolator ou lise centrifugação (Wampole Laboratories, Cranbury, NJ) é um tubo especial que contém saponina como agente lisante para células brancas e vermelhas, propilenoglicol com substância anti-espuma, polianetol sulfonato de sódio (SPS) e EDTA como anticoagulantes, e um líquido fluoroquímico inerte para concentrar os microrganismos durante a centrifugação. Para realização da técnica é necessária uma observação criteriosa dos procedimentos técnicos recomendados pelo fabricante, utilizando para isso os reagentes, o material e o equipamento apropriado (incluindo centrífuga especial). Indicado para cultivo de fungos dimórficos, leveduras e outras bactérias incluindo fastidiosas.

Inúmeros trabalhos mostram as vantagens destas metodologias e a opção da escolha do equipamento em geral é mais relacionada ao custo do equipamento e/ou de seus frascos de consumo. Algumas vantagens dessa metodologia são:

- Maior rapidez para positividade da amostra (agitação)
- Continuo monitoramento da amostra pelos sistemas totalmente automatizados
- Menor risco de contaminação laboratorial, pois só faz-se repique das amostras positivas

- Não é necessário repicar amostra negativa
- Economia de tempo, material (agulha e seringa) e menor risco de manipulação.

A principal desvantagem é o maior custo.

## MEIOS DE CULTURA

Atualmente os laboratórios que ainda utilizam metodologias manuais, em sua grande maioria utilizam meios de cultura comerciais, aeróbios e anaeróbios, para a realização de hemoculturas. Trata-se geralmente de caldo infusão cerebro-coração (BHI) ou caldo caseína digerida da soja, para aeróbios e facultativos e leveduras e caldo Columbia para anaeróbios que devem favorecer o crescimento da maioria dos microrganismos, inclusive dos considerados fastidiosos.

A maioria destes meios tem na sua composição o anticoagulante SPS (0,025 a 0,05%), o qual apresenta ação inibidora para lisozimas, apresenta 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 apresentar certa ação inibidora para o isolamento de determinados microrganismos, como por exemplo, *N. meningitidis*, *N. gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Peptostreptococcus* spp., *Moraxella catarrhalis* e outros. Daí a recomendação de se 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.

Para os laboratórios que dispõem de metodologias automatizadas, há possibilidade do uso de meios de cultura com resinas que apresentam ação inibitória para antimicrobianos, útil 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 estritos 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.

Não há evidências que indiquem o uso rotineiro de frascos de hemocultura para anaeróbios, associados aos frascos para aeróbios, exceto se este for o objetivo principal ou em patologias freqüentemente associadas aos anaeróbios como processos infecciosos pélvicos, sepse de origem abdominal, etc. Em geral os meios para aeróbios suportam o crescimento dos anaeróbios mais comuns e a incubação não necessita ser superior a 7 dias.

Para fungos filamentosos a temperatura melhor é entre 27 a 30°C, podendo crescer também à 37°C. Para leveduras 5 a 7 dias à 35°C pode ser suficiente, enquanto que para fungos dimórficos (*Histoplasma*, *Paracoccidioides*) pode ser necessário 4 a 6 semanas, sendo o caldo BHI o melhor. Pacientes com infecção avançada pelo HIV tem risco elevado de infecções por *M. tuberculosis* e pelo complexo *Mycobacterium avium*, podendo também apresentar bacteremia, bem como outros imunossuprimidos. A inoculação do sangue concentrado pode ser feita em Ágar Lowenstein-Jensen ou Middlebrook 7H11 ou usar os frascos específicos para *Mycobacterium* de sistemas automatizados como Bactec. A concentração pode ser feita pelo sistema Isolator (lise-centrifugação).

## INFECÇÃO RELACIONADA A CATETER VASCULAR

Cateteres intravenosos são importantes fontes de bacteremia e fungemia, assim como complicações infecciosas no local da inserção. Quando existe suspeita de infecção relacionada ao cateter, as secreções do local de inserção e a ponta do cateter podem ser cultivadas.

### CULTURA SEMI-QUANTITATIVA DA SUPERFÍCIE DO CATETER (MÉTODO DE MAKI)

É o método mais utilizado para determinar a relação entre colonização do cateter e infecção. Os mesmos cuidados de inserção devem ser adotados na retirada do cateter. A pele em volta deve ser cuidadosamente desinfetada com solução de iodo ou PVPI, e o excesso removido com álcool a 70%. Um segmento distal (que estava inserido na veia do paciente), de aproximadamente 5 cm do cateter é assepticamente cortado com auxílio de tesoura estéril, colocado em um frasco estéril seco, e remetido em um prazo mínimo ao laboratório. O segmento do cateter é rolado (evitar esfregar) 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 37°C, é realizada uma análise quantitativa e a detecção de 15 ou mais colônias é correlacionada com o fato do cateter constituir a fonte de infecção. Técnicas quantitativas pareadas ou não com hemocultura periférica são mais específicas que as técnicas semi-quantitativas.

### **TÉCNICAS QUANTITATIVAS**

Segmento de cateter (lumen e/ou superfície externa)

- Cultura do lumen: o lumen do cateter pode ser cultivado injetando-se salina no seu interior com uma agulha.
- Cultura da superfície externa: agita-se no mixer o segmento do cateter em salina. Faz-se cultura quantitativa (semeia-se 100 µl do lavado em Ágar sangue). É considerado significativo quando a contagem for  $\geq 10^2$  UFC pelo segmento de cateter analisado.

### **AMOSTRAS PAREADAS DE SANGUE**

Para diagnóstico de infecção relacionada a cateter (IRC), colher amostras pareadas: periférica e cateter. Utilizam-se volumes iguais de sangue colhido das duas vias e semeia-se pela técnica do pour plate. O exame quantitativo significativo para infecção do cateter deve revelar de 5 a 10x mais bactérias por ml no sangue obtido do cateter do que na amostra periférica.

## 8. INFECÇÕES GENITAIS

### INTRODUÇÃO

Os microrganismos 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* e leveduras.

A uretra masculina normalmente contém relativamente poucos microrganismos encontrados na pele, tais como: estafilococos, micrococos, corynebactérias e estreptococos alfa hemolíticos.

Muitas infecções do trato genital feminino têm origem em microrganismos endógenos. A patogenicidade deles pode ser facilitada por fatores do hospedeiro, como por infecções primárias causadas por outros microrganismos 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*.

O Laboratório de Microbiologia deve estar capacitado para detectar os principais agentes das doenças sexualmente transmissíveis: *Neisseria gonorrhoeae*, *Treponema pallidum*, *Haemophilus ducreyi*, *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum* e *Mycoplasma hominis*.

