

Carlos Augusto Albini
Helena A. P. Homem de Mello de Souza
Alessandro Conrado de Oliveira Silveira
Organizadores

Infecções Urinárias

UMA ABORDAGEM
MULTIDISCIPLINAR

 EDITORA CRV

Carlos Augusto Albini
Helena Aguilar Peres Homem de Mello de Souza
Alessandro Conrado de Oliveira Silveira
ORGANIZADORES

INFECÇÕES URINÁRIAS
uma abordagem multidisciplinar

EDITORA CRV
Curitiba - Brasil
2012

Copyright © da Editora CRV Ltda.
Editor-chefe: Railson Moura
Diagramação e Capa: Editora CRV
Arte da Capa: Raphael Albini
Revisão: Os Autores

CIP-BRASIL. CATALOGAÇÃO-NA-FONTE
SINDICATO NACIONAL DOS EDITORES DE LIVROS, RJ

l36

Infecções urinárias: uma abordagem multidisciplinar / Carlos Augusto Albini, Helena Aguilar Peres Homem de Mello de Souza e Alessandro Conrado de Oliveira Silveira (organizadores). - 1.ed. - Curitiba, PR :CRV, 2012.
803p.

Inclui bibliografia
ISBN 978-85-8042-162-0

1. Aparelho urinário - Doenças. 2. Trato urinário - Infecções. I. Albini, Carlos Augusto.

11-4543. CDD: 616.6
CDU: 616.6

21.07.11 26.07.11

028240

2012

Proibida a reprodução parcial ou total desta obra sem autorização da Editora CRV
Todos os direitos desta edição reservados pela:

Editora CRV
Tel.: (41) 3039-6418
www.editoracriv.com.br
E-mail: sac@editoracriv.com.br

SUMÁRIO

PREFÁCIO	11
APRESENTAÇÃO	13
<i>Carlos Augusto Albini, Helena A.P. Homem de Mello de Souza</i> <i>Alessandro Conrado de Oliveira Silveira</i>	
1. ANATOMIA E FISILOGIA BÁSICA DO SISTEMA URINÁRIO.....	15
<i>André Luís Fortes Alves</i>	
2. PATOGÊNESE DA INFECÇÃO DO TRATO URINÁRIO.....	31
<i>Daltro Zunino</i>	
3. EPIDEMIOLOGIA E ETIOLOGIA DAS INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO.....	37
<i>Lauro Santos Filho</i>	
4. MICROBIOTA NORMAL DO TRATO URINÁRIO E GENITAL.....	45
<i>Larissa Bail</i>	
5. INFECÇÃO X COLONIZAÇÃO DO SISTEMA URINÁRIO	53
<i>Caio Roberto Salvino</i>	
6. DETERMINANTES DE VIRULÊNCIA EM UROPATÓGENOS.....	59
<i>Mara Cristina Scheffer</i>	
7. IMUNOLOGIA DA ITU: o que o microbiologista e demais profissionais da saúde devem saber.....	83
<i>Shirley Ramos da Rosa Utiyama e Altair Rogerio Ambrosio</i>	
8. SÍNDROMES CLÍNICAS	101
<i>Amaury Mielle Filho</i>	
9. BACTERIÚRIA ASSINTOMÁTICA.....	107
<i>Cristina Leise Bastos Monteiro e Laura Lúcia Cogo</i>	
10. SÍNDROME URETRAL	117
<i>Aline Borsato Hauser e Andréa Emilia Marques Stinghen</i>	

11. INFECÇÕES URINÁRIAS RECORRENTES E/OU RECIDIVANTES	125
<i>Jaime Luís Lopes Rocha</i>	
12. PROSTATITES.....	131
<i>Emerson Danguy Cavassin</i>	
13. INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO EM CRIANÇAS	151
<i>Fábio de Araújo Motta</i>	
14. INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO EM GESTANTES.....	169
<i>Jussara Kasuko Palmeiro</i>	
15. INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO EM DIABÉTICOS.....	187
<i>Renata Homem de Mello de Souza Alves</i>	
16. INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO EM IDOSOS.....	207
<i>Felipe Francisco Bondan Tuon</i>	
17. INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO EM IMUNOCOMPROMETIDOS	221
<i>Felipe Francisco Bondan Tuon</i>	
18. INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO RELACIONADAS À ASSISTÊNCIA EM SAÚDE	231
<i>Elaine Drehmer de Almeida Cruz e Maria Edutânia Skroski Castro</i>	
19. INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO POLIMICROBIANAS	247
<i>Alessandro Conrado de Oliveira Silveira</i>	
20. UROPATÓGENOS INCOMUNS	253
<i>Alessandro Conrado de Oliveira Silveira</i>	
21. A URINA E O DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA LEPTOSPIROSE.....	265
<i>Irina Nastassja Riedger</i>	
22. INFECÇÕES FÚNGICAS DO TRATO URINÁRIO (FUNGÚRIA).....	287
<i>Marisol Domínguez Muro</i>	
23. INFECÇÕES VIRAIS DO TRATO URINÁRIO	297
<i>Meri Bordignon Nogueira e Sonia Mara Raboni</i>	

24. COLETA DE AMOSTRAS DE URINA DESTINADAS À CULTURA	315
<i>Regina Mariuza Borsato Quesada e Márcia Regina Eches Perugini</i>	
25. TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS DE URINA DESTINADAS A CULTURA.....	335
<i>Eduardo Monguilhott Dalmarco</i>	
26. EXAME FÍSICO-QUÍMICO DA URINA.....	343
<i>Carmen Antonia Sanches Ito</i>	
27. EXAME CITOLÓGICO DA URINA.....	367
<i>Júlio Cezar Merlin</i>	
28. A CONTRIBUIÇÃO DA CITOMETRIA DE FLUXO NO DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DAS INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO	393
<i>Eduardo dos Reis Marques e Railson Henneberg</i>	
29. A CONTRIBUIÇÃO DO LABORATÓRIO DE HEMATOLOGIA NO DIAGNÓSTICO DAS INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO	411
<i>Everson Augusto Krum</i>	
30. A CONTRIBUIÇÃO DO LABORATÓRIO DE BIOQUÍMICA NO DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DAS INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO	419
<i>Mauren Isfer Anghebem-Oliveira</i>	
31. MÉTODOS RÁPIDOS DE TRIAGEM DE UROCULTURAS	427
<i>Helena A. P. Homem de Mello de Souza</i>	
32. METODOLOGIAS PARA UROCULTURA	435
<i>Carlos Augusto Albini e Bárbara Pereira Albini</i>	
33. IDENTIFICAÇÃO DE UROPATÓGENOS POR TESTES FENOTÍPICOS (BACILOS GRAM-NEGATIVOS).....	455
<i>Adriana Pereira de Matos Marques Silva</i>	
34. IDENTIFICAÇÃO DE UROPATÓGENOS POR TESTES FENOTÍPICOS (GRAM-POSITIVOS)	477
<i>Pedro Alves d'Azevedo</i>	

35. A BIOLOGIA MOLECULAR NO DIAGNÓSTICO DAS INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO.....	489
<i>Keite da Silva Nogueira</i>	
36. MICROBIOLOGIA DAS INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO BASEADA EM EVIDÊNCIAS	503
<i>Marcelo Pilonetto</i>	
37. RESISTÊNCIA DE UROPATÓGENOS A AGENTES ANTIMICROBIANOS.....	513
<i>Libera Maria Dalla Costa e Andrea Carla Nogueira de Lucena</i>	
38. TESTE DE SUSCETIBILIDADE DE UROPATÓGENOS AOS ANTIMICROBIANOS	553
<i>Libera Maria Dalla Costa e Andrea Carla Nogueira de Lucena</i>	
39. PESQUISA DE SUBSTÂNCIAS ANTIMICROBIANAS EM URINA	579
<i>Gislene Maria Botão Kussen</i>	
40. TRATAMENTO DAS INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO COMUNITÁRIAS EM ADULTOS.....	585
<i>Clóvis Arns da Cunha</i>	
41. PROFILAXIA DAS INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO.....	595
<i>Mônica Maria Gomes da Silva</i>	
42. MÉTODOS <i>IN VITRO</i> PARA ESTUDOS DE INFECÇÕES URINÁRIAS.....	603
<i>Márcia Regina Eches Perugini e Regina Mariuza Borsato Quesada</i>	
43. MODELOS EXPERIMENTAIS <i>IN VIVO</i> PARA ESTUDOS DE INFECÇÕES URINÁRIAS.....	645
<i>Edvaldo Antonio Ribeiro Rosa e Terezinha Inez Estivalet Svidzinski</i>	
44. APURAÇÃO DE CUSTOS DE UROCULTURAS.....	665
<i>Marcelo Pilonetto, Maria Elizabeti Villas Boas Tosato e Priscila Guarezi Vitoreti</i>	
45. GESTÃO DA QUALIDADE NA CULTURA DE URINA.....	689
<i>Émerson Danguy Cavassin</i>	

46. CASOS CLÍNICOS	705
<i>Carlos Augusto Albini, Bárbara Pereira Albini, Helena A. P. Homem de Mello de Souza, Terezinha Inez Estivalet Svidzinski, Carmen Antonia Sanches Ito, Alessandro Conrado de Oliveira Silveira, Thiago Neves Batista e Keila Zaniboni Siqueira</i>	
47. ATLAS.....	753
<i>Lavinia Arend</i>	
SOBRE OS AUTORES.....	767
ÍNDICE REMISSIVO	783

PREFÁCIO

Este livro é algo singular na literatura científica nacional, pois busca preencher o hiato entre o laboratório e a clínica, com o qual nós, microbiologistas ou clínicos, nos deparamos diariamente ao interpretar resultados e tentar correlacioná-los com a apresentação clínica. Escrito em linguagem de fácil leitura, a obra abrange desde a anatomia e fisiologia do trato urinário até casos clínicos, profilaxia e tratamento, tornando-se uma fonte relevante de informações tanto para aqueles que iniciam sua carreira quanto para aqueles que buscam informações novas e disponíveis apenas em artigos científicos em Inglês.

As metodologias disponíveis para isolamento, identificação e testes de sensibilidade são discutidas em capítulos individualizados, permitindo seu uso como referência na prática diária do diagnóstico microbiológico clínico.

Os organizadores reuniram em uma única obra contribuições de autores de diversos estados brasileiros, com experiência reconhecida em suas áreas de atuação, e o resultado é gratificante. Eis aqui a primeira obra nacional que extrapola os limites do laboratório e aborda as múltiplas faces da microbiologia clínica das infecções urinárias.

São Paulo, 16 de outubro de 2011
Prof. Dr. Jorge Luiz Mello Sampaio

APRESENTAÇÃO

O presente livro nasceu do nosso desejo de reunir numa só obra todos os vários aspectos multidisciplinares que podem afetar e contribuir para o diagnóstico microbiológico das infecções urinárias, no laboratório, na pesquisa, na prevenção e no tratamento.

Desde o início de nossas atividades no Laboratório de Bacteriologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná deparamos com uma realidade que nos incomodava: a falta de padronização da cultura de urina e do exame parcial de urina. Na época a Urinálise era separada do laboratório de Bacteriologia e os resultados nem sempre eram compatíveis. O excesso de cultivos contaminados oriundos de urinas de pacientes hospitalizados ou ambulatoriais sempre foi motivo de preocupação e constante busca da melhoria. Quando realizamos uma pesquisa na cidade de Curitiba sobre as metodologias utilizadas para a cultura de urina concluímos definitivamente que era necessário iniciar o presente trabalho.

Assim, no longo de nossa jornada acadêmica tivemos a feliz oportunidade de conhecer inúmeros colegas da área da saúde também comprometidos com a melhoria do diagnóstico das infecções urinárias. Não foi possível incluí-los todos na presente obra, pelas dificuldades operacionais encontradas no percurso. No entanto cabe aqui um primeiro agradecimento a todos os colaboradores deste livro, por toda a dedicação e atenção recebida.

O feliz convívio com um grupo de colegas pertencentes ao NEBaC, Núcleo de Estudos de Bacteriologia Clínica de Curitiba, certamente serviu como substrato adequado para o sucesso do presente livro, e a todos estendemos nossos sinceros agradecimentos.

Gostaríamos de agradecer em especial à Editora CRV por ter acreditado em nosso livro, à Newprov Produtos para Laboratório por ter fornecido os insumos necessários para muitas das fotos aqui publicadas, e ao zootecnista Daniel Ribeiro Albini pela paciência e dedicação na obtenção das imagens mais adequadas.

Finalizando esperamos efetivamente poder contribuir com a excelência das atividades para o diagnóstico das infecções urinárias e melhorar a qualidade de vida de nossos pacientes.

*Carlos Augusto Albini
Helena A.P. Homem de Mello de Souza
Alessandro Conrado de Oliveira Silveira*

1. ANATOMIA E FISIOLOGIA BÁSICA DO SISTEMA URINÁRIO

André Luís Fortes Alves

Introdução

O aparelho urinário ou sistema urinário é um conjunto de órgãos envolvidos em diversas funções, dentre elas destacam-se a produção, armazenamento e eliminação da urina. O aparelho é composto por dois rins, dois ureteres, a bexiga e a uretra. (Figura 1)

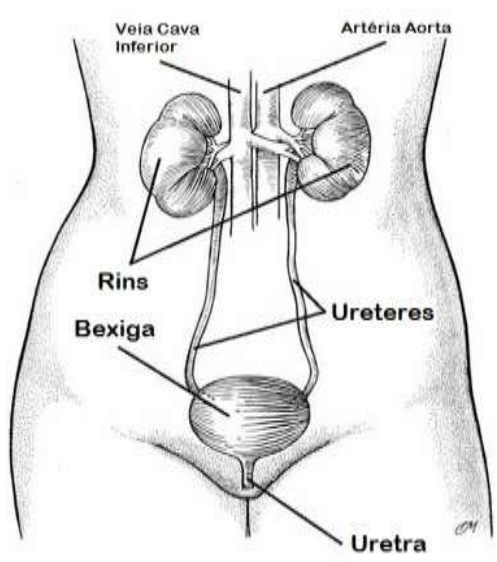


Figura 1: Visão esquemática do sistema urinário.

(Adaptado de: <http://findmeacure.com/wp-content/uploads/2008/03/define-kidneys-and-urinary-system-1.jpg>)

A urina é produzida nos rins, sendo conduzida pelos ureteres até a bexiga onde é armazenada, e então eliminada pela uretra.

A urina produzida nos rins é o resultado final de um complexo mecanismo de filtração, excreção e reabsorção de substâncias presentes no sangue, com o objetivo de:

- Eliminar substâncias tóxicas oriundas do metabolismo, como a ureia e a creatinina.

- Excretar substâncias exógenas, como medicamentos.
- Manter o equilíbrio hidroeletrólítico do organismo, eliminando e reabsorvendo água e eletrólitos, bem como regulando a osmolaridade plasmática, pH e volume de líquido corporal.

Os rins atuam ainda na produção de cininas, prostaglandinas e hormônios: eritropoetina (estimula a produção de hemácias), renina (atua na regulação da pressão arterial), vitamina D (atua no metabolismo ósseo e regula a concentração de cálcio e fósforo no organismo).

Os órgãos do aparelho urinário são todos extraperitoneais, ou seja, localizados fora da cavidade peritoneal. Rins e grande parte dos ureteres localizam-se na região posterior do abdômen (retroperitoneais) e a bexiga localiza-se em grande parte na pelve, tendo sua parede superior recoberta por peritônio. É possível dividir didaticamente o aparelho urinário em trato alto e baixo, sendo comum a utilização desta divisão quando analisamos as infecções do trato urinário (ITUs). O trato alto é composto por rins e ureteres. Bexiga e uretra fazem parte do trato baixo.

Rins

Os rins estão localizados de cada lado da coluna vertebral na porção posterior do abdômen (retroperitoneal), logo abaixo do fígado (à direita) e do baço (à esquerda). No polo superior de cada rim localiza-se uma glândula suprarrenal (ou adrenal), órgão com formato triangular, que apesar da sua relação de proximidade com os rins, não faz parte do aparelho urinário, apresentando função de produção hormonal. (Figura 2)

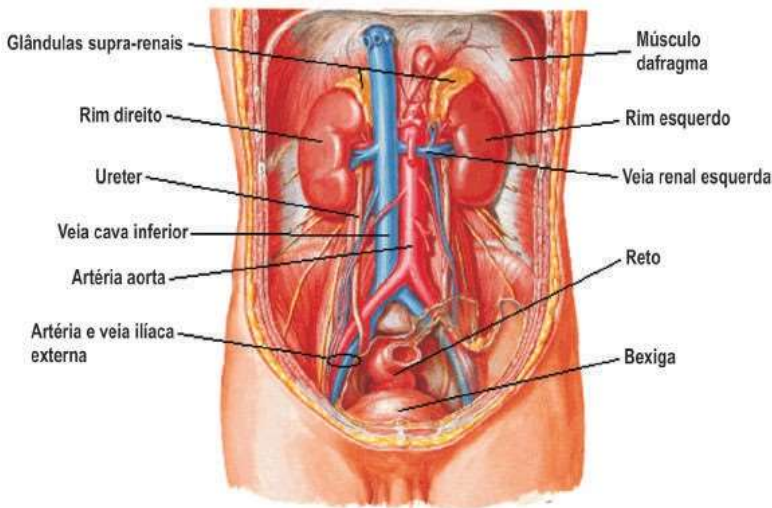


Figura 2: Rins e ureteres *in situ*, relação com outras estruturas retroperitoneais.

(Adaptado de: Atlas Interativo de Anatomia Humana – Netter, 1999.)

Os rins tem o formato semelhante a um feijão, com uma borda convexa lateral e outra côncava medial, na qual se situa o hilo renal. O hilo é uma escavação da face medial por onde entram e saem os vasos, nervos e a pelve renal. A urina formada no parênquima renal é despejada em cavidades no interior do rim, os cálices renais, que se unem até formarem uma cavidade maior, a pelve renal, a partir da qual a urina é eliminada do rim pelo ureter.¹ (Figuras 3 e 4)

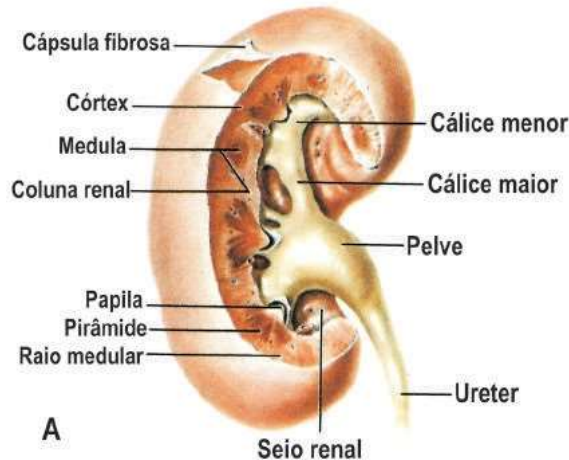


Figura 3: Rim direito com parte do parênquima seccionado, expondo os cálices e a pelve renal.

(Fonte: MOORE KL. *Anatomia orientada para a clínica*, 3ª ed. Rio de Janeiro: ed. Guanabara Koogan, 1994.)

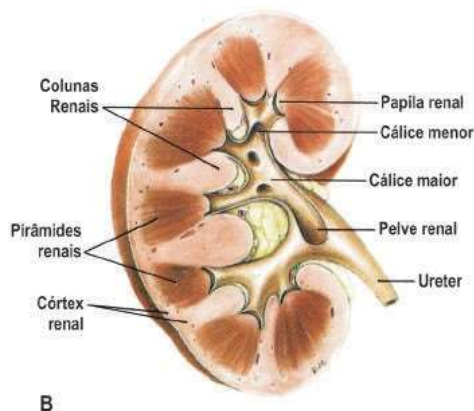


Figura 4: Secção longitudinal do rim. Camadas distintas do parênquima renal: Córtex (mais externa) e Medula (mais interna, constituída pelas pirâmides renais). Observem que cada pirâmide renal se projeta no interior de um cálice menor através da papila, na qual se abrem os ductos coletores de urina.

(Fonte: MOORE KL. *Anatomia orientada para a clínica*, 3ª ed. Rio de Janeiro: ed. Guanabara Koogan, 1994.)

O rim normal de um adulto pesa aproximadamente 150 g, medindo entre 10 e 13 cm no diâmetro longitudinal, e 5 a 7 cm no diâmetro transversal. O tamanho dos rins nas mulheres tende a ser menor, no entanto as dimensões estão mais relacionadas com o tamanho corporal, sendo menores em indivíduos pequenos.² Nas crianças, os rins são relativamente maiores em relação ao tamanho corporal, e ao nascimento apresentam um contorno irregular com múltiplas “lobulações fetais”. (Figura 5)



Figura 5: Rim lobulado de uma criança com a glândula suprarrenal.

(Fonte: NETTER FH. *Ilustrações Médicas – The Ciba Collection of Medical Illustrations*, vol. 6, Rio de Janeiro: ed. Guanabara Koogan, 1976.)

Essas lobulações geralmente desaparecem nos primeiros anos de vida, adquirindo a forma do rim adulto, com paredes lisas e arredondadas. Em alguns casos pode haver persistência de algum grau de lobulação até a idade adulta.^{2,3} O parênquima renal é coberto por uma fina membrana de tecido conjuntivo: a cápsula renal. O rim é envolvido por uma quantidade variável de tecido gorduroso (gordura perirrenal), que está contida por um tecido frouxo denominado fásia renal, também conhecido como fásia de Gerota. Esta fásia forma uma importante barreira anatômica que tende a conter inicialmente os processos patológicos originados no rim, como abscessos, urinomas, hematomas e neoplasias. Inferiormente, a fásia de Gerota não apresenta um limite bem definido, havendo certa continuidade com o espaço retroperitoneal, de modo que os abscessos perirrenais extensos podem se propagar inferiormente, principalmente ao longo do trajeto do ureter até a pelve. É evidente, porém, que coleções muito volumosas e processos neoplásicos avançados podem ultrapassar a fásia e invadir órgãos adjacentes.²

O parênquima renal, porção funcionante do rim, é constituído por duas camadas visivelmente distintas, a cortical (mais externa) e a medular (mais interna). No córtex renal estão localizados os glomérulos, onde ocorre o início do processo de filtração do sangue, que termina pela eliminação da urina através de ductos coletores localizados na medula. Na camada medular podemos identificar macroscopicamente múltiplos segmentos em formato cônico (10 a 18) com base voltada para a região externa, em contato com o córtex, e ápice direcionado para o centro do rim, são as chamadas pirâmides renais (de Malpighi). Entre as pirâmides encontram-se faixas de tecido cortical, chamadas de colunas renais (de Bertin) por onde passam os vasos que irrigam o córtex, e em seguida seguem para irrigar a medula. O ápice de cada pirâmide é chamado de papila renal, e faz uma saliência para o interior do cálice renal. A papila apresenta 10 a 25 orifícios microscópicos nos quais desembocam os ductos coletores por onde é eliminada a urina produzida no parênquima renal adjacente. Cada papila tem um cálice correspondente, que é o início do sistema coletor de urina; os cálices menores se unem em cálices maiores, que por sua vez se unem para formar a pelve renal.^{1,2} (Figura 4)

Durante o desenvolvimento renal, é comum ocorrer fusão entre pirâmides, formando papilas “compostas”. Essas papilas resultantes são maiores, e apresentam cálices renais correspondentes também maiores. A papila composta tem importância fisiológica porque sua configuração permite o refluxo de urina para o interior do rim com maior pressão, permitindo também o refluxo de bactérias para o parênquima renal na presença de urina infectada. (Figura 6) As cicatrizes renais secundárias à infecção são geralmente mais severas nas regiões sobrejacentes às papilas compostas.²

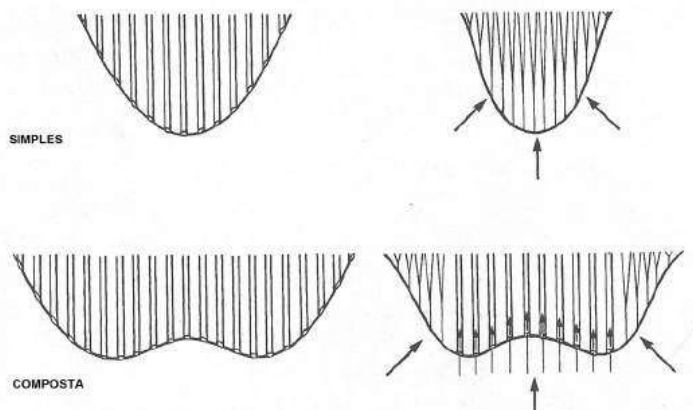


Figura 6: Diagrama mostrando as diferenças estruturais e funcionais entre as papilas renais simples e compostas. A pressão retrógrada causa o fechamento dos dutos coletores nas papilas simples, enquanto a estrutura da papila composta permite refluxo intrarrenal de urina.

(Fonte: WALSH, RETIK, VAUGHAN, WEIN. *Campbell's Urology*, vol. 1, 7ª ed. Saunders, 1998.)

A irrigação sanguínea do rim é feita pela artéria renal, que é ramo direto da aorta abdominal, e a drenagem pela veia renal, tributária da veia cava inferior. (Figura 2) As artérias renais são geralmente únicas de cada lado, porém variações anatômicas são frequentes, podendo haver duas ou mais artérias, ou ramos acessórios para os polos renais. A artéria renal se ramifica sucessivamente em direção ao córtex, até formar as arteríolas aferentes, que darão origem aos glomérulos renais, enovelados microscópicos de capilares onde se inicia o processo de filtração do sangue (veja adiante). (Figura 7)

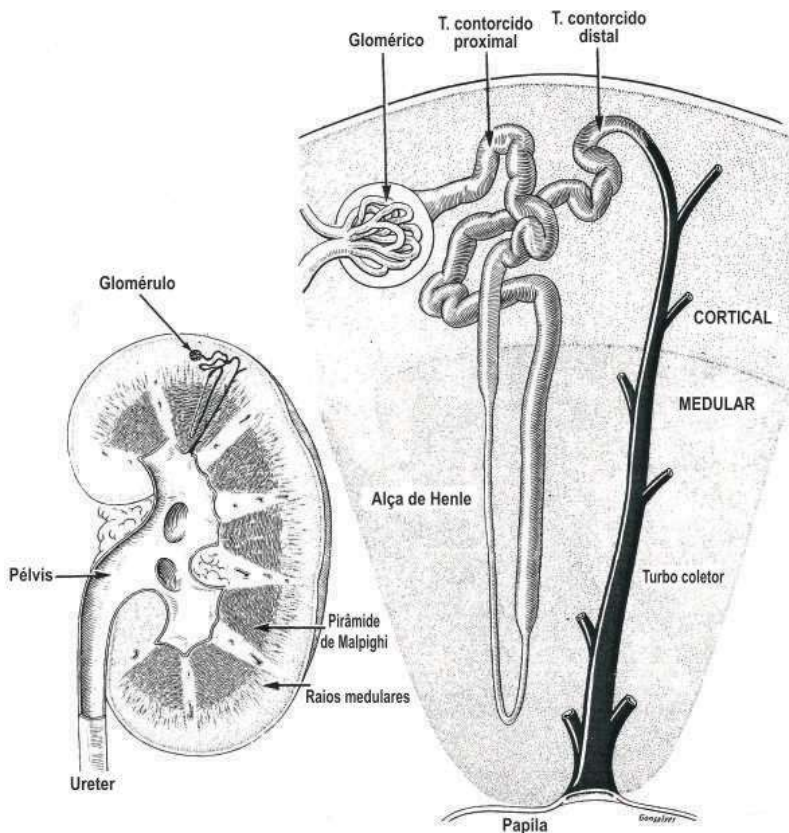


Figura 7: À esquerda, corte esquemático do rim. A figura da direita mostra o néfron e seus componentes. Observe a localização cortical do glomérulo e túbulos contorcidos; alça de Henle penetrando na camada medular. Ductos coletores representados em negro atravessam a camada medular até a papila.

(Fonte: JUNQUEIRA LC, CARNEIRO J. Aparelho urinário. In: JUNQUEIRA LC, CARNEIRO J. *Histologia Básica*, 9ª ed. Rio de Janeiro: ed. Guanabara Koogan, 1999, p. 315-331)

Os capilares glomerulares se reagrupam novamente para formar as arteríolas eferentes, via de saída dos glomérulos. Após passar pelos glomérulos, o sangue percorre o córtex e medula renal em ramos arteriolares e capilares alimentando o parênquima e participando dos processos de excreção e reabsorção de substâncias dos túbulos renais, reagrupando-se novamente para formar os ramos venosos, que se unem e drenam o sangue para a veia renal. A presença de múltiplas veias renais é menos comum.^{1,2}

Os vasos linfáticos do rim acompanham os vasos sanguíneos, drenam para os linfonodos adjacentes e em seguida para os linfonodos lombares.¹

Anatomia Microscópica do Rim e Funcionamento do Néfron

Os rins são formados por unidades funcionais microscópicas: os **néfrons**. Cada rim possui cerca de dois milhões de néfrons, que são os responsáveis pelas principais etapas de formação da urina. O néfron é constituído pelo corpúsculo renal (corpúsculo de Malpighi), onde ocorre o processo de filtração, e pelos túbulos por onde irá percorrer o filtrado glomerular (túbulo contorcido proximal, alça de Henle e túbulo contorcido distal), sofrendo um complexo processo de reabsorção e excreção de substâncias para formação da urina.⁴ (Figura 8)

O corpúsculo renal é formado pelo **glomérulo** (enovelado de capilares originado da arteríola aferente) e pela cápsula de Bowman, estrutura que envolve o glomérulo e recebe o filtrado glomerular. (Figura 8) No espaço entre os capilares glomerulares e a cápsula de Bowman existe uma membrana basal responsável pela filtração. Os capilares do glomérulo possuem poros que permitem a passagem do plasma sanguíneo, que por sua vez é filtrado pela membrana basal e pela cápsula de Bowman, dando origem ao filtrado glomerular. O filtrado tem composição química semelhante ao plasma, porém quase não possui proteínas, que em situações normais não atravessam a barreira de filtração.⁵

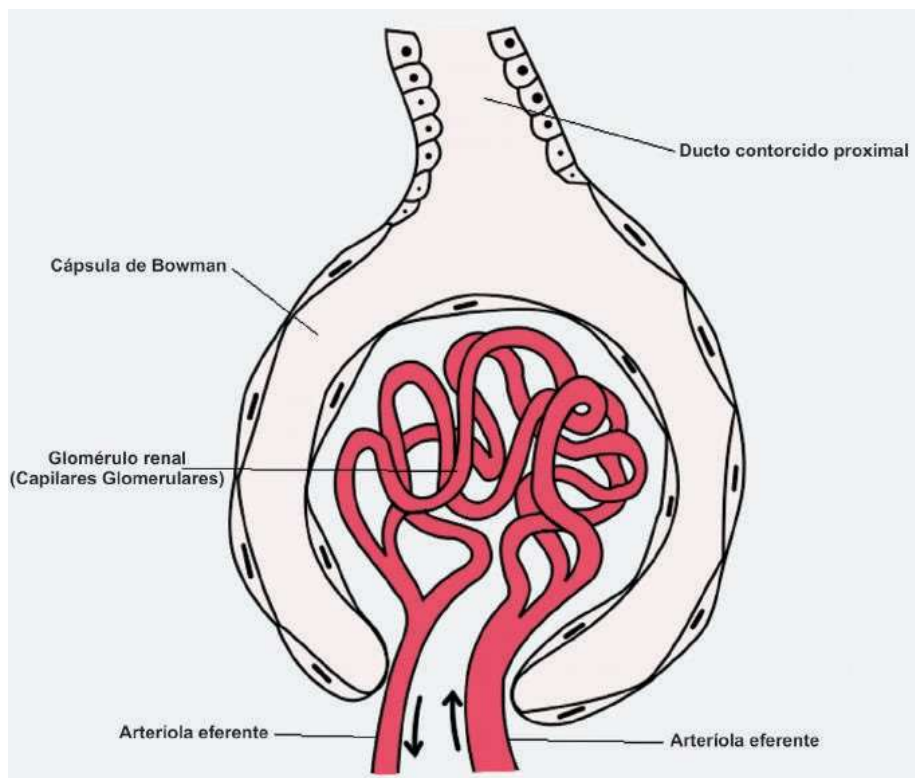


Figura 8: Esquema mostrando o corpúsculo renal (de Malpighi), formado pelo glomérulo e pela cápsula de Bowman. No corpúsculo ocorre o processo de filtração do plasma sanguíneo e formação do filtrado glomerular.

Fonte: <http://excrecaobio.blogspot.com/2009/05/nefrons.html>

Os corpúsculos renais dos néfrons estão localizados na camada cortical do rim. Após entrar na cápsula de Bowman, o filtrado segue pelo túbulo contorcido proximal, também localizado na cortical, e depois passa por um túbulo longo em forma de alça (alça de Henle), que penetra nas pirâmides da camada medular e retorna novamente ao córtex, seguindo pelo túbulo contorcido distal, que é a porção final do néfron. (Figura 7) Os túbulos renais aos cortes microscópicos possuem parede formada por uma única camada de células epiteliais especializadas, com características diferentes em cada segmento dos túbulos, responsáveis pelos processos de reabsorção e excreção. Durante o seu percurso pelos túbulos renais, a maior parte do filtrado é reabsorvida para a circulação sanguínea, recuperando as substâncias que ainda são úteis à manutenção da homeostase e ao metabolismo. Além disso, outras substâncias são secretadas da circulação para os túbulos, permanecendo ao final do processo apenas o que será eliminado na urina. Os mecanismos de reabsorção e excreção tubular ocorrem por difusão passiva, seguindo gradiente osmótico,

ou transporte ativo, que envolve gasto de energia (ATP). Os dois rins formam, por minuto, cerca de 125 mL de filtrado, dos quais 124 mL são reabsorvidos, e 1 mL apenas será lançado nos cálices como urina. A cada 24 horas formam-se cerca de 1.500 mL de urina.⁵

A urina produzida pelos néfrons é recolhida pelos túbulos coletores, responsáveis pela etapa final de formação e transporte até a papila. Os túbulos coletores iniciam-se no córtex, atravessam as pirâmides da camada medular e seguem trajeto reto até a papila renal.⁵ (Figura 7)

Ureteres

O ureter é um tubo muscular que conecta o rim à bexiga. As pelves renais afunilam-se próximo ao hilo, dando origem aos ureteres, que representam uma extensão do sistema coletor renal, com função exclusiva de transporte da urina. No indivíduo adulto o ureter possui de 22 a 30 cm de comprimento, percorrendo trajeto retroperitoneal no abdômen acompanhando o músculo psoas em direção inferior. Após cruzar os vasos ilíacos, o ureter entra na pelve em direção à bexiga.^{2,6,7} (Figuras 1 e 2)

O ureter possui três locais de estreitamento natural: na junção ureteropélvica, na região de cruzamento com os vasos ilíacos e no seu trajeto através da parede da bexiga (junção uretero-vesical). Estes são locais onde potencialmente ocorre impacção de cálculos urinários durante a sua eliminação, causando possível obstrução ao fluxo de urina. Os ureteres são bastante distensíveis e se tornam muito dilatados quando há obstrução crônica da sua porção distal ou da uretra.²

Histologicamente, os ureteres possuem uma camada interna mucosa, composta por epitélio de transição, que é exatamente igual ao epitélio dos cálices renais, pelves e bexiga. Sob a mucosa localiza-se tecido frouxo e tecido elástico (lâmina própria). Externamente à mucosa encontra-se uma camada muscular com fibras musculares lisas circulares e longitudinais. Mais externamente é recoberto por uma camada de tecido conjuntivo (adventícia).⁵ (Figura 9)

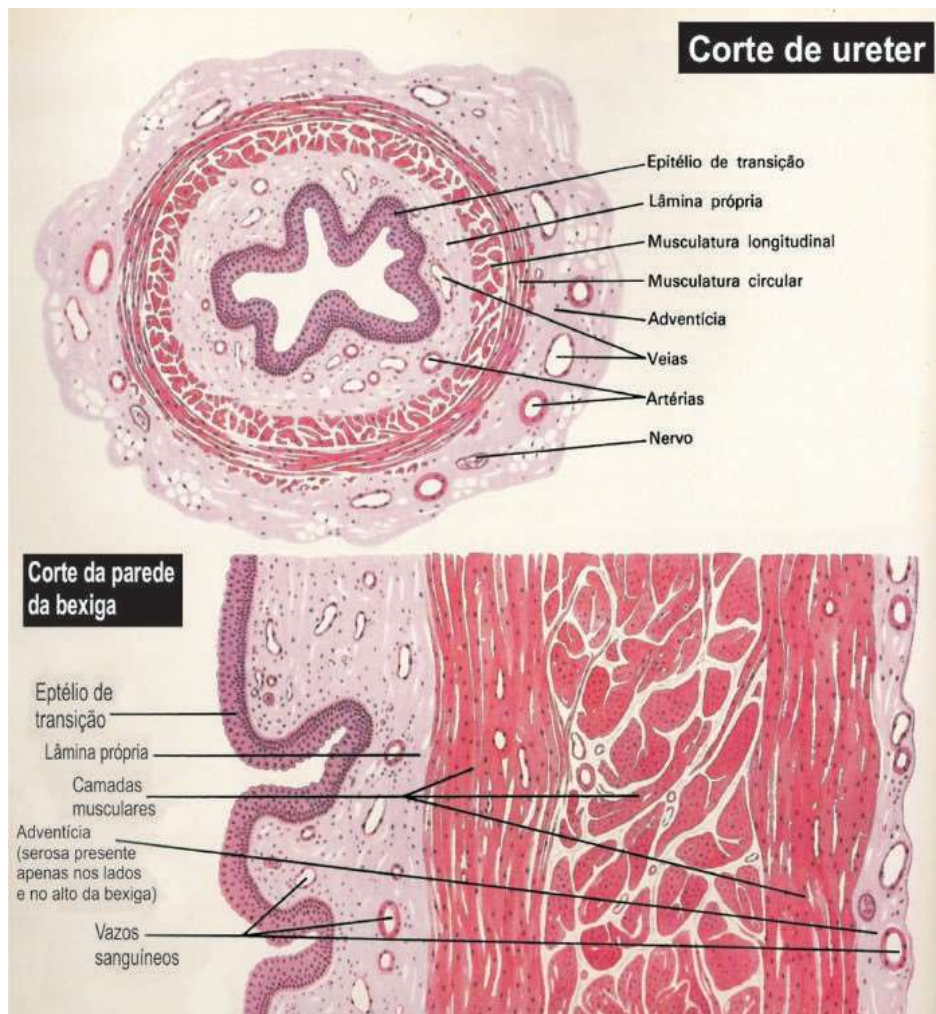


Figura 9: Histologia do ureter e da bexiga. Cortes transversais.

(Fonte: NETTER FH. *Ilustrações Médicas – The Ciba Collection of Medical Illustrations*, vol. 6, Rio de Janeiro: ed. Guanabara Koogan, 1976.)

Em ureteres normais, a urina desce ativamente até a bexiga. As fibras musculares lisas do ureter promovem ondas de contração, iniciadas na pelve renal, que drenam ativamente a urina, sendo liberada na bexiga em esguichos de intervalos frequentes (uma a seis vezes por minuto).^{2,6}

Junção Ureterovesical

A junção do ureter com a bexiga é fisiologicamente importante, pois impede o refluxo de urina da bexiga em direção aos rins (refluxo vesico-ureteral). O ureter penetra de forma oblíqua na parede muscular da bexiga, em sua porção pósterio-

-inferior, formando um trajeto submucoso de 1,5 a 2 cm até a sua saída no interior da bexiga. (Figura 10)

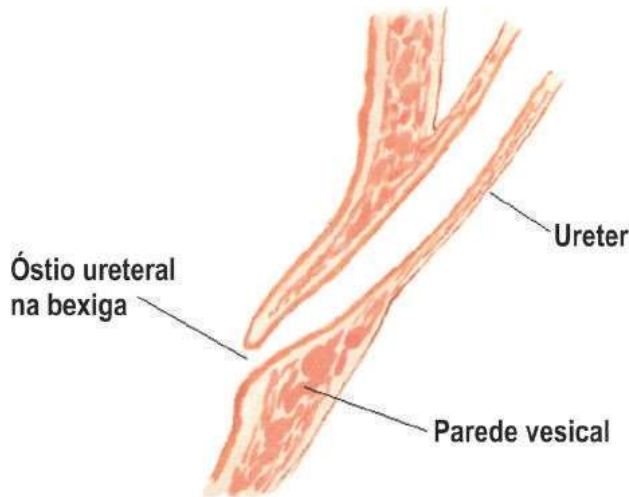


Figura 10: Junção ureterovesical. Observe o trajeto oblíquo do ureter na parede vesical.

(Adaptado de: Atlas Interativo de Anatomia Humana – Netter, 1999.)

Quando a bexiga está repleta de urina, ocorre distensão das suas paredes e compressão do trajeto submucoso do ureter, resultando em um mecanismo de válvula, que impede o refluxo. O refluxo vesico-ureteral é uma situação patológica que causa estase urinária e predispõe à ITU, principalmente em crianças.^{2,8}

A junção ureterovesical (JUV) tem importância também em processos obstrutivos, que podem ocorrer devido a alterações anatômicas congênitas da JUV ou processos adquiridos. As obstruções da JUV resultam em dilatação do trato urinário alto, estase e também predispõem à ITU.⁸

Bexiga e uretra

A bexiga é um órgão muscular oco responsável pelo armazenamento da urina.⁷ A sua capacidade normal é de aproximadamente 500 mL no indivíduo adulto.² Apresenta formato ovoide quando está repleta, achatando-se após o esvaziamento. Localiza-se inteiramente, ou quase inteiramente no interior da pelve, porém após o seu enchimento, insinua-se para a cavidade abdominal, podendo ser palpada na porção inferior do abdômen.⁶

A parede da bexiga possui uma camada interna mucosa, composta por epitélio de transição e lâmina própria de tecido conjuntivo.⁵ A camada muscular é composta por fibras musculares lisas involuntárias, que recebe o nome de músculo detrusor (l. *detru-dere*, expulsar). (Figura 9) Próximo ao colo da bexiga, região de saída da uretra, essas fibras musculares formam o esfíncter interno involuntário. O revestimento externo é a camada adventícia, exceto pela sua porção superior que é coberta por peritônio.³

A inervação motora da bexiga é feita por fibras do sistema nervoso autônomo parassimpático, que promovem contração do músculo detrusor e relaxamento do esfíncter interno no momento da micção.⁶ As disfunções vesicais, causadas por alterações anatômicas de inervação, ou por alterações funcionais, podem prejudicar o esvaziamento vesical e causar estase urinária na bexiga, o que predispõe ao desenvolvimento de bactérias.⁸

A bexiga apresenta importante relação de proximidade com o aparelho genital e com o reto. No sexo masculino, está posicionada entre o púbis (anterior) e o reto (posterior). (Figura 11)

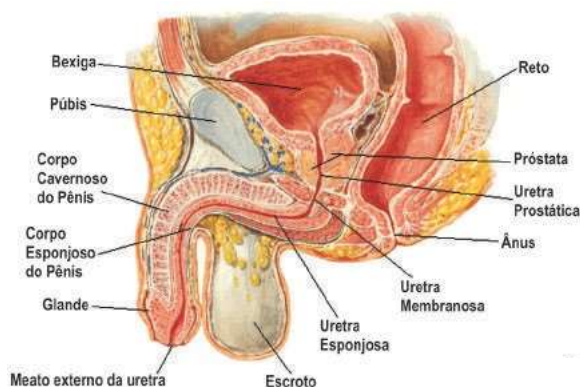


Figura 11: Corte sagital da pelve masculina. Visceras pélvicas e órgãos genitais.
(Adaptado de: Atlas Interativo de Anatomia Humana – Netter, 1999.)

No sexo feminino, a vagina e o útero se interpõem entre a bexiga e o reto, estando em contato com a parede posterior da bexiga. (Figura 12)

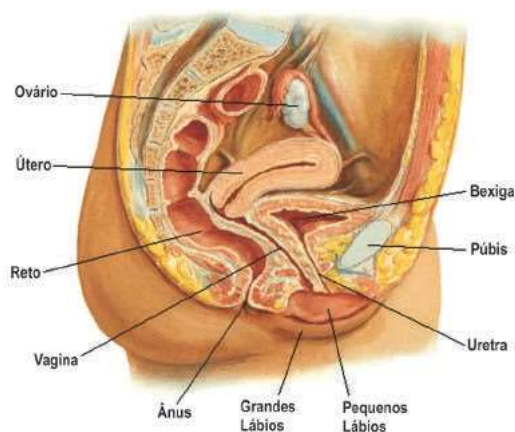


Figura 12: Corte sagital da pelve feminina. Visceras pélvicas e órgãos genitais.
(Adaptado de: Atlas Interativo de Anatomia Humana – Netter, 1999.)

A uretra é a porção final do aparelho urinário, diferindo bastante entre os sexos. No sexo masculino, a uretra faz parte também do aparelho genital, dando passagem ao esperma durante a ejaculação. No sexo feminino, a uretra é um órgão exclusivo do aparelho urinário. O homem possui uretra longa, em torno de 20 cm de comprimento, estendendo-se da bexiga até o meato uretral na extremidade distal do pênis. (Figura 11) A uretra feminina é muito mais curta, com cerca de 4 cm, o que favorece a infecção urinária por via ascendente a partir de bactérias que colonizam o períneo. Nas mulheres a uretra se estende até a vulva entre os pequenos lábios, com orifício externo localizado entre o clitóris e o introito vaginal; a proximidade com o ânus facilita a contaminação e colonização do períneo por bactérias do aparelho gastrointestinal.^{3,6} (Figura 12)

A uretra masculina é dividida em 3 segmentos: prostática, bulbar e esponjosa. Ao sair da bexiga a uretra atravessa a próstata, onde recebe o sêmen produzido nos órgãos genitais (testículos, epidídimos, vesículas seminais e próstata) através de ductos que se abrem na uretra. A uretra bulbar atravessa a musculatura do períneo e segue pela uretra esponjosa, assim denominada por se localizar no interior do corpo esponjoso do pênis. As infecções do aparelho genital masculino (orquites, epididimites e uretrites), devido à relação da uretra com o aparelho genital, podem ascender ao aparelho urinário causando infecção urinária.³ (Figura 11)

Alterações anatômicas congênicas do aparelho urinário e infecção urinária

O aparelho urinário é sede frequente de alterações e malformações congênicas, que podem estar associadas a outras malformações, como parte de síndromes genéticas, ou ocorrer isoladamente. Essas alterações anatômicas podem causar obstrução ao fluxo urinário ou estase urinária, que predispõe ao desenvolvimento de bactérias e ITU, principalmente em crianças. As malformações congênicas podem ser detectadas em ultrassonografias de rotina pré-natal, sendo o achado mais frequente a presença de dilatação do trato urinário.⁸ (Quadro 1)

Quadro 1: Malformações congênicas mais comuns do aparelho urinário relacionadas à infecção urinária

Estenose de junção ureteropélvica
Válvula de uretra posterior
Duplicidade pielo-ureteral
Megaureter obstrutivo
Refluxo vesico-ureteral

A malformação congênita obstrutiva mais comum é a estenose da junção ureteropélvica (JUP). Ocorre estreitamento da JUP, com dilatação da pelve e cálices renais, podendo haver destruição de parênquima e perda de função renal. A estenose pode ser intrínseca devido a alterações da própria JUP, ou extrínseca, devido à angulação da JUP por outros fatores (exemplo: vaso anômalo para o polo inferior do rim angulando o ureter).^{4,8} (Figura 13)

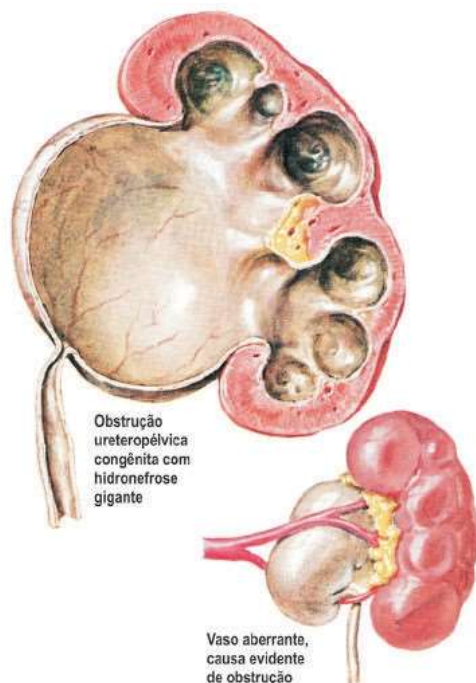


Figura 13: Estenose da junção ureteropélvica (JUP). Na figura acima: obstrução intrínseca da JUP com dilatação da pelve e cálices renais (hidronefrose), presença de afilamento do parênquima renal. Figura abaixo: obstrução extrínseca por presença de artéria aberrante para o polo inferior renal, causando angulação do ureter.

(Fonte: NETTER FH. *Ilustrações Médicas – The Ciba Collection of Medical Illustrations*, vol. 6, Rio de Janeiro: ed. Guanabara Koogan, 1976.)

O refluxo vesico-ureteral é outra alteração frequente. Ocorre devido à inserção anômala do ureter na bexiga, com túnel submucoso curto, prejudicando o mecanismo de “válvula”, já citado anteriormente. Pode haver dilatação do trato urinário, porém o diagnóstico frequentemente se faz por investigação de infecção urinária.⁸

A válvula de uretra posterior é causa menos frequente de obstrução do aparelho urinário. Ocorre exclusivamente em meninos, por presença de pregas mucosas no nível da uretra prostática que obstruem o fluxo urinário, causando dilatação do trato urinário superior e hipertrofia da musculatura vesical.⁸

A duplicidade pielo-ureteral é a anomalia mais comum do sistema coletor superior. A duplicação é completa quando existem duas pelves separadas, cada qual com um ureter completo e orifícios ureterais separados na bexiga. A duplicação é incompleta quando os ureteres se unem antes da entrada na bexiga, de modo que há somente um orifício ureteral deste lado. As duplicidades completas estão geralmente associadas à presença de ureterocele na bexiga, que é uma expansão cística da porção intravesical do ureter. Nestes casos, a ureterocele ocorre no ureter correspondente à unidade superior do rim, causando obstrução e dilatação desta unidade, enquanto o ureter da unidade inferior geralmente apresenta refluxo vesico-ureteral.^{4,8} (Figura 14)

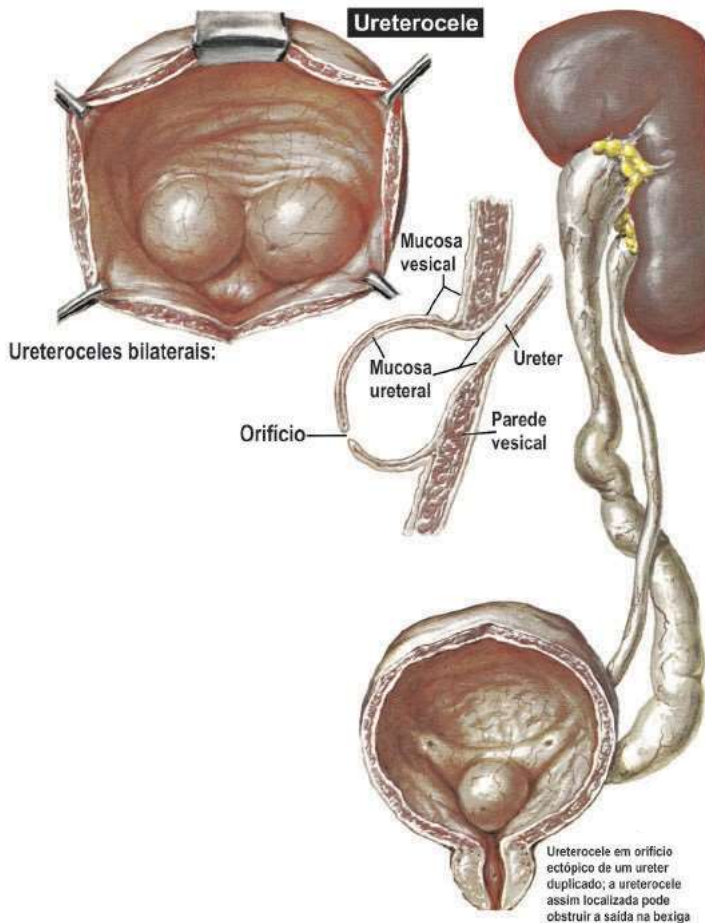


Figura 14: Duplicidade pielo-ureteral completa. Ureter da unidade superior terminando em uma ureterocele (expansão cística do ureter terminal para o interior da bexiga) causando obstrução e dilatação.

O ureter da unidade inferior pode apresentar refluxo vesico-ureteral. As duplicidades podem ser unilaterais ou bilaterais.

(Fonte: NETTER FH. *Ilustrações Médicas – The Ciba Collection of Medical Illustrations*, vol. 6, Rio de Janeiro: ed. Guanabara Koogan, 1976.)

O megaureter é caracterizado pela presença de dilatação ureteral, geralmente devido à obstrução congênita da junção uretero-vesical (JUV). Ocorre dilatação de todo trato urinário alto, podendo evoluir para perda de função renal. A dilatação do ureter que ocorre em refluxos de alto grau é muitas vezes chamada de megaureter refluxivo. Em alguns casos, o megaureter ocorre sem fator obstrutivo e sem refluxo associado.^{4,8}

REFERÊNCIAS

1. Gardner, E.; Gray, D.J.; O'Rahilly, R. Rins, ureteres e glândulas supra-renais. In: Gardner, E. Anatomia, 4^a ed. Rio de Janeiro: ed. Guanabara Koogan, 1988, p. 397-403.
2. Walsh, P.C.; Retik, A.B.; Vaughan Jr, E.D.; *et al.* Campbell's Urology, vol. 1, 7^a ed. Philadelphia: ed. Saunders, 1998, p. 69-117.
3. Moore, K.L. Anatomia orientada para a clínica, 3^a ed. Rio de Janeiro: ed. Guanabara Koogan, 1994.
4. Netter, F.H. Ilustrações Médicas – The Ciba Collection of Medical Illustrations, vol. 6, Rio de Janeiro: ed. Guanabara Koogan, 1976.
5. Junqueira, L.C.; Carneiro, J. Aparelho urinário. In: Junqueira, L.C.; Carneiro, J. Histologia Básica, 9^a ed. Rio de Janeiro: ed. Guanabara Koogan, 1999, p. 315-331.
6. Gardner, E.; Gray, D.J.; O'Rahilly, R. Bexiga urinária, ureter e uretra. In: Gardner, E. Anatomia, 4^a ed. Rio de Janeiro: ed. Guanabara Koogan, 1988, p. 450-455.
7. Tanagho, E.A. Anatomia do trato genitourinário. In: Tanagho, E.A.; McAninch, J.W. Smith Urologia Geral, 13^a ed. Rio de Janeiro: ed. Guanabara Koogan, 1994, p. 1-12.
8. Gearhart, J.P.; Rink, R.C.; Mouriouand, P.D.E. Pediatric Urology, 2^a ed. Philadelphia: ed. Saunders, 2010.

2. PATOGÊNESE DA INFECÇÃO DO TRATO URINÁRIO

Daltro Zunino

Os vários aspectos da infecção do trato urinário (ITU), tanto no adulto como na criança maior, são na sua grande maioria similares. Dado que em muitos locais a criança a partir dos 12 anos é considerada “adulta”, um equívoco evidente, é importante que nefrologistas e urologistas de adultos, além de clínicos gerais, estejam familiarizados com os aspectos. O significado clínico e consequências das várias formas de ITU devem ser determinados pela história, incluindo idade, sexo e dados clínicos, laboratoriais e de imagem. Entretanto uma condição é fundamental para todas as situações: diagnóstico e tratamento imediatos, possibilitando uma menor incidência de pacientes, crianças e adultos, com sequelas severas. O exame mais simples, rápido e eficaz, que permite diagnóstico e tratamento imediatos é a urinalise, que pode ser realizada imediatamente após a coleta do material, utilizando urina não centrifugada na câmara de Neubauer juntamente com as tiras urinárias.^{1,2} As crianças são as que correm o maior risco de adquirir lesões graves. Eventualmente, com episódios repetidos, se o acometimento é bilateral e associado a alterações como refluxo vesico-ureteral (RVU) maciço, processos obstrutivos ou outros fatores de risco, podem evoluir com hipertensão arterial e insuficiência renal crônica e terminal, geralmente na idade adulta, mas possível ainda em idade pré-escolar, escolar e na adolescência.² Para que se possa evitar tal evolução é necessário identificar as “más bactérias” e as pessoas susceptíveis. Os uropatógenos podem ser identificados pela cultura de urina e testes rápidos de reação em cadeia da polimerase (PCR), bem como estudos genéticos para avaliação dos fatores de virulência; a suscetibilidade do hospedeiro pelo estudo das quimiocinas urinárias e eventuais defeitos genéticos por técnicas imunológicas e moleculares.³

Existe consenso sobre a necessidade de se estabelecer inicialmente uma distinção clínica entre ITU complicada e não complicada, conforme a ausência ou presença de fatores de risco que eventualmente possam dificultar o tratamento ou provocar lesão renal com mais facilidade. Segundo vários autores essa distinção não é útil, nem por vezes possível no paciente ao acaso. Em um primeiro episódio isolado muitas vezes não é possível a distinção, já que existe o desconhecimento de aspectos anatômicos do trato urinário, embora se possa obter dados clínicos sobre vários fatores de risco, como *diabetes mellitus*, imunossupressão, história prévia de litíase, doenças císticas etc.^{1,4}

Para o atendimento e entendimento adequados dos vários aspectos da ITU, é necessário que se conheça sua fisiopatologia, semelhante tanto para as infecções não complicadas como complicadas. Esse conhecimento pode auxiliar no entendimento dos vários aspectos da história natural da ITU como terapêutica, recorrência, recidiva, localização do processo infeccioso e profilaxia. A interação entre bactéria infectante e características do epitélio urinário são a

base da patogênese nessa doença. Diversos fatores relacionados às bactérias predispoem ao desenvolvimento e recorrência da ITU, incluindo colonização periuretral e virulência da bactéria. As bactérias uropatogênicas derivadas da microbiota fecal apresentam características que permitem a aderência, crescimento, e resistência às defesas do hospedeiro, resultando em colonização e infecção do trato urinário baixo e alto. *E. coli* uropatogênica (UPEC) continua sendo o patógeno mais frequentemente isolado nos pacientes com ITU e a maioria dos dados bacterianos derivam de pesquisas com essa bactéria, responsável por 70-90% das ITUs não complicadas e 21-54% das complicadas, com *P. mirabilis* em segundo lugar.^{4,5,6} Em revisão de 124 uroculturas de pacientes ambulatoriais, realizadas no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário Evangélico de Curitiba, no período de março a outubro de 2008, *E. coli* foi isolada na urina de 87.7% das crianças e 37.2% dos adultos. Nos adultos *E. faecium* foi a segunda bactéria mais comum isolada, com 23.0% e nas crianças *P. mirabilis* com 4.8%, sendo a urinálise compatível com os dados da urocultura positiva.²

A via mais comum de infecção é a ascendente. As bactérias uropatogênicas oriundas da microbiota fecal colonizam as regiões perineal, vaginal, periuretral e uretral distal e, facilitadas pela turbulência do jato urinário, colonizam a uretra e posteriormente a bexiga, onde se multiplicam. As bactérias gram-negativas podem liberar endotoxinas localmente e induzir a produção de interleucinas, podendo atingir ureteres e rim. A ascensão ocorre por movimentos brownianos facilitados pelas fimbrias ou *pilli* e, em alguns casos pelo glicocálix extracelular. A ITU também ocorre pela via hematogênica, sendo que qualquer infecção sistêmica pode originar infecção renal, mas certos micro-organismos são particularmente invasivos, como *S. aureus*. A via linfática através dos canais linfáticos a partir dos intestinos para o rim é possível, mas duvidosa.⁵

Para o entendimento da fisiopatologia é importante saber das características da bactéria, da resistência e resposta do hospedeiro e detalhes fisiopatológicos de alguns tipos de ITU. Múltiplos fatores bacterianos, genéticos, biológicos, comportamentais e anomalias estruturais, congênitas ou adquiridas, predispoem crianças e adultos, principalmente mulheres jovens, a infecções complicadas e não complicadas.^{4,6,7,8} Os fatores bacterianos, fundamentais na etiopatogênese da ITU, serão abordados em outro capítulo.

Fatores do hospedeiro

Com relação aos fatores comportamentais, já se sabe da maior prevalência da ITU em relação ao início e maior atividade sexual e à utilização de espermicidas. Também o uso progressivo recente, inadequado ou necessário de antibióticos, alterando a microbiota vaginal normal constituída principalmente de lactobacilos e estafilococos, que estabelecem proteção à infecção com uropatógenos, facilita a colonização vaginal por *E. coli*.^{9, 10, 11, 12}

A disfunção miccional com manobras de contenção, tanto em adultos como em crianças, notadamente do sexo feminino, promovendo o esvaziamento vesical incompleto e a constipação intestinal, comprimindo e alterando o funcionamento normal da bexiga, favorecem a recorrência de ITU. O esvaziamento frequente e completo pela maior ingestão de líquido é um fator importante na cura da infecção.¹³ Crianças estão particularmente sujeitas a lesões permanentes, dadas as dificuldades do diagnóstico em

idade precoce e consequente demora no tratamento, além de apresentarem, mais frequentemente, anormalidades como processos obstrutivos, funcionais e orgânicos. Assim também em meninos não circuncidados é maior a prevalência de infecção.^{13,14,15,16} Em qualquer período etário, tanto no sexo masculino como feminino, toda e qualquer condição congênita ou adquirida, orgânica ou funcional, que promova, em maior ou menor grau, estase da urina, deve ser minuciosamente investigada, sempre no intuito de diminuir o risco de lesões futuras. Devem também ser investigados os fatores de risco, assim como as várias condições de imunossupressão.^{4,7}

Fatores genéticos

Entre os fatores genéticos observou-se a capacidade da proteína de Tamm-Horsfall e de receptores uroteliais celulares de competirem eficazmente na aderência de *E. coli* tipo fimbriada, constituindo-se em eficiente defesa contra a ITU causada por bactérias uropatogênicas. Recentemente em ratos *knockout* demonstrou-se a capacidade da proteína de Tamm-Horsfall de atuar como um receptor solúvel para *E. coli* tipo 1 fimbriada, auxiliando na eliminação de bactérias do trato urinário.¹⁷ Pacientes não secretores de antígenos do grupo sanguíneo ABO apresentam cistite recorrente com mais frequência. Mulheres e crianças com o fenótipo do grupo sanguíneo P₁ apresentam risco aumentado para pielonefrite recorrente, já que as células uroepiteliais desses pacientes mostram aumento da aderência das UPEC em relação às não secretoras, com reações inflamatórias e imunológicas.⁷ Avanços recentes sugerem o risco genético para infecções recorrentes em humanos, sendo que 6 dos 14 genes candidatos investigados podem estar associados em humanos.¹⁸

Fatores biológicos

A presença de fatores antibacterianos na urina e mucosa vesical contribuem para uma maior proteção contra bactérias uropatogênicas. A IgA secretória tem um papel importante na prevenção da adesão de patógenos às células do hospedeiro, com potencial na imunoterapia contra agentes infecciosos, não só no trato urinário assim como na superfície da mucosa de vários tecidos como o pulmão e o trato gastrointestinal.¹⁹ Assim também o pH ácido, concentração de ureia, osmolalidade e vários ácidos orgânicos evitam a multiplicação da maioria das bactérias no trato urinário.⁶ Anormalidades hormonais e metabólicas como gravidez, *diabetes mellitus* e diminuição de estrógenos em pacientes idosas, são fatores de risco para uma maior incidência e recorrência da ITU. Quanto à gravidez, evidências de que o parto possa estar associado a um processo inflamatório e nascimento prematuro, foram recentemente relatadas, utilizando a PCR e análise dos clones do RNA de bactérias até então não cultivadas do líquido amniótico, levando à possibilidade de tratamento com antibiótico nessas mulheres.²⁰ Este fato traz consequências para o futuro dessas crianças já que se sabe há muitos anos da possibilidade futura do desenvolvimento de hipertensão arterial e doença renal crônica.²¹ Talvez essa técnica, aplicada ao estudo das ITU, explique inúmeros aspectos ainda pouco conhecidos, como, por exemplo, as recorrências e recidivas nos episódios sintomáticos e assintomáticos, observados com tanta frequência na prática diária.²

Quadro. Fatores Moduladores de Risco para ITU

Comportamentais: atividade sexual, espermicidas, uso recente de antibióticos, obstipação intestinal, hábitos miccionais inadequados	Bacterianos: determinantes de virulência bacteriana de <i>E. coli</i> : fimbrias P, S, Dr, tipo 1; hemolisinas; aerobactina; resistência ao soro; antígenos O, K, H
Genéticos: aumento da aderência à célula epitelial, fatores antibacterianos na urina e mucosa vesical, antígenos não secretores do grupo sanguíneo ABO, fenótipo do grupo sanguíneo P1, cistite recorrente prévia, história familiar	
Biológicos: deficiência de estrógenos na menopausa, resposta imunológica e inflamatória, constituintes urinários, patógenos incomuns	
Estruturais: condições congênitas ou adquiridas, orgânicas ou funcionais, promovendo em maior ou menor grau obstrução ou estase da urina, associada ou não a alguns dos fatores de risco, assim como a várias condições que levam à imunossupressão	

Modificado de Hooton, T. Urinary tract infection in adults. In: Comprehensive Clinical Nephrology, Feehally, J.: Floege, J. & Johnson, R.J. cap 50, p. 603-614. 2007.

Etiologias bacterianas das infecções do trato urinário		
Infecções do Trato Urinário (%)		
	Não complicadas	Complicadas
Organismos		
Gram-Negativos		
<i>E. coli</i>	70 a 95	21 a 54
<i>P. mirabilis</i>	1 a 2	1 a 10
<i>Klebsiella spp.</i>	1 a 2	2 a 17
<i>Citrobacter spp.</i>	<1	5
<i>Enterobacter spp.</i>	<1	2 a 10
<i>P. aeruginosa</i>	<1	2 a 19
Outros	<1	6 a 20
Gram-Positivos		
<i>S. saprophyticus</i>	5 a 20	1 a 4
<i>Enterococcus spp.</i>	1 a 2	1 a 23
<i>Streptococcus</i> do Grupo B	<1	1 a 4
<i>S. aureus</i>	<1	1 a 2
Outros	<1	2

Tabela.: Etiologias Bacterianas de infecções do trato urinário. Obtido de Hooton, T. Urinary tract infections in adults. In: Comprehensive Clinical Nephrology, Feehally, J. Floege, J, Johnson, RJ. Cap 50. p. 603-614. 2008. (Dados para infecções complicadas de Nicolle LE: A practical guide to the management of complicated urinary tract infection. Drugs 1997;53:583-592.)

REFERÊNCIAS

1. Zunino D. Infecção do trato urinário. In: Nefrourologia pediátrica na prática diária. 1ª ed UFPR, Curitiba, p.17-31. 1993.
2. Riella MC. Princípios de nefrologia e distúrbios eletrolíticos. 5ª ed. na imprensa.
3. Godaly G, Svanborg G. Urinary tract infection revisited. *Kidney Int.*, v.71, p.721-723. 2007.
4. Hooton T. Urinary tract infections in adults In: *Comprehensive clinical nephrology*, cap.50, p.603-614. 2007.
5. Kunin CM. An overview of urinary tract infections. In: *Urinary tract infections. Detection, prevention and management*, 5th. ed. Williams & Wilkins, cap.1, p.1-21. 1997.
6. Kunin CM. Pathogenesis of infection: the invading microbes. In: *Urinary tract infections. Detection, prevention and management*, 5th. ed. Williams & Wilkins, p.279-333. 1997.
7. Kunin CM. Pathogenesis of infection - the host defenses. In: *Urinary tract infections. Detection, prevention and management*. 5th. ed. Williams & Wilkins, p.334-362. 1997.
8. Nicolle LE. A practical guide to the management of complicated urinary tract infection. *Drugs.*, v.53, p.583-592. 1997.
9. Sobel JD. Pathogenesis of urinary tract infection: Role of host defenses. *Infect Dis Clin North Am.*, v.11, p.531-549. 1997.
10. Tchoudomirova K, Mardh PA, Kallings I, Nilsson S, Heidelberg D. History, clinical findings, sexual behavior and hygiene habits in women with and without recurrent episodes of urinary symptoms. *Acta Obstet Gynecol Scand.*, v.77(6), p.654-659. 1998.
11. Tempera G, Fumeri PM, Cianci A, Incógnito, Marana MR, Drago F. The impact of prulifloxacin on vaginal lactobacillus micromicrobiota: an in vivo study. *J Chemotherapy*, v.21(6), p.648-650.
12. Osset J, Bartolomé RM, Garcia E, Andreu A. Assesment of the capacity of lactobacillus to inhibit the growth of uropathogens and block their adhesion to vaginal epithelial cells. *J. Infect. Dis.*, v.183(3), p.485-491.
13. O'Grady F, Cattel Wr. Cinetics of urinary tract infection: II. The bladder. *Br. J. Urol.*, v.38, p.156-962. 1966.
14. Wiswel TE. Prepuce presence portends prevalence of potentially periculou periuretral pathogens. *J. Urol.*, v.148, p.739-742. 1992.
15. Wan J, Kapinski R, Greenfield S. Toilet habits of children evaluated of urinary tract infection. *J. Urol.* v.154, p.797-799. 1995.
16. Singh-Grewal D, Macdess J, Craig J. Circuncision for the prevention of urinary tract infections in boys: a systematic review of randomised trials: observational studies. *Arch. Dis. Child*, v.90, p.853-858. 2005.

17. Bates JM, Raffi HM, Prasad K, Mascarenhas R, Laszik Z, Maeda M, Hultgren SJ, Kumar S. Tamm-Horsfall protein knockout mice are more prone to urinary tract infection: rapid communication. *Kid. Int.*, 65(3), p.791-797. 2004.
18. Zaffanelo M, Malerba G, Cataldi L, Antoniazzi F, Franchini M, Monti E, Fanos V. Genetic risk for recurrent urinary tract infection in humans: a systematic review. *J. Biochem Biotechnol.*, 321082, Epub mar 30. 2010.
19. Svanborg C, Godaly G, Corthési B. Role of secretory immunoglobulin A and secretory component in the protection of mucosal surfaces. *Futura Microbiol.* v.5(5), p.817-829. May 2010.
20. Yiping WH, Tao S, Chung P, Buhimschi IA, Buhimschi CS. Uncultivated bacteria as etiologic agents of intra-amniotic inflammation leading to preterm birth. *J. Clin. Microbiol.* v.1, p38-47. Jan 2009.
21. Basiott M, Giapros V, Kostoula A, Cholevas V, Andronikou S. Growth restriction at birth and kidney function during childhood. *A. J. Kidney Dis.* v.549, p.850-858. Nov 2009.

3. EPIDEMIOLOGIA E ETIOLOGIA DAS INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO

Lauro Santos Filho

Introdução

A cada ano ocorrem aproximadamente 6-7 milhões de consultas médicas e um milhão de atendimentos médicos de emergência em decorrência de Infecções do Trato Urinário (ITU), resultando assim em cerca de 100.000 hospitalizações¹. Por outro lado, ITU associadas a uso de catéter vesical ocorrem em 40% de todas as infecções hospitalares e constituem uma importante fonte de septicemia em pacientes hospitalizados, elevando de maneira significativa a morbidade e utilização de serviços de saúde, bem como uma elevação dos custos estimados atualmente em um bilhão por ano².

São consideradas as infecções bacterianas de ocorrência mais comum, sendo conseqüentemente o exame microbiológico solicitado com maior frequência. São geralmente associadas com uma morbidade mínima, excetuando algumas subpopulações específicas com características próprias. No entanto existe uma ausência significativa de dados confirmados com acurácia sua incidência, assim como não são listados os fatores que aumentam sua ocorrência e as sequelas decorrentes dessa patologia a longo prazo.

É necessária portanto a obtenção de dados confiáveis apontando a incidência de ITU sintomáticas e pielonefrite na população em geral, considerando que, em decorrência de algumas patologias, existe ainda o aumento no número de indivíduos imunocomprometidos e com elevado risco potencial de adquirir esse tipo de infecção. Pesquisas devem ser conduzidas abordando com exatidão a epidemiologia das ITUs no sentido de se verificar a possível ocorrência de novos uropatógenos.

A bactéria *Escherichia coli* permanece como o uropatógeno predominante nesses casos, mas estão ocorrendo importantes mudanças no padrão de sensibilidade desses patógenos mais comuns alterando substancialmente a terapia empírica tradicional e constituindo-se em importante impacto no tratamento rotineiro das ITU. Resistência a sulfonamidas, ampicilina e cefalosporinas têm levado à redução no uso desses agentes e a resistência emergente ao sulfametoxazol-trimetoprim, está relacionada a significantes implicações clínicas. Desse modo, agentes antimicrobianos alternativos que exibem continuada atividade “*in vitro*” contra a maioria dos patógenos causadores de ITU não complicadas (nitrofurantoina, fluoroquinolonas, fosfomicina) ou ITU complicadas (fluoroquinolonas, aminoglicosídeos e cefalosporinas de terceira geração) estão sendo utilizados com aumentada frequência. Finalmente, para muitos tipos de ITU, estudos clínicos têm demonstrado a eficácia de tratamentos com regimes de curta duração utilizando antimicrobianos por via oral.

Epidemiologia

ITUs são infecções extremamente comuns em mulheres, afetando uma em cada quatro mulheres antes da idade de 24 anos. Aproximadamente 50% das mulheres têm pelo menos uma infecção urinária sintomática durante sua vida^{3,4,5} e grande parte delas apresentam episódios recorrentes⁶. Infecções nos homens são incomuns ou menos frequentes até a idade 50-60 anos, quando começa a haver a hiperplasia prostática que conduz a uma diminuição do fluxo urinário.

A predisposição à ocorrência de ITU pode ser influenciada por uma variedade de fatores incluindo aspectos genéticos, biológicos e anatômicos⁷ bem como fatores comportamentais específicos, destacando-se hábitos sexuais, e utilização de preservativos ou espermicidas como métodos de contracepção^{8,9}. Por outro lado, a utilização preliminar de drogas antimicrobianas também aumenta a predisposição à ocorrência de ITU¹⁰.

Um fator de risco importante para a bacteriúria assintomática inclui idade, relações sexuais, gravidez e diabetes^{11,12}. A morbidade e consequências das ITUs dependem do local específico da infecção, idade do paciente e outras características do hospedeiro. Cistite aguda não complicada em pacientes saudáveis, e mulheres não grávidas é geralmente considerada uma condição benigna de curta duração. No entanto cerca de 33% das mulheres com ITU aguda não complicada têm recorrências frequentes. Por outro lado, ITU na gravidez, sintomática ou não, sempre progride para pielonefrite e aumento do risco de parto prematuro, mortalidade fetal, ou hipertensão induzida^{13,14}.

De maneira semelhante ITU em pacientes pediátricos podem estar associadas com significativa morbidade, incluindo alterações na função renal sempre que acontecem episódios repetidos de infecções do trato respiratório superior.

Catéter - A bacteriúria associada ao uso de catéter é a infecção mais comum associada aos cuidados de saúde em todo o mundo¹⁵ e ocorre em até mais de 40% de infecções adquiridas em hospital. Em geral, de 15% a 25% de pacientes hospitalizados fazem uso de catéter uretral em algum momento durante sua permanência no hospital¹⁶, e a taxa de uso de catéter parece estar aumentando¹⁷. A maioria dos pacientes são cateterizados durante apenas 2-4 dias¹⁸, havendo porém casos de longa duração que aumentam substancialmente a ocorrência da ITU.

O fator predisponente mais importante para a ITU nosocomial é a cateterização urinária que altera os mecanismos de defesa do hospedeiro e permite um acesso mais fácil de uropatógenos até a bexiga. O catéter uretral de demora introduz, a partir da microbiota normal do intestino ou da pele, um inóculo de bactérias na bexiga na hora de sua inserção¹⁹, facilitando a progressão de uropatógenos do meato urinário para a bexiga através da interface catéter-mucosa, permitindo assim o espalhamento intraluminal de patógenos para a bexiga. Além disso, existem evidências de que as células uroepiteliais de pacientes cateterizados são mais receptivas para se ligarem às bactérias no começo de infecção²⁰.

Gravidez - A infecção do trato urinário representa uma das doenças infecciosas mais comuns durante a gestação, com frequência variando de 5 a 10%²¹. Essa infecção pode ser sintomática ou assintomática, notando-se na gravidez a ocorrência de fatores que facilitam a mudança de infecções assintomáticas para sintomáticas²². Além da incidência aumentada dessas infecções entre grávidas, é justamente neste período que o arsenal terapêutico antimicrobiano e as possibilidades profiláticas são mais restritas, considerando-se a toxicidade das drogas para o feto.

As transformações anatômicas e fisiológicas que ocorrem no trato urinário durante a gravidez facilitam o desenvolvimento de infecções urinárias sintomáticas em mulheres, que muitas vezes já apresentam bacteriúria no momento da concepção²³. A compressão extrínseca dos ureteres e a redução da atividade peristáltica provocada pela progesterona provocam dilatação progressiva das pelvis renais e ureteres. Essas mudanças, junto com o aumento do débito urinário, levam à estase urinária. A estase ainda é favorecida pela diminuição do tônus vesical, com subsequente aumento da capacidade da bexiga e seu esvaziamento incompleto, facilitando o refluxo vesicoureteral e pielonefrites. Além disso, o rim perde sua capacidade máxima de concentrar a urina, reduzindo sua atividade antibacteriana, e passa a excretar quantidades maiores de glicose e aminoácidos, fornecendo meio apropriado para a proliferação bacteriana^{22,24,25}.

O perfil microbiológico das infecções urinárias na gravidez é bem conhecido. A *Escherichia coli* é o uropatógeno mais comum, sendo responsável por mais de três quartos dos casos. Por isso, a terapêutica inicial necessariamente deve levar em consideração o padrão de sensibilidade desse micro-organismo aos antimicrobianos propostos²⁶.

A frequência e a gravidade das infecções urinárias durante a gravidez têm sido reconhecidas há mais de um século. Além de constituírem problema relativamente comum no período gestacional, muitas questões sobre esse assunto ainda permanecem controversas e tornam-se motivo de investigação clínica²².

Para se reduzir as taxas de infecção urinária e suas complicações durante a gravidez, várias etapas devem ser consideradas, em diversos pontos da assistência obstétrica tais como: a) solicitar urocultura precocemente no pré-natal, para diagnosticar e tratar os casos de bacteriúria assintomática; b) utilizar o tratamento antimicrobiano mais eficaz; c) propiciar seguimento em pré-natal de alto risco e garantir o tratamento das complicações maternas e perinatais, em hospital com condições adequadas para isso.

Infecção Hospitalar - Os pacientes internados com infecção urinária podem evoluir para sepse, sendo essencial o rápido início de terapia antimicrobiana apropriada para o combate ao micro-organismo agressor²⁷.

Nestas situações, é importante e necessária a informação sobre a sensibilidade dos micro-organismos mais frequentemente isolados na instituição, obtida das Comissões de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH), para que seja instituída uma terapêutica empírica até que se obtenha o resultado das culturas^{28,29}.

Infecções do trato urinário respondem anualmente por mais de 100,000 admissões de hospital³⁰. Eles também respondem por pelo menos 40% de todas as infecções adquiridas nos hospitais e estão na maioria de casos associadas ao uso de catéter³¹. ITU hospitalar acomete cerca de 25% de pacientes que requerem uso de catéter urinário por mais de 7 dias, com um risco diário de 5%³². Foi estimado que um episódio de bacteriúria de origem nosocomial acrescenta nos EUA de \$500-1.000 dólares ao custo direto de hospitalização³³. Além disso, os patógenos são completamente expostos ao ambiente hospitalar, incluindo a pressão seletiva do uso de antimicrobianos ou substâncias antissépticas. Nesse contexto as ITUs hospitalares constituem talvez o maior reservatório institucional de patógenos antibiótico-resistentes³².

Etiologia: patógenos tradicionais e emergentes

Patogênese das infecções urinárias - Os micro-organismos podem eventualmente atingir o trato urinário por via hematogênica ou linfática, no entanto as evidências clínicas demonstram que a ascensão ou progressão de bactérias a partir da uretra é a via que mais frequentemente conduz a uma ITU, especialmente por organismos de origem entérica. Isto fornece uma explicação lógica para a maior frequência de ITU em mulheres que em homens e para o risco aumentado de infecção após cateterização ou instrumentação. Uma única inserção de um catéter em pacientes ambulatoriais resulta em infecção urinária em 1-2% de casos. Catéteres de demora com sistemas de drenagem aberto resultam em bacteriúria em quase 100% de casos dentro de 3-4 dias, e mesmo o uso atualmente institucionalizado do sistema de coleta fechado, inclusive uma válvula que previne fluxo retrógrado, apenas retarda o começo de infecção. Considera-se que as bactérias migram dentro da interface entre a uretra e o catéter, e que isto conduz ao desenvolvimento de bacteriúria em quase todos pacientes dentro de aproximadamente 4 semanas. Infecção hematogênica da área urinária é restringida a algumas bactérias relativamente incomuns, tais como *Staphylococcus aureus*, *Candida spp.*, *Salmonella spp.* e *Mycobacterium tuberculosis* que estão causando infecções primárias em outro lugar no corpo.

A etiologia das ITUs tem sido considerada desde muitas décadas como bem estabelecida e consistente, permanecendo a *Escherichia coli* como o patógeno predominante. Embora novos patógenos tenham surgido com acentuada frequência em outros tipos de doenças infecciosas, as pesquisas para identificar novos agentes etiológicos como causadores das síndromes urinárias tem sido limitado. A partir de recentes avanços na biologia molecular indicadores para uma variedade de novos patógenos potenciais estão sendo identificados, criando uma expectativa de que a identificação de novos agentes etiológicos nos próximos anos seja substancial.

Quando se trata de infecções agudas, não complicadas e de origem comunitária, o espectro de agentes etiológicos é considerado semelhante tanto nas infecções do trato urinário baixo (cistite) como nas do trato urinário alto (pielonefrite), destacando-se a *Escherichia coli* (70 a 95%), *Staphylococcus saprophyticus* (5 a 20%) e, ocasionalmente, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella spp* e espécies de *Enterococcus*, principalmente *E. faecalis*³⁴.

Os patógenos tradicionalmente associados com ITU estão mudando suas características, particularmente com novos fatores de agressão e aparecimento de resistência aos antimicrobianos de rotina. Como resultado, o tratamento empírico deverá ser alterado no sentido de limitar a ocorrência de resistência e prevenir o seu espalhamento.

A etiologia da ITU será também afetada por alguns fatores complicadores inerentes ao próprio hospedeiro, tais como extremos de idade (pediátrico ou idoso), gravidez, presença de diabetes, alterações neurológicas e cateterização. Conseqüentemente, infecções complicadas terão uma etiologia mais diversa do que infecções não complicadas, e organismos que raramente causam doença em pacientes sadios podem causar agressão significativa em hospedeiros com doença de base anatômica, metabólica ou imunológica³⁵.

Ao contrário de outras infecções comunitárias e hospitalares, existem poucos novos patógenos identificados como causa importante das ITUs e nesse contexto a *Escherichia coli* permanece como o agente etiológico mais comum, responsável por 80% de todas as infecções³⁴. Os outros uropatógenos mais comuns incluem *Staphylococcus saprophyticus* (15%) em infecções comunitárias não complicadas, e outros bastonetes gram-negativos (*Klebsiella*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, e *Serratia*), assim como outros cocos gram-positivos (*Enterococcus*, *Staphylococcus aureus*, e *Streptococcus agalactiae*) em infecções complicadas³⁶.

Entre pacientes cateterizados e com *diabetes mellitus*, ITU causadas por amostras de *Candida* ocorrem com aumentada frequência e requerem uma abordagem especial. Outros patógenos emergentes em pacientes imunocomprometidos são as amostras de *Enterococcus* resistentes à vancomicina.

Finalmente, a evolução clínica das ITUs são significativas, existindo uma alta incidência de infecções sintomáticas necessitando terapêutica antibiótica, bem como um aumento na população de pacientes altamente suscetíveis que requerem tratamento específico que resultam em um aumentado risco do aparecimento de resistência antimicrobiana entre os uropatógenos comuns. Como resultado, existe uma necessidade crescente de se adotar terapia apropriada com agentes que possam maximizar o sucesso clínico no tratamento de ITU de origem comunitária ou hospitalar, e ao mesmo tempo minimizar o risco do desenvolvimento de resistência³⁷.

A maioria das UTIs é composta de casos não complicados, considerando-se que são considerados complicados quando os pacientes tiverem anormalidades funcionais, metabólicas, ou estruturais. Em comparação, a etiologia de UTI complicada é mais diversa e mais frequentemente de natureza polimicrobiana. Pacientes com diabetes são mais prováveis de contraírem infecções que envolvem amostras de *Klebsiella* spp. Enquanto que pacientes com catéteres urinários são diagnosticados mais frequentemente com infecção causadas por *Pseudomonas*. Embora tenha havido mudanças mínimas nos uropatógenos predominantes durante as últimas décadas, houve mudanças significantes nos padrões de resistência para antimicrobianos.

Desse modo, as mudanças em padrões de resistência precisam ser consideradas ao determinar a terapia empírica mais apropriada e isso é particularmente importante devido à resistência crescente para sulfametoxazol-trimetoprim. A necessidade para dados de vigilância precisos e atualizados da população é necessário, particularmente levando em conta a resistência aos antimicrobianos, com finalidade de orientar melhor a seleção de terapia empírica para UTI.

REFERÊNCIAS

1. Schappert SM. Ambulatory care visits to physician offices, hospital outpatient departments, and emergency departments: United States, 1997. *Vital Health Stat.* 13. 1999;143: i-iv,1-39.
2. Rosenberg M. Pharmacoeconomics of treating uncomplicated urinary tract infections. *Int J Antimicrob Agents.* 1999;11:247-251.
3. Carlson KJ, Mulley AG. Management of acute dysuria: a decision analysis model of alternative strategies. *Ann Intern Med.* 1985;102:244-249.
4. Kunin CM. Urinary tract infections in females. *Clin Infect Dis.* 1994;18:1-12.
5. Engel JD, Schaeffer AJ. Evaluation of and antimicrobial therapy for recurrent urinary tract infections in women. *UrolClin North Am.* 1998;25:685-701.
6. Foxman B, Barlow R, d'Arcy H, *et al.* Urinary tract infection: estimated incidence and associated costs. *Ann Epidemiol.* 2000;10:509-515.
7. Lomberg H, Cedergren B, Leffler H, *et al.* Influence of blood group on the availability of receptors for attachment of uropathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun* 1986;51: 919-926.
8. Scholes D, Hooton TM, Roberts DL, *et al.* Risk factors for recurrent urinary tract infection in young women. Presented at the 35th Annual Meeting of the Infectious Diseases Society of America; September 13-16, 1997; San Francisco, California.
9. Reid G. Potential preventive strategies and therapies in urinary tract infection. *World J Urol.* 1999;17:359-363.
10. Nicolle LE. Urinary tract infection in the elderly. *J Antimicrob Chemother.* 1994;233:99-109.
11. Kinningham RB. Asymptomatic bacteriuria in pregnancy. *Am Fam Physician.* 1993; 47:1232-1238.
12. Ingberg CM, Palmer M, Schvarcz E, Aman J. Prevalence of urinary tract symptoms in long-standing type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Metab.* 1998;24:351-354.
13. Grió R, Porpiglia M, Vetro E, *et al.* Asymptomatic bacteriuria in pregnancy: maternal and fetal complications. *Panminerva Med.* 1994;36:198-200.
14. Schieve LA, Handler A, Hershow R, *et al.* Urinary tract infection during pregnancy: its association with maternal morbidity and perinatal outcome. *Am J Public Health.* 1994; 84:405-410.
15. Tambyah PA. Catheter-associated urinary tract infections: diagnosis and prophylaxis. *Int J Antimicrob Agents.* 2004; 24(Suppl 1):S44-S48.
16. Garibaldi RA, Burke JP, Dickman ML, *et al.* Factors predisposing to bacteriuria during indwelling urethral catheterization. *N Engl J Med.* 1974; 291:215-219.
17. Weinstein JW, Mazon D, Pantelick E, *et al.* A decade of prevalence surveys in a tertiary-care center: trends in nosocomial infection rates, device utilization, and patient acuity. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1999; 20:543-548.

18. Warren JW. Catheter-associated urinary tract infections. *Infect Dis Clin North Am.* 1997; 11:609–622.
19. Cohen A. A microbiological comparison of a povidone-iodine lubricating gel and a control as catheter lubricants. *J Hosp Infect.* 1985; 6(Suppl A):155–161.
20. Daifuku R, Stamm WE. Bacterial adherence to bladder uroepithelial cells in catheter-associated urinary tract infection. *N Engl J Med.* 1986; 314:1208–1213.
21. Andriole VT. Urinary tract infections in the 90s: pathogenesis and management. *Infection.* 1992; 20 (Suppl 4):S251-6.
22. Andriole VT, Patterson TF. Epidemiology, natural history, and management of urinary tract infections in pregnancy. *Med Clin North Am.* 1991; 75:359-73.
23. Stenqvist K, Dahlen-Nilsson I, Lidin-Janson G, *et al.* Bacteriuria in pregnancy. Frequency and risk of acquisition. *Am J Epidemiol.* 1989; 129:372-9.
24. Mikhail MS, Anyaegbunam A. Lower urinary tract dysfunction in pregnancy: a review. *Obstet Gynecol Survey.* 1995; 50:675-83.
25. Lucas MJ, Cunningham FG. Urinary infection in pregnancy. *Clin Obstet Gynecol.* 1993; 36:855-68.
26. Duarte G, Matos MA, Cunha SP, Nogueira AA, Mauad Filho F, Berezowski AT. Infecção urinária durante a gravidez. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 1997; 19:495-503.
27. Fihn SD. Clinical practice. Acute uncomplicated urinary tract infection in women. *N Engl J Med.* 2003; 349: 259-66.
28. Carton JA, Gomez Moro MB, Gonzalez Lopez B, Maradona JA, Diego I, *et al.* Nosocomially acquired infection of the urinary tract. *Enferm Infec Microbiol Clin.* 1989; 7:408-14.
29. Carson CC 3rd. Nosocomial urinary tract infections. *Surg Clin North Am.* 1988; 68:1147-55.
30. Foxman B. Epidemiology of urinary tract infection: incidence, morbidity and economic costs. *Am J Med.* 2002. 113 (Suppl. 1A): 5S-13S.
31. Gales AC, Jones RN, Gordon KA, Sader HS, Wilke WW, Beach ML, Pfaller MA, Doern GV. Activity and spectrum of 22 antimicrobial agents tested against urinary tract infection pathogens in hospitalized patients in Latin America: report from the second year of the SENTRY antimicrobial surveillance program (1998). *J Antimicrob Chemother.* 2000; 45(3):295-303.
32. Maki DG, Tambyah PA. Engineering out the risk for infection with urinary catheters. *Emerg Infect Dis.* 2001;7(2):342-7.
33. Patton JP, Nash DB, Abrutyn E. Urinary tract infection: economic considerations. *Med Clin North Am.* 1991;75(2):495-513.
34. Hooton TM, Stamm WE. Diagnosis and treatment of uncomplicated urinary tract infection. *Infect Dis Clin North Am.* 1997; 11:551-81.
35. Ronald, A. The Etiology of Urinary Tract Infection: Traditional and Emerging Pathogens *Am J Med.* 2002;113(Suppl. 1A):14S–19S.
36. Hooton TM. Practice guidelines for urinary tract infections in the era of managed care. *Int J Antimicrob Agents.* 1999; 11:241–245.
37. Gupta, K. Addressing Antibiotic Resistance - *Am J Med.* 2002. 113 (Suppl. 1A): 29S-34S.

4. MICROBIOTA NORMAL DO TRATO URINÁRIO E GENITAL

Larissa Bail

Trato urinário

O aparelho urinário localizado acima da uretra é considerado estéril, fato esse responsável pelo caráter também estéril da urina produzida por indivíduos saudáveis. No entanto, a mesma pode se tornar contaminada com membros da microbiota cutânea no final da passagem através da uretra. Alguns dos micro-organismos responsáveis pela microbiota residente da porção distal uretral que colonizam o epitélio são: estafilococos coagulase-negativa (exceto *Staphylococcus saprophyticus*), estreptococos do grupo viridans e não hemolíticos, lactobacilos, bacilos difteroides (*Corynebacterium* spp), *Neisseria* spp. não patogênica, cocos anaeróbios, *Propionibacterium* spp., bacilos gram-negativos anaeróbios, *Mycobacterium* spp. comensal e *Mycoplasma* spp. comensal.¹ Alguns micro-organismos considerados patogênicos, como Enterobactérias, leveduras e *Gardnerella vaginalis*, também podem colonizar o canal uretral de forma transitória.

Trato genital masculino

A uretra masculina é colonizada por várias espécies bacterianas comensais, as quais previnem a aderência e o desenvolvimento de infecções por micro-organismos patogênicos. O orifício externo da uretra distal é o segmento com a maior concentração bacteriana, seguido pela fossa navicular e a uretra peniana.² O principal grupo de micro-organismos encontrado no trato genital masculino são os gram-positivos, representados principalmente por *Estafilococos* coagulase-negativa, *Streptococos* do grupo viridans, *Corynebacterium* spp. e *Enterococcus* spp, além de várias espécies de anaeróbios. A presença de micro-organismos gram-negativos é rara.²

Trato genital feminino

A microbiota vaginal de mulheres saudáveis é formada por um ecossistema balanceado, onde uma ampla variedade bacteriana desempenha importante papel na proteção contra colonização por micro-organismos patogênicos, incluindo aqueles responsáveis por vaginose bacteriana, infecções do trato urinário, doenças sexualmente transmissíveis e infecções por leveduras.³ Assim, a presença da microbiota protetora garante qualidade de vida tanto para a mulher quanto para o desenvolvimento fetal.⁴

Vários fatores são responsáveis por diferenças na colonização vaginal, como idade, menstruação, atividade sexual, gravidez, uso de contraceptivos orais, terapia de reposição hormonal, espermicidas, imunossupressão, manipulação cirúrgica vaginal e uso de antimicrobianos de amplo espectro.^{5,6} As infecções do trato urogenital estão relacionadas com as referidas variações na colonização vaginal, onde a diminuição ou ausência de micro-organismos protetores dá lugar ao desenvolvimento daqueles considerados patogênicos.

A composição variada de micro-organismos sofre modificações durante os diferentes períodos da vida da mulher. O fato é estreitamente influenciado pela variação da produção dos hormônios sexuais. Assim, poucas semanas após o nascimento, a vagina de uma menina recém-nascida é colonizada por *Corynebacterium* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Escherichia coli* e lactobacilos. A população consegue se desenvolver porque os estrógenos, hormônios sexuais femininos fabricados pelos ovários, são transferidos do sangue materno ao fetal, promovendo o acúmulo de glicogênio nas células que revestem a vagina. Os lactobacilos metabolizam o glicogênio em ácido láctico, o pH da vagina torna-se ácido e o ambiente impede a colonização por outras bactérias, bem como por leveduras potencialmente patogênicas, como *Candida albicans*.⁷

Várias semanas após o nascimento, os efeitos fisiológicos dos estrógenos diminuem, diminuindo também a quantidade de lactobacilos, que passam a dar lugar às coccobactérias e uma série de cocos e bacilos. Como resultado, o pH da vagina torna-se mais neutro até a puberdade. Na puberdade e durante toda a fase adulta, o aumento nos níveis de estrogênio fazem com que os lactobacilos colonizem novamente a vagina, tornando-a ácida (FIGURA 1). Quando a mulher atinge a menopausa, o pH vaginal volta a ficar neutro devido à queda dos níveis de estrogênio e diminuição dos lactobacilos. A microbiota volta a apresentar as mesmas características do período infantil.⁷

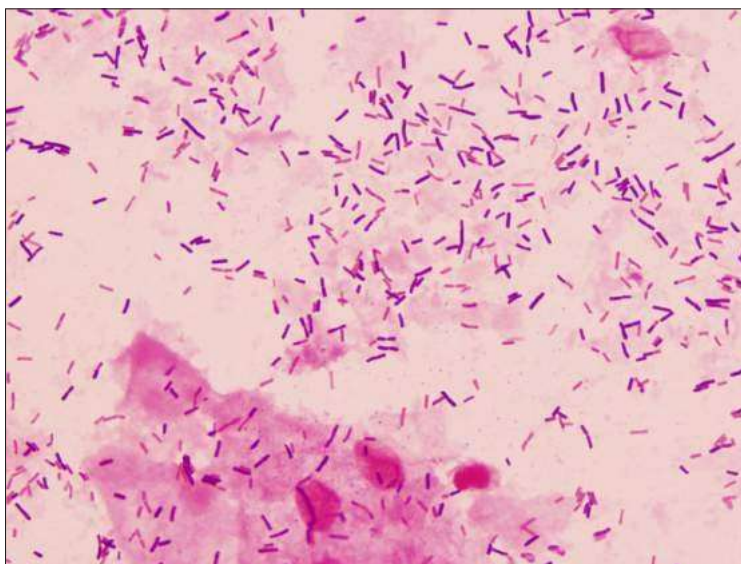


Figura 1. – Presença de lactobacilos em secreção vaginal

Espécies de lactobacilos no trato geniturinário feminino

Os lactobacilos são bacilos gram-positivos, catalase negativos, não formadores de esporos, anaeróbios facultativos na maioria, embora várias espécies se desenvolvam melhor em condições de anaerobiose ou microaerofilia, sobretudo no isolamento primário. Foram primeiramente descritos em 1884 por Albert Doderlein, assim ficando conhecidos também como Bacilos de Doderlein. Em 1928, S. Thomas identificou os bacilos através de métodos bioquímicos como sendo *Lactobacillus acidophilus*. Constituem a parte dominante da microbiota vaginal, em uma quantidade que varia de 10^7 a 10^8 UFC/g de fluido vaginal em mulheres saudáveis pré-menopausa.⁶

A microbiota vaginal normal é constituída por diferentes espécies de lactobacilos, embora vários estudos já tenham demonstrado que a colonização é formada por uma ou no máximo duas espécies diferentes em cada mulher.^{8,9,10} Estabelecer a identidade das espécies de lactobacilos que colonizam o aparelho genital feminino é de extrema importância, já que estudos clínicos têm demonstrado uma associação entre a presença de determinadas espécies e a diminuição na prevalência de gonorreia, vaginose bacteriana e HIV.⁸

O principal problema encontrado na diferenciação entre as espécies acha-se na metodologia utilizada. As identificações baseadas em métodos fenotípicos, cultura-dependentes, possuem acurácia e reprodutibilidade limitadas para estes micro-organismos, já que muitas espécies estreitamente relacionadas não podem ser diferenciadas e outras não são cultiváveis nos meios de cultura normalmente empregados. Entre as espécies mais descritas utilizando-se métodos fenotípicos estão *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus jensenii*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus vaginalis* e *Lactobacillus salivarius*.¹⁰

Métodos moleculares, entre eles os baseados na análise da sequência de genes 16S rRNA dos micro-organismos, possibilitaram superar muitas das limitações dos métodos baseados no desenvolvimento dos micro-organismos em meios de cultura, e várias espécies não citadas anteriormente começaram a serem descritas.¹¹

Como exemplo pode-se citar as espécies altamente relacionadas incluídas no complexo *Lactobacillus acidophilus*, a saber: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus amylovorus*, *Lactobacillus gallinarum*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus amyolyticus* e *Lactobacillus iners*.¹²

Em um estudo realizado por Antonio, Hawes e Hillier *et al.* (1999), observou-se que as principais espécies isoladas em mulheres em idade fértil foram *Lactobacillus crispatus* e *Lactobacillus jensenii*, não sendo encontrado nenhum isolado de *L. acidophilus*. Resultado semelhante foi alcançado por Kiss *et al.* (2007) em um estudo realizado com gestantes no primeiro trimestre de gravidez, onde *L. crispatus*, *L. gasseri* e *L. jensenii* foram encontradas em 57,1%, 19,8% e 18,2% dos casos, respectivamente, sem nenhum isolado de *L. acidophilus*. Em 2007, Jakobsson e Forsum encontraram *L. iners* como parte dominante da microbiota vaginal quando a mesma está em uma fase

transitória de um estado anormal para normal, provavelmente devido ao tratamento empregado ou a mudanças fisiológicas como a variação nos níveis de estrógenos. A espécie foi primeiramente descrita como parte predominante da microbiota vaginal normal em um estudo molecular realizado por Vásquez *et al.* em 2002.

Os lactobacilos como protetores do trato geniturinário feminino

Os lactobacilos de origem urovaginal possuem propriedades adesivas que possibilitam co-habitar e/ou prevenir a colonização de células uroepiteliais por uropatógenos. O ácido lipoteicoico presente na parede bacteriana desses micro-organismos parece ser o responsável pela aderência às células uroepiteliais.¹⁴ Além disso, os lactobacilos possuem uma superfície hidrofóbica e podem coagregar com alguns patógenos do trato geniturinário como *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae*, *Gardnerella vaginalis* e *Candida albicans*.⁶

Além da característica competitiva pelo epitélio frente aos micro-organismos patogênicos, os lactobacilos possuem a capacidade de estimular a imunidade de mucosa e/ou produzir substâncias antimicrobianas, entre elas o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), ácido láctico, ácido acético e bacteriocinas.

Produção de peróxido de hidrogênio (H_2O_2)

Mecanismo de defesa considerado não específico do ecossistema normal vaginal, associado com a diminuição na ocorrência de vaginose bacteriana. Espécies de lactobacilos produtoras de H_2O_2 são encontradas na vagina da maioria das mulheres normais, porém com frequência muito menor naquelas mulheres com vaginose bacteriana, onde espécies de lactobacilos anaeróbios que não produzem H_2O_2 têm sido encontradas em maior quantidade. Um exemplo do fenômeno é observado na presença de *L. crispatus* e *L. jensenii*, espécies mais comuns do trato genital feminino e inibidoras do crescimento de gonococos pela produção de H_2O_2 .¹⁴

Produção de ácidos

Os principais ácidos produzidos pelos lactobacilos são ácido láctico e ácido acético, os quais apresentam sinergismo na ação. Esta produção mantém o pH vaginal inferior a 4,5, criando um ambiente impróprio para o crescimento da maioria das bactérias patogênicas. Alakomi *et al.* (2000) afirmam que a produção de ácido láctico pelos lactobacilos atua como um permeabilizador da membrana externa das bactérias gram-negativas, permitindo que outras substâncias antimicrobianas produzidas pelo hospedeiro penetrem e aumentem a sensibilidade dos patógenos às moléculas antimicrobianas.¹⁵

Produção de bacteriocinas

Bacteriocinas são moléculas proteicas com atividade antimicrobiana produzidas pelas bactérias, dispostas em classes que as diferem de acordo com o tamanho de seus peptídeos e proteínas, alvo microbiano e mecanismo de ação e imunidade. O primeiro sítio de ação das bacteriocinas é a membrana citoplasmática de bactérias sensíveis, onde discretos poros são formados para a entrada na célula. A produção de bacteriocinas acha-se associada ao crescimento bacteriano, é dependente de energia, fonte de nitrogênio e condições ambientais e é controlada por diferentes mecanismos regulatórios. Sabe-se também que, tanto a atividade do H_2O_2 quanto das bacteriocinas são pH dependentes. Quando o pH vaginal aumenta, as bacteriocinas perdem o seu efeito, o H_2O_2 é degradado, e os lactobacilos não conseguem competir com outras bactérias, como *Gardnerella vaginalis*.¹⁶

Além das características citadas, os lactobacilos também são capazes de modular e/ou estimular uma resposta imune no hospedeiro. Espécies produtoras de H_2O_2 foram capazes de aumentar a produção de TNF- α e IL-1 α , ativar NF- κ B em células THP-1, e aumentar a produção de TNF- α em monócitos humanos.¹⁷ Outra característica importante é a produção de biosurfactantes, que são substâncias como as bacteriocinas, capazes de inibir o crescimento de micro-organismos patogênicos.

Embora todas as substâncias e estímulos da resposta imune sejam essenciais para manter um ecossistema vaginal saudável, Aroutcheva *et al.* (2001) concluíram que a mera presença de lactobacilos e a habilidade dos mesmos em produzir ácido lático e outros ácidos orgânicos não é o único fator importante no equilíbrio. Os lactobacilos devem estar presentes em quantidade abundante e com crescimento ativo no ambiente vaginal para que o pH seja mantido inferior a 4,5. A quantificação de lactobacilos no esfregaço vaginal pode ser feita utilizando-se os critérios de Nugent, Krohn e Hillier *et al.* (1991), que levam em consideração a presença ou ausência de lactobacilos e o domínio de micro-organismos gram-variáveis, como *Gardnerella vaginalis*, bem como espécies de *Bacteroides*, *Prevotella* e *Mobiluncus*. Os dados, juntamente com a história clínica da paciente e exames para doenças sexualmente transmissíveis, são úteis no diagnóstico de um quadro de vaginose bacteriana.

Algumas espécies como *L. fermentum* ATCC 14931, *L. jensenii* ATCC 25258, *L. plantarum* ATCC 14917 e *L. reuteri* JCM 1112 não possuem atividade antimicrobiana significativa contra *Escherichia coli* uropatogênica, demonstrando claramente que o efeito antibacteriano dos lactobacilos é espécie-dependente.¹⁴ Em um trabalho realizado por Reid em 2008, somente *L. rhamnosus* GR-1 e *L. reuteri* RC-14 mostraram-se ativos contra vaginose bacteriana, podendo ser empregados como probióticos de uso intravaginal e oral combinado com antimicrobianos.

Microbiota vaginal x infecção do trato urinário

A microbiota vaginal de mulheres vulneráveis à ITU é composta sabidamente por uropatógenos, e a presença de vaginose bacteriana está associada com ITU ativa.^{19,20} Em tais mulheres, mesmo durante o período livre de doença, a microbiota vaginal assemelha-se àquela observada no período de vaginose bacteriana, na qual

os lactobacilos foram deslocados para dar lugar a uma composição mais mista, e a colonização por uropatógenos é facilitada pela ausência de produção de lactato e peróxido de hidrogênio pelos lactobacilos, colocando as mulheres sob o risco de desenvolvimento de ITU.²¹ Além disso, Kirjavainen *et al.* (2009) demonstram que defeitos na resposta imune vaginal representados pela redução na produção de fatores de reparo tecidual, são também responsáveis pela propensão ao desenvolvimento de ITU.²² Em um estudo realizado com gestantes entre a oitava e a trigésima quinta semana de gestação, pôde-se observar que a vaginose bacteriana aumentou significativamente o risco de infecção do trato urinário entre as mulheres avaliadas.¹⁹

Uso de lactobacilos como probióticos

Os lactobacilos utilizados como probióticos no epitélio vaginal devem apresentar determinadas características, como origem humana, aderência e colonização do trato urogenital, produção de substâncias antimicrobianas, antagonismo contra bactérias patogênicas, segurança, e efeitos à saúde clinicamente validados e documentados. Tais micro-organismos agem de forma coagregativa com alguns patógenos do trato geniturinário, tais como *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae*, *Gardnerella vaginalis* e *Candida albicans*.⁶ Assim, os lactobacilos utilizados como probióticos têm se mostrado capazes de deslocar e inibir uropatógenos, através da produção de ácido lático e peróxido de hidrogênio, normalizando a microbiota vaginal e prevenindo o desenvolvimento de futuras ITUs.²²

REFERÊNCIAS

1. Forbes, B. A.; Sahm, D. F.; Weissfeld, A. S. Genital Tract Infections. In: Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology, 11 ed. Mosby: USA, 2002.
2. Spaine, D. M. *et al.* Microbiologic aerobic studies on normal male urethra. *Urology*, v. 56, n. 2, 2000.
3. Shi, Y. *et al.* Preliminary characterization of vaginal microbiota in healthy Chinese women using cultivation-independent methods. *J. Obstet. Gynaecol. Res.*, v. 35, n. 3, p. 525-532, june 2009.
4. Reid, G. Probiotic lactobacilli for urogenital health in women. *J. Clin. Gastroenterol.*, v. 42, supp. 3, part 2, p. 234-236, sept 2008.
5. Thies, F. L.; König, W.; König, Brigitte. Rapid characterization of the normal and disturbed vaginal microbiota by application of 16S rRNA gene terminal RFLP fingerprinting. *Journal of Medical Microbiology*, v. 56, p. 755-761, 2007.
6. Barbés, C.; Boris, S. Potential role of lactobacilli as prophylactic agents against genital pathogens. *AIDS Patient Care*, v. 13, n. 12, 1999.
7. Tortora, G. J.; Funke, B. R.; Case, C. L. Doenças microbianas dos sistemas urinários e reprodutor. In:-----: *Microbiologia*, 6 ed. Artmed: Porto Alegre, 1998.
8. Antonio, M. A. D.; Hawes, S. E.; Hillier, S. L. The identification of vaginal Lactobacillus Species and the demographic and microbiologic characteristics of women colonized by these species. *JID*, v. 180, p. 1950-1956, 1999.
9. Hill, J. E. *et al.* Characterization of vaginal micromicrobiota of healthy, non-pregnant women by chaperonin-60 sequence-based methods. *Am. Jour. of Obstet. Gynecol.*, v. 193, p. 682-692, 2005.
10. Kiss, H. *et al.* Vaginal Lactobacillus microbiota of healthy women in the late first trimester of pregnancy. *An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*, v. 114, p. 1402-1407, 2007.
11. Zhou, X. *et al.* Characterization of vaginal microbial communities in adult women using cultivation-independent methods. *Microbiology*, v. 150, p. 2565-2573, 2004.
12. Vásquez, A. *et al.* Vaginal Lactobacillus microbiota of healthy swedish women. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 40, n. 8, p. 2746-2749, aug. 2002.
13. Jakobsson, T.; Forsum, U. Lactobacillus iners: a marker of changes in the vaginal microbiota? *Journal of Clinical Microbiology*, v. 45, n. 9, p. 3145, sept. 2007.
14. Servin, A. L. Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens. *FEMS Microbiology Reviews*, v. 28, p. 405-440, 2004.
15. Alakomi, H. L. *et al.* Lactic acid permeabilizes Gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 66, p. 2001-2005, 2000.
16. Aroutcheva, A. *et al.* Defense factors of vaginal lactobacilli. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v. 185, n. 2, p. 375-379, aug 2001.

17. Klebanoff, S. J. *et al.* Lactobacilli and vaginal host defense: activation of the human immunodeficiency virus type 1 long terminal repeat, cytokine production and NF-kappa B. *Journal of Infectious Disease*, v. 179, p. 653-660, 1999.
18. Nugent, R. P.; Krohn, M. A.; Hillier, S. L. Reability of diagnosing bacterial vaginosis in improved by standardized method of gram stain interpretation *Journal of Clinical Microbiology*, v. 29, n. 2, p. 297-30, feb 1991.
19. Sharami, S. H.; Afrakhteh, M.; Shakiba, M. Urinary tract infections in pregnant women with bacterial vaginosis. *J. Obstet. Gynacol.*, v. 27, p. 252-254, 2007.
20. Norinder, B. S. *et al.* Micromicrobiota changes with norfloxacin and pivmecillinam in women with recurrent urinary tract infection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 50, n. 4, p. 1528-1530, 2006.
21. Harmanli, O. H. *et al.* Urinary tract women with bacterial vaginosis. *Obstetrics and Gynecology*, v. 95, n. 5, p. 710-712, 2000.
22. Kirjavainen, P. V. *et al.* Abnormal immunological profile and vaginal microbiota in women prone to urinary tract infections. *Clin. Vaccine Immunol.*, v.16, n. 1, p. 29-36, jan 2009.

5. INFECÇÃO X COLONIZAÇÃO DO SISTEMA URINÁRIO

Caio Roberto Salvino

Em diversas situações, o laboratório de microbiologia precisa responder ao clínico a seguinte pergunta: o crescimento bacteriano na urocultura corresponde à uma colonização ou infecção? Não somente em amostra urinárias, mas também advindas de outros sítios anatômicos, como por exemplo amostras de trato respiratório, catéteres, hemoculturas etc.

A discussão entre o que é ou não uma infecção de trato urinário (ITU) preenche grande parte do trabalho de microbiologistas e/ou clínicos assistentes. O fato é que, em alguns casos, a decisão de tratar ou não determinado paciente deverá ser baseada no maior número possível de informações levadas pelo serviço de análises clínicas e microbiologia, tais como contagem de colônias, presença ou ausência de leucócitos na urina, prova do nitrito, esterase leucocitária, Gram de urina apontando presença de bactérias etc^{1,2}.

Parece claro que, quanto mais parâmetros são liberados, apontando para uma alteração compatível com ITU, acaba-se facilitando a vida do clínico. Logo, o somatório embora caracterizando maior gravidade, determina mais facilmente o que fazer.

A fase pré-analítica, como sempre, tem imensa importância no resultado final da urocultura. Uma coleta inadequada pode gerar presença de células indesejáveis e bactérias da microbiota genital, o que atrapalha e muito no diagnóstico correto. Sendo assim, o paciente deverá seguir à risca as orientações passadas pelo laboratório clínico relacionadas principalmente à higiene pré-coleta e acondicionamento e/ou transporte da amostra pelo paciente. Não deve-se levar em consideração a ideia utópica de que todos os pacientes coletam a urina no laboratório e/ou de que todo laboratório oferece condições plenas de estrutura para tal procedimento, mas sim partir do ponto em que todo e qualquer serviço pode orientar da forma correta e, dessa maneira, reduzir o risco de resultados alterados por problemas no pré-analítico³.

Uma infecção de trato urinário, até pelo fato da urina ser naturalmente estéril, parte sempre de um momento zero que é a entrada de uma bactéria nas vias urinárias. A esse momento denomina-se invasão, na sequência ocorre a adesão e após migração, colonização e infecção com resposta inflamatória, um dos importantes parâmetros diferenciais de colonização e infecção neste sítio anatômico.

Discutir o assunto proposto é nada menos do que discutir infecções urinárias baseadas em evidências, sendo que as evidências que colocamos como mais importantes e sugestivas destes quadros são:

- Presença de bactérias na urina
- Presença de leucócitos na urina
- Presença de monocrescimento em qualquer contagem, desde que acompanhada de pelo menos duas das condições abaixo:
 - * Sintomatologia clínica compatível com ITU
 - * Presença de leucocitúria e/ou esterase leucocitária
 - * Presença de nitrito
 - * Paciente pediátrico ou geriátrico
 - * Contagens acima de 10^4 UFC/ml em pelo menos duas uroculturas
 - * Contagens acima de 10^4 UFC/ml com crescimento de *Staphylococcus saprophyticus* ou *Candida* sp.

A discussão de bacteriúria considerável é ampla e polêmica, devendo-se considerar todo e qualquer crescimento como uma alteração que, associada aos outros fatores, caracterizará uma infecção.

Dados como idade e sexo do paciente são importantíssimos. Partindo dos critérios de Kass e colaboradores^{4,5}, somente amostras com contagens superiores a 10^5 UFC/ml devem ser consideradas comprovadamente como casos de ITU, enquanto contagens entre 10^4 e 10^5 UFC/ml devem ser consideradas como “suspeitas”. Já outro conhecido autor, Stamm^{6,7}, considera crescimentos acima de 100 UFC/ml, sem deixar de lado a hipótese de uma má interpretação dos resultados de uroculturas com contagens baixas.

Afinal de contas, o que deve-se considerar como colonização em casos de amostras de urina? Cabe esse conceito nesses casos?

A urina é estéril e, portanto, quaisquer elementos constantes deverão ser considerados como anormais. Células epiteliais, leucócitos, hemácias, muco, bactérias, fungos, cristais etc. Devido ao fato das bactérias que mais comumente causam ITU, as pertencentes à família *Enterobacteriaceae* (bacilos gram-negativos fermentadores da glicose e oxidase negativa), serem colonizadoras do cólon e região perianal e na mulheres a região vaginal, estas estarão em constante tentativa de invasão do trato urinário, primariamente o colonizando e posteriormente causando cistites, pielonefrites etc.

É à capacidade de adesão das bactérias citadas que deve-se o entendimento dos quadros de invasão, colonização e infecção. Tal capacidade leva as enterobactérias ao trato urinário baixo e posteriormente ao alto, nem sempre com respostas inflamatórias consideráveis, podendo ir de baixas contagens com baixa resposta inflamatória até altas contagens com leucocitúria maciça.

Podem ocorrer quadros de contaminação, onde as bactérias – por má coleta – que colonizam as regiões adjacentes acabam sendo levadas junto com a urina. São elementos tais como parasitas (*Trichomonas vaginalis*), bactérias anaeróbias (*Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus* etc), bactérias da microbiota tais como *Lactobacillus* sp, dentre outras, que acabam por um pré-analítico questionável, aparecendo nos campos microscópicos e nos cultivos.

Deve-se, pois, considerar como ITU qualquer presença de bactérias com leucócitos na urina?

É importante salientar que, nos casos de vaginose, ocorre migração leucocitária e, em urinas mal colhidas, estes leucócitos fatalmente aparecerão na microscopia, juntamente com uma microbiota mista e repleta de bactérias de todos os tamanhos, formas e cores, mas de forma alguma, caracterizando uma ITU. Neste caso, se trata de uma contaminação, diferente pois de ITU e colonização.

Quando evidencia-se então uma colonização?

Sempre que uma bactéria invadir, seja via uretral ou hematogênica, o trato urinário, e ali encontrar condições de se multiplicar, teremos uma colonização. Assim que esta colonização produzir uma resposta inflamatória, caracterizará uma infecção. Este período que antecede a infecção poderá ser marcado por uma migração bacteriana da bexiga ao trato urinário alto, como nos casos de ITU causadas por bactérias da família *Enterobacteriaceae*, através de estruturas celulares que permitem a adesão às mucosas, impedindo que o fluxo urinário contrário as leve de volta à bexiga, até que elas atinjam os rins, causando complicações ao quadro.

É muito mais importante portanto, diferenciar contaminação de infecção, para evitar tratamentos com uso de antibióticos de forma desnecessária, e para isso, uma lâmina de gota de urina não centrifugada corada pelo método de Gram será uma grande aliada, pois dará pelo menos 3 parâmetros importantes:

1. Definir semiquantitativamente qual a quantidade de bactérias, pois uma bactéria por campo de imersão (1000x de aumento) é equivalente a aproximadamente 10^5 UFC/ml de urina.
2. Visualizar qual o tipo de bactéria (ou bactérias) que estão causando a infecção (se um coco gram positivo, bacilo gram negativo, ambos etc).
3. Evidenciar se existe ou não contaminação por conteúdo vaginal (presença de células de epitélio vaginal etc).

Com a realização do Gram de gota não centrifugada, pode-se inclusive visualizar a presença de células-guia, *Gardnerella vaginalis* etc. e dessa forma, caracterizar a contaminação, solicitando nova amostra e comunicando ao clínico que a paciente em questão está com o trato vaginal colonizado e com a microbiota em desequilíbrio.⁸

Em casos de idosos e crianças deve-se levar em consideração questões relativas ao sistema imunológico que, embora por motivos distintos, está em condições diferentes da vida adulta, sem a mesma resposta pronta e eficaz. Portanto um resultado de crescimento baixo com leucocitúria discreta deverá ser considerado, apontando em direção a identificação do agente etiológico e realização do antibiograma, fundamentais no tratamento das ITU.

O grande imunologista e microbiologista belga Jules Jean Baptiste Vincent Bordet nos deixou uma frase que simplifica o raciocínio dos que pretendem entender as relações entre micro-organismos e seres humanos, que é totalmente baseada no equilíbrio. Disse então Bordet:

“A virulência e a imunidade são coisas correlatas e recíprocas, sendo a virulência do micro-organismo a sua imunidade em face do hospedeiro, e a imunidade do hospedeiro sendo a sua virulência em face do micro-organismo. Compreender o triunfo de um dos adversários é também compreender a sua derrota.”

REFERÊNCIAS

1. McCarter, Y.S., E.M. Berd, G.S. Hall, and M. Zervos. 2009. Cumitech 2C, Laboratory Diagnosis of Urinary Tract Infections. Coordinating ed., S.E. Sharp. ASM press, Washington, DC.
2. Oplustil, C.P., Zoccoli, C.M., Tobouti, N.R., Sinto, S. I. Procedimentos básicos em microbiologia clínica. 3ª edição, São Paulo,SP: Sarvier, 2010.
3. Murray, P.R. *et al.* 2007. Manual of Clinical Microbiology. 9ª ed. 2 vol, Washington, DC: ASM, 1200 p.
4. Kass, E.H. Asymptomatic infections of the urinary tract. *Trans Assoc Am Phys* 1956; 69:56-64.
5. Kass, E.H. Bacteriuria and the diagnosis of infections of the urinary tract. *Arch Intern Med* 1957; 100:709-714
6. Stamm, W. E. *et al.* Diagnosis of coliform infection in acute dysuric women. *N. Engl. J. Med.* 307:463-468, 1982.
7. Stamm, W. E. *et al.* Causes of the acute urethral syndrome in women. *N. Engl. J. Med.* 303:409-415, 1980.
8. Pilonetto, M., Pilonetto, D.V. Manual de procedimentos laboratoriais em microbiologia. Pinhais, PR: Microscience, 1998, 150p.

6. DETERMINANTES DE VIRULÊNCIA EM UROPATÓGENOS

Mara Cristina Scheffer

O trato urinário é um ambiente normalmente estéril, ao mesmo tempo hostil e pobre em nutrientes para a maioria das bactérias.¹ No entanto, apesar das adversidades e defesas do hospedeiro, infecções do trato urinário (ITUs) permanecem entre as doenças infecciosas mais comuns em todo o mundo, especialmente em mulheres.² As principais espécies bacterianas envolvidas em ITUs são ditas comensais, constituintes da biota intestinal de mamíferos onde vivem em simbiose com o hospedeiro. Alguns clones de bactérias do intestino parecem divergir dos isolados comensais, adquirindo determinantes de virulência específicos, que aumentam a sua capacidade de adaptação a novos nichos, tornando-os naturalmente mais patogênicos.^{3,4} Estes determinantes são expressos e regulados pela presença de genes que codificam virulência, em regiões especiais do cromossomo bacteriano, denominadas ilhas de patogenicidade (PAI – pathogenicity island).⁵ As PAIs são constituídas de segmentos de DNA, adquiridos geralmente por transferência horizontal, através de elementos genéticos móveis.⁵ Codificam adesinas, toxinas, sistemas de captação de ferro e fatores que driblam as defesas do hospedeiro, atribuindo uma variedade de características de virulência aos micro-organismos que as possuem. Uma combinação de fatores de virulência caracteriza um tipo bacteriano específico que pode ser chamado de bactéria uropatogênica.⁴ Estudos têm mostrado que cepas uropatogênicas podem apresentar múltiplas ilhas de patogenicidade aumentando seu potencial de virulência.⁶⁻⁸

Escherichia coli

Escherichia coli uropatogênica (UPEC) é o agente mais comum associado a ITUs. Constitui um grupo geneticamente diferente entre *E. coli* patogênicas extraintestinais (ExPEC), por possuir um arsenal de fatores de virulência que contribui especificamente para a capacidade de causar ITU.⁹

Em 2002 e 2006 isolados de *E. coli* causadores de pielonefrite CFT073 (O6:K2:H1); 536 (O6:K15:H31) e um isolado de cistite UTI89 (O18:K1:H7) foram sequenciados.¹⁰⁻¹² Apesar da grande similaridade entre os isolados de UPEC, características genéticas específicas de uropatógenos ainda não foram identificadas.¹³ Comparado com isolados comensais, UPEC possui mais genes de virulência que codificam adesinas, toxinas, antígenos capsulares e sistemas de aquisição de ferro, frequentemente codificados dentro de PAIs.¹³

Colonização do Trato Urinário

Adesinas

A capacidade de colonizar o trato urinário, um dos principais fatores responsáveis pelo estabelecimento de infecções, está diretamente relacionada à expressão de estruturas proteicas finas e filamentosas denominadas adesinas. A aderência de *E. coli* ao uroepitélio impede sua remoção através do fluxo urinário (micção), aumentando a sua capacidade de multiplicação e invasão tecidual.¹³ As adesinas reconhecem superfícies celulares e componentes da matriz extracelular específicos do hospedeiro, como proteínas, glicoproteínas, glicolipídios, e carboidratos.⁹ São expressas de maneira diferente durante o curso da infecção, não apenas para o reconhecimento das diferentes superfícies e tipos de células que os uropatógenos encontram (por exemplo, bexiga e rim), mas também para fugir da resposta imune do hospedeiro.⁹ As organelas adesivas (fimbria ou pili) comumente expressas em UPEC são dos tipos 1, P, S e FIC, codificadas respectivamente pelos *operons fim, pap, sfa* e *foc*.¹³ Cruzamento de informações entre tais *operons* na célula bacteriana, desencadeado por estímulos ambientais, pode resultar em uma mudança na expressão de um tipo de pili para o outro, em um processo conhecido como variação de fase.¹⁴⁻¹⁶ Variações de fase nos genes que codificam pili em UPEC podem originar subpopulações que expressam pilis com funções distintas, aumentando a probabilidade de adesão ou invasão aos tecidos do hospedeiro e, eventualmente, aumentando a especificidade ao hospedeiro.^{13,17}

Adesinas Fimbriais (fimbria ou pili) são projeções cilíndricas helicoidais constituídas por subunidades proteicas, que podem estar associadas a carboidratos, fosfolipídios ou fosfatos.¹³ Fímbricas ou pili do tipo 1 estão entre os fatores de aderência mais estudados em UPEC. Distribuídas ao redor de toda a superfície bacteriana, são constituídas de subunidades FimA, FimF, FimG e adesina FimH agregadas através de chaperonas, proteínas que auxiliam no processo de montagem de polipeptídeos e seus ligantes associados.¹⁸ A adesina FimH reconhece e se liga a glicoproteínas receptoras contendo manose na membrana das células do epitélio da bexiga (uroplakin: UPIa, UPIb, UPII e UPIII), a proteínas da matriz extracelular incluindo colágeno, fibronectina e laminina, bem como a proteína de Tamm-Horsfall.^{2,9,19} São estruturas altamente conservadas e extremamente comuns entre os isolados de *E. coli*.¹³ Cerca de 80% dos isolados comensais de *E. coli* (fecais) codificam adesinas FimH que se ligam somente a receptores tri-manose,²⁰ enquanto 70% dos isolados UPEC expressam variantes de FimH, com mutações que aumentam afinidade por receptores mono-manose, conferindo maior tropismo para os receptores de glicoproteína expressos por células uroepiteliais.²⁰ A expressão de fimbria tipo 1 está associada à auto-agregação bacteriana e formação de biofilme.^{21,22} A adesina FimH tem se mostrado necessária e suficiente para iniciar o processo de invasão das células da bexiga, requerendo um rearranjo localizado do citoesqueleto de actina.^{2,23} FimH se liga a receptores de integrina $\alpha\beta 1$, desencadeando cascatas de sinalização envolvendo uma série de fatores (FAK, Src, PI 3-quinase, Rho GTPases como a Rac1 e PIPs), formando um complexo transitório entre proteínas estabilizadoras do citoesqueleto e as proteínas actina e vinculina.^{13,24} Este evento estimula o rearranjo de actina, fazendo a membrana plasmática da célula hospedeira se fechar em volta (tipo zíper) e englobar as bactérias aderidas¹³ (Figura 1). É possível que

variações polimórficas em integrinas ou outros receptores ajudem a explicar por quê alguns indivíduos são mais propensos a ITUs crônicas e recorrentes¹³. Outro caminho pelo qual UPEC pode invadir as células do hospedeiro é através de lisossomos secretores, vesículas que armazenam e secretam produtos celulares e participam no reparo da membrana plasmática. A incorporação da UPEC por vesículas fusiformes responsáveis pela distensão da bexiga faz com que a bactéria não seja eliminada durante a micção e ressurgir na urina durante a distensão da bexiga²⁵. A proteína Rab27b, encontrada durante a invasão por UPEC, pode estar envolvida no processo.²⁵ Considerando a diversidade de proteínas do hospedeiro nas quais FimH pode se ligar, é provável que bactérias que apresentam pili tipo1 possam entrar na célula hospedeira por mais de um processo.²

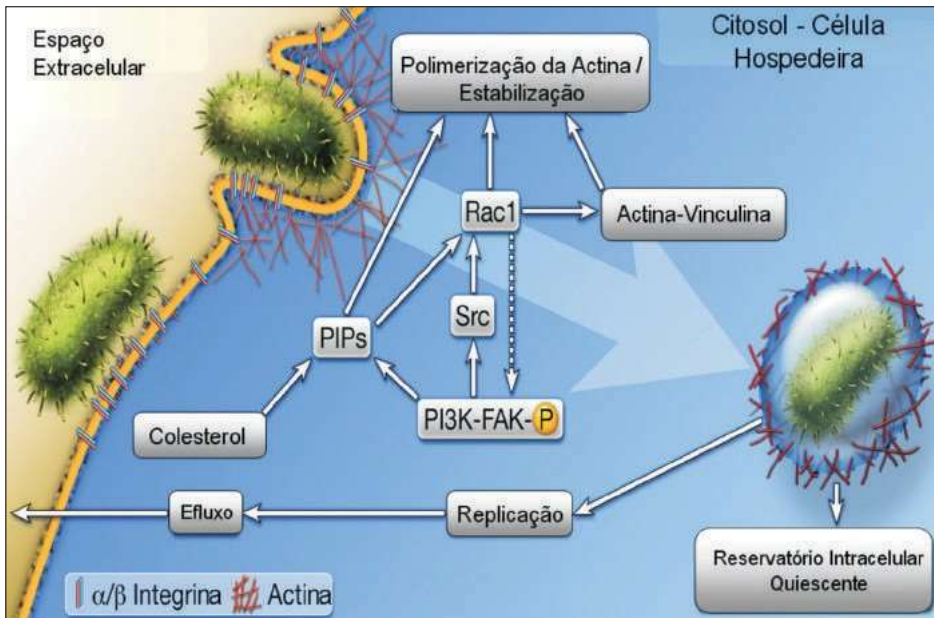


Figura 1: Invasão de célula hospedeira por UPEC. A adesina FimH localizada na ponta distal do pili tipo 1 se liga ao receptor de integrina $\alpha_3\beta_1$, e possivelmente a outros receptores. A ligação ao receptor ativa a cascata de sinalização envolvendo proteínas kinase FAK, Src e PI 3-quinase, GTPases Rho como Rac1 e fosfoinositídeos PIPs, formando um complexo transitório entre proteínas estabilizadoras do citoesqueleto, actina e vinculina. Este evento estimula o rearranjo de actina, fazendo a membrana plasmática da célula hospedeira se fechar em volta (tipo zíper), englobando as bactérias aderidas. Internalizada, UPEC pode ser transportada para compartimentos tipo endossomo, que são geralmente localizados dentro de uma malha de filamento de actina. A bactéria permanece quiescente dentro deste compartimento cercado de actina, podendo servir de reservatório para ITUs recorrentes. A liberação de UPEC dentro do citosol da célula hospedeira estimula o rápido crescimento bacteriano e a formação de comunidades intracelulares tipo biofilme (13).

Fímbrias ou pili do tipo P são fibras heteropoliméricas constituídas de diferentes subunidades de proteínas PapA, PapH, PapE, PapF, PapK, a chaperona PapD e a adesina PapG. PapG se localiza na parte distal do pili P, sendo responsável por mediar a adesão bacteriana à célula hospedeira.¹³ A adesina reconhece glicolipídeos receptores expressos por eritrócitos e células renais do hospedeiro.¹⁹ Foram identificados três tipos de PapG (I, II e III) que reconhecem globotriaosilceramidas variantes (GbO3, GbO4 e GBO5, respectivamente) na superfície da célula alvo, particularmente os rins.¹³ Sua expressão tem sido associada com UPECs isoladas de pielonefrites.²⁶ O genoma bacteriano pode conter mais de uma cópia do *operon pap* (pili associado à pielonefrite) que codifica o pili P.¹³ Wullt e colaboradores (2002) relataram que estudos genotípicos identificaram o gene *pap* em cerca de 20% dos isolados fecais de *E. coli*, em 60% dos isolados de cistite e bacteriúria assintomática, 80% dos isolados de pielonefrite e 100% de hemoculturas relacionadas a pielonefrite.²⁷

As fibras do pili S são compostas de uma subunidade maior SfaA e três subunidades menores SfaG, SfaH e SfaS.¹⁹ A subunidade SfaS, localizada na ponta do pili S, pode mediar a interação bacteriana com resíduos de ácido siálico expressos nos receptores de células renais.²⁸ SfaA também apresenta características de adesina.²⁹ O pili S parece facilitar a disseminação bacteriana dentro do tecido do hospedeiro sendo associado a cepas que causam sepse, meningite e ITU ascendente, incluindo pielonefrite.¹⁹ Malagolini e colaboradores (2000) mostraram que resíduos de ácido siálico estão presentes na proteína UP3, abundantemente expressa na superfície luminal da bexiga, sugerindo que o pili S pode ter um papel na cistite.³⁰ O pili F1C é uma organela adesiva geneticamente homóloga ao pili S, diferindo apenas em seu receptor específico, expresso em células epiteliais do túbulo distal e ductos coletores dos rins e por células endoteliais da bexiga e dos rins.³¹

A família de adesinas Dr inclui adesinas fimbriais e não fimbriais, codificadas pelos *operons afa/dra/daa*. Adesinas não fimbriais são proteínas ancoradas diretamente nas membranas celulares bacterianas, ou são excretadas e mantêm-se associadas à superfície bacteriana, atuando na aderência da bactéria às células. Adesinas fimbriais Afa/Dr promovem adesão e invasão bacteriana à células do hospedeiro.³² Interações entre as subunidades da adesina, receptores tipo CD55 (fator acelerador de degradação - DAF) e possivelmente integrinas, estimulam a entrada da bactéria na célula do hospedeiro. Bactérias Afa/Dr-positivas não são consideradas patógenos invasivos verdadeiros pois apenas uma pequena porcentagem das bactérias aderidas são internalizadas.³² A internalização bacteriana ocorre por um mecanismo tipo zíper e envolve a rede de microtúbulos e *rafts* lipídicos.³³ Adesinas Afa/Dr estão epidemiologicamente associadas a cepas patogênicas que causam ITUs crônicas e recorrentes, cistite em crianças e pielonefrite em gestantes.¹⁹ UPEC Afa/Dr positivas sobreviveram no tecido renal de ratos durante um ano, com evidências histológicas de pielonefrite crônica.³⁴ Uma hipótese interessante para a infecção crônica no trato urinário de ratos seria que a colonização ocorre num processo de duas etapas. Inicialmente por ligação e penetração nas células uroepiteliais; num segundo momento por translocação dentro do compartimento intersticial e ligação

às fibras de colágeno.³⁵ A ligação ao colágeno tipo IV pode aumentar a colonização, contribuindo para a disseminação da infecção e para a habilidade de causar infecção renal persistente.³⁵

Flagelo

O flagelo bacteriano é um longo apêndice helicoidal de superfície, constituído de subunidades de flagelina, codificadas pelo gene *fliC*. Lane e colaboradores (2007) demonstraram vantagens da expressão de flagelina durante a ascensão bacteriana no trato urinário de ratos. UPEC mutantes, deficientes de flagelina, foram incapazes de migrar através do trato urinário de forma tão eficientemente quanto os isolados que expressavam flagelos (gene *fliC*).³⁶ Como as ITUs geralmente ocorrem de maneira ascendente, tem-se sugerido que a motilidade mediada por flagelo contribui para a virulência das bactérias, uma vez que permite a disseminação bacteriana no trato urinário.³⁶

Adaptação e Aquisição de nutrientes

Após o estabelecimento na superfície uroepitelial, a bactéria deve adaptar-se ao ambiente urinário e adquirir nutrientes. Determinantes de virulência envolvidos na adaptação e aquisição de nutrientes incluem enzimas, toxinas e sistemas de captação de ferro. Para UPEC os principais fatores incluem hemolisina hlyA, CNF1 e toxinas autotransportadoras como Sat, Pic e Tsh.

Toxinas

Entre as toxinas mais frequentemente expressas em UPEC estão as hemolisinas. Os genes que codificam estas toxinas podem ser encontrados em plasmídeos ou no cromossomo bacteriano.³⁷ A α -hemolisina hlyA de *E. coli* é uma toxina bacteriana formadora de poro. A rápida abertura e fechamento dos poros hlyA na membrana celular do hospedeiro gera influxos pulsados de cálcio, que levam a oscilações no cálcio intracelular.³⁸ Quando em altos níveis hlyA pode levar a lise celular, facilitando a liberação de nutrientes e outros fatores, como o ferro, que são críticos para o crescimento bacteriano.¹³ Em níveis sublíticos a hemolisina hlyA pode inibir a ativação da proteína quinase B (Akt), um regulador do metabolismo, proliferação, resposta inflamatória e sobrevivência da célula hospedeira³⁹ (Figura 2). Ao invés da lise celular, o papel fisiológico desta toxina pode ser a modulação da cascata de sinalização, regulando a sobrevivência da célula hospedeira e vias inflamatórias durante o curso da infecção bacteriana.³⁹

UPEC pode interferir diretamente nas funções celulares do hospedeiro através da secreção de citomodulinas (CMs), uma classe funcional de toxinas que interfere no ciclo celular do hospedeiro. A CM mais frequentemente codificada em UPEC é denominada CNF1 (fator citotóxico necrotizante 1). Esta toxina se liga ao precursor do receptor de

laminina na superfície das células alvo, e provoca a formação de um compartimento endossomal com absorção e subsequente transporte da própria toxina. Condições ácidas dentro do compartimento induzem a translocação do domínio catalítico da toxina CNF1 através da membrana vesicular para dentro do citosol do hospedeiro, onde estimula proteínas Rho GTPases da célula hospedeira.⁴⁰ Catalisando uma ativação das proteínas Rho, CNF1 provoca uma remodelação na organização e dinâmica do citoesqueleto de actina, que pode desencadear a internalização bacteriana nas células epiteliais do hospedeiro⁴⁰ (Figura 2). A formação de reservatórios bacterianos intracelulares está associada a ITUs recorrentes.⁴⁰ CNF1 pode desencadear a produção de mediadores inflamatórios por neutrófilos, amplificando a inflamação e o dano tecidual. Outros determinantes de virulência, como α -hemolisina e fimbria P, também desencadeiam a produção de mediadores inflamatórios pelo epitélio celular, como IL-8.^{40, 42} Davis e colaboradores (2005) demonstraram que CNF1 está envolvido na modulação da função de neutrófilos, facilitando a sobrevivência de UPEC durante a resposta inflamatória aguda.⁴³

Outros três tipos de CMs têm sido descritas em *E. coli*: Cif (Fator inibidor de ciclo/*cycle-inhibiting factor*) e dois tipos de genotoxinas CDTs (toxinas citoléticas expandidas/distendidas (*cytolethal distending toxins*) e colibactina. Estas CMs atuam bloqueando o ciclo celular de células eucariotas.^{44,45} Dubois e colaboradores (2010) investigaram a distribuição dos genes codificadores e a funcionalidade destas toxinas em isolados de urosepses adquiridas na comunidade. Além do CNF1, somente a colibactina foi significativamente associada a urosepse. Colibactina, uma CM codificada em uma ilha genômica denominada *pks*, induz a quebra da dupla fita de DNA em células eucariotas, ativando vias de sinalização que levam à parada do ciclo celular, ao alargamento progressivo dos corpos celulares e eventualmente à morte celular.⁴⁴ A ilha *pks* tem sido associada a isolados de bacteriemia⁴⁷ e mais recentemente a urosepse.⁴⁶

UPECs podem codificar toxinas autotransportadoras, família de proteínas secretadas por bactérias gram-negativas que direcionam sua própria secreção através da membrana externa (mecanismo de secreção tipo V).⁴⁸ Restieri e colaboradores (2007) encontraram associação entre *E. coli* isoladas de ITU e as toxinas autotransportadoras Vat, Sat, Pic e variantes do antígeno 43 (Ag43).⁴⁹ As toxinas Vat, Sat e Pic fazem parte da família de proteínas denominada serina-protease autotransportadora de *Enterobacteriaceae* (SPATE), associada a efeitos citopáticos em várias células. Maroncle e colaboradores (2006) estudaram a toxina autotransportadora secretada (Sat) e sua atividade de protease. Durante a intoxicação Sat é internalizada e se localiza junto ao citoesqueleto de células epiteliais da bexiga e do rim, promovendo a degradação de proteínas associadas ao citoesqueleto.⁵⁰ Proteínas bacterianas que atuam no citoesqueleto alteram drasticamente a morfologia, junções intercelulares, permeabilidade e processos dependentes de actina na célula hospedeira.⁵⁰ Alterações no citoesqueleto, além de importante papel na virulência durante ITU, podem auxiliar a bactéria a romper as barreiras protetoras da célula epitelial e invadir a corrente sanguínea causando bacteriemia.⁵⁰ Utilizando modelo experimental em ratos, Guyer e colaboradores (2002) observaram mudanças histológicas significativas devido à toxina Sat,

em infecções causadas por UPEC, incluindo dissolução da membrana glomerular e vacuolização das células do túbulo proximal (Figura 2).⁵¹ O Ag 43, codificado pelo gene *flu*, apresenta sequência homóloga a várias adesinas conhecidas.⁵² A expressão do Ag 43 resulta em autoagregação das células, promovendo a formação de biofilme bacteriano com consequente sobrevivência e persistência da bactéria durante uma infecção prolongada.^{52, 53}

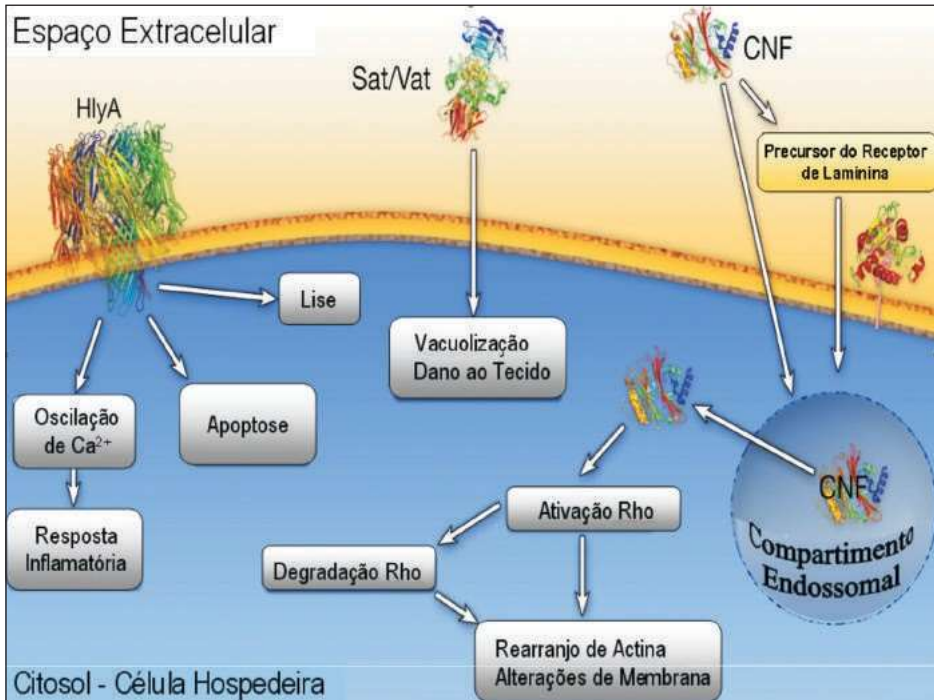


Figura 2: Toxinas associadas à UPEC. α -hemolisina (HlyA), Vat, Sat e fator citotóxico necrotizante (CNF1) são codificadas por muito isolados de UPEC. (Esquerda) Em altas concentrações, hlyA é inserida dentro da membrana da célula alvo no hospedeiro e promove sua lise, enquanto, em concentrações sub-léticas hlyA pode modular cascatas de sinalização que afetam a sobrevivência da célula hospedeira e a resposta inflamatória. (Meio) Intoxicação da célula hospedeira por Vat ou Sat induz a vacuolização e outros efeitos citopáticos, levando dano ao tecido hospedeiro. (Direita) Internalização de CNF1 por Endocitose através do precursor do receptor de laminina, ou por mecanismos alternativos associados com vesículas na membrana externa. Condições dentro do compartimento endossomal estimulam a translocação do CNF1 para o citosol onde ativa Rho GTPases, induzindo alterações no esqueleto de actina com internalização de UPEC.¹³

Sistemas de Aquisição de Ferro

A aquisição de ferro (Fe^{3+}) é particularmente importante, quer para o hospedeiro, quer para a bactéria, visto que é um fator essencial para muitos processos celulares. Constitui uma etapa crítica na patogênese da ITU, pois a concentração de Fe^{3+} livre é extremamente limitada nos locais de infecção.⁵⁴ Para captar o ferro do organismo hospedeiro, cepas de UPEC têm desenvolvido uma variedade de mecanismos. Entre os principais está a síntese e transporte de quelantes de ferro denominados sideróforos, que são moléculas de baixo peso molecular e alta afinidade pelo Fe^{3+} , que é insolúvel como cátion livre.⁵⁵ Os sideróforos são produzidos e secretados especificamente em resposta à deficiência de ferro, em muitas espécies bacterianas; Fur (*ferric uptake regulation*) é a proteína responsável pela regulação do processo.⁵⁶ A enterobactina ou enteroquelina, produzida quando *E. coli* cresce em ambiente pobre em ferro, é o sideróforo mais estudado. Após síntese no citoplasma bacteriano, a enterobactina é exportada para fora da célula. No ambiente extracelular a enterobactina se liga ao Fe^{3+} formando um complexo (FeEnt) que é reconhecido pelo receptor FepA na membrana externa bacteriana. O reconhecimento e a ligação com o receptor constituem um passo limitante para todo o processo de transporte de ferro mediado por sideróforos; em situações de estresse por deficiência de ferro o micro-organismo expressa grande quantidade de receptores específicos (FepA).⁵⁶ O complexo FeEnt atravessa a membrana plasmática por meio de transporte ativo, envolvendo uma série de proteínas. Inicialmente se liga ao receptor FepA, proteína transmembrana que forma um canal na membrana externa; FeEnt é transportado no periplasma pela proteína FepB e é entregue a proteínas transmembrana citoplasmática FepD/FepG, que formam um poro através do qual o complexo chega ao citoplasma; FepC é a ATPase que fornece energia para o processo.⁵⁶ No citoplasma bacteriano, o ferro é liberado do complexo FeEnt por hidrólise catalisada pela esterase Fes.⁵⁶ (figura 3). O sistema imune inato possui um componente antibacteriano denominado lipocalina (NGAL- gelatinase associada a neutrófilo), que apresenta alta afinidade pelo complexo FeEnt, competindo efetivamente com FepA. Lipocalin tem função bacteriostática, inibindo o crescimento de *E. coli* por ligação e sequestro do Fe ligado a Enterobactina.⁵⁷

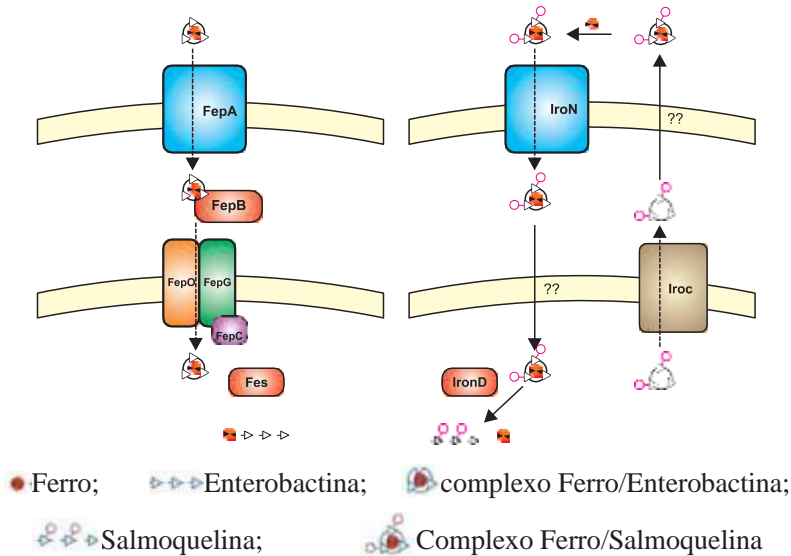


Figura 3: Esquema representativo de sistemas de aquisição de ferro ligados a sideróforos em UPEC. (Esquerda) Enterobactina: FepA, receptor na membrana externa; FepB transporte no periplasma; FepD/FepG formam poro levando o complexo FeEnt ao citosol; FepC fornece energia ao processo; Fes, esterase que catalisa a hidrólise do complexo liberando Ferro. (Direita) Salmoquelina: IroN, receptor na membrana externa, IroD, esterase que catalisa a hidrólise do complexo liberando Ferro; IroC envolvida no transporte da salmoquelina para o exterior.

UPEC expressa outros sistemas de aquisição de ferro como salmoquelinas (*iro*), yersiniabactinas (*fyuA*) e aerobactinas (*iutA*)¹³. Salmoquelinas são análogos glicosilados da Enterobactina. A conversão da Enterobactina em salmoquelina requer o agrupamento de genes *iroA*, que inclui os genes *iroB*, *iroC*, *iroD*, *iroE* e *iroN*.⁵⁸ A proteína IroN é homóloga a FepA, sendo receptora do complexo Fe³⁺-salmoquelina na membrana externa da bactéria, e assim como FepA, reconhece outros sideróforos. IroB tem sido relacionado com a glicosilação da enterobactina e conseqüente formação de salmoquelina. IroC está envolvido na exportação do sideróforo, transportando-o através da membrana interna. A proteína IroD atua como esterase homóloga a Fes, catalisando a hidrólise e liberação do Fe³⁺ no citoplasma. IroE hidrolisa sideróforos durante a exportação⁵⁸ (Figura 3). Isolados de UPEC carregam o *cluster iroA* dentro de PAIs.

Outros Fatores de Virulência

Estudo envolvendo mutagênese e modelo animal constatou a atenuação na habilidade de causar ITU associada ao sistema de transporte de fosfato.⁵⁹ Mutações no gene *phoU*, do operon *pst-phoU*, que codifica um sistema transportador de fosfato, pode ter efeito direto ou indireto na sobrevivência bacteriana. Segundo os autores, a proteína PhoU parece ser importante na colonização da bexiga e dos rins.⁵⁹

A produção de cápsula parece estar envolvida com uma maior resistência da bactéria à fagocitose e aos efeitos bactericidas do soro humano.⁶⁰ Entretanto, o envolvimento de um tipo particular de cápsula com *E. coli* isoladas de ITU não foi confirmado. Bahrani-Mougeot e colaboradores (2002) identificaram um novo locus envolvido na produção de cápsula tipo II. Estudo envolvendo mutagênese e modelo animal evidenciou que a síntese de cápsulas polissacarídicas do grupo II é um fenótipo importante para a patogênese da ITU.⁵⁹ O mesmo estudo relacionou uma transaminase, codificada pelo gene *wecE*, que participa da síntese de um polissacarídeo extracelular, o antígeno comum enterobacteriano (ECA), com deficiência na colonização dos rins e bexiga.⁵⁹

Isolados de UPEC dentro do hospedeiro encontram múltiplos fatores de estresse, incluindo níveis substanciais de óxido nítrico e intermediários de nitrogênio reativo (estresse nitrosativo). Poucas horas após a infecção os níveis de óxido nítrico dentro da bexiga podem aumentar 30 a 50 vezes.¹ Bower e colaboradores (2009) demonstraram que UPEC pode se adaptar transitoriamente a altos níveis de estresse nitrosativo, via mecanismos ligados a poliaminas (principalmente cadaverina) e vários genes regulatórios (principalmente a família NsrR).¹ Tais adaptações capacitam o micro-organismo a crescer mais rapidamente e colonizar melhor o trato urinário após exposição a intermediários de nitrogênio reativo em modelos animais.¹

Dados experimentais e epidemiológicos têm demonstrado que nenhum fator de virulência único é suficiente para que cepas de *E. coli* causem doença. Em vez disso, a expressão de múltiplos fatores trabalhando em conjunto, contribui para o estabelecimento de uma bem sucedida ITU.² A figura 4 mostra os principais eventos que ocorrem durante a infecção da bexiga por UPEC, representando a interação dinâmica entre UPEC e a célula hospedeira, durante a ITU.

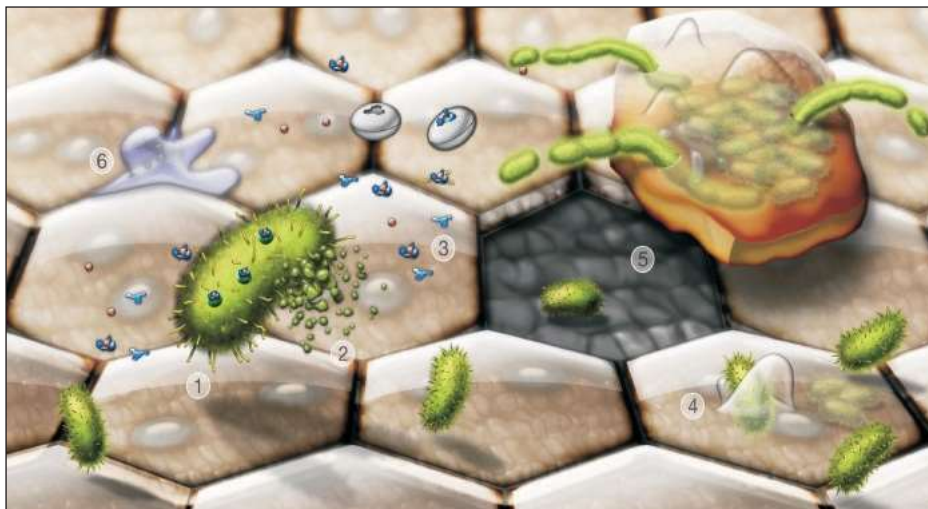


Figura 4: UPEC expressando pili tipo1 (1 - verde), secretando toxinas e outros fatores de virulência, sozinhos ou em associação com vesículas da membrana externa.²Sideróforos como enterobactina e salmoquelina

(3 – estruturas azuis), excretados pela UPEC para captação de ferro (vermelho), em competição com moléculas quelantes de ferro do hospedeiro e lipocalina (discos cinza). Pili tipo 1 mediando a adesão e invasão de células epiteliais da bexiga.⁴ Grandes células epiteliais diferenciadas, muitas vezes binucleadas, são o alvo primário da invasão por UPEC. A bactéria pode se multiplicar rapidamente dentro destas células superficiais diferenciadas (laranja), formando grandes comunidades tipo biofilmes. A esfoliação da célula infectada facilita a eliminação bacteriana pelo hospedeiro, mas deixa pequenas células imaturas subjacentes mais suscetíveis a infecção.⁵ A eliminação ou efluxo de UPEC das células do hospedeiro, antes da completa esfoliação pode promover a disseminação e persistência bacteriana dentro do trato urinário. Durante o efluxo UPEC geralmente tornam-se filamentosas, provavelmente devido ao crescente estresse, decorrente do aumento da ativação das defesas do hospedeiro. Estas incluem influxo de neutrófilos⁶ bem como a geração de oxigênio e nitrogênio reativos e peptídeos antimicrobianos.¹³

Fonte: Wiles *et al.*, 2008

Staphylococcus saprophyticus

Staphylococcus saprophyticus são associados a ITUs não complicadas em humanos, sendo a segunda causa mais frequente destas infecções em mulheres (61). Kuroda e colaboradores (2005) concluíram o sequenciamento do genoma do *S. saprophyticus* (ATCC 15305), revelando a patogênese deste micro-organismo em ITUs não complicadas. O estudo demonstrou que nenhum dos fatores de virulência

de *S. aureus* (coagulase, hemolisinas, enterotoxinas e exoenzimas) está presente no genoma de *S. saprophyticus*. A cepa ATCC 15305 tem capacidade de aglutinar hemácias de carneiro, mediada por uma única proteína de superfície ancorada na parede celular. Esta proteína denominada UafA é uma adesina específica associada com aderência de *S. saprophyticus* a células do trato urinário.⁶²

Análise comparativa do genoma revelou que *S. saprophyticus* dispõe de muitos sistemas de transporte. Estes sistemas facilitam sua adaptação à urina humana, na qual o pH, osmolaridade, concentração de ureia, íons e outras substâncias orgânicas são instáveis e variáveis. A osmotolerância é um dos fatores característicos de *Staphylococcus* spp., conferida por proteínas transportadoras (ProP- transportador betaína/prolina; PutP – permease de alta afinidade pela prolina; transportador colina/betaína/glicina). Em comparação com outras espécies, *S. saprophyticus* possui sistemas adicionais de transporte, expandindo a capacidade osmoprotetora que contribui para o rápido balanceamento da pressão osmótica intracelular. Dois plasmídeos presentes em *S. saprophyticus* carregam um gene de aquaporina Z (*aqpZ*), que pode contribuir para o balanceamento osmótico através da formação de canais de água.⁶²

S. saprophyticus não possui sideróforos. Um dos prováveis candidatos a sistemas de aquisição de ferro é uma família de proteínas envolvida no transporte de metais divalentes, conhecidas como NRAMP (proteínas associadas à resistência natural a macrófagos). Enquanto uma proteína da família NRAMP troca cátions divalentes por sódio, outra é dependente de íons H (pH). Em mamíferos, a família NRAMP tem ação pH dependente no fagolisossomo bacteriano de macrófago, para esgotar os cátions divalentes livres disponíveis. Em contrapartida as bactérias competem pela absorção dos cátions divalentes da mesma maneira pH dependente sob condições de pH ácido. Na urina rica em sódio, a força motriz de sódio conduz as trocas por cátions divalentes de forma mais eficaz do que outros íons. Assim, a proteína sódio dependente (SSP2176) parece contribuir para a aquisição suficiente de cátions divalentes, incluindo ferro, permitindo que *S. saprophyticus* cresça, sem sideróforos, em urina hiperosmótica. Em comparação com *S. aureus*, *S. saprophyticus* não apresenta um sistema de ATPase (KdpABC) capaz de importar potássio, conseqüentemente não cresce em ambientes com limitação de potássio, e esta pode ser uma das razões para explicar o fato de que *S. saprophyticus* raramente causa infecções graves.⁶²

A produção de urease é uma importante característica em infecções por *S. saprophyticus* e está associada com a formação de pedras uretrais e renais.⁶³ Kuroda e colaboradores (2005) demonstraram que *S. saprophyticus* possui o mesmo *operon* urease composto pelo agrupamento de genes *ureABCEFGD*, que outras espécies de *Staphylococcus*. No entanto, a atividade de urease é significativamente maior nesta espécie, possivelmente por diferenças nos sistemas de regulação da expressão ou mecanismos de ativação. A produção de urease no estágio inicial de proliferação parece ser um evento importante para que o micro-organismo cause infecção. *S. saprophyticus* pode ter evoluído para se adaptar especificamente ao ambiente urinário, exibindo notável habilidade para aderir e crescer rapidamente neste sítio.⁶²

***Proteus* spp.**

O gênero *Proteus* é comumente associado a ITUs em indivíduos com anormalidades estruturais ou funcionais, especialmente em pacientes com infecções ascendentes submetidos a cateterismo urinário.⁶⁴ Catéteres urinários servem como local de início de infecção, introduzindo uropatógenos como *Proteus* spp. dentro do trato urinário, proporcionando uma superfície de restos celulares e proteínas que podem ser reconhecidas por adesinas bacterianas.⁹ Entre todas as bactérias gram-negativas, *P. mirabilis* é a que apresenta maior capacidade de fixação à superfície de catéteres.⁶⁵ Possui um extraordinário potencial de aderência ao tecido do hospedeiro, sendo a bactéria que codifica o maior número de fímbrias entre os organismos já sequenciados.⁶⁶ Produz inúmeras fímbrias que são potencialmente envolvidas na adesão ao epitélio urinário e possivelmente a superfícies de catéteres. Antes do sequenciamento genômico de *P. mirabilis*, as fímbrias identificadas incluíam fimbria P/MR (Proteus/Manose Resistente), fimbria PMF (*Proteus mirabilis*), UCA (adesina célula uroepitelial), renomeada por alguns autores de NAF (fimbria não aglutinante), e fimbria ATF (fimbria de temperatura-ambiente).^{9, 67} Entretanto, o sequenciamento evidenciou um total de 17 fímbrias em *P. mirabilis*. O perfil de expressão destas fímbrias ainda não foi determinado, podendo revelar novos papéis na virulência da espécie, ou fornecer informações sobre o seu ciclo de vida em outros nichos.⁶⁶ *P. mirabilis* pode expressar vários tipos de fímbrias simultaneamente.⁶⁸ Pode alternar entre fenótipos de aderência (célula fimbriada vegetativa) e móvel (célula hiperflagelada), indicando a presença de uma sofisticada rede reguladora que controla a modulação entre estilos de vida alternativos. Os genes flagelares de *P. mirabilis* estão em um único *locus* cromossomal contíguo, apresentando interessantes possibilidades para a regulação da expressão.⁶⁶

A adesão bacteriana mediada por fímbrias é um passo crucial para o sucesso da colonização do trato urinário, tendo um importante papel na patogênese de ITU. As fímbrias P/MR, classificadas como fímbrias manose resistentes, são as adesinas mais estudadas no gênero *Proteus*. Sareneva e colaboradores (1990) demonstraram a propensão desta fimbria a aderir especificamente em células do epitélio tubular renal de humanos e a células uroepiteliais esfoliadas do sedimento urinário.⁶⁹ Os genes requeridos para a expressão da fimbria P/MR na superfície celular são codificados no cromossoma bacteriano no operon *mrp* e gene *mrpI*. Algumas das proteínas codificadas pelo operon *mrp* incluem a subunidade estrutural da fimbria MrpA, proteína envolvida na montagem da fimbria MrpB, subunidade menor MrpG, a adesina MrpH e o repressor da síntese de flagelina MrpJ. O gene *mrpI* codifica uma recombinase sítio-específica que reverte a orientação de um elemento reversível que precede o operon *mrp*.⁷⁰ A expressão é correlacionada com a orientação deste elemento reversível, podendo permitir a expressão (P/MR “ON”) ou se opor a orientação (P/MR “OFF”) incapacitando a transcrição da fimbria P/MR. Experimentos realizados por Jansen e colaboradores (2004) sugeriram que a expressão de fímbrias P/MR determina a localização da bactéria na bexiga e contribui para a formação de

biofilme.⁷¹ Li e colaboradores (2002) têm utilizado a fimbria P/MR como promissor candidato a vacina para prevenir a colonização por *P. mirabilis* e conseqüentemente a urolitíase.⁷²

A fimbria PMF, codificada por genes localizados no agrupamento de gene *pmf*, consiste de cinco polipeptídeos: subunidade maior PmfA, PmfC, PmfD, PmfE e subunidade menor PmfF, que é a adesina.⁷³ Os resultados de estudos para determinar a função desta fimbria durante ITU foram conflitantes.^{74, 75} Em estudo mais recente, Zunino e colaboradores (2007) sugerem que estas organelas são necessárias, mas não suficientes para estabelecer ITU no hospedeiro, e que P/MR e PMF embora atuem de forma redundante, têm papel específico e aditivo na ITU por *P. mirabilis*.⁷⁶

As fímbricas ATF parecem ter um papel na sobrevivência de *Proteus* spp. em ambientes externos devido a sua temperatura de expressão ótima (temperatura ambiente). Esta hipótese é sustentada por experimento de mutagênese em ATF, demonstrando que a capacidade infectiva de *P. mirabilis* não foi afetada pela ausência desta fimbria.⁷⁷

Sob condições ambientais apropriadas, *P. mirabilis* sofre uma notável diferenciação celular (*swarmer cell*), com aumento de 20 a 40 vezes no tamanho celular e no número de flagelos por célula.⁷⁸ As células diferenciadas são capazes de realizar uma movimentação da população altamente ordenada, denominada *swarming*.⁷⁸ Operons fimbriais P/MR e NAF (UCA) são regulados negativamente durante o *swarming*.⁷⁸ A expressão fimbrial pode reprimir a motilidade flagelar, a superexpressão de MrpJ, cujo gene é cotranscrito com o operon fimbrial *mrp*, reprime a expressão de flagelina e conseqüentemente a motilidade.⁸⁰ A regulação flagelar em *P. mirabilis*, juntamente com o elevado número de operons fimbriais, sugere que a decisão de aderir ou se mover é fundamental ao estilo de vida deste patógeno oportunista, e ambas motilidade e aderência, contribuem para a habilidade de causar doenças associadas a *P. mirabilis*.⁶⁶ Estudos têm documentado a expressão coordenada de genes de virulência com o fenômeno de *swarming* de *Proteus*.^{81,82} A hemolisina HpmA de *P. mirabilis*, codificada pelo locus *hpmBA* tem sua produção regulada positivamente e coordenadamente com a síntese e montagem do flagelo durante a diferenciação celular associada ao *swarming*, indicando que as vias de controle da expressão do gene de virulência e a diferenciação celular se cruzam.⁸³

Este patógeno oportunista é bem equipado para colonizar o trato urinário, podendo utilizar a ureia, composto abundante na urina, como fonte de nitrogênio.⁶⁶ A persistência da infecção por *P. mirabilis* é agravada pela habilidade deste micro-organismo em induzir a formação de cálculos urinários e incrustar catéteres, proporcionando um nicho protegido das células imunes do hospedeiro e de agentes antimicrobianos. A formação de cálculos em volta do micro-organismo torna o tratamento antimicrobiano ineficaz.⁸⁴ Os cálculos devido a infecções por *P. mirabilis* são formados no trato urinário por ação da urease, que catalisa a hidrólise da ureia presente na urina, em dióxido de carbono e amônia.⁸⁵ O resultado da formação de amônia é o aumento no pH. Íons polivalentes que são normalmente solúveis na urina em pH neutro precipitam, algumas vezes em volta da própria bactéria, for-

mando um cálculo urinário.⁸⁴ Cálculos urinários são frequentemente compostos de magnésio, amônio, fosfato e cálcio resultantes da precipitação dos íons na forma de cristais. O agrupamento de gene urease inclui três genes estruturais (*ureA*, *ureB*, *ureC*) que codificam a apoenzima inativa, e quatro genes acessórios (*ureD*, *ureE*, *ureF* e *ureG*). A expressão destes genes é regulada pelo gene *ureR*.^{86, 87} A apoenzima urease, composta de três cópias de cada trîmero UreABC, é uma metalo-enzima que requer a incorporação de íons níquel em UreC.⁸⁸ As enzimas acessórias UreD, UreE, UreF e UreG coordenam a ativação da enzima urease por mediar a incorporação do níquel no sítio ativo.⁸⁹ Mutantes urease negativa são incapazes de iniciar a formação de cálculos e a colonização renal é significativamente menor.⁷² O ambiente alcalino criado pela urease (pH entre 8.0 e 9.0) possibilita um desempenho ótimo de vários processos bacterianos como catálise enzimática, interação adesina-receptor e atividade de sistemas de aquisição de ferro.⁶⁶

Burall e colaboradores (2004) identificaram o gene *cheW*, um componente regulatório do sistema quimiotático relacionado à motilidade. Os autores sugeriram que a resposta quimiotática é vital para colonização e movimento de *P. mirabilis* dentro do hospedeiro. Analisando isolados com mutações no gene *cheW*, os autores sugeriram que o movimento bacteriano mediado por quimiotaxia atrai ou repele, através da utilização de proteínas que transmitem sinais de proteínas receptoras transmembranas (MCPs – *methyl-accepting chemotaxis proteins*) para o motor flagelar. Estes quimiorreceptores funcionam como um complexo composto por CheA, CheW e MCPs, no qual a função de CheW parece ser acoplar CheA a MCP. Mutantes *cheW* apresentaram atividade de *swarming* muito comprometida.⁸⁷ Em estudo posterior de mutagênese Himpls e colaboradores (2008) relacionaram outros dois genes à motilidade em *P. Mirabilis*; os genes *fliF* e *flgE* parecem estar associados à síntese do flagelo.⁹⁰

Outros fatores associados à virulência de *P. mirabilis* são os sistemas de aquisição de ferro relacionados ao *operon nrp*, que apresenta nível de homologia como sistema yersiniabactina,⁸⁷ além de proteínas transportadoras com alta afinidade por fosfato, PST (PstA, PstS).⁹

Enterococcus spp.

Enterococcus faecium e *E. faecalis* emergiram rapidamente como patógenos nosocomiais, fato atribuído à aquisição de resistência a múltiplas drogas e fatores de virulência. O fator de virulência mais estudado no gênero é a proteína de superfície enterocócica (Esp), que é encontrada em ambos, *E. faecium* e *E. faecalis*. Esp está envolvida na adesão às células uroepiteliais⁹¹ e na formação de biofilme.⁹² A expressão de Esp *in vitro*, melhorou a ligação da bactéria a células epiteliais da bexiga e dos rins em modelo animal.⁹³ Em modelo de infecção urinária por *E. faecium*, Esp foi associada a maior frequência de bacteriemia, níveis mais altos de citocina no tecido renal e insuficiência renal.⁹³ Em *E. faecium* o gene *esp* tem se mostrado mais abundante entre isolados clínicos, e

está localizado dentro de uma grande PAI de aproximadamente 150kb.⁹⁴ Estudo brasileiro com isolados de *E. faecium* encontrou o gene *esp* restrito a isolados vancomicina-resistentes (VREs).⁹⁵ Em *E. faecalis* a PAI que ancora o gene *esp*, possui genes necessários para a produção de uma exotoxina denominada citolisina (Cyl).⁹⁶ Os genes que codificam Cyl também podem estar localizados em plasmídeos. Entre as células-alvo da citolisina estão os eritrócitos (hemolisina), neutrófilos, macrófagos e outras bactérias gram-positivas (bacteriocina).⁹⁷ Cyl tem sido associada ao aumento da letalidade em modelos de infecções peritoneais e endocardite, por mecanismos ainda desconhecidos.⁹⁸

Em *E. faecalis*, uma adesina denominada substância de agregação (AS), está envolvida na mediação do contato célula-célula entre diferentes isolados, bem como no contato da bactéria com células eucariotas, como as células tubulares renais.⁹⁹ Outro fator de virulência, uma adesina ligadora de colágeno denominada Acm, tem sido associada ao sucesso de *E. faecalis* como patógeno nosocomial e à patogênese da endocardite.^{100, 101} O gene *hyl* (Efm) codifica uma possível hialuronidase, cuja sequência de aminoácidos tem alta identidade com hialuronidasas conhecidas.¹⁰² Uma possível atuação de Efm seria a degradação de ácido hialurônico, presente no tecido conectivo, com consequente dano tecidual.¹⁰³ Efm tem sido encontrada quase exclusivamente em isolados clínicos de *E faecium*, associada a um plasmídeo e conferindo maior habilidade em colonizar o trato gastrointestinal.¹⁰⁴ Segundo Arias e colaboradores (2009), a cotransferência de genes de resistência (VanA) com fatores de virulência *hyl* em um mesmo plasmídeo podem explicar, pelo menos em parte, a emergência de cepas de *E. faecium* resistentes a vancomicina como patógenos nosocomiais.¹⁰⁰ Em estudo envolvendo enterococos resistentes a vancomicina isolados no Brasil, o gene *hyl* foi raramente encontrado (17%), sendo que todos os isolados positivos também apresentaram o gene *esp*.¹⁰⁵

Proteínas de superfície que se ligam aos componentes da matriz extracelular podem atuar como adesinas, contribuindo para a virulência de *E. faecium*. Em estudo recente comparando *E. faecium* isolados de infecções humanas com isolados não infecciosos, van Schaik e colaboradores (2010) revelaram 26 proteínas conservadas somente em isolados infecciosos.⁹⁴ Sete das 26 proteínas foram identificados como elementos de inserção (IS) de diferentes famílias, que podem contribuir para a flexibilidade genômica, facilitando a aquisição de elementos adaptativos.⁹⁴ Um sistema transportador ABC, de substrato desconhecido, também foi encontrado somente em isolados associados à infecção. Outras proteínas possivelmente atuam na replicação de plasmídeo ou como integrase/recombinase de bacteriófagos.⁹⁴

Entre outros fatores associados à virulência de *E. faecalis* destaca-se a gelatinase, uma metalo-endopeptidase extracelular dependente de zinco, codificada pelo gene *gelE*, regulado pelo locus *fsr*.¹⁰⁵ Gelatinase pode hidrolisar, entre outros substratos, gelatina, colágeno, fibrinogênio e hemoglobina¹⁰⁶ e está envolvida no desenvolvimento de biofilme.¹⁰⁵

REFERÊNCIAS

1. Bower JM, Gordon-Raagas HB, Mulvey MA. Conditioning of uropathogenic *Escherichia coli* for enhanced colonization of host. *Infect Immun*. 2009 May;77(5):2104-12.
2. Dhakal BK, Kulesus RR, Mulvey MA. Mechanisms and consequences of bladder cell invasion by uropathogenic *Escherichia coli*. *Eur J Clin Invest*. 2008 Oct;38 Suppl 2:2-11.
3. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol*. 2004 Feb;2(2):123-40.
4. Chromek M, Brauner A. Antimicrobial mechanisms of the urinary tract. *J Mol Med*. 2008 Jan;86(1):37-47.
5. Hacker J, Kaper JB. Pathogenicity islands and the evolution of microbes. *Annu Rev Microbiol*. 2000;54:641-79.
6. Vieira MA. Ilhas de Patogenicidade. *O Mundo da Saúde*. 2009;33(4):406-14.
7. Kao JS, Stucker DM, Warren JW, Mobley HL. Pathogenicity island sequences of pyelonephritogenic *Escherichia coli* CFT073 are associated with virulent uropathogenic strains. *Infect Immun*. 1997 Jul;65(7):2812-20.
8. Lloyd AL, Rasko DA, Mobley HL. Defining genomic islands and uropathogen-specific genes in uropathogenic *Escherichia coli*. *J Bacteriol*. 2007 May;189(9):3532-46.
9. Jacobsen SM, Stickler DJ, Mobley HL, Shirliff ME. Complicated catheter-associated urinary tract infections due to *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis*. *Clin Microbiol Rev*. 2008 Jan;21(1):26-59.
10. Brzuszkiewicz E, Bruggemann H, Liesegang H, Emmerth M, Olschlager T, Nagy G, *et al*. How to become a uropathogen: comparative genomic analysis of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* strains. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Aug 22;103(34):12879-84.
11. Chen SL, Hung CS, Xu J, Reigstad CS, Magrini V, Sabo A, *et al*. Identification of genes subject to positive selection in uropathogenic strains of *Escherichia coli*: a comparative genomics approach. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Apr 11;103(15):5977-82.
12. Welch RA, Burland V, Plunkett G, 3rd, Redford P, Roesch P, Rasko D, *et al*. Extensive mosaic structure revealed by the complete genome sequence of uropathogenic *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 Dec 24;99(26):17020-4.
13. Wiles TJ, Kulesus RR, Mulvey MA. Origins and virulence mechanisms of uropathogenic *Escherichia coli*. *Exp Mol Pathol*. 2008 Aug;85(1):11-9.
14. Holden N, Totsika M, Dixon L, Catherwood K, Gally DL. Regulation of P-fimbrial phase variation frequencies in *Escherichia coli* CFT073. *Infect Immun*. 2007 Jul;75(7):3325-34.

15. Holden NJ, Totsika M, Mahler E, Roe AJ, Catherwood K, Lindner K, *et al.* Demonstration of regulatory cross-talk between P fimbriae and type 1 fimbriae in uropathogenic *Escherichia coli*. *Microbiology*. 2006 Apr;152(Pt 4):1143-53.
16. Lindberg S, Xia Y, Sonden B, Goransson M, Hacker J, Uhlin BE. Regulatory Interactions among adhesin gene systems of uropathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun*. 2008 Feb;76(2):771-80.
17. Holden NJ, Gally DL. Switches, cross-talk and memory in *Escherichia coli* adherence. *J Med Microbiol*. 2004 Jul;53(Pt 7):585-93.
18. Sauer FG, Mulvey MA, Schilling JD, Martinez JJ, Hultgren SJ. Bacterial pili: molecular mechanisms of pathogenesis. *Curr Opin Microbiol*. 2000 Feb;3(1):65-72.
19. Mulvey MA. Adhesion and entry of uropathogenic *Escherichia coli*. *Cell Microbiol*. 2002 May;4(5):257-71.
20. Sokurenko EV, Chesnokova V, Dykhuizen DE, Ofek I, Wu XR, Krogfelt KA, *et al.* Pathogenic adaptation of *Escherichia coli* by natural variation of the FimH adhesin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998 Jul 21;95(15):8922-6.
21. Schembri MA, Christiansen G, Klemm P. FimH-mediated autoaggregation of *Escherichia coli*. *Mol Microbiol*. 2001 Sep;41(6):1419-30.
22. Schembri MA, Klemm P. Biofilm formation in a hydrodynamic environment by novel fimh variants and ramifications for virulence. *Infect Immun*. 2001 Mar;69(3):1322-8.
23. Martinez JJ, Mulvey MA, Schilling JD, Pinkner JS, Hultgren SJ. Type 1 pilus-mediated bacterial invasion of bladder epithelial cells. *EMBO J*. 2000 Jun 15;19(12):2803-12.
24. Eto DS, Jones TA, Sundsbak JL, Mulvey MA. Integrin-mediated host cell invasion by type 1-piliated uropathogenic *Escherichia coli*. *PLoS Pathog*. 2007 Jul;3(7):e100.
25. Bishop BL, Duncan MJ, Song J, Li G, Zaas D, Abraham SN. Cyclic AMP-regulated exocytosis of *Escherichia coli* from infected bladder epithelial cells. *Nat Med*. 2007 May;13(5):625-30.
26. Lane MC, Mobley HL. Role of P-fimbrial-mediated adherence in pyelonephritis and persistence of uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) in the mammalian kidney. *Kidney Int*. 2007 Jul;72(1):19-25.
27. Wullt B, Bergsten G, Samuelsson M, Svanborg C. The role of P fimbriae for *Escherichia coli* establishment and mucosal inflammation in the human urinary tract. *Int J Antimicrob Agents*. 2002 Jun;19(6):522-38.
28. Morschhauser J, Hoschutzky H, Jann K, Hacker J. Functional analysis of the sialic acid-binding adhesin SfaS of pathogenic *Escherichia coli* by site-specific mutagenesis. *Infect Immun*. 1990 Jul;58(7):2133-8.
29. Prasadarao NV, Wass CA, Hacker J, Jann K, Kim KS. Adhesion of S-fimbriated *Escherichia coli* to brain glycolipids mediated by sfaA gene-encoded protein of S-fimbriae. *J Biol Chem*. 1993 May 15;268(14):10356-63.

30. Malagolini N, Cavallone D, Wu XR, Serafini-Cessi F. Terminal glycosylation of bovine uroplakin III, one of the major integral-membrane glycoproteins of mammalian bladder. *Biochim Biophys Acta*. 2000 Jul 26;1475(3):231-7.
31. Khan AS, Hacker J. Glycolipid receptors of F1C fimbrial adhesin of uropathogenic *Escherichia coli*. *Adv Exp Med Biol*. 2000;485:213-7.
32. Le Bouguenec C, Servin AL. Diffusely adherent *Escherichia coli* strains expressing Afa/Dr adhesins (Afa/Dr DAEC): hitherto unrecognized pathogens. *FEMS Microbiol Lett*. 2006 Mar;256(2):185-94.
33. Kansau I, Berger C, Hospital M, Amsellem R, Nicolas V, Servin AL, *et al*. Zipper-like internalization of Dr-positive *Escherichia coli* by epithelial cells is preceded by an adhesin-induced mobilization of raft-associated molecules in the initial step of adhesion. *Infect Immun*. 2004 Jul;72(7):3733-42.
34. Nowicki B, Selvarangan R, Nowicki S. Family of *Escherichia coli* Dr adhesins: decay-accelerating factor receptor recognition and invasiveness. *J Infect Dis*. 2001 Mar 1;183 Suppl 1:S24-7.
35. Selvarangan R, Goluszko P, Singhal J, Carnoy C, Moseley S, Hudson B, *et al*. Interaction of Dr adhesin with collagen type IV is a critical step in *Escherichia coli* renal persistence. *Infect Immun*. 2004 Aug;72(8):4827-35.
36. Lane MC, Alteri CJ, Smith SN, Mobley HL. Expression of flagella is coincident with uropathogenic *Escherichia coli* ascension to the upper urinary tract. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007 Oct 16;104(42):16669-74.
37. Menestrina G, Pederzoli C, Dalla Serra M, Bregante M, Gambale F. Permeability increase induced by *Escherichia coli* hemolysin A in human macrophages is due to the formation of ionic pores: a patch clamp characterization. *J Membr Biol*. 1996 Jan;149(2):113-21.
38. Koschinski A, Repp H, Unver B, Dreyer F, Brockmeier D, Valeva A, *et al*. Why *Escherichia coli* alpha-hemolysin induces calcium oscillations in mammalian cells--the pore is on its own. *FASEB J*. 2006 May;20(7):973-5.
39. Wiles TJ, Dhakal BK, Eto DS, Mulvey MA. Inactivation of host Akt/protein kinase B signaling by bacterial pore-forming toxins. *Mol Biol Cell*. 2008 Apr;19(4):1427-38.
40. Lemonnier M, Landraud L, Lemichez E. Rho GTPase-activating bacterial toxins: from bacterial virulence regulation to eukaryotic cell biology. *FEMS Microbiol Rev*. 2007 Sep;31(5):515-34.
41. Mysorekar IU, Hultgren SJ. Mechanisms of uropathogenic *Escherichia coli* persistence and eradication from the urinary tract. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Sep 19;103(38):14170-5.
42. Wullt B, Bergsten G, Connell H, Rollano P, Gebratsedik N, Hang L, *et al*. P-fimbriae trigger mucosal responses to *Escherichia coli* in the human urinary tract. *Cell Microbiol*. 2001 Apr;3(4):255-64.
43. Davis JM, Rasmussen SB, O'Brien AD. Cytotoxic necrotizing factor type 1 production by uropathogenic *Escherichia coli* modulates polymorphonuclear leukocyte function. *Infect Immun*. 2005 Sep;73(9):5301-10.

44. Nougayrede JP, Homburg S, Taieb F, Boury M, Brzuszkiewicz E, Gottschalk G, *et al.* *Escherichia coli* induces DNA double-strand breaks in eukaryotic cells. *Science*. 2006 Aug 11;313(5788):848-51.
45. Marches O, Ledger TN, Boury M, Ohara M, Tu X, Goffaux F, *et al.* Enteropathogenic and enterohaemorrhagic *Escherichia coli* deliver a novel effector called Cif, which blocks cell cycle G2/M transition. *Mol Microbiol*. 2003 Dec;50(5):1553-67.
46. Dubois D, Delmas J, Cady A, Robin F, Sivignon A, Oswald E, *et al.* Cyclomodulins in urosepsis strains of *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol*. Jun;48(6):2122-9.
47. Johnson JR, Johnston B, Kuskowski MA, Nougayrede JP, Oswald E. Molecular epidemiology and phylogenetic distribution of the *Escherichia coli* *pks* genomic island. *J Clin Microbiol*. 2008 Dec;46(12):3906-11.
48. Henderson IR, Navarro-Garcia F, Desvaux M, Fernandez RC, Ala'Aldeen D. Type V protein secretion pathway: the autotransporter story. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2004 Dec;68(4):692-744.
49. Restieri C, Garriss G, Locas MC, Dozois CM. Autotransporter-encoding sequences are phylogenetically distributed among *Escherichia coli* clinical isolates and reference strains. *Appl Environ Microbiol*. 2007 Mar;73(5):1553-62.
50. Maroncle NM, Sivick KE, Brady R, Stokes FE, Mobley HL. Protease activity, secretion, cell entry, cytotoxicity, and cellular targets of secreted autotransporter toxin of uropathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun*. 2006 Nov;74(11):6124-34.
51. Guyer DM, Radulovic S, Jones FE, Mobley HL. Sat, the secreted autotransporter toxin of uropathogenic *Escherichia coli*, is a vacuolating cytotoxin for bladder and kidney epithelial cells. *Infect Immun*. 2002 Aug;70(8):4539-46.
52. Henderson IR, Nataro JP. Virulence functions of autotransporter proteins. *Infect Immun*. 2001 Mar;69(3):1231-43.
53. Kjaergaard K, Schembri MA, Ramos C, Molin S, Klemm P. Antigen 43 facilitates formation of multispecies biofilms. *Environ Microbiol*. 2000 Dec;2(6):695-702.
54. Feldmann F, Sorsa LJ, Hildinger K, Schubert S. The salmochelin siderophore receptor IroN contributes to invasion of urothelial cells by extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* in vitro. *Infect Immun*. 2007 Jun;75(6):3183-7.
55. Crosa JH. Genetics and molecular biology of siderophore-mediated iron transport in bacteria. *Microbiol Rev*. 1989 Dec;53(4):517-30.
56. Raymond KN, Dertz EA, Kim SS. Enterobactin: an archetype for microbial iron transport. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003 Apr 1;100(7):3584-8.
57. Goetz DH, Holmes MA, Borregaard N, Bluhm ME, Raymond KN, Strong RK. The neutrophil lipocalin NGAL is a bacteriostatic agent that interferes with siderophore-mediated iron acquisition. *Mol Cell*. 2002 Nov;10(5):1033-43.
58. Lin H, Fischbach MA, Liu DR, Walsh CT. In vitro characterization of salmochelin and enterobactin trilactone hydrolases IroD, IroE, and Fes. *J Am Chem Soc*. 2005 Aug 10;127(31):11075-84.

59. Bahrani-Mougeot FK, Buckles EL, Locketell CV, Hebel JR, Johnson DE, Tang CM, *et al.* Type 1 fimbriae and extracellular polysaccharides are pre-eminent uropathogenic *Escherichia coli* virulence determinants in the murine urinary tract. *Mol Microbiol.* 2002 Aug;45(4):1079-93.
60. Russo TA, Moffitt MC, Hammer CH, Frank MM. TnphoA-mediated disruption of K54 capsular polysaccharide genes in *Escherichia coli* confers serum sensitivity. *Infect Immun.* 1993 Aug;61(8):3578-82.
61. Raz R, Colodner R, Kunin CM. Who are you--*Staphylococcus saprophyticus*? *Clin Infect Dis.* 2005 Mar 15;40(6):896-8.
62. Kuroda M, Yamashita A, Hirakawa H, Kumano M, Morikawa K, Higashide M, *et al.* Whole genome sequence of *Staphylococcus saprophyticus* reveals the pathogenesis of uncomplicated urinary tract infection. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005 Sep 13;102(37):13272-7.
63. Hedman P, Ringertz O. Urinary tract infections caused by *Staphylococcus saprophyticus*. A matched case control study. *J Infect.* 1991 Sep;23(2):145-53.
64. Rocha SP, Elias WP, Cianciarullo AM, Menezes MA, Nara JM, Piazza RM, *et al.* Aggregative adherence of uropathogenic *Proteus mirabilis* to cultured epithelial cells. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2007 Nov;51(2):319-26.
65. Roberts JA, Fussell EN, Kaack MB. Bacterial adherence to urethral catheters. *J Urol.* 1990 Aug;144(2 Pt 1):264-9.
66. Pearson MM, Sebahia M, Churcher C, Quail MA, Seshasayee AS, Luscombe NM, *et al.* Complete genome sequence of uropathogenic *Proteus mirabilis*, a master of both adherence and motility. *J Bacteriol.* 2008 Jun;190(11):4027-37.
67. Rocha SP, Pelayo JS, Elias WP. Fimbriae of uropathogenic *Proteus mirabilis*. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2007 Oct;51(1):1-7.
68. Rozalski A, Sidorczyk Z, Kotelko K. Potential virulence factors of *Proteus* bacilli. *Microbiol Mol Biol Rev.* 1997 Mar;61(1):65-89.
69. Sareneva T, Holthofer H, Korhonen TK. Tissue-binding affinity of *Proteus mirabilis* fimbriae in the human urinary tract. *Infect Immun.* 1990 Oct;58(10):3330-6.
70. Zhao H, Li X, Johnson DE, Blomfield I, Mobley HL. In vivo phase variation of MR/P fimbrial gene expression in *Proteus mirabilis* infecting the urinary tract. *Mol Microbiol.* 1997 Mar;23(5):1009-19.
71. Jansen AM, Locketell V, Johnson DE, Mobley HL. Mannose-resistant *Proteus*-like fimbriae are produced by most *Proteus mirabilis* strains infecting the urinary tract, dictate the in vivo localization of bacteria, and contribute to biofilm formation. *Infect Immun.* 2004 Dec;72(12):7294-305.
72. Li X, Mobley HL. Vaccines for *Proteus mirabilis* in urinary tract infection. *Int J Antimicrob Agents.* 2002 Jun;19(6):461-5.
73. Massad G, Mobley HL. Genetic organization and complete sequence of the *Proteus mirabilis* pmf fimbrial operon. *Gene.* 1994 Dec 2;150(1):101-4.
74. Massad G, Locketell CV, Johnson DE, Mobley HL. *Proteus mirabilis* fimbriae: construction of an isogenic pmfA mutant and analysis of virulence in a CBA mouse model of ascending urinary tract infection. *Infect Immun.* 1994 Feb;62(2):536-42.

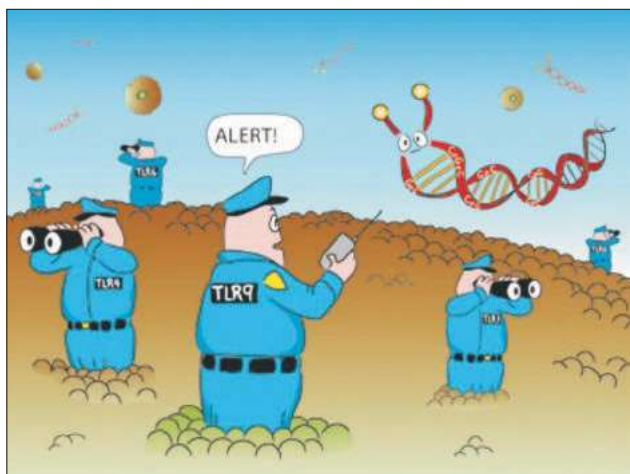
75. Zunino P, Sosa V, Allen AG, Preston A, Schlapp G, Maskell DJ. *Proteus mirabilis* fimbriae (PMF) are important for both bladder and kidney colonization in mice. *Microbiology*. 2003 Nov;149(Pt 11):3231-7.
76. Zunino P, Sosa V, Schlapp G, Allen AG, Preston A, Maskell DJ. Mannose-resistant *Proteus*-like and *P. mirabilis* fimbriae have specific and additive roles in *P. mirabilis* urinary tract infections. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2007 Oct;51(1):125-33.
77. Zunino P, Geymonat L, Allen AG, Legnani-Fajardo C, Maskell DJ. Virulence of a *Proteus mirabilis* ATF isogenic mutant is not impaired in a mouse model of ascending urinary tract infection. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2000 Oct;29(2):137-43.
78. Rather PN. Swarmer cell differentiation in *Proteus mirabilis*. *Environ Microbiol*. 2005 Aug;7(8):1065-73.
79. Latta RK, Grondin A, Jarrell HC, Nicholls GR, Berube LR. Differential expression of nonagglutinating fimbriae and MR/P pili in swarming colonies of *Proteus mirabilis*. *J Bacteriol*. 1999 May;181(10):3220-5.
80. Li X, Lockett CV, Johnson DE, Mobley HL. Identification of MrpI as the sole recombinase that regulates the phase variation of MR/P fimbria, a bladder colonization factor of uropathogenic *Proteus mirabilis*. *Mol Microbiol*. 2002 Aug;45(3):865-74.
81. Allison C, Lai HC, Hughes C. Co-ordinate expression of virulence genes during swarm-cell differentiation and population migration of *Proteus mirabilis*. *Mol Microbiol*. 1992 Jun;6(12):1583-91.
82. Liaw SJ, Lai HC, Ho SW, Luh KT, Wang WB. Inhibition of virulence factor expression and swarming differentiation in *Proteus mirabilis* by p-nitrophenylglycerol. *J Med Microbiol*. 2000 Aug;49(8):725-31.
83. Fraser GM, Claret L, Furness R, Gupta S, Hughes C. Swarming-coupled expression of the *Proteus mirabilis* hpmBA haemolysin operon. *Microbiology*. 2002 Jul;148(Pt 7):2191-201.
84. Li X, Zhao H, Lockett CV, Drachenberg CB, Johnson DE, Mobley HL. Visualization of *Proteus mirabilis* within the matrix of urease-induced bladder stones during experimental urinary tract infection. *Infect Immun*. 2002 Jan;70(1):389-94.
85. Johnson DE, Russell RG, Lockett CV, Zulty JC, Warren JW, Mobley HL. Contribution of *Proteus mirabilis* urease to persistence, urolithiasis, and acute pyelonephritis in a mouse model of ascending urinary tract infection. *Infect Immun*. 1993 Jul;61(7):2748-54.
86. Island MD, Mobley HL. *Proteus mirabilis* urease: operon fusion and linker insertion analysis of ure gene organization, regulation, and function. *J Bacteriol*. 1995 Oct;177(19):5653-60.
87. Burall LS, Harro JM, Li X, Lockett CV, Himpf SD, Hebel JR, et al. *Proteus mirabilis* genes that contribute to pathogenesis of urinary tract infection: identification of 25 signature-tagged mutants attenuated at least 100-fold. *Infect Immun*. 2004 May;72(5):2922-38.

88. Park IS, Hausinger RP. Site-directed mutagenesis of *Klebsiella aerogenes* urease: identification of histidine residues that appear to function in nickel ligation, substrate binding, and catalysis. *Protein Sci.* 1993 Jun;2(6):1034-41.
89. Mobley HL, Island MD, Hausinger RP. Molecular biology of microbial ureases. *Microbiol Rev.* 1995 Sep;59(3):451-80.
90. Himpfl SD, Lockett CV, Hebel JR, Johnson DE, Mobley HL. Identification of virulence determinants in uropathogenic *Proteus mirabilis* using signature-tagged mutagenesis. *J Med Microbiol.* 2008 Sep;57(Pt 9):1068-78.
91. Shankar N, Lockett CV, Baghdayan AS, Drachenberg C, Gilmore MS, Johnson DE. Role of *Enterococcus faecalis* surface protein Esp in the pathogenesis of ascending urinary tract infection. *Infect Immun.* 2001 Jul;69(7):4366-72.
92. Toledo-Arana A, Valle J, Solano C, Arrizubieta MJ, Cucarella C, Lamata M, *et al.* The enterococcal surface protein, Esp, is involved in *Enterococcus faecalis* biofilm formation. *Appl Environ Microbiol.* 2001 Oct;67(10):4538-45.
93. Leendertse M, Heikens E, Wijnands LM, van Luit-Asbroek M, Teske GJ, Roelofs JJ, *et al.* Enterococcal surface protein transiently aggravates *Enterococcus faecium*-induced urinary tract infection in mice. *J Infect Dis.* 2009 Oct 1;200(7):1162-5.
94. van Schaik W, Top J, Riley DR, Boekhorst J, Vrijenhoek JE, Schapendonk CM, *et al.* Pyrosequencing-based comparative genome analysis of the nosocomial pathogen *Enterococcus faecium* and identification of a large transferable pathogenicity island. *BMC Genomics.* 11:239.
95. Camargo IL, Gilmore MS, Darini AL. Multilocus sequence typing and analysis of putative virulence factors in vancomycin-resistant and vancomycin-sensitive *Enterococcus faecium* isolates from Brazil. *Clin Microbiol Infect.* 2006 Nov;12(11):1123-30.
96. Shankar N, Baghdayan AS, Gilmore MS. Modulation of virulence within a pathogenicity island in vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis*. *Nature.* 2002 Jun 13;417(6890):746-50.
97. Kayaoglu G, Orstavik D. Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2004;15(5):308-20.
98. Coburn PS, Gilmore MS. The *Enterococcus faecalis* cytolysin: a novel toxin active against eukaryotic and prokaryotic cells. *Cell Microbiol.* 2003 Oct;5(10):661-9.
99. Kreft B, Marre R, Schramm U, Wirth R. Aggregation substance of *Enterococcus faecalis* mediates adhesion to cultured renal tubular cells. *Infect Immun.* 1992 Jan;60(1):25-30.
100. Nallapareddy SR, Singh KV, Murray BE. Contribution of the collagen adhesin Acm to pathogenesis of *Enterococcus faecium* in experimental endocarditis. *Infect Immun.* 2008 Sep;76(9):4120-8.
101. Nallapareddy SR, Singh KV, Okhuysen PC, Murray BE. A functional collagen adhesin gene, acm, in clinical isolates of *Enterococcus faecium* correlates with the recent success of this emerging nosocomial pathogen. *Infect Immun.* 2008 Sep;76(9):4110-9.

102. Rice LB, Carias L, Rudin S, Vael C, Goossens H, Konstabel C, *f*. A potential virulence gene, hylEfm, predominates in *Enterococcus faecium* of clinical origin. *J Infect Dis*. 2003 Feb 1;187(3):508-12.
103. Hynes WL, Walton SL. Hyaluronidases of Gram-positive bacteria. *FEMS Microbiol Lett*. 2000 Feb 15;183(2):201-7.
104. Arias CA, Panesso D, Singh KV, Rice LB, Murray BE. Cotransfer of antibiotic resistance genes and a hylEfm-containing virulence plasmid in *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009 Oct;53(10):4240-6.
105. Hancock LE, Perego M. The *Enterococcus faecalis* fsr two-component system controls biofilm development through production of gelatinase. *J Bacteriol*. 2004 Sep;186(17):5629-39.
106. Makinen PL, Clewell DB, An F, Makinen KK. Purification and substrate specificity of a strongly hydrophobic extracellular metalloendopeptidase (“gelatinase”) from *Streptococcus faecalis* (strain OG1-10). *J Biol Chem*. 1989 Feb 25;264(6):3325-34.

7. IMUNOLOGIA DA ITU: o que o microbiologista e demais profissionais da saúde devem saber

*Shirley Ramos da Rosa Utiyama
Altair Rogerio Ambrosio*



Fonte: www.invivogen.com

INTRODUÇÃO

O trato urinário é constituído pela uretra, bexiga, ureteres e os rins, e representa uma eficiente barreira mecânica contra infecções. Além da relativa impermeabilidade da camada epitelial do trato urinário, microorganismos devem suportar a ação de um poderoso fluxo urinário. Infecções no trato urinário (ITU) têm início quando um patógeno em potencial atinge a bexiga e multiplica-se na urina. Varias espécies de bactérias gram negativas podem causar ITU, sendo a *Escherichia coli* (*E. coli*) uropatogênica responsável por mais de 80% dos casos ¹.

Por sua vez, características anatômicas do trato urinário, tais como a proximidade do reto, determinam uma alta probabilidade de colonização deste por bactérias da flora intestinal. No contexto, seria de imaginar que a incidência de infecções do trato urinário poderia ser extremamente alta. No entanto, torna-se surpreendente que em indivíduos normais o trato urinário seja estéril. Tal fato permite supor que para manter esta esterilidade o organismo disponha de um eficiente mecanismo de defesa inata, capaz de evitar a colonização e posterior infecção das células da bexiga².

A camada epitelial do trato urinário evita a aderência de microorganismo pela liberação da proteína de Tamm-Horsfall, lactoferrina, lipocalina, e peptídeos antimicrobianos como as defensinas α e β e a catelicidina. Nas situações em que as bactérias ultrapassam esta primeira linha de proteção, o trato urinário utiliza um eficiente mecanismo de defesa inato mediado por *Toll-like receptors* (TLR). Estes, tanto podem levar ao controle da infecção, assim como podem, com a persistência de um número crescente do patógenos, induzir aumento na secreção de citocinas, em especial IL-8, e consequentemente no influxo de neutrófilos e macrófagos, que pode resultar em extensa destruição tecidual ².

Diante do impacto que as ITUs representam na saúde da população e das formas de apresentação da doença, podendo se manifestar como casos assintomáticos, com infecções de repetição ou crônicas, tornou-se prioritário a busca de outra forma de abordagem da patologia, visando novas opções de tratamento para auxiliar e/ou substituir a utilização de antibióticos. No presente capítulo, tem-se por meta destacar os avanços ocorridos nos últimos anos na compreensão do papel do sistema imune inato e adquirido nas ITUs, assim como as novas possibilidades de uso de imunomoduladores para fins terapêuticos e profiláticos nessas afecções.

Fatores de virulência das bactérias

Dentre os aspectos fundamentais a serem analisados ao se estudar a dinâmica de uma infecção urinária está a propriedade que os microorganismos possuem de causar a doença. Nesse contexto, destaca-se a capacidade das bactérias em formar pili e fimbrias ³. De forma similar, tem-se a presença do flagelo, que aumenta a virulência ao permitir que o microorganismo se movimente em direção aos rins, no sentido contrário ao fluxo urinário ⁴. Outro fator relevante a destacar é a capacidade geneticamente determinada que certos microorganismos possuem de ao invadir o uroepitélio adaptarem-se ao meio intracelular, e em algumas situações voltarem a se multiplicar, causando infecções urinárias crônicas ³. Por sua vez, a capacidade de sintetizar sideróforos é um fator de virulência importante na dinâmica de instalação de infecções urinárias ⁵. Estudos demonstraram que *E. coli* pili tipo-1 é capaz de invadir as células da membrana epitelial e formar colônias intracelulares. Este processo inicia uma resposta imunológica do hospedeiro que conduz a esfoliação de células epiteliais infectadas, o que passou a constituir uma eficaz estratégia de defesa. No entanto, este mesmo mecanismo pode conduzir a bactéria para um local protegido no interior da célula, no qual ela pode replicar e manter-se no trato urinário por longos períodos. Este mecanismo pode explicar a natureza recorrente e crônica de certas infecções urinárias ⁶.