### PRINCIPAIS SÍNDROMES INFECCIOSAS DO TRATO GENITAL

<b>Vaginite Infecciosa</b>	candidíase vulvo-vaginal · tricomoníase
<b>Vaginose bacteriana (polimicrobiana)</b>	<i>Gardnerella vaginalis</i> <i>Mobiluncus</i> spp <i>Mycoplasma hominis</i> Anaeróbios ( <i>Bacteroides</i> não fragilis, <i>Peptococcus</i> spp)
<b>Vulvo-vaginites em crianças</b>	Enterobacteriaceae <i>Streptococcus pyogenes</i> outros beta-hemolíticos
<b>Vaginite não-infecciosa</b>	irritantes químicos ou outros; alergia, hipersensibilidade e dermatite de contato; vaginite traumática; vaginite atrófica; vaginite atrófica pós-puerperal; doença vascular do colágeno; vaginite idiopática

Menos comuns:

- vaginite atrófica com infecção bacteriana secundária
- corpo estranho com infecção secundária
- vaginite inflamatória descamativa
- vaginite ulcerativa associada com *S. aureus* (síndrome do choque tóxico)

### CANDIDÍASE VULVO-VAGINAL

Os dados epidemiológicos da vulvovaginite por *Cândida* são incompletos. A candidíase vulvovaginal é rara em mulheres antes da menarca. Em mulheres até os 25 anos, pelo menos um episódio de candidíase é freqüentemente encontrado. Nas mulheres na pré-menopausa, em pelo menos 75% delas, observa-se um episódio de candidíase vulvovaginal. Nas mulheres pós-menopausa, a incidência é mais rara. Parece que o mecanismo imune local da vagina é responsável pela freqüência dos episódios e a susceptibilidade é associada a uma condição de mucosa não-secretora, o que facilitaria a implantação da levedura.

A candidíase vulvovaginal não é tradicionalmente considerada como doença sexualmente transmitida, pois ocorre em mulheres celibatárias e a *Candida* spp. também faz parte da microbiota vaginal normal. Episódio individual de candidíase vulvovaginal parece não estar relacionado à faixa etária nem ao número de parceiros ou freqüência de relações sexuais.

A candidíase vulvovaginal recorrente é definida como quatro ou mais episódios da infecção por ano e ocorre em menos de 5% de mulheres saudáveis. Entretanto ela é importante em pacientes diabéticas não controladas e nas que fazem uso de drogas imunossupressoras.

A *Candida albicans* é a responsável por 80-92% dos episódios de candidíase vulvo-vaginal. Mais recentemente outras espécies como *Candida (Torulopsis) glabrata* e *Candida krusei* também foram consideradas patogênicas.

### FATORES PREDISPONENTES

Incluem gravidez, diabetes, antimicrobianos de amplo espectro e contraceptivo oral com altas taxas de estrogênios.

### 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).
- 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.

### TRICOMONÍASE

A *Trichomonas vaginalis* afeta aproximadamente 180 milhões de mulheres em todo o mundo. Em muitos países industrializados a prevalência da tricomoníase tem diminuído. A *Trichomonas vaginalis* é identificada em 30-40% dos homens, parceiros sexuais de mulheres infectadas. Ela também está associada com outras doenças sexualmente transmitidas. 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.

### 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 estas 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 freqüentemente 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

## VAGINOSE BACTERIANA

É a mais frequente causa de vaginite em mulheres sexualmente ativas. Além da *Gardnerella vaginalis* outras bactérias estão envolvidas, tais como: *Mobiluncus* spp., *Bacteroides* spp. e *Mycoplasma hominis*.

Vários estudos têm demonstrado um aumento de 2 a 7% na taxa de risco de nascimentos prematuros em mulheres com vaginose bacteriana. A vaginose bacteriana representa uma mudança complexa na microbiota vaginal, caracterizada pela redução na prevalência e concentração de lactobacilos produtores de peróxido de hidrogênio e um aumento na prevalência e concentração de *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus* spp., *Mycoplasma hominis*, bacilos Gram negativos anaeróbios principalmente dos gêneros *Prevotella*, *Porphyromonas* e *Bacteroides*.

A transmissibilidade da vaginose bacteriana foi demonstrada por Gardner e Dukes (1955) e a doença pode ser considerada uma DST. A transmissão não é suficiente para explicar todos os casos, pois o microrganismo é encontrado normalmente em algumas mulheres sadias e também em jovens sem atividade sexual. Os fatores de risco para vaginose bacteriana incluem o uso de dispositivo intrauterino e gravidez.

### DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

Os critérios para se estabelecer o diagnóstico de vaginose bacteriana são simples e podem ser usados na clínica e no Laboratório com bastante sucesso. A presença de "clue cells", células escamosas do epitélio vaginal cobertas com bactérias de modo que os bordos da célula perdem a definição, é o achado de melhor valor preditivo de vaginose bacteriana. O exame pelo Gram de secreção vaginal é o método de escolha para visualização de "clue cells" com sensibilidade de 93% e especificidade de 70%.

A cultura para *G. vaginalis* é positiva em todos os casos de vaginose bacteriana, e pode ser detectada em 50-60% de mulheres sadias assintomáticas. Desta maneira a cultura vaginal, isoladamente, não deve fazer parte do diagnóstico de vaginose bacteriana. O uso de metodologia de sondas de DNA, possui sensibilidade e especificidade semelhantes à cultura, mas o seu custo é muito elevado.

No diagnóstico laboratorial os seguintes testes são freqüentemente utilizados:

- pH vaginal > 4,5; odor desagradável após a adição de KOH 10% à secreção
- Bacterioscópico pelo Gram: ausência ou diminuição de leucócitos e de lactobacilo, presença de "clue-cells", grande quantidade de bacilos Gram-variáveis (lábeis)
- Cultura: isolamento em meio seletivo (ágar vaginalis)
- Pesquisa pelo uso de metodologia de sondas de DNA

### Incidência relativa de vaginite/vaginose em mulheres com sintomas

	Vaginose bacteriana	Candidíase	Trichomoníase
<b>Incidência relativa</b>	35% a 50%	20% a 25%	5% a 15%
<b>Fatores demográficos</b>	População dependente: - 20%: clínicas de planejamento familiar. - 35%: clínicas de DST - 10-30%: em mulheres grávidas	Fatores de risco: diabetes, gravidez, contraceptivo oral, baixa imunidade.	Transmitida sexualmente, alta incidência com outras DST.

### Incidência de co-infecção nas vaginites/vaginoses

Tipos de vaginites	Patógenos Associados	Incidência de co-infecção
Vaginose bacteriana	<i>Gardnerella vaginalis</i> , <i>Prevotella</i> spp., <i>Bacteróides</i> spp., <i>Mycoplasma hominis</i> , <i>Mobiluncus</i> spp.	- 5 a 10% com leveduras - > 15 % com <i>Trichomonas</i> também com <i>Chlamydia trachomatis</i> e <i>Neisseria gonorrhoeae</i>

Candidíase	<i>Candida</i> spp.	- 15 a 25% com vaginose bacteriana - > 15% com <i>Trichomonas</i>
Tricomoníase	<i>Trichomonas vaginalis</i>	- > 10% com vaginose bacteriana - > 15% com leveduras também com <i>Chlamydia trachomatis</i> e <i>Neisseria gonorrhoeae</i>

## INFECÇÃO GONOCÓCICA

A gonorréia é uma doença antiga e o agente, *Neisseria gonorrhoeae*, foi descrito por Neisser em 1879. Apesar de ser uma doença bem documentada de longa data, continua sendo de difícil controle. O sucesso e a persistência histórica do gonococo como patógeno amplamente distribuído se deve 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. A orofaringe do reto e a conjuntiva podem também ser primariamente infectadas. As infecções causadas por *Neisseria gonorrhoeae* na mulher incluem uretrite, cervicite, podendo invadir as glândulas de Bartholin e de Skene. A partir destas 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 neonatorum 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 mucóide, 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.