A caracterização de receptores específicos na superfície de células da bexiga tem possibilitado uma maior compreensão nos mecanismos de invasão da *E. coli*. Springall *et al* ⁷, demonstraram que a capacidade máxima de internalização da bactéria somente é alcançada quando esta se encontra opsonizada por complemento. Os autores sugerem que células epiteliais renais internalizam menor número de

bactérias na ausência de C3, ou na presença de bloqueio do C3 ligado à bactéria. Os experimentos mostraram que camundongos deficientes de C3 apresentavam menor frequência de infecções renais em relação aos não deficientes, indicando que a *E. coli* se favorece do sistema complemento para invadir o epitélio renal. De forma interessante, estudos subsequentes mostraram que o receptor para C3 no epitélio do trato urinário, que é a proteína co-fatora de membrana (CD46), atua conjuntamente no processo de adesão mediado pelas fímbrias, voltado a promover a eficiente internalização da bactéria⁸.

Peptídeos antimicrobianos e a defesa do trato urinário

Como o trato urogenital não possui superfícies mucosas, acredita-se que o sistema inicial de defesa nesse sítio ocorra principalmente por via de mediadores solúveis. Dentre esses, destacam-se a proteína de Tamm-Horsfall (THP), IgA solúvel, lactoferrina, lipocalina, peptídeos antimicrobiano como as α - e β - defensinas e a catelicidina, todos envolvidos em combater uropatógenos². Além de exercer a função mecânica de combater bactérias, as moléculas também desempenham outras atividades, como o recrutamento ou ativação de células imunes.

Defensinas

A resposta inata durante uma ITU inclui a secreção de β -defensinas do epitélio renal e α -defensinas dos neutrófilos infiltrados^{9,10}. Todas as defensinas possuem a atividade direta de destruir bactérias invasoras, além de induzirem a degranulação de mastócitos e quimiotaxia. Há evidências ainda que as defensinas participem no recrutamento de células T e células dendríticas imaturas para o local da infecção, fazendo assim uma ponte entre resposta inata e adaptativa, via quimiocinas ou TLRs¹⁰.

Catelicidina

As catelicidinas possuem um importante papel na manutenção da integridade do trato urinário. Em ITU induzida experimentalmente, animais deficientes em catelicidinas apresentam significativa ligação de *E. coli* no epitélio renal, sendo a doença resultante mais grave e com consequente aumento na mortalidade por septicemia. Curiosamente, foi demonstrado também que as *E. coli* associadas com doenças mais graves são mais resistentes aos efeitos bactericidas das catelicidinas¹¹.

Lactoferrina e lipocalina

Estas proteínas antimicrobianas promovem a diminuição da quantidade de ferro disponível no local da infecção, um nutriente microbiano essencial². A lac-

toferrina atua sobre as bactérias tanto pela quelação do ferro, como causando dano direto à membrana ¹², enquanto a lipocalina possui a capacidade de retirar ferro dos sideróforos ¹³. Foi demonstrado que animais deficientes em lipocalina são mais suscetíveis a infecções sistêmicas por organismos que sintetizam sideróforos ¹⁴.

Proteína de Tamm-Horsfall (THP)

A THP é a proteína mais abundante na urina humana e atua não apenas como antimicrobiano, mas também como agente anti-infeccioso por impedir que certas bactérias se liguem ao epitélio urinário. A THP, ao aderir às fimbrias da *E. coli*, restringe a adesão da mesma e favorece sua eliminação pelo fluxo urinário ¹⁵. Além disso, a THP possui um papel imunomodulador, ao ativar células da imunidade inata, como as células dendríticas, via mecanismo TLR4 dependente ¹⁶. Anticorpos anti-THP, produzidos via TLR4, são frequentemente detectados em ITUs e permitem uma remoção mais eficiente da bactéria ligada a THP. A THP pode favorecer a resposta imune adaptativa, e consequente produção de anticorpos, por apresentar a *E. coli* as células dendríticas ¹⁷.

IgA solúvel

Uma importante função nas superfícies externas e mucosas, geralmente realizado pela IgA secretória (sIgA), é impedir a ligação de bactérias nas células epiteliais. Anticorpos para fimbrias, ácido lipoteicoico e algumas cápsulas bloqueiam a ligação de bactéria às células, favorecendo sua eliminação com o fluxo urinário. Possivelmente, a IgA urinária exerce uma função direta na eliminação da *E. coli* uropatogênica da mucosa da bexiga ¹⁸.

Resposta inflamatória inicial no trato urinário

Nas situações em que os peptídeos solúveis não consigam destruir e eliminar um patógeno invasor, o microrganismo será capaz de infectar e invadir as células da membrana epitelial. Diante disto, uma resposta celular inflamatória tem início, visando eliminar o agente invasor. De acordo com Weichhart *et al.*¹⁷, essa resposta apresenta basicamente três etapas principais nas ITUs, como é possível observar na Figura 1.

1. Ativação das células uroepiteliais através da sinalização transmembrana, resultando na produção de mediadores inflamatórios;
2. Migração de células da imunidade inata ao foco da infecção;
3. Destruição local e eliminação da bactéria, mediados por reações oxidativas e/ou por peptídeos antimicrobianos ³.

É interessante enfatizar que o dano renal subsequente, em parte, é consequência maior da resposta inflamatória do que propriamente do efeito direto da bactéria. O recrutamento de células imunocompetentes é essencial para a eliminação das mesmas. Em resposta aos sinais quimiotáticos e aumento na expressão de receptores, muitos leucócitos migram para o local da infecção, sendo que aqueles que ultrapassam o epitélio renal são detectados na urina, caracterizando a típica leucocitúria das ITUs. Após 30 minutos aproximadamente, citocinas pró-inflamatórias como a interleucina (IL)-6 e IL-8 já poderão ser detectadas localmente, em paralelo à expressão dos receptores CXC de quimiocina 1 correspondentes, CXCR1 e CXCR2, respectivamente¹⁹.

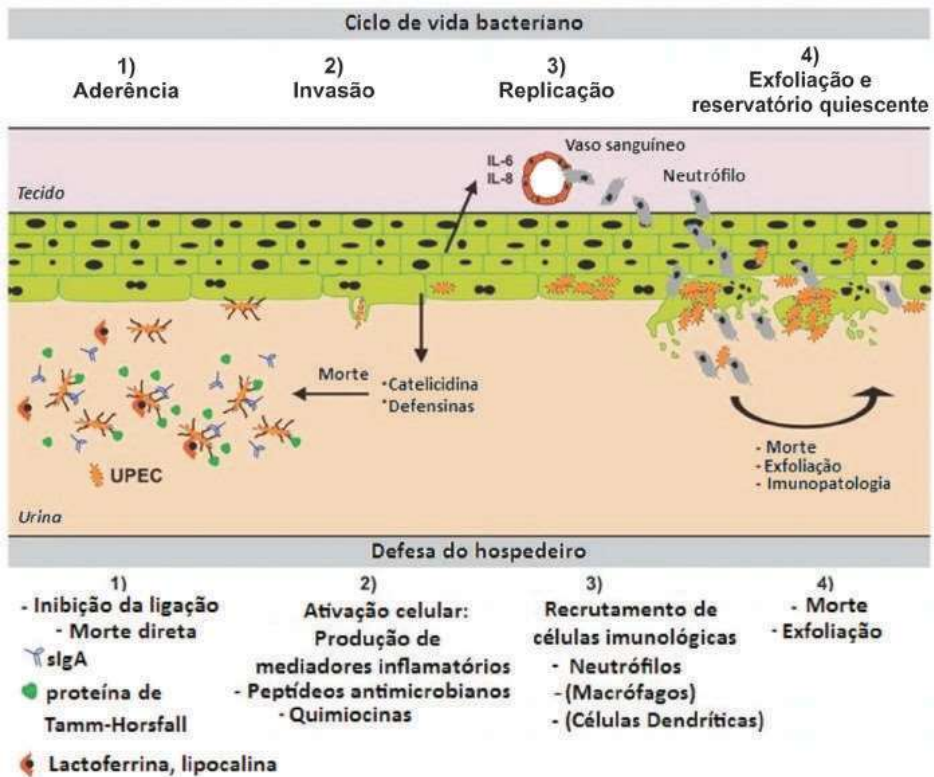


Figura 1 – Mecanismos Efetores nas Itu

FONTE: Adaptado de Weichhart *et al.* 2008¹⁷.

O Trato Urinário e os *Toll-Like Receptors* (TLRs)

Microorganismos que vencem as barreiras iniciais da defesa atingem o uroepitélio e ativam a resposta imune inata através dos *Toll-like receptors* (TLRs). Possivelmente os patógenos ao entrarem em contato com as células epiteliais são internalizados, e penetram no espaço subepitelial da porção baixa e alta do trato uri-

nário. O TLR4, o principal sinalizador de lipopolissacarídeos (LPS) em mamíferos, é recrutado nessa fase, como parte integrante da imunidade inata².

A presença de moléculas de vigilância imunológica é crítica no estabelecimento da resposta imune no trato urinário. De forma recente e altamente esclarecedora, teve-se descrito o importante papel desempenhado pelos TLRs no sistema de receptores de reconhecimento de patógenos no trato urinário. Tais moléculas, ao atuarem como sinalizadores “do perigo” detectando produtos microbianos, apresentam papel central na imunidade inata, na regulação do processo inflamatório e também na imunidade adaptativa em nível de trato genitourinário. A ativação de células epiteliais da bexiga e rim, a primeira linha de defesa celular no trato urinário, depende dos TLRs²⁰.

Considerando a participação dessas moléculas nos mecanismos de defesa do hospedeiro e nos aspectos abordados na sequência do capítulo, cabe aqui uma breve explanação sobre os TLRs, visando facilitar a compreensão dos leitores:

TLRs e PAMPS

As estruturas dos microorganismos que estimulam a imunidade natural são conhecidas como **padrões moleculares associados à patógenos (PAMPS)**, e os receptores que se ligam a essas estruturas preservadas são chamados de **receptores de reconhecimento de padrões**. Diferentes classes de microorganismos (vírus, bactérias, fungos) expressam diferentes PAMPS. Dentre as várias moléculas de vigilância imunológica, a família **TLR** é a melhor caracterizada e constituem uma família evolucionariamente conservada de receptores de reconhecimento de padrões, expressos em vários tipos de células. A primeira proteína a ser identificada foi a proteína *Toll*, da *Drosophila*, que além de estar envolvida no estabelecimento do eixo dorsoventral da mosca, mediava respostas antimicrobianas na mesma²¹. Onze diferentes TLRs já foram identificados (TLR 1 a TLR 11). TLRs são proteínas transmembrana tipo I e contêm grandes e repetidos domínios ricos em leucina na região extracelular e um domínio de homologia Toll/IL-1 (TIR) na região citoplasmática²². Células como neutrófilos, macrófagos, células dendríticas, linfócitos, células endoteliais e células epiteliais de mucosas, expressam TLR, e, portanto participam na resposta imune natural. Tais receptores estão presentes tanto na superfície celular, como em vesículas endossômicas e no citoplasma, podendo reconhecer micróbios em qualquer das localizações celulares (Figura 2).

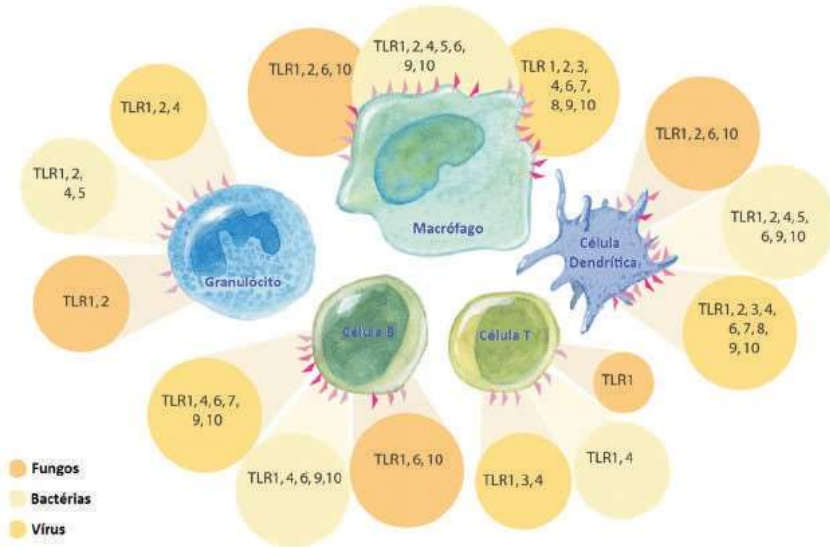


Figura 2 – Expressão Celular de *Toll-Like Receptors*

Fonte: imagem cortesia de R&D Systems (www.rndsystems.com)²³

Produtos microbianos (PAMPs) que estimulam os TLRs incluem lipopolissacarídeos bacterianos gram-negativos (LPS), peptidoglicanos de bactérias gram-positivas, lipoproteínas bacterianas, ácido lipoteicoico, lipoarabinomanan, zimosan, proteínas de flagelo bacteriano flagelina, proteína de fusão do vírus sincicial respiratório, sequências CpG de DNA não metilados encontrados em bactérias, RNA de dupla-hélice e RNA monofilamentar, entre outros²¹.

TLR de superfície celular como TLR4, TLR1/ 2, TLR6/ 2 e TLR5 reconhecem lipídeos de membrana, bem como fímbrias e flagelos, enquanto TLR3, TLR7, TLR8 e TLR9, expressos principalmente no interior das células, no retículo endoplasmático e membranas endossômicas, detectam primariamente ácidos nucleicos microbianos^{21, 24}.

Subsequente à interação entre TLR e PAMPs, tem início uma série de complexos eventos intracelulares relacionados às vias de transdução de sinais, que culminam com a ativação de fatores de transcrição, resultando na expressão de genes que levam à produção de moléculas (citocinas, quimiocinas, moléculas de adesão, moléculas co-estimulatórias) que promovem a inflamação e defesa natural contra os microrganismos (Figura 3).

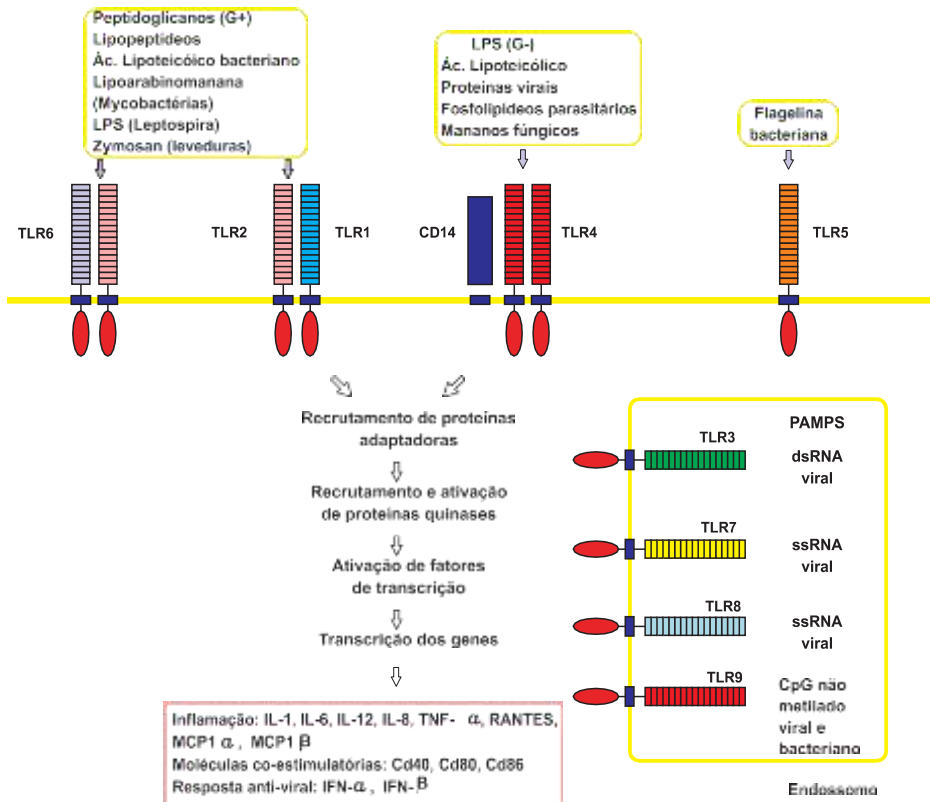


Figura 3 – Interação entre Toll Like Receptors e Pamps

Assim como outras mucosas, a membrana do trato urinário contém receptores capazes de reconhecer patógenos pela presença dos PAMPs. Ao contrário do receptor para FimH da *E. coli* que promove a invasão bacteriana e subsequente internalização nas células da bexiga²⁵, os TLRs detectam os diferentes PAMPs e mobilizam uma apropriada defesa imunológica. Os TLRs mais encontrados no trato urinário incluem TLR2, TLR3, TLR5, TLR9 e TLR11. O TLR4 é o receptor mais bem caracterizado até o momento e está presente em grande quantidade nas células epiteliais dos rins e da bexiga²⁶. Sabe-se que o mesmo regula a susceptibilidade às ITU, considerando que controla as etapas iniciais de defesa contra as *E. coli* uropatogênicas.

A ativação de TLR4 nas células epiteliais promove uma intensa resposta de citocinas e quimiocinas no trato urinário para bactérias gram negativas, além de outras funções antimicrobianas aparentemente específicas para o trato urinário²⁷. A produção de IL-6 e IL-8 por essas células recruta outras células imunocompetentes durante a resposta inflamatória, como neutrófilos e células dendríticas, que também

são ativadas via TLR. Além de IL-8, são secretadas proteínas antimicrobianas como a lipocalina. As bactérias nessa fase deparam com uma barreira de neutrófilos, que tanto permitem o controle no avanço da infecção, através da fagocitose e secreção de AMPs e proteínas (Figura 1), assim como promovem dano epitelial local. A lipocalina, induzida pela injúria celular, fornece uma defesa antimicrobiana através do sequestro de siderófilos microbianos. Quando esses mecanismos de defesa falham, com a persistência de um número crescente de microorganismos, o influxo crescente de neutrófilos se torna mais agressivo, resultando em vasta destruição tecidual, podendo chegar a uma infecção sistêmica ².

Polimorfismo de TLR-4 e ITUs recorrentes

De forma bastante interessante, durante as duas últimas décadas, observações independentes em camundongos e humanos evidenciaram ligação genética entre TLR4 e a resistência inata às ITUs. Foi demonstrado que camundongos C3H/HeJ, não respondedores a LPS, eram incapazes de eliminar a infecção por não conseguirem elaborar uma adequada resposta contra o patógeno. O defeito foi relacionado com um ponto de mutação no gene TLR4 ^{28,29}. Corroborando, baixa expressão de TLR4 foi detectada em pacientes com bacteriúria assintomática persistente, em relação a controles saudáveis ³⁰. Os experimentos de SCHILLING *et al.* ³¹, mostraram ainda que a expressão de TLR, tanto em células de estroma, como células epiteliais da bexiga e células da imunidade inata é necessária para o eficiente combate às *E. coli* uropatogênicas ³¹. Uma importante relação entre uma mutação em TLR4 [alelo TLR4 A(896)G] e o desenvolvimento de ITUs recorrentes na infância foi relatada recentemente, de forma independente de outras anormalidades renais ³². Tais dados permitem sugerir uma real ligação entre defeitos em TLR4 ou expressão reduzida do mesmo à maior predisposição a ITUs recorrentes e com sintomas reduzidos.

Outras propriedades ligadas ao TLR4 e ITU

Embora a natureza refratária da bexiga às infecções urinárias tenha sido atribuída por muitos anos à impermeabilidade de suas células ³³, atualmente evidências sugerem que, aliado aos aspectos mecânicos, tem-se realmente o importante envolvimento de TLR4. Os estudos com camundongo mutante TLR4(C3H/HeJ) trouxeram tal compreensão, ao se observar que este sofre invasão por *E. coli* ou *Klebsiella pneumoniae* com fimbria tipo 1 aproximadamente 10 a 12 vezes mais facilmente que o camundongo tipo selvagem (C3H/HeN). Provavelmente a defesa nas células da bexiga tem início quando TLR4 faz contato com o LPS bacteriano, assim que a bactéria infectante atinge a bexiga. Dessa forma, a mesma será rapidamente eliminada, caso não seja capaz de ultrapassar a ação celular que impede a sua penetração nas células da bexiga ¹. Dados recentes sugerem que esta propriedade de bloquear a invasão bacteriana pode ser uma função comum e propriedade também de outros TLRs e tipos celulares ³⁴.

Ainda nesse contexto, apesar do conceito que as bactérias após a entrada nas células da bexiga estariam protegidas, têm-se indicações recentes que *E. coli* intracelular são expelidas através de uma via não totalmente esclarecida mediada por

TLR4. Foi observado que após incubação por 18 horas, células da bexiga infectadas por *E. coli* foram capazes de expulsar as bactérias, sem perda significativa das células do hospedeiro ou da viabilidade bacteriana ²⁷. A atividade foi reduzida de forma marcante quando a expressão de TLR4 das células foi silenciada. Os achados sugerem que TLR4 possui envolvimento ativo no combate às bactérias invasoras, mesmo quando as mesmas já estão no interior das células.

Vias de sinalização para TLR4 em células da bexiga

Na maioria das células, seguido ao reconhecimento do LPS de bactérias gram negativas, o complexo TLR4/CD14 inicia uma série de eventos que conduzem a uma resposta via citocinas IL-6 e IL-8 ³¹. Recentemente, Song *et al.* descreveram uma segunda e paralela via de ativação do TLR4, na qual o AMP cíclico (cAMP) e sua proteína de ligação são importantes componentes, e também contribuem para a resposta IL-6 e IL-8. Na sequência de ativação ocorre inicialmente um aumento no influxo intracelular de Ca⁺⁺ que eleva os níveis de cAMP pela ação da adenil ciclase 3. A alta concentração intracelular de cAMP conduz a produção de IL-6 e IL-8 ³⁵. Embora a ligação de TLR4 ao LPS bacteriano ative as duas vias de cinética das citocinas, a secreção via cAMP é pelo menos 2 horas mais rápida que a tradicional. Tal aspecto se mostra bastante interessante, considerando que a exigência de uma resposta de citocinas mais rápida pode ser relevante na defesa imunológica de trato urinário, devido a constante passagem de bactérias do intestino, que representa a origem principal dos uropatógenos.

TLR2, TLR5 e TLR11

Sabe-se que além do TLR4, outros TLR estão envolvidos na defesa do hospedeiro nas ITU. O TLR2, expresso em células tubulares, se destaca no combate à *E. coli* no trato urinário alto. Experimentos *in vitro* com células tubulares caracterizaram a influência deste na secreção de mediadores inflamatórios como fator de necrose tumoral (TNF- α), sugerindo sua participação na defesa frente às ITUs ³⁶. Estudos *in vivo* tem demonstrado que TLR5 e TLR11 também contribuem na defesa imune do trato urinário. TLR5 é encontrado em especial nas células da bexiga enquanto TLR11 acha-se presente nas células dos rins. O TLR5 representa um receptor específico contra a flagelina bacteriana (proteína do flagelo) (Figura 3), e por sua vez, bactérias uropatogênicas são reconhecidas por expressarem flagelo ^{37,38}. Experimentos mostraram que camundongos TLR5^{-/-} (deficientes) são mais susceptíveis à ITU por *E. coli* ³⁹, e que bactérias mutantes “flagelo-negativas” falham significativamente na colonização do trato urinário e progressão para o rim ³⁸. Os dados mostram o papel relevante de TLR5 na defesa frente às ITU. De forma semelhante, camundongos deficientes em TLR11 se mostraram altamente susceptíveis a infecções renais por *E. coli* ⁴⁰.

Resposta imune adaptativa no trato urinário

Tem-se controvérsias no estabelecimento do papel da imunidade adaptativa em ITUs, porém inúmeras evidências sugerem ativa participação das células B e T na resistência as ITUs¹⁸. Camundongos deficientes em células T ou na capacidade de produção de IFN- γ apresentam alta suscetibilidade a ITU experimental⁴¹. Uma reação local e resposta humoral sistêmica, com aumento na produção de IgG e IgA, foram associadas à resolução espontânea de cistite experimental em macacos⁴². Ainda de forma interessante, estudo recente mostrou que após infecção por *E. coli* o camundongo apresenta forte resistência à re-infecção por um extrato homólogo. A ocorrência de uma resposta imune celular e humoral, sugestiva de conferir proteção aos mesmos, foi evidenciada pelo recrutamento de células T ativadas na bexiga e presença de anticorpos específicos no soro e na urina⁴³. Em síntese, as evidências sugerem participação ativa do sistema imune adaptativo em prevenir e resolver ITUs. No entanto, ainda não se tem esclarecido a duração da proteção no trato urinário seguida a uma infecção. A suposição que essa possa ser de curta duração, poderia explicar as infecções frequentes e recorrentes, em especial em mulheres jovens¹⁷.

A ligação entre a imunidade inata e adaptativa pode ser mais bem compreendida nessa etapa. A liberação na urina de células da bexiga infectadas facilita a expansão da *E. coli* no meio. Na sequência, a sinalização mediada por TLR e indução de quimiocinas como IL-6 e IL-8, promove o influxo de neutrófilos e células dendríticas no uroepitélio. Estas vão atuar tanto na eliminação do patógeno como dão início à resposta adaptativa do hospedeiro. A apresentação da *E. coli* às células dendríticas vai ser favorecida pelas proteínas de *Tamm-horsfall*, que têm a propriedade de se ligarem às bactérias e ativar as células dendríticas, induzindo a produção de anticorpos e imunidade adaptativa. A resposta adaptativa por sua vez é necessária na prevenção de re-infecções subsequentes¹⁷.

As vacinas e as ITUs

Considerando a incidência e gravidade das ITUs, a utilização de terapias com finalidade preventiva tem sido prática comum, e estudos têm se voltado a avaliar os resultados alcançados através de dados experimentais e/ou esquemas de vacinação. No entanto, até o momento, ainda não se tem uma vacina licenciada e disponível para a prevenção de ITUs em humanos¹⁸.

Imunidade protetora foi obtida através de vacinação em camundongos e primatas, via aplicação subcutânea ou intramuscular de antígenos ou peptídeos FimH. A proteção foi associada à capacidade dos anticorpos anti-FimH em bloquear a ligação da bactéria a parede celular da bexiga, além de agregar e desalojar as bactérias aderidas⁴⁴. As vacinas eram aplicadas em locais que não o trato urinário, o que levou à argumentação se a aplicação diretamente no trato genitourinário poderia trazer maior eficácia. Estudos tiveram início visando avaliar a eficácia de uma vacina vaginal composta de um *cocktail* de 10 uropatógenos, inativados pelo calor em polietileno glicol. Estas foram aplicadas, como supositório vaginal, em mulheres de

19 a 70 anos que apresentavam infecções urinárias frequentes. Foi observada significativa redução nas infecções urinárias nas mesmas, em relação às mulheres tratadas com placebo^{45,46}. A pesquisa não permitiu esclarecer como se atingiu tal proteção, pois não foi detectado aumento específico nos níveis de IgG ou IgA nas pacientes imunizadas, comparadas aos controles. Estudos em andamento devem trazer maior entendimento para a questão¹.

Outro aspecto importante a ser considerado é que a resposta imunológica por células B e T é dependente da sinalização oriunda da imunidade inata. Consequentemente, moduladores que desenvolvem respostas inatas podem ser de valor para o desenvolvimento de respostas adaptativas⁴⁷. No contexto, moduladores da resposta inata têm sido utilizados com frequência como adjuvantes no desenvolvimento de vacinas^{48, 49}. Ligantes do TLR, como MPL e CpG-ODN, tem se mostrado excelentes adjuvantes de vacina em estudos experimentais, promovendo o desenvolvimento de uma robusta resposta humoral e celular antígeno específica⁵⁰. Assim, imunomoduladores usados para estimular a resposta imune inata no trato urinário, podem também ser empregados para a resposta adaptativa. Uma das razões para a administração de vacinas contra ITUs no trato genitourinário, como no caso da vacina vaginal recém-mencionada, é o fato desta estimular a produção de IgA secretora (sIgA) nas superfícies mucosas do trato urinário. Enquanto imunizações via subcutânea, intramuscular ou intravenosa estimulam forte resposta sistêmica, com IgG dirigida contra os antígenos da vacina, falham em estimular a IgA secretora nas mucosas do trato urinário, local onde as infecções têm início e a presença de anticorpos realmente se faz necessária⁴³.

No entanto, administrar vacinas diretamente no trato urinário não é fácil nem prático. Experimentos têm evidenciado que uma mucosa mais acessível para aplicação de vacinas é a nasal. Antígenos de proteus aplicado na mucosa nasal de camundongos estimulou altos níveis de IgA secretora na urina e levou à proteção contra ITU por *Proteus mirabilis*⁵¹. Imunizações via nasal têm sido efetivas em estimular a produção de IgG sérica e IgA secretora em várias mucosas devido a ativação do NALT (*nasal associated lymphoid tissue*), encontrado na passagem nasal. Sendo o NALT um potente indutor imunológico, este responde intensamente a antígenos vacinais, e se um ligante do TLR ou outro adjuvante for incluído, a resposta poderá ser mais intensa⁵². Uma alternativa futura que poderia ser utilizada para o tratamento de ITUs seria a administração de moduladores da via do TLR que estimulassem a resposta inata e adaptativa do trato urinário.

As evidências de que o trato urinário é capaz de elaborar uma resposta imune apreciável e protetora sugerem que a vacinação poderia representar um caminho a ser trilhado nas ITUs. No entanto, uma importante questão ainda não respondida é a duração da proteção do trato urinário após uma infecção ou vacinação. Considerando que 25% das mulheres com ITUs não possuem problemas imunológicos e apresentam recorrências, é factível imaginar que a imunidade gerada no trato urinário pode ser relativamente curta e que vacinações frequentes se tornem necessárias¹. Este constitui um campo ainda a ser explorado. Possivelmente, aspectos moleculares ainda não esclarecidos devem ser de relevante importância para o desenvolvimento de uma vacina efetiva para a prevenção das ITUs em humanos¹⁸.

Tratamento de ITU com imunomoduladores

Atualmente o tratamento tradicional da ITU está baseado na utilização de antibióticos, sendo que tal prática tem conduzido à depleção da flora normal do hospedeiro e a seleção de bactérias resistentes. Assim, o tratamento das ITUs ainda constitui um desafio para a medicina, e a possibilidade de modulação do sistema imune inato e/ou adquirido ao nível do trato urinário permite vislumbrar potenciais implicações terapêuticas ou profiláticas para o tratamento da infecção.

Embora ainda não se tenha dados concretos afirmando que o tratamento com ligantes do TLR4 podem ser plenamente eficazes no trato urinário, existem sugestões tentadoras de uso desta estratégia e sua eficácia. Um exemplo seria a administração de ligantes específicos do TLR4 diretamente no trato urinário, visando desencadear uma resposta inata, mediada por TLR4, e consequente aumento da reatividade local e resistência à infecção. Assim se teria indução local de citocinas ou quimiocinas, bem como início da atividade antimicrobiana, tanto bloqueando a invasão da bactéria nas células da bexiga, como induzindo a expulsão espontânea do microrganismo das células infectadas. A estratégia com ligantes de TLR para desenvolver a imunidade nas mucosas já tem se mostrado eficaz no trato genital, em estudos experimentais^{53,54}. Em outro modelo, com camundongos, a administração de ligantes do TLR3 ou TLR9 induziu proteção contra infecção genital pelo herpes simples (HSV)-2, em situações de início da doença. Possivelmente a eliminação viral foi estabelecida através da estimulação local de produção do interferon-tipo 1 e de quimiocinas e citocinas que fazem o recrutamento de células inflamatórias. Em doença já estabelecida o tratamento não se mostrou eficaz⁵³.

Por sua vez, foi demonstrado que o tratamento de camundongo infectado por *E. coli* uropatogênica com extrato vegetal de *forskolin*, uma droga que aumenta as concentrações de AMP cíclico intracelular (cAMP), levou à expulsão de bactérias das vesículas intracelulares para o meio extracelular, deixando-as susceptíveis à resposta imune e aos antibióticos²⁷. O aumento artificial na concentração intracelular de cAMP em células da bexiga, em camundongo mutante para TLR4, restaurou sua resistência a invasão por *E. coli*³⁵. *Forskolin* foi administrado via intravesical ou intraperitoneal, 2 horas após indução da infecção por *E. coli* (início da doença) ou 24 horas após a infecção (doença já estabelecida). Em ambos os casos foi observada redução da carga bacteriana na bexiga de camundongos infectados, em comparação com controles tratados com solução salina²⁷. As observações sugerem que ativadores da via do TLR4 no trato urinário podem vir a constituir efetivos agentes terapêuticos contra infecções.

Potenciais sítios de aplicação de imunomoduladores visando estimular a resposta inata e adaptativa do trato urinário tem sido alvo de intensa investigação e gerado novas expectativas no tratamento da infecção que acomete milhões de pessoas por ano^{1,18}.

Considerações finais

Infecções do trato urinário constituem a segunda doença infecciosa mais comum em humanos, perdendo apenas para as infecções respiratórias. A maioria dos pacientes com ITU são mulheres, da adolescência à velhice. Aproximadamente 25% das pacientes serão afetadas por infecções recorrentes ou crônicas. Vários fatores contribuem para que tal população não consiga eliminar completamente as ITU, desde anormalidades anatômicas ou imunodeficiências (defeitos em TLR4), que predis põem às infecções recorrentes, até a ineficácia da terapia antimicrobiana, seja pela resistência da bactéria ou por sua localização no interior da célula, onde o antibiótico não pode atingi-la. No entanto, ao se analisar as características anatômicas do trato urinário humano, é notório que embora a incidência de ITUs seja elevada, a mesma seria alarmante na ausência de um eficiente sistema de vigilância. A secreção de peptídeos e proteínas com atividade antimicrobiana como THP, lactoferrina, lipocalina, defensinas, catelicidina e IgA solúvel, como primeira linha de proteção, seguida por um complexo mecanismo mediado pelos TLRs, que fazem a ativação de uma segunda linha de defesa, conferem uma admirável proteção ao trato urinário. O enorme progresso dos últimos anos na elucidação dos mecanismos de defesa atuantes no trato urinário, possivelmente levará, em breve, ao desenvolvimento de estratégias terapêuticas efetivas contra as infecções agudas e crônicas de trato urinário, inclusive pielonefrites. A plena compreensão dos mecanismos moleculares e celulares envolvidos no controle das ITUs mediadas por *E. coli* uropatogênica, induzindo uma resposta adaptativa potente e memória imunológica no hospedeiro, certamente trarão o discernimento necessário ao desenvolvimento com sucesso de uma vacina eficaz, capaz de prevenir as infecções de trato urinário no homem. Tal fato, incontestavelmente, constituirá um dos principais avanços, neste que representa um grande problema de saúde pública mundial.

AGRADECIMENTOS: os autores agradecem em especial à Larissa Akemi Rosa Utiyama de Freitas pela valiosa contribuição na adequação das figuras.

REFERÊNCIAS

1. Song J, Abraham SN: Innate and adaptative immune response in the urinary tract. *Eur J Clin Invest* 38 (S2): 21-28, 2008.
2. Zasloff M. Antimicrobial peptides, innate immunity, and the normally sterile urinary tract. *J Am Soc Nephrol* 18:2810-16, 2007.
3. Mulvey MA, Schilling JD, Martinez JJ, Hultgren SJ: Bad bugs and beleaguered bladders: Interplay between uropathogenic *Escherichia coli* and innate host defenses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97: 8829-35, 2000.
4. Wright KJ, Seed PC, Hultgren SJ: Uropathogenic *Escherichia coli* flagella aid in efficient urinary tract colonization. *Infect Immun* 73: 7657-68, 2005.
5. Russo TA, Carlino UB, Johnson JR: Identification of a new iron-regulated virulence gene, *ireA*, in an extraintestinal pathogenic isolate of *Escherichia coli*. *Infect Immun* 69: 6209-16, 2001.
6. Mulvey MA, Schilling JD, Hultgren SJ. Establishment of a persistent *Escherichia coli* reservoir during the acute phase of a bladder infection. *Infect Immun* 69:4572-9, 2001.
7. Springall T, Sheerin NS, Abe K, Holers VM, Wan H, Sacks SH. Epithelial secretion of C3 promotes colonization of the upper urinary tract by *Escherichia coli*. *Nat Med* 7:801-6, 2001.
8. Li K, Feito MJ, Sacks SH, Sheerin NS. CD46 (membrane cofactor protein) acts as a human epithelial cell receptor for internalization of opsonized uropathogenic *Escherichia coli*. *J Immunol* 177:2543-51, 2006.
9. Lehrer RI. Multispecific myeloid defensins. *Curr Opin Hematol* 14:16-21, 2007.
10. Selsted ME, Ouellette AJ. Mammalian defensins in the antimicrobial immune response. *Nat Immunol* 6:551-7, 2005.
11. Chromek M, Slamova Z, Bergman P, Kovacs L, Podracka L, Ehren I *et al*. The antimicrobial peptide cathelicidin protects the urinary tract against invasive bacterial infection. *Nat Med* 12:636-41, 2006.
12. Abrink M, Larsson E, Gobl A, Hellman L. Expression of lactoferrin in the kidney: implications for innate immunity and iron metabolism. *Kidney Int* 57:2004-10, 2000.
13. Goetz DH, Holmes MA, Borregaard N, Bluhm ME, Raymond KN, Strong RK. The neutrophil lipocalin NGAL is a bacteriostatic agent that interferes with siderophore-mediated iron acquisition. *Mol Cell* 10:1033-43, 2002.
14. Berger T, Togawa A, Duncan GS, Elia AJ, You-Ten A, Wakeham A *et al*. Lipocalin 2-deficient mice exhibit increased sensitivity to *Escherichia coli* infection but not to ischemia-reperfusion injury. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:1834-9, 2006.
15. Weichhart T, Zlabinger GJ, Saemann MD. The multiple functions of Tamm-Horsfall protein in human health and disease: a mystery clears up. *Wien Klin Wochenschr* 117:316-22, 2005.

16. Säemann MD, Weichhart T, Zeyda M, Staffler G, Schunn M, Stuhlmeier KM *et al.* Tamm-Horsfall glycoprotein links innate immune cell activation with adaptive immunity via a TLR4- dependent mechanism. *J Clin Invest* **115**:468–75, 2005.
17. Weichhart T, Haidinger M, Hörl WH, Säemann MD. Current concepts of molecular defence mechanisms operative during urinary tract infection. *Eur J Clin Invest.* Oct;38 Suppl 2:29-38, 2008.
18. Sivick KE, Mobley HL. Waging war against uropathogenic *Escherichia coli*: winning back the urinary tract. *Infect Immun.* Feb;78(2):568-85, 2010.
19. Hedges S, Agace W, Svensson M, Sjogren AC, Ceska M, Svanborg C. Uroepithelial cells are part of a mucosal cytokine network. *Infect Immun* **62**:2315–21, 1994.
20. Backhed F, Soderhall M, Ekman P, Normark S, Richter-Dahlfors A. Induction of innate immune responses by *Escherichia coli* and purified lipopolysaccharide correlate with organ- and cell-specific expression of Toll-like receptors within the human urinary tract. *Cell Microbiol* **3**:153–8, 2001.
21. Abbas, AK, Lichtman AH, Pillai S. Imunidade natural. In: *Imunologia celular e molecular*, 6 ed. Rio de Janeiro, Elsevier: 19-46, 2008.
22. Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* **124**:783–801, 2006.
23. R&D Systems. Minireviews. The Toll like receptor family. Catalog of 01/01/2004. Disponível em: <http://www.rndsystems.com>. Acesso: 2/6/2010.
24. Kawai T, Akira S. TLR signaling. *Semin Immunol* **19**:24–32, 2007.
25. Martinez JJ, Mulvey MA, Schilling JD, Pinkner JS, Hultgren SJ. Type 1 pilus-mediated bacterial invasion of bladder epithelial cells. *Embo J* **19**:2803–12, 2000.
26. Samuelsson P, Hang L, Wullt B, Irjala H, Svanborg C. Toll-like receptor 4 expression and cytokine responses in the human urinary tract mucosa. *Infect Immun* **72**:3179–86, 2004.
27. Bishop BL, Duncan MJ, Song J, Li G, Zaas D, Abraham SN. Cyclic AMP-regulated exocytosis of *Escherichia coli* from infected bladder epithelial cells. *Nat Med* **13**:625–30, 2007.
28. Hagberg L, Hull R, Hull S, McGhee JR, Michalek SM, Svanborg EC. Difference in susceptibility to gram-negative urinary tract infection between C3H/HeJ and C3H/HeN mice. *Infect Immun* **46**:839–44, 1984.
29. Shahin RD, Engberg I, Hagberg L, Svanborg EC. Neutrophil recruitment and bacterial clearance correlated with LPS responsiveness in local gram-negative infection. *J Immunol* **138**:3475–80, 1987.
30. Ragnarsdottir B, Samuelsson M, Gustafsson MC, Leijonhufvud I, Karpman D, Svanborg C. Reduced toll-like receptor 4 expression in children with asymptomatic bacteriuria. *J Infect Dis* **196**:475–84, 2007.
31. Schilling JD, Martin SM, Hung CS, Lorenz RG, Hultgren SJ. Toll-like receptor 4 on stromal and hematopoietic cells mediates innate resistance to uropathogenic *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci U S A* **100**:4203–8, 2003.

32. Karoly E, Fekete A, Banki NF, Szebeni B, Vannay A, Szabo AJ *et al.* Heat shock protein 72 (HSPA1B) gene polymorphism and Toll-like receptor (TLR) 4 mutation are associated with increased risk of urinary tract infection in children. *Pediatr Res* **61**:371–74, 2007.
33. Apodaca G. The uroepithelium: not just a passive barrier. *Traffic* **5**:117–28, 2004.
34. Gonen E, Vallon-Eberhard A, Elazar S, Harmelin A, Brenner O, Rosenshine I *et al.* Toll-like receptor 4 is needed to restrict the invasion of *Escherichia coli* P4 into mammary gland epithelial cells in a murine model of acute mastitis. *Cell Microbiol* Dec;9(12):2826–38, 2007.
35. Song J, Duncan MJ, Li G, Chan C, Grady R, Stapleton A *et al.* A novel TLR4-mediated signaling pathway leading to IL-6 responses in human bladder epithelial cells. *PLoS Pathogens* **3**:e60, 2007.
36. Tsuboi N, Yoshikai Y, Matsuo S, Kikuchi T, Iwami K, Nagai Y *et al.* Roles of toll-like receptors in C-C chemokine production by renal tubular epithelial cells. *J Immunol* **169**:2026–33, 2002.
37. Hayashi F, Smith KD, Ozinsky A, Hawn TR, Yi EC, Goodlett DR *et al.* The innate immune response to bacterial flagellin is mediated by Toll-like receptor 5. *Nature* **410**:1099–103, 2001.
38. Lane MC, Alteri CJ, Smith SN, Mobley HL. Expression of flagella is coincident with uropathogenic *Escherichia coli* ascension to the upper urinary tract. *Proc Natl Acad Sci U S A* **104**:16669–74, 2007.
39. Andersen-Nissen E, Hawn TR, Smith KD, Nachman A, Lampano AE, Uematsu S *et al.* Cutting edge: Tlr5^{-/-} mice are more susceptible to *Escherichia coli* urinary tract infection. *J Immunol* **178**:4717–20, 2007.
40. Zhang D, Zhang G, Hayden MS, Greenblatt MB, Bussey C, Flavell RA *et al.* A toll-like receptor that prevents infection by uropathogenic bacteria. *Science* **303**:1522–6, 2004.
41. Jones-Carson J, Balish E, Uehling DT. Susceptibility of immunodeficient gene-knockout mice to urinary tract infection. *J Urol* **161**:338–41, 1999.
42. Hopkins WJ, Uehling DT, Balish E. Local and systemic antibody responses accompany spontaneous resolution of experimental cystitis in cynomolgus monkeys. *Infect Immun* **55**:1951–6, 1987.
43. Thumbikat P, Waltenbaugh C, Schaeffer AJ, Klumpp DJ. Antigen-specific responses accelerate bacterial clearance in the bladder. *J Immunol* **176**:3080–6, 2006.
44. Langermann S, Mollby R, Burlein JE, Palaszynski SR, Auguste CG, DeFusco A *et al.* Vaccination with FimH adhesin protects cynomolgus monkeys from colonization and infection by uropathogenic *Escherichia coli*. *J Infect Dis* **181**:774–8, 2000.
45. Uehling DT, Hopkins WJ, Dahmer LA, Balish E. Phase I clinical trial of vaginal mucosal immunization for recurrent urinary tract infection. *J Urol* **152**:2308–11, 1994.

46. Uehling DT, Hopkins WJ, Elkahwaji JE, Schmidt DM, Levenson GE. Phase 2 clinical trial of a vaginal mucosal vaccine for urinary tract infections. *J Urol* **170**:867–9, 2003.
47. Parker LC, Prince LR, Sabroe I. Translational mini-review series on Toll-like receptors: networks regulated by Toll-like receptors mediate innate and adaptive immunity. *Clin Exp Immunol* **147**:199–207, 2007.
48. Ishii KJ, Akira S. Toll or toll-free adjuvant path toward the optimal vaccine development. *J Clin Immunol* **27**:363–71, 2007.
49. Tse K, Horner AA. Update on toll-like receptor-directed therapies for human disease. *Ann Rheum Dis* **66**(Suppl. 3): iii77–80, 2007.
50. Huleatt JW, Jacobs AR, Tang J, Desai P, Kopp EB, Huang Y *et al*. Vaccination with recombinant fusion proteins incorporating Toll-like receptor ligands induces rapid cellular and humoral immunity. *Vaccine* **25**:763–75, 2007.
51. Li X, Lockatell CV, Johnson DE, Lane MC, Warren JW, Mobley HL. Development of an intranasal vaccine to prevent urinary tract infection by *Proteus mirabilis*. *Infect Immun* **72**:66–75, 2004.
52. Davis SS. Nasal vaccines. *Adv Drug Deliv Rev* **51**:21–42, 2001.
53. Ashkar AA, Yao XD, Gill N, Sajic D, Patrick AJ, Rosenthal KL. Toll-like receptor (TLR)-3, but not TLR4, agonist protects against genital herpes infection in the absence of inflammation seen with CpG DNA. *J Infect Dis* **190**:1841–9, 2004.
54. Nurkkala M, Nordstrom I, Telemo E, Eriksson K. MHC expression and chemokine production in the murine vagina following intravaginal administration of ligands to toll-like receptors 3, 7 and 9. *J Reprod Immunol* **73**:148–57, 2007.

8. SÍNDROMES CLÍNICAS

Amaury Mielle Filho

As síndromes clínicas relacionadas à infecção do trato urinário podem ser divididas em processos chamados complicados ou não. Essa terminologia aplica-se a critérios anômicos e/ou de gravidade da infecção. Assim, uma infecção aguda não complicada poderia ser exemplificada como aquela ocorrendo em mulheres com uma estrutura e função normais do trato genitourinário¹, frequentemente restrita à bexiga (cistite) ou até mesmo ao parênquima renal (pielonefrite). Raramente observa-se infecção urinária aguda em homens com estrutura normal do trato genitourinário. Alguns autores, por este fato, preferem abordar essa situação e manejá-la como infecção complicada.

Infecção urinária aguda não complicada

Cerca de 60% das mulheres irão apresentar um episódio, no mínimo, de infecção urinária na sua vida². A faixa etária predominante está entre os 18 e 24 anos. É provável que situações de recorrência ocorram em 5% destas mulheres³.

Alguns fatores são atribuídos à patogênese: até 90% dos episódios de cistite são diretamente relacionados à atividade sexual⁴, sendo incomum encontrar-se casos de infecção em mulheres não sexualmente ativas. O uso de agentes espermicidas também tem sido incriminado no aumento de incidência⁶.

Alguns autores têm reportado fatores de risco separadamente entre mulheres pré e pós menopausa⁷ tendo em vista a mudança da microbiota bacteriana na menopausa.

Analisando-se os casos de infecção em mulheres pós menopausa não se evidenciam com clareza esses fatores relacionados anteriormente. Os estudos mostram que: história de infecção progressiva, diabetes, alterações secretórias locais e incontinência crônica são mais prováveis⁶.

Etiologia

80 a 85% dos episódios são causados por *Escherichia coli*⁸. Seu perfil de virulência é bastante variado e depende do tipo envolvido, o que pode acarretar em termos de espectro clínico desde estado apenas de colonização até agressão significativa às células uroepiteliais. Normalmente a vagina e área periuretral tornam-se colonizados pelo *E.coli* que substitui os lactobacilos que mantêm o equilíbrio ácido vaginal e outros micro-organismos da microbiota normal. 5 a 10% dos casos relacionam-se ao *Staphylococcus saprophyticus*. Algumas propriedades desta bactéria tem sido estudadas recentemente destacando-se sua capacidade de produzir adesinas e urease⁹. *Proteus mirabilis* correlaciona-se a casos em mulheres pós menopausa e *Streptococcus* do grupo B a mulheres diabéticas ou puérperas⁸.

Clínica

Normalmente a sintomatologia da infecção urinária aguda não complicada inicia-se de modo insidioso ou abrupto com aumento da frequência urinária, disúria e urgência miccional podendo acompanhar-se de plenitude vesical e sensação de dor suprapúbica. Esses sintomas em mulheres sem leucorreia tem um valor preditivo positivo em torno de 90%¹⁰. Também hematúria pode estar presente e em mulheres idosas pode se observar incontinência urinária nova ou agravada.

Pielonefrite aguda não obstrutiva

Os fatores de risco que envolvem a genética e comportamento para a pielonefrite aguda não complicada são os mesmos associados à cistite. Um novo estudo correlacionou uma susceptibilidade familiar atribuída à baixa expressão de CXCR1 (receptor de interleucina-8)¹¹.

Novamente a *E. coli* constitui o micro-organismo mais frequentemente isolado (90% dos episódios). Observa-se, no entanto, virulência específica relacionada à pielonefrite expressa pela presença de P pilus (dissacarídeo adesina) além de outros indicadores. Porém, a real fisiopatogenia não está bem explicada¹².

Na pielonefrite existe produção local e sistêmica de citocinas e outros marcadores inflamatórios (IL-6, IL-1 beta, TNF-alfa)¹³ e por isso essa infecção pode ocasionar complicações sépticas.

Clínica

Os sintomas mais frequentes são: dor no ângulo costovertebral com sensibilidade local, febre alta e calafrios. Em alguns casos náuseas, vômitos, astenia e mialgias. Sinais de sepsis ou choque séptico são incomuns, mas devem ser criteriosamente investigados nestes pacientes. Sinal da punho-percussão positivo pode ajudar no diagnóstico. O clínico deve avaliar a gravidade do episódio e decidir pela hospitalização ou não. Na maioria das vezes (80%) o tratamento será ambulatorial.

Infecções complicadas do trato urinário

Uma infecção complicada é aquela que ocorre em um paciente com uma anormalidade anatômica do trato urinário ou com comorbidades clínicas ou cirúrgicas. Geralmente, estes pacientes irão necessitar de um curso mais prolongado de antibióticos e podem necessitar de intervenções terapêuticas (cirurgias, endoscopias etc)¹⁴. Além disso, a possibilidade de envolvimento de bactérias com resistência aos antibióticos é muito provável.

Algumas situações clínicas/ cirúrgicas são comumente relacionadas ao risco de infecções complicadas :

- sondagem urinária: uretral, suprapúbica, nefrostomia etc..Geralmente estes pacientes têm maior risco de infecção com exposições frequentes a antimicrobianos. Tem sido comprovado que na presença de cateterização a urina irá se colonizar ou infectar num período de duas semanas. Em alguns casos é difícil distinguir-se entre colonização ou infecção.
- obstrução urinária: qualquer tipo de obstrução comprovadamente prolonga a bacteriúria.
- sexo masculino: a maioria dos autores define o sexo masculino como critério específico para infecção complicada¹⁵. Um exemplo está na hiperplasia prostática benigna que tem elementos de processo obstrutivo urinário. Os mecanismos naturais de defesa do homem que o protegem de infecções do trato urinário, normalmente levam, uma vez não funcionantes, a esta condição de exceção diagnóstica.
- faixa etária: infecções em crianças quase sempre se relacionam a anormalidades anatômicas do trato urinário (refluxo vesico-ureteral, valvas uretrais, obstruções ureteropélvicas)¹⁶.
- diabetes: a doença não só traz mais riscos para a infecção como também para complicações como abscessos perinefréticos e intrarenais e pielonefrite enfisematosa que vão requerer intervenções cirúrgicas¹⁷. Estes pacientes também têm uma maior incidência de bacteriúria assintomática.
- insuficiência renal: dois fatores relacionam-se à sua fisiopatogenia: a diminuição do fluxo sanguíneo renal e resposta imune prejudicada.
- imunossuprimidos: geralmente necessitam de tratamento mais agressivo com antimicrobianos de largo espectro além do uso de drogas que prejudicam sua resposta imune tais como corticoides, ciclosporina e tacrolimus.
- urolitíase: condição bastante frequente que predispõe a graus variáveis de obstrução do fluxo urinário além de poderem prolongar o tratamento se os cálculos estiverem infectados (biofilme). A agressão direta dos cálculos na parede ureteral também pode predispor o envolvimento bacteriano¹⁹.
- cirurgia prévia do trato urinário: as mínimas soluções de continuidade causadas por procedimentos cirúrgicos podem causar micro obstruções com facilitação para colonização por bactérias.

- gravidez: o aumento uterino poderá causar alteração anatômica obstrutiva do trato urinário além da redução de contratilidade que pode ser observada não somente no útero como também na bexiga e ureter. A progesterona tem sido relacionada também com redução de motilidade ureteral²⁰.
- disfunções neurológicas: a mais frequente é a bexiga neurogênica que predispõe a urina residual e que pode também somar-se às condições de sondagem frequente ou permanente que quase sempre predispõe à status de colonização microbiana²¹.

Avaliando o paciente com infecção complicada do trato urinário

O paciente com infecção urinária complicada requer uma criteriosa avaliação clínica e física que vai ajudar a estratificação de riscos. O exame de cultura é obrigatório para a indicação adequada do antimicrobiano além de exames de imagem a fim de melhor conceituar o processo. A tomografia computadorizada de aparelho urinário tem mostrado ser um exame indispensável superando o ultrassom pela maior riqueza de detalhes²².

Diante da possibilidade de sepsis esses pacientes devem ser avaliados como de risco e pode haver necessidade de hospitalização para melhor observação. Outra situação a ser examinada é a insuficiência renal que pode ser aguda ou crônica, permanente ou autolimitada

REFERÊNCIAS

1. Fihn SD. Acute uncomplicated urinary tract infection in women. *N Engl J Med* 2003;349:259–66.
2. Foxman B, *et al.* Urinary tract infection: self-reported incidence and associated costs. *Ann Epidemiol* 2000;10:509–15.
3. Scholes D *et al.* Risk factors for recurrent urinary tract infection in young women. *J Infect Dis* 2000;182:1177–82.
4. Hooton TM, *et al.* A prospective study of risk factors for symptomatic urinary infection in young women. *N Engl J Med* 1996;335:468–74.
5. Foxman B. Epidemiology of urinary tract infection: II. Diet, clothing, and urination habits. *Am J Public Health* 1985;75:1314–7.
6. Foxman B *et al.* Urinary tract infection among women aged 40 to 65: behavioral and sexual risk factors. *J Clin Epidemiol* 2001;54:710–8.
7. Hu KK, *et al.* Risk factors for urinary tract infections in postmenopausal women. *Arch Intern Med* 2004;164:989–93.
8. Kahlmeter G. ECO.SENS. An international survey of the antimicrobial susceptibility of pathogens from uncomplicated urinary tract infections: the ECO.SENS project. *J Antimicrob Chemother* 2003;51:69–76
9. Kuroda M, *et al.* Whole genome sequence of *Staphylococcus saprophyticus* reveals the pathogenesis of uncomplicated urinary tract infection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:12372–3277.
10. Bent S, Nallamotheu BK, Simel DL, *et al.* Does this women have an acute uncomplicated urinary tract infection? *JAMA* 2002;287:2701–10.
11. Lundstedt A-C *et al.* Inherited susceptibility to acute pyelonephritis: A family study of urinary tract infection. *J Infect Dis* 2007;195:1227–34.
12. Takahashi A, *et al.* *Escherichia coli* isolates associated with uncomplicated and complicated cystitis and asymptomatic bacteriuria possess similar phylogenies, virulence genes, and O-serogroup profiles. *J Clin Microbiol* 2006;44:4589–92.
13. Horcajada JP, *et al.* Evaluation of inflammatory and renal-injury markers in women treated with antibiotics for acute pyelonephritis caused by *Escherichia coli*. *Clin Diagn Lab Immunol* 2004;11:142–6.
14. Stamm WE, Hooton TM. Management of urinary tract infections in adults. *N Engl J Med* 1993;329: 1328–34.
15. Crawford ED, *et al.* Baseline factors as predictors of clinical progression of benign prostatic hyperplasia in men treated with placebo. *J Urol* 2006;175(4):1422–6. *J Urol* 1426–7.
16. Koff SA. Clues to neonatal genitourinary problems. *Postgrad Med* 1977;62(3):93–101.
17. Falagas ME, *et al.* Risk factors for mortality in patients with emphysematous pyelonephritis: a meta-analysis. *J Urol* 2007; 178(3):880–5

18. Kamin' ska W, Urinary tract infections caused by endemic multi-resistant *Enterobacter cloacae* in a dialysis and transplantation unit. *J Hosp Infect* 2002;51(3):215–20.
19. Ulett GC, *et al.* Functional analysis of antigen 43 in uropathogenic *Escherichia coli* reveals a role in long-term persistence in the urinary tract. *Infect Immun* 2007;75(7):3233–44
20. McLaughlin SP, Carson CC. Urinary tract infections in women. *Med Clin North Am* 2004;88(2):417–29.
21. Okorochoa I. Female urodynamics and lower urinary tract infection. *BJU Int* 2002;89(9):863–7.
22. Neal DE Jr, The role of CT scanning in evaluation of common renal lesions. *Infections in Urology* 1992;5(2):37–45.

9. BACTERIÚRIA ASSINTOMÁTICA

Cristina Leise Bastos Monteiro
Laura Lúcia Cogo

Introdução

A bacteriúria assintomática (BA) é definida como a ocorrência de proliferação bacteriana na urina em pacientes com ausência de sinais e sintomas de infecção, como disúria, polaciúria, urgência, dor nos flancos ou outros quadros urinários irritativos.^{1,2}

A ocorrência da BA pode variar de acordo com o sexo, idade, atividade sexual, além da presença de anomalias geniturinárias e é uma condição clínica relativamente comum em determinados grupos populacionais, como mulheres saudáveis e indivíduos idosos.

Como nos indivíduos com infecção silenciosa do trato urinário o que caracteriza o processo infeccioso é a presença de bactérias na urina, assim, torna-se imprescindível a diferenciação com amostras de urina contaminadas por ocasião da coleta realizada inadequadamente. Assim, para considerá-la significativa e diferenciá-la de contaminação, é necessário estabelecer critérios de diagnóstico.

Crítérios diagnósticos

Os critérios quantitativos para a identificação de BA significativa em um indivíduo variam com o tipo de amostra analisada:^{3,4}

- **Para amostras de urina obtidas por micção espontânea (jato médio):**
- Em mulheres: duas amostras consecutivas com o isolamento da mesma espécie bacteriana e contagem quantitativa ≥ 100.000 UFC/mL.
- Em homens: uma amostra, com isolamento de uma única espécie bacteriana e com contagem quantitativa ≥ 100.000 UFC / mL.
- **Para amostras de urina coletadas a partir de cateterismo vesical:**
- Em pacientes de ambos os sexos: uma amostra, com uma única espécie bacteriana isolada em contagem quantitativa ≥ 100 UFC / mL.
- **Para amostras de urina obtidas por punção suprapúbica:**
- Em pacientes de ambos os sexos: uma única amostra, com qualquer contagem bacteriana.

Epidemiologia

A BA é uma condição clínica frequente e sua prevalência é bastante variável. Em recém-natos a infecção é pouco observada em ambos os sexos⁵ e nos primeiros 12 meses de vida é mais comum em meninos do que em meninas. Porém, durante o crescimento do indivíduo este dado se inverte, sendo quase que exclusivamente observada em meninas.⁶ Assim, em crianças do sexo feminino durante a idade escolar cerca de 1 a 1,5% apresentam infecção assintomática do trato urinário.^{7, 8}

Estudos realizados em diversas áreas do mundo relatam uma prevalência inferior a 5% em mulheres e 0,1% em homens adultos.⁹ Mulheres em período de pré-menopausa que são sexualmente ativas apresentam um aumento na prevalência quando comparadas com mulheres não sexualmente ativas. Aproximadamente 30% das mulheres adquirem a infecção (na maioria dos casos passageira) imediatamente após os relacionamentos sexuais.¹⁰

Devido a alterações fisiológicas específicas alguns grupos populacionais serão abordados separadamente.

Gestantes

Especial atenção deve ser dada à BA presente na gravidez. As alterações anatômicas e funcionais no aparelho urinário da mulher grávida constituem fatores relevantes para a instalação de uma pielonefrite.

Entre as alterações funcionais observamos que a urina da gestante é normalmente mais rica em nutrientes como glicose, aminoácidos e vitaminas, o que propicia um meio de cultura mais rico, facilitando o crescimento das bactérias. Em relação às alterações anatômicas, com frequência ocorre uma dilatação do trato urinário, criando condições de estase urinária e favorecendo o crescimento bacteriano e a instalação da infecção. Além disso, o aumento do útero pode obstruir parcialmente o ureter e criar, também, condições de estase urinária.^{11, 12}

Estudos epidemiológicos revelam que a prevalência da bacteriúria na gravidez varia entre 2 e 10%. Estes dados são similares à prevalência da bacteriúria entre mulheres sexualmente ativas, não grávidas. As mulheres que não apresentam bacteriúria na avaliação pré-natal possuem uma baixa incidência de infecção do trato urinário (ITU) na gestação. Por outro lado, é significativo o número de gestantes (30-40%) com BA não tratada que desenvolvem ITU sintomática, principalmente pielonefrite, com maior incidência no terceiro trimestre da gravidez.¹³

É importante ressaltar que em mulheres grávidas, a infecção urinária é ainda mais preocupante quando assintomática, pois pode provocar ruptura prematura de membranas, levando ao parto prematuro e aumentando os riscos de infecções neonatais, além de resultar na hospitalização da gestante.¹⁴

Idosos

No idoso a BA é um evento clínico bastante comum e geralmente tem curso benigno. É um fenômeno de alta prevalência, estimando-se que após os 65 anos de idade até 20% dos indivíduos na comunidade possam apresentar episódios desta natureza. Em idosos institucionalizados a prevalência pode atingir valores de 25-50% nas mulheres e 15-40% nos homens.¹⁵

À medida que os indivíduos envelhecem, ocorrem mudanças funcionais decorrentes das alterações na função celular, características do processo de senescência. Alguns destes fatores favorecem instalação de ITU, como a imunodeficiência relacionada à idade, alterações funcionais e orgânicas do aparelho geniturinário, imobilidade e a instalação de doenças sistêmicas.

Nos homens merece destaque o aumento prostático que dificulta o esvaziamento vesical, favorecendo a estase e a aderência bacteriana. Na mulher o enfraquecimento do assoalho pélvico, a redução da capacidade vesical, a contaminação fecal e as alterações tróficas do epitélio pela queda dos níveis hormonais propiciam a ocorrência de ITU.¹⁶

Além da maioria dos pacientes idosos não apresentarem sinais clínicos de ITU, sintomas atípicos podem ser encontrados, como dor abdominal e lombar, febre, alterações dos níveis de consciência e *delirium*, sugerindo outras patologias. Nessas situações faz-se necessária a exclusão de diferentes causas, infecciosas ou não (tais como pneumonia, infarto agudo do miocárdio, acidente vascular encefálico)¹⁷.

Pacientes cateterizados

A ITU é responsável por 35 a 45% de todas as infecções adquiridas em hospitais, sendo considerada a causa mais comum de infecção nosocomial. Dos pacientes que são hospitalizados, mais de 10% serão expostos à cateterização vesical e em unidade de terapia intensiva o seu uso é ainda mais expressivo.¹⁸

O papel da sondagem vesical encontra-se bem definido na assistência clínica. É utilizado para o controle do volume urinário durante uma doença aguda e no procedimento cirúrgico, para proteção contra lesões intra-operatórias, prevenção e tratamento de retenção urinária. Apesar de sua necessidade, a cateterização vesical é uma condição que predispõe à bacteriúria, geralmente assintomática, podendo tornar-se sintomática e com risco de bacteriemia.¹⁹

O tempo de permanência do catéter implantado é o principal fator determinante nas taxas de ITU, que aumentam de 5 - 8% a cada dia durante o período em que o paciente permanecerá cateterizado.²⁰ Outros fatores de risco para o desenvolvimento de ITU em pacientes cateterizados podem ser citados como a presença de comorbidades, idade avançada e cuidados com o catéter.²¹

Também ficou comprovado que as pacientes do sexo feminino são mais susceptíveis a desenvolver ITU quando cateterizadas. Em geral, isto ocorre por fatores anatômicos (o menor comprimento da uretra, facilitando o acesso de micro-organismos da microbiota perineal para a bexiga) e causas hormonais (diminuição nos níveis de estrogênio, no climatério, que modificam a microbiota vaginal).²²

Após a remoção do catéter, a bacteriúria é na maioria dos casos benigna, frequentemente assintomática e de resolução espontânea em pacientes hígidos. Ocasionalmente, persiste e acarreta complicações maiores.¹⁹

Diabéticos

O *diabetes mellitus* é um conjunto de distúrbios metabólicos que possuem em comum a característica de subutilizarem a glicose, resultando em hiperglicemia. A doença tem sido considerada um fator predisponente para ITU, principalmente em mulheres, nas quais a prevalência da bacteriúria assintomática é quatro vezes maior em comparação a mulheres sem diabetes. Este fato não ocorre em homens diabéticos, nos quais a prevalência de bacteriúria é semelhante à população em geral.²³

A maioria dos estudos que associam *diabetes mellitus* e BA não deixa claro um motivo para esta associação. Glicosúria, qualidade do controle glicêmico e tempo de doença não parecem ser fatores importantes. Porém, a presença de neuropatia diabética com bexiga neurogênica é citada como o principal fator de risco para desenvolvimento de bacteriúria e infecção devido à urina residual. Ainda há a presença de alterações leucocitárias e uma maior facilidade de adesão bacteriana ao epitélio vesical nestes pacientes.²⁴

Microbiologia

O micro-organismo mais comumente isolado em pacientes com BA, assim como em pacientes sintomáticos é *Escherichia coli*. Outros membros da família *Enterobacteriaceae*, como *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., além de *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus* spp. e estreptococo do grupo B também são isolados com frequência.³

O isolamento do patógeno será influenciado por variáveis relacionadas ao histórico do paciente: indivíduos saudáveis provavelmente terão infecção por *E. coli*, enquanto um indivíduo residente em asilo, com uso de catéter vesical, é mais provável ter infecção por bactérias multirresistentes (tal como: *P. aeruginosa*).^{25, 26}

A multirresistência bacteriana também pode estar presente em pacientes não hospitalizados com ITU, onde a BA é frequente. Existem trabalhos relatando a presença de patógenos como *E. coli* e *K. pneumoniae* produtoras de ESBL (Beta-Lactamase de Espectro Estendido) em pacientes com *diabetes mellitus*, cuja doença foi considerada um fator de risco para o isolamento destes micro-organismos.^{27, 28}

Em pacientes cateterizados a microbiota do trato urinário pode ser dividida em duas subpopulações: a que cresce na urina e a que cresce na superfície do catéter (cres-

cimento em biofilme). Alguns gêneros, como *Proteus* e *Pseudomonas*, apresentam tendência a desenvolverem-se em biofilme, obstruindo o catéter. O isolamento destes micro-organismos na cultura pode não refletir uma bacteriúria verdadeira.²⁹ Também é observado que a cateterização de indivíduos com duração inferior a 30 dias produz infecções com apenas um micro-organismo, ao passo que se o procedimento se estender por períodos superiores, a infecção tende a ser polimicrobiana.³⁰

Demais achados laboratoriais

A análise microscópica da urina, na prática laboratorial, continua sendo um teste rápido para identificação de BA. Por outro lado, os testes de esterase leucocitária e nitrito, que são muitas vezes usados no diagnóstico de ITU em pacientes que apresentam sintomatologia, não são adequados para pacientes assintomáticos.

As tiras reagentes para o teste de leucócito-esterase na urina têm sensibilidade de 75 a 96% e especificidade de 94 a 98% para a detecção de piúria. No entanto a piúria não é específica para ITU e pode ocorrer com outras desordens inflamatórias do trato geniturinário. Quanto ao teste de nitrito, as limitações incluem: infecção com patógenos não produtores de nitrito, demora entre a obtenção da amostra e realização do teste, bem como tempo insuficiente desde a última micção, para que o nitrito apareça em níveis detectáveis.³

A presença de leucócitos na urina não deve ser considerada como fator determinante no diagnóstico de BA, pois podem ocorrer variações na prevalência de acordo com a população estudada (Tabela 1).¹⁵ Segundo Kunin,³¹ cerca de 50% dos indivíduos que têm BA não apresenta piúria significativa.

Tabela 1: Prevalência de piúria em diferentes populações estudadas com BA

População	Prevalência (%)
Mulheres adultas saudáveis	32
Mulheres grávidas	50
Mulheres diabéticas	70
Idosos institucionalizados	90
Pacientes com lesão medular	33-86
Pacientes com cateterização vesical de demora	70

Condutas clínicas

A introdução da antibioticoterapia é um tema discutível quando se refere à BA, porém em determinados casos a presença de fatores de risco exige que a mesma seja tratada. De acordo com as diretrizes da Sociedade Americana de Doenças Infecciosas o tratamento deve ser sempre baseado no resultado do antibiograma e realizado nas condições citadas no Quadro 1:^{32, 33}

Quadro 1: Recomendações para o tratamento da bacteriúria assintomática

Mulheres grávidas
Bacteriúria em mulheres, adquirida por uso de catéter vesical, que persiste após 48 horas da remoção do mesmo
Na ressecção transuretral de próstata
Qualquer procedimento urológico que envolva risco de sangramento de mucosa urogenital

Os pacientes pediátricos, segundo a Sociedade Brasileira de Infectologia, são outro grupo populacional em que é recomendado o tratamento da BA,³⁴ pois o fenômeno, na maioria das vezes, está associado com anomalias anatômicas que podem potencializar a invasão bacteriana no sistema urinário.³⁵

Em gestantes, estudos têm demonstrado que o rastreamento e o tratamento da BA têm diminuído significativamente a frequência de pielonefrite e o trabalho de parto prematuro.³⁶ Assim, a triagem deve ser feita através de cultivos de urina durante a gestação.¹¹

Também foi relatado por alguns pesquisadores que, se a BA for devidamente reconhecida e tratada antes de uma cirurgia urológica, as complicações pós-operatórias podem ser reduzidas.³⁷

Devido à característica silenciosa das infecções nos pacientes citados e que apresentam BA, novas culturas de urina devem ser realizadas para o controle do tratamento e a fim de que sejam detectadas possíveis bacteriúrias recorrentes.

Em determinados grupos populacionais em que a BA é comum, existem fortes evidências para sustentar **a recomendação de não tratar a infecção** (Quadro2), pois não se demonstrou redução do número de episódios sintomáticos, hospitalizações ou número de recidivas da bacteriúria.^{32, 15}

Quadro 2: Recomendações contra o tratamento e controle da bacteriúria assintomática

Mulheres não gestantes e pré-menopausadas
Mulheres com diabetes
População geriátrica, na comunidade ou institucionalizada
Indivíduos com patologias em medula espinhal
Pacientes com catéter vesical que permanecem com o dispositivo in situ
Pacientes submetidos a transplante de órgão sólido

Como norma geral, a introdução da antibioticoterapia nestes casos costuma ser ineficaz e pode induzir o desenvolvimento de resistência bacteriana, contribuir

para o aparecimento de uma superinfecção, além de alterar a microbiota intestinal e vaginal, quando usada desnecessária e prolongadamente.¹³

Nos idosos, devido à fragilidade e vulnerabilidade, a ocorrência de efeitos adversos com a terapia antimicrobiana é significativa, incluindo diarreia, vômitos e desidratação.¹⁵ Neste grupo a BA deve ser tratada apenas nos casos de obstruções do trato urinário, quando houver necessidade de procedimento invasivo e em doenças com potencial de interferir com a resposta orgânica, como o diabetes não compensado.³⁸

Algumas condutas podem auxiliar na profilaxia da BA em idosos: promover o estímulo dos mecanismos naturais de defesa da bexiga recomendando a ingestão abundante de líquidos (para promover uma diurese aquosa), o esvaziamento da bexiga por meio de micções periódicas e completas, que constitui um importante mecanismo de eliminação de bactérias,¹³ e a deambulação, quando possível, dos pacientes enfermos.³⁸

Em pacientes internados, para reduzir a ocorrência de infecção urinária e consequentemente de BA, recomenda-se, sempre que possível, a remoção do catéter.³

REFERÊNCIAS

1. Heilberg IP, Schor N. Abordagem diagnóstica e terapêutica na infecção do trato urinário - ITU. *Revista da Associação Médica Brasileira*, São Paulo, 2003; 49(1):109-116.
2. McCarter YSB, Hall GS, Zervos M. *Cumithec 2C Laboratory Diagnosis of Urinary Tract Infections*. Washington, D.C.: ASM Press; 2009.
3. Colgan R, Nicolle LE, McGlone A, Hooton TM. Asymptomatic bacteriuria in adults. *Am Fam Physician*. 2006; 74(6):985-90.
4. Hooton TM. Epidemiology, definitions and terminology in urinary tract infections. In: Neu HC, Williams JD, editors. *New trends in urinary tract infections*. Basel Karger. 1988; 1-8.
5. Schaechter M, Engleberg NC, Eisenstein BI, Medoff G. *Microbiologia. Mecanismos das Doenças Infecciosas*. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A.; 2002.
6. Stull T, Lipuma J. *Epidemiology and Natural History of Urinary Tract Infections in Children*. *Medical Clinics of North America* 1991; v.75:287-97.
7. Ciari JR C, Almeida -, Iaria ST, Diqueira AAF. A importância das provas de despistagem da bacteriúria assintomática em serviços de pré-natal. *Rev Saúde Pública*, São Paulo, 1975; 9(1): 25-31.
8. Jha BK, Singh YI. Prevalence of asymptomatic bacteriuria in school going children in Pokhara valley. *Kathmandu Univ Med J*. 2007; 5(1):81-4.
9. Abreu PF, Sesso RCC, Ramos LR. Aspectos renais no idoso. *J Bras Nefrol*. 1998; 20(2):158-65.
10. Menezes e Silva CHP, Neufeld PM, Leite CQF, Sato, DN. *Bacteriologia e Micologia para o Laboratório Clínico*. Rio de Janeiro: Revinter; 2006.
11. Jacociunas LV, Picoli SU. Avaliação de infecção urinária em gestantes no primeiro trimestre de gravidez. *Rev Bras Anal Clin*. 2007; 39:55-7.
12. Rezende J, Montenegro, CAB. *Obstetrícia*. 8ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.
13. Lenz LL. Bacteriúria assintomática. *Arquivos Catarinenses de Medicina*. 2006; v.35, nº 4:7-10.
14. Pinheiro RS, Ferreira LCL, Brun IR, Guilherme JP, Monte RL. Estudo dos fatores de risco maternos associados à sepse neonatal precoce em hospital terciário da Amazônia brasileira. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2007; 29(8):387-95.
15. Fraga R, Palma P, Riccetto C. *Prática Hospitalar*. Ano X. Nº 55. Jan-Fev/2008; 142-144.
16. Pompeo ACL, Pompeo AMSF, Carrerete FB, Bruschini H, Araújo JFC, Sabaneeff J, Carneiro KJ, Rocha LCA. *Sociedade Brasileira de Urologia. Diretrizes: Infecção Urinária*, 2004.
17. Dallacorte RR, Schneider RH, Benjamin WW. Perfil das infecções do trato urinário em idosos hospitalizados na Unidade de Geriatria do Hospital São Lucas da PUCRS. *Scientia Medica*, Porto Alegre, 2007; v.17,n.4:197-204.

18. Souza Neto JL, Oliveira FV, Kobaz AK, Silva MNP, Lima AR, Maciel LC. Infecção do trato urinário relacionada com a utilização do catéter vesical de demora: resultados da bacteriúria e da microbiota estudadas. *Rev Col Bras Cir.* 2008; v.35 n°.1:28-33.
19. Hinrichsen SCA, Souza ASR, Costa A, Amorim MMR, Hinrichsen MGML, Hinrichsen SL. Fatores associados à bacteriúria após sondagem vesical na cirurgia ginecológica. *Rev. Assoc. Med. Bras., São Paulo*, 2009; 55(2):181-7.
20. Getliffe K. Care of Urinary catheters. *Nursing Standard.* 1996; 11:47-50.
21. Stamm WE. Catheter-associated urinary tract infection: epidemiology, pathogenesis and prevention. *The American Journal of Medicine.* 1991; 91:655-705.
22. Stamm AMNF, Forte DY, Sakamoto KS, Campos ML, Cipriano, ZM. Cate-terização vesical e infecção do trato urinário: estudo de 1.092 casos. *Arq cat med.* 2006; 35(2):72-77.
23. Krenke DS, Lottemberg AS, Martino MDV, Pasternak J. Comparação dos agentes e perfil de sensibilidade em infecção do trato urinário em pacientes diabéticos e não diabéticos. *Einstein (São Paulo).* 2007; 5(4):363-7.
24. Rocha JLL, Baggio HCC, Cunha CA, Niclewicz EA, Leite S, Baptista MIDK. Aspectos relevantes da interface entre diabetes mellitus e infecção. *Arq Bras Endocrinol Metab*, São Paulo, 2002; v. 46, n° 3: 221-9.
25. Warren JW, Tenney JH, Hoopes JM, Muncie HL, Anthony WC. A prospective microbiologic study of bacteriuria in patients with chronic indwelling urethral catheters. *J Infect Dis* 1982;146:719-23.
26. Mims AD, Norman DC, Yamamura RH, Yoshikawa TT. Clinically inapparent (asymptomatic) bacteriuria in ambulatory elderly men: epidemiological, clinical, and microbiological findings. *J Am Geriatr Soc.* 1990;38:1209-14.
27. Rodriguez-Baño JR, Navarro MD, Romero L, Martínez-Martínez L, Muniain MA, Perea EJ, *et al.* Epidemiology and clinical features of infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in nonhospitalized patients. *J Clin Microbiol.* 2004; 42(3):1089-94.
28. Colodner R, Rock W, Chazan B, Keller N, Guy N, Sakran W, *et al.* Risk factors for the development of extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria in nonhospitalized patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2004; 23(3):163-7.
29. Almeida MC, Simões MJS, Raddi MSG. Ocorrência de infecção urinária em pacientes de um hospital universitário. *Rev Ciênc Farmac Básica Apl.* 2007; v. 28. n. 2:215-219.
30. Warren JW. Catheter-associated urinary tract infections. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2001; 17:199-303.
31. Kunin, C. *Detection Prevention and Management of Urinary Tract Infections.* 4 ed. Philadelphia, Pa:Lea & Febiger; 1987.
32. Medeiros EAS, Stempliuik VA, Santi LQ, Sallas J. Uso racional de antimicrobianos para prescritores. Organização Pan-Americana da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Coordenação Geral de Laboratórios de Saúde Pública, Universidade Federal de São Paulo. 2008; 262 p.

33. Nicolle LE, Bradley S, Colgan R, Rice JC, Schaeffer A, Hooton TM, Infectious Diseases Society of America, American Society of Nephrology, and American Geriatric Society. Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Asymptomatic Bacteriuria in Adults. *Clin Infect Dis*. 2005; 40(5):643-654.
34. Lopes HV, Tavares W. Cistites em situações especiais: tratamento. *Sociedade Brasileira de Infectologia*. 2004.
35. Lerner SA. Optimal duration of treatment of urinary tract infections. *Eur Urol* 1987; 13(Suppl.1):26-31.
36. Duarte G, Marcolin AC, Quintana SM, Cavalli RC. Infecção urinária na gravidez. *Ver Bras Ginecol Obstet*, Rio de Janeiro, 2008; 30(2): 93-100.
37. Stamm WE, Hooton TM. Management of Urinary Tract Infections in Adults. *New Engl J Med* 1993; 329:1328-1334.
38. Pompeo ACL, Pompeo AMSF, Rocha LCA, Carrerette FB, Araújo JFC, Carneiro KS. Infecção do Trato Urinário no Idoso. *Sociedade Brasileira de Urologia*, 2004.

10. SÍNDROME URETRAL

*Aline Borsato Hauser
Andréa Emilia Marques Stingenhen*

Introdução

A Síndrome Uretral (SU) foi citada pela primeira vez em 1949 em um estudo clínico-patológico da uretra feminina. Em 1965, o termo foi utilizado por um grupo de pesquisadores britânicos para descrever um achado comum em torno de 50% das suas pacientes femininas, ou seja, a presença de sintomas de infecção urinária sem sinais de infecção (1). Desde então o termo síndrome uretral aguda tem sido evitado em virtude de um diagnóstico etiológico confiável, ou seja, somente uma pequena porcentagem dos pacientes com SU não apresentam uma causa que justifique os sintomas, assim a SU pode ser aguda ou crônica (2) (3).

Pode-se definir a SU como uma manifestação clínica sugestiva de infecção urinária, observada geralmente em mulheres jovens, caracterizada por dor ao urinar (disúria) ou frequência aumentada das micções (polaciúria). O paciente apresenta sintomas de uma cistite comum, laboratorialmente apresenta piúria e ausência de bacteriúria (1).

Estes casos podem ser confundidos com infecções do trato urinário (ITU), mas apresentam outras causas, não infecciosas, de origem inflamatória, como causas químicas, tóxicas, hormonais ou irradiação e que apesar de causar desconforto, apresenta bom prognóstico na maioria dos casos (2). A SU pode estar relacionada com o uso de radioterapia ou quimioterapia, nestes casos indica-se para controle e acompanhamento a uroanálise seriada e a cistoscopia, para assim evitar as complicações como ulceração na parede da bexiga, estreitamento uretral e capacidade reduzida da bexiga associados aos sintomas de febre, dores lombares e vômitos (1).

Aspectos clínicos e laboratoriais

Manifestações irritativas vesicais de caráter crônico sugestivas de ITU, como disúria, polaciúria e urgência miccional com leucocitúria, mas acompanhadas de culturas de urina negativas, podem relacionar-se com diferentes patologias conforme Quadro 1 (4).

Quadro 1. Causas de disúria e polaciúria crônicas em uroculturas negativas

Infeciosas	Neoplásicas
Glândulas periuretrais	Tumor vesical infiltrativo
Prostatites	Carcinoma <i>in situ</i> vesical
Candidíase	Outras

Uretrites (<i>Neisseria</i> , <i>Clamídia</i> , <i>Trichomonas</i> , <i>Herpes</i>)	Hipoestrogenismo
Tuberculose vesical	Bexiga neurogênica
Inflamatórias	Bexiga miogênica
Cistite e Nefrite Intersticial	Ciclofosfamida
Litíase vesical e ureteral	Vaginismo
Pericistite (diverticulite, anexite)	
Radioterapia	
Endometriose	

Fonte: Adaptado de Dalloglio *et al.*, 2005.

As patologias citadas no Quadro 1, levam a situações em comum na rotina laboratorial associadas a SU com presença de leucocitúria e bacteriúria negativa. A cistite intersticial (CI) é uma inflamação crônica da bexiga, geralmente muito intensa, cuja causa é desconhecida e que acomete principalmente mulheres com idade entre 20 e 60 anos. Apresenta os sintomas da SU associados à dor abdominal ou na região perineal. O diagnóstico é feito baseado nos sintomas, cistoscopia da bexiga e exclusão de outras doenças urológicas que possam causar sintomas semelhantes. Em muitos casos a biópsia da bexiga é útil, mas por vezes não é conclusiva (5) (6). Outra situação que se deve levar em conta, é a presença de nefrite intersticial aguda (NIA) ou nefrite túbulo-intersticial aguda resultante de lesão imuno-mediada, podendo ser idiopática ou resultar da exposição a alguma medicação, infecções virais, bacterianas ou outras, neoplasias e doenças imunes, e que corresponde a cerca de 5% dos casos de insuficiência renal aguda (IRA). A NIA induzida por droga apresenta como causa mais comum o uso de antiinflamatórios não esteroidais (AINE), sendo que não é dose-dependente e somente alguns indivíduos desenvolvem NIA associada a manifestações de hipersensibilidade e pode ocorrer recorrência quando há re-exposição à droga suspeita. Nestes casos, a uroanálise apresenta um grande auxílio significativo. O parcial de urina dos pacientes com NIA apresenta, além dos achados comuns da SU como leucocitúria com ausência de bactérias, proteinúria em graus variados, geralmente <1g/24h, com ou sem cilindros leucocitários, hematúria presente (raramente cilindros hemáticos), sendo que os cilindros granulosos ou céreos não são achados específicos. Com o uso da coloração de Hansel, pode-se pesquisar a presença de eosinofilúria, de grande interesse visto que apresenta um valor preditivo positivo de 38% (7, 8).

Diagnóstico Diferencial

A grande maioria das infecções do trato urinário (ITU) é causada por bactérias, mas também pode ser provocada por vírus, fungos e outros microrganismos, sendo que a *Escherichia coli* representa 80-95% dos casos. Na SU, o paciente apresenta sintomas semelhantes aos das ITU, como dor, ardência, urgência para urinar e polaciúria, mas os exames de cultura não mostram bactérias na urina (1).

Além das ITU, deve-se realizar o diagnóstico diferencial da SU com infecções do trato genital feminino ou masculino (IG). Grande parte destas infecções pode ser

assintomática ou causar sintomas muito discretos, que podem passar despercebidos pelo paciente. Devido à grande variedade de agentes possíveis de serem pesquisados, faz-se necessário que a suspeita clínica seja bem direcionada para que os exames laboratoriais mais indicados sejam realizados (9).

Apesar dos achados clínicos e laboratoriais da SU serem mais comuns em mulheres, não se descarta a possibilidade de acometer pacientes masculinos (1). Em relação às infecções urinárias na população masculina, vários aspectos importantes diferem da população feminina, como a epidemiologia, a patofisiologia, o diagnóstico e o tratamento. Portanto, devem-se estabelecer critérios para a avaliação diagnóstica e laboratorial da bacteriúria masculina ou ausência desta na presença de leucocitúria. A maioria dos homens com ITU apresenta anormalidade funcional ou anatômica do trato genitourinário. A hipertrofia prostática e a instrumentação genitourinária são as maiores causas de infecções em homens, sendo que os sinais e sintomas de bacteriúria em homens e mulheres são muito similares. O diagnóstico em amostra coletada de forma adequada com assepsia se dá com um crescimento de 10^5 ou mais unidades formadoras de colônias (UFC)/mL, ocasionadas por uma ou mais espécies de bactérias. A *Escherichia coli* é o uropatógeno mais frequente, mas outras bactérias gram negativas ou gram positivas podem ser responsáveis por até metade dos casos. O tratamento por dose única não é apropriado e homens com infecções recorrentes requerem pelo menos seis semanas de tratamento adequado. A bacteriúria assintomática é comum em homens mais velhos e usualmente não necessita de tratamento. Embora sejam frequentes as anormalidades do trato genitourinário em pacientes homens com bacteriúria, uma avaliação diagnóstica mais detalhada é importante apenas em homens mais jovens e em homens com infecções recorrentes ou mais complicadas (10).

Diagnóstico Laboratorial da SU

O diagnóstico laboratorial da SU baseia-se principalmente nos resultados da bacterioscopia da urina, urocultura e no exame parcial de urina (urina tipo I). Faz-se importante o diagnóstico diferencial entre a SU e as infecções do trato urinário, do trato genital e da próstata, sendo que os Quadros 2 e 3 mostram as principais características destas patologias encontradas nos exames laboratoriais de rotina da urina, e os detalhes de cada um destes exames encontram-se descritos abaixo:

Bacterioscopia da Urina

Laboratorialmente, a bacterioscopia da urina e a urocultura apresentam resultados negativos, ou seja, em cerca de um terço dos casos não há bacteriúria significativa. Caracteriza-se pela ausência de bactérias com presença de leucócitos (Figura 1).

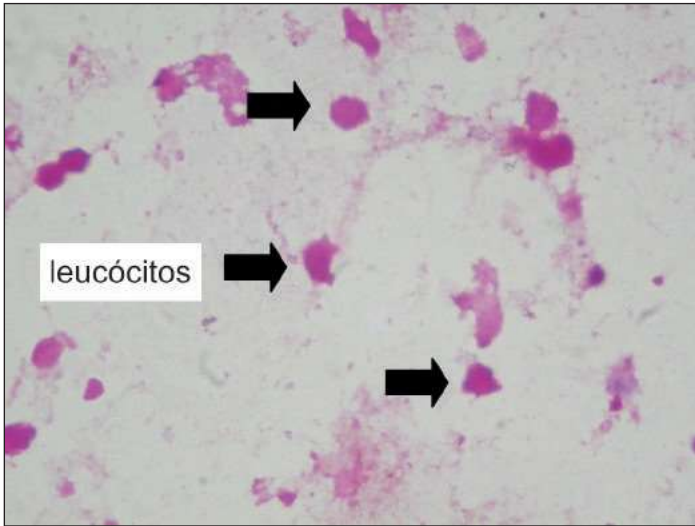


Figura 1. Bacterioscopia de urina em aumento de 1000 X (coloração de Gram)

Urocultura

Como já comentado, na grande maioria dos casos o paciente tem sintomas como disúria e polaciúria, porém com urocultura negativa. Frequentemente a SU está associada a microrganismos não habituais tais como: *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma*, *Gonococo*, *Trychomonas*, *Cândida* e *Mycobacteria* (VIEIRA-NETO, 2003).

Uroanálise

A uroanálise desta patologia pode ser beneficiada por três tipos de coleta de urina, explicadas a seguir:

Amostra de Jato Intermediário: Na rotina, o parcial de urina deve ser realizado em amostra de urina coletada com assepsia da genitália externa e descarte do primeiro jato urinário. Quando não for possível coletar a primeira urina da manhã, pode ser coletada urina aleatória ou ao acaso, desde que o paciente tenha retido a urina na bexiga por pelo menos 2 horas, assim concentrando os elementos urinários. Caso tenham sido utilizados 10 ml de urina, a amostra deve ser centrifugada em baixa rotação por 5 minutos e concentrada 1:10 para obter um sedimento de 1,0 ml (11). Na SU, observam-se características importantes na microscopia à fresco do sedimento urinário como a ausência de bacteriúria, o que auxilia no diagnóstico diferencial de outras patologias do trato genitourinário. Considera-se leucocitúria significativa a presença de 10 ou mais leucócitos por campo microscópico em aumento de 400X ou 10.000 ou mais leucócitos por ml em contagem em câmara de Neubauer. Nestes casos de SU, a leucocitúria significativa é sempre presente, devido ao processo inflamatório uretral,

com ou sem hematúria. Quando presente, a hematúria é isomórfica e geralmente há ausência de cilindros. No exame químico, pode ou não ser detectada a presença de proteínas. Os pacientes com SU devem ser monitorados por meio da uroanálise seriada, pois apesar da indicação cirúrgica ser rara, é indicado quando o paciente apresenta retenção urinária grave ou hematúria (Figura 2) (1).

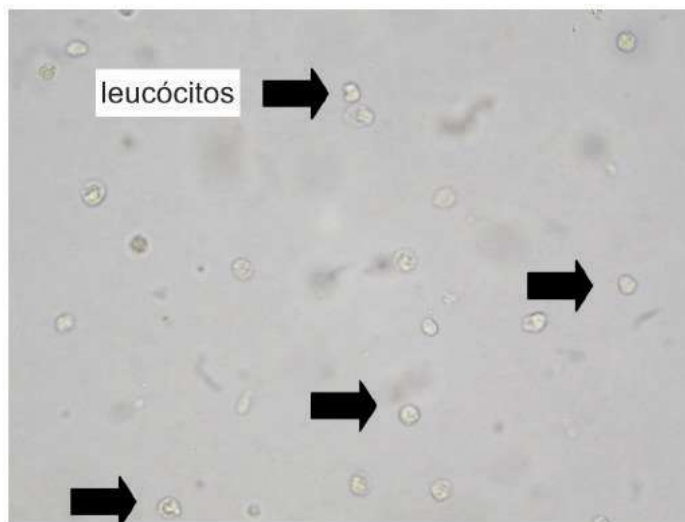


Figura 2. Exame à fresco de urina em aumento de 400X.

Coleta dos três frascos ou Prova de Valentine: Este procedimento é utilizado para o diagnóstico diferencial da SU ou infecções masculinas do trato urinário com infecções de próstata. Para se realizar esta técnica, a urina emitida antes do jato médio não é descartada e coletada em recipiente estéril. A seguir, massageia-se a próstata para que suas secreções passem para a urina restante que deve ser coletada num terceiro recipiente estéril. Deve-se realizar cultura quantitativa nas três amostras, sendo que a segunda e a terceira são submetidas à microscopia do sedimento urinário. Nos casos de infecção de próstata, na terceira amostra, a contagem de leucócitos e de bactérias por campo em aumento de 400x, será dez vezes maior que na primeira. A segunda amostra é utilizada para excluir infecções do trato urinário, e se der resultado positivo, invalida a terceira amostra em virtude da contaminação da urina proveniente das áreas infectadas (11).

Coleta do Primeiro Jato Urinário: Este procedimento é utilizado para o diagnóstico diferencial da SU com infecções do trato genital feminino ou masculino, visto que podem ocorrer diversas doenças, de etiologia bacteriana, fúngica, parasitária ou viral. O ideal para esta coleta é que o volume de amostra não ultrapasse 10 mL de urina, sendo assim, uma boa orientação ao paciente é indispensável. Realiza-se a centrifugação da amostra a 1500 rpm por 5 minutos, retira-se 9 mL do sobrenadante e semeia-se o sedimento com alça calibrada de 0,01mL em

Agar Sangue e Agar Thayer Martin, sendo que a interpretação se faz da seguinte maneira: alça de 0,01 mL (1:100)- 1 colônia = $100 \div 10$ (concentração da amostra por centrifugação) ou 10 UFC/mL (9). Com o restante do sedimento faz-se a contagem de leucócitos por campo microscópico em aumento de 400X, sendo que valores acima de 10 leucócitos por campo, com cultura de primeiro jato negativa, excluem infecções genitais e sugere-se SU se a bacterioscopia e a cultura de urina de jato intermediário forem negativas.

Quadro 2 - Principais achados laboratoriais em bacterioscopia de urina e urocultura para o diagnóstico diferencial entre síndrome uretral (SU), Infecções do trato urinário (ITU), infecções genitais (IG) e Prostatite (P).

Exame	SU	ITU	IG	P
Bacterioscopia urina	negativa	positiva	variável*	negativa
Urocultura	negativa	positiva	negativa	negativa
Cultura de secreção genital	negativa	negativa	variável	negativa

*Variável dependendo do agente etiológico

Quadro 3 - Principais achados laboratoriais em Contagem de Leucócitos para o diagnóstico Diferencial entre Síndrome Uretral (SU), Infecções do Trato Urinário (ITU), Infecções Genitais (IG) e prostatite (P).

Contagem de Leucócitos	SU	ITU	IG	P
Primeiro jato (urina)	leucocitúria significativa	*	leucocitúria significativa	*
Jato intermediário (urina)	leucocitúria significativa	leucocitúria significativa	*	*
Terceiro jato (urina)	*	*	*	leucocitúria significativa

*Não é pertinente ou sem leucocitúria significativa

Tratamento e Novas Perspectivas

O tratamento utilizado nos pacientes com SU está focado no manejo dos sintomas e não na cura. Recomenda-se que sejam evitados líquidos que irritam a bexiga, como o álcool, sucos cítricos ou caféina. Os medicamentos utilizados são anticolinérgicos, que melhoram a contração e o esvaziamento da bexiga. Relaxantes musculares como o diazepam e os bloqueadores alfa-1 podem ser usados para reduzir a frequência e os sintomas de urgência em urinar. As intervenções cirúrgicas são raras e utilizadas quando os pacientes apresentam retenção urinária grave. Encontra-se

em estudo um tratamento para a SU utilizando estímulos elétricos para fatigar as contrações espasmódicas musculares da bexiga, assim limitando os sintomas de frequência e de urgência em urinar. Os exercícios de reeducação da bexiga para restabelecer um padrão de micção completa e regular são obtidos por meio de um planejamento de horários para urinar, esforçando-se para reter a urina entre as micções. Os exercícios para fortalecer o músculo pélvico, utilizados em pacientes com incontinência urinária por stress, podem beneficiar as pessoas que sofrem de SU recidivante, aliviando-lhes os sintomas de urgência (12), (13).

REFERÊNCIAS

1. Alan J. Wein LRK, Andrew C. Novick, Alan W. Partin, Craig A. Peters., editor. Campbell-Wallsh Urology. 9 ed. ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2007.
2. Krieger JN, Hooton TM, Brust PJ, Holmes KK, Stamm WE. Evaluation of chronic urethritis. Defining the role for endoscopic procedures. Arch Intern Med. 1988 Mar;148(3):703-7.
3. Hooton TM, Roberts MC, Roberts PL, Holmes KK, Stamm WE, Kenny GE. Prevalence of Mycoplasma genitalium determined by DNA probe in men with urethritis. Lancet. 1988 Feb 6;1(8580):266-8.
4. Marcos Dalloglio MS, Luciano João Nesrallah, Valdemar Ortiz, editor. Guia de Medicina Ambulatorial e Hospitalar de Urologia: Universidade Federal de São Paulo; 2005.
5. Pool TL. Interstitial cystitis: clinical considerations and treatment. Clin Obstet Gynecol. 1967 Mar;10(1):185-91.
6. Parsons JK, Parsons CL. The historical origins of interstitial cystitis. J Urol. 2004 Jan;171(1):20-2.
7. Clarkson MR, Giblin L, O'Connell FP, O'Kelly P, Walshe JJ, Conlon P, *et al.* Acute interstitial nephritis: clinical features and response to corticosteroid therapy. Nephrol Dial Transplant. 2004 Nov;19(11):2778-83.
8. Alpers CE. The evolving contribution of renal pathology to understanding interstitial nephritis. Ren Fail. 1998 Nov;20(6):763-71.
9. Carmen Paz Oplustil CMZ, Nna Reiko Tobouti, Sumiko Ikura Sinto. Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica. 2004;2 ed.
10. Lipsky BA. Urinary tract infections in men. Epidemiology, pathophysiology, diagnosis, and treatment. Ann Intern Med. 1989 Jan 15;110(2):138-50.
11. Strasinger SK. Uroanálise e Fluidos Biológicos. 2000;3 ed.
12. Sandhu JS, Jaffe WI, Chung DE, Kaplan SA, Te AE. Decreasing endoscopic transurethral resection of the prostate surgical volume during graduate medical education training is associated with increased surgical adverse events. J Urol. Apr;183(4):1515-9.
13. Sandhu JS. Treatment options for male stress urinary incontinence. Nat Rev Urol. Apr;7(4):222-8.

11. INFECÇÕES URINÁRIAS RECORRENTES E/OU RECIDIVANTES

Jaime Luís Lopes Rocha

Introdução

As infecções do trato urinário (ITUs) recorrentes são comuns, especialmente nas mulheres, independente da faixa etária. Apesar de um problema comum na prática clínica diária, ainda se apresenta como um desafio ao médico, sem mencionar os custos e a grande morbidade impostos às pacientes.

A maioria dos novos episódios de ITUs que acometem uma paciente com histórico prévio de ITU representa realmente uma nova infecção (recorrência), sendo uma pequena parcela causada pela persistência da infecção prévia (recidiva). Esta diferenciação não é somente didática, mas prática. Pacientes com recidiva merecem investigação uro-ginecológica mais extensa e tratamento prolongado.

Muitas vezes os médicos, e mesmo os pacientes e seus familiares, sentem-se obrigados a considerar a possibilidade de quadros de imunodeficiências nos pacientes que apresentam ITUs recorrentes. Entretanto, como regra geral, os pacientes que apresentam apenas ITUs, sem outros quadros infecciosos associados, na sua quase totalidade não apresentam fatores imunológicos. Alguns poucos, principalmente nos quadros recidivantes, podem apresentar fatores anatômicos, e a grande maioria não tem fatores identificados.

Epidemiologia

As ITUs estão entre as infecções bacterianas mais comuns. Dados do National Institute of Health (NIH) apontam até 8.000.000 de consultas médicas nos Estados Unidos, principalmente por cistite, e 100.000 internações por ano (principalmente pielonefrite)^{1,2}

Mesmo entre mulheres jovens, saudáveis, sem alterações anatômicas ou fisiológicas do trato urinário, ITUs não complicadas são comuns, acometendo mais de 20% das mulheres. Muitas não buscam atendimento médico e recebem os mais diversos tratamentos. Isso sem mencionar que parcela não desprezível dos episódios de ITU não complicados (cistites) são autolimitados.

Da mesma forma, a recorrência ocorre em até 1/3 das mulheres dentro de 6 meses do primeiro episódio. Um terceiro episódio acomete cerca de 2,7% das mulheres que tiveram o segundo episódio.^{3,4} São diversos os fatores associados com maior risco de recorrência, porém sua ocorrência costuma ser observada nos primeiros 3 meses após o episódio inicial.^{5,6}

Os dados de recorrência para infecções urinárias complicadas e pielonefrites recorrentes são mais escassos.

Patogenia

Os quadros de infecção urinária, conforme abordado em capítulos anteriores, têm sua origem principalmente na colonização periuretral de uropatógenos provenientes da microbiota gastrointestinal, ocorrendo a invasão ascendente das vias urinárias. Este fato não parece ser diferente nos quadros recorrentes.⁷

Para caracterizar uma ITU recorrente, a nova infecção deve ser causada por um agente diferente. Entretanto, como as infecções podem recorrer com o mesmo micro-organismo, é muito difícil sem ferramentas moleculares avançadas caracterizar os quadros como recorrentes ou recidivantes somente com este critério. Principalmente nos casos com *E. coli*, o micro-organismo responsável pela infecção inicial pode persistir na microbiota fecal apesar de ter sido eliminado do trato urinário. De tal forma, pode haver nova colonização e infecção.⁸

Em termos clínicos e práticos, caracteriza-se arbitrariamente o quadro como recidivante se a mesma bactéria é isolada dentro de 2 semanas do fim do tratamento. De tal forma, os episódios serão considerados recorrentes (nova infecção) se houver um intervalo superior a 2 semanas, mesmo com o isolamento do mesmo micro-organismo. Outra forma prática de caracterizar recorrência, descartando persistência (recidiva), é a comprovação de uma cultura negativa entre os 2 episódios, independente do intervalo.

Fatores de Risco

Muitos são os fatores que aumentam os riscos de ITUs recorrentes e recidivantes que devem ser investigados, pois podem impactar na conduta médica.⁹ Mulheres com ITUs recorrentes apresentam maior tendência para colonização vaginal recorrente por uropatógenos, mesmo durante períodos assintomáticos. Entre outros fatores, parece haver maior aderência bacteriana à mucosa urogenital.^{10, 11, 12}

Fatores genéticos parecem explicar esta situação, nos casos em que não existem outros fatores anatômicos ou sexuais. Os fenótipos não secretores de antígenos sanguíneos ABO e P1 são encontrados mais frequentemente entre as meninas e mulheres com ITUs recorrentes e recidivantes.^{13, 14} Outros fatores como receptores de interleucinas têm sido avaliados.

Entre os fatores mais evidentemente associados com recorrência de ITU estão certamente questões comportamentais ligadas às práticas sexuais. Relação sexual recente e frequência das relações sexuais, além do uso de espermicidas em diafragmas (também associados com preservativos) são fatores preditores independentes de risco.^{15, 16, 17}

Outros fatores de risco para ITU e também para ITU recorrente são: história familiar; ITU antes dos 15 anos de idade; novo parceiro sexual; uso recente de antibiótico.^{17, 18}

Não existem evidências suficientes para serem considerados os seguintes itens como fatores de risco: urinar ou não após relação sexual, duchas higiênicas, obesidade, uso de banheiras, manter a bexiga repleta por períodos prolongados. Entre-

tanto, não raramente recomendam-se mudar algumas destas situações no pacote de medidas preventivas.¹⁷

Fatores anatômicos e fisiológicos devem ser procurados principalmente nos quadros recorrentes de crianças (Ver capítulo de ITU em crianças). Entretanto existem alguns dados que sugerem que mulheres adultas com ITU recorrente também podem apresentar uma menor distância entre a uretra e o ânus.

Por outro lado, fatores fisiológicos e anatômicos ligados à menopausa são reconhecidos como fatores de risco para ITU recorrente. Destacam-se: Incontinência urinária, cistocele, resíduo pós-miccional.¹⁹ Da mesma forma que fatores obstrutivos ligados a doenças prostáticas estão relacionados a ITUs recorrentes e recidivantes em homens (Ver capítulo de ITU em Idosos), sem mencionar o uso de catéteres urinários.

Além dos fatores ligados ao hospedeiro, sempre existem fatores ligados aos patógenos, entretanto estes fatores não foram ligados à recorrência das ITUs.

Avaliação complementar

Como regra geral, pode-se dizer que avaliações urológicas e imunológicas em mulheres com ITUs recorrentes são desnecessárias. Estudos com urografia excretora e cistoscopia de rotina apontam raras alterações significativas²⁰ para justificar seu uso rotineiro. Mesmo mulheres jovens com pielonefrite não têm necessidade de realizar ecografia de vias urinárias, excetuando-se casos com resposta lenta ao tratamento.²¹

Avaliações adicionais devem ser consideradas para homens e para casos selecionados baseados em uma anamnese criteriosa. Principalmente os casos que forem caracterizados como recidiva (persistência) merecem pronta investigação.

Um exemplo a se considerar são as ITUs recorrentes e recidivantes por *Proteus* spp. que podem estar habitualmente associadas com a presença de cálculos. Outra situação são os casos de elevada recorrência em mulheres sem fatores de risco ou hematúria persistente após tratamento da ITU.

Caso sejam necessárias avaliações adicionais recomenda-se iniciar com ecografia das vias urinárias ou tomografia, para avaliar principalmente a presença de cálculos ou outros fatores obstrutivos.

Prevenção

Não cabe a este capítulo rever as medidas e estratégias de prevenção. Entretanto, destacam-se como medidas eficazes para se evitar o uso desnecessário de antibióticos:

1. Contraceptivos: Mulheres sexualmente ativas que usam espermicidas (principalmente associados com diafragmas) devem rever seu comportamento sexual e sua escolha de método anticonceptivo.
2. Aumentar o consumo de líquido / Micção pós-coito: Apesar de poucas evidências, é aceitável sua recomendação rotineira por se tratar de condutas não invasivas, baratas e de fácil aplicação.

3. Consumo de suco de cranberry: Como a fruta não está disponível facilmente no Brasil, troca-se por outras frutas cítricas. As evidências são questionáveis, porém há meta-análise favorável ao seu uso.²²

Antibioticoprofilaxia

O uso de antibióticos profiláticos para mulheres jovens com ITUs recorrentes é altamente eficaz mas deve ser feito de forma muito bem ponderada, por não ser esta prática infalível ou isenta de riscos.²³ Não raramente encontram-se mulheres tomando antibióticos profiláticos em dose inadequada, por tempo demasiadamente prolongado e/ou sem indicação. De forma muito simplificada, recomenda-se este tipo de profilaxia para as mulheres com mais de 2 episódios de ITU sintomática em 6 meses ou .3 em 12 meses. Deve-se individualizar o uso de profilaxia contínua ou somente pós-coito, conforme a história da paciente.

Os dados para antibioticoprofilaxia em crianças são menos contundentes pela falta de estudos com desenho adequado.²⁴

As melhores opções e os melhores regimes terapêuticos também devem ser individualizados, baseando-se, entre outros em: perfil de sensibilidade do micro-organismo isolado nas ITUs prévias, alergias, intolerâncias, custo...

Um ponto fundamental é confirmar que a paciente apresenta urocultura negativa antes do início de qualquer regime profilático.

Outras medidas profiláticas

Mulheres pós-menopausa devem ser avaliadas pelo seu ginecologista, pois habitualmente o uso de cremes vaginais à base de estriol reduzem a recorrência significativamente.²⁵

O uso de autotratamento orientado não é exatamente uma medida profilática, mas tem sido usado com bons resultados em casos selecionados.²⁶

Uso de probióticos e imunoestimuladores também vem sendo avaliado, enquanto não surgem vacinas eficazes.

Tratamento

O tratamento das ITUs recorrentes segue os mesmos conceitos de tratamento de um episódio isolado, os quais serão abordados em outros capítulos.

Cabe ressaltar o desafio crescente, especialmente nestes casos recorrentes, das elevadas taxas de resistência identificadas na comunidade. Como exposto, mesmo a primo-infecção vem apresentando aumento gradual nas taxas de falha terapêutica devido à resistência bacteriana.

Outro ponto de destaque são as ITUs caracterizadas como recidivantes. Toda vez que uma ITU é caracterizada como tal, significa que houve persistência da infecção e, portanto, além de investigar fatores anatômicos, deve-se considerar tratamento prolongado (4 a 6 semanas).

REFERÊNCIAS

1. National Institutes of Health. The National Kidney and Urologic Diseases Advisory Board 1990 long-range plan—window on the 21st century. Bethesda, MD: National Institutes of Health, 1990; NIH publication no.90-583.
2. Johnson JR, Stamm WE. Urinary tract infections in women: diagnosis and treatment. *Ann Intern Med* 1989;111:906–17.
3. Foxman, B. Recurring urinary tract infection: incidence and risk factors. *Am J Public Health* 1990; 80:331.
4. Foxman, B, Gillespie, B, Koopman, J, *et al.* Risk factors for second urinary tract infection among college women. *Am J Epidemiol* 2000; 151:1194.
5. Kraft, JK, Stamey, TA. The natural history of symptomatic recurrent bacteriuria in women. *Medicine (Baltimore)* 1977; 56:55.
6. Stamm, WE, McKeivitt, M, Roberts, PL, White, NJ. Natural history of recurrent urinary tract infections in women. *Rev Infect Dis* 1991; 13:77.
7. Gupta, K, Stamm, WE. Pathogenesis and management of recurrent urinary tract infections in women. *World J Urol* 1999; 17:415.
8. Russo, TA, Stapleton, A, Wenderoth, S, *et al.* Chromosomal restriction fragment length polymorphism analysis of *Escherichia coli* strains causing recurrent urinary tract infections in young women. *J Infect Dis* 1995; 172:440.
9. Warren JW, Abrutyn E, Hebel JR, Johnson JR, Schaeffer AJ, Stamm WE. Guidelines for Antimicrobial Treatment of Uncomplicated Acute Bacterial Cystitis and Acute Pyelonephritis in Women. *CID* 1999;29 745:758.
10. Pfau, A, Sacks, T. The bacterial microbiota of the vaginal vestibule, urethra and vagina in premenopausal women with recurrent urinary tract infections. *J Urol* 1981; 126:630.
11. Schaeffer, AJ, Jones, JM, Falkowski, WS, *et al.* Variable adherence of uropathogenic *Escherichia coli* to epithelial cells from women with recurrent urinary tract infection. *J Urol* 1982; 128:1227.
12. Schaeffer, AJ, Jones, JM, Dunn, JK. Association of vitro *Escherichia coli* adherence to vaginal and buccal epithelial cells with susceptibility of women to recurrent urinary-tract infections. *N Engl J Med* 1981; 304:1062.
13. Hooton, TM, Roberts, PL, Stamm, WE. Effects of recent sexual activity and use of a diaphragm on the vaginal micromicrobiota. *Clin Infect Dis* 1994; 19:274.
14. Sheinfeld, J, Schaeffer, AJ, Cordon-Cardo, C, *et al.* Association of the Lewis blood-group phenotype with recurrent urinary tract infections in women. *N Engl J Med* 1989; 320:773.
15. Hooton, TM, Scholes, D, Hughes, JP, *et al.* A prospective study of risk factors for symptomatic urinary tract infection in young women. *N Engl J Med* 1996; 335:468.
16. Fihn, SD, Boyko, EJ, Chen, CL, *et al.* Use of spermicide-coated condoms and other risk factors for urinary tract infection caused by *Staphylococcus sapro-*

- phyticus. *Arch Intern Med* 1998; 158:281.
17. Scholes, D, Hooton, TM, Roberts, PL, *et al.* Risk factors for recurrent UTI in young women. *J Infect Dis* 2000; 182:1177.
 18. Smith, HS, Hughes, JP, Hooton, TM, *et al.* Antecedent antimicrobial use increases the risk of uncomplicated cystitis in young women. *Clin Infect Dis* 1997; 25:63.
 19. Raz, R, Gennesin, Y, Wasser, J, *et al.* Recurrent urinary tract infections in postmenopausal women. *Clin Infect Dis* 2000; 30:152.
 20. Fowler, JE Jr, Pulaski, ET. Excretory urography, cystography, and cystoscopy in the evaluation of women with urinary-tract infection: a prospective study. *N Engl J Med* 1981; 304:462.
 21. Johnson, JR, Vincent, LM, Wang, K, *et al.* Renal ultrasonographic correlates of acute pyelonephritis. *Clin Infect Dis* 1992; 14:15.
 22. Jepson Ruth G, Craig Jonathan C. Cranberries for preventing urinary tract infections. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. In: *The Cochrane Library*, Issue 1, Art. No. CD001321. DOI:10.1002/14651858.CD001321.pub2
 23. Albert Xavier, Huertas Isabel, Pereiro Inmaculado, Sanfélix José, Gosalbes Victoria, Perrotta Carla. Antibiotics for preventing recurrent urinary tract infection in non-pregnant women. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. In: *The Cochrane Library*, Issue 1, Art. No. CD001209. DOI:10.1002/14651858.CD001209.pub3
 24. Williams Gabrielle, Wei Lei, Lee Anna, Craig Jonathan C. Long-term antibiotics for preventing recurrent urinary tract infection in children. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. In: *The Cochrane Library*, Issue 1, Art. No. CD001534. DOI: 10.1002/14651858.CD001534.pub4
 25. Raz, R, Stamm, WE. A controlled trial of intravaginal estriol in postmenopausal women with recurrent urinary tract infections. *N Engl J Med* 1993; 329:753.
 26. Gupta, K, Hooton, TM, Roberts, PL, Stamm, WE. Patient-initiated treatment of uncomplicated recurrent urinary tract infections in young women. *Ann Intern Med* 2001; 135:9.

12. PROSTATITES

Emerson Danguy Cavassin

Cenário

As Prostatites são um conjunto de quadros clínicos que se manifestam com uma combinação de sintomas urinários irritativos ou obstrutivos e dor perineal. Afetam principalmente homens na fase adulta e em menor número meninos pré-adolescentes. Dentre as classificações clínicas alguns quadros têm etiologia bacteriana e outros, os mais frequentes, são resultado de uma combinação de fatores inflamatórios não infecciosos ainda não totalmente compreendidos, espasmos da musculatura do diafragma urogenital ou ambos. O diagnóstico é essencialmente clínico e pode ser auxiliado pela microscopia e cultura da urina obtida antes e após massagem prostática. O tratamento é realizado com antimicrobianos e as etiologias não bacterianas são tratadas com banhos de assento aquecidos, relaxantes musculares e drogas anti-inflamatórias ou ansiolíticos.

A próstata

A próstata é um dos órgãos do aparelho reprodutor masculino, tem o tamanho e o formato de uma noz e fica localizada na base da bexiga envolvendo uma porção do canal uretral, próxima ao reto. No adulto a próstata é dividida em quatro zonas distintas: periuretral, central, transicional e periférica. Enquanto os carcinomas acontecem preferencialmente na zona periférica, nas inflamações prostáticas a distribuição entre as diferentes zonas não é bem definida.

A próstata é o órgão responsável pela produção do líquido prostático que representa um terço do volume total do líquido seminal. Na composição do sêmen temos quatro frações provenientes das a) glândulas bulbouretrais e uretrais, b) testículos e epidídimos, c) próstata e d) vesículas seminais. Cada fração contribui de algum modo para que os espermatozoides mantenham sua viabilidade e consigam alcançar a fecundação do óvulo. Os espermatozoides amadurecem no epidídimo, após produção nos testículos, e se misturam ao líquido viscoso produzido pelas vesículas seminais que mantém o aporte de frutose e outros nutrientes para garantir a viabilidade dos espermatozoides. O líquido prostático contém fofafase acida (pH 6,4) e enzimas proteolíticas que agem sobre o líquido das vesículas seminais provocando a coagulação e liquefação do sêmen que acontece em torno de 30 minutos após a ejaculação.

As defesas naturais que previnem prostatites incluem o fluxo urinário, a ejaculação e a presença de um polipeptídeo de ação antibacteriana rico em zinco com efeito sobre micro-organismos gram-positivos e gram-negativos. A próstata é o órgão com maior nível de zinco quando comparado aos demais. Espermina e espermidina também são fatores de defesa com espectro de ação principalmente sobre bactérias gram-negativas.

Epidemiologia

A epidemiologia das prostatites é limitada, a prevalência mundial parece girar em torno de 2% a 10% da população masculina¹. Baseado em dados do National Ambulatory Medical Care Surveys (NAMCS), Collins *et al.*² encontraram que prostatite foi o diagnóstico em 2 milhões de consultas médicas ao ano no período de 1990 a 1994. Sendo o diagnóstico urológico mais comum em homens com menos de 50 anos e o terceiro em homens acima dos 50, perdendo para hiperplasia prostática benigna e câncer de próstata.

Entre 600 homens diagnosticados com prostatite nos Estados Unidos, 5% foram classificados como prostatite bacteriana, 64% como prostatite não bacteriana e 31% como síndrome da dor pélvica crônica (SDPC). Embora a prostatite bacteriana aguda seja menos frequente, aproximadamente 5% evolui para prostatite bacteriana crônica.³

A incidência para cada categoria é estimada em 1,26 (tipo I/II), 3,30 (tipo III) e 0,33 (tipo IV), respectivamente, por 1.000 homens/ano⁴. A SDPC é mais comum em homens jovens de meia idade, com pico de incidência na faixa de 35 a 45 anos.⁵

Classificação

Existem importantes variações clínicas descritas para as prostatites, sendo necessária a definição de critérios para a classificação dos diversos quadros. Atualmente a classificação das prostatites está baseada na característica aguda ou crônica do quadro, na origem microbiana ou asséptica, inflamatória ou não inflamatória e na presença ou ausência de sintomas.

Anteriormente, a classificação das prostatites consistia em quatro grupos: prostatite aguda, prostatite bacteriana crônica, prostatite não bacteriana e prostatodínea.⁶ A partir de 1995 o Instituto Nacional de Saúde dos Estados Unidos (*National Health Institute*, NHI)⁷ propôs uma nova classificação em quatro categorias com subcategorias (Quadro 1).⁸ A principal e nova categoria é a SDPC que está dividida em inflamatória (IIIA) e não inflamatória (IIIB). A prostatite não bacteriana se passou para categoria IIIA e a prostatodínea, para IIIB.

Quadro 1- Classificação das prostatites do Instituto Nacional de Saúde dos Estados Unidos⁸

Classificação do NHI	Descrição
Categoria I – Prostatite bacteriana aguda	Infecção aguda da glândula prostática (<i>E. coli</i> , <i>Proteus</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Serratia</i> <i>Pseudomonas</i> etc.)
Categoria II – Prostatite bacteriana crônica	Infecção crônica da glândula prostática e presença de bactérias demonstráveis
Categoria III – Prostatite não bacteriana crônica / Síndrome da dor pélvica crônica (SDPC)	Inflamação crônica da glândula prostática (ausência de bactérias demonstráveis e sintomas presentes por três meses)
Categoria IIIA – SDPC Inflamatória	Leucócitos aumentados no sêmen, na secreção prostática e na urina
Categoria IIIB – SDPC não inflamatória	Ausência de aumento de leucócitos no sêmen, na secreção prostática e na urina (prostatodínia)
Categoria IV – Prostatite Inflamatória Assintomática	Ausência de sintomas e evidência de inflamação na biópsia prostática ou secreções

Categoria I - Prostatite bacteriana aguda

Definições

A prostatite bacteriana aguda é única categoria que apresenta um quadro clínico muito sugestivo devido ao processo inflamatório intenso. Assemelha-se ao quadro de infecção urinária no homem. É menos comum que os quadros de prostatite crônica, podendo ser secundária a quadros de uretrite, com a ascensão de micro-organismos da uretra; ou cistite, pelo refluxo de urina contaminada para os ductos prostáticos que se comunicam com a porção posterior da uretra. Outras origens possíveis de prostatite bacteriana aguda podem ser através do acesso direto à próstata de bactérias presentes no reto, via circulação linfática ou mesmo hematogênica. Acredita-se que possa estar relacionada a deficiências da atividade antibacteriana da secreção prostática, associada à carência de zinco na secreção⁹ e falta de anticorpos locais e sistêmicos. Sendo que cada paciente pode apresentar predomínio de um ou de mais fatores.

O agente etiológico de prostatite e abscesso prostático em aproximadamente 80% dos casos é *Escherichia coli*, também o principal agente das cistites e pielonefrites, seguido de outros bacilos gram-negativos entéricos e *Enterococcus* spp. em 5 a 10% das prostatites bacterianas. Outros micro-organismos gram-positivos e anaeróbios obrigatórios raramente causam prostatite bacteriana. *Staphylococcus aureus* pode ser descrito como agente de infecção resultante de cateterização prolongada, sendo observada em pacientes hospitalizados. Outros agentes ocasionais são *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella* spp., e raramente fungos (*Candida*, Coccidioides, *Histoplasma*) ou parasitas (*Trichomonas* spp.).

N. gonorrhoeae deve ser investigada em homens sexualmente ativos, tendo sido importante agente etiológico deste quadro no passado, na era pré-antimicrobiana. A participação de *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus saprophyticus* é questionável, pois são colonizantes da uretra anterior e normalmente representam contaminação da amostra, devendo ser valorizados somente quando isolado o mesmo agente em culturas consecutivas.^{10,11} *E. coli* é o principal agente formador de biofilme na glândula prostática, o que dificulta sobremaneira o tratamento do quadro infeccioso, podendo, inclusive, estar associado a culturas negativas e confundir o quadro clínico com SDPC inflamatória.¹²

Quadro clínico

Na prostatite aguda o quadro costuma ser mais intenso, com presença de mal estar geral, febre, calafrios, mialgias, dor abdominal, na região do períneo e sacro, sintomatologia miccional de disúria, urgência, polaciúria e nictúria que podem ser acompanhados de descarga uretral, diminuição da libido e ejaculação dolorosa. O edema da glândula prostática comprime a uretra levando a graus variados de dificuldade miccional ou mesmo retenção vesical. Uma complicação pouco comum, mas descrita principalmente entre homens na faixa de 50 a 70 anos é a formação de abscesso prostático. Outros fatores associados incluem imunossupressão, diabetes, manipulação uretral e uso prolongado de catéter. Deve-se suspeitar da formação de abscesso quando há piora clínica após leve melhora com introdução de tratamento antimicrobiano ou a presença de massa flutuante na glândula prostática. Sendo confirmado com ultrassonografia transretal ou tomografia não contrastada da pelve. Outras complicações descritas na prostatite bacteriana aguda são a evolução para prostatite bacteriana crônica (5% dos casos), sepsis, pielonefrite e epididimite.^{13,14}

Diagnóstico

O diagnóstico da prostatite bacteriana aguda é baseado principalmente em achados clínicos, podendo ser auxiliado pela análise citológica (sedimento urinário) e bacteriológica (cultura) da urina e líquido prostático. Ocasionalmente, o diagnóstico etiológico pode ser realizado através de hemocultura positiva.

A palpação prostática revela uma glândula aumentada e com textura incomum ao toque. Deve-se evitar a massagem na vigência de prostatite bacteriana aguda e principalmente na vigência de quadro febril com o objetivo de se prevenir complicação como bacteremia secundária. Da mesma maneira, deve-se evitar a cateterização urinária destes pacientes.

A concentração do antígeno prostático específico (PSA) apresenta-se elevada mas não deve ser usada como critério de triagem para prostatite bacteriana aguda.

Para se fazer a distinção entre as prostatites é necessário avaliar o jato médio urinário e, quando possível, o líquido prostático e a urina após massagem (ver Diagnóstico de prostatite bacteriana crônica).

O diagnóstico por imagem pode ser feito por tomografia da pelve ou ultrassom transretal, mas devem ser reservados para os casos onde os resultados de cultura e sedimento urinário foram inconclusivos ou quando não se observa melhora após introdução da terapia apropriada com suspeita de abscesso prostático.

A biópsia de próstata é contraindicada na prostatite bacteriana aguda pelo risco de complicação ao se inocular o micro-organismo nos tecidos adjacentes, podendo, inclusive, resultar em bacteremia¹⁵.

Tratamento

A glândula prostática tem características que dificultam a difusão de drogas para o interior dos ácinos. O epitélio glandular apresenta uma membrana lipídica que limita os antimicrobianos hidrossolúveis e os que se ligam fortemente às proteínas plasmáticas, além disso o pH intra-acinar ácido permite boa difusão apenas de drogas básicas. São poucos os antibióticos que possuem tais características (não ionizado, lipossolúvel e com baixa ligação proteica) e que alcançam níveis eficientes. Preferencialmente são utilizados sulfametoxazol/trimetropim ou quinolonas, sempre por período prolongado, sendo recomendado pelo menos três semanas de tratamento para prevenção de complicações como prostatite bacteriana crônica e formação de abscesso prostático. Em situações de processo inflamatório agudo a difusão das drogas para o interior dos acinos prostáticos é facilitada e, dependendo da gravidade do processo infeccioso e da resposta terapêutica, deve-se utilizar cefalosporinas de terceira geração ou aminoglicosídeos em uma fase inicial do tratamento.

A terapia com alfa-bloqueadores também deve ser considerada, como a próstata é rica em alfa-receptores, o uso de bloqueadores pode reduzir o refluxo urinário intraprostático auxiliando no tratamento. A terapêutica de suporte pode incluir antitérmicos, analgésicos, laxativos para facilitar a evacuação, repouso e aumento na ingestão de líquidos. Em caso de obstrução deve-se drenar a bexiga por meio de cistostomia por punção introduzida sob anestesia local, evitando-se assim qualquer manipulação uretral.

O prognóstico nos casos de boa resposta inicial ao tratamento é favorável. Tem sido reportada redução da fertilidade nos casos que cursam com elevado inóculo bacteriano (>10⁶ UFC/ml).

Categoria II - Prostatite bacteriana crônica

Definições

Prostatite bacteriana crônica é caracterizada por infecções urinárias de repetição com um único organismo que persiste no líquido prostático por longo período. Os agentes etiológicos descritos são os mesmos da prostatite bacteriana aguda. O refluxo de urina, ainda que estéril, pode causar irritação química e desencadear quadro de fibrose tubular e formação de cálculos que levam à obstrução e estagnação de

líquidos. O material contido nestes dutos pode sofrer contaminação e desencadear quadros infecciosos crônicos. O quadro infeccioso costuma persistir porque os tratamentos antimicrobianos não penetram facilmente no tecido prostático, dependendo de difusão passiva para alcançarem o acino glandular.

Homens saudáveis apresentam elevados níveis de zinco na próstata, uma defesa antimicrobiana natural, enquanto que homens com prostatite bacteriana crônica têm baixos níveis prostáticos mesmo com níveis séricos normais. De modo interessante, a suplementação oral com zinco não eleva os níveis prostáticos deste elemento em homens com prostatite bacteriana crônica⁹.

Quadro clínico

Pacientes com prostatite bacteriana crônica normalmente apresentam um conjunto de queixas menos específicas. Os sintomas costumam ser mais sutis e incluem desconforto na região do períneo, testículos, reto e região lombar, além de sintomas irritativos ou obstrutivos do trato urinário inferior como urgência miccional, disúria, redução na força do jato urinário, nictúria inclusive com descarga uretral, dor ejaculatória, hematospermia e disfunção sexual.

Diagnóstico

O diagnóstico laboratorial definido historicamente como padrão ouro é o método dos quatro frascos. A técnica foi descrita por Meares e Stamey em 1968¹⁶ e se baseia na obtenção de diferentes amostras de urina e líquido seminal obtidos em sequência e analisados em conjunto, conforme descrito no Quadro 2.

O critério diagnóstico para prostatite bacteriana crônica consiste no resultado da cultura do líquido prostático (frasco 3) e/ou urina após massagem (frasco 4) com contagem superior a 5.000 UFC/ml. A contagem bacteriana no líquido prostático (frasco 3) e primeiro jato pós-massagem (frasco 4) devem ser 10 vezes maior que a do primeiro e segundo jatos pré-massagem (frascos 1 e 2). Quando as culturas dos frascos 1 e 2 forem negativas qualquer contagem de culturas positivas nos frascos 3 e 4 precisam ser avaliadas com atenção.

Quadro 2. Realização do teste de Meares e Stamey para o diagnóstico laboratorial de prostatite

	Coleta	Semeadura	Objetivo
Frasco 1	Primeiro jato urinário, 10 ml a 15 ml em frasco seco estéril	Semeadura quantitativa em meios enriquecidos como ágar sangue, ágar chocolate ou Thayer Martin ^a da urina concentrada (10x) por centrifugação (1500 rpm, 5 minutos) ^b	Representa os microorganismos presentes na uretra. Avalia a presença de uretrites
	Coleta	Semeadura	Objetivo

continua

continuação

Frasco 2	Jato médio, após coleta do primeiro jato o paciente despreza aproximadamente 50 ml de urina e colhe em frasco seco estéril 10 ml a 15 ml de urina, interrompendo a micção	Semeadura quantitativa da amostra não centrifugada em meios de cultura usuais no diagnóstico de cistite/pielonefrite, como MacConkey e ágar CLED ou meios cromogênicos. Seja em laminocultivo, seja com alça calibrada	Representa os micro-organismos presentes no trato urinário alto, diferencia quadros de cistite/pielonefrite.
Frasco 3	Obtenção do líquido prostático após massagem prostática, recolhida em frasco seco estéril. Não realizar a massagem em prostatite bacteriana aguda	Semeadura quantitativa em meios de cultura enriquecidos	Avalia a qualidade citológica e microbiológica do líquido prostático após limpeza da uretra pelos jatos iniciais. A presença de mais de 10 leucócitos por campo de 400x e/ou macrófagos contendo gordura na forma de células ovais, bem como cultura com contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) maior que as urinas pré-massagem (> 10 vezes) indicam processo inflamatório prostático.
Frasco 4	Após massagem, voltar a micção com a coleta em frasco seco estéril do terceiro jato urinário (primeiro após massagem)	Semeadura quantitativa em meios de cultura enriquecidos	Indica prostatite bacteriana crônica quando a contagem de UFC é maior que da urina de primeiro jato pré-massagem (> 10 vezes). Verificar a contagem de leucócitos na urina centrifugada em aumento de 400x, sendo significativa a presença de mais de 10 leucócitos por campo.

^a Podem ainda ser investigados outros agentes como *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum/parvum*, *Chlamydia* e *Mycobacterium tuberculosis*

^b Utilizando alças de 10µl, o crescimento de 1 unidade formadora de colônia deve ser multiplicado por 10 para se definir o número final de UFC em decorrência da concentração por centrifugação (10x)

O teste dos 4 frascos é melhor avaliado quando a urina está estéril, ou seja, na ausência de cistite/pielonefrite. Na vigência de infecções urinárias concorrentes é indicado o uso de nitrofurantoína. Esta droga atinge boas concentrações no trato urinário alto não alcançando níveis intraprostáticos.

O teste de Meares-Stamey é de difícil execução para o paciente e a interpretação dos resultados é controversa, com limitações quanto a sua sensibilidade. Por estes motivos existe uma alternativa com a coleta em dois frascos^{17, 18}. Colhem-se apenas duas amostras de jato médio urinário, antes e após massagem prostática para

avaliação citológica e cultura. Faz-se o diagnóstico de prostatite bacteriana crônica na presença de leucócitos aumentados (> 10 por campo de 400x na urina centrifugada) e bactéria em contagem 10 vezes maior na amostra pós-massagem quando comparada a pré-massagem quando ambas são positivas, ou qualquer crescimento quando a amostra pré-massagem for negativa. Pacientes febris ou com sintomas clássicos de prostatite bacteriana aguda devem colher somente o jato médio sem a realização de massagem prostática (Quadro 3).

Recentemente, Magri *et al.*¹⁹ conduziram um estudo retrospectivo baseado na cultura do esperma e concluíram ser mais uma forma de diagnóstico. Entretanto, devem ser realizados mais estudos para se comprovar os achados e determinar se a cultura de esperma isolada pode representar uma boa alternativa diagnóstica. O mesmo se aplica para a avaliação de cultura de swab uretral pareado à celularidade e cultura da urina colhida pós-massagem na tentativa de simplificar a avaliação na prática clínica²⁰.

No exame físico o toque retal deve ser evitado devido à grande sensibilidade dolorosa da glândula e ao risco de provocar bacteremia.

Quadro 3. Classificação das prostatites e a relação com os achados laboratoriais de leucócitos e bactérias (cultura)

Classificação do NHI	Urina	Pré -massagem	Pós-massagem
Categoria I – Prostatite bacteriana aguda	Leucócitos Bactérias	+ [*] / - + [*] / -	+ +
Categoria II – Prostatite bacteriana crônica	Leucócitos Bactérias	+ [*] / - + [*] / -	+ +
Categoria III – Prostatite não bacteriana crônica / Síndrome da dor pélvica crônica (SDPC)			
Categoria IIIA – SDPC Inflamatória	Leucócitos Bactérias	- -	+ -
Categoria IIIB – SDPC não inflamatória	Leucócitos Bactérias	- -	- -
Categoria IV – Prostatite Inflamatória Assintomática	Leucócitos Bactérias	- -	+ -

* na vigência de infecção urinária deve-se esterilizar a urina com tratamento antimicrobiano para a correta avaliação de prostatites

Tratamento

Muitas vezes o quadro infeccioso persiste pela dificuldade de penetração dos antimicrobianos no tecido prostático. O fluido prostático apresenta pH mais ácido quando comparado ao plasma criando um gradiente de pH que inibe a difusão de antimicrobianos ácidos para o fluido prostático.

Para pacientes que não responderam bem à terapia oral podem ser utilizadas drogas de uso parenteral. Pacientes com infecção recorrente podem se beneficiar do uso de antimicrobianos em doses baixas diárias. Como tetraciclina, nitrofurantoina, ácido nalidixico, cefalexina ou trimetoprim.

Categoria III – Síndrome de Dor Pélvica Crônica ou prostatite asséptica crônica

Definição

Existem situações nas quais nenhuma bactéria é encontrada e os sintomas são semelhantes à prostatite crônica. Muitas vezes isso gera ansiedade no paciente que muda de urologista e inicia novamente a investigação diagnóstica com outro profissional. Esses pacientes sofrem da síndrome de dor pélvica crônica (SDPC)

A SDPC é o tipo mais comuns de prostatite e está dividida em duas subcategorias: SDPC inflamatória, com mais de 10 leucócitos/campo de 400x no líquido prostático (IIIA) e SDPC não inflamatória, com menos de 10 leucócitos/campo de 400x no líquido prostático (IIIB), anteriormente conhecida como prostatodínia. Estas doenças ocorrem em pacientes que apresentam uma inflamação na próstata, sem, no entanto, terem histórico de infecções do trato urinário por bactérias. A etiologia da SDPC é desconhecida. A teoria mais aceita é o refluxo ductal intraprostático²². Estudos clínicos e urodinâmicos demonstraram anormalidades no colo vesical, hiper-reflexia do esfíncter uretral externo, pressão uretral elevada, aumento da pressão tecidual intraprostática e refluxo intraprostático; provocando inflamação e dor^{23, 24, 25}.

Diversos outros fatores também parecem estar associados à SDPC, tal como mediadores da resposta inflamatória; fator de necrose tumoral, interleucinas, interferons e fatores epiteliais ativadores de neutrófilos. A pré-disposição genética à SDPC pode ser resultado de alterações no DNA em locais que regulam a produção e ação de várias citocinas. Ainda, a autoimunidade, a produção diminuída de testosterona com a perda do seu efeito protetor. Alterações na função do sistema nervoso, seja local, seja em nível central, também podem estar associados à SDPC. Achados de hiperatividade da musculatura do assoalho pélvico²⁶. Susceptibilidade a alguns micro-organismos gram-positivos pertencentes à microbiota uretral normal, que não causam problemas nesta topografia, podem desencadear quadro de SDPC em homens susceptíveis²⁷.

Pontari e Ruggieri²⁸ concluem que permanece obscuro o grau de interação entre estes fatores e até que ponto existe uma via comum ou várias vias levando ao desfecho da dor pélvica crônica. O fato é que muitas respostas ainda não foram dadas.

Um fator de confundimento entre a Categoria II e a Categoria III (principalmente IIIA) são as infecções causadas por organismos fastidiosos, que não são recuperados em condições usuais de cultivo urinário, como *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum/parvum*, *Mycoplasma hominis*, *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, herpes vírus simples tipo 1 e 2 e citomegalovírus. Podem

desencadear quadros de prostatite microbiana crônica com cultura negativa, o que sugere quadro de prostatite não bacteriana, como SDPC acompanhada de resposta inflamatória (IIIA). Estudos recentes vêm usando a técnica de RT-PCR para melhorar o diagnóstico deste grupo de micro-organismos¹³.

Alguns autores vêm associando a presença de *Propionibacterium acnes* ao quadro de SDPC e à complicações ainda mais sérias, como o câncer de próstata^{30, 31}. É importante lembrar ainda de diagnósticos diferenciais de SDPC, tais como câncer de próstata, prostatite bacteriana, obstrução uretral, uretrite, cálculos prostáticos e hiperplasia prostática benigna.

Quadro clínico

Os sintomas mais comuns da SDPC são dor perineal, peniana, testicular, nas áreas suprapúbica e retropúbica, inguinal e região sacra, distúrbios urinários (aumento da frequência urinária, urgência, sensação de esvaziamento incompleto da bexiga e redução do fluxo urinário) e distúrbios sexuais (dor durante e depois da ejaculação e hematoespermia)⁵.

Categoria IIIA, SDPC acompanhada de quadro inflamatório. Estão descritos desconforto ou dor na região pélvica por pelo menos 3 meses e presença de mais de 10 leucócitos por campo de 400x no líquido prostático, sêmen e/ou urina de terceiro jato após massagem prostática (observada em campo de 400x, após centrifugação)¹⁶.

Categoria IIIB, SDPC não inflamatória. Não são observados leucócitos no líquido prostático, sêmen e/ou urina. Também designado com prostatodinia, o termo descreve quadro de dor pélvica inexplicável no homem.

O critério de presença ou ausência de leucócitos no sêmen, líquido prostático e/ou urina muitas vezes tem cunho didático e não pode ser aplicado à avaliação clínica. O número de leucócitos pode variar em diferentes amostras de um mesmo paciente e mesmo entre pacientes controle, totalmente assintomáticos, podemos evidenciar contagens aumentadas de leucócitos em alguns momentos.

Diagnóstico

Para facilitar a anamnese e estabelecer um padrão diagnóstico, o National Institutes of Health (NIH) nos Estados Unidos através do National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (NIDDK)⁷ desenvolveu o Índice de Sintomas de Prostatite Crônica (Chronic Prostatitis Symptom Index, CPSI). Este índice é calculado através de uma série de 9 perguntas que contém 21 itens para reunir o histórico do paciente em um formato padronizado e quantitativo. Nele são considerados fatores como dor, sintomas urinários, impacto destes sintomas na percepção do paciente e qualidade de vida. Tomando possível mensurar o impacto dos sintomas na vida do paciente, bem como manter o acompanhamento e a evolução dos sintomas (Anexo I).

Em estudo retrospectivo realizado pelo NIH Chronic Prostatitis Cohort Study, a revisão dos resultados de screening de 488 homens com prostatite bacteriana crô-

nica, SDPC ou ambos mostrou, surpreendentemente, não haver correlação entre o número de leucócitos observados na análise citológica do líquido prostático, urina de terceiro jato pós-massagem prostática ou esperma, e o grau da sintomatologia³².

Tratamento

O uso de anti-inflamatórios não esteroides e alfa-bloqueadores auxiliam no controle dos sintomas. Os alfa-bloqueadores promovem a redução da recorrência dos sintomas por diminuir as obstruções urinárias decorrentes da reação inflamatória e aumento da glândula³³.

Há evidências de benefícios no uso de fitoterápicos derivados de Saw palmetto (*Serenoa hepens*), uma espécie de palmeira que teria efeito semelhante ao da Finasterida, um inibidor da 5-alfa-redutase. Ainda, um flavonoide polifenólico com propriedades antioxidantes encontrado no chá verde, cebola e laranja também auxiliariam no alívio dos sintomas³⁴.

O uso da finasterida como terapia da SDPC se iniciou em 1996. Holm & Meyhoff³⁵ foram os primeiros a publicar uma série de casos obtendo bons resultados. Um possível mecanismo de ação é a redução na tensão intraprostática devido ao encolhimento glandular, diminuição do refluxo intraprostático, redução no edema e subsequente alívio na sensação de pressão, como também possíveis efeitos anti-inflamatórios. Entretanto, em estudo recente de revisão sistemática e meta-análise não foi possível associar o uso de finasterida com a melhora clínica dos pacientes estudados³⁶.

Como complemento, a orientação ao paciente de ejacular ao menos a cada três dias durante a terapia antimicrobiana auxilia na drenagem dos ductos prostáticos. Banhos de assento aquecidos facilitam o relaxamento da musculatura pélvica e proporcionam sensação de bem-estar aos pacientes em crise. Orientações complementares incluem, atividade sexual regular, evitar ciclismo, uso de anti-inflamatórios, benzodiazepínicos, antidepressivos, antibióticos e eletroestimulação perineal. Reforçando a necessidade de combinar terapias.

De modo geral, o campo de estudo da SDPC é controverso e necessita de definições baseadas em evidências concretas, não existindo consenso entre os pesquisadores em diferentes temas. A revisão sistemática realizada por McNaughton-Collins *et al.*³⁷ ilustra este cenário. Os autores concluíram que não há teste padrão-ouro para diagnóstico da SDPC, sendo que a qualidade metodológica dos estudos disponíveis é baixa e os ensaios clínicos para o tratamento são metodologicamente fracos e com amostras pequenas. E ainda, que o uso rotineiro de antibióticos e alfa bloqueadores não seriam apoiados pelas evidências existentes.

Categoria IV - Prostatite inflamatória assintomática

Definição

Trata-se de achado laboratorial durante a investigação de infertilidade ou quadros de câncer de próstata. A princípio, não existem evidências que relacionem o quadro inflamatório assintomático com câncer de próstata.

As causas são semelhantes às da prostatite inflamatória crônica sem a participação de quadro clínico.

Quadro clínico

Na prostatite inflamatória assintomática os pacientes não têm história de queixas de dores genitourinárias, apresentam apenas leucocitose no sêmen, líquido e tecido prostático.

Diagnóstico

É feito pelo achado da resposta inflamatória com aumento de leucócitos no sêmen, líquido ou tecido prostático.

Tratamento

Não há indicação formal de tratamento. Uma prática terapêutica adotada entre pacientes com infertilidade e prostatite assintomática inflamatória (Classe IV) é o uso de antibióticos empíricos e/ou anti-inflamatórios, entretanto, as evidências de eficácia são fracas. Podem ainda ser utilizados alfa-bloqueadores ou benzodiazepínicos e banhos de assento.

Como no câncer de próstata também pode haver leucocitose é interessante monitorar a relação entre PSA livre e total. Estes resultados são significativamente diferentes em pacientes com câncer e prostatite categoria IV.

REFERÊNCIAS

1. Krieger JN, Ross SO, Riley DE. Chronic prostatitis: epidemiology and role of infection. *Urology*. 2002;60(6 Suppl):8-1
2. Collins MM, Stafford RS, O'Leary MP, Barry MJ. How common is prostatitis? A national survey of physician visits. *J Urol*. Apr 1998;159(4):1224-8.
3. Nickel, JC. Inflammatory conditions of the male genitourinary tract: prostatitis and related conditions, orchitis, and epididymitis. In: Wein, Kavoussi, Novick, Partin, Peters, eds. *Campbell-Walsh Urology*. Vol 1. 9th ed. 2005:Ch 9.
4. Clemens JQ, Meenan RT, Rosetti MCO, Gao SY, Calhoun EA. Incidence and clinical characteristics of National Institutes of Health Type III Prostatitis in the community. *J Urol*. 2005;174:2319-22.
5. Luzzi GA. Chronic prostatitis and chronic pelvic pain in men: aetiology, diagnosis and management. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2002; 16:253-6.
6. Drach GW, Meares EM, Fair WR, Stamey TA. Classification of benign diseases associated with prostatic pain: prostatitis or prostatodynia? *J Urol*. 1978;120:266.
7. Litwin MS, McNaughton-Collins M, Fowler Jr FL, Nickel JC, Kingston ON, Calhoun EA, Pontari MA, Alexander RB, Farrar JT, O'Leary MP, Chronic Prostatitis Collaborative Research Network (Presented by Dr. Litwin). The National Institutes of Health Chronic Prostatitis Symptoms Index (NIH-CP-SI). 1999 AUA Meeting. <http://www.prostatitis.org/nih-cpsi.html> em 10 de novembro de 2010.
8. Krieger JN, Nyberg LJ, Nickel JC. NIH consensus definition and classification of prostatitis. *J Am Med Assoc*. 1999;281:236-7.
9. Kavanagh JP, Darby C, Costello CB and Chowdhury SD. Zinc in post prostatic massage (VB3) urine samples: A marker of prostatic secretory function and indicator of bacterial infection. *Urological Research* . Volume 11, Number 4, 167-170. 1983.
10. Lipsky BA. Prostatitis and urinary tract infection in men: what's new; what's true?. *Am J Med*. Mar 1999;106(3):327-34.
11. Berger R. Editorial comment: Urological survey--infection and inflammation in the genitourinary tract. *J Urol*. Jan 2009;181:135.
12. Kanamaru S, Kurazono H, Terai A, Monden K, Kumon H, Mizunoe Y, *et al*. Increased biofilm formation in *Escherichia coli* isolated from acute prostatitis. *Int J Antimicrob Agents*. Aug 2006;28 Suppl 1:S21-5.
13. Wasserman NF (1999) Prostatitis: clinical presentations and transrectal ultrasound findings. *Semin Roentgenol* 34(4): 325–337.
14. Granados EA, Riley G, Salvador J, Vincente J. Prostatic abscess: diagnosis and treatment. *J Urol*. Jul 1992;148(1):80-2.
15. Lindert KA, Kabalin JN & Terris MK (2000) Bacteremia and bacteriuria after

- transrectal ultrasound guided prostate biopsy. *J Urol* 164: 76–80.
16. Meares EM, Stamey TA. Bacteriologic localization patterns in bacterial prostatitis and urethritis. *Invest Urol*. Mar 1968;5(5):492-518.
 17. Nickel JC, Shoskes D, Wang Y, Alexander RB, Fowler JE Jr, Zeitlin S, *et al*. How does the pre-massage and post-massage 2-glass test compare to the Meares-Stamey 4-glass test in men with chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome? *J Urol*. Jul 2006;176(1):119-24.
 18. Nickel JC. The Pre and Post Massage Test (PPMT): a simple screen for prostatitis. *Tech Urol*. 1997;3(1):38-43.
 19. Magri V, Wagenlehner FM, Montanari E, Marras E, Orlandi V, Restelli A, *et al*. Sêmen analysis in chronic bacterial prostatitis: diagnostic and therapeutic implications. *Asian J Androl*. Jul 2009;11(4):461-77.
 20. Magri V, Cariani L, Bonamore R, *et al*. Microscopic and microbiological findings for evaluation of chronic prostatitis. *Arch Ital Urol Androl*. Jun 2005;77(2):135-8.
 21. Aagaard J, Madsen PO. Bacterial prostatitis: new methods of treatment. *Urology*. Volume 37, Issue 3, Supplement, Pages 4-8, March 1991
 22. Kirby RS, Lowe D, Bultitude MI, Shuttleworth KED. Intra-prostatic urinary reflux: An etiological factor in abacterial prostatitis, *Br J Urol* 1982; 54: 729
 23. Hellstrom WJG, Schmidt RA, Lue TF & Tanagho EA (1987) Neuromuscular dysfunction in nonbacterial prostatitis. *Urology* 30(2): 183–188.
 24. Barbalias GA (1990) Prostatodynia or painful male urethral syndrome? *Urology* 36 (2): 146–153.
 25. Mehik A, Hellström P, Lukkarinen O, Sarpola A & Leskinen M (2000) One year experience of using the National Institutes of Health Chronic Prostatitis Symptom Index (NIH-CPSI) for diagnosis and survey of Chronic Prostatitis/Chronic Pelvic Pain Syndrome (CP/CPPS). Abstract Book of 3rd Annual International Prostatitis Collaborative Network, October 23–24, 2000, in Washington, DC, p 17.
 26. Zermann DH, Ishigooka M, Doggweiler R. Chronic Prostatitis: a myofascial syndrome?. *Infect Urol*. 1999;12:82-92
 27. Cohen RJ, Shannon BA, McNeal JE, Shannon T, Garrett KL. Propionibacterium acnes associated with inflammation in radical prostatectomy specimens: a possible link to cancer evolution?. *J Urol*. Jun 2005;173(6):1969-74.
 28. Pontari MA, Ruggieri MR. Mechanisms in prostatitis/chronic pelvic pain syndrome. *J Urol*. Sep 2004;172(3):839-45.
 29. Krieger JN, Riley DE. Chronic prostatitis: Charlottesville to Seattle. *J Urol*. Dec 2004;172(6 Pt 2):2557-60.
 30. Alexeyev OA, Marklund I, Shannon B, Golovleva I, Olsson J, Andersson C, Eriksson I, Cohen R, Elgh F. Direct visualization of Propionibacterium acnes in prostate tissue by multicolor fluorescent in situ hybridization assay. *J Clin Microbiol*. 2007 Nov;45(11):3721-8. Epub 2007 Sep 19.
 31. Barranco C. Propionibacterium acnes linked with prostatic inflammation and

- carcinogenesis *Nature Reviews Urology* 2, 406 (September 2005)
32. Schaeffer A, Stern J. Chronic prostatitis. *Clin Evid.* Jun 2002;(7):788-95
 33. Barbalias GA, Nikiforidis G, Liatsikos EN. Alpha-blockers for the treatment of chronic prostatitis in combination with antibiotics. *J Urol.* Mar 1998;159(3):883-7.
 34. Marks LS, Hess DL, Dorey FJ, Luz Macairan M, Cruz Santos PB, Tyler VE. Tissue effects of saw palmetto and finasteride: use of biopsy cores for in situ quantification of prostatic androgens. *Urology.* 2001 May;57(5):999-1005.
 35. Holm M, Meyhoff HH. Chronic prostatic pain: a new treatment option with finasteride? *Scand J Urol Nephrol.* 1996;31:213-5
 36. Chambó, Renato Caretta. Efetividade da finasterida no tratamento da síndrome da dor pélvica crônica: revisão sistemática e metanálise / Renato Caretta Chambó. – Botucatu : [s.n.], 2008 Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina de Botucatu, 2008. Orientador: Antonio José Maria Cataneo Coorientador: Paulo Eduardo de Oliveira Carvalho
 37. McNaughton Collins M, Barry MJ, Fowler FJ Jr, Elliott DB, Albertsen PC. Diagnosing and treating chronic prostatitis: Do urologists use the four-glass test? *Urology* 2000;55:403-7.

ANEXO I.

Índice de sintomas de prostatite crônica (Litwin, *et al.* 1999)

Dor ou desconforto		
1. na última semana, você teve dor ou desconforto nas seguintes áreas?	Sim	Não
Períneo	<input type="radio"/> 1	<input type="radio"/> 0
Testículos	<input type="radio"/> 1	<input type="radio"/> 0
Extremidade do pênis (não relacionado ao urinar)	<input type="radio"/> 1	<input type="radio"/> 0
Abaixo da cintura, região pubiana ou da bexiga	<input type="radio"/> 1	<input type="radio"/> 0
2. na última semana, você sentiu:	Sim	Não
Dor ou ardência ao urinar?	<input type="radio"/> 1	<input type="radio"/> 0
Dor ou desconforto durante ou depois da ejaculação?	<input type="radio"/> 1	<input type="radio"/> 0
3. com qual frequência sentiu dor ou desconforto em alguma destas regiões na última semana?		
Nunca	<input type="radio"/> 0	
Raramente	<input type="radio"/> 1	
Poucas vezes	<input type="radio"/> 2	
Algumas vezes	<input type="radio"/> 3	
Frequentemente	<input type="radio"/> 4	
Sempre	<input type="radio"/> 5	
4. Qual número melhor descreve a média da dor ou desconforto que você sentiu nestes dias na última semana?		
<input type="radio"/> 0 sem dor	1 2 3 4 5 6 7 8 9 <input type="radio"/> 10	Pior dor que já sentiu
Urinar		
5. com qual frequência você teve a sensação de não esvaziar totalmente a bexiga após urinar na última semana?		
Nenhuma vez	<input type="radio"/> 0	
Menos de uma vez em 5	<input type="radio"/> 1	

Menos da metade das vezes	<input type="radio"/> 2	
Na metade das vezes	<input type="radio"/> 3	
Na maioria das vezes	<input type="radio"/> 4	
Quase sempre	<input type="radio"/> 5	
6. com qual frequência você teve de urinar novamente menos de 2 horas após ter urinado, na última semana?		
Nenhuma vez	<input type="radio"/> 0	
Menos de uma vez em 5	<input type="radio"/> 1	
Menos da metade das vezes	<input type="radio"/> 2	
Na metade das vezes	<input type="radio"/> 3	
Na maioria das vezes	<input type="radio"/> 4	
Quase sempre	<input type="radio"/> 5	
Impacto dos sintomas		
7. quanto os sintomas dificultaram a realização das suas atividades, na última semana?		
nada	<input type="radio"/> 0	
pouco	<input type="radio"/> 1	
algum	<input type="radio"/> 2	
muito	<input type="radio"/> 3	
8. quanto você pensou sobre os seus sintomas na última semana?		
nada	<input type="radio"/> 0	
pouco	<input type="radio"/> 1	
algum	<input type="radio"/> 2	
muito	<input type="radio"/> 3	
Qualidade de vida		
9. Como se sentiria se você fosse passear o resto da vida com os sintomas que teve durante a última semana ?		
confortável	<input type="radio"/> 0	
satisfeito	<input type="radio"/> 1	
Maioria das vezes satisfeito	<input type="radio"/> 2	
Igualmente satisfeito e insatisfeito	<input type="radio"/> 3	
Maioria das vezes insatisfeito	<input type="radio"/> 4	

descontente	<input type="radio"/> 5	
infeliz	<input type="radio"/> 6	
Pontuação		
Dor: Total dos itens 1 a, 1 b, 1 c, 1 d, 2a, 2b, 3, e 4		
Sintomas urinários: Total dos itens 5 and 6		
Impacto na qualidade de vida: Total dos itens 7, 8, e 9		
Pontuação de dor e urinária: Total de item 1 a 6		
Total:		
<p>(1) Calcule os 3 separadamente (dor, sintomas urinários e qualidade de vida)</p> <p>(2) Calcule dor e sintoma urinário (faixa de 0-31), referente a “escala de pontuação de sintomas”</p> <ul style="list-style-type: none"> ● leve =0-9, ● moderado=10-18 ● grave=19-31. <p>(3) Avalie cada paciente a partir do score inicial e acompanhe ao longo do tempo usando cada paciente como seu próprio controle. Também pode ser comparado a valores estabelecidos e publicados.</p>		

13. INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO EM CRIANÇAS

Fábio de Araújo Motta

Introdução

A infecção do trato urinário (ITU) é uma patologia extremamente frequente, que ocorre em todas as idades, do neonato ao idoso, mas durante o primeiro ano de vida, devido ao maior número de malformações congênitas, especialmente válvula de uretra posterior; acomete preferencialmente o sexo masculino. A partir deste período, durante toda a infância e principalmente na fase pré-escolar, as meninas são acometidas por ITU 10 a 20 vezes mais do que os meninos¹.

Para muitas crianças uma ITU não representa nenhuma implicação para a sua saúde em longo prazo. Porém, uma minoria está sob um significativo risco de morbidade, e de acordo com as inúmeras considerações encontradas na literatura sobre o desenvolvimento de pielonefrite crônica acompanhada de insuficiência renal/ou hipertensão, tem levado muitas crianças a serem investigadas após a constatação de um quadro de ITU, particularmente nos pacientes de baixa idade e com ênfase no diagnóstico e manejo de nefropatia de refluxo².

ITU está entre as infecções bacterianas mais comuns atendidas em departamentos de emergência, podendo chegar entre 5% a 14% das visitas anuais por crianças nesses departamentos³.

Foi observado que nos primeiros dois a três meses de vida as crianças do sexo masculino apresentam maior suscetibilidade à ITU e que, posteriormente, são proporcionalmente mais acometidas aquelas do sexo feminino. Estima-se que pelo menos 8% das meninas e 2% dos meninos apresentarão, no mínimo, um episódio de ITU durante a infância⁴. A incidência de ITU na faixa etária pediátrica é desconhecida. Na Suécia Jakobsson e colaboradores, levantaram, por meio de estudo multicêntrico prospectivo, todos os diagnósticos de primoinfecção urinária em crianças abaixo de dois anos de idade (exclusão de casos de mielomeningocele e malformações genitais), encontrando incidência média de 1% para ambos os sexos⁵

Após a primoinfecção, a recorrência de ITU acontece em 50% das meninas durante o primeiro ano de seguimento, e em 75% dos casos no período de dois anos de evolução; com relação aos dados do sexo masculino, não há dados comparativos⁶. A investigação de imagem, após a primoinfecção urinária, demonstra alterações obstrutivas em até 4% dos casos e refluxo vesicoureteral (RVU) em 8% a 40% dos pacientes⁷.

Recentemente tem-se questionado bastante o conceito de que na vigência de infecção urinária de repetição, muitas vezes, crianças portadoras de refluxo vesicou-

reteral (RVU) podem apresentar novas cicatrizes renais ou ampliação da área afetada por cicatrizes antigas, como descritas no passado. Trabalhos têm demonstrado que a suspensão de antimicrobianos profiláticos não tem aumentado a incidência de cicatrizes renais e algumas conclusões têm sido tiradas para o manejo de RVU e ITU relacionadas ao RVU. Profilaxia antibiótica não é indicada para criança com o primeiro episódio febril de ITU com RVU moderado (grau I e II). Para graus mais avançados não há conclusão do benefício do antimicrobiano profilático⁸



Fig 1. Imagem de cicatriz renal. Observar como o rim da imagem da direita apresenta parênquima reduzido em espessura em áreas focais assim como redução de seu volume global.

(imagem gentilmente cedida pela Dra Ângela Cristina Bertoldi – Centro de Imagens do Hospital Pequeno Príncipe – Curitiba -PR)

Agentes Etiológicos

Enterobactérias são as causadoras mais comuns de ITU não complicadas, sendo a *Escherichia coli* responsável por 80% dessas ITUs. *Pseudomonas* e *Proteus mirabilis* são encontradas em crianças com anormalidades anatômicas genitourinárias. *Staphylococcus saprophyticus* é responsável por 15% ou mais das ITUs em adolescentes femininas⁹.

Estreptococos do grupo B são patógenos incomuns, mas ocasionalmente, são isolados de cultura de urina de neonatos e adolescentes¹⁰. *S.aureus*, incluindo o *S.aureus* meticilina- resistente (MRSA), raramente causam pielonefrite ou cistite em pacientes comunitários. O isolamento desses agentes sugere infecção em outros sítios como abscesso renal, osteomielite, endocardite bacteriana ou infecção de corrente sanguínea¹¹. Surto de MRSA tem sido relatado em Unidades de Terapia Intensiva (UTI), com isolamento de MRSA de sangue, nasofaringe e urina de neonatos infectados¹².

Em crianças imunocomprometidas e com catéter vesical, *Candida* spp. pode ser isolada na urina¹³. Cateterização por mais de três dias é um importante fator de risco para infecção. Infecções nosocomiais são tipicamente mais difíceis de tratar e são causadas por vários micro-organismos, incluindo *E. coli*, *Candida*, *Enterococcus*, *Enterobacter* e *Pseudomonas*¹⁴.

Patógenos gastrointestinais como *Salmonella*, *Shigella* e *Campylobacter*, *Haemophilus influenzae* tipo b e anaeróbios são raros do trato urinário¹⁵. *Lactobacillus* spp., *Corynebacterium* spp., e *Streptococcus* α -hemolíticos são comuns da microbiota periuretral e na maioria das vezes o isolamento desses micro-organismos representa contaminação¹⁶.

Infecção por *Mycobacterium tuberculosis* no trato urinário é incomum, mas deve ser considerada quando piúria estéril está presente. Cistite hemorrágica aguda é mais comumente causada pela *E. coli* e adenovírus tipo 11 e 21. Cistite por Adenovírus é uma doença benigna e autolimitada na criança e deve ser pensada na presença de hematúria maciça associada à disúria, urgência e aumento na frequência urinária.

Epidemiologia

Relatórios epidemiológicos sobre prevalências de ITU são influenciados pelo método de coleta de urina e testes laboratoriais utilizados para tal diagnóstico. Taxas baixas de prevalência são observadas se apenas crianças sintomáticas são avaliadas. Altas taxas de infecção também podem ser encontradas se a metodologia de coleta for por saco coletor devido à grande chance de crescimento de germe contaminantes da região periuretral.

Infecção do trato urinário responde por 0,7% de todas as visitas médicas nos consultórios pediátricos e por 5% a 14% das visitas nos departamentos de emergência pediátrica, anualmente³. Diagnóstico acurado de ITU tem importante implicação clínica. A maioria dos lactentes febris com ITU mostra evidência de envolvimento de parênquima renal (pielonefrite)¹⁷. Apesar disso, os sinais e sintomas presentes são geralmente inespecíficos e entre os lactentes, testes definitivos envolvem cateterização vesical. Sendo assim, pediatras frequentemente se deparam com a decisão de obter ou não obter uma amostra de urina para urinálise e cultura.

O conhecimento da prevalência de ITU entre diferentes subgrupos de crianças pode auxiliar o clínico em selecionar pacientes que se beneficiarão de testes diagnósticos mais invasivos. Utilizar as taxas de prevalência como estimados em probabilidades prévias de doenças é o primeiro passo para prática baseada em evidência. Em crianças com probabilidade pré-teste muito baixa de doença, teste diagnóstico de rotina não é necessário. De fato, uma abordagem indiscriminada para testes diagnósticos pode levar a mais dano do que benefício. Ao contrário, no paciente com alta probabilidade pré-teste de doença, uma rotina diagnóstica pode ser bem apropriada. Em uma pesquisa com 300 acadêmicos e comunidade de pediatras a respeito de teste diagnóstico em lactentes com febre sem origem, o risco de base foi im-

portante na determinação do teste diagnóstico¹⁸. Especificamente, apenas 10% dos clínicos acreditam que a urocultura estaria indicada se a probabilidade de ITU fosse menor do que 1%, enquanto que 80% a 90% solicitariam cultura se a probabilidade de doença fosse de 3% a 5%, e todos solicitariam se a probabilidade excedesse 5%. Saber se uma criança tem uma probabilidade de base 2% ou 10% de ter ITU faz diferença para a prática clínica.

Prevalência foi definida como a proporção de crianças com desordem alvo entre pacientes submetidos a testes diagnósticos. Este tipo de ponto de prevalência, também conhecido como probabilidade pré-teste, embasa o clínico com uma estimativa do risco de base da doença.

As mais importantes variáveis que influenciam prevalência de ITU são sexo e idade. A prevalência relatada em meninas de 1 a 5 anos é de 1% a 3%, apesar de alguma infecções acontecerem em meninos nessa idade. Essa é uma idade em que diversas crianças apresentam o seu primeiro episódio de ITU sintomática¹⁹.

A prevalência de bacteriúria em meninas na idade escolar (0,7% a 2,3%) excede a de meninos (0,0% a 0,2%)^{20,21}. Lactentes febris e crianças comumente têm ITU, com taxa de infecção inversamente proporcional a idade: 7,5% em lactentes até 2 meses, 5,3% de 2 meses até 1 ano, 4,1% até 2 anos e 1,7% até 5 anos^{22,23,24}.

A recorrência de ITU é um problema substancial independente da presença ou ausência de alteração do trato urinário. O maior risco de recorrência acontece nos primeiros meses após a infecção²⁵. Estudos realizados nos EUA na década de 70 mostram que esse valor pode variar entre 50% a 80% dependendo da população estudada e que em meninos a recorrência é muito menor, devendo atingir aproximadamente 1/3 daqueles acometidos pela ITU^{25,26}.

Patogênese

A colonização da mucosa periuretral com bactérias gastrointestinais é o evento inicial da ITU. As bactérias periuretrais podem ascender pela bexiga, ureter e alcançar os rins por indefinidos mecanismos, causando infecção da bexiga ou do parênquima renal.

Fatores de risco do hospedeiro e mecanismos de defesa

Fatores do Hospedeiro

A habilidade para esvaziar completamente e de forma regular a bexiga é o fator de defesa do hospedeiro mais importante contra a infecção^{27,28}. Obstrução ao fluxo normal de urina com estase urinária é um dos mais importantes fatores de predisposição a ITU. Crianças com anormalidade anatômica como válvula de uretra posterior (VUP), bexiga neurogênica, dissinergia do esfíncter detrusor, obstrução por cálculo, instrumentação de trato urinário ou compressão extrínseca por tumor ou constipação são todos importantes fatores aumentando o risco de ITU^{29,30,31}.

Fig 3. Imagem mostrando refluxo vesico-ureteral associado dissinergismo do detrusor (uretra em pião).

(imagem gentilmente cedida pela Dra Ângela Cristina Bertoldi – Centro de Imagens do Hospital Pequeno Príncipe – Curitiba -PR)



Fig 2. Imagem de bexiga com capacidade reduzida, paredes espessadas e irregulares, com divertículo em parede lateral esquerda (bexiga de esforço) secundária à VUP. Observar a dilatação da uretra posterior a montante da VUP.

(imagem gentilmente cedida pela Dra Ângela Cristina Bertoldi – Centro de Imagens do Hospital Pequeno Príncipe – Curitiba -PR)

Neonatos são geralmente expostos a bactérias uropatogênicas durante o nascimento que podem colonizar o trato intestinal dessa criança na sua fase de lactência. Estudos mostram que lactentes nascidos de mães com bacteriúria têm quatro vezes maior risco de desenvolver ITU e que crianças com histórias de ITU recorrentes mais frequentemente albergam *E. coli* com Fímbrias-P em suas fezes comparado com pacientes controles saudáveis. Essa microbiota intestinal coloniza o períneo e é responsável pela maior parte das infecções ascendentes primárias e recorrentes³².

No sexo feminino, as bactérias aderem e colonizam o introito, enquanto que no sexo masculino elas colonizam a região do prepúcio³³. Evidências suportam que a maioria das ITUs são infecções ascendentes que se iniciam com a colonização peri meatal e que existe um aumento de incidência de ITU em meninos não circuncidados em relação aos circuncidados nos primeiros 6 meses de vida. Winberg em 1974 foi o primeiro a reconhecer a importância da colonização prepucial em lactentes do sexo masculino. Wiswell em 1985 documentou que o risco de ITU febril era 10 vezes maior em criança não circuncidadas do que nas circuncidadas ao nascimento^{25, 34}.

O cumprimento menor da uretra feminina é responsável pelo aumento relativo da incidência de ITU em meninas comparado com meninos na idade entre 6 meses e 12 meses. Um calibre uretral estreito historicamente ficou reconhecido como sendo culpado pelo aumento de ITU baixa em meninas sem qualquer comprovação dessa hipótese até o momento. Sendo assim, dilatação uretral em meninas deve ser contraindicada. Outro mito bastante divulgado é o de que uma secagem imprópria da região perineal ou banho de banheira podem predispor a uma ITU. Até o momento não existe qualquer evidência documentada para suportar tais afirmações.

Fatores afetando o trato urinário superior

A presença de RVU especialmente em altos graus facilita de forma significativa o acesso ao parênquima renal de bactérias. Em um estudo prospectivo de crianças com ITU febril avaliadas por cintigrafia renal com ácido dimercaptosuccinato (DMSA), crianças com grau moderado a severo de RVU (graus 3-5), apresentaram duas vezes mais chances de dano parenquimatoso inflamatório comparadas com pacientes com pouco ou sem RVU. Na presença de RVU, 80% a 90% dos pacientes com ITU febril tem evidência de dano renal parenquimatoso na cintilografia com DMSA, sendo quase todos com graus de 3 ou mais de RVU. Independente da importância do refluxo moderado ou severo, a maioria dos casos de pielonefrite aguda em crianças, documentadas por cintigrafia renal com DMSA, não são associados com RVU³⁵.

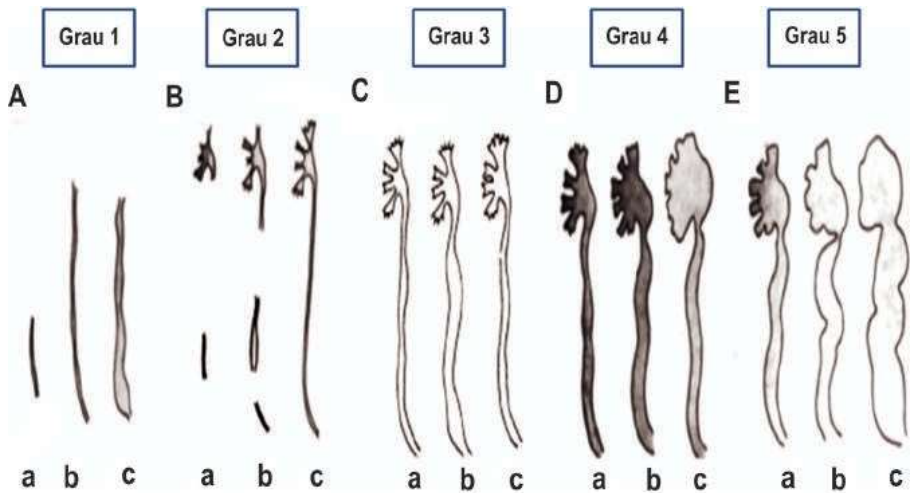


Fig 4. Diagramas ilustrando variações dentro da classificação de graus de I a V de refluxo vesico ureteral (RVU). Grau I: RVU não alcança a pelve renal; (a, b, c) diferentes graus de dilatação ureteral. (B) Grau II: RVU se estende até a pelve renal sem provocar dilatação; (a) e (b) preenchimento incompleto do ureter e cálices. (c) preenchimento completo do ureter e cálices (C) Grau III: RVU se estendendo até o rim. (a) pequena dilatação do ureter, pelve renal e cálices sem desaparecimento de dos fôrnices caliceais; (b) dilatação moderada do ureter e da pelve renal, e pequena tortuosidade ureteral sem desaparecimento dos fôrnices caliceais; (c) pequena dilatação do ureter, moderada dilatação da pelve renal, e leve desaparecimento dos fôrnices caliceais. (D) Grau IV: dilatação moderada do ureter com obliteração completa dos ângulos agudos dos fôrnices caliceais, mas as impressões papilares são visíveis. (a) dilatação moderada da pelve renal e cálices com obliteração completa dos ângulos agudos na maioria dos fôrnices; (b) tortuosidade moderada do ureter e moderada dilatação da pelve renal; completa obliteração dos ângulos agudos em todos os fôrnices; (c) moderada tortuosidade do ureter e dilatação extensa da pelve renal, embora as impressões papilares são visíveis na maioria dos cálices. (E) Grau V. (a) dilatação moderada de um ureter tortuoso, dilatação moderada da pelve renal, e cálices, e impressões papilares visíveis apenas em um dos cálices; (b) dilatação maciça de ureter tortuoso, pelve renal e cálices, e sem impressões papilares visíveis; (c) dilatação extrema de todo trato urinário superior.

Fonte: Johnston JH (ed) *Management of Vesicoureteral Reflux*. Baltimore, Williams & Wilkins, 1984, pp 97-109.

Manifestações Clínicas

A manifestação clínica de ITU é altamente variável de acordo com a idade podendo apresentar-se de forma assintomática até na forma de infecção sistêmica fulminante. Febre ou instabilidade de temperatura, diminuição da atividade, dificuldade na aceitação da dieta e icterícia são achados comuns inespecíficos entre neonatos.^{36,37}

Os sintomas clássicos de disúria, polaciúria e dor lombar são mais frequentes com o avançar da idade. Nesse caso não será possível diferenciar cistite (infecção do trato baixo) da pielonefrite (infecção do trato alto) de forma segura.

É importante salientar que sinais e sintomas de infecção respiratória ou gastrointestinal podem predominar³⁸. Quase 5% dos lactentes com vírus sincicial respiratório podem estar com ITU, possivelmente relacionada à diminuição de fluxo urinário provocada pela desidratação³⁹. Abaixo de 2 anos a febre ocorre na maioria dos meninos e meninas com ITU. Acima de 2 anos a maioria das meninas com ITU são afebris, e ITU em meninos não é comum⁴⁰. Dor abdominal pode ser comum em crianças entre 2 a 5 anos. A presença de febre alta é um indicador impreciso de envolvimento do trato urinário alto enquanto que 1% a 2% das crianças tem bacteriúria que é transitória e sem significância clínica²¹.

Diagnóstico e achados laboratoriais

O erro mais comum na abordagem da ITU em crianças e, especialmente em RN consiste na falha em estabelecer um diagnóstico adequado inicialmente. Isso se dá muitas vezes pela coleta imprópria de urina que leva a um diagnóstico equivocado, tratamento desnecessário e avaliação de imagem inapropriada.

O diagnóstico por saco coletor não é apropriado para nenhuma idade devido a sua alta taxa de contaminação. Apesar disso, a urina coletada por saco coletor, que não tenha crescimento de bactéria, afasta a ITU a menos que o paciente esteja recebendo antimicrobiano⁴¹. A aspiração suprapúbica é a técnica mais adequada para se obter amostra de urina para cultura, porém alguns autores recomendam o uso de catéter uretral como uma técnica segura para obtenção da amostra⁴². Finalmente, a técnica de coleta de urina por jato intermediário pode ser utilizada para crianças maiores após assepsia rigorosamente bem feita, e lembrando que a semeadura deve ser feita em meio apropriado, o mais rapidamente possível.

A cultura de urina coletada apropriadamente estabelece o diagnóstico de ITU e possibilita o isolamento do germe para a realização de teste de susceptibilidade. A interpretação do significado de crescimento na placa de ágar depende das seguintes variáveis: UFC/ml de cada espécie isolada, número de espécies isoladas, método de coleta de urina, sexo do paciente, uso recente de antimicrobiano, tempo entre coleta e inoculação ou refrigeração, hora do dia da coleta, diluição da urina por ingestão de líquidos e nível de suspeição clínica de ITU. A presença de mais de 10^5 UFC/ml é fortemente suspeito de ITU. Esse valor padrão é baseado em trabalhos de Kass publicados entre 1956 e 1957. Contagens mais baixas encontradas em pacientes assintomáticos são consideradas como contaminantes^{43,44}.

A maioria das crianças sem alterações do trato urinário são infectadas com um único organismo. Sendo assim, a presença de mais de um tipo de germe sugere contaminação da amostra e outra amostra deve ser coletada. A metodologia utilizada para coleta de amostra, características da coloração de Gram dos isolados, sexo do paciente e quantificação de crescimento, são os critérios utilizados por Hellerstein

para o diagnóstico de ITU em criança (tabela 1)⁴⁵. Em publicação posterior o mesmo autor enfatiza que esses critérios para diagnósticos de ITU em crianças devem ser entendidos mais como operacionais do que absolutos⁴⁶.

Tabela 1. Critério diagnóstico de ITU por cultura

Método de coleta	Contagem de colônia ^[a]	Probabilidade de Infecção (%)
Aspiração suprapúbica	Qualquer bacilo gram-negativo; > 10 ³ cocos gram-positivos	> 99
Cateterização	> 10 ⁵	95
	10 ⁴ to 10	Provável infecção
	10 ³ to 10 ⁴	Suspeito; necessidade de repetir cultura
	< 10 ³	Infecção improvável
Jato intermediário		
Menino	> 10 ⁴	Infecção provável
Menina	> 10 ⁵ em 3 amostras	95
	> 10 ⁵ em 2 amostras	90
	> 10 ⁵ em 1 amostras	80
	5 × 10 ⁴ to 10 ⁵	Suspeição; necessário repetir cultura
	10 ⁴ to 5 × 10 ⁴	Se sintomático, suspeito; repetir
	10 ⁴ to 5 × 10 ⁴	Se assintomático, infecção improvável
	< 10 ⁴	infecção improvável

Fonte: Hellerstein S. *Recurrent urinary tract infections in children. Pediatr Infect Dis J* 1982;1:271.

[a] Unidade Formadora de Colônia/ml de isolado único

Manejo da ITU

O manejo da ITU consiste em terapia antimicrobiana, exames de imagem e cuidadoso seguimento do paciente incluindo a profilaxia antibiótica para os casos indicados. A hospitalização pode estar indicada se o paciente está na faixa de recém-nascido ou tem aparência tóxica, desidratação severa, vômitos, ou intolerância à medicação oral.

Terapia Antimicrobiana

Os objetivos do tratamento antimicrobiano são o alívio de sintomas e prevenção do dano renal. O tratamento geralmente é iniciado empiricamente e ajustado após o resultado da urocultura. Antibióticos utilizados para tratamento de ITU geralmente são trimetoprim-sulfametoxazol, nitrofurantoína e cefalosporina oral e

penicilinas (ampicilina e amoxicilina). Tanto as penicilinas como a sulfa são as mais frequentemente usados, mas a resistência costuma ser alta a esses antimicrobianos⁴⁷.

A duração de tratamento de ITU baixa não complicada é controversa. Alguns estudos defendem um curso curto de antimicrobiano para reduzir custo, efeitos colaterais e alteração da microbiota intestinal e aumento à adesão ao tratamento. Em uma meta-análise sobre curso curto de terapia antimicrobiana em crianças para tratamento de ITU, Khan reportou que dose única do tratamento pode atingir uma taxa de cura de 89%. No geral a terapia de dose única foi mais efetiva em crianças com cistite e sem alterações anatômicas do trato urinário⁴⁸. Outros estudos confirmaram esses achados, mas reportaram uma alta taxa de recorrência em terapias de dose única⁴⁹. Atualmente a recomendação é de que ITU baixa sem complicação seja tratada por 3 a 5 dias, podendo chegar a 7 dias, com antibiótico via oral. Caso contrário, em pacientes com alterações anatômicas ou com pielonefrite presumida, a duração do tratamento deve ser de no mínimo 10 dias⁵⁰. Em crianças abaixo de 5 anos, deve-se manter antibiótico profilaxia até o resultado dos exames de imagem⁵¹.

Já pacientes com pielonefrite aguda tem entre 40% a 50% de risco de desenvolver cicatriz renal parenquimatosa⁵². Sendo assim, o tratamento deve ser iniciado imediatamente. Pacientes sem toxicidade e crianças acima de 3 meses podem ser tratadas ambulatorialmente desde que a aceitação ao medicamento não seja uma questão⁵⁰.

O uso de cefalosporinas orais é viável para o tratamento de pacientes ambulatoriais. É importante lembrar, no entanto que cefalosporinas de 1ª geração tem boa cobertura para *E. coli*, *K. pneumoniae* e *P. mirabilis* mas não vão oferecer cobertura para *Enterococcus*. Nitrofurantoína mantém-se como um agente efetivo para o tratamento de infecções não complicadas provocadas por agentes susceptíveis a esse antimicrobiano. Relatos de resistência de *E. coli* a ampicilina (>50%) e sulfametoxazol-trimetoprim (>50%) limitam o uso empírico dessas drogas⁴⁷. Pacientes com anormalidades do trato urinário tem maior probabilidade de se infectar por micro-organismos mais resistentes⁵³.

Já em pacientes com sinais de toxicidade e em crianças menores de 2 meses com suspeita de pielonefrite, deve-se iniciar imediatamente antibioticoterapia venosa. Terapia combinada com ampicilina e gentamicina ou cefalosporina de 3ª geração deve ser iniciado imediatamente⁴⁷. Recentemente o FDA aprovou o uso de ciprofloxacina para tratar ITU complicada em criança. Independente do antimicrobiano utilizado o tempo de tratamento deve ser entre 10 a 14 dias. Pacientes com mais de 1 mês podem ser tratados com antibiótico oral de acordo com a cultura após 72 horas afebril⁵⁴.

Estudos de Imagem

As recomendações para avaliação de ITU são muito variáveis e tem sido bastante debatidas. Os estudos de imagem podem detectar anormalidades congênitas ou adquiridas do trato urinário, incluindo VUP em meninos, RVU, obstrução, displasia, hidronefrose, outras anomalias congênitas, cicatriz renal e litíase renal. A maioria dos estudos e especialistas concordam que a avaliação de imagem deve ser feita após a primeira cultura documentada de ITU tanto em meninas quanto em meninos abaixo de 5 ou 6 anos ou até mesmo em qualquer idade.



Fig 5. Imagem de USG com hidronefrose secundária à uropatia obstrutiva causada pela VUP. Observar a redução das dimensões renais e da espessura do parênquima.

(imagem gentilmente cedida pela Dra Ângela Cristina Bertoldi – Centro de Imagens do Hospital Pequeno Príncipe – Curitiba -PR)

A ultrassonografia abdominal é a modalidade mais usada para avaliação do rim, ureter e bexiga. A ultrassonografia pode definir a estrutura renal (tamanho, forma e posicionamento) e detectar dilatação do sistema coletor, porém, não mostra informações funcionais ou demonstra com segurança a presença de cicatrizes renais⁵⁵.



Fig 6. Imagem de USG renal normal.

(imagem gentilmente cedida pela Dra Ângela Cristina Bertoldi – Centro de Imagens do Hospital Pequeno Príncipe – Curitiba -PR)

A outra modalidade bastante utilizada nas investigações é a uretrocistografia miccional (UCGM) ou cistograma por radionuclídeo (CGR) para definir a presença e grau de RVU. A UCGM com fluoroscopia é usada para detectar VUP em meninos que está associada à ITU de repetição⁵⁶.

Já a cintigrafia do córtex renal com DMSA marcado com tecnécio 99 pode mostrar: pielonefrite aguda, associada com baixa captação do traçador de forma focal ou difusa, sem qualquer perda de volume; ou cicatriz renal que está associada com áreas de baixa captação acompanhada com perda de volume. Um exame de DMSA positivo está associado a aumento do risco de subsequentes cicatrizes renais, particularmente se RVU está presente. Apesar disso, o verdadeiro papel do DMSA na avaliação e manejo da ITU ainda não está estabelecido^{57,58,59}.

Recentemente uma nova abordagem tem sido discutida na literatura com o nome de “*top down approach*”. Trata-se de se propor a realização do DMSA ainda na fase aguda da ITU identificando pacientes com RVU grave e caso esse mostre alteração, propõe-se então a realização do UCGM^{58, 60,61}. Apesar de a metodologia proporcionar uma diminuição de 50% na realização da UCGM, não existe ainda consenso para se propor a padronização do método^{62, 63}.

A urografia excretora é outro método que nos últimos anos tem sido pouco utilizada por não ser tão sensível como o DMSA na demonstração de cicatriz renal. Além disso, a visualização do sistema coletor em lactentes e pré escolares, não é ideal, lembrando o risco de reação alérgica ao contraste e o fato da cicatriz renal poder levar de 1 a 2 anos para aparecer no urograma.

Para crianças com envolvimento renal presumido no qual uma avaliação de imagem do trato urinário não tenha sido realizada anteriormente, uma abordagem sugerida pode ser a seguinte: a ultrassonografia abdominal deverá ser feita o quanto antes para afastar piodenite ou abscesso. A cistografia será realizada após a urina estar estéril. Para pacientes sem complicações e com resposta rápida ao medicamento, a USG e a cistografia pode ser atrasada até a urina tornar-se estéril. Para cistografia inicial, UCGM com fluoroscopia deve ser realizada em meninos para afastar VUP. Obstrução uretral em meninas é rara tornando desnecessária a obrigatoriedade da visualização da uretra. A CGR pode ser usada para avaliar RVU em meninas e para seguimento em meninos sem VUP⁶⁴.

Profilaxia antimicrobiana

Profilaxia antimicrobiana tem sido recomendada em crianças com RVU (particularmente abaixo de 8 anos) e para aquelas com recorrência sintomática frequente de ITU (três em 6 meses, quatro em 1 ano), mesmo na ausência de RVU. O uso profilático deve ser de no mínimo 6 meses⁶⁵. As doses dos antimicrobianos profiláticos variam entre ¼ a metade da dose terapêutica uma vez ao dia. Os antimicrobianos utilizados podem ser a nitrofurantoína (1 a 2 mg/kg, oral), sulfametoxazol-trimetoprim (2mg de TMP e 10mg SMX / kg, oral) e cefalexina (25mg/kg, oral). Caso nenhuma infecção ocorra durante o período de profilaxia, o antimicrobiano pode ser descontinuado. Caso a infecção recorra, a profilaxia deve ser reinstituída.

Mais recentemente a eficácia e a necessidade de antibioticoprofilaxia foram questionadas. Dados discutidos sugerem que antibioticoprofilaxia pode não ser útil em prevenir ITU em crianças que tenham tendência a ITU recorrente estando associada a alto risco de desenvolvimento de resistência a antibióticos⁶⁶. Embora pesquisa clínica controlada e randomizada, ainda que com um número pequeno de pacientes, tenha demonstrado benefício em grupos de alto risco⁶⁷, existe uma clara necessidade de estudos bem desenhados, prospectivos, randomizados e controlados focando em grupos com diferentes estratificações de riscos.

REFERÊNCIAS

1. Pfeferman I, Heilberg; Schor N. Abordagem diagnóstica e terapêutica na infecção do trato urinário – ITU, Rev. Assoc. Med. Bras. 2003; 49(1):109-116.
2. Baumer J H, Jones R W A Urinary tract infection in children, National Institute for Health and Clinical Excellence., Arch Dis Child Educ Pract Ed 2007;92:189–192
3. Freedman AL. Urologic diseases in North America Project: trends in resource utilization for urinary tract infections in children. J Urol. 2005;173:949–954.
4. Stark H. Urinary tract infections in girls: the cost-effectiveness of currently recommended investigative routines. *Pediatr Nephrol* 1997;11:174-7.
5. Jakobsson B, Esbjorner E, Hansson S. Minimum incidence and diagnostic rate of first urinary tract infection. *Pediatrics* 1999;104:222-6.
6. Larcombe J. Clinical evidence: urinary tract infection in children. *BMJ* 1999;319:1173-5.
7. Dick PT, Feldman W. Routine diagnostic imaging for childhood urinary tract infections: systematic overview. *J Pediatr* 1996;128:15-22
8. Montini G, Hewitt I, Urinary tract infection: to prophylaxis or not prophylaxis? *Pediatr Nephrol.*2009; 24:1605-1609
9. Kumari N, Rai A, Jaiswal CP, Xess A, Shahi SK. Coagulase negative Staphylococci as causative agents of urinary tract infections-prevalence and resistance status in IGIMS, Patna. *Indian J Pathol Microbiol.* 2001 44(4):415-9.
10. Lohr JA: Group B streptococcal urinary tract infections. *Pediatr Infect Dis J* 1990; 9:150-151.
11. Kowalski TJ, Berbari EF, Osmon DR: Epidemiology, treatment, and prevention of community-acquired methicillin-resistant staphylococcus aureus infections. *Mayo Clin Proc* 2005; 80:1201-1208
12. Nambiar S, Herwaldt LA, Singh N: Outbreak of invasive disease caused by methicillin-resistant Staphylococcus aureus in neonates and prevalence in the neonatal intensive care unit. *Pediatr Crit Care Med* 2003; 4:220-226.
13. Phillips JR, Karlowicz MG. Prevalence of Candida species in hospital-acquired urinary tract infections in a neonatal intensive care unit. *Pediatr Infect Dis J* 1997;16(2):190– 4.
14. Langley JM, Hanakowski M, Leblanc JC. Unique epidemiology of nosocomial urinary tract infection in children. *Am J Infect Control* 2001;29(2):94–98
15. Galán F, García-Martos P, Mira J Urinary tract infection caused by Haemophilus spp. in pediatrics: a rarely studied disease *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 1996;14(8):483-5
16. Kunin CM: Principles of urinary bacteriology and immunology. Detection, Prevention and Management of Urinary Tract Infections, 4th ed.. Philadelphia: Lea & Febiger; 1987:160-172

17. Hoberman A, Charron M, Hickey RW, Baskin M, Kearney DH, Wald ER. Imaging studies after a first febrile urinary tract infection in young children. *N Engl J Med*. 2003;348:195–202
18. Roberts KB, Charney E, Sweren RJ, *et al.*: Urinary tract infection in infants with unexplained fever: a collaborative study. *J Pediatr* 1983; 103:864-867
19. Marild S, Jodal U Incidence rate of first-time symptomatic urinary tract infection in children under 6 years of age. *Acta Paediatr*. 1998 May;87(5):549-52
20. Lindberg U, Claeson I, Hanson LA, *et al.*: Asymptomatic bacteriuria in schoolgirls. *J Pediatr* 1978; 92:194-199.
21. Newcastle Asymptomatic Bacteriuria Research Group. : Asymptomatic bacteriuria in school children in Newcastle upon Tyne. *Arch Dis Child* 1975; 50:90-102.
22. Crain EF, Gershel JC: Urinary tract infections in febrile infants younger than 8 weeks of age. *Pediatrics* 1990; 86:363-367.
23. Hoberman A, Chao HP, Keller DM, *et al.*: Prevalence of urinary tract infection in febrile infants. *J Pediatr* 1993; 123:17-23.
24. Roberts KB, Charney E, Sweren RJ, *et al.* Urinary tract infection in infants with unexplained fever: a collaborative study. *J Pediatr*. 1983;103:864–867
25. Winberg J, Anderson HJ, Bergstrom T, *et al.*: Epidemiology of symptomatic urinary tract infection in childhood. *Acta Paediatr Suppl* 1974;252-264
26. Kunin CM: The natural history of recurrent bacteriuria in schoolgirls. *N Engl J Med* 1970; 282:1443-1448.
27. Bauer S: Neurogenic bladder dysfunction in management principles in pediatric urology. *Pediatr Clin North Am* 1987; 34:1121-1132.
28. Churchill B, Gilmour R, Williot P: Urodynamics, management principles in pediatric urology. *Pediatr Clin North Am* 1987; 34:1131-1137.
29. Hellerstein S, Linebarger JS: Voiding dysfunction in pediatric patients. *Clin Pediatr* 2003; 42:43-49.
30. Sternberg K, Greenfield SP, Williot P, *et al.*: Pediatric stone disease: an evolving experience. *J Urol* 2005; 174:1711-1714.
31. Chase JW, Homsy Y, Siggaard C, *et al.*: Functional constipation in children. *J Urol* 2004; 171:2641-2643.
32. Stamey TA: The role of introital enterobacteria in recurrent urinary tract infections. *J Urol* 1973, 109:467–472.
33. Bollgren I, Winberg J: The periurethral aerobic microbiota in healthy boys and girls. *Acta Ped Scand* 1976, 65:74–80.
34. Wiswell TE, Smith FR, Bass JW: Decreased incidence of urinary tract infections in circumcised male infants. *Pediatrics* 1985, 75:901–903.
35. Aktas G E, Inanir H, Turoglu T; Renal cortical involvement in children with first UTI: does it differ in the presence of primary VUR? *Ann Nucl Med*; 2008 22:877–881
36. Fang SB, Lee HC, Yeung CY, Tsai JD. Urinary tract infections in young infants with prolonged jaundice. *Acta Paediatr Taiwan*. 2005; 46(6):356-60

37. Bilgen H, Ozek E, Unver T, Biyikli N, Alpay H, Cebeci D. Urinary tract infection and hyperbilirubinemia. *Turk J Pediatr.* 2006;48(1):51-5.
38. Baucher H, Phillipp B, Dashefsky B, *et al.*: Prevalence of bacteriuria in febrile children. *Pediatr Infect Dis J* 1987; 6:239-242.
39. Zorc JJ, Levine DA, Platt SL, *et al.*: Clinical and demographic factors associated with urinary tract infection in young febrile infants. *Pediatrics* 2005; 116:644-648
40. Marild S, Jodal U: Incidence rate of first-time symptomatic urinary tract infection in children under 6 years of age. *Acta Paediatr* 1998;549-552.
41. Benito Fernández J, Sánchez Echániz J, Mintegui Raso S, Montejo Fernández M. Urinary tract infection in infants: use of urine specimens obtained by suprapubic bladder aspiration in order to determine the reliability of culture specimen of urine collected in perineal bag. *An Esp Pediatr.* 1996;45(2):149-52
42. Pollack CV Jr, Pollack ES, Andrew ME. Suprapubic bladder aspiration versus urethral catheterization in ill infants: success, efficiency and complication rates. *Ann Emerg Med.* 1994 Feb;23(2):225-30.
43. Kass EH: Asymptomatic infections of the urinary tract. *Trans Assoc Am Phys* 1956; 69:56-64.
44. Kass EH: Bacteriuria and the diagnosis of infections of the urinary tract. *Arch Intern Med* 1957; 100:709-714
45. Hellerstein S: Recurrent urinary tract infections in children. *Pediatr Infect Dis J* 1982; 1:271-276.
46. Hellerstein S: Evolving concepts in the evaluation of the child with a urinary tract infection (editorial). *J Pediatr* 1994; 124:589-592.
47. Guidoni EB, Berezin EN, Nigro S, Santiago NA, Benini V, Toporovski J. Antibiotic resistance patterns of pediatric community-acquired urinary infections. *Braz J Infect Dis.* 2008;12(4):321-3
48. Khan AJ: Efficacy of single-dose therapy of urinary tract infection in infants and children: a review. *J Natl Med Assoc* 1994, 86:690-696.
49. Madrigal G, Odoi CM, Mohs E, *et al.* Single-dose antibiotic therapy is not as effective as conventional regimens for management of acute urinary tract infections in children. *Pediatr Infect Dis J* 1998, 7:316-319.
50. Hellerstein S. Antibiotic treatment for urinary tract infections in pediatric patients. *Minerva Pediatr.* 2003 Oct;55(5):395-406.
51. Sedberry-Ross S, Pohl HG: Urinary Tract infection in children. *Curr Urol Rep* 2008, 9:165-171
52. Smellie JM, Poulton A, Prescod NP: Retrospective study of children with renal scarring associated with reflux and urinary infection. *BMJ* 1994, 308:1193-1196.
53. Nicolle LE. A practical guide to antimicrobial management of complicated urinary tract infection. *Drugs Aging.* 2001;18(4):243-54.
54. Committee on Infectious Diseases. The use of systemic fluoroquinolones. *Pediatrics.* 2006 Sep;118(3):1287-92
55. South M., Radiological investigations following urinary tract infection: changes in Australian practice. *Arch Dis Child.* 2009;94(12):927-30.

56. Nuutinen M, Uhari M: Recurrence and follow-up after urinary tract infection under the age of 1 year. *Pediatr Nephrol* 2002; 16:69-72
57. Biggi A, Dardenelli L, Cussino P, *et al.*: Prognostic value of the acute DMSA scan in children with first urinary tract infection. *Pediatr Nephrol* 2001; 16:800-804.
58. Hansson S, Dhamey M, Sigstrom O, *et al.*: Dimercapto-succinic acid scintigraphy instead of voiding cystourethrography for infants with urinary tract infection. *J Urol* 2004; 172:1071-1074.
59. Mingin GC, Nguyen H, Baskin LS: Abnormal dimercapto-succinic acid scans predict an increased risk of breakthrough infection in children with vesicoureteral reflux. *J Urol* 2004; 172:1075-1077
60. Tseng MH, Lin WJ, Lo WT: Does a normal DMSA obviate the performance of voiding cystourethrography in evaluation of young children after their first urinary tract infection. *J Pediatr* 2007, 150:96-99.
61. Preda I, Jodal U, Sixt R, *et al.*: Normal DMSA scintigraphy makes voiding cystourethrography unnecessary in the evaluation after urinary tract infection. *J Pediatr* 2007, 151:581-584.
62. Herz D B The Top-Down Approach: An Expanded Methodology . *Pediatr Urol* 2010 183, 856-857
63. Oh M M, Cheon J, Kang S H *et al.*, Predictive Factors for Acute Renal Cortical Scintigraphic Lesion and Ultimate Scar Formation in Children With First Febrile Urinary Tract Infection. *J Urol* 2010, 183, 1146-1150.
64. Long: Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases, 3rd ed. Edited by Churchill Livingstone, 2008: Section G – Genitourinary Tract Infections
65. Williams G, Lee A, Craij J: Antibiotics for the prevention of urinary tract infection in children: a systematic review of randomized controlled trials. *J Pediatr* 2001; 138:868-874
66. Hayashi Y, Kojima Y, Kamisawa H, Imura M, Mizuno K, Kohri K. Is antibiotic prophylaxis effective in preventing urinary tract infections in patients with vesicoureteral reflux? *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2010; 8(1):51-8
67. Smellie JM, Gruneberg RN, Normand ICS, *et al.*: Trimethoprim-sulfamethoxazole and trimethoprim alone in the prophylaxis of childhood urinary tract infection. *Rev Infect Dis* 1982, 4:461-466.

14. INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO EM GESTANTES

Jussara Kasuko Palmeiro

As alterações anatomo-fisiológicas do sistema urinário que ocorrem durante a gestação predis põem significativamente as mulheres às infecções do trato urinário (ITU). Pré-eclâmpsia, trabalho de parto prematuro, recém-nascido de baixo peso, distúrbios cognitivos e óbito representam algumas morbidades maternas e perinatais associadas às ITUs. A bacteriúria assintomática deve ser investigada durante o pré-natal, devido ao risco aumentado de evoluir para pielonefrite. A qualquer indício de ITU em gestantes, faz-se necessário iniciar imediatamente a conduta terapêutica, monitorando periodicamente a eficácia antimicrobiana e os possíveis casos recidivantes.

Epidemiologia

As ITUs compreendem uma das complicações clínicas mais comuns e relevantes do período gestacional.¹ Geralmente ocorrem em cerca de 5 a 10% das gestantes e manifestam-se de forma assintomática ou sintomática.²

A bacteriúria assintomática (BA) acomete aproximadamente 2 a 10% das gestantes, prevalência semelhante a das mulheres não gestantes.³ Geralmente, essa prevalência aumenta com a idade, atividade sexual, multiparidade e com o baixo nível socioeconômico.⁴ A presença de comorbidades como distúrbios do trato urinário, hipertensão arterial, diabetes, anemia, hemoglobinopatias e imunocomprometimento contribui para o aumento da BA na gestação.⁵ Afirma-se que ITU antes da gestação é um fator preditor do diagnóstico de BA na primeira consulta pré-natal.⁶ Sem tratamento, a BA evolui para pielonefrite em 20 a 40% das gestantes, enquanto que somente 1 a 2% das mulheres não gestantes progridem para essa complicação mais grave. Com o tratamento adequado da BA, os casos de pielonefrite na gestação podem diminuir para 3%.⁷

Cistite e pielonefrite caracterizam as manifestações clínicas sintomáticas. A cistite acomete o trato urinário inferior (bexiga) e complica 1 a 4% da população gestante.⁸ Os fatores de risco para o desenvolvimento de cistite na gestação incluem aqueles indicados para BA, bem como histórico de infecção por *Chlamydia trachomatis*, uso de drogas ilícitas e baixo nível educacional.⁹ Ao contrário da BA, o diagnóstico de cistite não aumenta o risco do desenvolvimento de pielonefrite.

A pielonefrite é a forma mais grave de ITU e pode acometer até 2% das gestantes.⁶ Considera-se que sua ocorrência seja indicação de hospitalização anteparto.¹⁰ Além dos fatores de risco mencionados para BA e cistite, a prevalência de pielonefrite também pode aumentar com a presença de malformação do trato urinário, cálculo renal e históri-

co de pielonefrite.⁷ Devido aos mecanismos de compressão pela crescente dilatação uterina, a pielonefrite torna-se mais comum durante a segunda metade da gestação (aproximadamente na 20ª semana). Somente 4% dos casos dessa manifestação clínica estão presentes no primeiro trimestre, 67% ocorrem entre o segundo e o terceiro trimestres e 27% dos casos manifestam-se no período pós-parto.⁸ O trabalho de parto prematuro (TPP) é uma das complicações clínicas mais importantes associadas a ITU; relata-se que sua incidência em casos de pielonefrite é de 6 a 50%, dependendo da idade gestacional e da terapia antimicrobiana.⁷

Anatomia e fisiologia do sistema urinário na gestação

Durante o período gestacional, extensas mudanças anatomo-fisiológicas ocorrem no sistema urinário. Essas mudanças resultam de adaptações estruturais e funcionais, necessárias para suportar as alterações na fisiologia do sistema cardiovascular.