### 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 doenças sexualmente transmissíveis (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 esta resposta o IgA contra as proteínas da superfície bacteriana. Por que então estas 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.

### 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 freqüente 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, aumentam 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 revalência 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.

### 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.

### 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 nestas amostras, o gonococo se encontra na forma L, desprovida de parede celular e não cresce nos meios habituais. A não observância dessas recomendações implica na 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 neste caso é de apenas 50%, quando comparado à cultura.
- 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 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 heterossexual	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

## INFECÇÕES 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, desta 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 microrganismo em adultos jovens e ativos sexualmente. Estes estudos relatam taxas de prevalência na faixa de 5% a 20% entre mulheres que freqüentam clínicas de planejamento familiar; freqüências mais altas de 20-40% foram notadas entre mulheres e jovens adolescentes sexualmente ativas que freqüentavam 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 freqüentemente com a gonorréia. Nos Estados Unidos e regiões da Europa, 35-50% das mulheres com gonorréia apresentam infecção simultânea por clamídia; além disto, 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 freqüente 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. As infecções do trato genital superior causam esterilidade ou predisõem à gravidez ectópica. As complicações na mulher são as mais graves de todas que ocorrem com doenças por clamídias. Além disso, na mulher, o risco é duplo, para ela e para seu recém-nascido.

### 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, que tem sensibilidade no máximo de 80-90%. Embora as culturas sirvam como “padrão ouro”, elas são tecnicamente complicadas e demoradas.

O transporte de amostras laboratoriais para cultura requer meios especiais e temperaturas específicas de estocagem. Por outro lado, 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 cair, atualmente já se encontrando próximo ao da cultura. A amostra adequada deve ser coletada da forma tradicional com swab ou escova endocervical. O exame pode ser realizado à partir de urina de primeiro jato o que pode reduzir sua sensibilidade no diagnóstico da cervicite, endometrite e salpingite.

Os testes moleculares são mais complexos e mais caros que do que outros anteriormente utilizados, mas produzem resultados rápidos (horas ao invés de dias) e, pela primeira vez, espécimes podem ser coletados sem a introdução de swabs ou escovas no canal endocervical ou na uretra, pois sua sensibilidade permite também encontrar traços do microrganismo em amostras de urina.

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.
- 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>	Positivos 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

#### INFECÇÕES 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 discutível. Ele tem sido associado à ocorrência de doenças pulmonares em prematuros com baixo peso que

contraíram o microrganismo durante o nascimento. Existe evidência de associação entre o *Ureaplasma urealyticum* e infertilidade.

### 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 desta bactéria.

Como fazem parte da microbiota genital normal, as culturas para seu isolamento necessitam ser quantitativas. Títulos iguais ou superiores a  $10^3$  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 freqüentemente 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. Títulos iguais ou maiores que  $10^3$  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.

### OUTRAS INFECÇÕES GENITAIS E SEUS PATÓGENOS

<b>Amnionite</b>	<i>Streptococcus agalactiae</i> (grupo B) principal patógeno, <i>Capnocytophaga</i> spp., <i>E. coli</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Haemophilus</i> spp., <i>Streptococcus pyogenes</i>
<b>Bartolinite</b>	<i>N. gonorrhoeae</i> , <i>U. urealyticum</i> , Enterobacterias. Agentes mais raramente relacionados: Anaeróbios, <i>C. trachomatis</i> , <i>S. aureus</i> .
<b>Endometrite/salpingite</b>	<i>Bacteroides</i> spp., <i>C. trachomatis</i> , <i>N. gonorrhoeae</i> (importante em salpingite), <i>Enterococcus</i> spp., <i>S. agalactiae</i> , Enterobactérias, <i>L. monocytogenes</i> , <i>Actinomyces</i> spp. (associado ao uso de DIU)
<b>Epididimite/orquite</b>	<i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>N. gonorrhoeae</i> , Enterobacterias, <i>Pseudomonas</i> spp.
<b>Prostatite</b>	<i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , Enterobactérias, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Enterococcus</i> spp., <i>S. aureus</i> (abscesso)
<b>Úlceras genitais</b>	Cancro mole - <i>Haemophilus ducreyi</i> Cancro duro - <i>Treponema pallidum</i> (sífilis) Herpes genital - <i>Herpes simplex</i> vírus.
<b>Uretrites e cervicites</b>	<i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>N. gonorrhoeae</i> , <i>Herpes simplex</i> virus, <i>Mycoplasma hominis</i> , <i>Ureaplasma urealyticum</i> , <i>Haemophilus</i> spp. (no homem).

## 9. INFECÇÕES DO TRATO RESPIRATÓRIO SUPERIOR

### INTRODUÇÃO

A maioria das infecções de vias aéreas superiores são autolimitadas, de etiologia viral, porém outras são provocadas por bactérias e exigem tratamento antimicrobiano. Serão consideradas IVAS (infecções de vias aéreas superiores) infecções da laringe, nasofaringe, orofaringe, nariz, seios paranasais e ouvido médio. Como muitas vezes são indistinguíveis clinicamente, o diagnóstico laboratorial é fundamental.

A identificação de uma bactéria patogênica ou potencialmente patogênica não necessariamente indica seu envolvimento na infecção, pois estes microrganismos podem também ser detectados em portadores como é o exemplo do *Haemophilus influenzae*. Desse modo, o conhecimento da flora 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., 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 flora de 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.