Nesse período, os rins estendem-se em aproximadamente um centímetro de comprimento, devido ao aumento do volume vascular e do espaço intersticial.^{11, 12} Os níveis elevados de estrogênio e progesterona promovem o aumento de várias estruturas anatômicas renais: ureteres, pelves e cálices, o que resulta no aumento da complacência vesical.¹³ Além disso, a ação desses hormônios favorece a redução do tônus muscular ureteral e de sua peristalse, podendo causar o refluxo vesicoureteral e a estase urinária.^{14, 15} A dilatação uterina também contribui para as mudanças hidronefróticas, através da compressão dos ureteres e da bexiga na cavidade pélvica dificultando o processo de esvaziamento.^{6, 16}

No âmbito das mudanças funcionais, ocorre um aumento de 60 a 80% no fluxo plasmático renal¹² e de 40 a 50% na taxa de filtração glomerular. Isso resulta na elevação da depuração de creatinina para 180 mL/min,^{12, 17} e por consequência, há diminuição dos níveis séricos de ureia e creatinina, que representam os marcadores da função renal. Esses efeitos hemodinâmicos, juntamente com os efeitos hormonais dos sistemas renina-angiotensina-aldosterona,¹⁸ arginina-vasopressina¹⁹ e do sistema nervoso simpático,²⁰ ocorrem para promover a homeostase da pressão arterial durante a gestação. Nesse contexto, o papel dos hormônios sexuais estrogênio e progesterona, também tem sido estudado,^{21, 22, 23, 24} e mais recentemente, tem-se destacado a relaxina, hormônio produzido pelo corpo lúteo e pela placenta, que se mostrou como um importante promotor das alterações renais e cardiovasculares na gestação.^{25, 26, 27, 28} Entretanto, a dinâmica de todos os mecanismos e o entendimento da comunicação entre esses sistemas ainda permanecem incompreendidos.

Todas essas transformações hemodinâmicas, como o aumento da taxa de filtração glomerular e do fluxo plasmático renal, unidas às possíveis alterações na seletividade glomerular, repercutem na diminuição da reabsorção tubular. Essa diminuição resulta em um aumento da taxa de excreção urinária de metabólitos, entre eles, glicose, ácido úrico, vitaminas, aminoácidos e algumas proteínas.^{18, 29} Outras alterações evidenciadas durante a gestação referem-se ao equilíbrio ácido-básico.

Ocorre um aumento da ventilação minuto (V_E) que promove alcalose respiratória; a resposta compensatória para isso é realizada pelos rins, com a excreção urinária aumentada de bicarbonato e o declínio da alcalose em nível sérico.³⁰

Os fatores primordiais à predisposição às ITUs em gestantes referentes às mudanças anatomo-fisiológicas compreendem o aumento do fluxo plasmático renal e da taxa de filtração glomerular, a formação de hidroureter e hidronefrose, o refluxo vesicoureteral, a glicosúria e a alcalose urinária.

Fisiopatologia das infecções do trato urinário na gestação

Durante muitos anos, a gravidez foi vista como fator predisponente a todas as formas de ITU. Atualmente, sabe-se que ela, como evento isolado, não é responsável por maior incidência de infecção urinária.³¹ As modificações anatômicas e fisiológicas impostas ao trato urinário pela gravidez predisõem à transformação de mulheres bacteriúricas assintomáticas em gestantes com ITUs sintomáticas.^{31, 32} Na realidade, essa complicação clínica provém da associação de um conjunto de eventos, que em princípio refere-se às mudanças gravídicas do sistema urinário, mas que também inclui as características bacterianas, como a capacidade de produzir fatores de virulência³³ e as condições do indivíduo, como as alterações nos mecanismos de defesa imunológica que ocorrem durante a gestação.^{34, 35}

Em geral as ITUs são precedidas de colonização no períneo pela microbiota gastrointestinal, estendendo-se ao introito vaginal e uretral. Esse processo inicia-se com a aderência bacteriana à superfície dos epitélios de revestimento, através da ligação entre proteínas de superfície ou fímbrias existentes na bactéria e receptores de membrana das células epiteliais.³³ Essa adesão impede que as bactérias sejam eliminadas pelo fluxo de secreções ou de urina, favorecendo a multiplicação local desses micro-organismos. Em condições desfavoráveis à ITU, receptores do epitélio constituídos de α -D-manose estão provavelmente recobertos por anticorpos IgA existentes no fluido vaginal e uretral, o que impede a aderência local de bactérias e reduz a colonização. Por outro lado, em condições favoráveis à ITU, a aderência de bactérias às células epiteliais é maior, sugerindo que nesses casos existe maior densidade de receptores celulares ou maior número de receptores expostos.³³

Escherichia coli, o uropatógeno mais comum em ITUs, foi designado modelo para o estudo de adesinas e suas funções na gênese dessas infecções.^{36, 37} Para impedir a colonização bacteriana, o trato urinário desencadeia mecanismos de defesa, que incluem a resposta imune contra fímbrias antigênicas e a produção de muco, com função de barreira contra a aderência.³⁸ Em contraposição, para escapar das respostas do sistema imune e não perder a vantagem metabólica da produção de fímbrias; *E. coli*, em um contexto adaptativo, desenvolveu um mecanismo denominado variação de fase, o qual regula a expressão de adesinas, promovendo a permuta entre fenótipos que sintetizam fímbrias e os que não sintetizam. Em vista disso, esse mecanismo tem sido relacionado à fisiopatologia da bacteriúria assintomática na gestação. Afirma-se que cepas de *E. coli*

ausentes de fímbrias apresentam melhor adaptação ao trato urinário, uma vez que as adesinas induzem a resposta imune, causando piúria; e também, incitam à eliminação do patógeno. Além disso, durante a gestação, ocorre a estase urinária em ureteres e bexiga, o que favorece ainda mais a persistência do uropatógeno,³⁸ sem a necessidade de gasto energético com produção de adesinas.

Em continuidade à adesão no epitélio uretral, ocorre a ascensão bacteriana até a bexiga. A principal resistência à ITU ao nível de bexiga refere-se ao ato miccional. Durante a micção, grande parte da população bacteriana presente na bexiga e uretra é eliminada.³³ Entretanto, durante a gravidez, embora a frequência urinária se apresente aumentada, devido à elevação do fluxo plasmático renal e da taxa de filtração glomerular, a crescente dilatação uterina causa compressão da bexiga e dos ureteres e dificulta o esvaziamento urinário completo. Além disso, o aumento da taxa de filtração glomerular resulta em maior excreção de glicose, aminoácidos e produtos de degradação hormonal, fornecendo um meio apropriado para a proliferação bacteriana quando somado à estase urinária. Nesse período, observa-se também que a urina da gestante apresenta pH mais alcalino, situação favorável ao crescimento das bactérias presentes no trato urinário.³³

Ao nível dos rins, a defesa intrínseca realizada pelas células renais é que confere resistência às infecções bacterianas. As células renais têm capacidade de resistir à multiplicação e à invasão de bactérias, bloqueando a aderência e fagocitando os micro-organismos em sua superfície.³¹ As células do túbulo contorcido distal e da alça de Henle pertencentes ao néfron secretam uma substância mucoide denominada uromodulina ou glicoproteína de Tamm-Horsfall; essa mucoproteína recobre os receptores celulares dificultando a aderência bacteriana.^{39, 40} No entanto, ainda é incerto se há aumento da secreção tubular de uromodulina durante a gestação.⁴¹ Alterações nos mecanismos de defesa imunológica também podem ocorrer durante o período gestacional, tornando o trato urinário materno mais suscetível às infecções.

Etiologia

Os micro-organismos que causam infecções no trato urinário são idênticos tanto em mulheres gestantes quanto em não gestantes.⁴²

Infecções urinárias causadas por cepas mais virulentas de *E. coli*, que expressam toxinas e adesinas, a exemplo do sorotipo O, têm sido epidemiologicamente relacionadas à ocorrência de pielonefrite, infecção recorrente, cicatriz tecidual e insuficiência renal.⁷ As adesinas são capazes de reconhecer receptores de células epiteliais específicas, resultando em um tropismo tecidual restrito, ou seja, subtipos de adesinas ligam-se melhor em epitélios do trato urinário superior ou inferior, e assim caracterizam a forma clínica da ITU. Adesinas da família Dr têm sido associadas à pielonefrite em gestantes.⁴³ Afirma-se que esse tipo de adesina possui habilidade de se ligar ao colágeno tipo IV, composto abundante da matriz extracelular, o que sugere a persistência do patógeno e a cronicidade da infecção.⁴³

Aspectos clínicos das infecções do trato urinário na gestação

Sob o ponto de vista clínico, as ITUs podem ser classificadas em quatro formas clínicas, de acordo com a localização anatômica: 1) infecções do trato urinário inferior que compreendem bacteriúria assintomática (BA), uretrite (uretra) e cistite (bexiga); e 2) infecção do trato urinário superior que inclui a pielonefrite (rins).

Bacteriúria assintomática. A presença de BA na gestação predispõe as pacientes a um alto risco de desenvolver cistite e pielonefrite.

Uretrite e cistite. O acometimento uretral é traduzido clinicamente por disúria e polaciúria.⁸ Embora esses sintomas possam sugerir infecção urinária, muitas vezes esses sintomas podem estar presentes na gestante sem infecção.³¹

Pielonefrite. De forma geral, a pielonefrite reflete os piores prognósticos maternos e perinatais.⁴⁴ Essa manifestação clínica pode vir acompanhada, ou não, pelos sintomas de cistite, além de poder ocasionar febre, mal-estar geral, anorexia, náusea e vômitos. Insuficiência respiratória e septicemia significam extrema gravidade.⁶

Complicações maternas associadas a ITU. Geralmente as complicações maternas das ITUs são secundárias ao dano tecidual causado por endotoxinas bacterianas,⁴⁵ principalmente como consequência de pielonefrite. Embora a bacteriemia possa ocorrer em 15 a 20% das gestantes com pielonefrite grave, poucas desenvolvem as manifestações clínicas de choque séptico.⁶ Outras complicações que têm sido associadas à ITU incluem hipertensão ou pré-eclâmpsia,^{44, 46} anemia, corioamnionite, endometrite⁴⁴ e endometriose pós-parto.^{49, 50}

Complicações perinatais associadas a ITU. Todas as ITUs contribuem com intercorrências materno-fetais graves; entre elas destacam-se abortamento, trabalho de parto prematuro (TPP), parto prematuro (PP), ruptura prematura de membranas fetais (córion e âmnion) (RPM), recém-nascidos de baixo peso,⁴⁷ septicemia fetal, restrição de crescimento intrauterino, paralisia cerebral⁴⁸ ou retardo mental e maior morbi-mortalidade materna e neonatal.^{49, 50}

Os mecanismos pelos quais as ITUs contribuem para desencadear TPP e PP são incertos. Entretanto, tem-se sugerido que o processo inflamatório sistêmico iniciado pela infecção é capaz de provocar essas morbidades. Alternativamente, sugeriu-se que a colonização do líquido amniótico por bactérias oriundas do foco infeccioso urinário poderia promover TPP e PP.^{6, 31} A contribuição das ITUs para o aumento da incidência de RPM também tem sido proposta. Acredita-se que a ITU, via citocinas, induz direta ou indiretamente a liberação de metaloproteínases por macrófagos, as quais são capazes de degradar as membranas predispondo a sua ruptura, assim como fazem as collagenases e fosfolipases bacterianas. Outro mecanismo seria o efeito direto da liberação de endotoxinas bacterianas sobre o aumento da contração uterina, promovendo dessa forma a corioamniorrexe.³¹

Diagnóstico microbiológico das ITUs em gestantes

Vários métodos laboratoriais podem ser utilizados para o diagnóstico de infecção urinária, com sensibilidade e especificidade variáveis. Por isso, a associação de exames é de suma importância, a exemplo da urocultura e do exame parcial de urina. Um resultado normal do exame parcial de urina não descarta o diagnóstico de ITU, conforme observado nos casos de bacteriúria assintomática em gestantes. Dessa forma, o exame parcial de urina não apresenta sensibilidade e especificidade necessária para o diagnóstico de ITU na gestação, sendo fundamental sua associação à urocultura.^{31, 51}

Prevenção e tratamento das ITUs na gestação

A ITU no período gestacional é uma preocupação adicional para os profissionais responsáveis pela assistência pré-natal, visto que, além da incidência aumentada de infecções, o arsenal terapêutico e as possibilidades profiláticas são restritos nesse período, considerando a toxicidade de alguns antimicrobianos à mãe, embrião ou feto. Por isso, o diagnóstico precoce, seguido do tratamento adequado e imediato, é imprescindível para evitar comprometer o prognóstico gestacional.

O protocolo de prevenção que deve ser implementado refere-se àquele utilizado para identificar casos de bacteriúria assintomática. Conforme recomendado pelo Colégio Americano de Tocoginecologistas (ACOG, American College of Obstetricians and Gynecologists) e pela Força-Tarefa Norte-Americana de Serviços Preventivos (USPSTF, United States Preventive Services Task Force), a triagem de BA por urocultura deve ser realizada entre a 12^a e 16^a semanas de gestação ou na primeira consulta pré-natal.^{52, 53} Não só para os casos de BA, mas também para todas as formas clínicas de ITU, considera-se importante realizar o exame parcial de urina conjuntamente à urocultura. O exame parcial de urina contribui com a interpretação diagnóstica de BA e com o tratamento precoce de ITUs sintomáticas, sendo considerados condutas clínicas importantes durante o período gestacional. O fluxograma para investigação e abordagem de gestantes com BA está esquematizado na Figura 1.

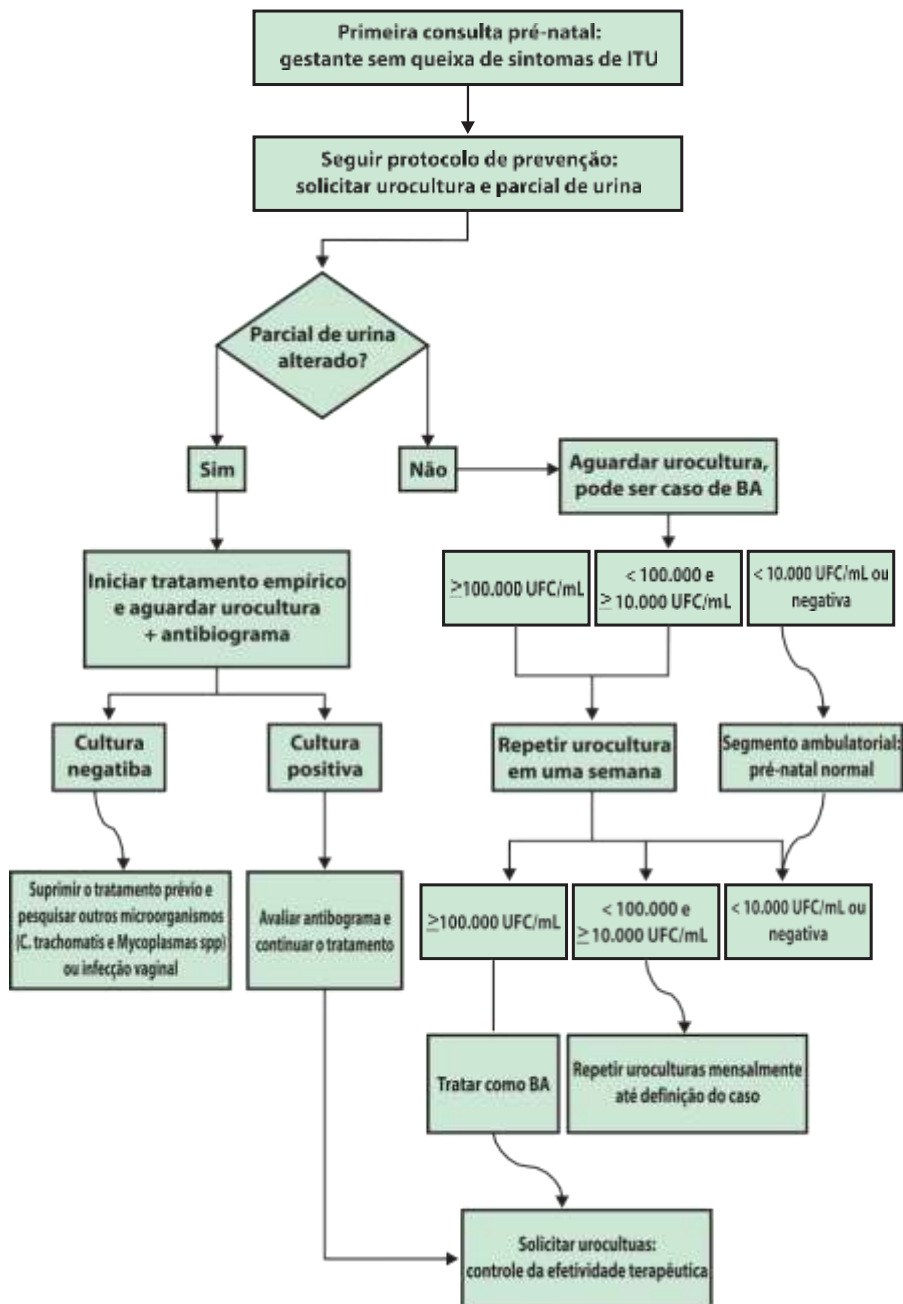


Figura 1. Fluxograma para investigação e abordagem de gestantes com bacteriúria assintomática.

FONTES: Adaptado de DUARTE, G. *et al.* (2008)

O controle da efetividade terapêutica é realizado pela solicitação de urocultura sete dias após o término do tratamento, mensalmente no primeiro trimestre de gestação, e caso todas forem negativas, bimensalmente a seguir, até o término da gravidez.³¹

Para a instituição do tratamento de ITUs em gestantes, é imprescindível avaliar algumas condições na escolha do antimicrobiano: 1) toxicidade materna e fetal; 2) relação risco-benefício; 3) farmacocinética da droga, devido às mudanças no sistema urinário e gastrointestinal que ocorrem durante a gravidez; 4) tolerabilidade da gestante frente à droga; 5) perfil de sensibilidade antimicrobiana; 6) condição da paciente para adquirir a medicação e 7) comodidade do esquema posológico.

Tratamento de bacteriúria assintomática. O fato do diagnóstico de BA basear-se principalmente no resultado da urocultura, na qual normalmente consta o resultado do antibiograma, facilita a escolha do antimicrobiano. O tratamento pode ser feito via oral e recomenda-se estender por sete dias, uma vez que se trata de infecção em gestante.⁵⁴ Os esquemas posológicos têm sido alvo de constantes discussões, visto que as opiniões variam de esquemas de única dose, três dias até uma semana.¹⁵

Tratamento de bacteriúria sintomática. Para o tratamento ambulatorial de uretrite e cistite em gestantes, duas condições devem ser verificadas previamente: o nível socioeconômico da paciente; e se a infecção é comunitária, ou seja, aquela que ocorre com pelo menos um mês de intervalo entre internação prévia, isenta de abordagem física em vias urinárias e/ou farmacológica sistêmica. Caso a infecção não seja comunitária, a internação da paciente torna-se mais prudente para um monitoramento mais rigoroso.³¹

No tratamento de pielonefrite, medidas de suporte devem ser consideradas a depender do grau de acometimento sistêmico da paciente e a hospitalização é necessária para melhor acompanhamento dos sinais vitais. A terapêutica antimicrobiana é preferencialmente iniciada por via parenteral, só passando para via oral quando existe remissão do quadro clínico agudo por mais de 24 a 48 h e o tratamento se estende por 14 dias. O controle da dor pode ser necessário e é obtido com analgésicos e antiespasmódicos. Antieméticos são indicados nos casos que apresentam náuseas e vômitos.³¹ Com o tratamento antimicrobiano adequado, 95% das pacientes tornam-se assintomáticas em 72 h.⁷ A falta de resposta clínica em 72 h indica, provavelmente, resistência bacteriana, anormalidade do trato urinário ou urolitíase.

A seguir, a tabela 1 vai mostrar as opções de antimicrobianos utilizados no tratamento de ITU em gestantes, bem como as informações quanto à posologia, padrão de segurança e características de toxicidade de cada droga.

Tabela 1. Antimicrobianos utilizados no tratamento de ITU em gestantes.

FORMA CLÍNICA	ANTIMICROBIANO	PADRÕES DE SEGURANÇA DO FDA ¹	POSOLOGIA	TOXICIDADE	
				Fetal	Materna
Bacteriúria assintomática, uretrite e cistite	Ampicilina ^{2,3}	Categoria B	500 mg VO 6/6 h por 7 dias (somente após o 1º trimestre)	-	Alergia
	Penicilina G ⁴	Categoria B	500 mg VO 6/6 h por 7 dias	-	Alergia
	Cefuroxima	Categoria B	250 mg VO 8/8 h por 7 dias	-	Alergia
	Cefalexina ²	Categoria B	500 mg VO 6/6 h por 7 dias (somente após o 1º trimestre)	-	Alergia
	Clindamicina ⁵	Categoria B	900 mg a 1.800 mg VO 6/6 h ou 8/8 h por 7 dias	-	-
	Nitrofurantoína ⁶	Categoria B	100 mg 6/6 h por 10 dias (somente após o 1º trimestre)	Hemólise/ icterícia	Anemia hemolítica/ Pneumonia intersticial
Pielonefrite	Cefalotina ²	Categoria B	1 a 2 g IV 6/6 h até a melhora clínica	-	Alergia
	Cefazolina ²	Categoria B	1 a 2 g IV 8/8 h até a melhora clínica	-	Alergia
	Ceftriaxona	Categoria B	1 g IV 24/24 h até a melhora clínica	-	Alergia
	Cefalexina	Categoria B	500 mg VO 6/6 h por 14 dias (manutenção de cura)	-	Alergia
	Cefuroxima	Categoria B	750 mg VO 8/8 h por 14 dias (manutenção de cura)	-	Alergia
	Gentamicina ⁷	Categoria C	3 mg/kg/dia IV (Falha terapêutica - avaliar função renal)	Ototoxicidade/ nefrotoxicidade	Ototoxicidade/ nefrotoxicidade

FONTE (tabela página anterior):

Adaptado de DUARTE, G. *et al.* (2008); MACEJKO, A. M.; SCHAEFFER, A. J. (2007); MITTAL, P.; WING, D. A. (2005); SROUGI, M. (2000).

Notas tabela 1

- 1 Para estabelecer padrões de segurança ao uso de fármacos durante a gestação e fornecer aos clínicos referências para a prescrição, o FDA (*Food and Drug Administration*) dividiu os fármacos em cinco categorias (BRIGGS, 2002): 1) Categoria A - Estudos controlados conduzidos em mulheres não demonstraram risco para o feto no primeiro trimestre e nos trimestres subsequentes de gestação; 2) Categoria B - Estudos de reprodução animal não evidenciaram risco de má-formação fetal e nenhum efeito adverso foi confirmado em estudos controlados conduzidos em humanos; 3) Categoria C - Estudos conduzidos em animais têm demonstrado efeitos adversos nos fetos, como má-formação ou embriotoxicidade e não existem estudos controlados em humanos; 4) Categoria D - Existe forte evidência de risco fetal, porém os benefícios do uso na gestante podem superar o risco para o feto; 5) Categoria X - Forte evidência de risco fetal. Estudos em animais e humanos têm demonstrado anormalidades fetais. O risco do uso desses fármacos durante a gestação supera qualquer possível benefício.
- 2 O uso de ampicilina, cefalexina, cefalotina e cefazolina deve ser baseado no antibiograma, devido às elevadas taxas de resistência bacteriana.
- 3 A administração parenteral de ampicilina não é recomendada, por causa de sua rápida excreção renal em decorrência da gestação, requerendo aumento da dose e da frequência nesse caso.
- 4 Uso indicado em casos de bacteriúria por *Streptococcus agalactiae* (EGB).
- 5 Uso indicado em casos de bacteriúria por *Streptococcus agalactiae*, em gestantes alérgicas à penicilina.
- 6 O uso de nitrofurantoína durante o terceiro trimestre de gravidez pode causar anemia hemolítica fetal quando a gestante apresentar deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD). Seu uso não é efetivo no tratamento de pielonefrite, devido à baixa penetração tecidual, e não apresenta ação contra *Proteus spp*.
- 7 O uso de gentamicina é indicado quando o uropatógeno já apresenta resistência aos antimicrobianos de primeira escolha. Pode ser utilizada em associação com ampicilina no tratamento de pielonefrite aguda, uma vez que apresenta boa penetração tecidual.

As drogas que devem ser evitadas durante a gestação devido à toxicidade materno-fetal exercida incluem fluoroquinolonas (categoria C), cloranfenicol (categoria C) e tetraciclina (categoria D). O uso de fluoroquinolonas durante a gestação ainda é muito controverso. Estudos conduzidos em animais mostraram a ocorrência de artropatias irreversíveis em filhotes expostos a esse grupo de antimicrobianos.⁵⁵ Embora esses achados sejam constantes em animais, estudos conduzidos em humanos não observaram essas alterações nas articulações de neonatos nascidos de mães expostas às fluoroquinolonas.^{56, 57, 58} Cloranfenicol é metabolizado no fígado e forma um glicuronídeo que é excretado pelos rins. Recém-nascidos não conseguem metabolizar esse fármaco que permanece livre em altas concentrações, resultando na “síndrome cinzenta”.⁵⁹ Essa síndrome caracteriza-se por palidez, cianose, distensão abdominal, vômitos e colapso circulatório, promovendo uma taxa de mortalidade de 50% em neonatos.⁶⁰ As tetraciclinas ligam-se fortemente ao cálcio de ossos e dentes em desenvolvimento,^{51, 61} o que resulta no aparecimento de manchas pelo depósito do antibiótico nesses tecidos durante a calcificação. Os dentes permanentes não são afetados, a não ser que a administração ocorra após o nascimento e até os oito anos de idade.⁶² Outro efeito importante das tetraciclinas diz respeito à hepatotoxicidade na gestante, em função de necrose gordurosa aguda.⁶³ Com relação à teratogenicidade, durante o primeiro trimestre de gestação, pode haver risco de defeitos no tubo neural, fissuras orais e anormalidades cardiovasculares congênitas severas.⁶⁴

As sulfas (categoria B) e a eritromicina (categoria B) podem ser utilizadas, porém com restrição. O uso de sulfas durante o primeiro trimestre de gestação está associado à teratogenicidade na formação do tubo neural, em decorrência do metabolismo antifolato desse fármaco.¹⁵ Outro efeito adverso importante é a anemia

hemolítica que aparece em gestantes e fetos com deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase.⁶⁵ Se as sulfas forem administradas no terceiro trimestre de gestação podem competir com a bilirrubina pela ligação à albumina plasmática, acarretando em altas concentrações de bilirrubina livre no sangue fetal e levando a um quadro de icterícia.⁶⁶ As sulfas normalmente estão associadas ao trimetoprim (categoria C). Embora a afinidade de trimetoprim seja em torno de 50.000 vezes maior pela folato-redutase da bactéria, alguns estudos têm mostrado que esse fármaco é capaz de interferir na formação do feto, levando a malformações do trato urinário, cardiovascular e, ainda, fissuras orais.^{67, 68} Um estudo mostrou que suplementos vitamínicos contendo ácido fólico podem reduzir a incidência dessas malformações em gestantes.⁶⁸ A eritromicina apresenta-se comercialmente na forma de estolato e estearato. O uso de estolato deve ser evitado em gestantes, em função da hepatotoxicidade que promove.⁶⁹

De forma geral, a profilaxia das ITUs em gestantes é indicada nas seguintes situações: mais de dois episódios de infecção na gestação atual ou um episódio de pielonefrite associada a fatores de risco. A droga mais utilizada é a nitrofurantoína na dose de 100 mg ao dia até a 37ª e 38ª semanas de gestação. A investigação invasiva de possíveis alterações anatômicas no trato urinário não deve ser realizada antes do terceiro mês de puerpério, visto que nesse período ocorre a regressão das modificações induzidas pelo processo gestacional.³¹

Novas perspectivas

A primeira conduta clínica realizada na vigência de ITU em gestantes é a terapia antimicrobiana, sob forma empírica ou baseada nos resultados do teste de suscetibilidade aos antimicrobianos (antibiograma). Entretanto, com o aumento da resistência a múltiplas drogas, estudos recentes têm sido direcionados ao reconhecimento de novas medidas de prevenção de ITU na gestação. Para isso, tem-se desenvolvido modelos de vacinas contra *E. coli*, o uropatógeno mais frequente. Roberts *et al.* (2004)⁷⁰ pesquisaram a eficácia de vacinação com proteínas purificadas PapDG de *E. coli*. PapDG é uma adesina, componente essencial de fímbrias tipo P, que participa da adesão bacteriana no epitélio vaginal e renal. Após administração intraperitoneal de PapDG purificada em animais de laboratório, níveis significativos de anticorpos específicos contra PapDG foram detectados. A comparação histológica do tecido renal do grupo controle com o grupo vacinado, após inoculação de *E. coli* com fímbrias tipo P, revelou que os animais vacinados não mostraram nenhuma evidência de pielonefrite, enquanto no grupo controle 22 a 33% apresentaram cortes histológicos positivos. Outra vacina que vem sendo desenvolvida é a vacina FimH de uso parenteral, conjugada com adesinas FimC e FimH, que promove indução de resposta imune contra fímbrias tipo 1 de *E. coli*, adesina mais comumente encontrada em isolados da bactéria.⁷¹ Apesar de não ser causa constante de ITU, *Streptococcus agalactiae* tem sido frequentemente isolado de amostras urinárias de gestantes, como agente colonizante. Sua importância como patógeno de doenças perinatais, também

o torna alvo para o desenvolvimento de vacinas. Atualmente existe uma vacina sendo testada nos EUA: trata-se da vacina pentavalente, conjugada com os antígenos capsulares Ia, Ib, II, III e V de *S. agalactiae*. Phares *et al.* (2008)⁷² relataram que essa vacina conseguiu prevenir mais de 96% da doença neonatal e 88% das infecções em crianças, adultos e gestantes. A busca por estratégias competentes de prevenção às ITUs na gestação promoveria a diminuição direta de custos com tratamentos complexos ou hospitalização, melhorando o prognóstico das pacientes.

REFERÊNCIAS

1. Foxman, B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. *Dis Mon*, v.49, n.2, Feb, p.53-70. 2003.
2. Duarte, G. *et al.* Urinary Infection in Pregnancy: Analysis of Diagnostic Methods and Treatment. *Rev Bras Ginecol Obstet*, v.24, n.7, Aug, p.471-477. 2002.
3. Maclean, A. B. Urinary tract infection in pregnancy. *Int J Antimicrob Agents*, v.17, n.4, Apr, p.273-276; discussion 276-277. 2001.
4. Fatima, N.; Ishrat, S. Frequency and risk factors of asymptomatic bacteriuria during pregnancy. *J Coll Physicians Surg Pak*, v.16, n.4, Apr, p.273-275. 2006.
5. Ovalle, A.; Levancini, M. Urinary tract infections in pregnancy. *Curr Opin Urol*, v.11, n.1, Jan, p.55-59. 2001.
6. Mittal, P.; Wing, D. A. Urinary tract infections in pregnancy. *Clin Perinatol*, v.32, n.3, Sep, p.749-764. 2005.
7. Wing, D. A. Pyelonephritis in pregnancy: treatment options for optimal outcomes. *Drugs*, v.61, n.14, p.2087-2096. 2001.
8. Le, J. *et al.* Urinary tract infections during pregnancy. *Ann Pharmacother*, v.38, n.10, Oct, p.1692-1701. 2004.
9. Pastore, L. M. *et al.* Predictors of symptomatic urinary tract infection after 20 weeks' gestation. *J Perinatol*, v.19, n.7, Oct-Nov, p.488-493. 1999.
10. Foxman, B. *et al.* Acute pyelonephritis in US hospitals in 1997: hospitalization and in-hospital mortality. *Ann Epidemiol*, v.13, n.2, Feb, p.144-150. 2003.
11. Cietak, K. A.; Newton, J. R. Serial quantitative maternal nephrosonography in pregnancy. *Br J Radiol*, v.58, n.689, May, p.405-413. 1985.
12. Dafnis, E.; Sabatini, S. The effect of pregnancy on renal function: physiology and pathophysiology. *Am J Med Sci*, v.303, n.3, Mar, p.184-205. 1992.
13. Schulman, A.; Herlinger, H. Urinary tract dilatation in pregnancy. *Br J Radiol*, v.48, n.572, Aug, p.638-645. 1975.
14. Del Rio, S.; Pressman, E. Doenças renal, hepática, gastrointestinal e lúpus eritematoso sistêmico na gestação. In: LAMBROU, N. C.; MORSE, A. N.; WALLACH, E. E. (Org.). *Manual de Ginecologia e Obstetrícia do Johns Hopkins*. Porto Alegre: Artmed, 2001. p. 154-156.
15. Macejko, A. M.; Schaeffer, A. J. Asymptomatic bacteriuria and symptomatic urinary tract infections during pregnancy. *Urol Clin North Am*, v.34, n.1, Feb, p.35-42. 2007.
16. Dure-Smith, P. Pregnancy dilatation of the urinary tract. The iliac sign and its significance. *Radiology*, v.96, n.3, Sep, p.545-550. 1970.

17. Davison, J. M.; Hytten, F. E. The effect of pregnancy on the renal handling of glucose. *Br J Obstet Gynaecol*, v.82, n.5, May, p.374-381. 1975.
18. Lindheimer, M. D. *et al.* Osmoregulation of thirst and vasopressin release in pregnancy. *Am J Physiol*, v.257, n.2 Pt 2, Aug, p.F159-169. 1989.
19. Baylis, C. Glomerular filtration and volume regulation in gravid animal models. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol*, v.8, n.2, Jun, p.235-264. 1994.
20. Christy, N. P.; Shaver, J. C. Estrogens and the kidney. *Kidney Int*, v.6, n.5, Nov, p.366-376. 1974.
21. Magness, R. R. *et al.* Systemic and uterine blood flow distribution during prolonged infusion of 17beta-estradiol. *Am J Physiol*, v.275, n.3 Pt 2, Sep, p.H731-743. 1998.
22. Omer, S. *et al.* Attenuation of renal effects of atrial natriuretic factor during rat pregnancy. *Am J Physiol*, v.268, n.3 Pt 2, Mar, p.F416-422. 1995.
23. Oparil, S. *et al.* Effect of progesterone on renal sodium handling in man: relation to aldosterone excretion and plasma renin activity. *Clin Sci Mol Med*, v.49, n.2, Aug, p.139-147. 1975.
24. Danielson, L. A. *et al.* Impact of gender and endothelin on renal vasodilation and hyperfiltration induced by relaxin in conscious rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, v.279, n.4, Oct, p.R1298-1304. 2000.
25. Jeyabalan, A. *et al.* Essential role for vascular gelatinase activity in relaxin-induced renal vasodilation, hyperfiltration, and reduced myogenic reactivity of small arteries. *Circ Res*, v.93, n.12, Dec 12, p.1249-1257. 2003.
26. Smith, M. C. *et al.* Influence of recombinant human relaxin on renal hemodynamics in healthy volunteers. *J Am Soc Nephrol*, v.17, n.11, Nov, p.3192-3197. 2006.
27. _____. Relaxin has a role in establishing a renal response in pregnancy. *Fertil Steril*, v.86, n.1, Jul, p.253-255. 2006.
28. Carlin, A.; Alfircic, Z. Physiological changes of pregnancy and monitoring. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, v.22, n.5, Oct, p.801-823. 2008.
29. Asscher, A. W. *et al.* Urine as a medium for bacterial growth. *Lancet*, v.2, n.7472, Nov 12, p.1037-1041. 1966.
30. Jeyabalan, A.; Lain, K. Y. Anatomic and functional changes of the upper urinary tract during pregnancy. *Urol Clin North Am*, v.34, n.1, Feb, p.1-6. 2007.
31. _____. Urinary tract infection in pregnancy. *Rev Bras Ginecol Obstet*, v.30, n.2, Feb, p.93-100. 2008.
32. Nowicki, B. Urinary Tract Infection in Pregnant Women: Old Dogmas and Current Concepts Regarding Pathogenesis. *Curr Infect Dis Rep*, v.4, n.6, Dec, p.529-535. 2002.
33. Srougi, M. Infecção urinária em Ginecologia. In: HALBE, H. W. *Tratado de Ginecologia*. 3ª ed. São Paulo: Roca, 2000. v. 3, p. 1092-1109.
34. Christensen, B. Which antibiotics are appropriate for treating bacteriuria in pregnancy? *J Antimicrob Chemother*, v.46 Suppl A, Aug, p.29-34. 2000.

35. Mcfadyen, I. R. *et al.* Single-dose treatment of bacteriuria in pregnancy. *Eur Urol*, v.13 Suppl 1, p.22-25. 1987.
36. Krogfelt, K. A. *et al.* Direct evidence that the FimH protein is the mannose-specific adhesin of *Escherichia coli* type 1 fimbriae. *Infect Immun*, v.58, n.6, Jun, p.1995-1998. 1990.
37. Sokurenko, E. V. *et al.* FimH family of type 1 fimbrial adhesins: functional heterogeneity due to minor sequence variations among fimH genes. *J Bacteriol*, v.176, n.3, Feb, p.748-755. 1994.
38. Graham, J. C. *et al.* Analysis of *Escherichia coli* strains causing bacteriuria during pregnancy: selection for strains that do not express type 1 fimbriae. *Infect Immun*, v.69, n.2, Feb, p.794-799. 2001.
39. Prajczek, S. *et al.* Evidence for a role of uromodulin in chronic kidney disease progression. *Nephrol Dial Transplant*, Jan 14. 2010.
40. Weichhart, T. *et al.* Current concepts of molecular defence mechanisms operative during urinary tract infection. *Eur J Clin Invest*, v.38 Suppl 2, Oct, p.29-38. 2008.
41. Jeyabalan, A.; Conrad, K. P. Renal function during normal pregnancy and preeclampsia. *Front Biosci*, v.12, p.2425-2437. 2007.
42. Patterson, T. F.; Andriole, V. T. Detection, significance, and therapy of bacteriuria in pregnancy. Update in the managed health care era. *Infect Dis Clin North Am*, v.11, n.3, Sep, p.593-608. 1997.
43. Selvarangan, R. *et al.* Interaction of Dr adhesin with collagen type IV is a critical step in *Escherichia coli* renal persistence. *Infect Immun*, v.72, n.8, Aug, p.4827-4835. 2004.
44. Schieve, L. A. *et al.* Urinary tract infection during pregnancy: its association with maternal morbidity and perinatal outcome. *Am J Public Health*, v.84, n.3, Mar, p.405-410. 1994.
45. Neal, D. E., Jr. Complicated urinary tract infections. *Urol Clin North Am*, v.35, n.1, Feb, p.13-22; v. 2008.
46. Conde-Agudelo, A. *et al.* Maternal infection and risk of preeclampsia: systematic review and metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol*, v.198, n.1, Jan, p.7-22. 2008.
47. Romero, R. *et al.* Meta-analysis of the relationship between asymptomatic bacteriuria and preterm delivery/low birth weight. *Obstet Gynecol*, v.73, n.4, Apr, p.576-582. 1989.
48. Polivka, B. J. *et al.* Urinary tract infection during pregnancy: a risk factor for cerebral palsy? *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs*, v.26, n.4, Jul-Aug, p.405-413. 1997.
49. McDermott, S. *et al.* Urinary tract infections during pregnancy and mental retardation and developmental delay. *Obstet Gynecol*, v.96, n.1, Jul, p.113-119. 2000.
50. _____. Perinatal risk for mortality and mental retardation associated with maternal urinary-tract infections. *J Fam Pract*, v.50, n.5, May, p.433-437. 2001.

51. Nicolle, L. E. Asymptomatic bacteriuria: review and discussion of the IDSA guidelines. *Int J Antimicrob Agents*, v.28 Suppl 1, Aug, p.S42-48. 2006.
52. Acgo. American College of Obstetricians and Gynecologists. Antimicrobial therapy for obstetric patients. Washington DC: American College of Obstetricians and Gynecologists; 1998 [ACOG Technical Bulletin n° 117].
53. Uspstf. United States Preventive Services Task Force. Guide to clinical preventive services. Periodic updates. 3th ed. Rockville: Agency for Healthcare Research and Quality, 2004 [AHRQ Publication #04-IP003].
54. Smail, F.; Vazquez, J. C. Antibiotics for asymptomatic bacteriuria in pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev*, n.2, p.CD000490. 2007.
55. Grady, R. Safety profile of quinolone antibiotics in the pediatric population. *Pediatr Infect Dis J*, v.22, n.12, Dec, p.1128-1132. 2003.
56. Berkovitch, M. *et al.* Safety of the new quinolones in pregnancy. *Obstet Gynecol*, v.84, n.4, Oct, p.535-538. 1994.
57. Danisovicova, A. *et al.* Magnetic resonance imaging in children receiving quinolones: no evidence of quinolone-induced arthropathy. A multicenter survey. *Chemotherapy*, v.40, n.3, May-Jun, p.209-214. 1994.
58. Loebstein, R. *et al.* Pregnancy outcome following gestational exposure to fluoroquinolones: a multicenter prospective controlled study. *Antimicrob Agents Chemother*, v.42, n.6, Jun, p.1336-1339. 1998.
59. Johnson, T. N. The development of drug metabolising enzymes and their influence on the susceptibility to adverse drug reactions in children. *Toxicology*, v.192, n.1, Oct 1, p.37-48. 2003.
60. Knight, M. Adverse drug reactions in neonates. *J Clin Pharmacol*, v.34, n.2, Feb, p.128-135. 1994.
61. Niebyl, J. R. Antibiotics and other anti-infective agents in pregnancy and lactation. *Am J Perinatol*, v.20, n.8, Nov, p.405-414. 2003.
62. Briggs, G. G., Freeman, R. K., Yaffe, S. J. *Drugs in pregnancy and lactation*. 6th ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 2002. p. 284-312.
63. Hautekeete, M. L. Hepatotoxicity of antibiotics. *Acta Gastroenterol Belg*, v.58, n.3-4, May-Aug, p.290-296. 1995.
64. Czeizel, A. E. *et al.* A population-based case-control teratologic study of acetylsalicylic acid treatments during pregnancy. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*, v.9, n.3, May, p.193-205. 2000.
65. Perkins, R. P. Hydrops fetalis and stillbirth in a male glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient fetus possibly due to maternal ingestion of sulfisoxazole; a case report. *Am J Obstet Gynecol*, v.111, n.3, Oct 1, p.379-381. 1971.
66. Ahlfors, C. E. Unbound bilirubin associated with kernicterus: a historical approach. *J Pediatr*, v.137, n.4, Oct, p.540-544. 2000.
67. Hernandez-Diaz, S. *et al.* Folic acid antagonists during pregnancy and the risk of birth defects. *N Engl J Med*, v.343, n.22, Nov 30, p.1608-1614. 2000.

68. Reid, D. W. *et al.* Maternal and transplacental kinetics of trimethoprim and sulfamethoxazole, separately and in combination. *Can Med Assoc J*, v.112, n.13 Spec No, Jun 14, p.67-72. 1975.
69. Lewis, J. H. Drug-induced liver disease. *Med Clin North Am*, v.84, n.5, Sep, p.1275-1311, x. 2000.
70. Roberts, J. A. *et al.* Antibody responses and protection from pyelonephritis following vaccination with purified *Escherichia coli* PapDG protein. *J Urol*, v.171, n.4, Apr, p.1682-1685. 2004.
71. Langermann, S. *et al.* Vaccination with FimH adhesin protects cynomolgus monkeys from colonization and infection by uropathogenic *Escherichia coli*. *J Infect Dis*, v.181, n.2, Feb, p.774-778. 2000.
72. Phares, C. R. *et al.* Epidemiology of invasive group B streptococcal disease in the United States, 1999-2005. *JAMA*, v.299, n.17, May 7, p.2056-2065. 2008.

15. INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO EM DIABÉTICOS

Renata Homem de Mello de Souza Alves

O *diabetes melittus* (DM) compreende diversos distúrbios do metabolismo da glicose, de diferentes etiologias e mecanismos patológicos, que levam, em última instância, à hiperglicemia crônica. A elevação dos níveis séricos de glicose se deve a dois mecanismos básicos, que podem estar presentes isoladamente ou em combinação: deficiência de insulina e resistência à ação da insulina. Insulina é o hormônio produzido e secretado pelo pâncreas que age aumentando a captação de glicose pelos tecidos e órgãos, para ser utilizada como substrato energético, e consequentemente reduzindo seus níveis séricos.

O diabetes tipo 1, de início mais frequente na infância, decorre da falência do pâncreas em produzir e secretar insulina. Já o diabetes tipo 2, o mais prevalente na população geral e de início geralmente na idade adulta, tem como mecanismo fisiopatológico a insulino-resistência nos órgãos periféricos como músculo e fígado.

A prevalência do DM tem aumentado de forma alarmante. O número de pessoas com diabetes no mundo inteiro era estimado em 171 milhões em 2000, e é esperado que mais do que duplique até 2030, aumentando para 366 milhões (Fig. 1). Na América Latina, a estimativa é de que haja um aumento de 148% no número de casos de diabetes neste mesmo período.¹ Considerando-se que o DM é uma doença crônica e progressiva, quanto maior o número de indivíduos acometidos por ele, mais frequentemente observaremos suas complicações.

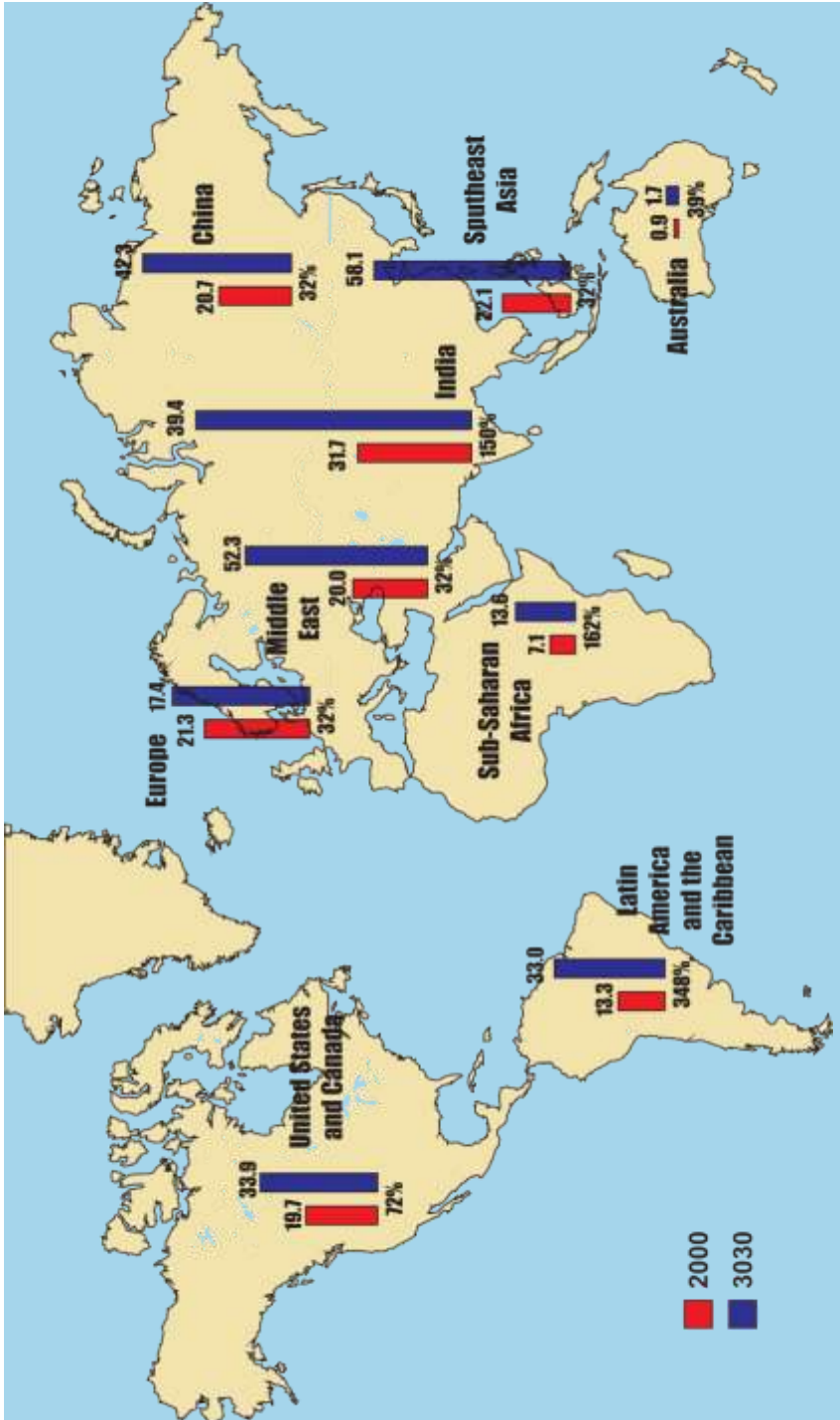


Fig. 1 Milhões de casos de diabetes em 2000 e projeções para 2030, com alterações percentuais. ²

De maneira geral, acredita-se que infecções sejam mais frequentes em pacientes diabéticos do que na população geral, e que nestes pacientes estas infecções levem a uma maior morbidade e mortalidade do que em pessoas saudáveis. Existem, entretanto, muitos fatores de confusão na análise da influência do DM sobre a evolução das infecções. Variáveis como duração do diabetes, grau de controle glicêmico e gravidade das complicações não infecciosas do DM interferem nesta avaliação.³

As infecções mais fortemente associadas ao DM são a mucormicose (infecção fúngica grave causada por fungos do gênero *Rhizopus* e que pode se apresentar sob as formas rinocerebral, pulmonar, cutânea, gastrointestinal ou disseminada), a otite externa maligna (causada por *Pseudomonas aeruginosa*), a colecistite enfisematosa e a pielonefrite enfisematosa. Estas infecções ocorrem quase exclusivamente em pacientes diabéticos. Infecções de menor gravidade, como infecções de pele, trato respiratório e genito-urinário também parecem ocorrer com maior frequência nesta população. Estudos têm investigado o papel do sistema imune na predisposição dos pacientes diabéticos a infecções.

Diabetes e o sistema imune

Existe grande dificuldade em definir a existência de resposta imune alterada em pacientes diabéticos. Os sistemas implicados são muito complexos e interdependentes, e técnicas adequadas para sua avaliação laboratorial são escassas. Estudos *in vitro* conseguem avaliar o sistema imune apenas de forma segmentar, e as conexões entre as ramificações do sistema que acontecem *in vivo* não podem ser estudadas adequadamente em laboratório. Recentemente, deu-se maior ênfase à avaliação das interações entre as células do sistema imune e outros componentes, como os vasos sanguíneos. Conforme as abordagens à investigação deste assunto evoluem, mais específicos se tornam os estudos e mais difícil fica a comparação entre eles. Talvez por todas estas razões, mesmo após décadas de pesquisas, ainda permaneçam dúvidas em relação à existência de defeitos do sistema imune específicos do diabetes e de como estes defeitos tornariam os pacientes mais propensos a infecções.⁴

A quimiotaxia

Em 1971, Mowat e Baum conduziram um estudo para avaliar a quimiotaxia dos polimorfonucleares (PMN) de pacientes diabéticos.⁵ Trinta e um diabéticos com graus variados de controle glicêmico tiveram seus leucócitos PMN estudados *in vivo*, utilizando-se uma câmara de cultura tecidual. Um índice quimiotático foi definido comparando-se o número inicial de PMN com o número que atravessou totalmente a barreira de filtros em resposta aos quimioatraentes. Os PMN de todos os pacientes diabéticos tiveram índice quimiotático reduzido, não havendo qualquer relação entre esta resposta e os níveis glicêmicos em jejum ou o tipo de tratamento dos pacientes.

A fagocitose

Um estudo de 1964 já mostrava alteração de fagocitose em pacientes diabéticos.⁶ Bybee e Rogers avaliaram a fagocitose de leucócitos em 31 pacientes com diabetes bem controlado, 7 pacientes com cetoacidose diabética (uma descompensação aguda do diabetes que se caracteriza por hiperglicemia e acidose metabólica pela formação de cetoácidos e que apresenta elevada morbi-mortalidade) e um grupo controle. Os PMN dos pacientes foram incubados juntamente com bactérias (*S. aureus* e *S. epidermidis*) por 60 minutos em soro fisiológico a 10%. A fagocitose foi considerada presente quando ocorria a ingestão de pelo menos uma bactéria. Neste estudo, somente os PMN dos pacientes com cetoacidose diabética tiveram fagocitose diminuída. Em 1974, em um estudo semelhante, Bagdade *et al.* analisaram a fagocitose de *S. pneumoniae* dos leucócitos de 8 pacientes com cetoacidose diabética.⁷ A redução da fagocitose foi mais evidente quando os níveis de glicemia eram maiores que 250 mg/dl. Com a redução da glicemia, a capacidade fagocítica melhorou, não chegando porém a valores normais. Neste estudo também se observou que a atividade dos PMN dos controles diminuiu quando foram incubados em soro de pacientes diabéticos, e a atividade dos PMN dos pacientes diabéticos aumentou quando incubados no soro dos controles.

A aderência leucocitária

Poucos trabalhos abordaram especificamente o problema da aderência leucocitária de pacientes com DM. Bagdade *et al.* estudaram a habilidade de granulócitos de 10 pacientes com diabetes mal controlado (com hiperglicemia de jejum e sem evidência de cetoacidose) em aderir a uma coluna de fibra de nylon.⁸ O número de granulócitos aderidos foi apenas 53% do valor observado nos controles. Após tratamento com insulina por uma ou duas semanas e redução da glicemia de jejum (de média de 293 mg/dl para média de 198 mg/dl), a aderência melhorou significativamente nos diabéticos, continuando porém com valores subnormais (74% do valor dos controles). A aderência antes e depois do tratamento se correlacionou inversamente com a glicemia de jejum.

A atividade bactericida em resposta à glicemia

Rayfield *et al.* estudaram 241 pacientes diabéticos em relação aos níveis de glicemia e prevalência de infecções, e encontraram uma correlação positiva estatisticamente significativa.⁹ Foi observada uma redução significativa da atividade bactericida intracelular de leucócitos contra *S. aureus* e *E. coli* em pacientes com diabetes mal controlado em comparação com um grupo controle. A opsonização para ambos os micro-organismos foi significativamente menor que no grupo controle.

Tan *et al.* avaliaram a capacidade bactericida de neutrófilos de 31 pacientes com diabetes mellitus em um estado não cetótico, incluindo 21 pacientes sem infecções e 10 com infecções recorrentes.¹⁰ Onze pacientes tiveram defeito de fagocitose, 3 tiveram defeito

na atividade bactericida e 3 tiveram um defeito combinado. Os defeitos não se corrigiram com a adição de soro normal e não se correlacionaram com níveis séricos de glicose. Não se mostrou correlação aparente com infecções, apesar de todos os 3 pacientes com defeito combinado terem histórico de infecções bacterianas graves. Cinco dos pacientes com infecção recorrente e 12 daqueles sem infecção tiveram disfunção dos neutrófilos.

A atividade bactericida em resposta à infecção

Em 1980, Repine *et al.* demonstraram que a atividade bactericida contra *S. aureus* de neutrófilos de pacientes com infecção bacteriana aguda não tratada estava aumentada quando comparada a neutrófilos de controles não infectados ou mesmo em comparação aos mesmos pacientes após terapia antibiótica.¹¹ De maneira contrária, neutrófilos de pacientes diabéticos não tiveram sua capacidade bactericida aumentada em resposta a infecção na mesma proporção que os neutrófilos de indivíduos não diabéticos. Esta anormalidade foi mais pronunciada em diabéticos mal controlados (glicemia > 130 mg/dl), mas também foi observada em diabéticos bem controlados (glicemia < 130 mg/dl). Em estudos semelhantes os neutrófilos de diabéticos mal controlados não infectados não destruíram *S. aureus* com a mesma intensidade que neutrófilos de indivíduos normais ou diabéticos controlados. Neste mesmo estudo, neutrófilos de 2 pacientes diabéticos que foram submetidos a retirada de insulina desenvolveram um defeito bactericida que foi corrigido tratando-se estes pacientes com insulina ou pré-incubando seus neutrófilos com insulina in vitro.

A atividade bactericida em resposta ao tratamento do diabetes

Naghibi *et al.* estudaram a atividade bactericida contra *P. aeruginosa* e a habilidade quimiotática de leucócitos PMN de 26 pacientes diabéticos em 3 grupos de tratamento (antidiabéticos orais, insulina subcutânea e infusão contínua de insulina endovenosa).¹² Os 26 pacientes foram observados antes de entrarem em protocolos de manejo intensificado, e 11 deles após manejo intensificado. O soro dos pacientes com diabetes exerceu um efeito inibitório persistente em leucócitos tanto de pacientes como de controles, mas o soro dos controles não conseguiu corrigir completamente o efeito bactericida de leucócitos de diabéticos para níveis normais. Após o tratamento intensificado do diabetes, houve uma melhora na função bactericida dos leucócitos de pacientes diabéticos, mas não no efeito do soro de diabéticos. A quimiotaxia foi normal em todos os grupos de pacientes. Entretanto, há ainda dúvidas sobre o papel exato da atividade bactericida defeituosa in vitro dos PMN como fator predisponente a infecções.

Os monócitos

Em 1982, um estudo investigou as funções de monócitos obtidos de 14 pacientes com DM comparadas com as de monócitos de indivíduos saudáveis.¹³ O número total de monócitos circulantes nos pacientes diabéticos foi menor do que o dos indivíduos normais. A fagocitose de *Candida albicans* estava reduzida nos monócitos dos pacientes, mas não

a de partículas de látex e de hemácias de carneiro. Katz *et al.* descreveram subpopulações de monócitos com capacidade reduzida de fagocitose de *L. monocytogenes*.¹⁴ Também foi demonstrado defeito da quimiotaxia dos monócitos em pacientes com DM.¹⁵

Os linfócitos

Speert e Silva, em 1978, demonstraram que linfócitos de crianças em cetoacidose diabética apresentam resposta mitogênica reduzida transitoriamente, e que este defeito é revertido com a correção das alterações metabólicas.¹⁶ Apesar de vários estudos mostrarem alterações na proporção entre linfócitos CD4 e CD8 durante a progressão do diabetes¹⁷, nenhuma evidência foi detectada de relação entre estas alterações e a incidência de infecções. Valerius *et al.* demonstraram não haver diferenças de quimiotaxia de granulócitos e níveis intra-neutrófilicos e plasmáticos de lisozimas bem como de número de linfócitos T e B, transformação *in vitro* de linfócitos ou estimulação com mitógenos e antígenos microbianos entre pacientes diabéticos (com ou sem cetoacidose) e controles.¹⁸

Epidemiologia da infecção urinária em diabéticos

Pacientes com diabetes têm maior prevalência de bacteriúria assintomática (BA) e maior incidência de infecção do trato urinário (ITU) e de outras infecções do que indivíduos sem diabetes. BA é definida pela presença na urina de bactérias potencialmente patológicas, porém sem sintomas de infecção urinária baixa (disúria, polaciúria, sensação de esvaziamento incompleto da bexiga) ou alta (febre, dor lombar).¹⁹ Vários estudos epidemiológicos demonstram um risco relativo para infecção de 1,2 a 2,2 em várias coortes de pacientes diabéticos comparados à população não diabética (Tab. 1).^{20,21}

DIAGNÓSTICO	RR (IC 99%)	TAXA NA POPULAÇÃO DIABÉTICA (POR 100.000)
Todas as infecções	1,21 (1,20-1,22)	46.048
Infecção de vias aéreas superiores	1,18 (1,17-1,19)	28.454
Cistite	1,39 (1,36-1,42)	5.491
Pneumonia	1,46 (1,42-1,49)	4.919
Celulite	1,81 (1,76-1,86)	4.626
Infecções intestinais	1,50 (1,46-1,54)	4.087
Pielonefrite	1,95 (1,78-2,13)	486
Osteomielite	4,39 (3,80-5,06)	340

Tab. 1 Risco relativo com intervalo de confiança de 99% (IC 99%) para a população diabética versus não diabética para uma doença infecciosa (adaptado de Shah e Hux).²⁰

Em 2000, Geerlings *et al.* encontraram uma prevalência de BA de 26% em mulheres diabéticas comparada à prevalência de 6% em mulheres não diabéticas.²² Num estudo prospectivo dinamarquês, o risco relativo para ITU foi de 1,56 para pacientes com diabetes tipo 1, 1,21 para pacientes com diabetes tipo 2 e 2,2 para mulheres diabéticas pós-menopausadas em comparação com os controles.²³

Mecanismos de predisposição a ITU em diabéticos

Concentrações elevadas de glicose na urina podem levar ao crescimento de bactérias patogênicas e agir como um meio de cultura. Redução da função imune, como exposto anteriormente, pode enfraquecer as defesas do hospedeiro contra ITU. Dano neurológico ao trato genito-urinário devido ao diabetes pode resultar em esvaziamento vesical disfuncional e retenção urinária relativa, que também propiciam o aparecimento de ITU.²⁴ Apesar da susceptibilidade maior em pacientes diabéticos, a ITU parece ser qualitativamente a mesma doença em indivíduos com e sem diabetes. Os mesmos agentes causais e o mesmo espectro de complicações são observados nas duas populações. Convém ressaltar a maior incidência de infecções fúngicas do trato urinário nos pacientes diabéticos. A seguir seguem os principais mecanismos de predisposição a ITU em diabéticos detalhadamente.

Elevação da glicose

Bactérias crescem mais rapidamente em urina com altos níveis de glicose, e pacientes com diabetes de fato apresentam mais BA do que a população geral.²⁵ O aumento da glicemia leva conseqüentemente ao aumento da glicosúria (excreção urinária de glicose). No entanto, uma relação direta entre aumento da glicose sérica ou urinária e aumento do risco para ITU ainda não foi demonstrado claramente.

Geerlings *et al.* conduziram um estudo prospectivo com 589 mulheres com diabetes tipos 1 e 2 para verificar a incidência de ITU.²⁶ Não se demonstrou relação entre a hemoglobina glicada (HbA_{1c} - valor laboratorial sanguíneo que representa o controle glicêmico nos últimos 3 meses) e o risco de ITU. Uma ramificação de um dos estudos mais importantes historicamente na pesquisa sobre diabetes tipo 1, o EDIC (Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Study Cohort), compreendendo 528 mulheres, também não demonstrou associação entre HbA_{1c} recente e prevalência de cistite nos 12 meses anteriores.²⁷ Ressalte-se que 85% desta população tinha menos de 50 anos e apresenta diabetes bem controlado. Mais estudos são necessários para melhor definir o papel da glicosúria na patogênese das ITU.

Defesa do hospedeiro

Em 1997, foi publicado um estudo de Balasoiu *et al.* no qual não se constataram quaisquer diferenças em todos os testes de função granulocítica (quimiotaxia, opsonização, fagocitose e função bactericida) entre mulheres diabéticas com BA, mulheres diabéticas sem bacteriúria e controles saudáveis.²⁸ Entretanto, um estudo de Geerlings *et al.* publicado em 2000 mostrou que mulheres diabéticas com BA tinham menores concentrações urinárias de interleucina-6 e interleucina-8 quando comparadas a mulheres não diabéticas com BA.²⁹ Estas reduções nas concentrações de citocinas se correlacionaram com uma menor contagem leucocitária. Desta forma, aparentemente uma redução quantitativa e não qualitativa dos leucócitos tem papel na patogênese da BA e ITU em pacientes com diabetes.

Agentes causais

Boyko *et al.* identificaram os organismos patogênicos de ITU confirmadas por cultura em um estudo prospectivo de mulheres pós-menopausadas.³⁰ Nenhuma relação entre prevalência de determinado agente e o status do diabetes foi encontrada. Curiosamente, o primeiro episódio de BA detectado prospectivamente foi causado com menos frequência por *E. coli* e com mais frequência por *Klebsiella* e *Enterococcus* em mulheres com diabetes do que em mulheres sem diabetes.

Considerando-se que *E. coli* isoladas de pacientes imuno-comprometidos com ITU expressam menos fatores de virulência que aquelas isoladas de controles saudáveis, Geerlings *et al.* questionaram se o mesmo aconteceria em pacientes diabéticos com BA.³¹ Fímbrias do tipo 1 foi o fator de virulência mais prevalente (86% por genotipagem e 59% por fenotipagem). Exceto por uma menor prevalência de sorotipos-O uropatogênicos, foi encontrado o mesmo número de fatores de virulência no grupo de pacientes diabéticos que o descrito na literatura para pacientes imuno-competentes com BA. Certos fatores de virulência como fímbrias tipo 1 e S e fator citotóxico necrotizante das *E. coli* patogênicas se correlacionaram com risco de declínio da função renal.

Em 2002 foi publicado um estudo que avaliou a aderência de *E. coli* com fímbrias do tipo 1 ao epitélio urogenital de mulheres e observou-se que estas bactérias aderem melhor às células do epitélio urogenital isoladas de urina de pacientes diabéticas do que às de não diabéticas.³² Este aumento na aderência se correlacionou positivamente com os níveis de hemoglobina glicada, ou seja, pacientes mal controlados tiveram uma aderência maior das *E. coli* com fímbrias do tipo 1 ao seu epitélio urogenital em comparação com pacientes bem controlados.

Neuropatia autonômica e retenção urinária

A neuropatia autonômica do trato genito-urinário, uma complicação crônica comum do DM, leva a disfunção miccional e retenção urinária, reduzindo a

de purificação mecânica de bactérias pela micção e facilitando o crescimento bacteriano no trato urinário. Um estudo de 168 homens saudáveis e assintomáticos que foram selecionados durante consulta de rotina para avaliação da próstata demonstrou mais BA naqueles com maior volume pós-miccional residual (a hiperplasia da próstata age de forma mecânica impedindo o correto esvaziamento vesical) (Fig. 2).³³ No entanto, não se conseguiu comprovar relação entre o volume residual pós-miccional e risco de ITU.

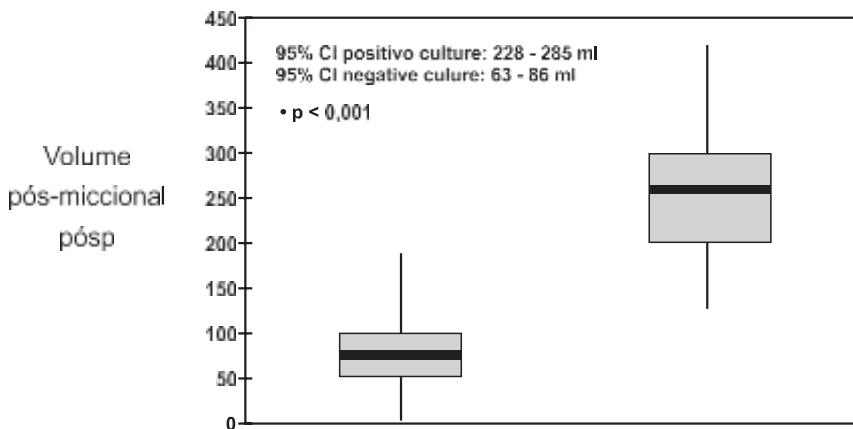


Fig. 2 Correlação entre volume residual pós-miccional e urocultura (Truzzi *et al.*).³³

O estudo de Boyko *et al.* com mulheres pós-menopausadas mostrou que o volume residual pós-miccional era maior naquelas diabéticas versus não diabéticas (49 vs 33ml).³⁰ No entanto, em análises multivariadas não se demonstraram relações entre presença e características do diabetes e risco de ITU, indicando que os principais efeitos do diabetes sobre o risco de ITU sintomática não são mediados pelo volume residual pós-miccional.

Infecção intracelular

Tradicionalmente entende-se a patogênese da ITU como repetidas inoculações de bactérias no trato urinário, como por meio do ato sexual, levando a ITUs recorrentes. Entretanto, estudos em modelos animais identificaram uma via de infecção intracelular usada por *E. coli* uropatogênica (UPEC) e outros uropatógenos gram-negativos na cistite.³⁴ Bactérias se ligam às células epiteliais da bexiga e as invadem num processo dependente das adesinas FimH dos pili tipo 1.³⁵ Uma vez no interior da célula epitelial, as UPEC se replicam no citoplasma, formando uma comunidade bacteriana intracelular (IBC –intracellular bacterial community) de até 10^5 bactérias densamente armazenadas. As bactérias nas IBCs podem subsequentemente se reativar

e sair da célula epitelial, perpetuando a infecção.³⁶ Em resposta a este processo, ocorre esfoliação das células epiteliais superficiais da bexiga, que são removidas pelo fluxo urinário. Para se proteger deste mecanismo de defesa do hospedeiro, as UPEC invadem camadas epiteliais mais profundas formando reservatórios intracelulares quiescentes (QIRs – quiescent intracellular reservoirs) que consistem de 6 a 8 bactérias “adormecidas” dentro de uma vesícula. Em um modelo animal de cistite mostrou-se serem as IBCs e os QIRs reservatórios intracelulares de bactérias dentro do tecido da bexiga, resistentes a antibióticos e a defesas imunes do hospedeiro, e capazes de reativação para causar ITU recorrente sem re-inoculação.³⁷ Vários estudos subsequentes comprovaram a presença de IBCs e QIRs em humanos.^{38, 39}

ITU complicadas associadas ao diabetes

Pielonefrite enfisematosa



Fig. 3 Pielonefrite enfisematosa (ar no rim esquerdo). Radiografia simples de rins e aparelho urinário de caso relatado por Mokabberi *et al.* mostrando ar envolvendo o rim direito e a pelve renal direita.⁴¹

A pielonefrite enfisematosa é uma infecção necrotizante com formação de gás dentro do parênquima renal ou do tecido perirrenal de elevada morbimortalidade⁴⁰ (Fig. 3 e 4). É uma doença rara, de maior incidência em mulheres. Até 87% dos pacientes com pielonefrite enfisematosa são diabéticos. Geralmente ocorre entre a sexta e oitava décadas de vida. É classificada em tipo 1 e tipo 2. O tipo 1 tem um curso fulminante de necrose progressiva e invasiva, trombose intravascular, microabscessos e formação de gás, com taxa de mortalidade de 70 a 90% e com evolução para insuficiência do rim acometido nos sobreviventes. O tipo 2 tem curso mais indolente, com coleção de líquido renal e perinéfrico com gás loculado. A taxa de mortalidade do tipo 2 é de aproximadamente 20%.⁴¹

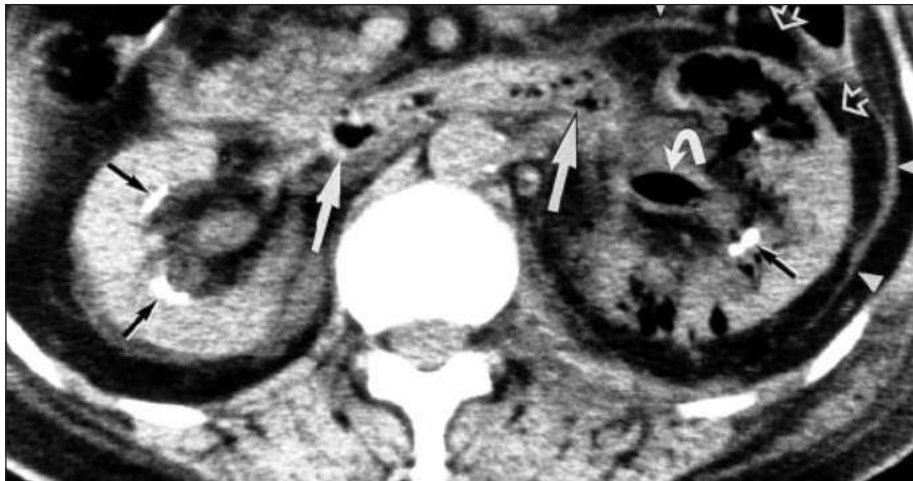


Fig. 4 Pielonefrite enfisematosa em mulher de 62 anos de idade com diabetes mal controlado. A tomografia computadorizada mostra aumento do rim esquerdo com gás no parênquima renal, pelve renal (seta curva) e espaço perirrenal (setas abertas). Gás na veia renal esquerda e na veia cava inferior (setas retas maiores) e espessamento da fásia de Gerota à esquerda (pontas de setas). Cálculos presentes no sistema coletor bilateralmente (setas retas menores).⁴²

A maioria dos pacientes se apresenta com sintomas de ITU, sem outros sintomas específicos, o que frequentemente gera atraso no diagnóstico. Cerca de 93% dos casos de pielonefrite enfisematosa tem acometimento unilateral, com predomínio de casos no rim esquerdo. A maioria dos casos de ITU enfisematosa é causada por organismos produtores de gás, incluindo *E. coli*, *Klebsiella*, *Proteus* e *Citrobacter*, mas organismos não produtores de gás, como *Enterococcus*, podem também estar envolvidos, o que pode indicar a ocorrência de infecções mistas (por mais de um micro-organismo). *Clostridium* spp. e outros anaeróbios formadores de gás raramente têm sido descritos como causadores de pielonefrite enfisematosa. O mecanismo de formação do gás ainda não está completamente esclarecido, especialmente nos casos de infecção por organismos não produtores de gás. De acordo com a literatura, o gás se forma por fermentação ácida da glicose e consiste de nitrogênio, hidrogênio, oxigênio e dióxido de carbono.⁴³

Abscesso renal e perinéfrico

A incidência dos abscessos renal e perinéfrico varia de 1 a 10 casos para cada 10.000 internamentos. Uma recente coorte de Taiwan identificou um risco relativo de abscesso renal e perinéfrico para pacientes diabéticos de 3,81 (IC 95% 3,44-4,23).⁴⁴ Algumas séries apontam que 14 a 75% dos pacientes com abscesso perinéfrico têm diabetes.⁴⁵ Afetam homens e mulheres na mesma proporção. Apresentam elevada mortalidade (21 a 56%).

Os abscessos parenquimatosos renais são divididos em abscessos corticais e abscessos cortico-medulares. Os abscessos corticais são causados, em sua maioria (mais de 90% dos casos,) por *S. aureus* e decorrem mais frequentemente de disseminação hematogênica de um foco distante de infecção, e apenas raramente decorrem de infecção ascendente do trato urinário. Já os abscessos cortico-medulares são tipicamente associados a alguma anormalidade do trato urinário, como refluxos e obstruções, geralmente ocorrendo após instrumentação do trato urinário.⁴⁶

Os micro-organismos mais frequentemente envolvidos são bactérias entéricas gram-negativas, como *E.coli*, *Klebsiella* e *Proteus*. O quadro clínico se assemelha ao de uma pielonefrite não complicada, a não ser pela presença, em metade dos casos, de massa palpável em flanco. Hemoculturas podem ser positivas. Os exames de imagem mais úteis para o diagnóstico são a ultrassonografia e a tomografia computadorizada⁴⁷ (Fig.5 e 6).

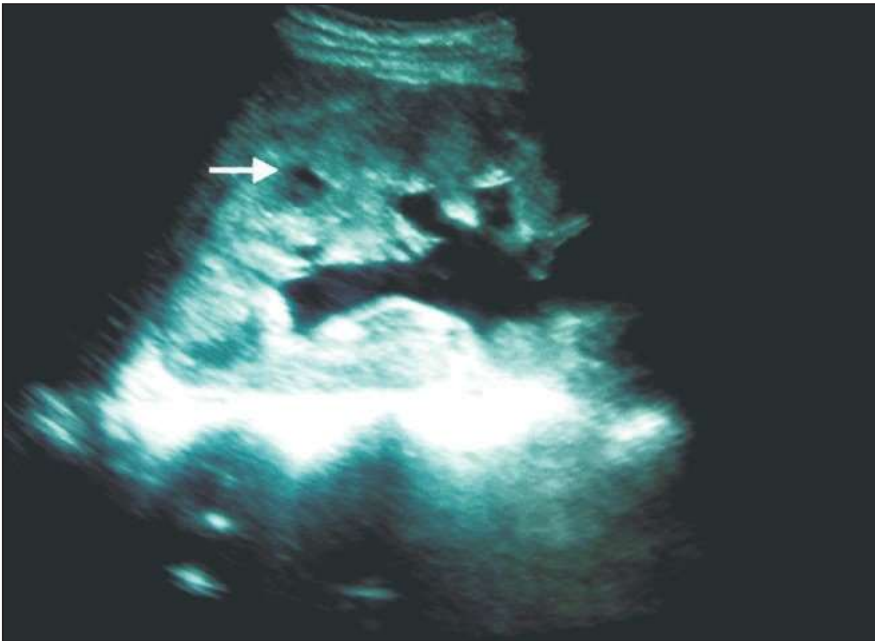


Fig. 5 Rim direito aumentado de tamanho (14 cm no maior diâmetro), com diminuição da diferenciação cortico-medular e uma imagem hipocogênica de 8 mm ao nível da cortical do polo superior, com conteúdo ecogênico no seu interior, sugestiva de abscesso cortico-medular. Moderada dilatação pielo-calicial e do ureter proximal. (Peces *et al.*)⁴⁸

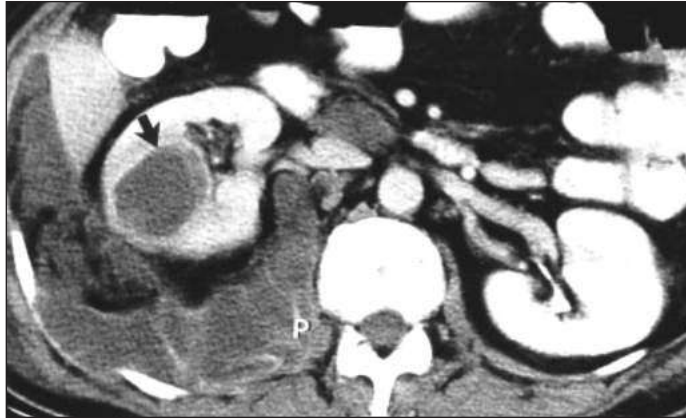


Fig. 6 Abscesso renal com extensão retroperitoneal e pélvica em homem de 42 anos. Tomografia computadorizada mostrando uma massa cística de paredes espessadas no rim direito, que se encontra rechaçado por grandes coleções de líquido perinéfrico e paranéfrico envolvendo o músculo psoas (P) (Kawashima *et al.*)⁴⁹.

O abscesso perinéfrico se caracteriza pela presença de material purulento entre a fáscia de Gerota e a cápsula renal, e geralmente resulta da ruptura de um abscesso parenquimatoso renal (Fig. 7). São raros os casos em que este tipo de abscesso é causado por extensão contígua de infecções intra-abdominais ou osteomielite. As bactérias mais comumente implicadas são *S. aureus* (de abscessos corticais renais) e enterobactérias gram-negativas (de abscessos cortico-medulares).

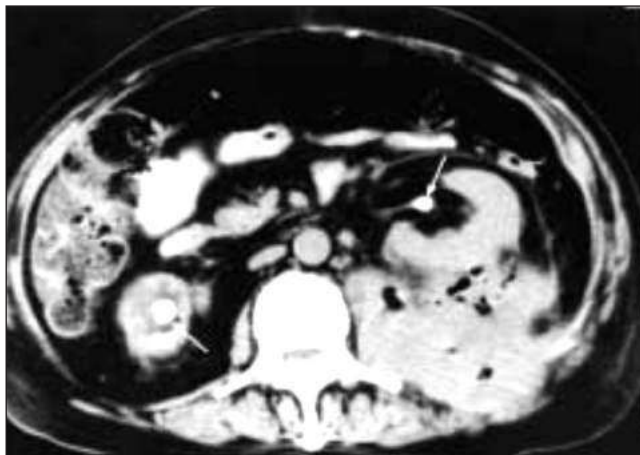


Fig. 7 Tomografia computadorizada mostrando extenso abscesso perinéfrico com bolsões de ar. Envolve o espaço pararenal posterior e a parede abdominal posterior, e desloca o rim esquerdo anteriormente em paciente diabético. Cálculo renal bilateral (setas) (Haddad *et al.*)⁵⁰.

O quadro clínico pode ser fulminante ou indolente, como ocorre com qualquer abscesso, e se assemelha ao de uma pielonefrite, com febre e hipersensibilidade em flanco. A urinálise somente será positiva se o abscesso decorrer de infecção ascendente do trato urinário. O diagnóstico geralmente depende de uma forte suspeita clínica, o que ocorre quando o paciente é tratado para pielonefrite sem melhora em quatro a cinco dias. A avaliação radiográfica por tomografia computadorizada é muito importante para o diagnóstico mais precoce e seu emprego foi responsável por uma queda da mortalidade desses casos de 50% para 0 a 5%.⁵¹

Tratamento

Apesar da alta prevalência das ITUs em diabéticos, são raros os ensaios clínicos abordando especificamente o tratamento da condição nesta população. As recomendações para tratamento das ITUs em diabéticos baseiam-se mais na experiência de especialistas do que propriamente em evidência científica. Discute-se se todas as ITUs em diabéticos devam ser consideradas “complicadas” *per se* e tratadas como tais.

Estudos com mulheres diabéticas não mostraram diferenças entre aquelas inicialmente bacteriúricas assintomáticas e as não bacteriúricas em relação à incidência de ITU, mortalidade ou progressão para complicações próprias do diabetes em 18 meses⁵² ou em 14 anos.⁵³ Em 2002, Harding *et al.*⁵⁴ randomizaram 108 mulheres diabéticas com BA para receber um curso de 3 ou 14 dias de sulfametoxazol-trimeoprim (SMX-TMP) ou placebo. Ciprofloxacino foi administrado às pacientes do grupo tratamento que se mostraram infectadas por uma bactéria resistente. Como as seis primeiras pacientes designadas para o grupo de 3 dias de antibioticoterapia apresentaram recidiva precoce da infecção, este braço do estudo foi descontinuado. Todas as pacientes foram subsequentemente rastreadas a cada 3 meses para bacteriúria, e as mulheres do grupo tratamento receberam antibioticoterapia novamente se se apresentaram bacteriúricas. Quatro semanas após o final do curso da terapia, 78% das mulheres do grupo placebo apresentavam bacteriúria, comparado a 20% das mulheres do grupo que recebeu antibiótico. Durante uma média de acompanhamento de 27 meses, 20 de 50 mulheres no grupo placebo (40%) e 23 de 55 mulheres no grupo tratamento (42%) tiveram pelo menos um episódio de ITU sintomática. O intervalo de tempo para o primeiro episódio sintomático foi semelhante nos dois grupos, assim como as taxas de qualquer ITU sintomática e de hospitalização por ITU. Os autores concluíram que o tratamento da BA em mulheres diabéticas não reduz complicações e que o diabetes por si só não deve ser uma indicação de rastreamento ou tratamento de BA. Outro estudo de grande importância foi publicado em 2006, demonstrando que mulheres com diabetes tipo 1 e tipo 2 com BA não tiveram aumento do risco de declínio da função renal ou de desenvolvimento de hipertensão em 6 anos de seguimento.⁵⁵ Estes estudos corroboram as diretrizes da IDSA (Infectious Diseases Society of America) de que o rastreamento ou tratamento de BA em mulheres com diabetes não estão indicados.⁵⁶

Para cistite bacteriana aguda em diabéticos, muitos especialistas recomendam um regime oral de antibioticoterapia de 7 a 14 dias, ao invés da recomendação habitual de 3 dias de tratamento para cistite não complicada, devido ao frequente envolvimento assintomático do trato urinário superior e à possibilidade de complicações sérias.^{57, 58} Apesar de alguns autores alegarem que para pacientes diabéticos a escolha do agente antimicrobiano não difere do tratamento para pacientes saudáveis, a maioria dos autores prefere agentes antimicrobianos que alcancem níveis elevados não somente na urina mas também nos tecidos do trato urinário, como fluoroquinolonas, SMX-TMP e amoxicilina-clavulanato.^{58,59} Esta preocupação encontra embasamento nos estudos mostrando invasão intracelular por *E. coli* citados anteriormente.^{36,38,39} Tanto SMX-TMP quanto as fluoroquinolonas se provaram efetivas, porém mais efetivas do que os agentes betalactâmicos.⁶⁰ Em regiões com taxa de resistência ao SMX-TMP maior que 20% a primeira escolha deve ser uma fluoroquinolona.⁶¹ Deve-se também considerar o possível efeito hipoglicêmico do SMX-TMP observado quando usado em altas doses.⁶²

Em todos os casos de suspeita de pielonefrite em pacientes diabéticos uma urocultura antes de iniciado o tratamento está indicada, assim como hemoculturas se o paciente estiver gravemente enfermo.⁵⁷ O tratamento da pielonefrite não complicada não difere entre os pacientes diabéticos e não diabéticos. Pacientes diabéticos geralmente são tratados em nível hospitalar, com uma fluoroquinolona ou cefalosporina parenterais como terapia inicial. Em populações com taxa de resistência ao SMX-TMP menor que 15% o uso deste antibiótico é uma alternativa possível. Após 48 a 72 horas, se houver resolução dos sintomas, a terapia oral pode ser iniciada. Estas recomendações são baseadas na prática clínica, já que os estudos randomizados comparando terapia oral versus parenteral excluíram pacientes com doenças prévias como diabetes. A duração padrão do tratamento para pielonefrite não complicada para pacientes diabéticos e não diabéticos é de 14 dias.^{58,60} Em diabéticos, uma urocultura de controle (2 a 4 semanas após o tratamento) é considerada útil na detecção de recidiva precoce e por causa da alta taxa de falha terapêutica.⁵⁹

O tratamento da pielonefrite enfisematosa deve ser iniciado assim que o diagnóstico é feito. Apesar de existirem casos relatados com tratamento bem sucedido com antibioticoterapia isolada^{64,65}, a mortalidade geral dos pacientes submetidos a tratamento clínico isolado chega a 90%. Em casos com abscesso, deve-se iniciar o tratamento com antibióticos endovenosos e drenagem do abscesso guiada por tomografia computadorizada.⁶⁶ Como última alternativa, nefrectomia deve ser a conduta na falha terapêutica ou quando houver somente melhora parcial da condição geral do paciente com a conduta inicial. Obstrução deve ser corrigida.⁶⁷

Os abscessos parenquimatosos renais podem ser tratados apenas com antibioticoterapia, porém a drenagem deve ser imediata se não houver melhora clínica em alguns dias, se a coleção for grande ou se houver uropatia obstrutiva associada.⁴⁵ Ao contrário dos abscessos renais, os abscessos perinéfricos exigem drenagem em combinação com antibioticoterapia prolongada.⁵¹

REFERÊNCIAS

1. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 2004;27(5):1047-53.
2. Hossain P, Kavar B, El Nahas M. Obesity and Diabetes in the Developing World - A Growing Challenge. *N Eng J Med* 2007;356(3):213-5.
3. Sentochnik D, Eliopoulos G. Infecção e diabetes. Em: Kahn, CR, Weir GC, King GL, Jacobson AM, Moses AC, Smith RJ, eds. *Joslin: Diabetes Mellitus*, 14ª ed. (traduzida). Artmed, 2009:1029-45.
4. van der Meer JWM. Defects in host defense mechanisms. In: Rubin RR, Young LS, eds. *Clinical approach to infection in the compromised host*, 3rd ed. New York: Plenum Medical Book Company, 1994:33-66.
5. Mowat AG, Baum J. Chemotaxis of polymorphonuclear leukocytes from patients with diabetes mellitus. *N Eng J Med* 1971;284:621-7.
6. Bybee JD, Rogers DE. The phagocytic activity of polymorphonuclear leukocytes obtained from patients with diabetes mellitus. *J Lab Clin Med* 1964;64:1-13.
7. Bagdade JD, Root RK, Bulger RJ. Impaired leukocyte function in patients with poorly controlled diabetes. *Diabetes* 1974;23:9-15.
8. Bagdade JD, Stewart M, Walters E. Impaired granulocyte adherence. A reversible defect in host defense in patients with poorly controlled diabetes. *Diabetes* 1978;27(6):677-81.
9. Rayfield EJ, Ault MJ, Keusch GT, Brothers MJ, Nechemias C, Smith H. Infection and diabetes: the case for glucose control. *Am J Med* 1982;72(3):439-50.
10. Tan JS, Anderson JL, Watanakunakorn C, Phair JP. Neutrophil dysfunction in diabetes mellitus. *J Lab Clin Med* 1975;85(1):26-33.
11. Repine JE, Clawson CC, Goetz FC. Bactericidal function of neutrophils from patients with acute bacterial infections and from diabetics. *J Infect Dis* 1980;142(6):869-75.
12. Naghibi M, Smith RP, Baltch AL, Gates SA, Wu DH, Hammer MC, Michelsen PB. The effect of diabetes mellitus on chemotactic and bactericidal activity of human polymorphonuclear leukocytes. *Diabetes Res Clin Pract* 1987;4:27-35.
13. Geisler C, Almdal T, Bennedsen J, Rhodes JM, KØLendorf K. Monocyte functions in diabetes mellitus. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand* 1982;90C:33-7.
14. Katz S, Klein B, Elian I, *et al.* Phagocytic activity of monocytes from diabetic patients. *Diabetes Care* 1983;6:479-82.
15. Hill HR, Augustine NH, Rallison ML, *et al.* Defective monocyte chemotactic response in diabetes mellitus. *Clin Immunol* 1983;3:70-7.
16. Speert DP, Silva J Jr. Abnormalities of in vitro lymphocyte response to mitogens in diabetic children during acute ketoacidosis. *Am J Dis Child* 1978;132(10):1014-7.

17. Faustman D, Eisenbarth G, Daley J, Breitmeyer J. Abnormal T-lymphocyte subsets in type I diabetes. *Diabetes* 1989;38(11):1462-8.
18. Valerius NH, Eff C, Hansen NE, Karle H, Nerup J, Sjøberg B, Sørensen SF. Neutrophil and lymphocyte function in patients with diabetes mellitus. *Acta Med Scand* 1982;211(6):463-7.
19. Colgan R, Nicolle LE, McGlone A, Hooton TM. Asymptomatic bacteriuria in adults. *Am Fam Physician* 2006;74(6):985-90.
20. Shah BR, Hux JE. Quantifying the risk of infectious diseases for people with diabetes. *Diabetes Care* 2003;26:510-3.
21. Muller LM, Gorter KJ, Hak E, *et al.* Increased risk of common infections in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Clin Infect Dis* 2005; 41:281-8.
22. Geerlings SE, Stolk RP, Camps MJ, Netten PM, Hoekstra JB, Bouter KP, Bravenboer B, Collet JT, Jansz AR, Hoepelman AI. Asymptomatic bacteriuria may be considered a complication in women with diabetes. *Diabetes Mellitus Women Asymptomatic Bacteriuria Utrecht Study Group. Diabetes Care* 2000;23(6):744-9.
23. Boyko EJ, Fihn SD, Scholes D, Chen CL, Normand EH, Yarbro P. Diabetes and the risk of acute urinary tract infection among postmenopausal women. *Diabetes Care* 2002;25:1778-83.
24. Hosking DJ, Bennett T, Hampton JR. Diabetic autonomic neuropathy. *Diabetes* 1978;27:1043-55.
25. Geerlings SE, Stolk RP, Camps MJ, Netten PM, Hoekstra JB, Bouter KP, Bravenboer B, Collet JT, Jansz AR, Hoepelman AI. Asymptomatic bacteriuria may be considered a complication in women with diabetes. *Diabetes Mellitus Women Asymptomatic Bacteriuria Utrecht Study Group. Diabetes Care* 2000; 23(6):744-9.
26. Geerlings SE, Stolk RP, Camps MJ, Netten PM, Collet TJ, Hoepelman AI; Diabetes Women Asymptomatic Bacteriuria Utrecht Study Group. Risk factors for symptomatic urinary tract infection in women with diabetes. *Diabetes Care* 2000;23(12):1737-41.
27. Czaja CA, Rutledge BN, Cleary PA, Chan K, Stapleton AE, Stamm WE; Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Research Group. Urinary tract infections in women with type 1 diabetes mellitus: survey of female participants in the epidemiology of diabetes interventions and complications study cohort. *J Urol* 2009;181(3):1129-34.
28. Balasoiu D, Van Kessel KC, Kats-Renaud HJ, Collet TJ, Hoepelman AI. Granulocyte function in women with diabetes and asymptomatic bacteriuria. *Diabetes Care* 1997;20:392-5.
29. Geerlings SE, Brouwer EC, Van Kessel KC, Gaastra W, Stolk RP, Hoepelman AI. Cytokine secretion is impaired in women with diabetes mellitus. *Eur J Clin Invest* 2000;30:995-1001.
30. Boyko EJ, Fihn SD, Scholes D, Abraham L, Monsey B. Risk of urinary tract infection and asymptomatic bacteriuria among diabetic and nondiabetic postmenopausal women. *Am J Epidemiol* 2005;161:557-64.

31. Geerlings SE, Brouwer EC, Gaastra W, Stolk R, Diepersloot RJ, Hoepelman AI. Virulence factors of *Escherichia coli* isolated from urine of diabetic women with asymptomatic bacteriuria: correlation with clinical characteristics. *Antonie Van Leeuwenhoek* 2001;80(2):119-27.
32. Geerlings SE, Meiland R, van Lith EC, Brouwer EC, Gaastra W, Hoepelman AI. Adherence of type 1-fimbriated *Escherichia coli* to uroepithelial cells: more in diabetic women than in control subjects. *Diabetes Care* 2002;25:1405-9.
33. Truzzi JC, Almeida FM, Nunes EC, Sadi MV. Residual urinary volume and urinary tract infection—when are they linked? *J Urol* 2008;180:182-5.
34. Anderson GG, Palermo JJ, Schilling JD, Roth R, Heuser J, Hultgren SJ. Intracellular bacterial biofilm-like pods in urinary tract infections. *Science* 2003;301(5629):105-7.
35. Martinez JJ, Mulvey MA, Schilling JD, Pinkner JS, Hultgren SJ. Type 1 pilus-mediated bacterial invasion of bladder epithelial cells. *EMBO J* 2000;19(12):2803-12.
36. Mulvey MA, Schilling JD, Hultgren SJ. Establishment of a persistent *Escherichia coli* reservoir during the acute phase of a bladder infection. *Infect Immun* 2001;69:4572-9.
37. Schilling JD, Lorenz RG, Hultgren SJ. Effect of trimethoprim-sulfamethoxazole on recurrent bacteriuria and bacterial persistence in mice infected with uropathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun* 2002;70:7042-9.
38. Garofalo CK, Hooton TM, Martin SM, Stamm WE, Palermo JJ, Gordon JI, Hultgren SJ. *Escherichia coli* from urine of female patients with urinary tract infections is competent for intracellular bacterial community formation. *Infect Immun* 2007;75:52-60.
39. Rosen DA, Hooton TM, Stamm WE, Humphrey PA, Hultgren SJ. Detection of intracellular bacterial communities in human urinary tract infection. *PLoS Med* 2007;4:e329.
40. Kumar A, Turney JH, Brownjohn AM, McMahon MJ. Unusual bacterial infections of the urinary tract in diabetic patients - rare but frequently lethal. *Neph Dial Transplant* 2001;16:1062-5.
41. Mokabberi R, Ravakhah K. Emphysematous urinary tract infections: diagnosis, treatment and survival (case review series). *Am J Med Sci* 2007;333(2):111-6.
42. Kawashima A, Sandler CM, Goldman SM. Imaging in acute renal infection. *BJU Int* 2000;86 Suppl 1:70-9.
43. Chen MT, Huang CN, Chou YH, Huang CH, Chiang CP, Liu GC. Percutaneous drainage in the treatment of emphysematous pyelonephritis: 10-year experience. *J Urol* 1997;157:1569-73.
44. Ko MC, Liu CC, Liu CK, Woung LC, Chen HF, Su HF, Li CY. Incidence of renal and perinephric abscess in diabetic patients: a population-based national study. *Epidemiol Infect* 2010;18:1-7.
45. Patterson JE, Andriole VT. Renal and perirenal abscesses. *Infect Dis Clin North Am* 1987;1(4):907-26.

46. Saiki J, Vaziri ND, Barton C. Perinephric and Intranephric Abscesses: A Review of the Literature. *West J Med* 1982;136(2):95–102.
47. van Det RJ, van Helsdingen PJ, Mallens WM. The renal and perirenal abscess: the role of ultrasound and computed tomography in its diagnosis, localization and treatment. *Neth J Surg* 1984;36(5):137-42.
48. Peces R, Peces C, Benítez A, Sánchez Villanueva R, Cuesta E. Pregnant patient with acute pyelonephritis and renal corticomedullary abscess: ultrasound and MRI imaging. *Nefrologia* 2009;29(5):492-4.
49. Kawashima A, Sandler CM, Goldman SM, Raval BK, Fishman EK. CT of renal inflammatory disease. *Radiographics* 1997;17:851-66.
50. Haddad MC, Hawary MM, Houry NJ, Abi-Fakher FS, Ammouri NF, Al-Kutoubi AO. Radiology of perinephric fluid collections. *Clin Radiol* 2002;57(5):339-46.
51. Hutchison FN, Kaysen GA. Perinephric abscess: the missed diagnosis. *Med Clin North Am* 1988;72(5):993-1014.
52. Geerlings SE, Stolk RP, Camps MJ, Netten PM, Collet JT, Schneeberger PM, Hoepelman AI. Consequences of asymptomatic bacteriuria in women with diabetes mellitus. *Arch Intern Med* 2001;161:1421-7.
53. Semetkowska-Jurkiewicz E, Horoszek-Maziarz S, Galinski J, Manitus A, Krupa-Wojciechowska B. The clinical course of untreated asymptomatic bacteriuria in diabetic patients—14-year follow-up. *Mater Med Pol* 1995;27:91-5.
54. Harding GK, Zhanel GG, Nicolle LE, Cheang M, for the Manitoba Diabetes Urinary Tract Infection Study Group. Antimicrobial treatment in diabetic women with asymptomatic bacteriuria. *N Engl J Med* 2002;347:1576-83.
55. Meiland R, Geerlings SE, Stolk RP, Netten PM, Schneeberger PM, Hoepelman AIM. Asymptomatic Bacteriuria in Women With Diabetes Mellitus. Effect on Renal Function After 6 Years of Follow-up. *Arch Intern Med* 2006;166:2222-7.
56. Nicolle LE, Bradley S, Colgan R, Rice JC, Schaeffer A, Hooton TM; Infectious Diseases Society of America; American Society of Nephrology; American Geriatric Society. Infectious Diseases Society of America guidelines for the diagnosis and treatment of asymptomatic bacteriuria in adults. *Clin Infect Dis* 2005;40:643-54.
57. Patterson JE, Andriole VT. Bacterial urinary tract infections in diabetes. *Infect Dis Clin North Am* 1997;11(3):735-50.
58. Stamm WE, Hooton TM. Management of urinary tract infections in adults. *N Engl J Med* 1993;329(18):1328-34.
59. Schaeffer AJ. Bacterial urinary tract infections in diabetes. *J Urol* 1998;160(1):293.
60. Warren JW, Abrutyn E, Hebel JR, Johnson JR, Schaeffer AJ, Stamm WE. Guidelines for antimicrobial treatment of uncomplicated acute bacterial cystitis and acute pyelonephritis in women. *Clin Infect Dis* 1999;29(4):745-58.
61. Kahlmeter G. An international survey of the antimicrobial susceptibility of pathogens from uncomplicated urinary tract infections: the ECO.SENS project. *J Antimicrob Chemother* 2003;51(1):69- 76.

62. Poretsky L, Moses AC. Hypoglycemia associated with trimethoprim/sulfamethoxazole therapy. *Diabetes Care* 1984;7(5):508-9.
63. Johnson JR, Stamm WE. Urinary tract infections in women: diagnosis and treatment. *Ann Int Med* 1989;111(11):906-17.
64. Nagappan R, Kletchko S. Bilateral emphysematous pyelonephritis resolving to medical therapy. *J Intern Med* 1992;232:77-80.
65. Grozel F, Berthezène Y, Guérin C, Tran-Minh VA, Croisille M. Bilateral emphysematous pyelonephritis resolving to medical therapy: demonstration by US and CT. *Eur Radiol* 1997;7(6):844-6.
66. Kaiser E, Fournier R. Emphysematous pyelonephritis: diagnosis and treatment. *Ann Urol (Paris)* 2005;39:49-60.
67. Perlmutter AE, Mastromichaelis M, Zaslau S. Emphysematous cystitis: a case report and literature review. *W V Med J* 2004;100:232-2.

16. INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO EM IDOSOS

Felipe Francisco Tuon

Introdução

Um dos maiores problemas nos pacientes idosos é a infecção em geral (incluindo a infecção do trato urinário), cuja incidência e prevalência aumentam com a idade. As manifestações clínicas, a morbidade, a mortalidade e a recuperação funcional são diferentes nos pacientes idosos. Até mesmo os agentes etiológicos para uma mesma infecção são diferentes quando comparados com pacientes jovens.

O tratamento das infecções em idosos deve ser repensado não apenas pela etiologia, mas também pelas mudanças fisiológicas que levam à modificações na farmacocinética e farmacodinâmica dos antibióticos prescritos. A associação de medicamentos, devido à presença de outras comorbidades, deve alertar o clínico para o risco de interação entre drogas, além dos efeitos adversos serem mais comuns nesta faixa etária.

O trato urinário é estéril. A bacteriúria assintomática é mais comum em idosos e a chance de contaminação também é maior. A amostra de urina deve ser coletada da forma mais correta possível para evitar contaminação. O jato médio durante a micção é a amostra ideal, porém, necessita um bom controle da micção e volume adequado na bexiga, o que pode ser problemático nos pacientes idosos. Outras formas de amostras com coletores torna maior a chance de contaminação. A Sociedade Americana de Doenças Infecciosas define bacteriúria assintomática quando há quantidade maior ou igual a 10^5 UFC/mL de uma única espécie de bactéria em duas amostras de mulher e em uma amostra de homem. Para pacientes em uso de sondas vesicais, consideram o valor de corte em quantidade igual ou maior que 10^2 UFC/mL.¹ Pacientes que apresentam bacteriúria e sintomas urinários preenchem diagnóstico de ITU.

Prevalência e incidência

A bacteriúria com mais de 10^5 UFC/mL é comum em pacientes idosos. Está presente em até 5% das mulheres em idade fértil, chegando a 10% naquelas com mais de 65 anos.² Nos homens jovens a bacteriúria é rara, mas a prevalência aumenta com a idade, chegando a 5%.³ Não existem estudos de incidência de ITU em pacientes idosos ambulatoriais. Um estudo demonstrou que 10% de pacientes idosos desenvolverão bacteriúria dentro de três anos, e destes, em mais de 70% a bacteriúria é transitória, desaparecendo em algumas semanas.⁴

Num outro extremo temos os idosos que não deambulam e fazem parte do grupo de pacientes institucionalizados (moram em albergues, lares de idosos ou asilos), o que nos Estados Unidos chamam de *long term care facilities*. Nesta população encontra-se uma grande quantidade de pessoas com sequelas neurológicas e demência, assim como pacientes acamados que necessitam de cuidados especiais, gerando um maior número de infecções, além do maior uso de dispositivos invasivos, principalmente sonda vesical, porta de entrada para os micro-organismos desenvolverem bacteriúria e ITU.

Foram realizados diversos estudos de prevalência e incidência de bacteriúria em pacientes institucionalizados. A incidência de ITU varia entre 40 a 90 novas infecções/pacientes-ano.^{5, 6} Além da alta incidência, é notável a recorrência neste grupo de pacientes. A recorrência é geralmente causada por diferentes espécies e quando a espécie é a mesma, foi demonstrado que a cepa é diferente, sugerindo recolonização (*high turnover*).⁷

Ainda no grupo de pacientes institucionalizados e homens com neoplasia ou hiperplasia prostática, a presença de sonda vesical é elevada, chegando a 5% em alguns estudos observacionais.⁸ O dispositivo invasivo favorece a entrada de micro-organismos através da alteração funcional da uretra até a bexiga, além da formação de biofilme. O biofilme nada mais é que a colonização do catéter sintético por bactérias capazes de se aderir e formar uma matriz extracelular espessa, impedindo a sua eliminação, seja de forma mecânica ou mesmo com antibióticos. Isto significa que mesmo com um tratamento adequado, a presença da sonda favorecerá uma nova ITU.

Em resumo, a prevalência de bacteriúria aumenta com a idade em ambos os sexos. Pacientes institucionalizados apresentam taxas de bacteriúria extremamente elevada e a presença de sonda vesical contribui para o aumento na prevalência de bacteriúria.

Morbidade e mortalidade

A ITU complicada pode estar relacionada com: alteração funcional ou estrutural do trato urinário (obstrução ao fluxo normal), adquirida no hospital, diabetes melito, presença de catéter ureteral, gravidez, instrumentação urinária recente, história de ITU na infância, anormalidade anatômica ou funcional do trato urinário, pielonefrite aguda no último ano, tratamento antimicrobiano recente (último mês), recidiva documentada de ITU no último ano, imunossupressão, três ou mais ITUs no último ano e uropatógeno multirresistente. Nos pacientes idosos, as alterações de fluxo urinário e as comorbidades (ex.: *diabete*) aumentam a chance de ITU complicada, necessitando maior atenção do clínico.

A mortalidade na ITU complicada é elevada e é manejada como uma sepse grave necessitando internação, antibióticos de largo espectro e procedimentos invasivos. Essa evolução de ITU é incomum, justificando a baixa mortalidade. Imaginava-se que a presença de bactérias na urina seria fator relacionado com alta

mortalidade. Porém, estudos mostram que a bacteriúria assintomática não é preditor de mortalidade nos pacientes idosos e o seu tratamento também não muda a mortalidade.⁹ A mortalidade de pielonefrite em idosos é maior que nos jovens, relacionada à resposta imune inadequada na sepse, atraso no diagnóstico devido à inespecificidade de sintomas, uso prévio de sonda vesical e maior resistência a antimicrobianos, o que favorece o erro na prescrição do antibiótico.

As complicações locais da ITU são epididimite e prostatite em homens. Cálculos renais e na bexiga podem aparecer quando ocorre infecção recorrente por bactérias produtoras de urease, como *Proteus* spp.

Patogênese

Por que a taxa de ITU e bacteriúria assintomática é maior em pacientes idosos? A explicação mais utilizada pelos clínicos é a diminuição da imunidade com a idade. Porém, a alteração da imunidade que ocorre com o avanço da idade não justifica o aumento da ITU, uma vez que a incidência é superior à dos pacientes com imunossupressão mais agressiva, como transplantados ou com infecção avançada pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV).

As alterações funcionais e estruturais são as melhores explicações de aumento de ITU nos idosos, tanto em homens quanto em mulheres. Nos homens, o aumento progressivo da próstata facilita a retenção urinária e altera o fluxo normal da urina. Além disso, a incidência de prostatite crônica aumenta e isso está relacionado com diagnóstico de ITU recorrente.¹⁰ Fibrose e obstrução uretral ou ureteral são mais comuns em homens com idade avançada devido neoplasia e nefrolitíase.

A atrofia da mucosa do trato urinário aumenta o risco de ITU em mulheres após a menopausa. As alterações facilitam a colonização bacteriana e também aumentam o volume residual de urina na bexiga.¹¹

Microbiologia

O grupo *Enterobacteriaceae* é responsável por mais de 70% das ITUs em idosos. Neste grupo de bacilos gram-negativos se enquadram *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Proteus mirabilis*. Outros bacilos gram-negativos pertencentes ao grupo também podem causar ITUs, embora menos frequentemente, como *Enterobacter aerogenes*, *Serratia* spp., *Citrobacter freundii* e *Morganella morganii*.

Cocos gram-positivos como *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium* são responsáveis por uma parcela significativa de ITUs. Em um levantamento com aproximadamente 10 mil culturas de urina na cidade de Curitiba (Paraná) provenientes de amostras da comunidade, *Enterococcus* foi o segundo microorganismo mais comum após *Escherichia coli*. A proporção de *Enterococcus* foi maior nas faixas etárias acima de 70 anos (figura 1).

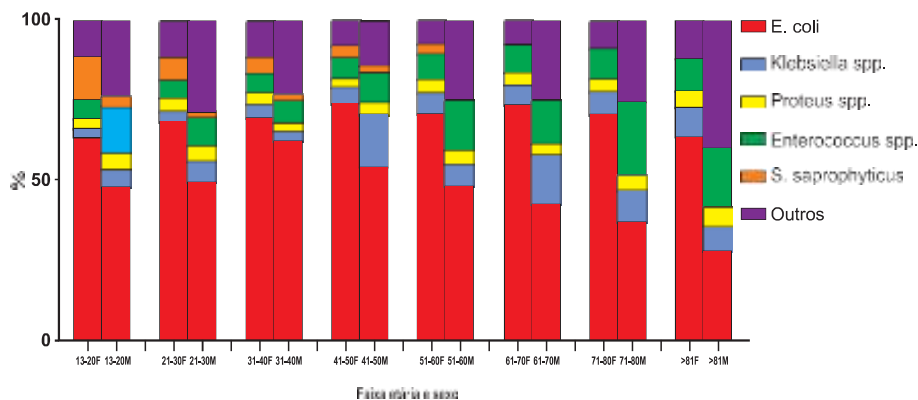


Figura 1. –Relação entre as faixas etárias, os principais uropatógenos (cores) e o gênero (F – feminino e M – masculino) em uma amostra de 10.000 culturas de urina da cidade de Curitiba (PR) com amostras da comunidade. (Tuon FF & Rocha JR. MEDTROP 2010)

Ainda na figura 1 fica claro o aumento de bactérias classificadas como “outras”.

Isto demonstra que nos pacientes idosos há uma maior variabilidade de espécies, onde se incluem *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii* e outras *Enterobacteriaceae*, cujos perfis de resistência podem comprometer a escolha do antimicrobiano ideal nos pacientes idosos, principalmente no grupo de octogenários.

Outros estudos demonstram que não existe uma mudança importante no perfil de bactérias entre pacientes idosos e jovens, mas são estudos internacionais e podem não ser compatíveis com a nossa realidade. Além disso, estas casuísticas são menores que a demonstrada por nós.¹²

O perfil de resistência dos principais uropatógenos tem mudado nas últimas décadas. Entre as *Enterobacteriaceae*, a sensibilidade para penicilinas sintéticas (amoxicilina e ampicilina) é baixa, entre 40 e 60%. Um dos antibióticos mais recomendados durante muitos anos para o tratamento de ITU foi o sulfametoxazol/trimetoprim, cuja resistência tem alcançado valores de até 60% conforme o estudo epidemiológico, sem levar em consideração a faixa etária. Com o surgimento crescente da resistência à associação, houve um aumento importante do consumo das quinolonas. Estes antibióticos apresentavam sensibilidade superior a 90% há algumas décadas. Como era de se esperar, o uso abusivo, seja para o tratamento de ITU ou de infecção em outros sítios (pneumonias, sinusites e infecções de pele), promoveu o aumento da resistência. O perfil de resistência vem-se alterando, alcançando até 50% conforme a população e idade estudados. Entre os antibióticos com menor resistência estão as cefalosporinas de 3ª ou 4ª geração e os carbapenêmicos.

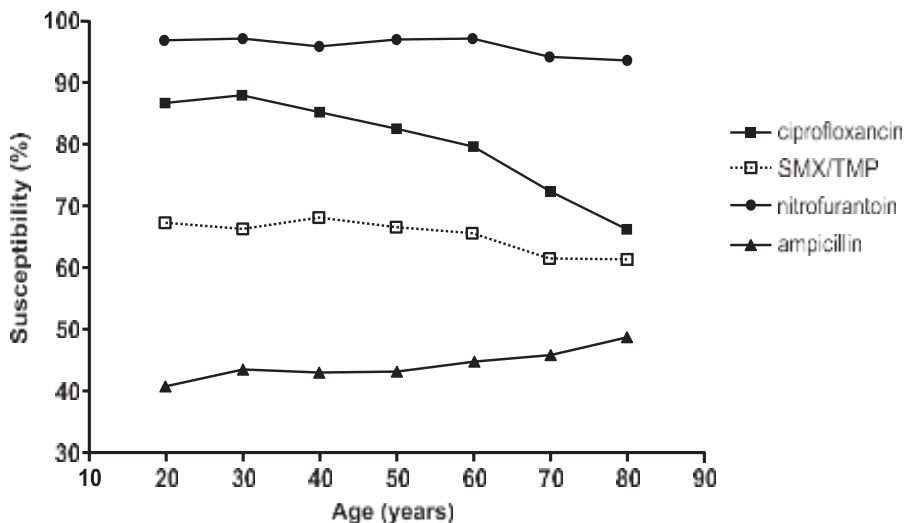


Figura 2. Diminuição de suscetibilidade de *Escherichia coli* para os principais antimicrobianos usados em ITU em uma amostra de 9000 culturas de pacientes ambulatoriais (Tuon FF & Rocha JR. MEDTROP 2010).

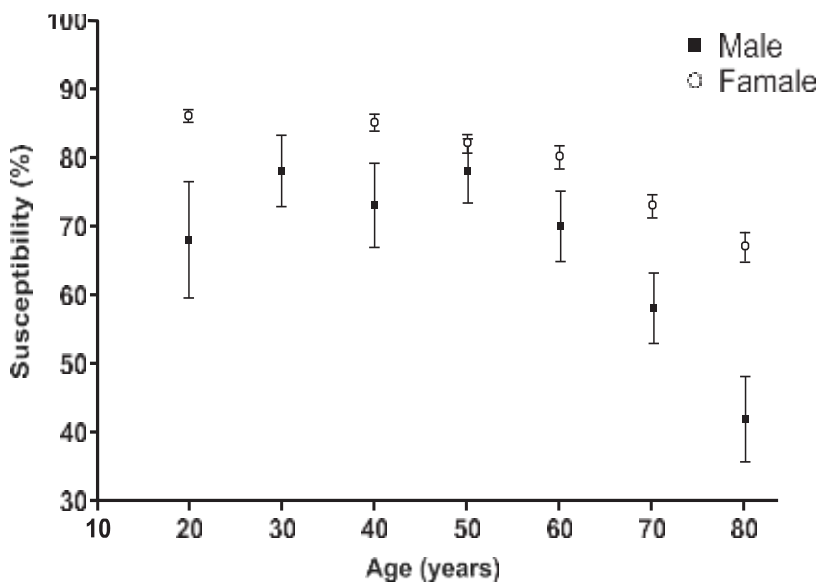


Figura 3. Tendência de aumento da resistência a ciprofloxacino conforme a idade para *Escherichia coli*. As curvas confrontam a maior resistência na população masculina de idosos (Tuon FF & Rocha JR. MEDTROP 2010).

O uso prévio e frequente de antibióticos, os internamentos prévios, a procedência de casa de repouso e o histórico de cateterismo vesical têm sido descritos como os principais fatores de risco para desenvolvimento de ITU por bactérias resistentes a cefalosporinas e quinolonas na população acima de 65 anos. Na faixa etária em questão há destaque para o aumento de uropatógenos produtores de β -lactamase de espectro estendido (ESBL), para os quais há evidências de que as quinolonas, aminoglicosídeos ou penicilinas associadas a bloqueadores de β -lactamases são menos eficazes que os carbapenêmicos.

A correta seleção do tipo de carbapenêmico para tratamento de ITUs complicadas e com risco de patógenos resistentes depende do conhecimento da distinção entre carbapenêmicos antipseudomonas (imipenem/cilastatina, meropenem e doripenem) e carbapenêmicos sem atividade contra *Pseudomonas (ertapenem)*.

Quadro clínico

Os sinais e sintomas clássicos de ITU incluem disúria, incontinência, aumento da frequência, urgência miccional, hematúria e dor suprapúbica. Quando pielonefrite está presente, dor em flanco e febre são encontrados. O exame físico na ITU baixa é pouco alterado, sendo dor à palpação profunda de hipogástrio o achado mais comum. Na pielonefrite, o quadro de febre pode ser acompanhado de náusea e vômitos, dor abdominal, hiporexia, tontura e mal-estar. O exame físico apresenta sinais inespecíficos de infecção sistêmica, como taquicardia, taquipneia, sudorese, pele fria e diminuição da perfusão tecidual, que pode evoluir nos casos mais graves para hipotensão e confusão mental.

A alteração macroscópica no aspecto da urina é referida pela maioria dos pacientes, desde hematúria, turvação e até mesmo piúria.

Em pacientes idosos, porém, o clínico deve estar atento para outros sinais, como confusão mental (*delirium*), fraqueza e sinais inespecíficos. Uma das dificuldades no diagnóstico clínico também está relacionada com a dificuldade de se obter uma adequada anamnese devido demência ou outras condições neurológicas. É importante não apenas subestimar um diagnóstico de ITU, mas considerar que os sinais que se esteja atribuindo para esta infecção, possam na realidade fazer parte de outro diagnóstico diferencial. Isso é importante mesmo quando o quadro é fortemente sugestivo de ITU.¹³

Em pacientes institucionalizados, ITU é responsável por 10 % dos casos de febre. É importante ter em mente que neste grupo de pacientes a hemocultura apresenta maior chance de positividade que em outros grupos populacionais, justificando a sua realização. Por outro lado, colabora com os diagnósticos diferenciais quando um micro-organismo diferente daquele da urocultura é identificado.

Em resumo, a exclusão de outros diagnósticos é muito importante em pacientes idosos com ITU e febre.

Exames laboratoriais

A cultura de urina é obrigatória para o diagnóstico microbiológico da ITU. O exame deve ser sempre solicitado em pacientes idosos, devido às dificuldades de diagnóstico da ITU nesta população. Em pacientes jovens, a cultura é pouco solicitada pelos clínicos, sendo restrita apenas aos casos em que não há resposta terapêutica. A urocultura não apenas ajuda no diagnóstico, como também permite adaptar o melhor antibiótico através da identificação da espécie e do perfil de resistência através do antibiograma. Para que se tenha o benefício do resultado da cultura, é necessária a sua realização antes da introdução do antibiótico. A absorção da maioria dos antibióticos é rápida e a excreção renal promoverá rapidamente a diminuição da quantidade de bactérias, diminuindo a chance de identificação do micro-organismo.

Nos homens com continência urinária a coleta do jato médio é ideal. Nos pacientes em uso de coletor externo através de condom, este deve ser trocado antes da coleta, embora o clínico deva estar ciente da possibilidade de contaminação. Naqueles em uso de sonda vesical de demora, a coleta deve ser realizada através do dispositivo de borracha próximo à uretra. Deve ser clampeado o sistema antes da entrada na bolsa coletora, realizado assepsia com álcool 70% no dispositivo de borracha e coletado através de punção com seringa e agulha. Em sondas colocadas há mais de 30 dias, é recomendada a coleta após troca do catéter.

Em mulheres, o jato médio também é ideal, mas em pacientes com incontinência e principalmente naquelas institucionalizadas, a coleta por meio de coletores não é indicada devido à grande contaminação por material da vagina e anal. Nestes casos, o clínico deve solicitar a cultura em urina coletada através de cateterização estéril.

Duas culturas com mais de 10^5 UFC/mL são necessárias para o diagnóstico de bacteriúria assintomática devido à probabilidade de contaminação. Considera-se que a coleta de uma única cultura pode ser utilizada apenas para homens continentemente. Nos casos de pielonefrite, uma contagem superior a 10^4 UFC/mL é suficiente para o diagnóstico. Em pacientes jovens, um valor de corte de 10^2 UFC/mL pode apresentar correlação aceitável com o diagnóstico de ITU, mas isso não é ainda válido para pacientes idosos.

Os métodos automatizados de identificação bacteriana e testes de suscetibilidade são mais rápidos que os tradicionais, auxiliando o clínico na mudança mais precoce do antibiótico, seja para redução do espectro (de-escalamento) ou aumento do espectro com antibióticos de ação para bactérias multirresistentes, esquemas não contemplados como primeira escolha.

Comorbidades e uso de diuréticos podem interferir na contagem de colônias, devido à diluição da amostra. O clínico deve lembrar que micro-organismos como *Ureaplasma* e *Haemophilus* não crescem nos meios de cultura utilizados na rotina. A cultura também pode ser negativa em presença de obstrução de vias urinárias, como ocorre em casos de neoplasia e cálculo.

O exame de urina demonstrando piúria é utilizado como parte de critérios de ITU em pacientes jovens, podendo-se utilizar valores de corte entre 5 a 10 células

polimorfonucleares por campo. Este critério ajuda a descartar um diagnóstico presuntivo de infecção antes do resultado de cultura, embora a sua presença não signifique necessariamente ITU. A piúria não diferencia ITU de bacteriúria assintomática, mas está presente em quase 100% dos pacientes com ITU. O clínico deve estar atento quando é identificado micro-organismos como *Proteus*, que podem degradar os leucócitos e resultar em um exame falso-negativo. Uma obstrução ureteral por cálculo, por exemplo, pode mascarar a piúria mesmo num quadro de pielonefrite, devendo o clínico estar atento para essa possibilidade em pacientes com febre e dor em flancos, ou exame de imagem abdominal no caso de pacientes sem condições para tirar uma história clínica adequada.

Estudo demonstrou que até 30% de pacientes institucionalizados apresentam piúria com urocultura negativa.

Pacientes com quadro de pielonefrite ou ITU complicada, podem apresentar exames que sugerem inflamação sistêmica. O hemograma pode apresentar leucopenia ou leucocitose, com a presença de células imaturas (bastões ou bastonetes). Exames também inespecíficos como velocidade de hemossedimentação e proteína C reativa estão aumentados. Nos pacientes atendidos em sepse, o clínico deve solicitar exames que avaliem a função orgânica, pois os pacientes idosos são mais suscetíveis à falência de múltiplos órgãos. Entre os exames úteis estão a creatinina e ureia (função renal), transaminases e bilirrubinas (lesão hepática), raio-X de tórax (lesão pulmonar aguda) e coagulograma (coagulopatia). Avaliação da função cardíaca também é importante, pois o paciente pode perder até 40% da função durante a sepse, o que pode ser muito prejudicial para o paciente idoso devido à perda funcional pelo envelhecimento e comorbidades (doença coronariana e cardiopatia hipertensiva).

Tratamento

A bacteriúria assintomática não deve ser tratada. Estudos epidemiológicos e pesquisas prospectivas com grupo controle não mostraram benefício no tratamento da bacteriúria assintomática. Além de não haver benefício, a exposição a antimicrobianos favorece o aumento da resistência e ameaça futuros tratamentos, assim como a disseminação destes clones em pacientes institucionalizados. Efeito adverso é outra justificativa para evitar o uso de antibióticos. As quinolonas, por exemplo, podem desencadear quadros neurológicos agudos em idosos, como confusão mental. As interações com outras medicações de uso crônico podem promover toxicidade de outras drogas. O tratamento da bacteriúria assintomática só está indicado em casos de cirurgias urológicas e para a colocação de próteses ou outros materiais de síntese, devido ao risco de bacteremia transitória e evolução para sepse e contaminação/colonização do material de síntese.

Hidratação e repouso são as recomendações iniciais para toda ITU. O uso de antiinflamatório urinário, como a fenazopiridina alivia os sintomas locais, principalmente a disúria.

Antibióticos são indicados apesar de a maioria dos casos apresentar resolução espontânea. O objetivo da antibioticoterapia é encurtar o tempo de doença e evitar as complicações associadas com a ITU. O antibiótico deve ter ação contra a bactéria identificada, mas o tratamento é geralmente empírico até que o resultado da cultura esteja pronto. A epidemiologia local e a situação nos pacientes idosos, principalmente os institucionalizados, devem ser consideradas no momento da escolha do antimicrobiano. Deve ser considerado um antibiótico de amplo espectro nos pacientes com fatores de risco para resistência, principalmente aqueles com uso prévio de antibióticos. Em pacientes graves e demonstrando sepse grave ou choque, também é imperativo o uso de antibióticos de amplo espectro e com ação contra bactérias resistentes.

O antibiótico deve ter penetração no trato urinário, e de preferência baixa concentração em outros locais não desejados, como intestino e vagina, devido à perda da microbiota local, favorecendo outras infecções ou aumentando a chance de recorrência. Abaixo serão listados os principais antibióticos utilizados no tratamento de ITU.

Nitrofurantoína

Antibiótico de classe individual, com mecanismo de ação não completamente elucidado. Pode atuar sobre os ribossomos diminuindo a síntese proteica bacteriana, assim como sobre a síntese de DNA, da mesma forma que as quinolonas. Tem ação contra *E. coli*, *Enterococcus*, *Streptococcus* e *Staphylococcus saprophyticus*. Tem pouca ação contra *Klebsiella*, *Proteus* e outras enterobactérias. Nos micro-organismos descritos como suscetíveis, a taxa de resistência ainda é baixa, não ultrapassando 5%.

A nitrofurantoína apresenta volume de distribuição elevado, justificando o nível sérico baixo ou nulo. No entanto, a atividade de enzimas teciduais promove baixas concentrações teciduais. As concentrações mais elevadas desta medicação são encontradas na urina devido à filtração glomerular e excreção tubular. Não deve ser usada em pacientes com insuficiência renal. A dose indicada é de 100mg cada 6 horas por via oral durante cinco dias. Não é recomendado tratamento curto de três dias. Não é usada para o tratamento da pielonefrite devido aos níveis séricos baixos, possibilitando a evolução para bacteremia.

Sulfametoxazol/trimetoprim (SMX-TMP)

Apesar de existirem outras sulfas, o sulfametoxazol-trimetoprim (SMX-TMP) é o mais usado. Pertence à classe das sulfas, cuja principal ação ocorre sobre a síntese de ácido fólico, importante para a síntese proteica bacteriana. O componente trimetoprim do SMX-TMP inibe a di-hidrofolato-redutase, não permitindo a incorporação de timidina na parede celular bacteriana e também na síntese de ácido fólico.

Apresenta volume de distribuição elevado e concentrações teciduais que podem alcançar até 80% da concentração sérica. A excreção é renal por filtração glomerular, atingindo níveis urinários levados. Apresenta efeitos contra diversos

bacilos gram-negativos, exceto *Pseudomonas*. Tem ação contra *Staphylococcus saprophyticus* e *Enterococcus*. No entanto, a resistência de *Enterobacteriaceae* tem se elevado, chegando a 60% em alguns levantamentos, comprometendo o uso desta medicação como primeira escolha. A dose indicada de SMX-TMP é de 800/160mg via oral 12/12h por três dias em cistite e até 14 dias no caso de pielonefrite.

Quinolonas

No consenso de tratamento da cistite e pielonefrite não complicada, as quinolonas são as drogas de primeira escolha. Estes antibióticos atuam sobre o DNA, impedindo a multiplicação bacteriana. Em geral, as quinolonas apresentam boa absorção, sendo o volume de distribuição muito elevado, superando a quantidade total de água corporal, sugerindo alta concentração tecidual. A excreção é principalmente renal, exceto para o moxifloxacino, não indicado para o tratamento de ITU. Apresentam espectro de ação amplo, tendo ação contra os principais micro-organismos responsáveis pelas ITUs. *Enterococcus* pode ser resistente às quinolonas, devendo o clínico estar atento a este micro-organismo.

Há alguns anos diversos pesquisadores têm se preocupado com o aumento da resistência às quinolonas. Apresentam a formulação oral de uso curto (três dias) com facilidade posológica (duas vezes ao dia). Conforme os estudos, a resistência tem alcançado 40% e, conforme a idade e o gênero, pode chegar a 50%. As quinolonas mais utilizadas são norfloxacino (400mg via oral 12/12h por três dias), ciprofloxacino (500mg via oral 12/12h por três dias), levofloxacino (250mg uma vez ao dia). Para o tratamento de pielonefrite, a droga recomendada é o ciprofloxacino com tempo superior a 10 dias. As quinolonas têm ação contra *Pseudomonas*.

Fosfomicina

A fosfomicina é um antibiótico que impede a síntese da parede bacteriana. Apresenta amplo espectro de ação, incluindo os principais uropatógenos. Quando associada com trometamina o tratamento recomendado é de 3g, dose única, durante um a três dias. Existem poucos estudos desta droga no tratamento de ITU. Além do espectro de ação contra os principais uropatógenos, a fosfomicina apresenta ação contra enterobactérias produtoras de ESBL, cujo surgimento frequente na comunidade tem aumentado o consumo de carbapenêmicos. *Staphylococcus saprophyticus* apresenta resistência à fosfomicina. A sensibilidade para *Pseudomonas* é variável.

Cefalosporinas

As cefalosporinas são β -lactâmicos que atuam sobre a parede bacteriana. Ligam-se às PBPs (penicillin binding proteins) alterando a síntese das moléculas fundamentais para a parede celular levando à morte bacteriana. Em geral, as cefa-

losporinas são classificadas em gerações, o que ajuda na interpretação do espectro de ação para as principais formulações. O grupo apresenta diversas drogas com perfis diferentes. As cefalosporinas de primeira geração devem ser evitadas pelas altas taxas de resistência para *E. coli* e *Klebsiella*.

As cefalosporinas de terceira geração apresentam apenas formulações intravenosas. A ceftriaxona é a droga mais usada no tratamento da pielonefrite, apresentando amplo espectro de ação para a maioria dos uropatógenos, exceto contra *Pseudomonas*. Em geral, a resistência não ultrapassa 5% para os principais micro-organismos. A maior preocupação para a substituição das cefalosporinas de terceira geração é o risco de bactérias produtoras de ESBL. Nos pacientes com uso recente de antibióticos, internação e quadro grave, deve ser levado em conta o risco de ESBL. Não devem ser utilizadas em enterobactérias que possam expressar o gene Amp-C. Este gene leva à produção de β -lactamases, inibindo as cefalosporinas de 1ª, 2ª e 3ª gerações.

A cefalosporina de quarta geração, cefepima, também pode ser usada, apresentando espectro contra *Pseudomonas aeruginosa*. Tem ação contra bactérias que apresentam o gene Amp-C, como *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Serratia*. Existe risco, porém, de, mesmo o antibiograma demonstrando sensibilidade para cefepima, ocorrer a expressão do gene e levar a inibição desta droga durante o tratamento, podendo o paciente apresentar piora clínica em volta do 4º dia de tratamento. Essa piora clínica é descrita nos casos de infecções graves, principalmente aquelas com bacteremia. Por outro lado, nas ITUs, principalmente aquelas restritas ao trato urinário inferior, as altas concentrações da droga podem ser suficientes para eliminar as bactérias antes de expressarem a resistência.

Carbapenêmicos

Com o aumento da incidência de infecções comunitárias por bactérias produtoras de β -lactamases de espectro estendido (ESBL), o uso de carbapenêmicos tem aumentado e acredita-se ser bem justificado em algumas situações. Os carbapenêmicos apresentam mecanismo de ação semelhante ao das cefalosporinas, com a vantagem de serem resistentes à ação das β -lactamases.

Obviamente estas drogas devem ser usadas em situações específicas, como pacientes graves, uso prévio de antibióticos, internação recente e colonização prévia com algum micro-organismo produtor de ESBL. Entre eles pode ser utilizado imipenem/cilastatina 500mg intravenoso cada 6 horas, meropenem 2000mg intravenoso cada 8 horas ou ertapenem 1000mg em dose única diária. O ertapenem ainda tem a vantagem de poder ser utilizado de forma intramuscular em dose única, permitindo sua utilização em esquema de home care. O ertapenem não apresenta ação contra *Pseudomonas* e *Acinetobacter*.

Penicilinas semissintéticas

Existem outros antibióticos que podem ser prescritos para o tratamento das ITUs. No caso das cistites, penicilinas semissintéticas, como amoxicilina e ampicilina podem ser usadas, mas as taxas de resistência para *E. coli* são altas e não tem atividade contra outras *Enterobacteriaceae*, embora tenha ação contra *Enterococcus*.

Aminoglicosídeos

Os aminoglicosídeos são drogas com ação contra bacilos gram-negativos, justificando o seu uso contra os principais uropatógenos. São excelentes para uso parenteral, podendo ser associados com ampicilina para ampliar o espectro contra *Enterococcus*. Entre os aminoglicosídeos mais utilizados estão a gentamicina 240mg intravenoso em dose única diária e a amicacina 1000mg em dose única diária intravenosa. Estas drogas têm sido pouco utilizadas, devido aos efeitos adversos que podem apresentar como ototoxicidade e nefrotoxicidade.

Prevenção

A melhor prevenção para a infecção urinária é a manutenção de um fluxo diário adequado. Isto é importante nos pacientes institucionalizados que não têm acesso espontâneo a água e sua ingestão depende de terceiros ou mesmo de forma parenteral. A presença de obstrução é fator para ITU, devendo o paciente com cálculos ser avaliado para a possibilidade de terapia específica. Em pacientes com ITU de repetição, deve ser considerada a profilaxia com antibióticos, como nitrofurantoína 100mg ao dia ou STX-TMP 800/160mg ao dia. Em mulheres idosas, avaliação ginecológica e uso de estrogênios tópicos ou através de reposição oral podem ajudar a melhorar a função protetora uretral, diminuindo colonização e ITU.

Suco de *cranberry* (oxicoco no Brasil) pode prevenir contra a ITU em alguns estudos. Não foram realizados estudos específicos para a faixa etária de idosos.

REFERÊNCIAS

1. Nicolle LE, Bradley S, Colgan R, Rice JC, Schaeffer A, Hooton TM. Infectious Diseases Society of America guidelines for the diagnosis and treatment of asymptomatic bacteriuria in adults. *Clin Infect Dis* 2005 Mar 1;40(5):643-54.
2. Bendall MJ. Urinary tract infection in the elderly. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1986 Sep 27;293(6550):771-2.
3. Nicolle LE. Urinary tract infections in the elderly. *Clin Geriatr Med* 2009 Aug;25(3):423-36.
4. Mims AD, Norman DC, Yamamura RH, Yoshikawa TT. Clinically inapparent (asymptomatic) bacteriuria in ambulatory elderly men: epidemiological, clinical, and microbiological findings. *J Am Geriatr Soc* 1990 Nov;38(11):1209-14.
5. Nicolle LE, Mayhew WJ, Bryan L. Prospective randomized comparison of therapy and no therapy for asymptomatic bacteriuria in institutionalized elderly women. *Am J Med* 1987 Jul;83(1):27-33.
6. Nicolle LE, Bjornson J, Harding GK, MacDonell JA. Bacteriuria in elderly institutionalized men. *N Engl J Med* 1983 Dec 8;309(23):1420-5.
7. Rodhe N, Lofgren S, Matussek A, Andre M, Englund L, Kuhn I, *et al.* Asymptomatic bacteriuria in the elderly: high prevalence and high turnover of strains. *Scand J Infect Dis* 2008;40(10):804-10.
8. Warren JW. Catheter-associated urinary tract infections. *Infect Dis Clin North Am* 1997 Sep;11(3):609-22.
9. Abrutyn E, Mossey J, Berlin JA, Boscia J, Levison M, Pitsakis P, *et al.* Does asymptomatic bacteriuria predict mortality and does antimicrobial treatment reduce mortality in elderly ambulatory women? *Ann Intern Med* 1994 May 15;120(10):827-33.
10. Nickel J.C. Prostate. In: Mulholland S.G., editor. *Antibiotic Therapy in Urology*. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1996. p. 57-69.
11. Salvat J, Capilna M, Schmidt MH. Urogenital atrophy and recurrent urinary tract infection in elderly patients. *Praxis (Bern 1994)* 1997 Aug 13;86(33):1249-53.
12. Tuon F.F., Rocha J.R. Resistência bacteriana para isolados de Infecção comunitária do trato urinário em Curitiba - Análise de 9798 amostras. 2010.
13. Orr PH, Nicolle LE, Duckworth H, Brunka J, Kennedy J, Murray D, *et al.* Febrile urinary infection in the institutionalized elderly. *Am J Med* 1996 Jan;100(1):71-7.

17. INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO EM IMUNOCOMPROMETIDOS

Felipe Francisco Tuon

Introdução

O grupo de pacientes imunocomprometidos engloba aqueles submetidos a transplantes, usuários de corticoides por pelo menos três meses com doses superiores a 10mg de prednisona ao dia, pacientes com infecção pelo HIV, portadores de neoplasias hematológicas e neutropênicos.

Doenças hereditárias e deficiências específicas também podem ser incluídas no grupo, mas são extremamente raras (Ex.: hipogamaglobulinemia). Todas estas doenças compartilham algumas características de resposta imune, mas nem sempre a expressão clínica e a suscetibilidade a infecções estão correlacionadas. A infecção pelo HIV apresenta fundamentalmente uma disfunção de resposta imune adaptativa de células T. Isso parece simples, mas a repercussão é extremamente heteromorfa, inclusive com déficit de resposta imune inata, disfunção de monócitos e alteração na fagocitose. Em modelos animais as células T são importantes para o controle de ITU, mas o assunto é ainda pouco explorado em humanos.

Imunossupressão e drogas imunossupressoras

É surpreendente o aumento no número de transplantes realizados anualmente, alavancando a indústria farmacêutica na produção de novos medicamentos, principalmente os anticorpos monoclonais, cuja ação específica para determinados receptores evita toxicidade, efeitos adversos e mais doenças oportunistas. As drogas mais primitivas, cuja ação imunossupressora abrange vários aspectos da resposta imune, incluem alterações celulares que não apresentam benefícios na preservação do enxerto e ao mesmo tempo facilitam infecções.

Além da imunossupressão pela própria doença e aquela mediada por drogas que alteram a função celular, tem-se as medicações que geram citotoxicidade e promovem depleção celular, encontradas principalmente nos transplantes de medula óssea e nos tratamentos de leucemias ou linfomas agudos. Nestes casos, as células mais prejudicadas são aquelas que apresentam uma contínua taxa de produção, o que é representado pelos neutrófilos. A neutropenia induzida por drogas favorece as infecções bacterianas e, quando não aparente o sítio, gera septicemia com maior facilidade. Como exemplo, não é infrequente um paciente com septicemia durante um período de neutropenia só apresentar imagem radiológica compatível com pneumonia após a recuperação no número de neutrófilos. Da mesma forma se expressa a

ITU. Os pacientes podem apresentar bacteriúria ou ITU que leve a pielonefrite sem a expressão clínica clássica, assim como evoluir rapidamente para sepse.

A azatioprina é uma droga utilizada em conjunto com outras medicações para evitar a perda do enxerto (órgão transplantado). O mecanismo de ação não é bem claro, mas parece que interfere na síntese de RNA e DNA, dificultando a multiplicação de células da resposta imune adaptativa (ex.: linfócitos). Um dos principais efeitos adversos é a pancitopenia, iniciando-se com a neutropenia.¹

Os corticoides inibem várias etapas da resposta imune, desde proliferação celular, produção de citocinas e apresentação de antígenos. Apresentam diversos efeitos adversos, como alterações de sistema nervoso central, hipertensão, dislipidemia, alteração no metabolismo ósseo gerando osteoporose, entre outros.

Anticorpos policlonais, como a timoglobulina, agem sobre os linfócitos, promovendo sua depleção.² Embora pareçam específicos para estas células, apresentam efeitos adversos importantes e são usados comumente na “indução” imediatamente após o transplante, nos primeiros dias e depois são suspensos. Também podem ser utilizados nos casos em que possa estar ocorrendo uma perda do órgão transplantado devido reação do hospedeiro contra o enxerto.

Por outro lado, os anticorpos monoclonais mudaram o conceito de imunossupressão, ou melhor, de prevenção de rejeição. Inclusive, o método de obtenção da droga foi descrito por Kohler e Milstein, que receberam o prêmio Nobel de Medicina em 1984. O primeiro anticorpo foi o OKT3, que atua sobre o receptor CD3 presente nos linfócitos.³ Entre os efeitos adversos, está o risco de reativação de citomegalovírus nas primeiras três semanas.

Entre os inibidores de interleucina-2 (IL-2), estão daclizumab e basiliximab.^{4,5} A ligação ao receptor de IL-2 não permite a ativação das células T. Este tipo de imunossupressão não faz depleção celular, atuando apenas na função celular mediante a ativação de uma citocina específica. Os inibidores de calcineurina são drogas que atuam sobre a calcineurina-fosfatase e não permitem a expressão do gene de IL-2. Entre estas drogas estão a ciclosporina e o tacrolimus.^{6,7}

Outro tipo de imunossupressor é o mofetil-micofenolato (MMF) que atua sobre a enzima desidrogenase-fosfato-inosina, responsável pela síntese de bases nucleicas para formação de DNA.^{4,5} Devido à característica de síntese de purina nos linfócitos, esta droga atua apenas nestas células.

As drogas descritas até aqui são aquelas utilizadas em pacientes transplantados de órgãos sólidos (rim, coração, pulmão, fígado). No grupo de pacientes com neoplasia, existem diversos quimioterápicos cuja ação ocorre principalmente sobre a multiplicação celular e isso pode interferir na multiplicação de células na medula óssea, gerando a neutropenia. Esta alteração favorece o aparecimento de infecções bacterianas, sendo os bacilos gram-negativos os mais importantes.

Importância das infecções oportunistas

Doenças oportunistas são doenças que se aproveitam do estado de debilidade das defesas do organismo para causar dano, e que em indivíduos em estado normal, ao contrário, não aconteceriam. Depois desta definição, para enquadrar uma doença

como oportunista deve ser feita a pergunta: - Se o paciente estivesse com a imunidade normal ele teria a doença? E se tivesse, a apresentação clínica seria a mesma?

Muita atenção é dada para as infecções oportunistas nos pacientes imunocomprometidos. No entanto, a infecção por bacilos gram-negativos entéricos não é uma doença oportunista, mas é uma das principais causas de morte neste grupo de pacientes, superior a qualquer outra infecção oportunista. A infecção do trato urinário (ITU) é a infecção bacteriana mais comum na comunidade e os principais micro-organismos envolvidos são os bacilos gram-negativos. Diante disso, inferimos que a ITU pode contribuir na mortalidade destes pacientes.

A ITU pode ser causada por vírus, bactérias, fungos e parasitos. Na comunidade, as infecções bacterianas são incomparavelmente mais comuns, sendo que a cistite por *Candida* seria a segunda causa de ITU após as bactérias. Apesar do amplo grupo de pacientes imunocomprometidos, existem poucos estudos de ITU nestes pacientes, sendo as melhores descrições aquelas relacionadas com transplante renal e infecção pelo HIV. Pacientes com neoplasia no trato geniturinário podem apresentar ITU por bactérias não usuais, como *Staphylococcus epidermidis*. Esta bactéria apresenta a capacidade de permanecer viável em tecidos necróticos com infarto renal, e em enxerto não funcionando levando a ITU de difícil tratamento.

Quando colocamos em pauta a suscetibilidade a ITU em pacientes imunocomprometidos, não podemos atribuir um fator isolado como causa. Vários fatores devem ser considerados nestes pacientes, todos interagindo para promover o aparecimento de infecções, sejam oportunistas ou não. A doença de base pode ser um fator até mais importante que a própria imunossupressão medicamentosa. Entre os diversos fatores podemos incluir o tempo e dose de imunossupressão, granulocitopenia, linfopenia, monocitopenia, quebra de barreiras naturais, como pele e mucosas, trauma e cirurgia, presença de dispositivos invasivos (catéter venoso e vesical), desnutrição, uremia, distúrbios de glicemia, efeitos imunomodulatórios de vírus, como HIV, Epstein-Barr e citomegalovírus.

Na esfera da infecção urinária, três “macrofatores” podem ser considerados:

1) urina; 2) anatomia e; 3) resposta imune. Em uma revisão prévia, Nina Tolkoff-Rubin encaixou os dois primeiros como causa e o terceiro como um determinante de padrão de evolução.⁸

Os leucócitos na urina são células fundamentais no controle local e evitam a disseminação, assim como controlam a infecção quando as bactérias já alcançaram o trato urinário alto com evolução para bacteremia. Além disso, no tecido renal os macrófagos atraídos durante uma pielonefrite, por exemplo, colaboram com a ampliação da resposta imune. As imunoglobulinas secretadas, como IgA, podem também apresentar papel importante no controle microbiológico. Nos quadros de neutropenia, o comprometimento do número de leucócitos pode prejudicar a resposta local adequada numa cistite.

Embora o citomegalovírus não seja uma etiologia para ITU, um caso de pielonefrite pode gerar a produção de fator de necrose tumoral (TNF). Este TNF leva a uma cascata de reações intracelulares culminando com a produção de NF-κB (fator

nuclear kappa-B) que, além de levar à produção de citocinas inflamatórias, também leva à replicação de citomegalovírus. Assim, a urosepse pode ser um mecanismo para reativação de citomegalovírus em pacientes transplantados.

HIV

A infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) ocorre durante contato de sangue ou secreções contaminados com outra mucosa ou diretamente através de inoculação. Assim, o HIV é transmitido através de relações sexuais (oral, anal e vaginal) e contato com sangue (uso de seringas contaminadas para aplicação de drogas ilícitas ou por hemotransfusão). Com a entrada do vírus no organismo, ocorre a infecção nas células de defesa, principalmente linfócitos do grupo CD4, que levam a uma progressiva diminuição do número destas células assim como perda da função. Outras células podem ser afetadas, mas o cerne da doença está relacionado com a linfopenia específica.

Com a evolução da infecção pelo HIV, o paciente inicia com sintomas inespecíficos (diarreia, emagrecimento, fraqueza, febre e linfadenopatia) que evoluem para uma fase mais adiantada, a qual culmina com o aparecimento de doenças oportunistas que definem a infecção pelo HIV como AIDS.

A incidência de ITU em paciente com infecção por HIV é superior à na população geral. Em um estudo não houve relação dos pacientes estarem em tratamento ou não, assim como também não houve relação com o estado de imunidade dos pacientes (nível de CD4).⁹ Outro estudo não conseguiu correlacionar infecção pelo HIV e a chance de recorrência de ITU.¹⁰ Estes achados também são demonstrados na faixa etária pediátrica, não havendo predileção de micro-organismos entre paciente com e sem infecção pelo HIV.¹¹ Na população de mulheres em idade fértil a presença da infecção pelo HIV não é fator de risco para ITU, mas pacientes com altas cargas virais apresentam maior chance.¹²

Existem poucas publicações sobre ITU e infecção pelo HIV. É importante lembrar que o sexo anal sem preservativo é fator de risco para ITU, seja para mulheres como para os homens, incluindo homem que faz sexo com homem. Recentemente tem-se estimulado a circuncisão, principalmente em países mais pobres. A circuncisão reduz a incidência de ITU. Na forma mais avançada da doença (AIDS), a desnutrição também entra como fator de risco para ITU (perda da integridade do urotélio e diminuição da migração de monócitos).

Mulheres com HIV reportam um maior número de ITU, porém não existe relação com o grau de imunodepressão.¹³ Porém, um estudo no Quênia demonstrou não haver relação entre bacteriúria e HIV, mas havia uma relação direta entre atividade sexual e incidência de ITU, sugerindo que a suscetibilidade ao HIV (ex.: maior número de relações sexuais) estaria associada com maior taxa de ITU em mulheres.¹⁴

Nos pacientes com HIV e níveis de CD4 inferiores a 200 está indicada a profilaxia para pneumocistose e, para toxoplasmose quando os níveis forem inferiores a

100. A droga de escolha para a profilaxia é o sulfametoxazol/trimetoprim. Especula-se que o uso desta droga favoreceria um aumento da resistência em ITU nestes pacientes, porém não existe ainda uma relação.¹⁵

Em homens jovens imunocompetentes, a incidência de ITU ou bacteriúria é baixa, 20 vezes menos que em mulheres. Nos pacientes masculinos com infecção pelo HIV a taxa de ITU também é baixa, embora exista uma maior incidência. O aumento na incidência de ITU em homens com HIV não é epidemiologicamente relevante.¹⁶

Entre os principais micro-organismos oportunistas com potencial para ITU estão alguns vírus (citomegalovírus, vírus BK, parvovírus B19), bactérias (tuberculose) e fungos (paracoccidiodomicose, *Candida*). Infecções por estes micro-organismos são extremamente raras, mesmo no grupo de pacientes infectados pelo HIV na forma avançada.

Infecção urinária por *Cryptococcus* é rara e está associada à criptococúria secundária à criptococose disseminada em pacientes com CD4 <100, embora esse achado seja raro. Em muitos casos, a excreção de *Cryptococcus* na urina ocorre por uma infecção prostática, sítio comum para o fungo.¹⁷

O uso de indinavir, um inibidor de protease utilizado no tratamento para a infecção pelo HIV, pode levar ao aumento de excreção de cristais e também leucocitúria.¹⁸ Parvovírus B19 pode causar hematúria e leucocitúria em paciente com infecção pelo HIV, embora seja raro.¹³

Transplante renal

Este grupo de pacientes imunocomprometidos apresenta ITU como principal infecção. Nos primeiros dias, a ITU relaciona-se com a presença do catéter vesical, utilizado para a proteção da anastomose, que pode levar a infecção nosocomial. As alterações anatômicas favorecem a colonização bacteriana e, por fim, acredita-se que a terapia imunossupressora possa facilitar a evolução para ITU pela modulação da resposta imune. Nos primeiros três meses de transplante, essas condições favorecem a introdução precoce de antibióticos de largo espectro e, devido à recorrência da ITU, aumento da chance de micro-organismos resistentes. Com o passar dos meses, os principais micro-organismos de ITU são bactérias comunitárias, apesar da terapia imunossupressora. Em geral, utiliza-se o sexto mês como um marco para que as novas infecções sejam consideradas como comunitárias.

Os micro-organismos que causam ITU são principalmente os bacilos gram-negativos (*Enterobacteriaceae*) e *Enterococcus*. A ITU complicada é mais comum em pacientes transplantados que evoluem para anúria ou aqueles submetidos à hemodiálise.

O manejo da ITU em pacientes transplantados e com HIV não é diferente daquele em pacientes imunocompetentes, lembrando apenas dos fatores de risco para bactérias multirresistentes: uso recente de antibióticos, uso de sonda vesical e internação prévia, características estas comuns neste grupo de pacientes. A ITU no paciente transplantado recente pode relacionar-se com perda do enxerto.

Vírus BK

A relação entre imunossupressão e aparecimento de ITU ainda não é bem clara. De uma forma geral, é rara a associação de ITU apenas com a imunossupressão. Um micro-organismo de nota seria o poliomavírus (vírus BK), que está relacionado com o aparecimento de cistite hemorrágica em pacientes submetidos a transplante de medula ou nefrite tubulointerstitial em transplantados renais.¹⁹ O vírus alberga-se nas células uroepiteliais após a primoinfecção, que ocorre na infância e repercute-se neste caso como febre e quadro respiratório inespecífico. Mais de 90% dos adultos saudáveis apresentam sorologia positiva para vírus BK, e a virúria assintomática pode ocorrer durante a gestação e em pacientes idosos, sugerindo que alterações transitórias da imunidade podem favorecer o reaparecimento do vírus na urina.

Pacientes que são submetidos a transplante de medula óssea são os principais acometidos por este vírus. Além do efeito da imunossupressão sobre os linfócitos, promovendo virúria, a reação de enxerto contra o hospedeiro é um fator de risco importante para a reativação do vírus que estava em estado latente no uroepitélio. A cistite hemorrágica pode se manifestar durante a imunossupressão com quimioterapia que utiliza principalmente os agentes alquilantes, como a ciclofosfamida.

O diagnóstico de cistite hemorrágica se dá com sinais/sintomas clínicos de ITU e hematúria. Cultura de vírus não é utilizada para identificação. Exame citológico da urina pode detectar células características da infecção pelo poliomavírus, apresentando um núcleo aumentado com inclusão basofílica única, denominadas de “decoy cells”. Porém, estas células também podem aparecer nas neoplasias do trato urinário e infecção por adenovírus ou vírus JC. O exame de escolha para o diagnóstico de infecção pelo vírus BK é o método da PCR. O exame pode resultar positivo também em pacientes assintomáticos.

Nos casos em que a cistite hemorrágica persista por mais de duas semanas e a carga viral aumente, deve ser considerado o tratamento específico. Nos casos leves, não é necessário antiviral, apenas hidratação para manter um fluxo urinário e evitar a formação de coágulos, o que pode necessitar de cistoscopia frequente para remoção devido ao risco de obstrução. Nos casos mais graves a medicação de escolha é o cidofovir. Esta droga era inicialmente indicada para o tratamento de retinite por CMV. Na indisponibilidade desta droga, quinolonas também podem ser utilizadas.

Tuberculose renal

Na primoinfecção da tuberculose pode ocorrer disseminação hematogênica do bacilo, levando a múltiplos focos da doença, sendo a maioria assintomáticos. Esses focos podem reativar durante quadro de imunossupressão, principalmente nos pacientes com infecção pelo HIV no momento em que o CD4 cai para níveis inferiores a 350. Estudo de necropsias sem avaliação da imunidade mostrou que até 70% dos casos de tuberculose pulmonar apresentam focos de tuberculose renal, geralmente bilateral. Essas lesões se

localizam na grande maioria dos casos na área cortical, não tendo contato significativo com a medular, o que culmina com poucos sinais e sintomas de ITU. Nos pacientes que obtêm diagnóstico de tuberculose geniturinária é obrigatória a investigação de outros focos, como sistema nervoso central e pulmão.²⁰

Independente do grau de imunossupressão, os sintomas mais comuns são dor lombar, seguido de disúria e urgência miccional. Sintomas inespecíficos como fraqueza, astenia, mal estar também são comuns. O exame de urina geralmente apresenta alterações, como leucocitúria e hematúria. O teste cutâneo (PPD) é reagente em mais de 90% dos pacientes, e a concomitância com doença pulmonar ocorre em até 38% dos casos. O PPD pode ser inferior a 5 mm em pacientes imunocomprometidos, dificultando a investigação nestes casos. A cultura de urina é positiva em mais de 80% dos casos, quando colhida de forma adequada. A urografia excretora também apresenta alterações em mais de 90%. A função renal é geralmente preservada, embora uma situação rara, denominada de nefrite intersticial tuberculosa possa levar a insuficiência renal.

Em pacientes HIV, o comprometimento isolado de tuberculose em trato geniturinário é incomum, ocorrendo em menos de 5%. Normalmente estes pacientes apresentam outras manifestações de tuberculose.

O tratamento da tuberculose renal é idêntico ao da tuberculose pulmonar, consistindo no esquema de poliquimioterapia com rifampicina 600mg, isoniazida 300mg, pirazinamida 1600mg e etambutol 1100mg. Estas doses já vêm formuladas em comprimidos que contêm as quatro drogas (rifampicina 150mg, isoniazida 75mg, pirazinamida 400mg e etambutol 275mg), sendo então o tratamento com quatro comprimidos. Para pacientes com 20 a 35 kg são recomendados dois comprimidos e entre 36 e 50 kg três comprimidos diários.

Durante o tratamento pode ocorrer cicatrização ureteral levando a obstrução, sendo indicada urografia excretora de rotina nestes pacientes.

Prevenção

Em pacientes submetidos ao transplante renal, a profilaxia com antibióticos diminui a chance de ITU. A profilaxia é iniciada imediatamente, geralmente no período que o paciente está internado ou logo após a alta, utilizando antibióticos orais. A principal droga é o sulfametoxazol/trimetoprim 800/160mg em dose única diária. Em pacientes alérgicos a sulfá, pode ser usada uma quinolona (norfloxacino 400mg) ou nitrofurantóina 100mg. Estas drogas não foram testadas comparativamente entre si, podendo o grupo que realiza o transplante escolher a droga que se adequa ao serviço, correlacionando com epidemiologia local de resistência, custos e interações ou efeitos adversos.

A duração da profilaxia pode ser de seis meses e alguns grupos chegam a realizar até um ano de profilaxia. Nos casos de ITU de repetição, bexiga neurogênica ou alterações anatômicas, a profilaxia pode ser realizada por tempo indeterminado. Nos outros transplantes não existe necessidade de profilaxia para ITU. Em pacientes com infecção pelo HIV também não existem recomendações para profilaxia de ITU.

Nos pacientes transplantados renais, a profilaxia da estenose ureteral e da nefropatia tubulointersticial desencadeada pelo vírus BK se dá através de uma estratégia de tratamento “pré-emptivo”. Este termo ainda é confuso para a língua portuguesa (do inglês: preemptive), pois alguns autores chamam de tratamento pré-doença ou profilaxia pré-doença. Neste caso, não é realizada nenhuma medicação para evitar a doença, mas sim, o uso de exames laboratoriais para detectar a presença do vírus antes que ele cause doença, por este motivo o termo “pré-doença”.⁷ São realizados exames de PCR para detecção de virúria ou citologia urinária cada três meses durante dois anos. Se o teste resultar positivo, o exame da PCR quantitativa deverá ser realizado e, conforme o resultado, é indicada uma biópsia do enxerto para definir doença. Neste momento, os pacientes transplantados renais poderão receber imunoglobulina, redução da imunossupressão e antivirais conforme descrito acima.

REFERÊNCIAS

1. A randomized clinical trial of cyclosporine in cadaveric renal transplantation. Analysis at three years. The Canadian Multicentre Transplant Study Group. *N Engl J Med* 1986 May 8;314(19):1219-25.
2. Brennan DC, Flavin K, Lowell JA, Howard TK, Shenoy S, Burgess S, *et al.* A randomized, double-blinded comparison of Thymoglobulin versus Atgam for induction immunosuppressive therapy in adult renal transplant recipients. *Transplantation* 1999 Apr 15;67(7):1011-8.
3. Opelz G. Efficacy of rejection prophylaxis with OKT3 in renal transplantation. Collaborative Transplant Study. *Transplantation* 1995 Dec 15;60(11):1220-4.
4. Mourad G, Rostaing L, Legendre C, Garrigue V, Thervet E, Durand D. Sequential protocols using basiliximab versus antithymocyte globulins in renal-transplant patients receiving mycophenolate mofetil and steroids. *Transplantation* 2004 Aug 27;78(4):584-90.
5. Ciancio G, Burke GW, Suzart K, Roth D, Kupin W, Rosen A, *et al.* Daclizumab induction, tacrolimus, mycophenolate mofetil and steroids as an immunosuppression regimen for primary kidney transplant recipients. *Transplantation* 2002 Apr 15;73(7):1100-6.
6. Chappell LH, Wastling JM. Cyclosporin A: antiparasite drug, modulator of the host-parasite relationship and immunosuppressant. *Parasitology* 1992;105 Suppl:S25-S40.
7. Brennan DC, Agha I, Bohl DL, Schnitzler MA, Hardinger KL, Lockwood M, *et al.* Incidence of BK with tacrolimus versus cyclosporine and impact of preemptive immunosuppression reduction. *Am J Transplant* 2005 Mar;5(3):582-94.
8. Tolkoff-Rubin NE, Rubin RH. Urinary tract infection in the immunocompromised host. Lessons from kidney transplantation and the AIDS epidemic. *Infect Dis Clin North Am* 1997 Sep;11(3):707-17.
9. Omoregie R, Eghafona NO. Urinary tract infection among asymptomatic HIV patients in Benin City, Nigeria. *Br J Biomed Sci* 2009;66(4):190-3.
10. Minta DK, Dembele M, Diarra AS, Sidibe AT, Cisse IA, Aldiouma H, *et al.* Association of urinary tract infections and HIV infection in an internal medicine ward of Hospital of Point G-Bamako-Mali. *Mali Med* 2007;22(2):23-7.
11. Asharam K, Bhimma R, Adhikari M. Human immunodeficiency virus and urinary tract infections in children. *Ann Trop Paediatr* 2003 Dec;23(4):273-7.
12. Flanigan TP, Hogan JW, Smith D, Schoenbaum E, Vlahov D, Schuman P, *et al.* Self-reported bacterial infections among women with or at risk for human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis* 1999 Sep;29(3):608-12.
13. Christensen LS, Madsen TV, Barfod T. Persistent erythrovirus B19 urinary tract infection in an HIV-positive patient. *Clin Microbiol Infect* 2001 Sep;7(9):507-9.
14. Ojoo J, Paul J, Batchelor B, Amir M, Kimari J, Mwachari C, *et al.* Bacteriuria in a cohort of predominantly HIV-1 seropositive female commercial sex workers in Nairobi, Kenya. *J Infect* 1996 Jul;33(1):33-7.

15. Evans JK, McOwan A, Hillman RJ, Forster GE. Incidence of symptomatic urinary tract infections in HIV seropositive patients and the use of cotrimoxazole as prophylaxis against *Pneumocystis carinii* pneumonia. *Genitourin Med* 1995 Apr;71(2):120-2.
16. De Pinho AM, Lopes GS, Ramos-Filho CF, Santos OR, De Oliveira MP, Halpern M, *et al.* Urinary tract infection in men with AIDS. *Genitourin Med* 1994 Feb;70(1):30-4.
17. Kiertiburanakul S, Sungkanuparph S, Buabut B, Pracharktam R. Cryptococcuria as a manifestation of disseminated cryptococcosis and isolated urinary tract infection. *Jpn J Infect Dis* 2004 Oct;57(5):203-5.
18. Dieleman JP, van Rossum AM, Stricker BC, Sturkenboom MC, de GR, Telgt D, *et al.* Persistent leukocyturia and loss of renal function in a prospectively monitored cohort of HIV-infected patients treated with indinavir. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003 Feb 1;32(2):135-42.
19. Hirsch HH, Knowles W, Dickenmann M, Passweg J, Klimkait T, Mihatsch MJ, *et al.* Prospective study of polyomavirus type BK replication and nephropathy in renal-transplant recipients. *N Engl J Med* 2002 Aug 15;347(7):488-96.
20. Eastwood JB, Corbishley CM, Grange JM. Tuberculosis and the kidney. *J Am Soc Nephrol* 2001 Jun;12(6):1307-14.

18. INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO RELACIONADAS À ASSISTÊNCIA À SAÚDE

*Elaine Drehmer de Almeida Cruz
Maria Edutânia Skroski Castro*

Introdução

As infecções relacionadas à assistência a saúde (IRAS) são, em parte, causadas pelas condições clínicas e imunológicas do paciente, pela invasibilidade dos procedimentos diagnósticos e terapêuticos e pela qualidade da assistência prestada. Especialmente no ambiente hospitalar o paciente está exposto a maior risco de adquirir infecções; entre essas destacam-se as infecções da corrente sanguínea associadas a catéter vascular, pneumonias, infecções cirúrgicas e infecções urinárias (ITU) associadas ao cateterismo vesical.

As ITUs representam 35 a 40% das IRAS¹, sendo que 80% delas estão atribuídas à cateterização urinária.²

O risco diário de um paciente com catéter vesical desenvolver ITU aumenta de 3% para 7%; desta forma o risco de bacteriúria aumenta em 25% quando o paciente permanece com o catéter por uma semana. Se um paciente ficar com um catéter urinário por um mês, o risco de evoluir com bacteriúria aumenta quase 100%. Destes pacientes, 10% irão evoluir para ITU, e até 3% deles irão desenvolver bacteriemia. Os riscos fundamentam a importância das medidas de prevenção e controle das ITUs associadas à cateterização vesical (ITU-CV),^{1,3} considerando que, durante a assistência hospitalar, o cateterismo vesical é um procedimento necessário para monitoramento de pacientes graves, para alguns pacientes cirúrgicos, para drenagem urinária em casos de obstrução, bem como para diagnóstico e investigação urodinâmica.

Visando a prevenção de ITU-CV serão destacados aqui elementos considerados importantes para o diagnóstico de infecções urinárias relacionadas à assistência à saúde e medidas de prevenção da ocorrência de ITU associada a catéter vesical, infecções causadas por bactérias multirresistentes e frente a pacientes portadores ou com suspeita de Doença Priônica.

Critérios para o diagnóstico de infecções associadas ao cateterismo vesical

A confirmação microbiológica de ITU baseia-se no resultado de urocultura coletada em amostra de jato médio de urina, em contagem igual ou superior a 10⁵ unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL) de um uropatógeno (bactérias gram-negativas, *Staphylococcus saprophyticus*, *Enterococcus* spp. ou leveduras), com até duas espécies microbianas.⁴

O diagnóstico de ITU é realizado com base em critérios que congregam sinais, sintomas e/ou resultados de exames laboratoriais. Os *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) apresentam critérios para diagnóstico de infecções hospitalares publicados pelo *National Nosocomial Infections Surveillance System* (NNISS). Nestes as infecções hospitalares urinárias são divididas em três grupos: Infecção do Trato Urinário Sintomática (UTI/SUTI), Bacteriúria Assintomática (UTI/ASB) e Outras Infecções do Trato Urinário (OUTI/SUTI).⁵

Critérios NNISS para Infecção do Trato Urinário Sintomática

Critério 01

Urocultura com 100.000 UFC/ml, até duas espécies microbianas.

Pelo menos um dos sinais e sintomas abaixo:

- » Febre (temperatura axilar >38°C)
- » Urgência miccional
- » Polaciúria
- » Disúria
- » Dor suprapúbica

Critério 02

Pelo menos dois dos sinais e sintomas abaixo, sem outras causas conhecidas:

- » Febre (temperatura axilar >38°C)
- » Urgência miccional
- » Polaciúria
- » Disúria
- » Dor suprapúbica

E pelo menos um dos sinais e sintomas abaixo:

- » Teste de nitrito e/ou esterase positivo
- » Piúria (≥ 10 piócitos/mm³ ou ≥ 10 piócitos/campo)
- » Bacterioscopia positiva ao Gram (urina não centrifugada)

Pelo menos duas uroculturas positivas com o mesmo uropatógeno (BGN ou *S. saprophyticus*) com ≥ 100 UFC/ml

Urocultura positiva (≤ 100.000 UFC/ml) com um uropatógeno (BGN ou *S. saprophyticus*) em paciente em uso de antimicrobiano para ITU

Critério 03

Urocultura com 100.000 UFC/ml, até duas espécies

Paciente ≤ 01 ano com pelo menos um dos sinais e sintomas abaixo, sem outra causa conhecida:

- » Febre (temperatura axilar >38°C)
- » Hipotermia (<37°C)
- » Apneia
- » Bradicardia

- » Disúria
- » Letargia
- » Vômitos

Critérios NNISS para Bacteriúria Assintomática

Critério 01

Todos os itens abaixo:

- » Paciente utilizou catéter urinário nos sete dias anteriores à realização da cultura
- » O paciente não apresenta sinal ou sintoma clínico
- » Urocultura positiva (≥ 100.000 UFC/ml) com no máximo duas espécies de micro-organismos

Critério 02

Todos os itens abaixo:

- » O paciente não utilizou catéter urinário nos sete dias anteriores à realização da última urocultura
- » O paciente não apresentava sinal ou sintoma clínico
- » Pelo menos duas uroculturas positivas (≥ 100.000 UFC/ml) com no máximo duas espécies de micro-organismos.

Etiopatogenia

Em relação à etiologia microbiológica, ressalta-se que os micro-organismos (MO) causadores de ITU habitualmente provêm da microbiota do trato intestinal e períneo, ou das mãos dos profissionais de saúde, durante a inserção do catéter ou manipulação do sistema de drenagem urinária. Seu acesso se dá por contaminação intraluminal, a partir do refluxo de urina por falha no sistema de drenagem fechada (válvula antirefluxo ineficaz, excesso de volume de urina na bolsa coletora, manutenção da bolsa coletora acima do nível da bexiga), e extra luminal, a partir da inserção do catéter e ascensão de MO do períneo.⁶

Os bacilos gram-negativos mais frequentemente têm acesso por via intraluminal, enquanto enterococos, estafilococos e *Candida*, provenientes da microbiota perineal, ascendem por via extraluminal, ou seja, entre o catéter e a uretra.⁷

Estudo demonstrou, a partir da detecção de micro-organismos no espaço intraluminal de catéter vesical, que baixa contagem de bactérias na urina (1 UFC/mL) pode progredir rapidamente para níveis superiores a 10^5 UFC/mL em 24 a 48 horas, e em 72 horas para *Candida*. Baixa contagem de MO, quando na presença de catéter permanente, é fator altamente preditivo de infecção urinária, demonstrando a vulnerabilidade do trato urinário frente a esse dispositivo.⁸

Bactérias isoladas na bexiga foram também identificadas no introito uretral; a contaminação vesical se faz por migração retrógrada ou ascendente destes germes em torno da sonda a partir do meato uretral externo (acesso extra luminal).⁹

Catéteres são cobertos por biofilme que consiste em uma estrutura complexa e heterogênea sob o aspecto metabólico e fisiológico, que permite a sobrevivência de MO em um ambiente hostil. É formado por micro-organismos, proteína e exoglicocálix microbiano, capazes de aderir à superfície, sobreviver e disseminar-se ao hospedeiro. Sua estrutura impede a ação de antimicrobianos e células de defesa, sendo responsável por infecções crônicas; em catéteres o biofilme está presente no espaço intra e extraluminal.¹⁰ Quando integrantes do biofilme os MO têm mais possibilidade de sobrevivência, se comparado com a forma planctônica, e geralmente são extremamente resistentes à terapia antibiótica. Quando as bactérias, em especial *Proteus mirabilis*, produzem a enzima urease, a urina torna-se alcalina, causando por consequência a cristalização do cálcio e fosfato de magnésio, que ao serem incorporados ao biofilme resultam na incrustação do catéter, fenômeno associado ao longo tempo de cateterização.

Infecção urinária associada à cateterização vesical de demora (ITU-CVD) afeta majoritariamente pacientes hospitalizados, sendo sua prevenção uma medida relevante e essencial à assistência. O acesso às vias excretoras urinárias é possível pela introdução de dispositivos ociosos, como o catéter vesical, e seu uso remonta à antiguidade. Atualmente sondas de látex e silicone permitem a cateterização com menos complicações mecânicas, embora as infecções continuem sendo motivo de preocupação. Os catéteres vesicais são calibrados de acordo com a escala Charrière (Fr), que progride um terço de milímetro por número. Assim, um catéter com calibre 18Fr significa que tem 6 milímetros de diâmetro.¹¹

A uretra masculina tem um comprimento médio de 18 a 20 cm sendo colonizada na porção dos quatro centímetros distais; já a uretra feminina, mais curta, com aproximadamente 3,5 a 4,0 centímetros, tem o centímetro distal colonizado. A introdução de um catéter por via transuretral permite carrear os micro-organismos da uretra distal para a bexiga. Em condições normais de imunidade e em cateterismo de alívio ou intermitente, ou seja, sem a permanência do catéter, os mecanismos naturais de defesa vesical têm a capacidade de eliminar a população bacteriana introduzida.¹¹ O esvaziamento incompleto da bexiga é causa de ITU de repetição assim como uropatias obstrutivas e nefropatias de refluxo são causas frequentes de lesões renais. O cateterismo intermitente promove o esvaziamento vesical, é considerado uma técnica limpa porém não estéril, e consiste na inserção de catéter via uretral para a drenagem da urina e sua retirada imediata. O procedimento é realizado pelo próprio paciente ou seu cuidador, normalmente quatro vezes ao dia, mas varia de acordo com a idade do paciente, sendo mais frequente em crianças, pessoas com alta ingestão hídrica e aquelas com baixa capacidade vesical. A posição do paciente pode ser supina, decúbito dorsal ou sentado em cadeira ou vaso sanitário; após a higienização das mãos e da região periuretral, o catéter é inserido delicadamente até que a urina comece a drenar e retirado ao término da drenagem. Em homens um lubrificante solúvel em água deve ser utilizado e em pacientes com sensibilidade preservada poderá ser usado um anestésico na forma de gel. O tamanho do catéter varia de 6 a 10Fr para crianças e de 10 a 14Fr para adultos.¹² Tem ainda como van-

tagens reduzir o risco de ITU por imitar o esvaziamento vesical normal, melhorar a autoestima do paciente, e promover a reeducação vesical, favorecendo assim a micção espontânea.

Quando comparadas às complicações mais frequentes, observa-se que após a adoção do cateterismo intermitente, infecções urinárias graves são raras, a resposta ao tratamento é rápida quando a bexiga é totalmente esvaziada, a pielonefrite é rara, a bacteriúria, embora frequente, não necessita ser tratada, e a obtenção de amostras de urina é facilitada. Em mulheres com incontinência urinária o cateterismo intermitente se mostra de grande valia por disporem de menos alternativas para o seu controle, quando comparado aos homens, que podem usar o coletor urinário externo.¹² Contudo, a permanência do catéter permite a formação de biofilme e impede a ação ideal dos mecanismos fisiológicos de defesa.

Prevenção de infecções associadas ao cateterismo vesical

Medidas de prevenção de infecção devem ser baseadas em evidências científicas. Deste modo os *guidelines*, publicados por sociedades científicas e órgãos governamentais, apresentam as recomendações, por grau de evidência científica, de ações para a prevenção desses agravos à saúde.

Em 2009 foi publicado um novo *guideline*¹³ para a prevenção de infecções urinárias associadas a catéter, pelo Centro de Controle de Doenças e Prevenção (CDC) dos Estados Unidos. O *guideline* traz diretrizes do *Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee*, comitê consultivo cujo objetivo é recomendar ao CDC medidas de prevenção de infecções associadas à assistência à saúde, baseadas em evidências científicas. As diretrizes de Categoria I são consideradas fortemente recomendadas para implementação na prática assistencial, sendo classificadas em três níveis de evidência, sendo A e B níveis estabelecidos de acordo com a qualidade da evidência e C são aquelas requeridas por diretrizes governamentais as quais podem ter algum nível de evidência. As diretrizes da Categoria II são aquelas não recomendadas ou que necessitam maiores investigações para sua definição. As categorias podem ser consultadas diretamente no *guideline* (http://www.cdc.gov/hicpac/cauti/001_cauti.html).

Também com o objetivo de recomendar práticas efetivas para a prevenção de infecções associadas à assistência a saúde, em 2007 foi publicada a segunda versão do *guideline* inglês¹⁴, o qual pode ser consultado na íntegra em <http://www.epic.tvu.ac.uk/PDF%20Files/epic2/epic2-final.pdf>. As recomendações são classificadas de acordo com a classe decrescente de evidência de A a D, sendo todas consideradas obrigatórias.

A seguir apresentamos de forma resumida e agregada as diretrizes recomendadas para a prevenção de infecções urinárias associadas a catéter. Para obter os graus de evidência, detalhes dos estudos, orientações para implementação e auditoria das medidas, recomendações para pesquisas no tema, metodologia e literatura utilizada para a elaboração dos *guidelines*, recomenda-se consultar as versões originais.

Indicações de uso de catéter urinário, inserção, manutenção e tempo de permanência

Há evidências científicas que mostram a relação entre o uso de catéter e o tempo de permanência como determinantes na ocorrência de ITU; as infecções também estão relacionadas à qualidade do cuidado e à suscetibilidade do paciente, sendo as mulheres, idosos e imunodeprimidos mais suscetíveis a ITU.

Deste modo, o catéter deve ser inserido somente de acordo com indicações claramente definidas e permanecer pelo tempo estritamente necessário, havendo necessidade de documentar a indicação do uso e revisar periodicamente a necessidade da manutenção. Pacientes cirúrgicos que tiveram indicação precisa do uso de catéter urinário devem tê-lo removido dentro de 24 horas da cirurgia, ou antes, a menos que haja indicação apropriada para a continuidade do uso. Métodos alternativos para o esvaziamento vesical devem ser considerados para pacientes incontinentes e lesados medulares, com disfunção no esvaziamento vesical, crianças com mielomeningocele e bexiga neurogênica. A cateterização intermitente é considerada um método alternativo para pacientes crônicos, e deve ser realizada a intervalos suficientes que evitem a hiperdistensão da bexiga. O coletor urinário externo também é considerado um método alternativo ao catéter vesical.

Para a escolha do catéter deve-se considerar a indicação da cateterização, as condições do paciente e o tempo previsto de sua permanência; quando possível, devem ser escolhidos catéter de menor calibre e balonete com capacidade de 10 ml para adultos sem complicações urológicas.

A inserção do catéter deve ser considerada um procedimento asséptico (higienização das mãos, uso de luvas e catéter estéreis) e realizada por profissional ou cuidador domiciliar treinado e competente para a sua execução, bem como a manutenção asséptica do sistema. Solução antisséptica ou solução salina estéril deve ser aplicada na região periuretral antes da inserção do catéter. Quando aplicado lubrificante, com vistas a reduzir o trauma uretral, deve ser estéril e de uso único.

O catéter deve ser conectado a um sistema de drenagem fechado e estéril, não devendo o sistema ser aberto. Em caso de abertura do sistema ou vazamento, novo conjunto catéter-sistema de drenagem deve ser inserido.

Após a inserção o catéter deve ser fixado para prevenir sua movimentação e tração uretral, o fluxo urinário deve ser mantido desobstruído, e a bolsa de drenagem mantida abaixo do nível da bexiga sem contato com o chão. A higiene perineal deve ser realizada de acordo com a rotina de higiene corporal, não sendo recomendado o uso de antissépticos ou antimicrobianos rotineiramente como forma de prevenção de infecção. Para a manipulação do sistema devem ser empregadas precauções padrão, compreendendo a higienização das mãos e uso de luvas de procedimentos antes da manipulação, e higienização das mãos após a remoção das luvas.

O esvaziamento da bolsa de drenagem deve ser realizado a intervalos que permitam o livre fluxo da urina e de modo a evitar refluxo. O procedimento deve

ser realizado utilizando um recipiente limpo e de uso individual para cada paciente, evitando dispersão de urina no ambiente, contaminação do tubo de drenagem e a transmissão cruzada de micro-organismos. A obtenção de amostras de urina deve ser asséptica e sem abrir o sistema.

Há recomendação para a implementação de um programa de qualidade ou estratégia para promover o apropriado uso de catéter e redução de ITU, sendo elementos-chave: assegurar o uso apropriado de catéter vesical; identificar e remover catéteres desnecessários; e aumentar a adesão à higienização das mãos e aos cuidados adequados com o catéter.

São considerados essenciais à infraestrutura administrativa a provisão e implementação de *guidelines* baseados em evidências científicas e direcionados ao uso, inserção e manutenção do catéter vesical; educação e treinamento de profissionais de saúde e outros que cuidam do paciente com catéter; treinamento adequado dos profissionais que realizam a vigilância dessas infecções; disponibilização de recursos tecnológicos; utilização de metodologia padronizada; e provisão de materiais necessários à inserção asséptica do catéter.

Bundle de catéter urinário

Bundles de cuidados constituem um grupo de boas práticas que quando aplicadas de modo conjunto resultam em melhoria da qualidade da assistência em saúde e redução de agravos. A proposta surgiu nos Estados Unidos da América no ano de 2004 numa campanha para salvar 100.000 vidas; o *slogan* da campanha foi “Em Primeiro Lugar Não Cause Danos”. Contando com medidas adicionais, a estimativa foi de 122.300 vidas salvas, após 18 meses de implantação. O princípio dos *bundles* é o envolvimento da equipe assistencial nas medidas de prevenção e controle de infecção.¹⁵

Na campanha havia inicialmente seis intervenções propostas, não estando incluída a prevenção de ITU. A associação da política mundial do paciente seguro com a qualidade na assistência e o gerenciamento de risco resultou na elaboração de resumos contendo as principais medidas de prevenção de sítios específicos de infecção, pretendendo a redução máxima de IRAS.¹⁵

Bundle de ITU-CVD consiste de um grupo de intervenções baseadas em evidência científica para pacientes com catéter urinário que, quando adotadas juntas, resultam em melhores resultados que quando adotadas individualmente. As medidas ou intervenções são suficientemente estabelecidas para serem consideradas padrão de assistência. É um trabalho em equipe. A meta é prevenir ITU associadas ao uso de catéter vesical através da implementação de quatro intervenções recomendadas.

Das três subcategorias de ITU, ITU sintomática, bacteriúria assintomática e outras ITU, somente está incluída no pacote de prevenção ITU sintomática. O período de acompanhamento de vigilância compreende o momento da inserção do catéter até 48 horas após a retirada.

Medidas de Prevenção do *Bundle* de ITU-CVD

1. Evitar o uso desnecessário de catéter urinário

2. Utilizar catéteres urinários juntamente com técnica asséptica

3. A manutenção de catéteres urinários deve seguir recomendações consagradas

4. Diariamente rever a necessidade de manter o catéter e retirá-lo assim que possível

O objetivo da implantação do *bundle* é envolver a equipe assistencial, sensibilizando-a para a percepção de que a prevenção das infecções previsíveis está nas mãos da própria equipe, pois são os profissionais daquele setor que realizam a cateterização, a manutenção do dispositivo, bem como decidem o momento da retirada. Portanto, a meta de redução máxima das ITUs deve ser da própria equipe em conjunto com a Comissão de Controle de Infecção Hospitalar.

Para que obtenha sucesso, o *bundle* prevê a formação de um time multidisciplinar, sendo imprescindível a participação de pelo menos um enfermeiro e um médico, principalmente para o *bundle* de ITU-CVD, uma vez que o cateterismo é realizado por ambos, a manutenção é realizada majoritariamente pela enfermagem e os critérios para retirada devem ser definidos em conjunto pelo enfermeiro e pelo médico. Os critérios para instalação de um cateterismo vesical devem ser igualmente definidos pelo médico e enfermeiro do setor.

O monitoramento do *bundle* é feito através do registro em *check-list* para cada paciente, contendo as quatro medidas preventivas, com as respectivas justificativas, preenchido diariamente. Outro registro diário que faz parte é do número de pacientes com catéter urinário, o qual gera o denominador da densidade de incidência quando é calculado com o número de infecções no período, por mil pacientes-dia. Também é possível calcular a taxa de cateterismos desnecessários, a taxa de catéteres inseridos assepticamente, e a taxa de manutenção adequada de catéteres.

Resumidamente, o *bundle* de ITU-CVD é mais um elemento para a melhoria da qualidade da assistência prestada, que une de forma simplificada informações epidemiológicas e busca congregar medidas relevantes para a prevenção desses importantes agravos à saúde dos usuários de serviços de saúde.

Micro-organismos multidroga-resistentes (MO-MDR) em ITU

Nos últimos sessenta anos um grande número de antimicrobianos foi introduzido tanto na prática clínica quanto na produção de alimentos, induzindo alterações

adaptativas fenotípicas e/ou genotípicas nos micro-organismos. Esses organismos modificados são capazes de disseminar-se no ambiente, estabelecer reservatórios ecológicos, colonizar e causar doenças. Para a sobrevivência a uma vasta diversidade de antibióticos as bactérias necessitam manifestar diferentes mecanismos de resistência, a partir de sua estrutura e mecanismos regulatórios, além de múltiplos genes de resistência que compõem seu arsenal genético.

Pacientes podem ter a microbiota perineal e do trato intestinal modificada tanto pelo uso de antibióticos como pelo tempo de permanência no ambiente hospitalar; os agentes causadores de ITU podem refletir essa modificação, não sendo incomum a ocorrência de infecção por MO-MDR, incluindo aqueles colonizantes transitórios ou persistentes das mãos de profissionais de saúde.

A resistência microbiana às drogas é um fenômeno mundial e percebido como um problema de saúde pública. MO-MDR são definidos como micro-organismos, predominantemente bactérias, resistentes a uma ou mais classes de drogas antimicrobianas. No ambiente de assistência à saúde são transmitidos de paciente a paciente, principalmente por meio das mãos dos trabalhadores, de acordo com a condição imunológica do paciente, a carga microbiana e virulência do micro-organismo transmitido, a colonização e/ou infecção, podendo ocasionar a denominada infecção relacionada à assistência à saúde (IRAS).

A prevenção de MO-MDR e IRAS exige ações administrativas, educacionais e uso criterioso de antimicrobianos, vigilância epidemiológica para o monitoramento desses agravos à saúde na instituição e em âmbito nacional e mundial, além de medidas básicas de precauções padrão no cuidado do paciente e, quando necessário, medidas de isolamento.¹⁶

ITU associadas a catéter compreendem importante reservatório de MO, com destaque para *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Pseudomonas aeruginosa*, enterococos, estafilococos e *Candida* spp.⁶ Quando multidroga-resistentes há indicação da adoção de precauções de contato em todo e qualquer contato direto com o paciente e/ou seu ambiente próximo. Compõem as precauções de contato o uso de avental e luvas de procedimentos e, preferencialmente, quarto e banheiro privativos. A higienização das mãos é fundamental antes e após o uso de luvas assim como o uso de material exclusivo do paciente.

Pacientes portadores ou com suspeita de doença priônica doença de jakob creutzfeldt (djc) – implicações para o manejo de material biológico^{17, 18}

Na prática hospitalar, em instituições que possuem serviços de neurologia e neurocirurgia, tem sido cada vez mais frequente o internamento de pacientes com suspeita de doença priônica, mais especificamente a Doença de Jakob-Creutzfeldt ou “Doença da Vaca Louca em Humanos”. Essas doenças passaram a ser vigiadas ativamente em hospitais de referência.

Por ser uma doença rara, quando ocorre internamento ou procedimento ambulatorial de pacientes com suspeita de doença priônica, apesar de existirem rotinas escritas e disponíveis, gera-se um transtorno no hospital devido à urgência na implantação ou resgate das rotinas específicas de biossegurança.

As características de resistência aos processos convencionais de desinfecção e esterilização que os príons possuem, além da ausência de resposta imunológica na sua transmissão mascarando evidências de identificação de portadores, tornam importante o esclarecimento das medidas de biossegurança específicas.

A maior parte dos pacientes internados para investigação de doença priônica já apresentam sinais e sintomas de degeneração do tecido cerebral. Para investigação são necessárias pelo menos as coletas de líquido e de sangue, que são encaminhados aos Laboratórios Centrais Estaduais (LACENs), para encaminhamento a laboratórios credenciados para as análises específicas, não sendo estas amostras processadas ou manuseadas nos laboratórios dos hospitais em que os pacientes encontram-se internados. Estes pacientes apresentam, porém, comorbidades que requerem exames laboratoriais e para os quais serão encaminhadas amostras de sangue, urina, escarro, entre outras, ao laboratório para análises clínicas e microbiologia.

Desta forma, se faz necessário a elaboração de rotinas, procedimentos operacionais padrão (POPs) e/ou protocolos para coleta, transporte, manuseio e descarte de amostras biológicas de pacientes com suspeita de doença priônica.

Partindo da premissa que os príons são proteínas específicas de células nervosas, a urina é classificada como um material de baixa transmissibilidade. Entretanto, na prática da assistência à saúde, há situações frequentes que envolvem urina e que requerem orientações para segurança no manuseio. Dentre elas destaca-se o manuseio de amostras para exame laboratorial, de produto da eliminação fisiológica do paciente e realização de procedimentos diagnósticos e/ou terapêuticos no trato urinário.

Dos fluidos corporais, o líquido é o material de maior infectividade e portanto de alta transmissibilidade. O sangue é igualmente importante quando se refere à nova variante da DJC causada por uma proteína priônica modificada, identificada nos anos noventa e que pode ser transmitida pelo sangue. Apesar de até meados do ano de 2010 não haver notificação desta nova variante no Brasil, entendemos que nossa preocupação e recomendações devam estar em consonância com a prevenção de sua transmissão.

Recomenda-se que todos os serviços de assistência à saúde e laboratórios que possam receber amostras de pacientes com suspeita de DJC estabeleçam estratégias para comunicação entre a neurologia, a neurocirurgia, clínica médica, emergência e outros setores para investigação, a fim de que as rotinas, protocolos ou POPs para biossegurança na assistência a estes pacientes sejam reativados e desencadeados. Assim, o laboratório, ao receber amostras destes pacientes, deve adotar as medidas de proteção pessoal, do ambiente e de materiais. Deve haver integração entre os serviços ambulatoriais, de internação, do laboratório, higiene hospitalar, comissão de controle de infecção hospitalar, responsáveis pelo gerenciamento de resíduos, entre outros envolvidos na assistência do paciente.

Amostras para Exame Laboratorial

1 - Coleta, transporte, manuseio e descarte da urina

Considerando-se que todo resíduo com algum grau de transmissibilidade deve ser incinerado, que a contaminação ambiental deve ser controlada e que barreiras de proteção devem ser instituídas, recomenda-se:

- A coleta de amostra de urina deve ser realizada com duplo par de luvas, sendo o primeiro par ajustado sob o punho do avental e o segundo par sobre o mesmo. O profissional deve ainda utilizar proteção facial com máscara e óculos ou protetor facial, cuja finalidade é a barreira a respingos de material biológico;
- O frasco coletor deve ser previamente identificado fora do quarto e envolto em plástico;
- O profissional que fará a coleta deve entrar no quarto, coletar a urina no frasco e fechá-lo (com a mão não dominante para não contaminar a tampa), acomodar o paciente e/ou deixar em ordem o local;
- Antes de sair do quarto, deve retirar a luva externa (que está sobre o punho do avental) juntamente com o plástico que envolve o frasco coletor, descartando-os na bombona de incineração. Retirar a proteção facial descartando-a no resíduo infectante, retirar o avental e colocá-lo no recipiente próprio para roupas sujas. Se durante o procedimento houver risco de contaminação do avental com urina, este deverá ser descartado na bombona de incineração;
- Fora do quarto, o frasco coletor deve ser acondicionado em recipiente que proteja de derramamento e/ou quebra (rígido, impermeável e vedante). O profissional deverá retirar a luva, descartá-la no resíduo infectante e identificar a embalagem de transporte, conforme protocolo da instituição (“CJD, Jakob Creutzfeldt”);
- No laboratório, deve existir um protocolo para manuseio de urina de pacientes com suspeita de doença priônica. O documento deve incluir a disponibilidade de Hidróxido de Sódio 2N para descontaminação de superfícies no caso de ocorrer contaminação, luvas de procedimento para serem usadas sempre duplas, caixa de perfurocortante para uso exclusivo de resíduos de CJD, e bombona de uso exclusivo para resíduos a serem incinerados.
- Os resíduos de urina devem ser descartados na bombona de incineração.

2 - Cuidados com Materiais

- Materiais utilizados na análise devem ser descartáveis;
- Materiais não descartáveis termossensíveis, que não possam ser desprezados, devem ser rigorosamente lavados e secos separadamente para não contaminar o restante das superfícies; posteriormente devem ser descontaminados com Hidróxido de Sódio 2N por

uma hora de exposição em imersão, e em seguida, encaminhados para a área suja/expurgo da central de esterilização de materiais para serem reprocessados conforme a rotina do setor;

- Materiais termorresistentes que não possam ser descartados devem ser rigorosamente e separadamente lavados, secados e esterilizados em ciclo especial para príon que é de 132°C por no mínimo uma hora de exposição/esterilização, sendo posteriormente encaminhados à área suja da Central de Esterilização e ser reprocessado de acordo com a rotina do setor. Deve-se lembrar que esta esterilização tem por finalidade inativar as proteínas priônicas, podendo ser considerada uma descontaminação prévia para conferir segurança no manuseio do material.

3 - Cuidados com o ambiente

- Para o manuseio de urina de paciente com suspeita de doença priônica, toda superfície, seja de bancadas ou de aparelhos sujeitos a contaminação, deve ser protegida com impermeável. Na prática, tem sido utilizado filme plástico de PVC (nãovalidado cientificamente);
- Após a manipulação da amostra, ou ao término do procedimento, o impermeável deve ser retirado e feita a limpeza e desinfecção da superfície, conforme rotina do setor. Um cuidado extra é utilizar panos descartáveis e produto em recipiente descartável com a quantidade necessária somente para processo de limpeza e descontaminação desta área;
- Quando o impermeável não for utilizado e/ou quando houver possibilidade de contaminação da superfície, deve-se proceder a limpeza rigorosa com panos descartáveis e recipientes descartáveis de uso exclusivo para esta descontaminação, descartando-os imediatamente após o uso na bombona de incineração. Em seguida, deve-se cobrir toda a superfície supostamente contaminada com panos encharcados em Hidróxido de Sódio 2N, deixando-os em contato com a superfície durante uma hora. Após este tempo a superfície deve ser enxaguada e seca com panos descartáveis, descartando-os no resíduo infectante. Desta forma a área estará liberada para uso com segurança.

4 - Proteção Pessoal

- Precauções padrão consistem basicamente de uso de avental de contágio e uso de luvas de procedimento incluindo higienização de mãos antes e após o uso das luvas. Estas precauções devem ser seguidas sempre que houver possibilidade de exposição a material biológico;
- No manuseio de urina com suspeita de doença priônica deve ser acrescentado às precauções padrão, o uso de mais um par de luvas de procedimento;

- As luvas de procedimento e qualquer EPI com possibilidade de estar contaminado com urina devem ser descartados na bombona de incineração;
- Máscaras devem ser descartadas no resíduo infectante.
- Óculos ou protetores faciais reutilizáveis devem ser submetidos à limpeza úmida com pano, gaze ou “trapo” com descarte em resíduo infectante após o uso; após a limpeza devem ser desinfetados em Hidróxido de Sódio 2N, com imersão por uma hora;
- O uso de EPIs é imprescindível e importante, entretanto deve ser racional para evitar desperdício de dinheiro e prejuízo ao meio ambiente, sendo preferível o uso de produtos descartáveis.

Manejo da Urina de Eliminação Fisiológica do Paciente com Suspeita de CJD

A urina eliminada pelo paciente internado com suspeita de CJD deve ser incinerada. Se o paciente estiver em uso de fraldas, basta utilizar precauções padrão e descartar a fralda na bombona de incineração. Se o paciente estiver cateterizado, o esvaziamento da bolsa de drenagem urinária deverá ser efetuado em recipiente plástico descartável ou diretamente numa fralda para evitar o descarte de líquido na bombona de incineração, que permanece no quarto do paciente até encher. Caso o paciente ainda apresente micção espontânea e continência urinária, deverá urinar em papagaio ou comadre para que o vaso sanitário e a rede de esgoto não sejam contaminados. Na alta, transferência ou óbito do paciente e periodicamente durante sua internação, a comadre e/ou papagaio serão encaminhados ao Centro de Material Esterilizado do Hospital devidamente limpos e identificados, para serem submetidos à esterilização por vapor em ciclo especial para Príon, 132°C por 60 minutos.

Manejo da Urina de Paciente com Suspeita de Doença Priônica – CJD em Procedimentos Diagnósticos e/ou Terapêuticos do Trato Urinário

- Utilizar materiais descartáveis e descartá-los imediatamente após o uso, em bombonas específicas para incineração
- Seguir recomendações para Precaução Padrão acrescentando um par de luvas;
- Coletar a urina em recipiente descartável para que a urina seja incinerada;

Apesar de muito rara, a CJD requer nossa atenção especial, pois até o momento não há tratamento, o diagnóstico só é contemplado com anatomopatológico (que envolve a realização de biópsia ou necropsia cerebral cujos procedimentos implicam em risco ocupacional), e o prognóstico da doença é óbito em no máximo um ano após a manifestação dos sintomas.

Os casos de transmissão ocupacional citados na literatura são referentes a neurocirurgias que sofreram acidente perfurocortante com tecido cerebral durante o procedimento diagnóstico, não havendo citações em outras atividades assistenciais. Entendemos que as medidas de proteção ambiental e ocupacional têm a finalidade de eliminar a presença da proteína priônica no ciclo de transmissão através de objetos e superfícies. A rigorosidade nas recomendações é atribuída à resistência da proteína e às consequências da doença (degeneração cerebral, ausência de tratamento e êxito letal).

REFERÊNCIAS

1. APIC. Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology. Guide to the elimination of catheter-associated urinary tract infections (CAUTIs). Developing and applying facility-based prevention interventions in acute and long-term care settings. 2008.
2. Vieira, FA. Ações de enfermagem para prevenção de infecção do trato urinário relacionada ao catéter vesical de demora. *Einstein*. 2009; 7(3 Pt): 372-5
3. Mesiano, Erab. Infecções hospitalares do trato urinário e corrente sanguínea: fatores associados em pacientes internados nas unidades de tratamento intensivo, no Distrito Federal. Universidade de Brasília, 2007.
4. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Trato urinário. Critérios nacionais de infecções relacionadas à assistência à saúde. Brasília, 2009. 13 p.
5. Horan Tc, Andraus M, Dudeck Ma. Cdc/Nhsn surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Control* 2008; 36(5):309-32
6. Maki DG, Tambyah PA. Engineering Out the risk for infection with urinary catheters. *Emerg Infect Dis* 2001; v. 7, n.2, 2001.
7. Tambyah PA, Halvorson KT, Maki DG. A prospective study of pathogenesis of catheter-associated urinary tract infections. *Mayo Clin Proc* 1999; v. 74, n.2, p.131-6.
8. Stark RP, Maki DG. Bacteriuria in the catheterized patient. What quantitative level of bacteriuria is relevant? *N Engl J Med* 1984;311:560-4.
9. Kass EH. Bacteriuria and the diagnosis of infections of the urinary tract. *Arch Intern Med* 1957; 100:709-714.
10. Mazzoli S. Batteri e biofilm nelle infezioni genito-urinarie. *Infez Med* 2009; Supp 1/2009, p 3-9.
11. Lenz LL. Cateterismo vesical: cuidados, complicações e medidas preventivas. *ACM. Arq Catarinenses Med* 2006; v. 35, n. 1, p. 82-91.
12. Hunt GM, Oakeshott P, Whitaker RH. Intermittent catheterization: simple, safe, and effective but underused. *BMJ* 1996; v.312, p.103-7.
13. Gould CV, Umscheid CA, Agarwal RK, Kuntz G, Pegues DA; Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Guideline for prevention of catheter-associated urinary tract infections 2009. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2010 31(4):319-26.
14. Pratt RJ, Pellowe CM, Wilson JA, Lovedy HP, Harper PJ, Jones SRLJ, Mcdougall C, Wilcox MH. Epic: National evidence-based guidelines for preventing healthcare-associated infections in NHS hospitals in England. *J Hosp Infection* 2007; 65S, S1-64.
15. Institute For Healthcare Improvement. 5 million lives campaign. Cambridge: Institute for Healthcare Improvement; 2008.

16. Siegel Jd, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L, The Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Guideline for isolation precautions. Preventing transmission of infectious agents in healthcare settings, 2007. 219 p.
17. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Encefalopatia espongiforme transmissível. Caderno técnico. 1ª ed. Brasília, 2004. 118 p.
18. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº305, de 14 de novembro de 2002.

19. INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO POLIMICROBIANAS

Alessandro Conrado de Oliveira Silveira

Introdução

As uroculturas são os procedimentos responsáveis pela maior parte do trabalho dentro de um laboratório de microbiologia¹. Vários sistemas comerciais vêm sendo desenvolvidos para identificação de uropatógenos, visando diminuir custos, facilitar e agilizar o trabalho. Assim, pode-se afirmar que, na maioria dos casos, os uropatógenos podem ser isolados e identificados sem maiores problemas. Presume-se tratar-se de um exame simples, de fácil execução e interpretação.

Provavelmente esteja embutido no pensamento de muitos profissionais tal ideia, considerando, por exemplo, que uma cultura de urina deve ser essencialmente monobacteriana e que, quando presente mais de um micro-organismo, deve-se valorizar aquele em maior quantidade, desprezando os demais, sob justificativa de representarem contaminantes de coleta.

Tem sido possível observar, na maioria dos laboratórios clínicos que uroculturas com crescimento polimicrobiano são tratadas como contaminações. É evidente que a contaminação de amostras ainda é algo muito comum, até pela falta de informação dada ao paciente em qualquer serviço, seja hospitalar ou ambulatorial. Entretanto, um protocolo minucioso de coleta obriga ao analisador ter maior critério antes de descartar uma amostra polimicrobiana.

Surpreendentemente, até o momento poucos estudos avaliaram a significância clínica de um crescimento polimicrobiano na urina. Tal significância foi demonstrada em alguns estudos pela recuperação da mesma combinação de micro-organismos no sangue e na urina, nos casos de urosepse, ou pela reprodutibilidade da mesma sequência de bactérias em repetidas culturas de urina².

Obviamente, deve-se considerar que as infecções urinárias verdadeiramente polimicrobianas não são muito comuns, porém não raras, especialmente quando se trata de pacientes em situações específicas, como por exemplo, pielonefrite, prostatite e cateterismo urinário, nas quais a incidência aumenta consideravelmente³.

Procedimentos laboratoriais

A confirmação do diagnóstico polimicrobiano deveria ser realizada a partir de cultura de uma amostra adicional de urina obtida por punção suprapúbica. Tal procedimento, embora ideal, não encontra sustentação científica na prática atual,

devido tratar-se de um procedimento invasivo. A obtenção de amostras seriadas de urina poderia ser uma alternativa adequada, entretanto é comum na rotina clínica a administração precoce de antimicrobianos em pacientes com suspeita de infecções do trato urinário (ITU). Assim, parece fundamental agregar critérios mais precisos ao exame bacteriológico de urina, visando verificar e qualificar as amostras de urina que contenham mais de um micro-organismo.

A interpretação utilizada para testes rotineiros consiste em que isolamentos de uma única espécie com crescimento bacteriano superior a 100.000 UFC/ml indicam infecção; inferior a 10.000 UFC/ml sugerem contaminação vaginal ou uretral e entre 10.000 e 100.000 UFC/ml são duvidosas, tornando-se necessária avaliação com base na informação médica. A maioria dos casos de pielonefrite e cistite pode ser avaliada corretamente usando estes parâmetros. Tais diretrizes, porém, falham em alguns pacientes sintomáticos, considerando que em alguns casos com contagens de 100 UFC/ml podem ser clinicamente relevantes. Consideração especial deve-se dispensar às amostras de crianças, em que a coleta pode ser mais difícil e infecções podem se manifestar em contagens mais baixas (1.000 a 10.000 UFC/ml). Infecção é encontrada mais frequentemente em pacientes com anormalidades anatômicas e em crianças prematuras. Também é necessária atenção especial para pacientes com bexiga neurogênica e idosos que recebam cuidados domiciliares de enfermagem. Para tais pacientes, testes de triagem não são precisos e a prevalência de bacteriúria é alta nos assintomáticos (30%) e sintomáticos (60%). Assim, recomenda-se semear a urina com alça calibrada de 0,001 ml e 0,01 ml, em sangue de carneiro a 5%, ágar MacConkey e ágar chocolate (se necessário), incubando a placa no mínimo por 48 horas, devendo-se considerar o crescimento de um ou mais organismos com densidade de 100 a 10.000 UFC/ml⁴.