### QUADRO CLÍNICO, AGENTES ETIOLÓGICOS E DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

<b>Faringite *</b>	<p>O agente mais freqüente de faringite bacteriana é o <i>Streptococcus pyogenes</i>. Em pacientes hospitalizados o trato respiratório superior pode ser colonizado por <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, <i>Acinetobacter</i> spp., <i>Klebsiella pneumoniae</i> e outras enterobactérias. Esses microrganismos 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.</p> <p>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, sendo o diagnóstico sorológico ou através de provas moleculares.</p>
<b>Laringite e Epiglotite</b>	<p>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. A epiglotite, também chamada de "crupe", geralmente tem etiologia bacteriana (<i>Haemophilus influenzae</i> tipo B). Mas a coleta com "swab" diretamente da epiglote é contra-indicada por duas razões: em primeiro lugar, a manipulação ou irritação da epiglote edemaciada pode provocar quadro de obstrução; em segundo lugar, o isolamento de <i>H. influenzae</i> b pode não ocorrer.</p> <p>O diagnóstico é fundamentalmente clínico, porém hemoculturas (&gt; 50% dos casos são bacterêmicos) podem confirmar a etiologia. O meio de cultura deve ser enriquecido com fatores X e V ou adicionado de sangue de cavalo aquecido, sendo importante realizar teste de suscetibilidade com pesquisa de beta lactamases.</p>
<b>Sinusites</b>	<p>Os seios paranasais comunicam-se com a cavidade nasal, sendo então susceptíveis a infecções por microrganismos 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.</p> <p>Os microrganismos mais comumente identificados são <i>Streptococcus pneumoniae</i>, <i>Haemophilus influenzae</i> não b, anaeróbios estritos, <i>Streptococcus</i> spp., e <i>Branhamella catarrhalis</i>. Em sinusites de origem intra-hospitalar, os agentes mais freqüentes são: <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, e fungos como <i>Candida</i> spp.</p>

<b>Otitis</b>	<p><b>Otite Média:</b> infecção do ouvido médio, geralmente acomete crianças entre 3 meses e 3 anos de idade. O diagnóstico etiológico só pode ser feito através de cultura do fluido do ouvido médio, mas como a obtenção deste material implica em realização de timpanocentese, não é realizado a não ser que haja indicação clínica de drenagem. Os agentes mais comumente isolados são <i>Streptococcus pneumoniae</i>, <i>Haemophilus influenzae</i> e <i>Streptococcus pyogenes</i>.</p> <p>Otite Externa: infecção do canal auditivo externo, geralmente causada por <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, <i>Proteus</i> spp. e <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>
<b>Nasofaringe e Mucosa Nasal</b>	<p><b>Nasofaringe:</b> o material coletado para diagnóstico da infecção deve ser aspirado através do nariz; utilizado para o diagnóstico de coqueluche, 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 zaragatoa de arame, e semeado imediatamente em meios adequados.</p> <p><b>Nariz:</b> 20 a 25% dos indivíduos sadios são portadores de <i>Staphylococcus aureus</i> no nariz, e no ambiente hospitalar esta taxa pode aumentar. Alguns autores associam a colonização nasal por este microrganismo com o aumento do risco de infecção hospitalar em pacientes submetidos a cirurgias (cardíaca, por exemplo) e a programas de diálise peritoneal contínua (CADP). Nestes casos de risco, colher material das narinas para pesquisa de <i>Staphylococcus aureus</i>, com teste de susceptibilidade à mupirocina (antibiótico de uso tópico utilizado para erradicação do microrganismo da mucosa nasal).</p>
<b>Candidíase oral</b>	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.

Os meios de cultura mais utilizados para semeadura, de materiais obtidos das vias aéreas superiores são o Ágar Chocolate (com sangue de cavalo) e Ágar Sangue incubados em atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub>, e Ágar Mac Conkey. Na rotina não se recomenda fazer enriquecimento, nem fazer uso de meios seletivos. Na suspeita de infecções por anaeróbios usar meios e condições apropriadas para o cultivo destas bactérias.

Para cultura do bacilo diftérico é recomendável encaminhar a Laboratório de Saúde Pública. O meio seletivo é o meio de Ágar Sangue cistina-telurito. O bacilo também cresce em Ágar Sangue, sendo opcional fazer enriquecimento em Ágar Loeffler azul de metileno.

**\* Principais agentes etiológicos de faringites**

<b>Agente</b>	<b>Manifestação clínica</b>	<b>Estimativa de casos (%)</b>
Rhinovirus	Resfriado	20
Coronavírus	Resfriado	5
Adenovirus	Doença respiratória aguda ou febre faringo-conjuntival	5
<i>Herpes simplex vírus</i>	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
<i>Streptococcus</i> beta hemolítico do grupo C	Faringite e amigdalite	5
<i>C. diphtheriae</i>	Difteria	raramente
<i>Neisseriae gonorrhoeae</i>	Faringite	raramente
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	Faringite	raramente
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Faringite, pneumonia	raramente

## 10. INFECÇÕES DO TRATO RESPIRATÓRIO INFERIOR

### PNEUMONIA DA COMUNIDADE

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% das pneumonias adquiridas na comunidade não revelam nenhum agente entre os mais freqüentemente pesquisados e isoladas, ficando apenas com diagnóstico clínico ou de imagem.

#### Agentes mais isolados em pneumonias da comunidade

Agente	Prevalência (%)	Principais sintomas	Fatores predisponentes
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	20-60	Respiratórios: - tosse	- doença pulmonar obstrutiva crônica
<i>Haemophilus influenzae</i>	3-10	- expectoração	- diabetes
<i>Staphylococcus aureus</i>	3-5	- dispnéia	- alcoolismo
Anaeróbios da cavidade oral	6-10	- dor torácica	- crises convulsivas
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1-3	Gerais: - febre	- insuficiência cardíaca congestiva
Outros Gram negativos	3-10	- mal-estar	- anemia falciforme
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	5-17	- mialgia	- imunossupressão
<i>Legionella pneumophila</i>	2-8	- sudorese	- idade avançada
Vírus respiratórios	2-15	- fadiga	- doença respiratória prévia (em geral viral)
		- cefaléia	- ventilação mecânica
		- náuseas	- etc
		- etc	

As amplas variações ocorrem em diferentes populações e outros 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.

Existe uma interessante associação entre fatores predisponentes e agentes etiológicos que podem facilitar a pesquisa ou interpretação de achados microbiológicos.

#### Associação entre fatores predisponentes e agentes etiológicos

Fator	Agente Etiológico	Fator	Agente Etiológico
Alcoolismo	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , Anaeróbios, Enterobactérias	Exposição a animais da área rural ou gata recém-parida	<i>Coxiella burnetii</i> (febre Q - áreas endêmicas)
Doença obstrutiva pulmonar crônica e fumante	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i> , <i>Legionella</i> spp.	Infecção por HIV precoce	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Asilos e outras comunidades de assistência	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , Enterobactérias, <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>S. aureus</i> , Anaeróbios, <i>Chlamydia pneumoniae</i>	Viagem ao sudeste norte-americano	<i>Coccidioides immitis</i>

Má higiene dentária	Anaeróbios	Surtos de gripe	Influenzavirus, <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> (A), <i>Haemophilus influenzae</i>
Exposição a pombos ou fezes	<i>Histoplasma capsulatum</i> (Histoplamose)	Pneumonia de aspiração	Anaeróbios e pneumonia química
Exposição a pássaros	<i>Chlamydia psitaci</i> (Psitarcose)	Doença pulmonar crônica, fibrose cística ou bronquiectasia	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Burkholderia cepacia</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>
Exposição a coelhos	<i>Francisella tularensis</i> (Tularemia)	Usuário de drogas	<i>S. aureus</i> , Anaeróbios, <i>Mycobacterium tuberculosis</i>

### 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, Citomegalovírus, <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, adenovírus, rinovírus, <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>

### 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
<i>Pasteurella multocida</i>	Cães e gatos contaminados
Tifo murino ( <i>Yersinia pestis</i> )	Ratos, esquilos, coelhos e outros roedores silvestres
<i>Hantavirus</i>	Urina, fezes e saliva de roedores silvestres

## PNEUMONIA HOSPITALAR

Considerando-se as diferentes topografias associadas às infecções hospitalares, as localizadas no trato respiratório inferior, têm grande importância pela frequência em que ocorrem e pela morbidade associada. Estas 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 da literatura, ocorre entre 6 a 10 casos a cada 1000 admissões hospitalares.