A coleta de duas amostras de urina pode auxiliar no diagnóstico de ITU polimicrobiana. No exame bacteriológico quantitativo de urina, uma cultura com desenvolvimento superior a 100.000 UFC/ml representa 80 % de acerto no diagnóstico de bacteriúria vesical, duas amostras 91% e três amostras 95 %. Considerando o efetivo rigor empregado na coleta, o transporte adequado, a conservação em temperaturas de 4 a 8°C e a correta semeadura, as chances de recuperar o mesmo patógeno em uroculturas seriadas são muito maiores⁵.

O espectro de uropatógenos encontrados nas ITUs polimicrobianas é bastante amplo, pois além dos patógenos usuais como *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S.saprophyticus*, *Enterococcus* spp, outros micro-organismos podem se comportar como patógenos oportunistas, principalmente quando há manipulação urinária ou quadros de imunossupressão⁶.

A ocorrência de certas combinações de bactérias podem resultar da simbiose e antagonismo entre as mesmas. A combinação *E. coli* – *Enterococcus* spp., por exemplo, constituintes da microbiota intestinal normal, resultando de uma contaminação fecal, poderia ser resultado de uma forte associação. Todavia, a *E. coli* ocorre principalmente em culturas monobacterianas devido a substâncias por ela produzidas que inibem o crescimento de outras bactérias do trato urinário⁷.

Síndromes clínicas

Alguns fatores de complicação (sondas de nefrostomia, cálculos urinários, bexiga neurogênica) não só facilitam a entrada e a permanência de micro-organismos nas vias urinárias, como também alteram o espectro de uropatógenos. Embora *Escherichia coli* seja a maior causadora de ITU complicadas e não complicadas, seguida de outros bacilos gram-negativos como *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Acinetobacter spp.* e *Pseudomonas spp.*, é possível observar mais frequentemente micro-organismos que não seriam classificados como uropatógenos, como estafilococos coagulase negativos e leveduras, principalmente entre pacientes sob terapia antibacteriana e/ou uso de catéteres. Tais organismos não *E coli* tem menor habilidade intrínseca para invadir o trato urinário intacto, mas podem se comportar como patógenos potentes quando são diminuídas as defesas do organismo. ITU polimicrobiana, que em outros contextos é frequentemente considerada como sugestão de contaminação de amostra, é comum em ITU complicada.⁴

O uso de catéteres urinários é um dos principais fatores de risco para desenvolvimento de ITU polimicrobianas, sendo que até 50 % das infecções hospitalares podem ser assim adquiridas.⁸

Siegman – Igra (1994) observou que, entre 61 pacientes com urosepse e urinas polimicrobianas, 14 apresentavam processos de malignidade, 10 doenças crônicas e severas do coração, 9 eram pacientes debilitados neurologicamente, 9 tinham hipertrofia prostática benigna, 3 diabetes mellitus, 3 apresentavam causas diversas e 5 eram pacientes com doenças desconhecidas.²

Em crianças queimadas, principalmente nas quais há lesões perineais, onde o uso de catéteres se faz necessário, a ocorrência de ITU polimicrobiana é de 8 %.⁹

Fraldas geriátricas podem causar irritação local da pele e infecção fúngica, levando a uma colonização polimicrobiana e, em vários casos, ocorre ITU com patógenos não usuais.¹⁰

Orrett realizou um estudo em 1998 com 5.089 amostras de urina. Das 1.491 (29,3%) que se apresentaram positivas, 524 (35,1%) eram polimicrobianas: 446 (85,1%) continham dois organismos; 69 (13,1%) três e 9 (1,7%) quatro. Outras amostras de urina foram obtidas de 157 pacientes com urinas polimicrobianas (30%) e somente 90 (57,3%) destes pacientes apresentaram os mesmos organismos nas amostras subsequentes. *E. coli* foi o isolado mais comum em culturas monobacterianas (42,1%) e achava-se associado em 16,8% das culturas polimicrobianas. As bactérias mais encontradas em culturas mistas foram *Enterococcus spp.* (11,5%), *Klebsiella spp.* (21,4%), *Enterobacter spp.* (10,7%) e *Pseudomonas aeruginosa* (7,6%), sendo que *S. saprophyticus* ocorreu apenas em culturas monobacterianas.¹¹

Fatores de risco como diabetes, neoplasia prostática, uso de sonda de Foley por tempo prolongado, ITU complicada por retenção urinária e longos períodos em Unidade de Terapia Intensiva (UTI), são encontrados, ora isolados, ora concomitantes nos pacientes com ITU polimicrobiana confirmada¹².

Interpretação

A interpretação do crescimento bacteriano em cultivos polimicrobianos de urina é polêmica. A Sociedade Americana de Microbiologia publica periodicamente documentos que visam a padronização dos procedimentos e interpretação dos resultados:

Tabela 1 - Interpretação dos resultados das uroculturas

Número de Isolados	Contagem de colônias	Procedimento
2	Ambos < 10.000	IM
2	Ambos > 10.000	ID e TSA
2	1 isolado < 10.000 1 isolado > 10.000	IM ID e TSA
3 ou mais	1 isolado > 100.000 2 isolados < 10.000 Outras contagens	ID e TSA IM *

OBS: Adaptado de McCarter *et al.*⁶

* Reportar todos os isolados com mensagem indicando presença de vários morfotipos bacterianos e sugerir nova coleta.

IM: identificação morfológica (propriedades morfotintoriais, hemólise e/ou testes bioquímicos rápidos)

ID: identificação completa

TSA: antibiograma

Pelo exposto é possível inferir que uma cultura de urina polimicrobiana, principalmente em ambiente hospitalar, não pode ser automaticamente descartada. Dados clínicos, especialmente a presença de catéter ou suspeita de sepse, bem como doenças associadas (diabetes, prostatite e pielonefrite, entre outras) devem ser relatados ao laboratório que deverá proceder e interpretar a amostra de maneira adequada.

A confirmação do diagnóstico deve ser realizada com amostras seriadas de urina, observando-se a presença dos mesmos patógenos nas diversas amostras, embora tal procedimento sofra limitações quando a terapia antimicrobiana tenha sido iniciada. O laboratório necessita observar as indicações clínicas existentes na solicitação do exame, e quando não existentes deve solicitá-las a fim de realizar de maneira adequada os procedimentos para diagnosticar as ITUs polimicrobianas. Convém ressaltar a necessidade de estabelecer protocolos rígidos de coleta, transporte e semeadura imediatamente após a coleta do material, possibilitando assim a valorização dos uropatógenos presentes sem a interferência de contaminantes.

REFERÊNCIAS

1. Albini, C. Cultura de Urina: Análise das Metodologias, Interferências Sobre os Resultados e Proposta Para Padronização. Monografia Apresentada ao Curso de Especialização em Bacteriologia, Universidade Federal do Paraná, 1994.
2. Siegman-Igra, Y.; et al.ii. Polymicrobial and Monomicrobial Bacteraemic Urinary Tract Infection. *Journal of Hospital Infection*, 28: 49-56, 1994.
3. Siegman-Igra, Y.; et al.ii. The Significance of Polymicrobial Growth in Urine: Contamination or True Infection. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 25: 85-91, 1993.
4. Clarridge, J.E.; Jonhson, J.R.; Pezzlo, M.T. Coordinatings Eds. Cumitech 2B: Laboratory Diagnosis in Urinary Tract Infections. American Society for Microbiology, Washington DC, 1998.
5. Winn, W. J.; Allen, S.; Janda, W.; Koneman, E.; Procop, G.; Schreckenberger, P.; Woods, G. Koneman's – Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006.
6. Mccarter, Y. S.;Burd, E. M.; Hall, G. S.; Zervos, M. Coordinating Eds. Cumi-tech 2C, Laboratory Diagnosis of Urinary Tract Infections. Coordinating ed., American Society for Microbiology, Washington DC, 2009.
7. Flourney, D. J. A Descriptive Analysis of Urine Cultures: Pure Versus Mixed Isolates. *Mil. Med.* 157: 514-518, 1992.
8. Goldman, L.; Ausiello, D. Cecil Textbook of Medicine. 23ª Edição. Phyladelphia: W.B. Saunders Company, 2009.
9. Rodgers, M. D; et al.ii. Predictions of Infectious Complications After Burn Injuries in Children. *The Pediatrics Infectious Diseases Journal*, 19(10): 990-995, 2000.
10. Vance, D.B. Do you know if incontinent, bedridden nursing home do better overall with a catheter or with disposable underwear? What if they have sacral pressure sores? *Annals of Long-Term Care*, 10 (10): 50-53, 2002.
11. Orret, F.A. Significance of Polymicrobial Bacteriuria in a Teaching Hospital in Trinidad. *Central African Journal of Medicine* , 44(11): 283-286, 1998.
12. Silveira, A. C. O.; et al.ii. Como e Quando Valorizar Culturas de Urina Polimicrobianas no Laboratório de Microbiologia Clínica. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 46 (4): 289-294, 2010.

20. UROPATÓGENOS INCOMUNS

Alessandro Conrado de Oliveira Silveira

Normalmente as infecções do trato urinário são causadas por uma restrita gama de uropatógenos, especialmente bactérias pertencentes à família Enterobacteriaceae, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus agalactiae* e *Enterococcus* spp. Outros micro-organismos podem levar a um quadro de ITU, especialmente em pacientes imunossuprimidos, crianças, idosos, indivíduos portadores de anormalidades urológicas e doenças de base, como o *diabetes mellitus* e/ou neoplasias genitourinárias. Nestes casos, o espectro de uropatógenos se amplia consideravelmente, dificultando a interpretação do resultado das culturas¹.

A análise minuciosa da requisição médica, a contagem de colônias, a coloração de Gram da gota de urina não centrifugada e os dados do parcial de urina são fundamentais para a correta avaliação do crescimento bacteriano. Estes dados, além de propiciar a diferenciação entre infecção e colonização, auxiliam também na escolha da alça calibrada a ser utilizada e dos meios de cultura, tempo e atmosfera de incubação que devem ser utilizados para a semeadura do material clínico^{2,3}.

Abaixo são comentados alguns patógenos urinários incomuns:

***Salmonella* spp**

A infecção por *Salmonella* spp. pode causar três diferentes síndromes clínicas, como gastroenterite aguda, febre entérica e bacteremia com ou sem foco extraintestinal⁴.

As infecções do trato urinário causadas por *Salmonella* geralmente ocorrem nos extremos de idade. Nos adultos, anormalidades urológicas são responsáveis por quase todas as infecções nos pacientes do sexo masculino e pela maioria das infecções em mulheres. Pacientes com infecções causadas por *Salmonella* não diferem clinicamente daqueles que apresentam infecções por outras enterobactérias. Entretanto, o curso clínico, gravidade, duração e resposta ao tratamento são diferentes^{5,6}.

O mecanismo pelo qual a *Salmonella* infecta o trato urinário se dá pela invasão direta através do meato urinário, mais comum em mulheres devido ao tamanho reduzido da uretra, ou pela propagação hematogênica que surge após uma infecção intestinal na presença de malformações do trato urinário, mais comum em homens onde a obstrução parcial é um fator de risco. Aproximadamente 15 % das ITUs por *Salmonella* encontram-se associadas com isolamento simultâneo nas fezes, na ausência de sintomas gastrointestinais, sem apresentar qualquer diferença entre os sexos^{7,8}.

A sintomatologia, quando presente, é característica de ITU, com o paciente apresentando febre, disúria, dor abdominal, piúria, proteinúria e, na maioria das vezes, urocultura com contagem superior a 100.000 UFC/mL^{6,8}.

A ITU por *Salmonella* é predominantemente observada em pacientes com *diabetes mellitus*, crianças, indivíduos com malformações urológicas e imunossuprimidos. O tratamento prolongado deve ser considerado, devido à alta frequência de complicações. O risco de recorrência após o tratamento com antibióticos demonstra a importância do acompanhamento do paciente, através da solicitação de repetidas uroculturas^{5,6,7}.

***Shigella* spp.**

A *Shigella* spp. usualmente causa infecções intestinais autolimitadas, que dificilmente resultam em complicações extraintestinais. Infecções do trato urinário por *Shigella* são raras⁹.

Foram descritos 40 casos de infecções do trato urinário causadas por *Shigella* spp., sendo que 26/40 (65%) ocorreram em mulheres, 19/40 (48%) em crianças menores de 12 anos e todas as infecções pediátricas aconteceram em meninas. Pouco mais da metade dos pacientes (24/40) apresentaram sintomatologia característica de ITU, porém menos da metade (16/40) apresentou sintomatologia gastrointestinal ou coproculturas positivas (14/40 ou 35%). O isolado mais comum foi *Shigella flexneri* (33/40 ou 82,5%)¹⁰.

O caminho pelo qual a *Shigella* atinge o trato urinário ainda é discutido. Presume-se que a infecção clínica ou mesmo o paciente portador seja uma fonte de micro-organismos que atingem o trato urinário por via ascendente, principalmente em mulheres. A bacteremia é outro mecanismo pelo qual a bactéria pode atingir o trato urinário, mas a situação é rara e mais comum em neonatos, crianças desnutridas e pacientes imunossuprimidos¹¹.

Streptococcus pneumoniae

Streptococcus pneumoniae é a maior causa de pneumonia adquirida na comunidade, otite média, sinusite, bacteremia e meningite. Entretanto, infecções do trato urinário são extremamente raras¹².

O pneumococo é lábil, não resistindo por muito tempo na urina. A urocultura deve ser semeada em até 2 horas, já que após esse prazo há uma diminuição da viabilidade da bactéria. Além disso, nas uroculturas de rotina não são fornecidas condições ideais para o seu desenvolvimento, pois requer meios especiais para crescimento, como o ágar sangue e atmosfera microaerófila¹³.

O achado de *S. pneumoniae* na urina de crianças provavelmente reflete uma colonização perineal, como resultado da autoinoculação com secreções nasofaríngeas através das mãos, levando-se em conta os hábitos de higiene das crianças. Nos casos de pneumococemia, o isolamento de *S. pneumoniae* na urina reflete apenas infecção em local distante, como por exemplo, na pneumonia¹³.

Nos adultos, a presença da bactéria na urina geralmente não é acompanhada de bacteremia, sendo que os pacientes com *S. pneumoniae* na urina podem ser assin-

tomáticos ou com sintomatologia não associada à ITU, com quadros de desordens genitourinárias, como hiperplasia prostática, câncer de próstata, bexiga neurogênica ou cálculos renais¹⁴.

Streptococcus spp.

Streptococcus pyogenes é um dos patógenos mais comuns e ubíquos dos seres humanos. Causa uma grande gama de infecções, incluindo faringotonsilite e infecções de pele. Não está associado a ITU. Uroculturas com contagens intermediárias (5.000 a 50.000 UFC/mL) deste micro-organismo normalmente estão associadas a balanite (meninos até 2 anos), vulvovaginites ou uretrites, representando desta forma um contaminante de coleta⁹.

Como *S. pyogenes* é um estreptococo beta-hemolítico, deve-se tomar cuidado para não confundi-lo com um uropatógeno potencial, *Streptococcus agalactiae*. Ambos apresentam colônias puntiformes com intensa hemólise. Para diferenciá-los, podemos utilizar o teste de PYR (positivo) e a sensibilidade à bacitracina, características *S. pyogenes*¹.

Os estreptococos do grupo *viridans* constituem uma classe heterogênea de estreptococos alfa e gama-hemolíticos. São constituintes da mucosa oral e estão frequentemente associados a cáries dentárias, endocardite, septicemia e abscessos cerebrais¹⁵.

Streptococcus mitis foi descrito como o principal constituinte do grupo *viridans* capaz de causar infecção urinária. A ITU está associada à pacientes imunossuprimidos, com bacteremia posterior a gengivectomia^{15,16}.

Atualmente, novas espécies foram descritas como pertencentes ao grupo *viridans* e, por se tratar de um grupo altamente complexo e díspar, inviabiliza a correta identificação das espécies na maioria dos laboratórios de análises clínicas¹⁶.

Haemophilus spp.

As bactérias do gênero *Haemophilus* são cocobacilos gram-negativos, imóveis, anaeróbios facultativos, encontrados na microbiota do trato respiratório. Encontram-se associados a infecções como pneumonia, meningite e epigloteite, principalmente em crianças^{1,15}.

Foram publicados vários trabalhos correlacionando *H. influenzae* e *H. parainfluenzae* a ITU, embora a prevalência e importância ainda não tenham sido comprovadas, já que as uroculturas não são geralmente semeadas em ágar chocolate¹⁷.

Em estudo recente, durante um período de 24 anos, foram avaliados 5.000 casos de ITU em crianças. Observou-se que 36 casos apresentaram crescimento de *Haemophilus spp.* Houve diferença entre as espécies, sendo que *H. influenzae* predominou nas meninas e *H. parainfluenzae* nos meninos. Todas as crianças apresentaram disfunções urinárias, como malformações congênitas, refluxo grave ou disfunções renais¹⁸.

Com a diminuição das infecções sistêmicas por *H. influenzae* devido às campanhas de vacinação, espera-se que a incidência de ITU pelo agente seja muito baixa, justificando que, exceto nos casos de requisições solicitando o seu isolamento, não se deve utilizar o ágar chocolate na rotina das uroculturas¹⁸.

Mycoplasma spp.

Ureaplasma urealyticum e *Mycoplasma hominis* são usualmente colonizadores do trato urogenital de homens e mulheres saudáveis. *U. urealyticum* está associado a uretrites não gonocócicas e *M. hominis* a doença inflamatória pélvica, febre pós-parto e pielonefrite¹.

A ocorrência de infecção urinária por tais agentes está associada a imunodepressão, obstrução ou instrumentação urinária prévia. *U. urealyticum* tem sido encontrado em pacientes com litíase infecciosa, sugerindo uma possível associação causal. Já *M. hominis* tem sido isolado no trato urinário superior de pacientes com pielonefrite aguda¹⁵.

Em estudo de 436 amostras de urina com crescimento bacteriano em pacientes com sintomatologia de ITU, foram encontrados 5,2 % de *U. urealyticum* e 2 % de *M. hominis*. Demonstrou-se assim que a prevalência destas bactérias é bastante comum, porém é geralmente subestimada pelos microbiologistas, pois necessita de meios de cultura e condições especiais para o isolamento¹⁹.

A significância de micoplasmas em amostras de jato médio urinário é de difícil determinação, devido à provável contaminação da amostra por micro-organismos colonizantes da vagina e uretra distal. Entretanto, estudos realizados em amostras de aspirado suprapúbico em gestantes demonstram que o desenvolvimento de pré-eclâmpsia é três vezes mais provável em mulheres apresentando culturas positivas para micoplasmas no início da gestação do que em mulheres com culturas negativas no mesmo período, evidenciando a patogenicidade destas bactérias no trato urinário^{1,20,21}.

Gardnerella vaginalis

Gardnerella vaginalis, anteriormente denominada *Haemophilus vaginalis* e *Corynebacterium vaginale*, é uma bactéria anaeróbia facultativa, imóvel, observada sob a forma de cocobacilos gram-variáveis. Desde sua primeira descrição em 1955 por Gardner e Dukes, é reconhecida por colonizar o trato genital feminino. A doença mais comum que o micro-organismo pode causar é a vaginose bacteriana, mas doenças graves como bacteremias e meningites já foram descritas. Em homens, o achado das bactérias usualmente é considerado como irrelevante clinicamente, porém já foram relatados casos de uretrite, prostatite e infecções do trato urinário²².

As “clue-cells” ou “células-guia” são células epiteliais escamosas cuja superfície encontra-se repleta de bactérias semelhantes a *Gardnerella vaginalis*. São muito comumente encontradas em esfregaços vaginais, mas também em urinas colhidas por punção suprapúbica em mulheres. Assim, também podem ser observadas em

homens, no sêmen e em swabs uretrais. A adesão às células epiteliais permite à bactéria colonizar a mucosa vaginal, minimizando o contato com enzimas extracelulares e anticorpos locais, reduzindo também as chances de ser eliminada junto com o fluido vaginal ou a urina²³.

Apesar de *Gardnerella vaginalis* crescer em meios utilizados rotineiramente no laboratório, como o ágar sangue e ágar chocolate, por exemplo, o uso de meios seletivos facilita o isolamento da bactéria pois, por se tratar de um micro-organismo que requer condições especiais para o crescimento, pode em muitos casos ser descartada pelo laboratório, mesmo estando presente na amostra¹⁵.

O meio de cultura mais indicado para o crescimento de *Gardnerella vaginalis* é o ágar Columbia CNA com sangue, que utiliza como base o ágar Columbia, acrescido de sangue de carneiro e antibióticos. Embora a adição de ácido nalidíxico e colistina iniba o crescimento de enterobactérias e *Pseudomonas spp.*, e permita o crescimento de leveduras, estafilococos, estreptococos e enterococos, *G. vaginalis* pode crescer muito bem nesse meio^{9,21,24}.

Em amostras obtidas por punção suprapúbica ou de pacientes com suspeita de síndrome uretral aguda, a amostra deve ser semeada com alça calibrada de 0,01 ml (1:100), considerando-se qualquer crescimento e realizando-se a identificação e o antibiograma²⁵.

A importância clínica da presença de *Gardnerella vaginalis* isolada em amostras de urina de jato médio é de difícil avaliação, pois sua presença pode indicar contaminação vaginal. Considerando a alta taxa de colonização vaginal pela bactéria na comunidade, a presença de sintomas de infecção urinária associados ao isolamento da bactéria nas uroculturas, pode-se presumir que o micro-organismo é um patógeno urinário não convencional, porém relativamente frequente²⁵.

O uso de meios seletivos e a incubação por 48-72 horas em atmosfera de CO₂ são fundamentais para o isolamento da bactéria²¹.

Estafilococos coagulase negativos

Os estafilococos coagulase negativos eram anteriormente considerados somente como comensais da pele, porém atualmente são alguns dos agentes mais importantes de infecções hospitalares. O aumento da incidência destas infecções deve-se ao maior uso de dispositivos invasivos, como por exemplo os catéteres^{21,26}.

Excetuando-se *Staphylococcus saprophyticus*, reconhecidos como uropatógenos potenciais, os estafilococos mais prevalentes em ITU são *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus haemolyticus*. Mais recentemente, foram descritos casos de ITU causados por *Staphylooccus* do grupo *sicuri*²⁷.

Estudos demonstram o aumento na prevalência de estafilococos coagulase negativos em pacientes submetidos a instrumentação prévia, como uso de catéteres de Foley ou sondas vesicais. A capacidade destas bactérias formarem biofilmes bacterianos no lúmen dos dispositivos é a principal explicação, já que não apresentam elevada virulência²⁶.

Staphylococcus lugdunensis é um estafilococo coagulase negativo associado com doenças graves em humanos. Apresenta uma patogenicidade semelhante *Staphylococcus aureus*. Além disso, pode apresentar um teste de coagulase positivo quando realizado apenas em lâmina, podendo assim levar à uma identificação errônea de *S. aureus*. Pode-se confirmar a identificação realizando o teste confirmatório de coagulase em lâmina, com PYR e ornitina positivos. Em estudo realizado com 500 amostras de estafilococos coagulase negativos isolados de uroculturas, 31/500 (6%) foram de *S. lugdunensis*, porém apenas 9 em monocultivo. Como o micro-organismo pode estar presente na microbiota perineal, sua presença nas amostras de urina em baixas contagens pode ser devido a contaminação de coleta. Mas devido à elevada patogenicidade extraurogenital da bactéria, o laboratório deve estar sempre atento à sua correta identificação, relatando a presença mesmo quando em contagens baixas (5.000 a 30.000 UFC/mL)²⁸.

Pasteurella multocida

Pasteurella multocida é um pequeno bacilo gram-negativo mais comumente relacionado a infecções de pele devido a mordeduras ou arranhões de gatos e cães. Causa doença em animais, sendo encontrado no trato respiratório de cães e gatos. Em humanos, pode causar uma série de complicações, como pneumonia, meningite, epiglote, abscessos, peritonite e bacteremia¹.

Não cresce em ágar MacConkey, em ágar sangue produz uma colônia pequena, não hemolítica, translúcida e com cheiro de mofo. É oxidase positiva, urease negativa e indol positivo¹⁵.

Raramente causa ITU, nos casos descritos os pacientes apresentavam anomalias urológicas, imunossupressão ou pielonefrite, sem bacteremia, sendo provavelmente transmitido através do contato com a saliva de animais portadores. Nenhum caso descrito foi relacionado com mordedura ou arranhões²⁹.

Corynebacterium urealyticum

Corynebacterium urealyticum é um bacilo gram-positivo de crescimento lento, encontrado na microbiota da pele, podendo causar infecções graves, como meningite, bacteremia e pneumonia. Somente nos últimos anos tem sido relacionado com ITU, apesar da baixa prevalência (0,025 – 0,32%)^{9,20,21,30,31}.

A bacteriúria por *C. urealyticum* ocorre em pacientes hospitalizados por longos períodos, severamente imunocomprometidos, urológicamente manipulados, com doenças urinárias subjacentes e idosos. Tal micro-organismo também tem sido associado com pielonefrite e cálculo urinário, podendo desaparecer espontaneamente da urina mesmo sem antibioticoterapia³⁰.

O uso de meios seletivos, como o ágar sangue de carneiro suplementado com Tween 80 (1%), cisteína, ureia, anfotericina B, polimixina, aztreonam e fosfomicina é indicado para o isolamento do agente. Convém lembrar que deve-se incubar a cultura

por 48-72 horas em microaerofilia. O crescimento de colônias pequenas, opacas, não hemolíticas, visualizadas ao Gram como bacilos gram-positivos corineformes, catalase positivos e urease fortemente positivas é sugestivo de *C. urealyticum*¹⁵.

Em casos de pacientes com urina alcalina, cristais de estruvita, comprometimento urológico ou doença de base importante, presença de hematúria e piúria, deve-se utilizar meios seletivos para *C. urealyticum* ou incubar as placas de ágar sangue por até 72 horas para verificar a possibilidade de ITU por este agente³⁰.

Micobactérias

A tuberculose ainda é um dos principais problemas de saúde pública no mundo, especialmente nos países em desenvolvimento. O trato urogenital é o sítio mais comum sítio de tuberculose extrapulmonar. Achados pulmonares estão concomitantemente presentes em somente 66 % dos casos diagnosticados de tuberculose urogenital¹.

A cultura para *Mycobacterium tuberculosis* apresenta uma taxa de crescimento de 90 % nestes casos. Pode ser realizada uma coloração de Ziehl-Nielsen para visualização dos bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR). Entretanto, o método microbiológico mais indicado é cultura seletiva para *M. tuberculosis*, utilizando 3 amostras da primeira urina da manhã em dias consecutivos^{32,33}.

As manifestações clínicas da tuberculose urogenital são inespecíficas, resultando no retardo do diagnóstico e tratamento, podendo provocar lesões renais e disfunção ureteral³¹.

ITUs causadas por micobactérias atípicas são raras. *Mycobacterium kansasii* já foi isolado de urinas de pacientes com prostatite e infecção disseminada²⁰.

Anaeróbios

Em casos de piúria estéril, a coloração de Gram torna-se fundamental. Se as bactérias são vistas ao Gram mas não crescem na cultura e se os sintomas persistem, é indicada a realização de uma cultura para anaeróbios, principalmente em pacientes com ITU crônica ou anomalias urológicas. A incidência de ITU por anaeróbios sem fatores de risco associados é muito baixa^{9,21}.

Os anaeróbios podem estar envolvidos em casos de celulite ou abscesso periuretral, prostatite, abscessos prostáticos ou escrotais e abscessos retroperitoneais³¹.

Os micro-organismos anaeróbios mais comumente associados com ITU são aqueles que colonizam a uretra distal, sendo *Bacteroides* spp. e *Fusobacterium* spp. os mais comumente encontrados. Outros potenciais patógenos anaeróbios incluem *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Peptoestreptococcus*, *Peptococcus* e *Eubacterium*²⁰.

Quando há uma suspeita de ITU por anaeróbios, seja pela visualização de bactérias sugestivas no Gram ou pela ausência de crescimento em culturas aeróbicas, deve ser realizada a coleta por punção suprapúbica. Por tratar-se de um procedimento invasivo, não é utilizado na rotina, somente quando há uma indicação clínica pontual^{9,21}.

Chlamydia trachomatis

Como *Chlamydia trachomatis* é um patógeno intracelular obrigatório, deve-se utilizar métodos sorológicos ou moleculares para a detecção, dificultando assim estudos de prevalência.

A apresentação clínica da infecção por *C. trachomatis* varia de acordo com o sexo. Em homens, a participação do agente na etiologia dos sintomas urinários em pacientes com uretrite é importante, apresentando sintomatologia característica, podendo também causar epididimite^{19,20}.

Nas mulheres a associação é duvidosa, geralmente com uma apresentação clínica discreta e, em alguns casos, apresentando disúria e piúria, podendo ser associadas à outra infecção bacteriana, visto que *C. trachomatis* não infecta células da bexiga¹⁹.

Leptospira

A leptospirose apresenta um amplo espectro de manifestações clínicas e deve ser considerada em pacientes com risco ocupacional ou exposição após alagamento. *Leptospira* aparece na urina após a primeira semana da doença. Reconhecimento imediato e o tratamento adequado podem reduzir drasticamente a morbidade e a mortalidade. Cultura para *Leptospira* é realizada em laboratórios de referência e requer neutralização do pH da urina para garantir a sobrevivência das leptospiros durante o transporte da amostra. A cultura é realizada em meio de Fletcher e a incubação é de até 13 semanas. Métodos moleculares e/ou sorológicos são utilizados preferencialmente devido à rapidez do diagnóstico²⁰.

Aerococcus urinae

Aerococcus urinae é um patógeno raramente reportado, possivelmente devido à dificuldade para de identificação. É um coco gram-positivo, visualizado aos pares e em aglomerados, apresentando alfa-hemólise em ágar sangue de carneiro, sendo catalase e PYR negativos, e por este motivo confundidos com *Streptococcus* e *Enterococcus*³⁴.

Poucos relatos associam *A. urinae* com ITU, sendo que todos os nove pacientes descritos apresentavam idade superior a 58 anos, com doenças de base importantes, como câncer prostático, *diabetes mellitus*, cirrose hepática ou uso de catéter urinário³⁴.

Actinobaculum spp.

Actinobaculum shaalii é um pequeno coco gram-positivo, anaeróbio facultativo, apresentando beta-hemólise em ágar sangue de carneiro após 3 a 5 dias de crescimento. É catalase, oxidase e urease negativo e resistente ao ciprofloxacino e

sulfametoxazol-trimetoprim. Foi relatado como um patógeno oportunista, principalmente em pacientes idosos, pacientes com predisposição a ITUs ou naqueles utilizando tratamento prolongado com ciprofloxacino ou sulfametoxazol-trimetoprim³⁵.

Actinobaculum massiliae foi isolado da urina de uma mulher de 81 anos com ITU crônica. A mesma cepa foi isolada três vezes num período de sete meses, mesmo após tratamento com amoxicilina, sulfametoxazol-trimetoprim e rifampicina³⁶.

Devido ao fato destes micro-organismos não serem isolados em uroculturas de rotina, o crescimento de *Actinobaculum* spp. pode ser considerado contaminante.. O uso de ágar sangue de carneiro, incubação prolongada e identificação acurada podem levar ao diagnóstico etiológico correto.

REFERÊNCIAS

1. Winn, W. J.; Allen, S.; Janda, W.; Koneman, E.; Procop, G.; Schreckenberger, P.; Woods, G. *Koneman's – Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006.
2. Pilonetto, M.; Pilonetto, D.V. *Manual de Procedimentos Básicos em Microbiologia*. Curitiba: Microscience, 1998.
3. Albini, C.A.; Souza, H. A. P. H. M.; Stingham, A. E. M. *Coloração de Gram – Como fazer, interpretar e padronizar*. 2ª Edição. Curitiba, PR: Microscience, 2003.
4. Abott, S. L.; Portoni, B. A.; Janda, J. M. Urinary Tract Infections Associated with Nontyphoidal *Salmonella* Serogroups. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 37, n. 12, p. 4177-4178, 1999.
5. Mathal, E. *et al.*ii. Significance of *Salmonella typhi* Bacteriuria. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 33, n. 7, p. 1791-1792, 1995.
6. Chiu, S.; Chiu, C.H.; Lin, T.Y. *Salmonella enterica* serotype Choleraesuis infection in a medical Center in Northern Taiwan. *The Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, v. 37, p. 99-102, 2004.
7. Geffken, J. *et al.*ii. *Salmonella enteritidis* urinary tract infection. *Heart & Lung*, v. 25, n.1, p. 81-83, 1996.
8. Tena, D.; González-Praetorius, A.; Bisquert, J. Urinary tract infection due to non-typhoidal *Salmonella*: Report of 19 cases. *Journal of Infection*, v. 54. p. 245-249, 2007.
9. Mccarter, Y. S.; Burd, E. M.; Hall, G. S.; Zervos, M. Coordinating Eds. *Cumitech 2C: Laboratory Diagnosis of Urinary Tract Infections*. American Society for Microbiology, Washington DC, 2009.
10. Papisian, C. J.; Enna-Kifer, S.; Garrison, B. Symptomatic *Shigella sonnei* Urinary Tract Infection. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 33, n. 8, p. 2222-2223, 1995.
11. Barea, F. A.; Rodríguez, M. J. P.; Muiña, P. G.; Aguilera, M. D. R. Infección Del tracto urinário por *Shigella sonnei*. *An Pedr*, vol. 58, n. 6, p. 612-618, 2003.
12. Dufke, S.; Kunze-Kronawitter, H.; Schubert, S. Pyelonephritis and Urosepsis Caused by *Streptococcus pneumoniae*. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 42, n. 9, p. 4383-4385, 2004.
13. Miller, M. A.; Kaplan, B. S.; Sorger, S.; Knowles, K. F. Pneumococcosuria in Children. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 27, n.1, p. 99-101, 1989.
14. Nguyen, V. Q.; Penn, R. L. Pneumococcosuria in Adults. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 26, n. 6, p. 1085-1087, 1988.
15. Murray, P. R. *Manual of Clinical Microbiology*. 9.ed. Washington: ASM Press, 2006.
16. Whiley, R. A. *et al.*ii. *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus constellatus*, and *Streptococcus anginosus* (the *Streptococcus milleri* group): Association with Different Body Sites and Clinical Infections. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 30, n.1, p. 243-244, 1992.

17. Alcoba, J.; Gutiérrez-González, I.; Batista, N.; García-Neto, V. Infección urinaria por *Haemophilus influenzae* como manifestación inicial de alteración renal. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, v. 22, N. 2, p. 125-127, 2004.
18. Collares, G. B.; Castro, M. M. T.; Paiva, L. F. R. Infecção do trato urinário por *Haemophilus influenzae*: relato de um caso e revisão da literatura. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 41, n. 2, p. 95-97, 2005.
19. González-Pedraza, A. *et al.*ii. Papel de las bacterias asociadas a infecciones de transmisión sexual en la etiología de la infección de vías urinarias bajas en el primer nivel de atención médica. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, v. 21, n. 2, p. 89-92, 2003.
20. Monteiro, D.R. *Bactérias Fastidiosas como Agentes Etiológicos de Infecções Urinárias*. 2005. 53 f. Monografía (Especialização em Análises Clínicas e Toxicológicas) – Universidade do Tuiuti, Curitiba.
21. Clarridge, J.E.; Jonhson, J.R.; Pezzlo, M.T. Coordinatings Eds. *Cumitech 2B: Laboratory Diagnosis in Urinary Tract Infections*. American Society for Microbiology, Washington DC, 1998.
22. Catlin, B. W. *Gardnerella vaginalis*: characteristics, clinical considerations, and controversies. *Clinical Microbiological Reviews*, v.5, n. 3, p. 213-237, 1992.
23. Smith, S. M.; Ogbara, T.; Eng, R.H. Involvement of *Gardnerella vaginalis* in urinary tract infections in men. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 30, n. 6, p. 1575-1577, 1992
24. Oplustil, C. P.; Zoccoli, C. M.; Tobouti, N. R.; Sinto, S. I. *Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica*. 3 ed., São Paulo: Sarvier, 2010.
25. Silveira, A. C. O. *et al.*ii. A *Gardnerella vaginalis* e as infecções do trato urinário. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 46, n. 4, p. 296-300, 2010.
26. Kumari, N. *et al.*ii. Coagulase Negative Staphylococci as Causative Agents of Urinary Tract Infections – Prevalence and Resistance Status in Igums, Patna. *Indian Journal of Pathology and Microbiology*, v. 44, n. 4, p. 415-419, 2001.
27. Stepanovic, S. *et al.*ii. Isolation of Members of the *Staphylococcus sciuri* Group from Urine and Their Relationship to Urinary Tract Infections. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 41, n. 11, p. 5262-5264, 2003.
28. Haile, D. T. *et al.*ii. Frequency of Isolation of *Staphylococcus lugdunensis* in Consecutive Urine Cultures and Relationship to Urinary Tract Infection. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 40, n. 2, p. 654-656, 2002
29. Mann, B. A.; Quenzer, R. W. *Pasteurella multocida* urinary tract infection. *The Western Journal of Medicine*, v. 147, n. 2, p. 200-201, 1987.
30. Ryan, M.; Murray, P. R. Prevalence of *Corynebacterium urealyticum* in Urine Specimens Collected at a University-Affiliated Medical Center. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 32, n. 5, p. 1395-1396, 1994.
31. Maskell, R. A New Look at the Diagnosis of Infection of the Urinary Tract and its Adjacent Structures. *Journal of Infection*, v. 19, p. 207-217, 1989.

32. Hsieh, H. C. *et al.* Genitourinary tuberculosis in a medical center in Southern Taiwan: an eleven year experience. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, v. 39, p. 408-413, 2006
33. Yazdani, M.; SHAHIDI, S.; SHIRANI, M. Urinary Polymerase Chain Reaction for Diagnosis of Urogenital Tuberculosis. *Urology Journal*, v.5, n.1, p. 46-49, 2008.
34. Zhang, Q. *et al.* *Aerococcus urinae* in Urinary Tract Infections. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 38, n.4, p. 1703-1705, 2000.
35. Bank, S. *et al.* *Actinobaculum schaalii*, a Common Uropathogen in Elderly Patients, Denmark. *Emerging Infectious Diseases*, v. 16, n.1, p. 76-80, 2010.
36. Greub, G.; Raoult, D. “*Actinobaculum massiliae*,” a New Species Causing Chronic Urinary Tract Infection. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 40, n. 11, p. 3938-3941, 2002.

21. A URINA E O DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA LEPTOSPIROSE

Irina Nastassja Riedger

***Leptospira* e leptospirose**

A leptospirose é a zoonose de mais ampla distribuição mundial,¹⁻³ com importância epidemiológica nos contextos urbano e rural, em países de clima tropical e temperado.⁴ Exibe evidente caráter sazonal, que coincide com o período chuvoso do ano.⁵ A ocorrência da leptospirose está relacionada à situação socioeconômica e sanitária da população, apresentando, portanto, incidências distintas entre as diferentes classes sociais. Enquanto nos países desenvolvidos a leptospirose é considerada uma patologia reemergente e ocupacional,^{6, 7} a mesma constitui um problema de Saúde Pública nos países em desenvolvimento, como o Brasil, afetando populações negligenciadas que não dispõem de estrutura sanitária básica.⁷

Classificação taxonômica

A leptospirose é causada por bactérias da ordem *Spirochetales*, família *Leptospiraceae*. Os gêneros taxonomicamente reconhecidos nessa família são *Leptospira*, *Leptonema* e *Turneriella*.

Anteriormente a 1989, a classificação do gênero *Leptospira* era baseada em reações sorológicas, com divisão em duas espécies ou complexos: *L. interrogans*, que compreende todas as cepas patogênicas (parasíticas); e *L. biflexa*, que compreende as cepas saprofíticas (de vida livre). As duas espécies são divididas em mais de 300 sorovares, que são as unidades taxonômicas básicas do gênero⁸ e são determinados com base em reações sorológicas no teste de adsorção de aglutinação cruzada (CAAT, do inglês *Cross-Agglutination Adsorption Test*). Os sorovares antigenicamente relacionados são organizados em sorogrupos. As duas espécies são diferenciadas pela capacidade de crescimento a 11-13°C na presença de 8-azaguanina e pela incapacidade da *L. biflexa* de crescer e formar células esféricas em NaCl 1 M.^{1, 9, 10}

A classificação sorológica das leptospirosas tem gradativamente dado lugar à classificação molecular (genotípica), na qual várias espécies de leptospirosas, além de *L. interrogans* e *L. biflexa*, foram estabelecidas com bases genéticas.¹¹ Como os mecanismos genéticos que determinam a expressão de antígenos sorovar-específicos em genomoespécies diferentes ainda não foram elucidados, em geral a classificação genotípica em genomoespécies não coincide com a classi-

ficação fenotípica. Então, a classificação sorológica em sorogrupos e sorovares não é capaz de prever a espécie molecular da cepa bacteriana e, consequentemente, sua classificação taxonômica; bem como é possível que cepas da mesma genomoespécie não pertençam necessariamente ao mesmo sorogrupo.^{1, 12} Análises filogenéticas mostram que as 20 genomoespécies descritas são agrupadas em três grandes grupos que compreendem as cepas patogênicas, intermediárias e saprofitas (Tabela 1).^{1, 2, 6, 12, 13}

Tabela 1. Espécies do gênero *Leptospira* classificadas segundo seu potencial patogênico. Potencial patogênico

Espécies patogênicas
<i>Leptospira interrogans</i>
<i>Leptospira kirschneri</i>
<i>Leptospira borgpetersenii</i>
<i>Leptospira santarosai</i>
<i>Leptospira noguchii</i>
<i>Leptospira weilii</i>
<i>Leptospira alexanderi</i>
<i>Leptospira alstoni</i>
Espécies saprofitas
<i>Leptospira biflexa</i>
<i>Leptospira wolbachii</i>
<i>Leptospira kmetyi</i>
<i>Leptospira meyeri</i>
<i>Leptospira vanthielii</i>
<i>Leptospira terpestrae</i>
<i>Leptospira yanagawae</i>
Espécies intermediárias
<i>Leptospira inadai</i>
<i>Leptospira broomii</i>
<i>Leptospira fainei</i>
<i>Leptospira wolfii</i>
<i>Leptospira licerasiae</i>

Fonte: A Autora, a partir de dados de Ko *et al.*, 2009; Bharti *et al.*, 2003; e Levett, 2001.

Morfologia e metabolismo

As leptospiros são espiroquetas móveis altamente espiraladas, medindo de 10 a 20 μm de comprimento e cerca de 0,1 μm de diâmetro. Todas as leptospiros apresentam, como as demais espiroquetas, uma arquitetura de parede celular distinta. Essa estrutura apresenta similaridades tanto com bactérias gram-positivas quanto gram-negativas. Assim como nas primeiras, a membrana interna (citoplasmática) é intimamente relacionada à parede celular de peptidoglicanos (PG). Já a membrana externa é rica em lipopolissacarídeos (LPS) e fornece proteção para alguns antígenos, como o endoflagelo, em relação ao ambiente externo. Entretanto, estudos utilizando criofratura da parede celular mostraram que a membrana externa das espiroquetas apresenta menor conteúdo proteico do que a das bactérias gram-negativas, sendo mais fluida e lábil.¹⁴ Paralelamente, a membrana externa das leptospiros e demais espiroquetas parece ter baixa densidade de proteínas transmembrana e grande quantidade de lipoproteínas.^{6, 15} Os LPS da parede celular das leptospiros possuem composição química e características tintoriais similares aos das bactérias gram-negativas, mas apresentam atividade endotóxica menor.

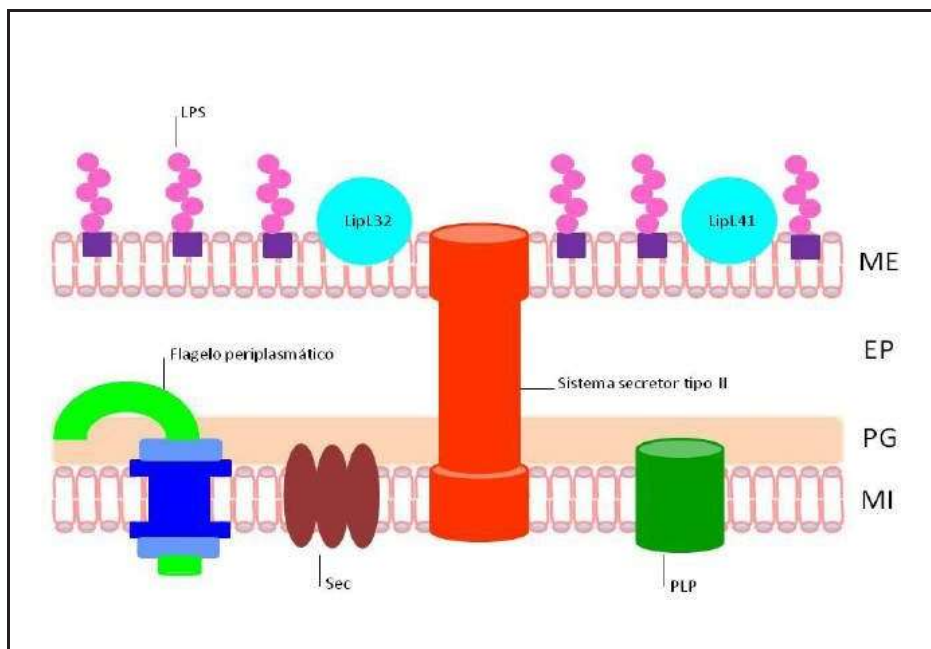


Figura 1. Representação esquemática simplificada da arquitetura da parede celular das leptospiros. Leptospiros possuem uma membrana interna (MI) e uma membrana externa (ME). Entre as duas membranas está o espaço periplasmático (EP) e a parede celular de peptidoglicanos (PG), adjunta à MI. Associadas a essas estruturas estão algumas das principais proteínas da MI, como a proteína ligante de

penicilina (PLP); e o translocon Sec, responsável pelo transporte transmembrana das lipoproteínas a partir do citoplasma, para posterior incorporação às bicamadas lipídicas. Também estão representados o conjunto secretor tipo II e a estrutura flagelar periplasmática. Ancorados na ME estão os lipopolissacarídeos (LPS), porinas como OmpL1 (não representada) e várias lipoproteínas, entre elas LipL32, LipL41 e LipL36 (posicionada na parte interna da ME e não representada). Fonte : A Autora, baseada em dados de Ko *et al.*, 2009 e Adler & Faine, 2006.

As leptospiros têm extremidades pontiagudas que, diferentemente de outras espiroquetas, usualmente apresentam forma de gancho em uma ou ambas as extremidades (Figura 2). Dois filamentos axiais (flagelos modificados), com inserções periplasmáticas polares ancoradas no complexo de peptidoglicanos da membrana interna, atravessam todo o protoplasma.^{1, 9, 6} A forma helicoidal cilíndrica e a movimentação dos dois filamentos axiais levam aos movimentos rotacionais e translacionais que permitem que as bactérias penetrem ativamente nos tecidos do hospedeiro através do movimento de saca-rolhas.^{2, 6, 9, 17}

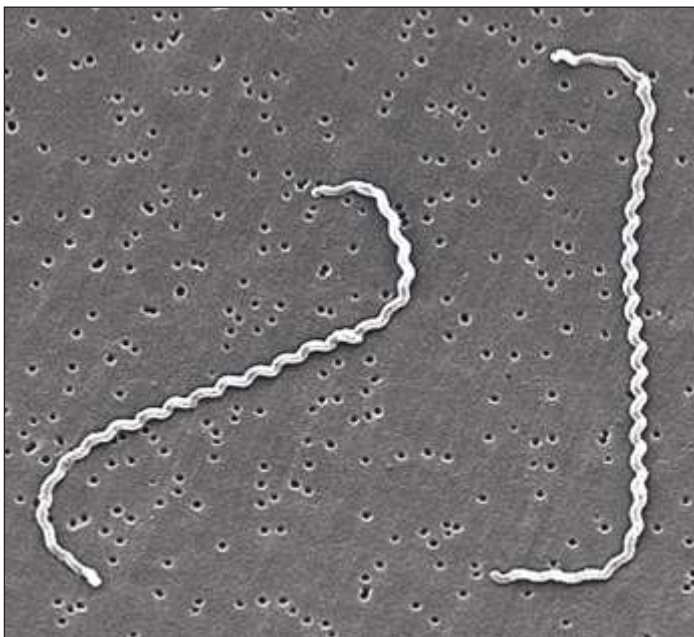


Figura 2. Eletromicrografia de varredura mostrando duas células de *L. interrogans* sorovar icterohaemorrhagiae cepa RGA, aderidas a uma membrana de nitrocelulose com porosidade de 0,22 μm . Fonte: Weyant *et al.*, 1999.

As leptospiros patogênicas são bactérias fastidiosas, aeróbias obrigatórias e apresentam crescimento ótimo entre 28 e 30°C em meio com pH 7,2-7,6, produzindo catalase e oxidase. Ácidos graxos são utilizados como fonte primária de carbono

e metabolizados por β -oxidação.^{1, 9} Apesar de serem metabolicamente essenciais, os ácidos graxos são tóxicos para as leptospiras e devem ser apresentados às bactérias na presença de um composto desintoxicante como a albumina sérica bovina (BSA). As leptospiras não fermentam carboidratos nem os utilizam como fonte de carbono. Amônia é um micronutriente essencial ao crescimento das leptospiras, serve como fonte única de nitrogênio e pode ser introduzida no meio como sais de amônio ou como produtos de deaminação de aminoácidos. Também são essenciais cianocobalamina (vitamina B12), tiamina (vitamina B1), íons fosfato, cálcio, magnésio e ferro (Fe^{+3} ou grupo heme).^{1, 9, 12, 14}

O meio de Ellinghausen, McCullough, Johnson e Harris (EMJH) é o meio de cultura mais utilizado para o crescimento de leptospiras,¹⁸ podendo o meio-base ser adquirido comercialmente. Em meio líquido, o crescimento é caracterizado pela birrefringência ou turbidez do meio de cultura. O crescimento das leptospiras em meio semissólido pode ser percebido como um anel circular opaco que se desenvolve alguns milímetros abaixo da superfície do meio, conhecido como anel de Dinger.^{12, 14} Quando cultivadas em meio semissólido, as cepas podem permanecer viáveis por longos períodos desde que armazenadas em tubos bem fechados e guardados à temperatura ambiente ao abrigo da luz.¹⁴

Epidemiologia e transmissão

A leptospirose é a antroponose de maior incidência mundial e afeta tanto a população urbana quanto a rural em países com clima tropical,^{3, 19} subtropical²⁰ ou temperado.^{21, 22} Essa patologia exhibe claro caráter sazonal em regiões tropicais, em que o período chuvoso do ano é marcado por altas temperaturas,^{5, 7, 19} sendo descrita nos cinco continentes.^{3, 23-25}

Tradicionalmente reconhecida nos países desenvolvidos como doença ocupacional,²⁶⁻³³ hoje a leptospirose é cada vez mais associada a atividades recreacionais,³⁴⁻³⁷ eventos esportivos,³⁸⁻⁴⁰ viagens⁴¹ e turismo de aventura,^{38, 41, 42} sendo também descrita como patologia reemergente.^{17, 20}

Já nos países subdesenvolvidos e em desenvolvimento, a epidemiologia e as altas taxas de prevalência da leptospirose estão intimamente relacionadas às condições socioeconômicas da população.^{3, 7, 19, 43, 44} A Organização das Nações Unidas estima que 31,6% da população urbana mundial residam em favelas, o que corresponde a um bilhão de pessoas. Essa porcentagem sobe para 43% da população urbana nos países subdesenvolvidos e em desenvolvimento.⁴⁵ Estima-se que a população mundial das favelas deve dobrar nos próximos 20 anos e a leptospirose tende a tornar-se cada vez mais um paradigma para a Saúde Pública nessas comunidades,^{45, 46} nas quais há evidências de que a infecção aconteça no ambiente doméstico.^{46, 47} A ausência de estrutura sanitária básica nas favelas produziu condições ecológicas ideais para a instalação de um quadro endêmico em países como o Brasil.^{3, 7, 19, 43, 46, 48, 49}

credita-se que a maioria dos casos brasileiros seja devida à infecção por cepas clonais do sorogrupo *Icterohaemorrhagiae*,^{3, 19, 46, 50} o que fortalece o papel do rato doméstico como principal reservatório, uma vez que *Rattus rattus* e *R. norvegicus* são os carreadores mais comuns desse sorogrupo.^{3, 46, 51, 52}

A transmissão da leptospirose ocorre pelo contato direto ou indireto com o material biológico (principalmente urina) de animais contaminados, que podem ser divididos em hospedeiros de manutenção e hospedeiros acidentais. A doença se mantém na natureza pela infecção crônica, endêmica e assintomática dos túbulos renais dos hospedeiros de manutenção, com os quais as leptospiplas mantêm uma relação comensal. Animais de outras espécies podem ser contaminados pelo contato com a urina do hospedeiro de manutenção, tornando-se então hospedeiros acidentais.^{1, 2, 9}

Patogênese e aspectos clínicos

Após a infecção, a leptospirose tem um período de incubação que pode variar de uma a quatro semanas. A apresentação clínica é tipicamente bifásica: a primeira etapa é bacterêmica e dura cerca de uma semana; enquanto a segunda fase é imune e caracterizada pela soroconversão e leptospirúria.

As lesões primárias em todas as formas de leptospirose são decorrentes de danos mecânicos ou tóxicos causados pelas leptospiplas ou por reações imunomediadas às membranas das células endoteliais dos vasos sanguíneos. O efeito imediato é o extravasamento de fluidos e bactérias para o espaço extravascular, incluindo também o extravasamento de eritrócitos quando os danos são mais intensos. Uma cadeia de eventos subsequentes (isquemia, anóxia, hipertensão local) leva à perda da integridade estrutural e funcional em determinados órgãos e tecidos-alvo, determinando a apresentação clínica e as características macro e microscópicas das lesões associadas à leptospirose.^{9, 53, 54} A severidade da doença presumivelmente depende do tamanho do inóculo, de características de virulência da cepa infectante e de peculiaridades relacionadas à resposta imune de cada indivíduo.^{55, 56}

A maior parte dos casos de infecção por leptospiplas em humanos é subclínica ou com sintomatologia muito branda.^{43, 57} Nesses casos o paciente raramente procura atendimento médico e assim estima-se que haja subnotificação dessa patologia.^{7, 43, 58} Uma proporção menor de pacientes (casos confirmados) apresenta uma síndrome anictérica febril aguda.^{1, 9} Como a sintomatologia é inespecífica, deve-se proceder ao diagnóstico diferencial com uma variedade de infecções virais e bacterianas.^{1, 17, 59-64} A taxa de mortalidade é baixa e os sintomas normalmente desaparecem em uma semana, coincidindo com a soroconversão.^{1, 2, 6, 9}

Cerca de 10% dos casos de leptospirose se apresentam como uma síndrome íctero-febril aguda (Síndrome de Weil), cuja evolução clínica é rápida e progressiva.^{1, 2, 6, 9}

As complicações clínicas dessa forma de manifestação enfatizam o caráter multissistêmico da doença.¹ Alguns sintomas associados à Síndrome de Weil são febre, icterícia,⁴⁰ insuficiência renal aguda,⁶⁵⁻⁶⁸ trombocitopenia,⁶⁹⁻⁷¹ comprometimento pulmonar,^{54, 72, 73} alterações cardíacas⁶¹ e comprometimento ocular.⁷⁴ A taxa de mortalidade nesses casos varia de 15 a 40%. Os principais fatores de risco envolvidos com o prognóstico e a evolução clínica dos pacientes são hipotensão, oligúria e anormalidades à auscultação cardíaca.^{75,76}

Os quadros de Síndrome Hemorrágica Pulmonar associada à Leptospirose (LHPS, do inglês *Leptospirosis-associated Hemorrhagic Pulmonary Syndrome*) foram descritos pela primeira vez no início dos anos 1990 e sua incidência tem aumentado significativamente nos últimos anos, podendo ocorrer nas formas ictericas e anictéricas da doença com hemorragia pulmonar de intensidade suficiente para levar à morte.^{6, 9, 73} A LHPS é a manifestação clínica mais grave da leptospirose e tem gradativamente substituído a Síndrome de Weil como *causa mortis* em grande parte dos casos fatais de leptospirose.⁷⁷ Os sintomas pulmonares normalmente surgem entre o quarto e o sexto dia de doença e podem levar à morte em menos de 72 horas, com taxas de mortalidade de até 60%. Três variáveis foram independentemente associadas à mortalidade nesses casos: instabilidade hemodinâmica, creatinina sérica superior a 265,2 μM e potássio sérico superior a 4,0 mM.^{54, 78}

Diagnóstico laboratorial

Como a sintomatologia da leptospirose é sindrômica e portanto inespecífica, a suspeita clínica deve ser confirmada através do diagnóstico laboratorial. Além dos parâmetros hematológicos, são recomendadas análises bioquímicas para avaliação das funções hepática e renal, além dos testes específicos para o diagnóstico da leptospirose. As técnicas utilizadas para esse fim consistem majoritariamente de métodos diretos para a demonstração de antígenos do agente; demonstração microbiológica da bactéria a partir do isolamento *in vitro*; ou pesquisa molecular do material genético bacteriano. Também são utilizadas técnicas sorológicas para o diagnóstico indireto da infecção, principalmente ensaios de ELISA IgM e testes de microaglutinação (MAT). O diagnóstico laboratorial da leptospirose é essencialmente o mesmo em humanos e animais e as amostras biológicas mais comumente utilizadas são soro, sangue total e líquido cefalorraquidiano (LCR). Amostras de urina podem ser utilizadas em ensaios diretos, mas a baixa sensibilidade dessas técnicas leva a um alto percentual de resultados falso-negativos. Essa limitação pode potencialmente ser contornada com a utilização de métodos moleculares, mas nenhum dos vários métodos descritos foi amplamente validado para a detecção a partir de amostras de urina.

Coleta, transporte e armazenamento das amostras

Amostras de urina podem ser obtidas dos pacientes e utilizadas para a pesquisa de leptospiros a partir da segunda semana com sintomas. O período de duração da leptospiúria ainda é motivo de debate, mas há evidências de eliminação intermitente com início cerca de sete dias após a instalação dos sintomas e persistência por semanas. São consideradas adequadas amostras de jato médio de urina obtidas por micção espontânea, ou coletadas através de catéteres vesicais ou cistocentese.

Em virtude de sua sensibilidade a ambientes ácidos, as leptospiros sobrevivem por um curto período na urina humana podendo também sofrer lise, o que compromete tanto as tentativas de isolamento quanto o processo de concentração para a extração do DNA. Desse modo, o pH da urina deve ser neutralizado com tampão PBS (pH 7,2) ou bicarbonato de sódio imediatamente após a coleta.^{9, 12} A amostra deve ser transportada ao laboratório em temperatura ambiente e deve ser processada rapidamente, de modo que o tempo entre a coleta e o processamento não ultrapasse 12 horas.⁷⁹

Diagnóstico direto em amostras de urina

Microscopia

Dentre os métodos microbiológicos diretos está a pesquisa de leptospiros por microscopia, utilizando preparados a fresco observados em microscopia de campo escuro ou preparações fixadas e coradas observadas em microscopia de luz ou de fluorescência.

Apesar de ser tradicionalmente relacionada ao diagnóstico da leptospirose e à detecção da leptospiúria, a observação de preparações a fresco em campo escuro apresenta sensibilidade e especificidade muito baixas. Teoricamente, uma concentração de 10^4 leptospiros/ml de urina seria suficiente para haver visualização de uma célula por campo em aumento de $100\times$. Na prática, o limite de detecção da técnica oscila entre 10^5 e 10^6 leptospiros/ml, o que só ocorre em casos muito graves.^{12, 14} A morfologia e a motilidade típicas das leptospiros devem ser levadas em consideração na observação das preparações. Além disso, é importante ter em mente que a interpretação do exame é subjetiva e depende da experiência do observador, o que em muitos casos pode levar a diagnósticos equivocados na presença de estruturas como fibras têxteis, extrusões celulares, outras espiroquetas como *Treponema*, ou espermatozoides.⁸⁰

Apesar de consideradas bactérias gram-negativas, as leptospiros não são apropriadamente visualizadas pelas técnicas de coloração de Giemsa ou Gram em virtude de sua forma delgada.¹⁴ As técnicas de fixação e coloração específicas para espiroquetas utilizam os métodos de Whartin-Starry ou Fontana-Tribondeau, ba-

seados na impregnação por sais de prata. Entretanto, ambas as colorações são utilizadas em estudos histológicos, juntamente com colorações imunohistoquímicas, tendo pouca aplicabilidade a amostras de urina.^{9, 12}

Isolamento

Como em outras infecções bacterianas, a demonstração do patógeno isolado a partir de amostras biológicas de pacientes é o método padrão-ouro no diagnóstico da doença. Apesar de o isolamento permitir o diagnóstico direto, o crescimento das leptospiras é lento. Isolados primários podem demorar meses para se adaptar e crescer nas condições de cultivo *in vitro*. Subcultivos puros em meio líquido normalmente apresentam crescimento em 7 a 10 dias. Apesar de apresentar alta especificidade, esse método é pouco usado para fins diagnósticos devido à baixa sensibilidade e ao longo período necessário para o crescimento bacteriano. Como o tempo necessário para a liberação de um resultado pode chegar a três meses, a cultura é usada como método confirmatório, associada aos métodos moleculares e aos métodos sorológicos indiretos como ELISA e teste de microaglutinação (MAT). Entretanto, o isolamento das bactérias tem importância fundamental nas investigações epidemiológicas, sendo pré-requisito essencial para a identificação da cepa envolvida em surtos ou epidemias, ou mesmo da cepa circulante em determinada área geográfica. Isso permite melhor compreensão do ciclo zoonótico na região, facilitando e melhorando a elaboração de políticas para o controle da doença.⁸¹

Amostras de urina devem ser coletadas a partir da segunda semana de sintomatologia e frequentemente contêm micro-organismos contaminantes cujos produtos metabólicos inibem o crescimento *in vitro* das leptospiras. Desse modo, cerca de 15 ml de urina neutralizada devem ser centrifugados por 30 minutos a $1.500 \times g$. O sedimento deve ser ressuspenso em tampão PBS (pH 7,2) e uma ou duas gotas devem ser inoculadas em meio EMJH semissólido seletivo contendo 5-fluorouracil (100-200 $\mu\text{g/ml}$) ou outro agente seletivo e incubado a 28-30°C. Após 48 horas, deve ser feito o subcultivo (múltiplo, se possível) para meio EMJH semissólido não seletivo, repassando 1-10% do volume total do meio fresco. Alternativamente, o subcultivo pode ser feito em meio EMJH líquido não seletivo, que deve ser filtrado através de membrana de 0,22 μm após sete dias de incubação, com subsequente passagem para meio EMJH semissólido. Os subcultivos devem ser inspecionados por microscopia em campo escuro após 1, 3, 5 e 7 dias de incubação. Após a primeira semana, as inspeções devem ser semanais e as culturas devem ser mantidas por 12 semanas antes de serem descartadas como negativas.^{9, 14}

Técnicas moleculares

O uso de técnicas moleculares como a reação em cadeia da polimerase (PCR) tornou possível pesquisar o material genético bacteriano em diversas amostras clínicas, como sangue total, soro, LCR, humor aquoso, tecidos e urina.^{1, 12} Os alvos moleculares mais comumente pesquisados nos primeiros sistemas descritos eram os genes 16S e 23S rRNA,⁴ elementos de inserção (IS)^{82, 83} e sequências cuja função era desconhecida, derivadas de bibliotecas genômicas.^{61, 84} A publicação dos genomas completos dos sorovores patogênicos Lai⁸⁵ e Copenhageni⁸⁶ e, mais tarde, dos sorovares Patoc (saprófito)⁸⁷ e Hardjo (patogênico)⁸⁸, impulsionou os estudos de genética evolutiva e comparativa, revelando alvos moleculares mais apropriados para os testes diagnósticos. Entre os novos alvos para os testes moleculares estão os genes codificadores de proteínas características do gênero *Leptospira* como a família Lig⁸⁹ ou exclusivas das espécies patogênicas, como a lipoproteína LipL32.⁹⁰

⁹¹ Simultaneamente, as técnicas de PCR convencional têm sido gradativamente substituídas por sistemas de PCR em tempo real,^{64, 92-97} mais sensíveis, específicos e rápidos. Alguns desses métodos foram validados em amostras clínicas de soro e sangue total humanos,^{92, 94, 96-98} mas o número de pacientes e grupos-controle testados é limitado. Do mesmo modo, grande parte dos indivíduos recrutados nesses estudos é proveniente de áreas de baixa prevalência, tornando necessárias validações com pacientes de regiões endêmicas para avaliar a real aplicabilidade diagnóstica dessas técnicas. A tecnologia de PCR em tempo real pode potencialmente ser aplicada ao diagnóstico da leptospirose ou acompanhamento e determinação do estado de carreador renal a partir de amostras de urina.⁹⁹

Diagnóstico indireto

A maioria dos casos de leptospirose é diagnosticada por métodos sorológicos. Os anticorpos anti-*Leptospira* são detectáveis no soro em aproximadamente sete dias após o início dos sintomas. Os métodos sorológicos podem ser divididos em dois grupos: gênero-específicos e sorogrupo-específicos.¹ Entre os métodos gênero-específicos estão os testes ELISA IgM,^{100, 101} ensaios tipo *dipstick*¹⁰²⁻¹⁰⁵ e a imunocromatografia de fluxo lateral (*lateral flow*).^{106, 107} Já o teste de microaglutinação (MAT), considerado o método padrão-ouro sorológico, consiste na reação do soro do paciente com diluições seriadas de um painel de culturas de leptospiros e é capaz de informar o título de reatividade ao sorogrupo infectante. Em regiões endêmicas, um título $\geq 1:800$ é altamente sugestivo de infecção corrente ou recente. Apesar de ser o teste sorológico com maiores sensibilidade e especificidade, a execução da técnica e a leitura do teste devem ser realizadas por profissionais experientes. Como a técnica exige a manutenção de uma coleção de cepas-padrão e capacitação do operador, apenas laboratórios de referência costumam realizar o

MAT. Outra desvantagem importante é a necessidade de avaliação de amostras de soro pareadas, coletadas com um intervalo mínimo de 15 dias, para se efetuar um diagnóstico conclusivo.^{1, 9, 12, 14, 81}

Identificação

As técnicas de identificação de leptospiras, sejam elas sorológicas ou moleculares, têm como pré-requisito o isolamento da bactéria. Com as técnicas disponíveis no momento, não é possível realizar a tipagem apenas com as amostras biológicas do paciente.

Técnicas sorológicas

O método sorológico convencional para a identificação dos isolados de *Leptospira* baseia-se no CAAT, em que as cepas são colocadas em contato com painéis de soro hiperimune de coelho direcionados contra cepas de referência, sendo o padrão de reação das cepas comparado a seguir. Esse método é laborioso e caro, uma vez que os painéis de soro hiperimune não estão disponíveis comercialmente e devem ser produzidos e exaustivamente caracterizados pelos laboratórios. Alguns laboratórios de referência produzem painéis de anticorpos monoclonais que podem ser usados para a sorotipagem, mas sua produção também é técnica e financeiramente dispendiosa, limitando sua aplicabilidade.

Técnicas moleculares

O método de referência para a tipagem molecular bacteriana é a determinação do grau de homologia entre as cepas a partir de ensaios de hibridização de DNA¹⁴ ou sequenciamento completo do gene 16S rRNA. Alguns métodos moleculares, como RFLP (do inglês *Random Fragment Length Polymorphism*)^{108, 109} e *arbitrarily primed-PCR* (AP-PCR),^{110, 112} foram desenvolvidos com o intuito de classificar isolados em genomoespécies. Para a resolução ao nível de subespécies, a primeira técnica utilizada fazia uso da análise de restrição por endonucleases (REA, do inglês *Restriction Endonucleases Analysis*).¹¹³ Os resultados obtidos com essa técnica forneceram as primeiras evidências do grau de diversidade genética possível entre cepas classificadas como pertencentes ao mesmo sorovar.

As técnicas de tipagem moleculares evoluíram com a utilização de endonucleases cujos sítios de restrição são esparsos no genoma bacteriano, com posterior análise do perfil de restrição em eletroforese em campo pulsado (PFGE). Surpreendentemente, algumas técnicas de PFGE geram perfis de restrição únicos para cada genótipo, permitindo excelente correlação entre o sorovar e o genótipo.^{114, 115} Outra técnica promissora para a tipagem molecular das leptospiras é o MLST (do inglês, *Multilocus Sequence Typing*), que se baseia no sequenciamento parcial de genes

constitutivos para determinar seus alelos e na posterior avaliação da combinação de alelos para determinar o genótipo (nesse caso, o *Sequence Type* ou ST). Também estão descritas algumas metodologias baseadas em MLVA (do inglês, *Multiple-Locus Variable number of tandem repeats Analysis*). Essa técnica se baseia na determinação de alelos para determinados *loci* VNTR polimórficos entre as cepas, e na posterior avaliação conjunta dos alelos para determinar o genótipo.¹¹⁶⁻¹¹⁸ Apesar do alto grau de resolução, as técnicas descritas não são capazes de distinguir genótipos altamente relacionados, mas classificados em diferentes sorovares, além de não serem aplicáveis a todas as genomoespécies simultaneamente.^{119, 120}

Susceptibilidade a antimicrobianos

Leptospiras possuem parede celular e ribossomos, o que as torna teoricamente suscetíveis a várias classes de antimicrobianos. São suscetíveis a β -lactâmicos, macrolídeos, aminoglicosídeos, tetraciclinas, fluoroquinolonas e carbapenêmicos.^{1, 9, 121, 122} Vale ressaltar que as leptospiras não são sensíveis a cloranfenicol, sulfonamidas, rifampicina e metronidazol.^{9, 57} Limitações como o longo tempo de geração, necessidade de cultivo em meio suplementado e dificuldades para quantificar o crescimento bacteriano dificultam o desenvolvimento de testes padronizados de suscetibilidade a antimicrobianos.^{1, 121}

Medidas preventivas

Apesar de serem amplamente utilizadas na medicina veterinária, não existem vacinas para uso humano que sejam simultaneamente seguras e efetivas. China e Cuba desenvolveram versões que são utilizadas nesses países, mas não estão aprovadas por órgãos reguladores internacionais em virtude de dúvidas relacionadas ao potencial protetor em longo prazo e segurança no uso. Como a resposta imune contra a leptospirose é majoritariamente humoral, é importante que o antígeno utilizado nos protótipos de vacinas forneça proteção cruzada contra diversos sorovares, idealmente protegendo contra a infecção por todos os sorovares patogênicos.

Não há medidas de prevenção de curto prazo que possam ser implantadas com sucesso em áreas de alto risco como as favelas. Como as evidências apontam os ratos domésticos (*R. rattus* e *R. norvegicus*) como os reservatórios primários nas comunidades negligenciadas urbanas, canais de esgoto a céu aberto, drenagem pluvial inadequada e o lixo doméstico acumulado acabam servindo como as principais fontes de contaminação. O controle químico de roedores tem sido empregado em algumas áreas, mas é uma medida de alto custo e difícil de ser sustentada em médio e longo prazos. O uso de botas, luvas e demais barreiras físicas de proteção diminuem a incidência de lesões que serviriam como porta de

entrada para as leptospirose e, junto com a antibioticoprofilaxia, têm relevância em situações de risco ocupacional. Entretanto, são medidas de adoção inviáveis a nível populacional. Desse modo, a adequação da estrutura sanitária disponível nas áreas negligenciadas seria a solução ideal e definitiva para o controle e a prevenção da leptospirose urbana, mas é improvável que seja disponibilizada para a população de risco em curto e médio prazos.

REFERÊNCIAS

1. Levett, P. N. Leptospirosis. *Clinical Microbiology Reviews*, Washington D. C., v. 14, n. 2, p. 296-327, 2001.
2. Bharti, A. R. *et al.* Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *The Lancet Infectious Diseases*, London, v. 3, n. 12, p. 757-771, 2003.
3. KO, A. I. *et al.* Urban epidemic of severe leptospirosis in Brazil. *The Lancet*, London, v. 354, n. 9181, p. 820-825, 1999.
4. Merien, F. *et al.* Polymerase chain reaction for detection of *Leptospira* spp. in clinical samples. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington D. C., v. 30, n. 9, p. 2219-2224, 1992.
5. Pappachan, M. J.; Sheela, M.; Aravindan, K. P. Relation of rainfall pattern and epidemic leptospirosis in the Indian state of Kerala. *Journal of Epidemiology and Community Health*, London, v. 58, n. 12, p. 1054-1054, 2004.
6. KO, A. I.; Goarant, C.; Picardeau, M. *Leptospira*: the dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen. *Nature Reviews. Microbiology*, London, v. 7, n. 10, p. 736-747, 2009.
7. McBride, A. J. A. *et al.* Leptospirosis. *Current Opinion in Infectious Diseases*, London, v. 18, n. 5, p. 376-386, 2005.
8. Kmety, E.; Dikken, H. Classification of the species *Leptospira interrogans* and history of its serovars. 1st edition. Committee on Systematic Bacteriology, Subcommittee on the Taxonomy of *Leptospira*, 1992. 104 p.
9. Faine, S. *et al.* *Leptospira* and leptospirosis. 2nd edition. Melbourne: MediSci, 1999. 296 p.
10. Johnson, R. C.; Rogers, P. Differentiation of pathogenic and saprophytic leptospires with 8-azaguanine. *Journal of Bacteriology*, Washington D. C., v. 88, n. 6, p. 1618-1623, 1964.
11. Yasuda, P. H. *et al.* Desoxyribonucleic acid relatedness between serogroups and serovars in the family Leptospiraceae with proposals for seven new *Leptospira* species. *International Journal of Systematic Bacteriology*, Ames, v. 37, n. p. 407-415, 1987.
12. Levett, P. N. *Leptospira*. In: P.R. Murray, *et al.* (Eds). *Manual of clinical microbiology*. 9th edition. Washington D. C.: ASM Press, 2007. 1267 p.
13. Brenner, D. J. *et al.* Further determination of DNA relatedness between serogroups and serovars in the family Leptospiraceae with a proposal for *Leptospira alexanderi* and four new *Leptospira* genomospecies. *International Journal of Systematic Bacteriology*, v. 49, n. 2, p. 839-858, 1999.
14. Adler, B.; Faine, F. The genus *Leptospira*. In: M. Dworkin, *et al.* (Eds). *The prokaryotes: a handbook on the biology of bacteria*. 3rd edition. Singapore: Springer, 2006. 1037 p.
15. Haake, D. A.; Matsunaga, J. Leptospiral membrane proteins - variations on a theme? *Indian Journal of Medical Research*, Bombay, v. 121, n. 3, p. 143-145, 2005.

16. Wolgemuth, C. W. *et al.* The flagellar cytoskeleton of the spirochetes. *Journal of Molecular and Microbiological Biotechnology*, Basel, v. 11, n. 3-5, p. 221-227, 2006.
17. Binder, W. D.; Mermel, L. A. Leptospirosis in an urban setting: case report and review of an emerging infectious disease. *Journal of Emergency Medicine*, v. 16, n. 6, p. 851-856, 1998.
18. Ellinghausen, H.; Mccullough, W. Nutrition of *Leptospira pomona* and growth of 13 other serotypes -fractionation of oleic albumin complex and a medium of bovine albumin and polysorbate 80. *American Journal of Veterinary Research*, Chicago, v. 26, n. p. 45-51, 1965.
19. Romero, E. C.; Bernardo, C. C. D. M.; YASUDA, P. H. Human leptospirosis: a twenty-nine-year serological study in São Paulo, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, São Paulo, v. 45, n. 5, p. 245-248, 2003.
20. Meites, E. *et al.* Reemerging leptospirosis, California. *Emerging Infectious Diseases*, Atlanta, v. 10, n. 3, p. 406-412, 2004.
21. Baranton, G.; Postic, D. Trends in leptospirosis epidemiology in France. Sixty-six years of passive serological surveillance from 1920 to 2003. *International Journal of Infectious Diseases*, v. 10, n. 2, p. 162-170, 2006.
22. Jansen, A. *et al.* Leptospirosis in Germany, 1962-2003. *Emerging Infectious Diseases*, Atlanta, v. 11, n. 7, p. 1048-1054, 2005.
23. Vieira, M. L.; Gama-Simoes, M. J.; Collares-Pereira, M. Human leptospirosis in Portugal: a retrospective study of eighteen years. *International Journal of Infectious Diseases*, London, v. 10, n. 5, p. 378-386, 2006.
24. Sambasiva, R. R. *et al.* Leptospirosis in India and the rest of the world. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, Salvador, v. 7, n. 3, p. 178-193, 2003.
25. Seijo, A. *et al.* Lethal leptospiral pulmonary hemorrhage: an emerging disease in Buenos Aires, Argentina. *Emerging Infectious Diseases*, Atlanta, v. 8, n. 9, p. 1004-1005, 2002.
26. Waitkins, S. A. Leptospirosis as an occupational disease. *British Journal of Industrial Medicine*, London, v. 43, n. 11, p. 721-725, 1986.
27. Hernandez, M. S. *et al.* Outbreaks of animal and human leptospirosis in the province of Ciego de Avila. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, Havana, v. 57, n. 1, p. 79-80, 2005.
28. Natarajaseenivasan, K. *et al.* Leptospirosis among rice mill workers of Salem, South India. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, Tokyo, v. 55, n. 5, p. 170-173, 2002.
29. Gonçalves, D. D. *et al.* Seroepidemiology and occupational and environmental variables for leptospirosis, brucellosis and toxoplasmosis in slaughterhouse workers in the Paraná State, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, São Paulo, v. 48, n. 3, p. 135-140, 2006.
30. Belmaker, I. *et al.* Risk of transmission of leptospirosis from infected cattle to dairy workers in southern Israel. *Israel Medical Association Journal*, Israel, v. 6, n. 1, p. 24-27, 2004.

31. Campagnolo, E. R. *et al.* Analysis of the 1998 outbreak of leptospirosis in Missouri in humans exposed to infected swine. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 216, n. 5, p. 676-682, 2000.
32. Van Charante, A. W. M. *et al.* Occupational risks of zoonotic infections in Dutch forestry workers and muskrat catchers. *European Journal of Epidemiology*, Rome, v. 14, n. 2, p. 109-116, 1998.
33. Suarez Hernandez, M. *et al.* Human leptospirosis outbreak in the district of Ciego de Avila, Cuba. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, Uberaba, v. 32, n. 1, p. 13-18, 1999.
34. Monahan, A. M.; Miller, I. S.; Nally, J. E. Leptospirosis: risks during recreational activities. *Journal of Applied Microbiology*, Oxford, v. 107, n. 3, p. 707-716, 2009.
35. Haake, D. A. *et al.* Leptospirosis, water sports, and chemoprophylaxis. *Clinical Infectious Diseases*, Chicago, v. 34, n. 9, p. E40-E43, 2002.
36. Narita, M. *et al.* Leptospirosis after recreational exposure to water in the Yaeyama Islands, Japan. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Northbrook, v. 73, n. 4, p. 652-656, 2005.
37. Nakamura, M. *et al.* Sporadic cases and an outbreak of leptospirosis probably associated with recreational activities in rivers in the northern part of Okinawa Main Island. *Journal of Veterinary Medical Science*, Tokyo, v. 68, n. 1, p. 83-85, 2006.
38. Sejvar, J. *et al.* Leptospirosis in “Eco-Challenge” athletes, Malaysian Borneo, 2000. *Emerging Infectious Diseases*, Atlanta, v. 9, n. 6, p. 702-707, 2003.
39. Boland, M. *et al.* A cluster of leptospirosis cases in canoeists following a competition on the River Liffey. *Epidemiology and Infection*, Cambridge, v. 132, n. 2, p. 195-200, 2004.
40. Morgan, J. *et al.* Outbreak of leptospirosis among triathlon participants and community residents in Springfield, Illinois, 1998. *Clinical Infectious Diseases*, Chicago, v. 34, n. 12, p. 1593-1599, 2002.
41. Grobusch, M. P. *et al.* Leptospirosis in travelers returning from the Dominican Republic. *Journal of Travel Medicine*, Malden, v. 10, n. 1, p. 55-58, 2003.
42. Stern, E. J. *et al.* Outbreak of leptospirosis among adventure race participants in Florida, 2005. *Clinical Infectious Diseases*, Chicago, v. 50, n. 6, p. 843-849, 2010.
43. Silva, H. R. *et al.* Leptospiral infection and subclinical presentation among children in Salvador, Bahia. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, Uberaba, v. 36, n. 2, p. 227-233, 2003.
44. Plank, R.; Dean, D. Overview of the epidemiology, microbiology, and pathogenesis of *Leptospira* spp. in humans. *Microbes and Infection*, Paris, v. 2, n. 10, p. 1265-1276, 2000.
45. Programme, U. N. H. S. The challenge of slums: Global report on human settlements. London: Earthscan Publications Ltd., 2003. 310 p.

46. Reis, R. B. *et al.* Impact of environment and social gradient on *Leptospira* infection in urban slums. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, San Francisco, v. 2, n. 4, p. 2008.
47. Maciel, E. A. P. *et al.* Household transmission of *Leptospira* infection in urban slum communities. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, San Francisco, v. 2, n. 1, p. e154, 2008.
48. Soares, T. S. M. *et al.* Spatial and seasonal analysis on leptospirosis in the municipality of São Paulo, Southeastern Brazil, 1998 to 2006. *Revista de Saúde Pública*, São Paulo, v. 44, n. 2, p. 283-291, 2010.
49. Barcellos, C.; Sabroza, P. C. Socio-environmental determinants of the leptospirosis outbreak of 1996 in western Rio de Janeiro: a geographical approach. *International Journal of Environmental Health Research*, v. 10, n. 4, p. 301-313, 2000.
50. Pereira, M. M. *et al.* A clonal subpopulation of *Leptospira interrogans sensu stricto* is the major cause of leptospirosis outbreaks in Brazil. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington D. C., v. 38, n. 1, p. 450-452, 2000.
51. Vinetz, J. M. *et al.* Sporadic urban leptospirosis. *Annals of Internal Medicine*, Philadelphia, v. 125, n. 10, p. 794-798, 1996.
52. Sunbul, M. *et al.* *Rattus norvegicus* acting as reservoir of *Leptospira interrogans* in the Middle Black Sea region of Turkey, as evidenced by PCR and presence of serum antibodies to *Leptospira* strain. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, Stockholm, v. 33, n. 12, p. 896-898, 2001.
53. Diament, D. *et al.* Peripheral blood mononuclear cell activation induced by *Leptospira interrogans* glycolipoprotein. *Infection and Immunity*, Washington D. C., v. 70, n. 4, p. 1677-1683, 2002.
54. Dolhnikoff, M. *et al.* Pathology and pathophysiology of pulmonary manifestations in leptospirosis. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v. 11, n. 1, p. 142-148, 2007.
55. Ganoza, C. A.; Vinetz, J. M. Quantification of pathogenic *Leptospira* in surface waters explains urban predominance of severe human leptospirosis in the Peruvian Amazon. *Journal of Investigative Medicine*, Hamilton, v. 54, n. 1, p. 316, 2006.
56. Ganoza, C. A. *et al.* Determining risk for severe leptospirosis by molecular analysis of environmental surface waters for pathogenic *Leptospira*. *PLoS Medicine*, San Francisco, v. 3, n. 8, p. 1329-1340, 2006.
57. Faucher, J. F.; Hoen, B.; Estavoyer, J. M. The management of leptospirosis. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, v. 5, n. 4, p. 819-827, 2004.
58. Brum, L.; Kupek, E. Record linkage and capture-recapture estimates for underreporting of human leptospirosis in a Brazilian health district. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v. 9, n. 6, p. 515-20, 2005.
59. Alexander, A. D. *et al.* Leptospirosis in Puerto Rico. *Zoonoses Research*, New York, v. 2, n. 3, p. 152-227, 1963.
60. Hudson, C. P. *et al.* Severe primary HIV-1 infection among black persons in Barbados. *International Journal of STD & AIDS*, London, v. 8, n. 6, p. 393-397, 1997.

61. Kee, S. H. *et al.* Detection of leptospiral DNA by PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington D. C., v. 32, n. 4, p. 1035-1039, 1994.
62. Ramachandran, S. *et al.* Patterns of acute renal failure in leptospirosis. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Northbrook, v. 79, n. 7, p. 158-160, 1976.
63. Spichler, A. *et al.* Weil's disease: an unusually fulminant presentation characterized by pulmonary hemorrhage and shock. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, Salvador, v. 9, n. 4, p. 336-340, 2005.
64. Slack, A. *et al.* Evaluation of a modified Taqman assay detecting pathogenic *Leptospira* spp. against culture and *Leptospira*-specific IgM enzyme-linked immunosorbent assay in a clinical environment. *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases*, New York, v. 57, n. 4, p. 361-366, 2007.
65. Cetin, B. D. *et al.* Acute renal failure: a common manifestation of leptospirosis. *Renal Failure*, Oxfordshire, v. 26, n. 6, p. 655-661, 2004.
66. Abdulkader, R. Acute renal failure in leptospirosis. *Renal Failure*, Oxfordshire, v. 19, n. 2, p. 191-198, 1997.
67. Visith, S.; Kearnkiat, P. Nephropathy in leptospirosis. *Journal of Postgraduate Medicine*, Bombay, v. 51, n. 3, p. 184-188, 2005.
68. Yang, C. W.; WU, M. S.; PAN, M. J. Leptospirosis renal disease. *Nephrology, Dialysis and Transplantation*, Oxford, v. 16 Suppl 5, n. p. 73-77, 2001.
69. Edwards, C. N. *et al.* Thrombocytopenia in leptospirosis - the absence of evidence for disseminated intravascular coagulation. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 35, n. 2, p. 352-354, 1986.
70. Edwards, C. N.; Nicholson, G. D.; Everard, C. O. R. Thrombocytopenia in leptospirosis. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 31, n. 4, p. 827-829, 1982.
71. Stefos, A. *et al.* Leptospirosis and pancytopenia: two case reports and review of the literature. *Journal of Infection*, London, v. 51, n. 5, p. e277-280, 2005.
72. Spichler, A. *et al.* Interrelationship between thrombocytopenia, acute renal failure and pulmonary involvement in severe leptospirosis. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Northbrook, v. 79, n. 6, p. 446, 2008.
73. Im, J. G. *et al.* Leptospirosis of the lung - radiographic findings in 58 patients. *American Journal of Roentgenology*, Baltimore, v. 152, n. 5, p. 955-959, 1989.
74. Rathinam, S. R. Ocular manifestations of leptospirosis. *Journal of Postgraduate Medicine*, Bombay, v. 51, n. 3, p. 189-194, 2005.
75. Esen, S. *et al.* Impact of clinical and laboratory findings on prognosis in leptospirosis. *Swiss Medical Weekly*, v. 134, n. 23-24, p. 347-352, 2004.
76. Doudier, B. *et al.* Prognostic factors associated with severe leptospirosis. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 12, n. 4, p. 299-300, 2006.
77. Gouveia, E. L. *et al.* Leptospirosis-associated severe pulmonary hemorrhagic syndrome, Salvador, Brazil. *Emerging Infectious Diseases*, Atlanta, v. 14, n. 3, p. 505-508, 2008.

78. Dolhnikoff, M. *et al.* Leptospiral pneumonias. *Current Opinion on Pulmonary Medicine*, v. 13, n. 3, p. 230-235, 2007.
79. Lucchesi, P. M. *et al.* Recommendations for the detection of *Leptospira* in urine by PCR. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, Uberaba, v. 37, n. 2, p. 131-134, 2004.
80. Chandrasekaran, S.; Gomathi, S. A standard screening test for the early and rapid diagnosis of leptospirosis. *Indian Journal of Medical Microbiology*, Mumbai, v. 22, n. 1, p. 23-27, 2004.
81. Terpstra, W. J. *Human leptospirosis: guidance for diagnosis, surveillance and control*. Malta: World Health Organization, 2003. 122 p.
82. Zuerner, R. L.; Alt, D.; Bolin, C. A. IS1533-based PCR assay for identification of *Leptospira interrogans sensu lato* serovars. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington D. C., v. 33, n. 12, p. 3284-3289, 1995.
83. Boursaux-Eude, C.; Saint Girons, I.; Zuerner, R. IS1500, an IS3-like element from *Leptospira interrogans*. *Microbiology*, v. 141, n. 9, p. 2165-2173, 1995.
84. Gravekamp, C. *et al.* Detection of seven species of pathogenic leptospires by PCR using two sets of primers. *Journal of General Microbiology*, London, v. 139, n. 8, p. 1691-700, 1993.
85. Ren, S. X. *et al.* Unique physiological and pathogenic features of *Leptospira interrogans* revealed by whole-genome sequencing. *Nature*, London, v. 422, n. 6934, p. 888-893, 2003.
86. Nascimento, A. L. *et al.* Genome features of *Leptospira interrogans* serovar Copenhageni. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, Ribeirão Preto, v. 37, n. 4, p. 459-478, 2004.
87. Picardeau, M. *et al.* Genome sequence of the saprophyte *Leptospira biflexa* provides insights into the evolution of *Leptospira* and the pathogenesis of leptospirosis. *PLoS ONE*, San Francisco, v. 3, n. 2, p. e1607, 2008.
88. Bulach, D. M. *et al.* Genome reduction in *Leptospira borgpetersenii* reflects limited transmission potential. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 103, n. 39, p. 14560-14565, 2006.
89. Palaniappan, R. U. *et al.* Evaluation of lig-based conventional and real time PCR for the detection of pathogenic leptospires. *Molecular and Cell Probes*, London, v. 19, n. 2, p. 111-117, 2005.
90. Haake, D. A. *et al.* The leptospiral major outer membrane protein LipL32 is a lipoprotein expressed during mammalian infection. *Infection and Immunity*, Washington D. C., v. 68, n. 4, p. 2276-2285, 2000.
91. Guerreiro, H. *et al.* Leptospiral proteins recognized during the humoral immune response to leptospirosis in humans. *Infection and Immunity*, Washington D. C., v. 69, n. 8, p. 4958-4968, 2001.
92. Smythe, L. D. *et al.* A quantitative PCR (TaqMan) assay for pathogenic *Leptospira* spp. *BMC Infectious Diseases*, London, v. 2, n. 13, p. 1-7, 2002.
93. Stoddard, R. A. *et al.* Detection of pathogenic *Leptospira* spp. through TaqMan polymerase chain reaction targeting the LipL32 gene. *Diagnostic Microbiology*

- and Infectious Diseases, New York, v. 64, n. 3, p. 247-255, 2009.
94. Ahmed, A. *et al.* Development and validation of a real-time PCR for detection of pathogenic *Leptospira* species in clinical materials. *PLoS One*, Berlin, v. 4, n. 9, p. e7093, 2009.
 95. Roczek, A. *et al.* Severe course of rat bite-associated Weil's disease in a patient diagnosed with a new *Leptospira*-specific real-time quantitative LUX-PCR. *Journal of Medical Microbiology*, London, v. 57, n. 5, p. 658-663, 2008.
 96. Merien, F. *et al.* A rapid and quantitative method for the detection of *Leptospira* species in human leptospirosis. *FEMS Microbiological Letters*, Amsterdam, v. 249, n. 1, p. 139-147, 2005.
 97. Segura, E. R. *et al.* Clinical spectrum of pulmonary involvement in leptospirosis in a region of endemicity, with quantification of leptospiral burden. *Clinical Infectious Diseases*, Chicago, v. 40, n. 3, p. 343-351, 2005.
 98. Blacksell, S. D. *et al.* Limited diagnostic capacities of two commercial assays for the detection of *Leptospira* immunoglobulin M antibodies in Laos. *Clinical Vaccine and Immunology*, Washington D. C., v. 13, n. 10, p. 1166-1169, 2006.
 99. Ganoza, C. A. *et al.* Asymptomatic renal colonization of humans in the peruvian Amazon by *Leptospira*. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, San Francisco, v. 4, n. 2, p. e612, 2010.
 100. McBride, A. J. *et al.* Evaluation of the EIE-IgM-*Leptospira* assay for the serodiagnosis of leptospirosis. *Acta Tropica*, Amsterdam, v. 102, n. 3, p. 206-211, 2007.
 101. McBride, A. J. *et al.* Evaluation of four whole-cell *Leptospira*-based serological tests for diagnosis of urban leptospirosis. *Clinical Vaccine and Immunology*, Washington D. C., v. 14, n. 9, p. 1245-1248, 2007.
 102. Smits, H. L. *et al.* International multicenter evaluation of the clinical utility of a dipstick assay for detection of *Leptospira*-specific immunoglobulin M antibodies in human serum specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington D. C., v. 37, n. 9, p. 2904-2909, 1999.
 103. Smits, H. L. *et al.* Development and evaluation of a rapid dipstick assay for serodiagnosis of acute human brucellosis. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington D. C., v. 37, n. 12, p. 4179-4182, 1999.
 104. Gussenhoven, G. C. *et al.* LEPTO dipstick, a dipstick assay for detection of *Leptospira*-specific immunoglobulin M antibodies in human sera. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington D. C., v. 35, n. 1, p. 92-97, 1997.
 105. Smits, H. L.; Hartskeerl, R. A.; Terpstra, W. J. International multi-centre evaluation of a dipstick assay for human leptospirosis. *Tropical Medicine and International Health*, Oxford, v. 5, n. 2, p. 124-128, 2000.
 106. Smits, H. L. *et al.* Lateral-flow assay for rapid serodiagnosis of human leptospirosis. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, Washington D. C., v. 8, n. 1, p. 166-169, 2001.
 107. Sehgal, S. C. *et al.* Field application of Lepto lateral flow for rapid diagnosis of leptospirosis. *Journal of Medical Microbiology*, London, v. 52, n. 10, p. 897-901, 2003.

108. Heinemann, M. B. *et al.* Detection and differentiation of *Leptospira* spp. serovars in bovine sêmen by polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism. *Veterinary Microbiology*, Amsterdam, v. 73, n. 4, p. 261-267, 2000.
109. Kawabata, H. *et al.* flaB-polymerase chain reaction (flaB-PCR) and its restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis are an efficient tool for detection and identification of *Leptospira* spp. *Microbiology and Immunology*, Tokyo, v. 45, n. 6, p. 491-496, 2001.
110. Caballero, O. L. *et al.* Low-stringency PCR with diagnostically useful primers for identification of *Leptospira* serovars. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington D. C., v. 32, n. 5, p. 1369-1372, 1994.
111. Oliveira, M. A. *et al.* Low-stringency single specific primer PCR for identification of *Leptospira*. *Journal of Medical Microbiology*, Edinburgh, v. 52, n. 2, p. 127-135, 2003.
112. Letocart, M.; Baranton, G.; Perolat, P. Rapid identification of pathogenic *Leptospira* species (*Leptospira interrogans*, *L. borgpetersenii*, and *L. kirschneri*) with species-specific DNA probes produced by arbitrarily primed PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington D. C., v. 35, n. 1, p. 248-253, 1997.
113. Savio, M. L. *et al.* Detection and identification of *Leptospira interrogans* serovars by PCR coupled with restriction endonuclease analysis of amplified DNA. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington D. C., v. 32, n. 4, p. 935-941, 1994.
114. Galloway, R. L.; Levett, P. N. Evaluation of a modified pulsed-field gel electrophoresis approach for the identification of *Leptospira* serovars. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Northbrook, v. 78, n. 4, p. 628-632, 2008.
115. Romero, E. C.; Blanco, R. M.; Galloway, R. L. Application of pulsed-field gel electrophoresis for the discrimination of leptospiral isolates in Brazil. *Letters in Applied Microbiology*, Oxford, v. 48, n. 5, p. 623-627, 2009.
116. Slack, A. T. *et al.* Development of a Multiple-Locus Variable Number of Tandem Repeat Analysis (MLVA) for *Leptospira interrogans* and its application to *Leptospira interrogans* serovar Australis isolates from Far North Queensland, Australia. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, London, v. 4, n. p. 10, 2005.
117. Slack, A. *et al.* An improved multiple-locus variable number of tandem repeats analysis for *Leptospira interrogans* serovar Australis: a comparison with fluorescent amplified fragment length polymorphism analysis and its use to redefine the molecular epidemiology of this serovar in Queensland, Australia. *Journal of Medical Microbiology*, London, v. 55, n. 11, p. 1549-1557, 2006.
118. Salaun, L. *et al.* Application of multilocus variable-number tandem-repeat analysis for molecular typing of the agent of leptospirosis. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington D. C., v. 44, n. 11, p. 3954-3962, 2006.

119. Ahmed, N. *et al.* Multilocus sequence typing method for identification and genotypic classification of pathogenic *Leptospira* species. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, v. 5, n. p. 5-28, 2006.
120. Thaipadungpanit, J. *et al.* A dominant clone of *Leptospira interrogans* associated with an outbreak of human leptospirosis in Thailand. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, San Francisco, v. 1, n. 1, p. 1-6, 2007.
121. Ahmad, S. N.; SHAH, S.; AHMAD, F. M. Laboratory diagnosis of leptospirosis. *Journal of Postgraduate Medicine*, v. 51, n. 3, p. 195-200, 2005.
122. Hospenthal, D. R.; MURRAY, C. K. In vitro susceptibilities of seven *Leptospira* species to traditional and newer antibiotics. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Washington D. C., v. 47, n. 8, p. 2646-2648, 2003.

22. INFECÇÕES FÚNGICAS DO TRATO URINÁRIO (FUNGÚRIA)

Marisol Dominguez Muro

Introdução

Nas últimas décadas é notório o aumento de infecções fúngicas envolvendo o trato urinário. O aumento da incidência de infecções fúngicas é o resultado da expansão do número de pacientes de alto risco que predispõe à invasão fúngica do trato urinário. Este sítio pode tornar-se infectado como resultado de fungemia e disseminação hematogênica; infecção ascendente usualmente ocorre na presença de obstrução urinária e fungemia é secundária à pielonefrite.

Uma dúvida importante que deve ser dirimida é se o achado laboratorial se trata de um fungo contaminante ou de um real agente causador da infecção. O aumento de infecções fúngicas nosocomiais está relacionado à presença de fatores predisponentes.

O fungo mais isolado nas infecções do trato urinário pertence ao gênero *Candida*. A ocorrência de candidúria em pacientes internados está relacionada ao uso de antibioticoterapia, terapia imunossupressora e idade avançada, em especial nas mulheres. O internamento prolongado também é um fator de risco assim como o diabetes e uso de catéteres.¹ Pacientes recebendo terapia imunossupressora pós transplantes são de alto risco para invasão fúngica do trato urinário tendo como principais agentes: *Candida*, *Aspergillus* e *Cryptococcus*.

Contudo, outros fungos, como por exemplo: *Blastomyces* sp., *Histoplasma* sp., *Coccidioides* sp. e *Paracoccidioides* sp. podem também raramente ser agentes de uretrites, cistites e pielonefrites .

Infecção Fúngica Oportunista

Aspergilose

As espécies de *Aspergillus* podem ser encontradas no solo, poeira e matéria orgânica em decomposição. Infecções nosocomiais frequentemente ocorrem pela contaminação do sistema de ar condicionado. A maioria das infecções clínicas são ocasionadas por *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus* e *Aspergillus niger* . Normalmente as infecções por *Aspergillus* spp. envolvem o trato respiratório inferior e superior variando desde a colonização saprofítica, infecção alérgica (sinusite, doença broncopulmonar) até doença invasiva de avanço rápido. A infecção disseminada é menos frequente, ocorrendo em indivíduos gravemente imunocomprometidos com prolongada e severa granulocitopenia. Nestas circunstâncias os rins são comprometidos incluindo manifestações raras no trato urinário baixo.

Indivíduos susceptíveis são pacientes transplantados, em uso de corticoides, pacientes de HIV, usuários de drogas intravenosas, e portadores de deficiência (número ou função) nos neutrófilos.

A aspergilose limitada ao trato urinário é rara. O envolvimento renal é mais comum como resultado da disseminação hematogênica decorrente de abscessos renais. Raramente *Aspergillus* ascende pela uretra, infeccionando bexiga e rins. Estes casos podem ser evidenciados em pacientes portadores de diabetes mellitus. O diagnóstico geralmente é tardio e o achado é surpreendente pela raridade da infecção. O diagnóstico decisivo frequentemente é realizado através do achado histológico e cultura de tecido do rim, bexiga ou líquido prostático. O exame micológico direto revela a presença de hifas hialinas septadas em ângulo de 45°. A cultura em meio de ágar Sabouraud revela crescimento de fungo filamentosos com pigmentos variáveis, de verde acinzentado a negro, dependendo da espécie de *Aspergillus* isolada.