Entre as pneumonias, aquelas associadas com ventilação mecânica através de entubação orotraqueal ou traqueostomia, são as mais frequentes. 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 hospitalares, a infecção pulmonar é a que leva a morte com maior frequência, com um risco maior na Unidade de Terapia Intensiva. A prevalência de pneumonias varia entre 10 e 65%, com 13 a 55% de casos fatais. Neste 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.

De uma maneira geral os microrganismos podem alcançar o trato respiratório pela aspiração de secreções da orofaringe, pela inalação de aerossóis contendo bactérias, pela translocação de microrganismos do trato gastrointestinal ou pela 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 microrganismo altamente virulento.

Os agentes mais frequentemente isolados são:

- Bacilos Gram negativos
- Enterobactérias: *Klebsiella* spp., *E. coli*, *Enterobacter* spp.
- Bacilos Gram negativos não fermentadores: *P. aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* e outras espécies, 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*.

#### Patógenos isolados em 4.389 pneumonias em UTI nos Estados Unidos 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

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 traqueobrônquica purulenta.

Muitos destes 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 extra-pulmonar.

O mesmo ocorre com a congestão, presente em embolia pulmonar, atelectasia, insuficiência cardíaca, hemorragia pulmonar, trauma pulmonar, tumor, aspiração química e reação à drogas.

## DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DAS PNEUMONIAS

### RECURSOS DIAGNÓSTICOS

- Exame físico
- Exame do escarro
- Aspirado transtraqueal
- Broncoscopia com fibra óptica e lavado bronco-alveolar
- Aspirado endotraqueal cego
- Biópsia pulmonar
- Hemocultura (1 a 16% de positividade)
- Exames imunológicos (imunofluorescência, ELISA, etc.)
- Punção de derrame pleural para realização de exames bioquímicos, citológicos e microbiológicos.
- Raio X simples (AP + perfil)
- Tomografia computadorizada

O diagnóstico das infecções do trato respiratório inferior, do ponto de vista microbiológico, é dificultado pela contaminação da amostra, em nível do trato respiratório superior, durante a coleta.

### 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	

### ESCARRO

Apesar de poder 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 desta secreção é bastante controversa do ponto de vista de sensibilidade e especificidade.

Aspectos da análise macroscópica do escarro que 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 pneumonia*
- Escarro fétido associado a pneumonia aspirativa - anaeróbios

### Bacterioscopia

A bacterioscopia do escarro pela coloração de Gram é um recurso simples, rápido e barato, podendo ser muito útil para orientação terapêutica quando são atendidos os seguintes itens:

- Um material purulento e representativo é analisado;
- Os analistas são experientes;
- Informações clínicas e/ou o clínico participam da interpretação;

- Os achados são bem definidos, como por exemplo, o predomínio ou presença de mais de 10 cocobacilos Gram positivos em forma de chama de vela, característicos de pneumococo em imersão (X1000) - a especificidade nesse caso é de 85%.

Algumas medidas relacionadas à coleta e processamento da amostra podem tornar os resultados obtidos com este espécime de maior utilidade. 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 a porção mais purulenta para análise. A coleta por um período de 24 horas é inadequada, já que durante o dia passa a ocorrer diluição da amostra, morte de alguns agentes fastidiosos, e em contrapartida, o crescimento bacteriano de outros microrganismos.

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, o mesmo podendo ocorrer com pneumonias por *Haemophylus*. A presença de enterobactérias em culturas de escarro deve ser interpretada com muita cautela, pois em cerca de 1/3 das culturas estas bactérias provenientes da orofaringe podem contaminar o material obtido para análise. A avaliação da qualidade do escarro, 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 amostra ou não.

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 abaixo. São significativos os materiais do grupo 5 ou quando a quantidade de células epiteliais, neutrófilos e muco resultarem em somatória positiva. Recomenda-se que escarros não qualificados, não sejam semeados e que o fato seja reportado ao requisitante do exame.

#### Avaliação da qualidade do escarro

Grupos	Células epiteliais	Leucócitos	Neutrófilos	"Score"	Células Epiteliais	"Score"
Grupo 1	≥ 25	≤ 10	< 10	0	10-25	-1
Grupo 2	≥ 25	10-25	10-25	+1	> 25	-2
Grupo 3	≥ 25	≥ 25	> 25	+2		
Grupo 4	10-25	≥ 25	Muco	+1		
Grupo 5	<10	≥ 25				

No caso da necessidade do processamento da amostra nestas condições, é recomendável uma observação no laudo final do exame, dizendo que o material coletado está contaminado com material de orofaringe. Faz-se exceção a esta regra, escarro com o objetivo de diagnosticar presença de micobactérias, vírus, fungos (*Paracoccidioidis brasiliensis*, *Histoplasma* spp., etc.) e aqueles provenientes de pacientes imunodeprimidos.

- *Pneumocistis carinii* - para diagnóstico de pneumonia por *Pneumocistis carinii* 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 apresentam uma sensibilidade de 80% e especificidade de 90%.

- *Legionella pneumophila* - para diagnóstico de legionelose (*Legionella pneumophila*) o escarro ou outros materiais, obtidos por vias invasivas ou não, podem ser úteis no diagnóstico pela imunofluorescência direta com anticorpos monoclonais.
- *Chlamydia pneumoniae* - os recursos imunológicos para teste no escarro (Elisa e imunofluorescência) oferecem baixa sensibilidade e especificidade para caracterização da pneumonia por *Chlamydia pneumoniae*. Quando agentes como *Mycobacterium tuberculosis*, *Legionella* spp., e *Pneumocystis carinii* são encontrados no escarro, devem ser considerados patogênicos, independente da avaliação de qualidade do escarro.

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).

Indicação de outras técnicas para obtenção de material para diagnóstico de pneumonia:

- má resposta terapêutica
- gravidade do quadro ou paciente imunossuprimido
- falta de produção de escarro
- exames realizados não foram conclusivos (não isolou nada ou isolou enterobactérias, ou *Candida* ou mais de um agente)
- possibilidade de superinfecção

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, enquanto as não broncoscópicas podem ser realizadas mais rapidamente com menor risco de desaturação de oxigênio.

### **ASPIRADO DE SECREÇÃO TRAQUEAL**

Apesar de aspirados de secreção traqueal serem rapidamente obtidos em pacientes entubados, esta é uma amostra bastante questionável, devido a sua baixa especificidade. Isto se deve ao fato de que a colonização endotraqueal ocorre rapidamente após a intubação e ventilação mecânica.

A utilização de técnicas quantitativas de aspirados endotraqueais feito às cegas, com o objetivo de diferenciar colonização de infecção com valores de corte de  $> 10^5$  UFC/ml, é proposto 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 não há unanimidade.

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.

### **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 número de resultados falso-positivos, pelo isolamento de flora colonizadora do trato respiratório superior.

### **LAVADO BRÔNQUICO NÃO DIRIGIDO**

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

No estudo que levou estas a 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 antibioticoterapia, em contraste com aqueles que mostraram uma

progressiva deterioração clínica, para os quais não existiu queda significativa na contagem de colônias.

### LAVADO BRONCO-ALVEOLAR E ESCOVADO BRONCO-ALVEOLAR

Das técnicas endoscópicas o lavado e o escovado bronco-alveolar são as mais utilizadas. O escovado 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 microrganismos (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% respectivamente e para o escovado de 65-100% e 60-100%.

### ESCOVADO PROTEGIDO

O volume recuperado de secreção pulmonar por um escovado é aproximadamente de 0,001ml. O escovado é diluído em 1 ml de meio, resultando na diluição da bactéria em 100 a 1000 vezes. Portanto o crescimento de pelo menos  $10^3$  UFC/ml em placas indica uma concentração inicial de  $10^5$  a  $10^6$  bactérias na secreção pulmonar.

### 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 100 ml 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 a partir  $10^2$ - $10^3$  de cada agente isolado para escovado e  $10^3$ - $10^4$  UFC/ml para o lavado podem também ser significativos; o uso de antimicrobianos estaria recomendado.

### 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.

**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 esta 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%.

**Biópsia transbrônquica** - os resultados diagnósticos são semelhantes à punção pulmonar aspirativa, mas revelaram menor índices de complicações.

**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 microrganismo 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, isto é, morosa e de baixa sensibilidade.

### TORACOSCOPIA

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

### 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%. Além da bacterioscopia, baciloscopia (Micobacterias) e culturas (bactéria, micobactérias, fungos), o material

deverá ser reservado para estudo citológico e bioquímico para afastar outras causas de derrame com infiltrados pulmonares:

- Infarto pulmonar
- Insuficiência cardíaca
- Tumor
- Doenças do colágeno, etc.

## HEMOCULTURA

Através da hemocultura também pode se isolar o microrganismo de um processo respiratório considerando-se que isto ocorre entre 1 a 16 % dos casos, no entanto não deve ser utilizada de forma isolada para o diagnóstico de pneumonia. É altamente específico e é indicada em pacientes com pneumonia que necessita de hospitalização.

## CONTAGENS BACTERIANAS SIGNIFICATIVAS

O cálculo dos valores limítrofes para definição de infecção para amostras do trato respiratório, deriva da concentração de microrganismos 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.

### Significado das contagens bacterianas em relação à amostra clínica

Material	Volume obtido	Fator de diluição	Valor significativo
Escarro, aspirado, endotraqueal, aspirado por broncoscopia	$\geq 1$ ml	1	$10^5$ – $10^6$ UFC/ml
Escovado brônquico protegido	1 a 10 $\mu$ l diluídos em 1ml	1/100 – 1/1000	$10^3$ UFC/ml
Lavado broncoalveolar (BAL)	1ml diluído em 10 a 100 ml	1/10 – 1/100	$10^4$ UFC/ml

## PACIENTES NEUTROPÊNICOS E IMUNOSSUPRIMIDOS

Além dos agentes relatados como causa de pneumonia em crianças e adultos, devem ser valorizados achados clinicamente compatíveis de:

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

## PROCESSAMENTO MICROBIOLÓGICO DE AMOSTRAS

Meios recomendados para a cultura das amostras do trato respiratório:

- Ágar sangue
- Ágar Mac conkey
- Ágar chocolate
- 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 estas rotinas específicas. A pesquisa por imunofluorescência com anticorpos monoclonais, e os métodos moleculares são mais recomendados para a detecção desses microrganismos.

A semeadura da amostra e interpretação do número de colônias no caso da utilização de técnicas quantitativas, poderá ser feita de uma das formas abaixo:

- Após homogeneização da amostra, semear 10  $\mu$ l, diretamente nas placas, utilizando-se alças calibradas descartáveis ou pipeta com ponteiros estéreis.

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>

**Observação:** Para o Lavado broncoalveolar considerar a diluição pelo volume injetado e multiplicar por 100. P.ex., se a leitura for 50 colônias, multiplicar por 100 (volume da alça) e multiplicar por 100 (diluição da coleta). Resultado final =  $5 \times 10 \times 10^2 \times 10^2 = 5 \times 10^5$  UFC/ml

- Usar diluições de:
  - 1/10: 10 µl com alça calibrada semeada no Ágar Chocolate
  - 1/100: 1 ml do material diluído em 9 ml de solução salina e semeando-se 10 µL desta solução com alça calibrada na placa de Ágar Chocolate
  - 1/1000: usar a solução anterior e semear 1 µL com alça calibrada na placa de Ágar Mac Conkey.

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.

- prepara-se uma diluição de 1:20 (0,5 ml de fluido em 9,5mL de solução salina estéril). Deste caldo semeia-se 50 µl em cada um dos meios selecionados.

Nº de colônias na placa após incubação "overnight"	Interpretação em UFC/ml
2-24	10 <sup>3</sup>
25-249	10 <sup>4</sup>
≥ 250	10 <sup>5</sup>

## 11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

1. A'court, C.H.D., Garrard, C.S., Crook, D., Bowler, I. and Conlon, C. **Microbiology lung surveillance in mechanically ventilated patients using non-directed bronchial lavage and quantitative culture.** Quarterly J Med, 86: 635-648, 1993.
2. Amsel, R., Totten, P.A., Spiegel, C.A., Chen, K.S., Eschenbach, D.A., and HOLMES, K.K. **Nonspecific vaginitis: diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations.** Am J Med, 74: 14-22, 1983.
3. Andriole, V.T. **Urinary tract infection.** Infect Dis Clin North Am, 01(4), 1976.
4. Applebaun, P.C. and Beckwith, D.G. **Enhanced detection of bacteremia with a new BACTEC resin blood culture medium.** J Clin Microbiol, 17:48-51, 1983.
5. Baron, E.J. and Tenover, S.M. **Bailey & Scott's diagnostic microbiology.** 8th Ed., CV Mosby, St. Louis, 1990.
6. Baron, E.J., Cassel, G.H. and Duffy, L.B. **Laboratory diagnosis of female genital tract infection.** CUMITECH 17A. Coord. Ed. E.J. Baron, American Society for Microbiology, Washington, DC, 1993.
7. Barry, A.L., Smith, P.B. and Turck, M. **Laboratory diagnosis of urinary tract infection.** CUMITECH 2. Coord. Ed. T.L. Gavan, American Society for Microbiology, Washington, DC, 1975.
8. Bartlett, R.C., Ellner, P.D. and Washington II, J.A. **Blood culture.** CUMITECH 1. Coord. Ed. J.C. Sherris, American Society for Microbiology, Washington, DC, 1974.
9. Bartlett, R.C. **Medical Microbiology: quality cost and clinical relevance.** John Wiley & Sons, New York, 1974.
10. Baselski, V.S. and Wunderink, R.G. **Bronchoscopic diagnosis of pneumonia.** Clin Microbiol Rev, BENNETT, J.V., BRACHMAN, P.S. Hospital Infections, 4th ed., Lippincott-Raven, 1998.
11. Bernstein, J.M. **Treatment of community-acquired pneumonia.** IDSA Guidelines CHEST, 115:9S-13S, 1999.
12. Bisno, A.L. **Acute pharyngitis.** N Engl J Med, 344(3): 205-211, 2001.
13. Boop, C.A. **Manual of clinical microbiology.** 7th Ed., Ed. Murray, American Society for Microbiology, Washington, DC, 1999.
14. Bowler, P.G., Duerden, B.I. and Armstrong, D.G. **Wound Microbiology and associated approaches to wound management.** Clin Microbiol Rev, 14:244-269, 2001.
15. Bryan, F.L. **Manual of clinical microbiology.** 4<sup>th</sup> Ed., Ed. E.H. Lennette, American Society for Microbiology, Washington, DC, 1985.
16. Cardoso, C.L., Muraro, C.B., Siqueira, V.L.D. and Guilhermetti, M. **Simplified technique for detection of significant bacteriuria by microscopic examination of urine.** J Clin Microbiol, 36:820-823, 1998.
17. Clarridge, J.E., Johnson, J.R. and Pezzlo, M.J. **Laboratory diagnosis of urinary tract infection.** CUMITECH 2B. Coord. A.L. Weissfeld, American Society for Microbiology, Washington, DC, 1998.
18. Clarridge, J.E., Pezzlo, M.T. and Vosti, K.L. **Laboratory diagnosis of urinary tract infection.** CUMITECH 2A. Coord. A.L. Weissfeld, American Society for Microbiology, Washington, DC, 1987.
19. Cohen, M.L. **The epidemiology of diarrheal disease in the United States.** Infect Dis Clin North Am, 02:557-570, 1998
20. Cornick, N.A. and Gorbach, S.L. **Campylobacter.** Infect Dis Clin North Am, 02:643 -654, 1988.
21. Duncan, I.B.R., Bannatyne, R.M., Clansen, C. and McCarthy, L.R. **Laboratory Diagnosis of Upper Respiratory Tract Infections.** Cumitech 10. American Society for Microbiology, Washington DC, 1979.
22. Dunne Jr. W.M., Nolte, F.S. and Wilson, M.L. **Blood Culture III.** CUMITECH 1B. Coord. Ed. J.A. Hindler, American Society for Microbiology, Washington, DC, 1997.



23. Eschenbach, D.A., Hillier, S.R., Critchlow, C., Stevens, C., DeRouen, T. and Holmes, K.K. **Diagnosis and clinical manifestations of bacterial vaginosis.** Am J Obstet Gynecol, 158:819-828, 1988.
24. Eschenbach, D.A., Pollock, H.M. and Schachter, J. **Laboratory diagnosis of female genital tract infection.** CUMITECH 17. Coord. Ed. S.J. Rubin. American Society for Microbiology, Washington, DC, 1983.
25. Evangelista, E.T. and Beilstein, H.R. **Laboratory diagnosis of gonorrhoea.** CUMITECH 4A. Coord. Ed. C. Abramson. American Society for Microbiology, Washington, DC, 1993.
26. Ferreira, W. e Ávila, S.L.M. **Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infecciosas e Auto-Imunes.** São Paulo, Guanabara-Koogan, 2a. Ed., 2001.
27. Forbes, B.A., Sahm, D.S. and Weissfeld, A.S. **Bayley & Scott's Diagnostic Microbiology,** 10th Ed., C.V. Mosby Co., St. Louis, 1998.
28. Gales, A.C. and Sader, H.S. **Sistemas automatizados de hemocultura: avaliação crítica.** Documento PEM 1998/7, LEMC/UNIFESP, 1998.
29. Gardner, H.L. and Dukes, C.D. **Haemophilus vaginalis vaginitis: a newly defined specific infection previously classified "nospecific" vaginitis.** Am J Obstet Gynecol, 69:962-976, 1955.
30. Garner, J.S., Jarvis, W.M. and Emorii, T.G. **CDC definitions for nosocomial infections.** Ann J Infect Control 16:128-140, 1988.
31. Graham, J.C. and Galloway A. **The laboratory diagnosis of urinary tract infection.** J Clin Pathol, 54:911-919, 2001.
32. Gruson, D., Hilbert, G., Valentino, R., and Vargas, F. **Utility of fiberoptic bronchoscopy in neutropenic patients admitted to intensive care unit with pulmonary infiltrates.** Crit Care Med, 28(7):2224-2230, 2000.
33. Guerrant, R.L. and Bobak, D.A. **Bacterial and protozoal gastroenteritis.** N Engl J Med, 40:325-327, 1991.
34. Guerrant, R.L., Gilder, T.V. and Steiner, T.S. **Practice guidelines for management of infectious diarrhea.** Clin Infect Dis, 32:331-351, 2001.
35. Guidoni, M.G. e Toporovski, J. **Tratamento da infecção do trato urinário na infância** In: Recomendações - Atualização de Conduas em Pediatria. Nr. 3. Sociedade de Pediatria de São Paulo, 2002.
36. Harris, J.C., Dupont, H.L. and Hornick, R.B. **Fecal leukocytes in diarrheal illness.** Ann Intern Med, 76:697-703, 1972.
37. Hayner, C.E. and Baughman, R.P. **Nosocomial Pneumonia: a review of diagnostic approaches.** Infect Med, 12(7):322-330, 1995.
38. Holmberg, S.D. **Vibrios and Aeromonas.** Infect Dis Clin North Am, 02:655-677, 1988.
39. Hooton, T.M. and Stamm, W.E. **Diagnosis and treatment of uncomplicated urinary tract infections.** Infect Dis Clin North Am, 11:551-581, 1997.
40. Hooton, T.M., Scholes and D., Stapleton, A.E. **A prospective study of asymptomatic bacteriuria in sexually active young women.** N Engl J Med, 343:992-997, 2000.
41. Isenberg, H.D. **Clinical microbiology proceduces handbook,** American Society for Microbiology, Washington, DC, 1998
42. Isenberg, H.D. **Essential procedures for clinical microbiology,** American Society for Microbiology, Washington, DC, 1998.
43. Jacobs, J.A., De Brauwer, E.I.G.B., Cornelissen, E.I.M. and Drent, M. **Accuracy and precision of quantitative calibrated loops in transfer of bronchoalveolar lavage fluid.** J Clin Microbiol 38(6):2117-2121, 2000.
44. Jourdain, B., Novara, A., and Jolu-Guillou, M.L. **Role of quantitative cultures of endotracheal aspirates in the diagnosis of nosocomial pneumonia.** Am J Resp Crit Care Med, 52:241-246, 1995.
45. Kass, E.H. **Assintomatic infections of the urinary tract.** Trans Ass Am Phys, 69:56-63, 1956.

46. Koneman, W.E., Allen, D.S., Janda, M.W., Schreckenberger C.P. and Winn Jr., C.W. **Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology**, 5th Ed., Lippincott, Philadelphia, 1997.
47. Lew D.P. and Waldvogel, G. **Osteomyelitis**. *N Engl J Med*, 336(14):999-10505, 1997.
48. Lipsky, B.A. **Prostatitis and urinary tract infection in men: what's new; what's true?** *Am J Med*, 106: 327-334, 1999.
49. Mahon, C.R. and Manuselis Jr., G. **Urinary Tract Infection**. *Diagnostic Microbiology*, W.B Saunders Company, Philadelphia, 1995
50. Maki, D.G., Weise, C.E. and Sarafin, H.W. **A semiquantitative culture method for identifying intravenous-catheter related infection**. *N Engl J Med*, 296:1305-1309, 1977.
51. Mandell G.L., Bennett, J.E. and Dolin, R. **Principles and practices of infectious diseases**, 5th Ed., Churchill Livingstone, New York, 2000.
52. Marangoni, D.N., Soares, C.R. e Moreira, B.M. **Infecções do trato urinário** In: Doenças infecciosas conduta diagnóstica e terapêutica. Schechter M., Marangoni, D.V (eds), 2ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 425-455, 1998.
53. Marco, F.V.C., Camargo, L.F.A. and Barbas, C.S.V. **Comparison between quantitative and qualitative culture of tracheal aspirates in the diagnosis of ventilator associated pneumonia**. 21st Intern Symp on Intensive Care and Emerg Med, Poster 46, 2001, Belgium.
54. Mcintosh, K. **Community-acquired pneumonia in children**. *N Engl J Med*, 346(6):429-437, 2002.
55. Meduri, G.C. **Diagnosis and differential diagnosis of ventilatorassociated pneumonia**. *Clin Chest Med*, 16(1):61-93, 1995.
56. Miller, J.M. **A guide to specimen management in clinical microbiology**. American Society for Microbiology, Washington, DC, 1996.
57. Mimica, I., Donoso, E., Howard, J.E. and Ledermann, G.W. **Lung Puncture in the Etiological Diagnosis of Pneumonia**. *Am J Dis Child*, 122, 1971.
58. Murray, P.R., Baron, E.J., Tenover, F.C. and Tenover, F.C. and Tenover R.H. **Manual of Clinical Microbiology**, 6th Ed., American Society for Microbiology, Washington, DC, 1999.
59. Murray, P.R., Washington, J.A. **Microscopy and bacteriological analysis of expectorated sputum**. *Mayo Clin Proc*, 50:339-334, 1975.
60. NNIS. **National Nosocomial Infections Surveillance**. *MMWR*, 49, 8, March 3, 2000.
61. Pruitt Jr., B.A., Mc Manus, A.T., Kim, S.H. and Goodwin, C.W. **Burn wound infections: current status**. *World J Surg*, 22:135-145, 1998.
62. Ratnam, S., Hogan, K., March, S.B. and R.W., Butler. **Whirlpool-associated folliculitis caused by Pseudomonas aeruginosa: report of an outbreak: a review**. *J Clin Microbiol*, 23:655-659, 1986.
63. Reimer, L.G., Wilson, M.L. and Weinstein, M.P. **Update on detection of bacteremia and fungemia**. *Clin Microbiol Rev*, 10(3):444-465, 1997.
64. Reller, R.B., Murray, P.R. and MacLowry, J.D. **Blood Culture II**. CUMITECH 1A. Coord. Ed. J.A. Washington II, American Society for Microbiology, Washington, DC, 1982.
65. Richards, M.J., Edwards, J.R., Culver, D.H. and Gaynes, R.P. **Nosocomial infections in medical intensive care units in the United States**. *Crit Care Med*, 27(5):887-892, 1999.
66. Rolston, K.V.I. **The spectrum of pulmonary infections in cancer patients**. *Curr Opin Onc*, 13:218-23, 2001.
67. Rushton, H.G. **Urinary tract infections in children**. *Pediatr Clin North Am*, 44:1133, 1997.
68. Schryver, A. and Meheus, A. **Epidemiology of sexually transmitted diseases: a global picture**. *Bull WHO*, 68:639-654, 1990.
69. Shulman, S.T., Phair, J.P., Peterson, L.R. and Warren, J.R. **The biological and clinical basis of infectious diseases**, 5th Ed., Saunders, Philadelphia, 1997.
70. Siegman-Igra, Y., Anglim, A.M. Shapiro, D.E., Adal K.A., Strain, B.A. and Farr, B.M. **Diagnosis of vascular catheter-related bloodstream infection: a meta-analysis**. *J Clin Microbiol*, 35:928-936, 1997.
71. Sobel, J.D. **Vaginitis: current concepts**. *N Engl J Med*, 337:1896-1903, 1997.

72. Spiegel, C. A., Amsel, R. and Holmes, K.K. **Diagnosis of bacterial vaginosis by direct Gram-stain of vaginal fluid.** J Clin Microbiol, 18:170-177, 1983.
73. Spiegel, C.A. **Bacterial vaginosis: changes in laboratory practice.** Clin Microbiol Newsl, 21:33-37, 1999.
74. Stamm, W.E. **Measurement of piuria and its relation to bacteriuria.** Am J Med, 75(Suppl. 1B):53-58, 1983.
75. Stamm, W.E. and Hooton, T.M. **Management of urinary tract infections in adults.** N Engl J Med, 329(18):1328-334, 1993.
76. Thayer, J.D. and Martin Jr., J.E. **A selective medium for the cultivation of *Neisseria gonorrhoeae* and *Neisseria meningitidis*.** Public Health Rep, 79:49-57, 1964.
77. Wallach, J.B. **Interpretation of Diagnostic tests.** 7th Ed, Lippincott, PA, 737-739, 2000.
78. Warford, D.A., Cherneski, M. and Peterson, E.M. **Laboratory diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections.** CUMITECH 19A. Coord. Ed. C.A. Gleaves, American Society for Microbiology, Washington, DC, 1999.
79. Wiblin, R.T. **Nosocomial Pneumonia** In: Hospital Infection Control. Wenzel (ed.), 807-819, 1997