Criptococose

Cryptococcus neoformans é encontrado em excretas de aves, matéria orgânica e solo. Existem várias espécies entre elas duas mais relacionadas à doença: *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii*. A porta de entrada da infecção é usualmente respiratória. Inicialmente a infecção é normalmente subclínica e não diagnosticada. A disseminação pode ocorrer para o sistema nervoso central, pele, ossos e trato urinário. Ocorre especialmente em pacientes imunocomprometidos; pacientes HIV, transplantados em geral e portadores de linfoma.

A infecção do trato urogenital pode ser diagnosticada, no laboratório, por exame direto da amostra de urina ao microscópio e pelo cultivo do fungo em ágar Sabouraud. Ao microscópio observam-se leveduras arredondadas com ou sem brotamentos, envoltas em cápsula gelatinosa que pode ser evidenciada por corante de fundo tinta da china ou nigrosina. Na cultura o aspecto macromorfológico revela colônias bege cremosas e gelatinosas devido à cápsula de mucopolissacarídeos.

Pacientes HIV com meningite criptocócica frequentemente apresentam culturas de urina e secreção prostática positivas para *Cryptococcus neoformans*, podendo permanecer positivas mesmo após seis semanas de tratamento.

Candidose ou Candidíase

O gênero *Candida* pode ser encontrado como parte da microbiota da genitália externa ou da uretra de indivíduos saudáveis. A grande preocupação é o aumento das infecções por *Candida* em pacientes hospitalizados. As infecções do trato urinário (ITUs) geralmente estão relacionadas ao uso de catéteres. Diabetes é um fator de risco importante pois impede a fagocitose e a atividade fungicida dos neutrófilos, outros fatores predisponente na ITU é a obstrução secundária por neuropatias.

Antibioticoterapia prévia também representa um papel importante na patogênese da candidúria.² A diminuição das bactérias da microbiota intestinal e da pele favorece o crescimento das leveduras nestes locais aumentando a possibilidade de acesso ao trato urinário, especialmente com o uso de catéteres. A infecção baixa no

sistema urinário ocasionada por catéteres advém da colonização genital ou perianal. A infecção alta proveniente da via ascendente é mais rara e ocorre em pacientes com problemas de obstrução, refluxo ou diabetes.

No entanto, grande parte das candidoses renais ocorre como consequência de disseminação hematogênica para o parênquima renal, devido a possível tropismo de *Candida*. para os rins.

A maioria dos pacientes com candidúria são assintomáticos. Pacientes com catéteres ou sondas frequentemente são colonizados por leveduras do gênero *Candida*. Pacientes que apresentam sinais e sintomas de irritação na bexiga apresentam frequentemente disúria, hematúria e piúria. Pacientes com pielonefrite por *Candida* podem apresentar febre e leucocitose.

A grande concentração de leveduras pode produzir uma obstrução importante (bola fúngica) que pode ser observada na pelve renal ou na porção superior dos ureteres. Felizmente este quadro é raro e pode ser diagnosticado pelo achado de levedura na urina e pela obstrução do ureter; esta última pode resultar em cólica renal e permitir a passagem e eliminação de “pedras macias” que correspondem a aglomerados fúngicos. As bolas fúngicas no trato urinário podem ser constituídas por outros fungos, como por exemplo, *Aspergillus* spp.

As candidoses normalmente ocorrem por infecção sistêmica, no entanto, nem sempre é possível obter culturas de sangue positivas, dificultando o estabelecimento do diagnóstico. É importante observar que estes pacientes frequentemente apresentam febre, “rush” cutâneo e endoftalmite.

O isolamento de *Candida* spp. a partir de uma amostra de urina em mulheres frequentemente representa contaminação com colonização vulvovaginal. Para excluir a colonização é importante realizar o exame em mais de uma amostra de urina observando as técnicas corretas de higiene da genitália externa para a coleta.

A diferenciação entre colonização e infecção pode ser muito difícil especialmente nos pacientes em uso de catéteres; nestes casos deve-se associar os achados laboratoriais às manifestações clínicas, fato também nada simples uma vez que os sinais clínicos são inespecíficos: febre e leucocitose.

A contagem de colônias quantitativa tem limitado valor na diferenciação entre infecção e colonização. O achado patognomônico específico de candidose é a detecção, no exame direto, de leveduras com pseudohifas ou hifas verdadeiras.

Evidências não específicas de infecção renal podem ser sugeridas pelo declínio da função renal, achados radiográficos e de ultrassonografia.

A colonização por *Candida* spp. é a síndrome mais comum associada ao isolamento de leveduras na urina. Historicamente é sabido que a candidúria assintomática é frequente e raramente seu achado causa problemas sérios de morbidade. Uma exceção ocorre em casos de transplantados renais. Nos pacientes em uso de catéter, a remoção do mesmo e a suspensão da antibioticoterapia frequentemente são suficientes para a interrupção da candidúria.

Foram descritas cerca de 200 espécies de *Candida* spp., e sua diferenciação é importante em materiais clínicos provenientes de sítios estéreis. A identificação

pode evidenciar uma espécie com particularidades que definirão a utilização do antifúngico mais adequado.

- » *C. albicans* = mais frequente e apresenta boa sensibilidade a drogas sistêmicas.
- » *C. glabrata* = relacionada a tumores sólidos, apresenta sensibilidade diminuída ao fluconazol e uma concentração inibitória mínima maior para a anfotericina B.
- » *C. krusei* = apresenta resistência intrínseca ao fluconazol.
- » *C. parapsilosis* = prolifera-se em soluções glicosadas; relacionada à produção de biofilmes.
- » *C. lusitanae* = apresenta resistência natural à anfotericina B.
- » *C. guilliermondii* = apresenta resistência in vitro à anfotericina B.

Infecções fúngicas causadas por fungos raros

***Trichosporon* spp.**

Trichosporon spp. é um fungo que pode ser encontrado na microbiota do trato gastrointestinal humano, pele e mucosas, principalmente do períneo. Existem poucos casos relatados de ITU causadas por espécies de *Trichosporon* spp. O aumento da gravidade dos pacientes internados nas UTIs e o uso disseminado de antibióticos de amplo espectro têm possibilitado o surgimento de infecções em pacientes imunossuprimidos, oncológicos e hematológicos. Os pacientes idosos internados em UTI com insuficiência cardíaca grave são mais susceptíveis. Existem várias espécies no gênero *Trichosporon* spp. *Trichosporon asahii* tem sido o mais evidenciado como agente causador de infecção renal a partir de disseminação hematogênica.

Micoses Endêmicas

Histoplamose

Histoplasma capsulatum é um fungo de distribuição mundial; provoca infecções endêmicas e pode acometer tanto pacientes de áreas urbanas como rurais. As atividades de risco compreendem: trabalhadores da construção civil, escavadores e exploradores de cavernas.

As manifestações clínicas dependem da severidade da exposição e do estado imunológico do hospedeiro. A infecção disseminada envolve principalmente o sistema reticuloendotelial: linfonodos, fígado, baço e medula óssea. A disseminação do trato genitourinário pode ocorrer com envolvimento da próstata, rim, epidídimo e testículo.

As manifestações clínicas do trato urinário podem ocorrer a partir de uma infecção sistêmica aguda ou anos mais tarde após reativação do foco inicial, podendo se disseminar em pacientes imunossuprimidos .

O diagnóstico laboratorial normalmente compreende achados histológicos da levedura intracelular, uma vez que o fungo é termodimórfico e na temperatura corporal se desenvolve como levedura. A cultura é um exame que identifica o fungo, que se desenvolve como colônia algodonosa, com coloração que varia do branco ao castanho, quando semeado a 25°C em meio de Sabouraud e a 35°C apresenta crescimento leveduriforme.

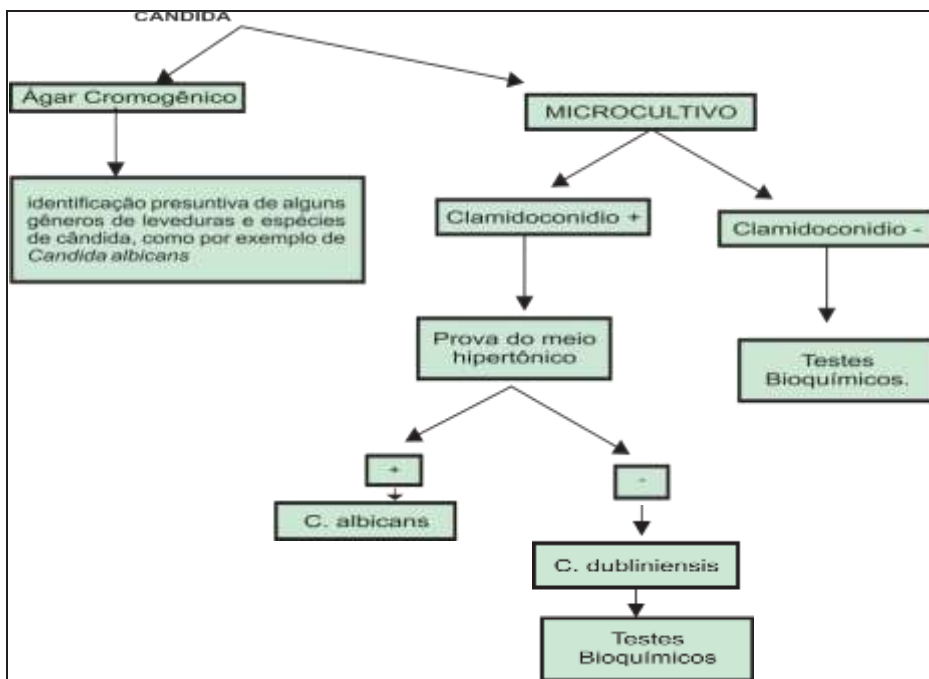
Coccidioidomicose

Coccidioides immitis é um fungo de região semi-árida, encontrado no solo. O indivíduo adquire o fungo em contato com os aerossóis inalados pelo sistema respiratório. A infecção primária pulmonar na grande maioria das vezes é insignificante e limitada. Pacientes que apresentam infecção sistêmica ou doença crônica dificilmente apresentam sinais clínicos evidentes no trato urinário, no entanto autópsias demonstraram nestes pacientes infecção renal, e prostática.

Identificação de leveduras

Nos casos comprovados de fungúria, sem dúvida nenhuma, as leveduras do gênero *Candida* são os fungos mais encontrados. Por esta razão resolvemos de forma resumida comentar sobre a identificação laboratorial deste gênero.

Protocolo para identificação de leveduras do gênero *candida*



Ágar Cromogênico

Disponível no mercado em placas ou liofilizado para preparo no laboratório.

Existem vários produtos entre eles:

Ágar Hicrome Candida Marca Himedia

Ágar Cromogênico Candida Mbiolog marca MBIolog Diagnósticos Ltda

Ágar Chromagar marca BD (Becton Dickinson)

Pode ser de grande utilidade em repiques de líquidos. Neste caso, se houver infecção múltipla (por mais de um tipo de espécie de *Candida*) ficará evidente através das diferentes colônias crescidas no ágar.

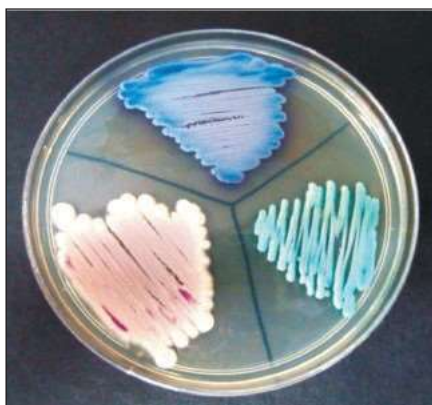


Figura 01 – Semeadura em ÁGAR CHROMagar Candida: *Candida albicans* em verde, *Candida tropicalis* em azul e *Candida krusei* em branco-roseo

Técnica do Microcultivo

Utilizar placas de ágar fubá com tween 80. Semear em estrias transversais a colônia da levedura em estudo. Cobrir com lamínula

Incubar a 30°C de 48-96 horas

Examinar ao microscópio em objetivas de 10X e 40 X, ou lupa

Observar a presença de blastoconídeos, atroconídeos e pseudohifas.



Figura 02 - Presença de pseudohifas e clamidoconídeos terminais.

Prova do Meio Hipertônico

Princípio

O teste de tolerância ao caldo hipertônico é realizado para a diferenciação entre os isolados de *Candida albicans* e *Candida dubliniensis*, uma vez que *Candida dubliniensis* é fenotipicamente muito semelhante à *Candida albicans*, inclusive apresenta a mesma coloração no CHROMagar Candida, produzem tubos germinativos, clamidoconídeos e apresentam perfil semelhante nas provas bioquímicas

Técnica

Inocular a levedura em análise em água destilada estéril de acordo com escala MacFarland 0,5. Transferir 0,25 mL do inóculo preparado para o tubo com caldo hipertônico. Incubar a 30°C por 48 horas.

Leitura

Candida albicans é tolerante a hipertonicidade.

Candida dubliniensis não tolera a hipertonicidade, portanto, não cresce

- Tubo com turbidez = *Candida albicans*,
- Tubo sem turbidez = *Candida dubliniensis*,

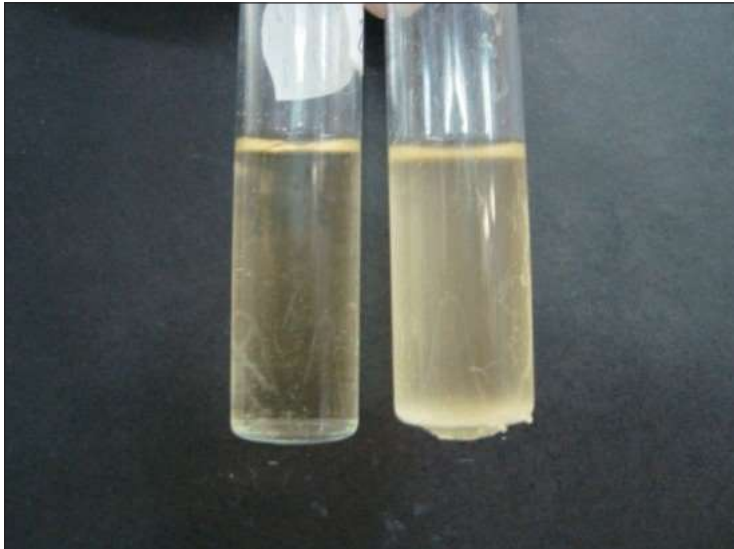


Figura 03 Teste do Caldo hipertônico: Tubo da esquerda sem turvação: teste negativo (*C. dubliniensis*). Tubo da direita com turvação: teste positivo (*C. albicans*)

Prova do Tubo Germinativo

Esta é uma prova rápida e fácil de ser realizada e que já foi utilizada para identificar presuntivamente a *Candida albicans*. No entanto, outras espécies, também podem apresentar positividade para este teste. A diferenciação do tubo germinativo e da pseudo-hifa se faz pela não apresentação de septos e de constrição na base de inserção com a célula mãe quando da produção do tubo germinativo. Sendo este o início da hifa verdadeira que a levedura pode produzir nestas condições.

Técnica:

Semear uma colônia cultivada recentemente (entre 24-48horas), em tubo com 0,5 mL de soro ou plasma de coelho. Incubar a 37°C pelo período de 2 a 3 horas. Examinar ao microscópio uma gota da suspensão em objetiva de 10X e 40X.

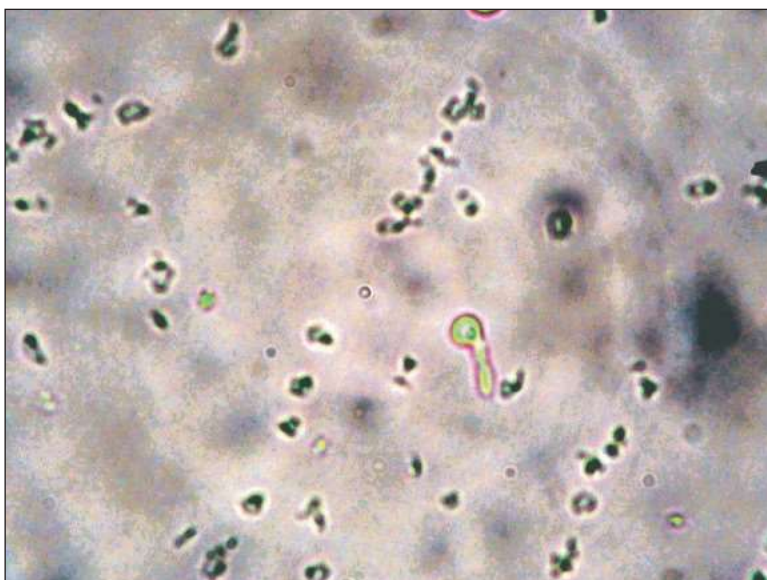


Figura 4 Tubo germinativo

Testes Bioquímicos

Estes testes baseiam-se na capacidade de assimilação de carboidratos que se faz de forma distinta por cada espécie de leveduras.

Existem vários kits comerciais utilizados para esta determinação, além do método convencional do auxanograma.

Seguem alguns exemplos: Api 20C e ID 32C, ambos produzidos pela BioMérieux e o Auxacolor produzido pela Sanofi Diagnostic-Pasteur

Estes testes são fenotípicos e podem ser facilmente utilizados em laboratórios clínicos. As determinações genotípicas através de técnicas moleculares são comumente utilizadas em laboratórios de pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. Alvarez-Lerma, F. *et al.*, Candidúria in critically ill patients admittides to intensive care units. *Intensive Care Med.* , 2003; 29.1069-1076,
2. Colombo. AL, *Et al.*1. Candiduria: a clinical and therapeutic approach. *Rev Soc Bras Med Trop* 2007 May-Jun; 40 (3):332-7

23. INFECÇÕES VIRAIS DO TRATO URINÁRIO

*Meri Bordignon Nogueira
Sonia Mara Raboni*

Introdução

O desenvolvimento e a progressão de doenças do trato urinário estão associados com algumas infecções virais, as quais se manifestam como quadros agudos ou crônicos. Na doença renal aguda o principal mecanismo envolvido é a invasão direta das células pelo vírus, enquanto que na doença crônica, os mecanismos envolvidos incluem além da invasão direta pelo patógeno, a deposição de complexos imunes antígeno-anticorpo desencadeando uma reação imunológica.¹ Dentre os vírus envolvidos com doenças agudas são citados com maior frequência, os poliomavírus BK e JC (BKV e JCV), adenovírus (AdV) e citomegalovírus (CMV) e entre aqueles relacionados com doença crônica estão o vírus da imunodeficiência humana (HIV) e os vírus da hepatite B e C (HBV e HCV). Mais raramente, as infecções por parvovírus e por hantavírus manifestam-se com doenças do trato urinário (Tabela 1).

As nefropatias crônicas associadas a infecções pelo HIV, HCV e HBV têm sido observadas na evolução da doença viral, sendo decorrentes da maior sobrevida destes pacientes com as terapias antivirais específicas. Nos últimos anos, observa-se um aumento na sua incidência, sendo necessária a diferenciação entre a doença renal ocasionada diretamente pelo vírus, ou pela sua associação nas coinfeções ou ainda, à nefropatia induzida pela terapia antiviral,² tais definições levam a distintas abordagens terapêuticas.³ É importante ressaltar que a avaliação clínica destes pacientes envolve uma maior atenção no monitoramento da função renal, por meio de realização periódica de testes de triagem para a detecção precoce de alterações renais funcionais, destacando dentre estes a dosagem da creatinina sérica e a pesquisa de proteinúria.^{2,3}

As infecções urinárias virais agudas são decorrentes da replicação viral nas células do trato urinário, manifestam-se por sinais e sintomas urinários clássicos e comumente se apresentam como uma cistite hemorrágica (CH). Esta patologia habitualmente está associada a infecções virais primárias ou a reativações, geralmente é uma evidência, assim como nas formas crônicas, de uma doença viral sistêmica, podendo na evolução apresentar sequelas. Neste capítulo serão abordadas, basicamente, as infecções urinárias virais agudas, por meio de uma breve revisão de suas manifestações clínicas, os principais agentes etiológicos envolvidos e os testes virológicos disponíveis para a sua detecção.

Tabela 1 . Infecção viral e comprometimento do trato urinário

Patógeno	Doença Aguda	Doença Crônica
HIV	Não	<u>Esclerose glomerular focal</u> Glomerulonefrite membrano-proliferativa (coinfecção HCV) Glomeulonefrite <i>Lupus-like</i> Microangiopatia trombótica Nefropatia por IgA e Glomerulonefrite por complexo imune
HCV	Não	Glomerulonefrite membrano-proliferativa com ou sem crioglobulinemia
HBV	Não	<u>Nefropatia membranosa</u> (mais comum) Glomerulonefrite membrano-proliferativa Nefropatia por IgA
Polimavírus BK e JC	Cistite hemorrágica (TCTH)	Estenose ureteral e Nefrite intersticial (transplante renal)
Adenovírus	Cistite hemorrágica	Não
Citomegalovírus	Cistite hemorrágica	Não
Hantavírus	Nefrite intersticial aguda	Não
Parvovírus	Cistite hemorrágica (?)	Esclerose focal

Fonte: Appel, 2007; Knowles *et al.*, 2003; Waldman, 2008

Grifados: mais comuns

TCTH: transplante de células tronco-hematopoiéticas

Cistite Hemorrágica

Cistite hemorrágica (CH) é uma das mais frequentes complicações em pacientes transplantados, ocorre em aproximadamente em 25% dos pacientes submetidos a transplante de células tronco-hematopoiéticas (TCTH). Pode ser decorrente de citotoxicidade medicamentosa, quando de início precoce, ou de infecções virais, quando de início tardio. Entre os agentes virais mais encontrados são citados os vírus BK, JC, adenovírus e citomegalovírus. Outros fatores infecciosos ou não podem ser responsáveis pela cistite hemorrágica, os quais devem ser excluídos na investigação para o diagnóstico diferencial⁶ (tabela 2).

A CH apresenta-se com sinais e sintomas clínicos característicos, que incluem a hematúria micro ou macroscópica, febre, dor suprapúbica e disúria. Os achados ecográficos mais comuns são espessamento difuso ou localizado da pa-

rede da bexiga e presença de coágulos intraluminais. As manifestações clínicas e os achados de exames complementares de imagem são indistinguíveis entre as prováveis causas, somente exames laboratoriais específicos podem confirmar a etiologia infecciosa.^{7, 8}

Apesar de ser uma doença habitualmente autolimitada, frequentemente leva a um período de internamento prolongado, alto custo, desconforto importante para o paciente e necessidade de múltiplas transfusões sanguíneas. Além disso, sua presença é um alerta ao médico da grave imunossupressão do paciente, podendo estar associada a manifestações localizadas em outros órgãos, devido à disseminação sistêmica do patógeno.

Quando associada à infecção viral, estudos recentes sugerem que se deve realizar o monitoramento da virúria, assim como sua quantificação, pois altos títulos virais tendem a corresponder a piora dos sintomas.⁹

Tabela 2. Cistite hemorrágica – Diagnóstico diferencial

Causas	Agentes envolvidos	Diagnóstico Diferencial
Infeciosa	Vírus <ul style="list-style-type: none"> • Poliomavírus BK e JC • Adenovírus • Citomegalovírus Bactérias Micobactérias Parasitas <ul style="list-style-type: none"> • S. haematobium 	Início tardio e longa duração Piúria, cultura germes comuns positiva Piúria, cultura germen comum negativa Achado frequente em países africanos como a Zâmbia e o Egito, carcinogênico.
Química	Agentes quimioterápicos <ul style="list-style-type: none"> • Ciclofosfamida • busulfan 	Início precoce após o Transplante (< 72 hs)
Biológica	Alterações fatores de coagulação Trombocitopenia	Associadas a doença de base
Mecânica	Litíase Urinária	Hematúria assintomática recorrente Achados ecográficos característicos

Infecções por Poliomavírus

Poliomavírus, família *Papovaviridae*, são vírus icosaédricos, não envelopados, de tamanho aproximado de 45 nm de diâmetro e de genoma de DNA. Infectam diversas espécies, inclusive os humanos, sendo tais infecções espécies-específicas. Duas espécies foram descritas em humanos, os vírus BK e JC. Estes são encontrados na maioria da população humana durante a adolescência, após a primoinfecção, ambos podem manter-se latentes no tecido renal e urotélio, podendo ser reativados, particularmente sob condições de imunossupressão.^{4, 10}

A primoinfecção pelo vírus BK normalmente é assintomática ou com sintomas respiratórios leves. A reativação em pacientes imunossuprimidos (transplantados e gestantes) pode ser assintomática ou associada com doença do trato urinário, como a cistite hemorrágica, descrita em pacientes submetidos a TCTH⁸ (Schechter, 2010), estenose ureteral e nefrite intersticial descritos como complicações pós-infecciosa em transplantados renais.^{4, 11} Deve-se ressaltar que virúria assintomática pode ser encontrada em 0,3% dos indivíduos, sem uma história de imunodeficiência.¹²

É uma doença de alta morbidade e baixa mortalidade, porém em situações de sangramento vesical significativo pode ocorrer a formação de coágulos e consequente obstrução ureteral seguido de insuficiência renal, sendo esta uma das principais causas de comprometimento renal em pacientes transplantados.⁸ As manifestações clínicas associadas à excreção viral urinária são resultados dos efeitos diretos da replicação viral, no entanto devem existir cofatores associados ao procedimento realizado, uma vez que se observam síndromes específicas em alguns grupos de pacientes, como a cistite hemorrágica em pacientes submetidos a TCTH e a nefrite intersticial nos transplantados renais.⁶

Em pacientes imunocompetentes há poucos estudos que investigam a excreção dos poliomavírus humanos BK e JC.¹³ Em imunossuprimidos, estudo realizado em 2004, não demonstrou correlação entre frequência de virúria por JCV e grau de imunodeficiência entre os pacientes HIV positivos e o grupo controle. Entretanto, para o BKV, a imunodeficiência parece ter efeitos tanto sobre a incidência de virúria por BKV, como sobre a concentração do DNA viral.¹⁴ Deve-se ressaltar que mesmo para o BKV, esta diferença não é estatisticamente significativa, já que foi observado que a disseminação destes vírus na urina não é exclusivamente encontrada em pacientes imunossuprimidos, mas também em indivíduos saudáveis.¹⁴ No entanto, outros autores afirmam que a quantificação do BKV e do JCV é importante tanto para o diagnóstico quanto para o monitoramento da resposta à terapia.^{14, 15}

Previamente ao desenvolvimento das metodologias de biologia molecular, o diagnóstico laboratorial baseava-se em estudos citológicos de urina, sendo este um dos métodos mais empregados por sua acessibilidade, neste a presença de uma única, grande e com uma inclusão intranuclear característica (células Decoy) era interpretado como evidência de infecção por poliomavírus.⁶ Outro método tradicionalmente utilizado baseava-se em análises morfológicas por microscopia eletrônica, onde se observavam as partículas características no nú-

cleo das células uroteliais, cujo diâmetro permitiam distingui-las de outros vírus como, herpesvirus, adenovírus e mesmo de outros papovavirus.⁶ No entanto, essa metodologia apresenta limitações, pois a ausência de partículas virais visíveis não exclui sua presença em outras partes da amostra,¹³ não sendo atualmente utilizada para diagnóstico laboratorial.

Infecções por Adenovírus

Os AdV, pertencentes à família *Adenoviridae*, são vírus não envelopados, de simetria icosaédrica, com 65 a 80 nm de diâmetro, com um capsídeo composto por dois tipos principais de proteínas ou capsômeros, denominadas de “hexons” e “pêntons”. Estas proteínas envolvem o genoma que consiste de uma molécula linear de DNA. Estudos sorológicos e filogenéticos permitem a classificação destes vírus em seis subgêneros (A até F), dentro dos quais são descritos distintos sorotipos. A maioria das infecções por AdV ocorre na infância e causa uma doença respiratória ou gastrointestinal autolimitada. Ao contrário, a infecção em pacientes imunossuprimidos pode ocorrer em praticamente todos os órgãos e sistemas humanos, sendo associados a muitas síndromes clínicas graves, comprometendo trato respiratório, gastrointestinal, urinário, conjuntivas, sistema nervoso central e fígado.¹⁶ O envolvimento do trato urinário habitualmente se manifesta por cistite hemorrágica, podendo ocorrer em imunocompetentes e imunossuprimidos.⁵

A cistite hemorrágica por AdV em imunocompetente foi descrita inicialmente por Numazaki *et al.* em 1968,¹⁷ que demonstrou o aumento de títulos de anticorpos anti-AdV em pacientes pediátricos com esta doença. Estudos posteriores comprovaram estes achados, tendo-se caracterizado a cistite hemorrágica aguda como a primeira descrição de uma doença de bexiga associada à etiologia viral. Os sorotipos isolados com maior frequência nestes casos foram os AdV tipo 11 e 21. Esta é uma doença que se manifesta com uma hematúria grave, sendo autolimitada, de duração variável (em torno de 14 dias), evolução benigna e acompanhada de excreção prolongada do vírus na urina. O mecanismo de penetração deste agente na bexiga é desconhecido, não deve ser ascendente, pois é mais comum em pacientes masculinos. Provavelmente, ocorre por via hematogênica, no entanto não se conseguiu o isolamento viral a partir de amostras de sangue destes pacientes.¹⁸

Em pacientes submetidos à TCTH, a presença de adenovírus na urina tem sido relatada com frequência, no entanto seu significado nem sempre é conhecido, pois pode não estar associado com manifestações clínicas. Entre os agentes isolados, os tipos 11, assim como os adenovírus tipos 34 e 35 do subgênero B são os mais comuns.¹⁹ Também foram descritos em alguns casos complicações pós-infecciosas associadas, como a estenose ureteral, a insuficiência renal aguda e lesões tubulares degenerativas.^{20, 21} Nefrite tubulointersticial necrotizante grave tem sido associada a infecções por AdV em pacientes imunossuprimidos, sendo uma doença com alta mortalidade, que pode apresentar-se com franca hematúria e azotemia, incorretamente atribuída a cistite.^{5, 22}

A detecção do adenovírus na urina pode ser feita por metodologias diretas, dentre estas a microscopia eletrônica, a pesquisa do antígeno viral, o isolamento viral e as técnicas de biologia molecular, como a PCR.

Infecções por Citomegalovírus

O citomegalovírus (CMV) pertence à família *Herpesviridae*, possui tamanho aproximado de 180 a 250 nm e uma cápside icosaédrica que envolve um genoma de DNA dupla fita. Durante seu processo de multiplicação leva a formação de inclusões intranucleares característica e, como peculiaridade própria da família, tem a capacidade de persistir em estado latente durante longos períodos, o que é responsável pela sua condição oportunista, uma vez que pode ser reativado em condições de imunossupressão. O vírus pode ser encontrado em saliva, urina, sangue, secreções respiratórias, secreções genitais, esperma, leite materno, medula óssea, rins e outros órgãos. A infecção primária pode ocorrer desde o período pré-natal, perinatal ou pós-natal.²³

A doença por CMV em imunossuprimidos pode ser grave e fatal, sendo uma das principais causas de complicações infecciosas nestes pacientes. O CMV pode comprometer múltiplos órgãos e a infecção pode manifestar-se com um amplo espectro clínico, incluindo retinite, encefalite, pneumonite, hepatite, doença gastrointestinal, cistite hemorrágica e nefrite tubulointersticial.⁵

A doença disseminada por CMV tem sido descrita como responsável por quadros de cistite e nefrite em pacientes transplantados e com AIDS. Há relatos de pacientes com cistite hemorrágica apresentando os sintomas de dor suprapúbica, hematúria, obstrução intermitente do trato urinário e evolução para insuficiência renal aguda, além de achados *post-mortem* de ureterite, com lesões focais ureterais hemorrágicas e achados anátomo-patológicos positivos para CMV.²⁴

As metodologias laboratoriais para diagnóstico da cistite hemorrágica por CMV baseiam-se primariamente em testes que detectem a reativação (ou infecção) sistêmica do vírus, assim preferencialmente devem ser realizadas as técnicas de antigenemia para CMV, PCR ou o PCR em tempo real em sangue total ou plasma.

Diagnóstico Viroológico

O desenvolvimento de metodologias para o diagnóstico laboratorial das infecções virais é um desafio. O maior destes é que a manifestação clínica do comprometimento do trato urinário por distintos micro-organismos é similar e os sintomas se sobrepõem. Outra dificuldade é a interpretação dos seus resultados, pois pode ser difícil diferenciar entre os vírus detectados, como o responsável pela doença, daqueles que são decorrentes de uma reativação silenciosa ou uma infecção persistente. Pois, a virúria, e mesmo a viremia, por alguns destes patógenos podem ocorrer sem nenhuma repercussão clínica. Por tais motivos, as metodologias discutidas neste capítulo buscam além da detecção viral, a correlação clínica deste achado, seja por meio da quantificação viral ou por sua detecção simultânea em outros sítios, como

corrente sanguínea. As metodologias de diagnóstico indiretas, como as reações sorológicas para de detecção de IgG e IgM, têm aplicação limitada em tais situações, devido ao estado de imunossupressão da maioria dos pacientes envolvidos.

Na tabela 3 são citadas as metodologias laboratoriais não invasivas para o diagnóstico virológico dos três patógenos virais mais frequentemente envolvidos com infecções agudas do trato urinário.

Tabela 3. Infecções urinárias virais – Técnicas diagnósticas virológicas não invasivas

Patógeno	Técnicas de diagnóstico
Poliovírus	Cultura para vírus de urina PCR urina e plasma qPCR urina e plasma
Adenovírus	Cultura para vírus de urina EIE para detecção antígeno PCR urina e plasma qPCR plasma
Citomegalovírus	Antigenemia para CMV PCR plasma qPCR plasma

Cultivo celular

O isolamento viral em cultivo celular, a partir da urina, é dependente da escolha do sistema de cultivo celular, da carga de partículas virais infecciosas na amostra, visto que o efeito citopatogênico não é específico.¹³ Outro fator limitante é a toxicidade desta amostra para a linhagem celular, o que pode impedir a replicação viral. Após a inoculação do material, tais culturas devem ser monitoradas para visualização do efeito citopático, que sugere o desenvolvimento viral, o qual deve ser confirmado pela detecção de antígenos virais por imunofluorescência indireta, ensaios imunoenzimáticos, reação de fixação de complemento, reação de hemaglutinação ou mediante detecção de ácidos nucleicos virais por métodos de hibridização ou PCR.^{13, 25, 26, 27} O método de detecção mais sensível é a PCR, onde seqüências de fragmento viral específico são amplificadas possibilitando sua detecção.¹³

O poliovírus BK se multiplica bem em células epiteliais de rim de primata, embora a progênie viral possa ser obtida em células de cérebro de feto humano e em menor proporção em fibroblastos humanos e linfócitos.²⁸ No entanto, a infecção mais produtiva por BKV ocorre em células embrionárias renais (HEK - *human embryonic kidney cells*), com infecção de mais de 70% das células com expressão viral. Durante o curso da infecção, há desenvolvimento de efeito citopático típico, decorrente da infecção pelo poliovírus, onde as células se tornam arredondadas, refringentes, com vacúolos citoplasmáticos e se desprendem da monocamada formando

uma aparência “tipo cordão”. Tanto o BKV quanto o JCV aglutinam eritrócitos humanos tipo O, assim a reação de hemaglutinação é o teste laboratorial de rotina para a confirmação do isolamento viral e também para a sua titulação.¹⁰ Deve-se ressaltar que estudos prévios têm relatado situações de infecção por estes agentes, em que as culturas não têm o desenvolvimento de efeito citopático.²⁹

Para o isolamento do adenovírus as culturas de células de origem humana são as melhores, a linhagem primária HEK é a que tem a melhor taxa de isolamento, contudo pela dificuldade de sua obtenção são pouco utilizadas e outra linhagens contínuas, como HEp-2 (*larynx epidermoid carcinoma*), HeLa (*cervical adenocarcinoma*) e A549 (carcinoma de pulmão) podem ser utilizada com sucesso. A multiplicação viral é evidenciada por alterações morfológicas típicas com as células infectadas apresentando-se grandes, arredondadas, e, às vezes, reunidas em “cachos”, com alterações nucleares evidentes e características.³⁰ O tempo para o isolamento é variável, geralmente ocorrendo após a 2ª semana de inoculação e a identificação é feita por imunofluorescência indireta utilizando anticorpo monoclonal ou ensaio imunoenzimático indireto.

A detecção viral por cultivo celular tem como principal vantagem a definição do agente etiológico provável associado com a CH, geralmente é um teste com alto valor preditivo positivo. No entanto, suas maiores limitações são a necessidade de profissional altamente treinado, a demora para liberação dos resultados e a baixa sensibilidade (habitualmente inferior a 60%), por tais motivos, atualmente, tem sido realizada apenas em laboratórios de pesquisa, não sendo aplicado em rotinadiagnóstica.

O material mais adequado para o isolamento do CMV é a urina. Sugere-se coletar, cerca de 10 mL de urina, em frasco esterilizado, filtrar em membranas com poro 0.2 μ m e inocular 200 μ L do filtrado, em monocamadas de fibroblasto. A cultura convencional de fibroblasto de pulmão humano (MRC-5) foi, por muito tempo, a metodologia de escolha para o isolamento do CMV. A amostra inoculada é incubada a 37°C por pelo menos três semanas, trocando-se o meio a cada sete dias e examinando a monocamada, a cada dois dias, para verificar o aparecimento de ECP característico, o qual deve ser confirmado com anticorpos monoclonais específicos por imunofluorescência indireta.³¹ No entanto, devido à demora para o desenvolvimento do efeito citopatogênico típico, que pode levar de duas a quatro semanas, dependendo da amostra clínica, essa técnica tem sido substituída pela técnica de centrifugação rápida (*shell vial*).^{31, 32, 33} Essa metodologia não depende da observação de efeito citopático e sim da detecção de células infectadas pelo CMV, por imunofluorescência indireta realizada em torno de 16 horas após a infecção, aumentando a sensibilidade de detecção do CMV de 37,5% a 100% e mantendo a mesma especificidade da cultura convencional.³²

Pesquisa de antígenos virais

Citologia urinária e Imunohistoquímica

Devido às limitações do isolamento viral e a não disponibilidade de outras metodologias, a citologia urinária, foi utilizada com frequência para o monitoramento da virúria em pacientes com cistite hemorrágica, com ou sem imunossupressão. Achados citológicos característicos de infecção viral são apresentados em diversas revisões.

Para o diagnóstico de ITU por BKV, o exame citológico urinário é excelente método de triagem para detecção e acompanhamento da infecção, tendo alta sensibilidade. As células infectadas são identificadas por coloração específica (Papanicolaou) como células “Decoy”.³⁴ Nestas células pode-se observar um núcleo aumentado com inclusão basofílica “gelatinosa”, substituindo a cromatina nuclear ou deslocando-a para a periferia. Quando se observa halo claro ao redor da inclusão viral, é necessário fazer a diferenciação com inclusão de CMV. As células infectadas pelo BKV têm um aumento da proporção nuclear e carência de inclusão citoplasmática.^{35, 36, 37} Na infecção por adenovírus pode ser observada a presença de células com inclusões nucleares sugestivas de infecção viral, a confirmação etiológica, entretanto necessita de exames diretos, como pesquisa de antígenos ou detecção molecular.

A Imunohistoquímica consiste em um conjunto de procedimentos que utilizam anticorpos (policlonais ou monoclonais) como reagentes de grande especificidade para a detecção de antígenos que marcam estruturas teciduais e intracelulares. Esta metodologia tem sido utilizada na identificação etiológica quando há a suspeita de infecção viral em tecido. Apresenta alta sensibilidade, porém como depende de procedimento invasivo para a sua realização é uma metodologia que tem sido pouco utilizada.

Estudos realizados para comparar o valor da citologia e da imunohistoquímica de urina para o diagnóstico da reativação de poliomavírus em pacientes imunossuprimidos, em amostras de urinas seriadas demonstram um número 70% maior de células positivas por imunohistoquímica.³⁸

Imunofluorescência indireta e ensaio imunoenzimático para detecção antígenos virais

A pesquisa de antígenos virais diretamente em sedimentos urinários tem sido utilizada para o diagnóstico da virúria por adenovírus e citomegalovírus. Esta pesquisa é realizada pelo método de imunofluorescência indireta e baseia-se na utilização de anticorpos monoclonais específicos para estes vírus. Da mesma forma, tem-se descrito o emprego de ensaio imunoenzimático para a pesquisa de antígenos de adenovírus em urina. Estas são técnicas de alta especificidade, porém de sensibilidade variável, pois depende da quantidade de vírus presente na amostra. Com a maior utilização dos métodos de biologia molecular também têm sido pouco solicitadas.

Antigenemia para citomegalovírus

O método da antigenemia para CMV tem sido considerado um grande avanço no diagnóstico da infecção ativa pelo CMV em transplantes de órgãos. A presença de antígenos em leucócitos do sangue periférico proporciona um marcador precoce de infecção ativa pelo CMV e é um teste rápido.³⁹ Esse método requer a utilização de anticorpos monoclonais específicos para detectar o antígeno viral *pp65*, proteína estrutural expressa nos leucócitos durante a fase precoce do ciclo de replicação do CMV.⁴⁰ O resultado, quando positivo, é quantificado o que permite correlacionar a viremia com a gravidade da doença clínica.^{41, 42, 43} Esse método consiste na separação dos leucócitos do sangue periférico pela sedimentação espontânea ou com dextran, lise direta de eritrócitos, preparação de lâminas microscópicas, contendo concentrado previamente determinado de células, o qual deve ser padronizado em cada serviço onde o teste é realizado, em seguida, realiza-se a reação de imunomarcagem pelos métodos de imunoperoxidase ou de imunofluorescência indireta com anticorpos monoclonais (C10 e C11) contra o CMV. Por fim, procede-se a contagem do número de células infectadas proporcionalmente ao total de células avaliadas.⁴⁴ Os leucócitos positivos apresentam uma coloração nuclear polilobulada homogênea de cor verde maçã, quando visualizados ao microscópio de fluorescência ou marrom ao microscópio óptico.

O teste de antigenemia positivo é um marcador de infecção ativa, decorrente de uma primoinfecção ou de uma reativação endógena do CMV, e seu resultado quantitativo tem boa correlação com doença grave. Esta é uma técnica rápida (5 horas) e de alta sensibilidade para a detecção de CMV,^{43, 45} além de permitir uma estimativa da carga viral sistêmica deste vírus.⁴⁶ Como limitações deste teste são citadas a necessidade do processamento da amostra em um curto espaço de tempo, até 8 horas após a coleta, para não haver a diminuição da sensibilidade do teste, além de sua menor aplicabilidade em pacientes com baixa contagem de granulócitos, podendo, nesses casos, ser substituída pela técnica de PCR.^{47, 48, 49}

Métodos de biologia molecular

O desenvolvimento das técnicas de biologia molecular tem contribuído para avanços significativos nos diversos campos do conhecimento. Na virologia, limitações como baixa sensibilidade analítica das metodologias, demora nos resultados e altos custos têm sido progressivamente ultrapassadas pelos métodos de detecção de ácido nucléico. Além do diagnóstico precoce, observa-se uma rápida ampliação na aplicabilidade dos métodos moleculares, sendo atualmente utilizados também para quantificar e genotipar os micro-organismos, contribuindo de forma significativa no conhecimento da patogênese das doenças, na indicação e monitoramento da terapia e para determinar o prognóstico da patologia.⁵⁰

Reação em cadeia da polimerase – qualitativo (PCR)

A amplificação gênica pela PCR é o método mais sensível e específico para o diagnóstico do BKV na urina e sangue,⁵¹ permitindo a produção de grandes quantidades de fragmentos específicos de DNA a partir de substratos complexos e em pequenas concentrações. Este procedimento permite a amplificação de um fragmento de DNA escolhido, cuja concentração final excederá em milhares de vezes a do restante do DNA presente na amostra amplificada, o que gera maior especificidade e sensibilidade.^{52, 53}

A biologia molecular é a ferramenta mais sensível para detectar infecção por poliomavírus em paciente imunocomprometido e é o único método que pode distinguir com confiabilidade os genótipos virais de BKV e JCV.⁵⁴

As técnicas de PCR para amplificação de porções do segmento genômico dos adenovírus têm contribuído significativamente para aumentar o diagnóstico desta infecção (amplificação grupo-específico – região conservada do genoma para o grupo), assim como tem sido empregada para caracterização do sorotipo viral (amplificação espécie-específica – região conservada do genoma para o sorotipo viral).

A PCR permite o diagnóstico precoce da infecção ativa pelo CMV, devido a sua elevada sensibilidade detectando quantidades reduzidas de partículas virais, o que seria difícil de ser obtido com os métodos classicamente empregados (55). Dentre as principais técnicas resultantes de modificações da PCR, a “*nested-PCR*” emprega uma segunda etapa de amplificação com um par de oligonucleotídeos iniciadores internos aos utilizados na primeira etapa e visa aumentar a sensibilidade e especificidade do método.^{44, 56}

Além do diagnóstico virológico, a PCR pode permitir a classificação das variantes virais envolvidas na infecção, seja pela utilização de oligonucleotídeos iniciadores específicos para estas variantes ou pelo sequenciamento nucleotídico do produto obtido. Tais informações contribuem para o conhecimento das variantes virais envolvidas na infecção, sua patogênese e possíveis evidências de resistência aos antivirais.

Reação em cadeia da polimerase quantitativo (qPCR)

A PCR em tempo real (*Real time PCR*) também chamada qPCR ou qRT-PCR, baseia-se na detecção e quantificação de um sinal fluorescente emitido após a amplificação da molécula de DNA. Dentre as vantagens desta técnica em relação à PCR qualitativa estão maior sensibilidade, precisão, reprodutibilidade, acurácia, velocidade na análise, melhor controle de qualidade no processo e menor risco de contaminação, sendo empregada para a determinação de carga viral e monitoramento de doença residual mínima.⁵⁷

Estudos comparativos entre os métodos de qPCR e *nested-PCR* demonstram um aumento significativo no percentual de detecção viral com o qPCR, principalmente em materiais com baixa concentração viral. O qPCR é fácil de desenvolver e disponível para o diagnóstico de infecção viral.⁵⁸

As técnicas que detectam DNA do CMV são as mais adequadas para o diagnóstico da reativação da infecção por esse vírus. Estudos apontam que a técnica de *nested*-PCR pode apresentar sensibilidade superior, quando comparada à qRT-PCR,^{59, 60, 61} outros autores defendem o contrário^{62, 63} e outros ainda, que ambos os métodos em discussão, apresentam sensibilidades concordantes.^{64, 65} Estas técnicas são particularmente importantes, para pesquisa do CMV, em situações que demandam alta sensibilidade como: monitoramento de infecção pelo CMV em pacientes imunocomprometidos, diagnóstico de infecção congênita ou pré-natal e triagem de doadores de sangue, para prevenir infecção por CMV pós-transfusional.⁶⁶

Os leucócitos do sangue periférico são a amostra clínica mais adequada para se recuperar o DNA do CMV.^{49, 67, 68} No entanto, a positividade no soro ou plasma correlaciona-se diretamente com infecção ativa pelo CMV, além do processamento desse material ser mais fácil e simples.^{69, 70}

Para a pesquisa do BKV, podem ser utilizados plasma colhido com EDTA e urina colhida em recipientes sem conservantes, transportados em temperatura ambiente (+18/+25°C), mantidos a essa temperatura por um período máximo de quatro horas, ou congelados -20°C por um máximo de trinta dias ou a -70°C por um tempo maior. O congelamento das amostras de urina causa, frequentemente, a formação de precipitados que podem interferir nas fases sucessivas do seu processamento, devendo-se utilizar apenas o sobrenadante na extração do genoma viral. Os valores de fluorescência emitidos pela sonda específica para BKV nas reações de amplificação de cada amostra e a curva padrão de amplificação são utilizados para calcular a quantidade de DNA alvo presente nas reações de amplificação das amostras.

Em estudo comparativo realizado em receptores de transplante renal, pesquisando BKV por qPCR, demonstrou-se que muitos pacientes clareiam o BKV no sangue, porém continuam eliminando BKV na urina, sugerindo que ambas as amostras são necessárias para monitorar corretamente uma reativação por BKV.⁷¹ Tais achados se repetem com a pesquisa de adenovírus e citomegalovírus.

Com a introdução dos métodos de biologia molecular recentes observou-se que a presença de cistite hemorrágica viral em imunossuprimido está associada à presença de vírus no sangue e na urina – viremia e virúria, reforçando a hipótese de que esta é uma doença sistêmica.

Conclusões

A detecção de vírus na urina, virúria, pode ser consequência de uma infecção do trato urinário por este agente ou, apenas uma via de eliminação do micro-organismo decorrente de sua replicação em corrente sanguínea, sendo evidência de uma viremia. Habitualmente, em pacientes adultos imunocompetentes, interpreta-se a virúria como uma via de excreção viral, sem repercussão clínica, enquanto que sua presença em pacientes pediátricos ou imunossuprimidos, associado com sintomatologia clínica, pode ser evidência de infecção local. Logo, o médico deve estar atento quanto à presença da cistite hemorrágica viral, investigando estes patógenos tanto

em urina, como em sangue periférico, além disso, deve-se ressaltar que a virúria isolada sem repercussão clínica não necessita de intervenção terapêutica.

Análises microbiológicas que utilizam metodologias laboratoriais muito sensíveis, como as técnicas de biologia molecular podem levar a diagnósticos errôneos da etiologia da infecção urinária. Isto pode ocorrer mesmo em pacientes imunocompetentes, que em alguns períodos podem apresentar virúria assintomática e, com maior frequência, em pacientes imunossuprimidos, que podem eliminar vírus na urina por períodos prolongados sem repercussão clínica. Ao contrário, ao se investigar a presença de vírus na urina por métodos virológicos tradicionais, como o isolamento em cultivo celular ou a pesquisa de antígenos virais, que apresentam uma menor sensibilidade, observam-se maiores valores preditivos positivos. Por tais motivos, deve-se ressaltar a necessidade de análise clínica criteriosa para a interpretação dos resultados da pesquisa de vírus na urina, buscando a associação da virúria com a sintomatologia urinária baixa, a presença de comprometimento da função renal, intensidade da imunossupressão, manifestações clínicas sistêmicas, bem como descartar outros patógenos mais comuns, como bactérias e fungos.

Nesta revisão foram discutidos os agentes virais mais comumente associados com infecções urinárias. No entanto, análise realizada sobre amplo estudo epidemiológico em que os indivíduos participantes forneciam amostras de sangue e preenchiam um questionário sobre sintomas de ITU inferior, demonstrou que havia uma associação positiva entre várias infecções virais, tais como papilomavírus humano tipo 16, vírus herpes simplex tipo 2, citomegalovírus, herpes vírus humano tipo 8, vírus hepatite B e C e a sintomatologia, principalmente em pacientes masculinos, nas faixas etárias de 30-59 anos,⁷² ressaltando que estudos mais profundos devem ser realizados sobre o assunto.

REFERÊNCIAS

1. Akagi S, Sugiyama H, Makino H. Infection and chronic kidney disease. *Nippon Rinsho* 2008; 66(9): 1794-8.
2. Tourret J, Tostivint I, Deray G, Isnard-Bagnis C. Kidney diseases in HIV-infected patients. *Nephrol Ther* 2009; 5(6): 576-91.
3. Appel G. Viral infections and the kidney: HIV, hepatitis B, and hepatitis C. *Cleve Clin J Med* 2007; 74(5): 353-60.
4. Knowles WA, Pipkin P, Andrews N, Vyse A, Minor P, Brown DWG, Miller E. Population Based Study of Antibody to the Human Polyomaviruses BKV and JCV and the Simian Polyomavirus SV40. *J Med Virol* 2003; 71: 115-23.
5. Waldman M, Marshall V, Whitby D, Kopp JB. Viruses & kidney disease: beyond HIV *Semin Nephrol* 2008; 28(6): 595-607.
6. Ligeró JG, Peris BM, García FG, Pastor JN, Ros MT, Gutiérrez AS, *et al.*, Cistitis hemorrágica por poliomavirus BK y JC en pacientes sometidos a trasplante de médula ósea: aspectos clínicos y manejo urológico. *Actas Urológicas Españolas*, 2002: 104-10.
7. Miano M, Faraci M, Dini G, Bordigoni P. EBMT Paediatric Working Party. Early complication following haematopoietic SCT in children. *Bone Marrow Transplant* 2008; 41: S39-S42.
8. Schechter T, Liebman M, Gassas A, Ngan B, Navarro OM. BK virus-associated hemorrhagic cystitis presenting as mural nodules in the urinary bladder after hematopoietic stem cell transplantation. *Pediatr Radiol* [Serial online] 2010 Mar. Available from: URL: <http://www.springerlink.com/content/61128t36442r8x75/>
9. Decker DB, Karam JA, Wilcox DT. Pediatric hemorrhagic cystitis. *J Ped Urol* 2009; 5: 254-64.
10. Major, EO. Human Polyomavirus In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, In: *Virology*, Philadelphia: 2nd ed. Raven Press; 2000.
11. Thoulouzana M, Courtade-Saidib M, Kamarc N, Belleca L, Huyghea E, Souliéa M, Plantea P. Aspects urologiques de l'infection à Polyomavirus. *Progrès en urologie* 2010; 20: 11-6.
12. Chiarinotti D, Ruva CE, David P, Capurro F, Brustia M, Omodeo Zorini E, *et al.*, Polyomavirus infection in an immunocompetent patient and literature overview. *G Ital Nefrol* 2002; 19(1): 74-8.
13. Peinemann F, DE Villiers EM, DorrieS K, Adams O, Vogeli TA, Burdach S: Clinical course and treatment of haemorrhagic cystitis associated with BK type of human poliomavirus in nine paediatric recipients of allogenic bone marrow transplants. *Eur J Pediatr* 2000; 159(3): 182-8.
14. Behzad-Behbahani A, Abdolvahab A, Gholamali YP, Roshanak B, Mahmood R. Clinical signs as a guide for performing HSV-PCR in correct diagnosis of herpes simplex virus encephalitis. *Neurol India* 2003 Sep;51(3):341-4.

15. Markowitz RB, Thompso HC, Muller JF, Cohen A, Dynan WS. Incidence of BK virus and JC virus viruria in human immunodeficiency virus infected and uninfected subjects. *J Infect Dis* 1993; 167: 13-20.
16. Horwitz MS. Adenoviruses. In Fields BN, Knipe DM, Howley PM. *Virology*, Philadelphia: Raven Publisher; 1996. p. 2149-71.
17. Numazaki Y, Shigeta S, Kumasaka T, Miyazaka T, Yamanaka M, Yano N, *et al.*, Acute hemorrhagic cystitis in children: isolation of adenovirus type 11. *N Eng J Med* 1968; 278: 700-4.
18. Mufson MA, Belshe RB. A review of adenoviruses in the etiology of acute hemorrhagic cystitis. *J Urol* 1976; 115: 191-4.
19. Akiyama H, Kurosu T, Sakashita C, Inoue T, Mori Si, Ohashi K, *et al.* Adenovirus is a key pathogen in hemorrhagic cystitis associated with bone marrow transplantation. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 1325-30.
20. Hiraoka A, Teshima H, Mitsui H, Ohsuga Y, Nakagawa M, Nakamura H, *et al.*, Ureteric obstruction after allogeneic bone marrow transplantation: an unusual complication. *Bone Marrow Transplant* 1989; 4: 449-51.
21. Mori K, Yoshihara T, Nishimura Y, Uchida M, Katsura K, Kawase Y, *et al.* Acute renal failure due to adenovirus-associated obstructive uropathy and necrotizing tubulointerstitial nephritis in a bone marrow transplant recipient. *Bone Marrow Transplant* 2003; 31: 1173-6.
22. Asim M, Chong-Lopez A, Nিকেleit V. Adenovirus infection of a renal allograft. *Am J Kidney Dis* 2003; 41: 696-701.
23. Pannuti CS. Infecção por Citomegalovírus. *Pediatr (São Paulo)* 1984; 5: 144-53.
24. Mueller BU, MacKay K, Cheshire LB, *et al.* Cytomegalovirus ureteritis as a cause of renal failure in a child infected with the human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis* 1995; 20: 1040-3.
25. Dei R, Marmo F, Corte D, Sampietro MG, Franceschini E, Urbano P. Age related changes in the prevalence of precipitating antibodies to BK virus in infants and children. *J Med Microbiol* 1982; 15: 285-91.
26. Demeter Lisa M: JC, BK y otros poliomavirus; Leucoencefalopatia multifocal progresiva. Em Mandell, Bennet & Dolin: *Enfermedades infecciosas. Principios y práctica clínica*. 4ª ed. Ed Panamericana; 1997.
27. Kúpper T, Stoffels U, Pawlita M, Búrrig F, Pfitzer P: Morphological changes in urothelial cells replicating human polyomavirus BK. *Cytopathol* 1993; 4: 361-68.
28. Flaegstad T, Traavik T, Christie KE, Joergensen J, Neutralization test for BK virus: Plaque reduction detected by immunoperoxidase staining. *J Med Virol* 1986; 19: 287-96.
29. Apperley JF, Rice SJ, Bishop JA, Chia YC, Krausz T, Gardner SD, Goldman JM Late-onset hemorrhagic cystitis associated with urinary excretion of polyomaviruses after bone marrow transplantation. *Transplantation* 1987; 43: 108-12.
30. Flint JS, Enquist LW, Racaniello VR, Skalka. *Principles of Virology*. 2ª ed. ASM Press (San Diego); 2004.
31. Distéfano AL, Alonso A, Martin F, Pardon F. Human Cytomegalovirus: detection of congenital and perinatal infection in Argentina, *BMC Pediatr* 2004; 4: 11.

32. Gleaves CA, Smith TF, Shuster EA, Pearson GR. Rapid detection of cytomegalovirus in MRC-5 cells inoculated with urine specimens by using low-speed centrifugation and monoclonal antibody to an early antigen. *J Clin Microbiol* 1984; 19: 917-9.
33. Fiacco V, Bryson Y J, Bruckner DA. Comparison of monoclonal and polyclonal antibody for confirmation of cytomegalovirus isolates by fluorescent staining. *J Clin Microbiol* 1984; 19: 928-30.
34. Santos RLS, Manfrinatto JA, Cia EMM, Carvalho RB, Quadros KRS, Alves-Filho G. *et al.* . Urine Cytology as a screening method for polyoma vírus active infection. *Transplant Proc* 2004; 36: 899-901.
35. Itoh S, Irie K, Nakamura Y, Yoshiataka O, Haratake A, Morimatsu M. Cytologic and genetic study of polyomavirus - infected or polioma vírus – activated cells in human urine. *Arch Pathol Lab Med* 1988; 122: 333-7.
36. Drachenberg CB, Hirsch HH, Ramos E, Papadimitriou PC. Polyomavirus disease in renal transplantation: Reviews of pathological findings and diagnostic methods. *Human Pathol* 2005; 36: 1245-55.
37. Sêmentilli A, David DR, Malheiros D, Visona I, Pegas KL, Franco M. Patologia do transplante renal: achados morfológicos principais e como laudar as biópsias. *J Bras Patol Med Lab* 2008; 44(4): 293-304.
38. Yuste RS, Frías C, López A, Vallejo C, Martín P, Bellas C. Diagnostic value of JC/BK virus antibody immunohistochemistry staining in urine samples from posttransplant immunosuppressed patients in relation to polyomavirus reactivation. *Acta Cytol* 2008; 52(2): 191-5.
39. Van der Berg, AP, Klomp maker IJ, Haagsma EB. Antigenemia in the Diagnosis and Monitoring of Active Cytomegalovirus Infection after Liver Transplantation. *J Infect Dis* 1991; 164: 265-270.
40. Yen-Lieberman B. Diagnosis of Human Cytomegalovirus Disease. *Clin Microbiol* 2000; 14(22): 105-9.
41. The TH, Van der Ploeg M, Van der Berg AP. Direct detection of cytomegalovirus in peripheral blood leukocytes: a review of the antigenemia assay and polymerase chain reaction. *Transplantation* 1992; 54(2): 193-8.
42. Niubó J, Perez JL, Martinez-Lacasa JT, Garcia A, Roca J, Fabregat J. *et al.* Association between quantitative cytomegalovirus antigenemia with symptomatic infection in solid organ transplant patients. *Diagn Microbiol Infec Dis* 1996; 24: 19-24.
43. Lo CY, Yuen KY, Lui SL, Li FK, Chan TM, Lo WK and Cheng IK. Diagnosing cytomegalovirus disease in CMV seropositive renal allograft recipients: a comparison between the detection of CMV DNAemia by polymerase chain reaction and antigenemia by CMV pp65 assay. *Clin Transplant* 1997; 11: 286-93.
44. The TH, Van der Berg WJ, Van Son IJ. Monitoring for Cytomegalovirus after organ transplantation: a clinical perspectiva. *Transplantation Proc* 1993; 5 (25): S5-S9

45. Van Der Bij W, Torensma R, Van Son WJ, Tegzess AM. Rapid immunodiagnosis of active cytomegalovirus infection by monoclonal antibody staining of blood leukocytes. *J Med Virol* 1988; 25, 179 -188.
46. Gondo H, Minematsu T, Harada M. Cytomegalovirus (CMV) antigenemia for a rapid diagnosis and monitoring of CMV-associated disease after bone marrow transplantation. *Br J Haematol* 1994; 86 (1): 130-7.
47. Solano S, Muñoz I, Gutiérrez A, Farga A. Qualitative Plasma PCR Assay (AMPLICOR CMV Test) versus pp65 Antigenemia Assay for Monitoring Cytomegalovirus Viremia and Guiding Preemptive Ganciclovir Therapy in Allogeneic Stem Cell Transplantation. *J Clin Microbiol* 2001; 39 (11): 3938-41.
48. Boeckh M, Bowden RA, Goosrich JM, Pettinger M, Meyers JD. Cytomegalovirus Antigen detection in peripheral blood leukocytes after allogeneic marrow transplantation. *Blood* 1992; 80 (5): 1358-64.
49. Boeckh M, Boivin G. Quantitation of Cytomegalovirus: methodologic aspects and Clinical Applications. *Clin Microbiol* 1998; 11(3): 533-54.
50. Raboni SM. Adenovirus e cistite hemorrágica em pacientes do transplante de medula óssea [dissertação]. Curitiba (PR): UFPR; 1999.
51. Holman CJ, van Burik JH, Hinrichs, SH. Specific detection of human BK poliovirus in urine sample of immunocompromised patients. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003; 10 (1): 66-9.
52. Costa FF, Costa SCB. Reação em Cadeia da Polimerase (PCR): princípios e aplicações clínicas. *Rev Bras Reumatol* 1992; 32: 142-6.
53. Leung AY, Suen CK, Lie AK, Liang Rh, Yuen KY, Kwong YL. Quantification of poliovirus BK viruria in hemorrhagic cystitis complicating bone marrow transplantation. *Blood* 2001; 98: 1971-8.
54. Boldorini R, Zorini EO, Vigano P, Nebuloni M, Mena M, Monga G. Cytologic and biomolecular diagnosis of polyomavirus infection in urine specimens of HIV-positive patients. *Acta Cytol* 2000; 44: 205-10.
55. Costa SCB. Infecção por citomegalovírus (CMV); epidemiologia, diagnóstico e tratamento. *Rev Bras Clin* 1999; 25(1): 18-28.
56. Abecassis MM, Koffron AJ, Kaplan B, Buckingham M, Muldoon JP, Cribbins AJ *et al.* The role of PCR in the diagnosis and management of CMV in solid recipients. *Transplantation* 1997; 63: 2, 275-79.
57. Linscott AJ. Molecular diagnostics for infectious disease. *Pathol Case Rev: March-April* 2002; 7(2): 64-9.
58. Hammarin AL, Blomberg J. Quantitative real-time PCR assay for detection of human polyomavirus infection. *J Virol Meth* 2006; 135(2): 207-13.
59. Zhang S, Zhou YH, Li L, Hu Y. Monitoring human cytomegalovirus infection with nested PCR: comparison of positive rates in plasma and leukocytes and with quantitative PCR *Virol J* 2010; 7: 73. <http://www.virologyj.com/content/7/1/73>.
60. Fukushima E, Ishibashi K, Kaneko H, Nishimura H, Inoue N, Tokumoto T, *et al.*, Identification of a highly conserved region in the human cytomegalovirus glycoprotein H gene and design of molecular diagnostic methods targeting the region. *J Virol Meth* 2008; 151: 55-60.

61. Botero JE, Vidal C, Contreras A, Parra B: Comparison of nested polymerase chain reaction (PCR), real-time PCR and viral culture for the detection of cytomegalovirus in subgingival samples. *Oral Microbiol Immunol* 2008; 23:239-44.
62. Ikewaki J, Ohtsuka E, Kawano R, Ogata M, Kikuchi H, Nasu M. Real-time PCR assay compared to nested PCR and antigenemia assays for detecting cytomegalovirus reactivation in adult T-cell leukemia-lymphoma patients. *J Clin Microbiol.* 2003; 41(9): 4382-7
63. Preiser W, Brink NS, Ayliffe U, Peggs KS, Mackinnon S, Tedder RS, Garton JA: Development and clinical application of a fully controlled quantitative PCR assay for cell-free cytomegalovirus in human plasma. *J Clin Virol* 2003; 26: 49-59.
64. Drago L, Lombardi A, De Vecchi E, Giuliani G, Bartolone R, Gismondo MR: Comparison of nested PCR and real time PCR of herpesvirus infections of central nervous system in HIV patients. *BMC Infect Dis* 2004; 4: 55.
65. Yun ZB, Lewensohn-Fuchs I, Ljungman P, Ringholm L, Jonsson J, Alberta J: A real-time taqman PCR for routine quantitation of cytomegalovirus DNA in crude leukocyte lysates from stem cell transplant patients. *J Virol Meth* 2003; 110: 73-9.
66. Zhang S, Zhou Y-H, Li L, Hu Y. Monitoring human cytomegalovirus infection with nested PCR: comparison of positive rates in plasma and leukocytes and with quantitative PCR. *Virol J* 2010; 7: 73.
67. Mengelle C, Sandres-Saune K, Pasquier C, Rostaing L, Mansuy JM, Marty M, *et al.*, Automated extraction and quantification of human cytomegalovirus DNA in whole blood by realtime PCR assay. *J Clin Microbiol* 2003, 41: 3840-5.
68. Ksouri H, Eljed H, Greco A, Lakhel A, Torjman L, Abdelkefi A, *et al.*, Analysis of cytomegalovirus (CMV) viremia using the pp65 antigenemia assay, the amplicor CMV test, and a semi-quantitative polymerase chain reaction test after allogeneic marrow transplantation. *Transpl Infect Dis* 2007; 9: 16-21.
69. Tang WH, Elmore SH, Fan HX, Thorne LB, Gulley ML: Cytomegalovirus DNA measurement in blood and plasma using Roche Lightcycler CMV quantification reagents. *Diagn Mol Pathol* 2008; 17: 166-73.
70. Kanaan A, Cour I, Alvarez-Lafuente R, Benedicto M, Culebras E, Prats D, *et al.*, Significance of nested PCR and quantitative real time PCR for cytomegalovirus detection in renal transplant recipients. *Int J Antimicrobiol Ag* 2004, 24: 455-62.
71. Mischitelli M, Fioriti D, Anzivino E, Bellizzi A, Ferretti G, Gussman N *et al.*, BKV QPCR detection and infection monitoring in renal transplant recipients. *New Microbiol* 2007; 30(3): 271-4.
72. Sutcliffe S, Rohrmann S, Giovannucci E, Nelson KE, Marzo AM, Isaacs WB, Nelson WG, Platz EA. Viral infections and lower urinary tract symptoms in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *J Urol* 2007; 178: 2181-5.

24. COLETA DE AMOSTRAS DE URINA DESTINADAS À CULTURA

Regina Mariuza Borsato Quesada
Márcia Regina Eches Perugini

Introdução

A urina é um biomarcador não invasivo e ideal, principalmente, para investigar infecções do trato urinário (ITU), classificar as doenças renais e, inclusive, diagnosticar processos fisiológicos.¹ A urina é um fluido instável que muda sua composição constantemente, portanto, a forma de coleta, a estocagem da amostra e a manipulação são fases importantes para a manutenção da integridade desse material biológico no laboratório.²

A coleta de urina para cultura está indicada, entre outras situações clínicas, na suspeita de cistite, pielonefrite, nas ITUs complicadas e nas infecções recorrentes. A coleta da urina é indicada, também, para a investigação de bacteriúria assintomática, na gravidez, nas crianças portadoras de refluxo vesíco-ureteral, em pacientes com distúrbios miccionais e previamente à manipulação do trato urinário por cirurgias urológicas e ginecológicas.^{3,4}

A urocultura é o método de escolha para a confirmação de ITU em qualquer idade, porém, sua confiabilidade depende da coleta adequada de urina, pois podem ocorrer resultados duvidosos por contaminação da amostra. Por ser estéril, o cuidado na sua obtenção é muito importante para prevenir a contaminação proveniente da uretra, da vagina ou do períneo.⁵ Portanto, qualquer que seja o método de coleta empregado para se obter a amostra de urina para cultivo deve-se realizar uma rigorosa antisepsia da genitália masculina e feminina, com água e sabão neutro, obter a amostra em recipiente estéril e o material colhido deve ser enviado rapidamente ao laboratório.⁶

Várias recomendações têm sido publicadas quanto às técnicas de coleta a serem adotadas para cada grupo de indivíduos, pois o método depende tanto da faixa etária, quanto da gravidade clínica de cada caso. Assim, o *Clinical Guideline of National Collaborating Centre for Women's and Children's Health and The National Institute for Health and Clinical Excellence* (NHS-NICE) relatam que há uma variedade de métodos a serem usados em crianças, principalmente nas unidades básicas de saúde.⁷

Dessa forma, em crianças com micção involuntária, o recomendado na literatura é o método da punção suprapúbica, embora também possam ser utilizados os métodos de sondagem ou cateterização vesical, saco coletor de urina ou procedimentos correlatos. Em crianças com controle esfinteriano e com capacidade para

colaborar em todas as etapas do processo de obtenção da urina, recomenda-se o método de coleta de urina por jato médio.⁸

Coleta de urina em crianças

ITU é uma das infecções bacterianas mais comuns e importante causa de morbidade em crianças. Diferente do que ocorre em outros grupos etários, na infância há necessidade de se realizar a confirmação microbiológica do diagnóstico de ITU, assim como para a adaptação do tratamento aos resultados do antibiograma, e também para prevenir a admissão hospitalar desnecessária de criança não infectada.^{9, 10, 11}

Complicações das ITUs na infância incluem proteinúria, pielonefrite crônica e redução da função renal pela presença de cicatrizes, levando a hipertensão, complicações durante a gravidez e falência renal, entre outras situações clínicas observadas na fase adulta.^{3, 4, 11, 12, 13, 14, 15, 16}

Para a coleta de urina deve-se levar em conta que a quantidade do volume urinário varia com a idade, com a ingestão de água e outros líquidos, assim como com a normalidade da função renal, entre outros fatores.¹⁷ De maneira geral, bebês e crianças até 3 anos raramente urinam volume maior que 500mL por dia; enquanto crianças de 3 a 5 anos eliminam, em média, em torno dos 700mL de urina diários; dos 5 aos 8 anos, o volume urinário diário chega a 1000mL em média.¹⁸ Os bebês urinam de 6 a 30 vezes por dia, com o número de urinadas sendo reduzido e o volume urinário aumentado com o transcorrer da idade. Do nascimento a um ano de idade, estima-se que os bebês eliminem menos de 10 mL em uma única micção, aumentando o volume para mais de 20 mL com 2 a 3 anos. As crianças em idade escolar apresentam facilidade na obtenção de amostras de urina para exames, sendo de 30 a 50 mL em uma simples micção.¹⁹

Embora a cultura de urina seja considerada padrão-ouro para diagnóstico de ITU, as dificuldades na coleta das amostras e interpretações inadequadas das culturas realizadas com esses materiais podem contribuir para um diagnóstico falso da infecção, sendo necessário estabelecer uma padronização adequada para a obtenção desse material biológico.^{10, 16}

O padrão de referência para o diagnóstico de ITU em crianças menores de 5 anos é o crescimento bacteriano em amostra de urina obtida por punção suprapúbica. Entretanto, as culturas apresentam a desvantagem de demorar 48h ou mais para se ter um resultado, além de ser necessário uma amostra de urina sem contaminações para se ter um diagnóstico de certeza, o que muitas vezes é bastante difícil, principalmente, quando se investiga ITU em crianças pequenas.¹³

Todos os métodos de coleta de urina apresentam riscos de contaminação por micro-organismos não presentes na bexiga. Isto induz ao erro diagnóstico e ao tratamento desnecessário. Crianças sem controle esfinteriano são particularmente propícias a ter amostras contaminadas, pois são incapazes de liberar urina sem que

esteja contaminada, ou de cooperar com todo o processo. Assim, as amostras de urina quase sempre estão contaminadas com fluxo vaginal nas meninas e microbiota do prepúcio em meninos pequenos.⁷

Na atenção primária podem ser empregados diferentes métodos para coleta de urina. Em crianças com controle esfinteriano, é usada a urina em jato médio; nas crianças sem esse controle são usados para obtenção da amostra, o saco coletor com aderência perineal, ou as compressas e absorventes higiênicos estéreis. No entanto, essas técnicas implicam em um alto risco de contaminações que resultam em urocultivos falsamente positivos ou não interpretáveis. Este risco depende da higienização meticulosa da área perineal, da periodicidade da substituição do dispositivo e da vigilância para se retirar a urina tão logo seja emitida.⁹

Diferentes métodos de coleta de urina podem ter diferentes suscetibilidades para contaminação e resultados falso-positivos. O problema para o emprego adequado das técnicas de coleta de urina está, particularmente em crianças pequenas, na coleta de uma amostra estéril por jato médio. Nesses casos, o aspirado suprapúbico tem sido resguardado como método de coleta de referência, embora esse procedimento possa requerer o uso de ultrassom como guia para introduzir a agulha diretamente no interior da bexiga. Por outro lado, não há dados suficientes para determinar quais métodos devem ser usados em substituição ao aspirado suprapúbico.¹³

Tanto a cateterização quanto a punção suprapúbica são considerados os melhores métodos para obtenção de amostras de urina infantil, pois minimizam os resultados falso-positivos, embora constituam métodos invasivos e dolorosos, e também aumentem os fatores de risco para sepse em neonatos.^{13, 20} O método do saco coletor de urina é prático, indolor e não invasivo, sendo mais bem aceito pelos pais das crianças menores de um ano, mas resulta em altas taxas de contaminação da amostra.^{11, 20} Ainda assim, um diagnóstico válido de ITU é indispensável para evitar procedimentos diagnósticos ou terapêuticos inadequados, tanto por excesso quanto por erros.⁹

Coleta de urina em adultos

Quanto aos adultos, a maioria das amostras de urina é coletada por meio da técnica da micção em jato médio. Pode-se obter amostras pela técnica de cateterização interna ou externa se o paciente for incapaz de urinar espontaneamente. Outras situações em que se deve obter amostras por cateterização incluem a imobilidade, obesidade mórbida, gravidade do estado clínico e se o paciente apresentar comorbidades que possam conduzir a contaminação da urina, como por exemplo secreção vaginal abundante, blenorragia, entre outras afecções clínicas.²¹

As ITUs também são as infecções mais comuns em pacientes adultos idosos debilitados, os quais vivem em comunidades, casas de repouso ou hospitalizados. O fator de predisposição mais importante para ITU hospitalar é a cateterização urinária, a qual interfere com os mecanismos de defesa do hospedeiro e permite fácil

acesso de uropatógenos à bexiga.²² E a importância do fato está na grande possibilidade da infecção resultar em bacteriemia, alta taxa de hospitalização e uso de terapia antimicrobiana sistêmica prolongada.^{23, 24}

Para se obter uma amostra de urina para a cultura microbiológica é imprescindível eliminar totalmente os contaminantes da amostra, os quais podem dificultar a interpretação dos resultados pelo laboratório, assim como interferir nas informações que o laboratório transmite para o médico. Para tanto, o laboratório deve padronizar o serviço de coleta de amostras e escolher os meios apropriados para isolamento dos agentes etiológicos mais implicados com a situação clínica a ser investigada.⁶

Little e colaboradores (2010) não encontraram evidências para estabelecer a necessidade de cultura de urina, colhida por jato médio, em pacientes femininas adultas com poucos sintomas para ITU, como estratégia inicial de rotina para prescrição de antibióticos, alegando que o paciente precisa aguardar 48 horas ou mais para receber o resultado. Os pesquisadores concluem que o uso das fitas reativas de urinálise já seria suficiente para a introdução de terapia empírica.²⁵

Dados da literatura alertam aos clínicos e aos laboratórios que utilizam a tecnologia das fitas de urina como único critério para realização de urocultura, para que fiquem atentos, pois os pacientes imunocomprometidos podem apresentar mudanças na microbiota sem aumento de leucócitos segmentados e não vão reagir de forma positiva frente à leucócito-esterase presente nas fitas. Da mesma forma que alguns micro-organismos que não pertencentes à família *Enterobacteriaceae* não reduzem nitrato a nitrito, levando a falsas interpretações.⁶

Padronização dos métodos

Quando se investiga a presença real de cistite ou outras doenças do trato urinário, as causas da injúria ou doença renal, assim como o estado metabólico do paciente, devem ser controladas diversas variáveis tais como: o método e tempo de coleta, o volume da amostra, a idade e estado nutricional do paciente, atividades físicas que podem modular a excreção de substâncias na urina e medicamentos ingeridos, entre outros fatores. Para tanto, é indispensável que se utilize metodologia padronizada para comparar diferentes estágios de hidratação, ou taxas de quantidade de fluído urinário, a qual se padronizada, torna-se uma excelente fonte para estudos clínicos dos danos do sistema urinário.⁵ Por isso, a padronização dos métodos de coleta de urina é indispensável para a interpretação dos resultados laboratoriais obtidos.²⁶ Para estabelecer um diagnóstico de ITU confiável, a amostra de urina coletada deve ser apropriada tanto para urinálise, quanto realização de cultura.¹⁶ Uma vez que a maioria das crianças com ITU é atendida nos postos de atenção primária, a coleta de amostras desse material biológico precisa ser simples, ter baixo custo e ser aceita facilmente pela criança, pelos pais, assim como pelos cuidadores.^{7, 9}

É importante que sejam fornecidas pelo laboratório, instruções por escrito, para auxiliar o pessoal da saúde a orientar a coleta, ou a executar os procedimentos para obter esses materiais, uma vez que também são responsáveis pelas amostras

biológicas a serem manipuladas pelo laboratório. Por outro lado, as instruções também auxiliam o pessoal do próprio laboratório a isolar apenas os agentes implicados no caso e para isso precisam colher amostras fidedignas, que sejam colocadas em recipientes apropriados e no volume adequado para a análise solicitada.^{6, 27}

Da mesma forma que deve-se estabelecer práticas correntes padronizadas para a investigação, o diagnóstico e manipulação das ITUs em crianças com febre de origem desconhecida e avaliar estas práticas frente a publicações recentes,¹⁶ pois uma ITU não diagnosticada originará um atraso terapêutico importante e conseqüentemente um maior risco de dano renal. Contudo, uma ITU diagnosticada erroneamente, a partir de uma contaminação da urina, desencadeará uma série de procedimentos diagnósticos e terapêuticos inapropriados, o que também será um risco para as crianças.⁹

Custos

Na hora de valorizar a adequação de uma técnica de coleta de urina, deve-se considerar não só sua validade diagnóstica, mas também o custo dos erros diagnósticos em que se pode incorrer.⁹ Amostras contaminadas necessitam de repetição do exame, e o procedimento aumenta o custo da urocultura. Investigações desnecessárias também levam ao uso indevido de terapia antimicrobiana e à hospitalização, o que predispõe o paciente a infecções hospitalares e torna a sua permanência mais onerosa.¹¹

O custo associado com a coleta de urina inclui não somente o valor dos materiais utilizados e do pessoal treinado para a coleta e processamento da urina, mas também os custos do não diagnóstico. Amostras que não atendem a todos os requisitos não devem ser processadas, em razão do custo efetivo. Deve-se considerar que, falhas na acurácia diagnóstica de uma ITU em crianças podem resultar na demora para introduzir o tratamento, e isto pode aumentar, por exemplo, a possibilidade para cicatrizes no parênquima renal, principalmente em crianças recém-nascidas.^{6,7}

Técnicas apropriadas para a coleta de urina

Em síntese, dentre os métodos apresentados, os mais frequentemente utilizados para a coleta de urina para cultura são: micção espontânea por jato médio em recipiente estéril, por saco coletor estéril, por sondagem ou cateterização vesical, pela aspiração suprapúbica.^{8, 28}

Coleta de urina por micção espontânea ou jato médio

A técnica de coleta de urina pelo jato médio foi padronizada no ano de 1940.²⁹ Este é um método não invasivo e fácil de ser executado tanto por adultos, quanto por crianças com controle miccional.¹¹ A obtenção da urina por esse método auxilia na eliminação dos potenciais contaminantes presentes na uretra e no introito vaginal, sendo esta a técnica mais comumente empregada para a obtenção de urina, tanto para urinálise quanto para urocultura.³⁰

Um dos pontos mais importantes a ser observado na técnica de coleta por jato médio é a obtenção da urina sem que a pessoa pare de urinar, ou seja, com o jato constante. Colocar o frasco para colher a urina após o jato ter se iniciado e retirá-lo antes de terminar a micção. Por essas razões a coleta deve sempre ser orientada por um profissional habilitado, sendo preferencialmente realizada no laboratório para minimizar as chances de contaminação e reduzir o tempo para o início da análise.^{7,30}

A coleta da amostra deve ser feita utilizando técnica higiênica, sendo método adequado tanto para obtenção de urina de pacientes masculinos, quanto femininos.^{26,31} Em mulheres, é feita a higiene da vulva e do meato uretral com água e sabão, sendo os lábios vaginais afastados no momento da coleta de urina. Nos homens é retraído o prepúcio e faz-se a higiene da glândula.²⁷

Como desvantagem, o método do jato médio apresenta um grande risco de que a mãe ou a criança contamine o frasco estéril com a pele da região perineal, ou coloque a mão dentro do recipiente.¹¹

Coleta por jato médio em mulheres

Colher preferencialmente a primeira urina da manhã ou urina com no mínimo 2 horas de intervalo após a última micção. Para tanto, sentar-se no vaso sanitário com as pernas afastadas, fazer antisepsia primeiro da vagina e depois do períneo com água e sabão, ou gaze embebida em sabão líquido; enxaguar bem e secar com toalha limpa; abrir o frasco estéril; com uma das mãos afastar os grandes lábios e com a outra segurar o frasco já aberto; desprezar a primeira porção da urina, e, sem parar de urinar, colher a porção mediana do jato urinário diretamente dentro do frasco; desprezar o restante da micção. Fechar o frasco e levar imediatamente ao laboratório, ou em até uma hora.

Coleta por jato médio em homens

Colher preferencialmente a primeira urina da manhã ou com no mínimo 2 horas de intervalo após a última micção. Fazer a antisepsia da glândula e prepúcio com água e sabão; enxaguar bem e secar com toalha limpa; abrir o frasco estéril; retrair o prepúcio com uma das mãos e com a outra segurar o frasco já aberto; desprezar a primeira porção da urina, e, sem parar de urinar, colher a porção mediana do jato urinário diretamente dentro do frasco; desprezar o restante da micção. Fechar o frasco e levar imediatamente ao laboratório.

Coleta de urina pelo uso de saco coletor

A obtenção de urina para cultura através do uso de saco coletor (Figura 1) é considerada uma técnica inadequada quando se necessita determinar o diagnóstico de ITU de maneira rápida e segura. Esta forma de coleta deve ser utilizada apenas para afastar o diagnóstico de infecção, considerando-se que um resultado negativo apresenta alto valor preditivo negativo, ou seja, mais serve para exclusão de uma

ITU do que propriamente para seu diagnóstico.^{28, 32} Toda urina que demonstrar resultado positivo deveria, obrigatoriamente, ser confirmada por aspiração suprapúbica ou cateterismo vesical.²⁸

Em recém-nascidos, crianças pequenas e em pacientes neuropatas, é por vezes difícil ou mesmo impossível uma coleta adequada do jato médio por meio de micção espontânea. Nesses casos, pode-se utilizar a técnica de coleta com saco coletor aderido à pele, porém com taxas muito elevadas de contaminação, o que se constitui na principal desvantagem do método. Pode-se usar, ainda, o cateterismo vesical e a punção suprapúbica.^{11, 30}

Após limpeza com sabão líquido, a remoção do sabão residual e secagem da pele, um saco coletor estéril é acoplado ao períneo das crianças para coleta de amostras de urina. Trabalhos anteriores demonstraram que a troca do coletor a cada 30 minutos não é necessária, pois não altera as taxas de contaminação da amostra de urina. No entanto, na evidência de contaminação fecal, ou quando o saco coletor se desprender do períneo este deve ser substituído, caso contrário não há necessidade da troca do saco coletor dentro da primeira hora.³³

Na atenção primária são usados vários métodos alternativos para obtenção de amostras de urina dos pacientes pediátricos, além da técnica do jato-médio e dos sacos coletores de urina. Esses métodos incluem gaze estéril, bolotas de algodão, toalhas sanitárias e absorventes higiênicos colocados nas fraldas, os quais, quase sempre, deixam um resultado falso, pois os agentes bactericidas incorporados nesses materiais tornam esses produtos impróprios para uso microbiológico, além de não serem estéreis.⁷

Muitas amostras de urina são colhidas no domicílio pelos próprios pais ou responsáveis de crianças sem controle esfínteriano. Para tanto, são instruídos a lavar suas mãos antes de cada procedimento e limpar bem o períneo antes da colocação do saco coletor dentro da fralda e inspecionar se houve micção a cada 10 minutos. Então, a urina deve ser aspirada com seringa estéril e enviada ao laboratório o mais rápido possível.³⁴

O método do jato-médio tende a ser menos contaminado do que o uso do saco coletor nas crianças cooperantes. Os sacos coletores de urina são considerados desconfortáveis para as crianças, pois, segundo algumas pesquisas, no momento de serem removidos podem deixar marcas vermelhas na pele das crianças, são onerosos e não biodegradáveis.^{7, 33} Os absorventes e fraldas higiênicas podem ser úteis para a coleta de urina destinada a urinálise se usados corretamente, pois são baratos e agradáveis de usar, mas não podem ser utilizados para cultura microbiológica.⁷

Em estudo realizado por Kennedy, Glynn e Dineen (2010), comparando os dados obtidos na pesquisa feita em Ireland (UK), com as recomendações do NICE *Guidelines*, observaram que 80% dos participantes do estudo indicaram o uso de sacos coletores de urina em crianças com até um ano. Por outro lado, sugeriram o uso do jato médio sempre que possível para coleta de urina infantil, pois, quando realizado de acordo com a padronização recomendada, sua eficácia chega a ser semelhante ao método de aspiração suprapúbica.¹⁶ Da mesma forma, em pesquisa com população pediátrica, realizada em Recife, onde se comparou a taxa de con-

taminação de amostras de urina com as técnicas de jato médio e bolsa coletora, se observou menor contaminação com a técnica do jato médio, sendo de 14,7% contra 26,6% com uso do saco coletor.³⁵



Figura 1 - modelo de saco coletor de urina pediátrico descartável

(Fonte: Disponível em; www.unimes.br.)

Descrição da técnica de coleta de urina usando saco coletor

Após antissepsia com água e sabão, enxaguar e enxugar bem a genitália infantil; instalar na região perineal o coletor plástico estéril específico para meninos ou para meninas; inspecionar a cada 15 minutos, com a criança em posição ortostática; realizar nova antissepsia trocando o coletor caso a criança não apresente diurese em 60 minutos, ou tenha evacuado no período.²⁸

Aspiração suprapúbica (asp)

A punção da urina a partir da bexiga por via suprapúbica é a técnica mais fidedigna para identificar bacteriúria. Essa técnica tem sido utilizada e a experiência acumulada indica que é simples e segura, e causa pequeno desconforto ao paciente. A morbidade associada ao procedimento é mínima, devendo sua execução, portanto, ser sempre encorajada.²⁸

Por outro lado, os autores do NHS-NICE (2007) relatam que embora o método de aspiração suprapúbica seja o padrão de referência para coleta de urina em crianças, este método é considerado invasivo, doloroso e desconfortável, além de depender de pessoal habilitado para sua execução, não sendo realizado nos serviços de saúde de atenção primária. No entanto, no ambiente hospitalar quando a criança está sob suspeita de infecção aguda e o início da terapia antimicrobiana é urgente, consideram apropriado utilizar um método invasivo, contudo mais seguro.^{7,36}

A coleta de urina a partir da punção suprapúbica pode ser preferível ou mesmo necessária em algumas situações clínicas. Em neonatos e crianças pequenas, por exemplo, é difícil obter prontamente amostras de urina segundo a

técnica usual de coleta. As crianças nem sempre urinam quando se espera e o uso de coletores para a obtenção de urina oferece taxas inaceitáveis de contaminação. Nesses casos a punção suprapúbica normalmente fornece material mais confiável para o exame.^{30, 32}

Embora tenha sido relatada hematúria macroscópica em 0,6% entre os 654 lactentes submetidos à técnica, segundo Chebabo *et al* (2007), outras complicações são consideradas extremamente raras. Esses autores ressaltam que o procedimento da ASP não deve ser realizado se o lactente tiver acabado de urinar, apresentar distensão abdominal, anormalidades mal definidas do trato urinário ou alterações hematológicas que possam resultar em hemorragia.²⁸

A técnica da ASP também pode ser utilizada em pacientes adultos imunossuprimidos, nos quais a introdução de micro-organismos através da uretra pela cateterização poderia iniciar novas infecções.³² É importante que se realize a antisepsia apropriada da pele antes da coleta. A bexiga também deve estar repleta antes da punção, o que pode ser obtido com a espera adequada, com o estímulo à ingestão de líquidos, com o aumento da hidratação parenteral, caso o paciente esteja recebendo soro intravenoso ou diuréticos.³⁰

A vantagem potencial da punção suprapúbica, mesmo em pacientes adultos que necessitam de drenagem da bexiga para coleta de urina inclui baixo risco de bacteriúria relacionada ao catéter, reduzido risco de trauma uretral e estenose, habilidade para micção espontânea sem a necessidade de recateterização e pouca interferência com a atividade sexual do paciente. Embora apresente vantagens sobre as outras técnicas, é pouco utilizada, exceto após cirurgias ginecológicas e urológicas realizadas em grandes centros. Seu uso é limitado também por ser técnica invasiva com riscos de injúria visceral.²²

Descrição da técnica de coleta de urina por aspiração suprapúbica

Deve ser realizada pelo menos uma hora após o paciente ter urinado. O paciente deve estar deitado, com os membros inferiores mantidos fletidos em “posição de sapo”. A área a ser puncionada deverá ser submetida a antisepsia com clorexidina alcoólica ou PVP-I. Uma agulha entre 3,5 e 4cm de comprimento e diâmetro de 40\8 ou 30\7 mm, acoplada a uma seringa deve ser usada para puncionar a parede abdominal e a bexiga, aproximadamente de 1.5 a 2.5cm acima da sínfise púbica, em crianças.³⁷ A agulha deve ser direcionada para o fundo da bexiga, em sentido caudal, quando então a aspiração deverá ser realizada. Deverá ser evitada a aspiração vigorosa, devido à possibilidade de se aspirar a mucosa vesical. O uso de ultrassonografia, para demonstrar se a bexiga está cheia, pode aumentar o sucesso da aspiração suprapúbica de 60% para 96% dos casos.^{28, 30, 37}

Normalmente o local da punção se dá na linha média, entre a sínfise púbica e a cicatriz umbilical, sobre a área palpável da bexiga (Figura 2). A anestesia local geralmente se faz ao nível da pele. Em crianças pequenas, a bexiga tende a ser

facilmente acessível devido à posição mais abdominal da mesma. Em adultos, o acesso pode requerer uma bexiga mais distendida e agulhas mais longas, como as de punção lombar. A coleta de 15 mL de urina para urinálise e 5 mL de urina para cultura é mais do que suficiente. Como a urina normalmente é estéril, o achado de qualquer contagem de micro-organismos obtidos a partir da coleta suprapúbica sugere fortemente a presença de ITU.³⁰

Os dados da literatura sugerem que o sucesso do aspirado suprapúbico para a obtenção de amostra de urina para cultura depende do volume urinário existente na bexiga; isto implica que o método pode ser falho quando aplicado na criança doente e febril, principalmente se estiver desidratada.³⁴

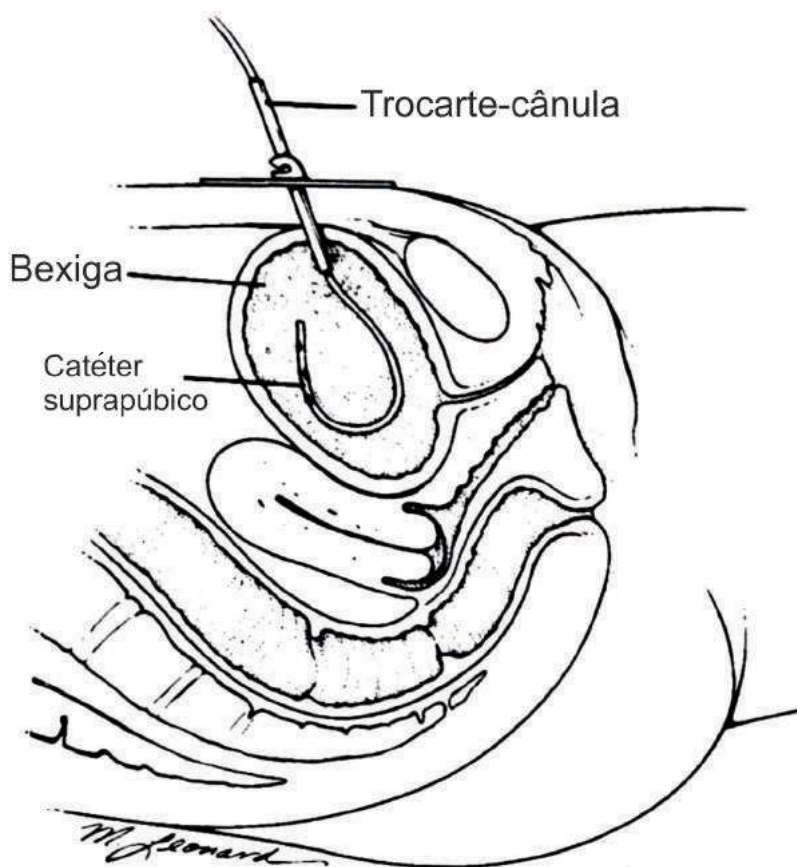


Figura 2 - Desenho esquemático demonstrando o local para realização do aspirado suprapúbico para coleta de urina

Em se tratando de crianças, um método ótimo para coleta de urina ainda é controverso. Em crianças febris, tanto a coleta por ASP como por cateterização são consideradas mais seguras quanto a minimização de resultados falso-positivos, embora sejam tecnicamente difíceis de serem realizadas, além de invasivas e dolorosas. Ainda assim apresentam melhores resultados tanto para a urinálise quanto para urocultura.²⁰ A acurácia diagnóstica de ITU é necessária para instituir a terapia apropriada para a criança infectada e para descartar a terapia desnecessária, além de prevenir a internação hospitalar para evolução de criança não infectada.¹⁰

Cateterização vesical

Quando a aspiração da urina por via suprapúbica não puder ser realizada, o cateterismo vesical é considerado um método apropriado, o qual deve ser realizado cuidadosamente, através de técnica asséptica para evitar traumatismos e infecção relacionada ao procedimento.²⁸ A cateterização é realizada pela inserção de um catéter através da uretra até a bexiga (Figura 3), sendo considerado o método com maior acurácia, embora tecnicamente invasivo e doloroso.¹¹

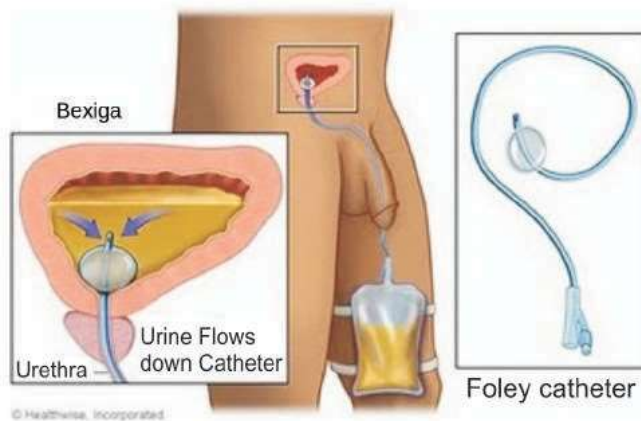


Figura 3 – Imagem representativa da cateterização vesical em paciente masculino utilizando catéter de Foley.

(Fonte: GRANDO; KIRCHHOF; MOSE, 2010)³⁹

O Dr. Frederick Foley introduziu a técnica do catéter com retração própria na década de 1920, o qual era utilizado com a drenagem aberta e ocorria bacteriúria em praticamente todos os pacientes no final de duas semanas de uso.⁴⁰ A cateterização vesical é uma técnica de rotina para amostras de urina desde 1958, utilizada com a finalidade de reduzir a contaminação do períneo, da pele ou áreas vaginais, com a microbiota fecal.^{27, 29}

Com o desenvolvimento de novas tecnologias e utilização de biomateriais mais modernos e com a introdução de catéteres com sistemas fechados, a ocorrência de bacteriúria pode ser retardada, mas ainda assim ocorre universalmente, após os primeiros 30 dias de uso do catéter.^{40, 41, 42}

Em pacientes com catéter de demora (Figura 4), o método de coleta recomendado para obter a amostra de urina para cultura é retirar o catéter em uso e colher a amostra através de um catéter recém-inserido. Em paciente sintomático, isto deve ser realizado imediatamente antes do início da terapia antimicrobiana.²²



Figura 4. – Conjunto de sonda ou catéter de demora, contendo um tubo e a bolsa coletora de urina em sistema fechado.

(Fonte: FERNANDES, 2005)³⁸

A coleta de urina por cateterismo uretral em pacientes do sexo masculino normalmente é considerada desnecessária, devido à menor probabilidade de contaminação da urina, obtida por uma coleta de jato médio, em micção espontânea. Por outro lado, em algumas pacientes do sexo feminino a coleta a partir do cateterismo vesical com técnica estéril é imprescindível, principalmente quando são portadoras de leucorreias de causas variadas.³⁰

É importante que se realize uma antisepsia adequada do introito vaginal e do meato uretral e que se despreze o primeiro jato de urina cateterizada, para minimizar a contaminação uretral. A coleta de urina com cateterismo vesical, todavia, apresenta riscos de introduzir novos agentes no trato urinário e de contaminar uma urina potencialmente estéril.^{11, 30} O uso de catéteres vesicais em pacientes internados

é elevado e está associado à incidência aumentada de ITU, pois estes dispositivos removem os mecanismos intrínsecos de defesa do hospedeiro, tais como a micção e o esvaziamento completo da bexiga.⁴³

A presença de um catéter inserido na uretra permite acesso contínuo de micro-organismos dentro da bexiga urinária. Vários estudos^{7, 43} enfatizam que o tempo de cateterização é o principal fator de risco para o desenvolvimento de bacteriúria relacionada à presença de sonda urinária. Dessa forma, a duração da cateterização depende do motivo indicador do seu uso tais como: a) cirurgia de rotina, de 1 a 7 dias; b) medida do fluido urinário nos serviços de terapia intensiva, 7 a 30 dias; c) retenção urinária aguda ou crônica, 1 a mais de 30 dias; d) incontinência urinária, mais de 30 dias.⁴⁰

Outros fatores de risco para o desenvolvimento de bacteriúria relacionada à presença de catéter urinário incluem: ser portador de *diabetes mellitus*; pertencer ao sexo feminino; colonização da bolsa coletora, do tubo do catéter e do segmento periuretral; danos na função renal; má qualidade dos cuidados do catéter, incluindo sua inserção fora do centro cirúrgico; e terapia com antimicrobianos. Além disso, a cateterização pode ser um fator de risco também para sepse, principalmente em neonatos.^{11, 40, 44}

Depois de uma cateterização simples, a bacteriúria se desenvolve em 1 a 5% dos casos. O risco de infecção é aumentado em pacientes femininas, pacientes com retenção urinária na cateterização pré-parto e no homem com obstrução prostática, no *diabetes mellitus* e em pacientes idosos e debilitados. Dessa forma, as bactérias podem penetrar no trato urinário em pacientes cateterizados no momento da inserção do catéter. Isto é especialmente comum em pacientes que possuem higienização inadequada do períneo e da uretra distal, especialmente em pacientes com cateterização intermitente de alívio, onde somente uma limpeza limitada é feita no ponto de entrada do catéter antes da introdução do mesmo. Embora seja uma técnica comum, mais de 20% dos indivíduos podem ser colonizados imediatamente após a inserção do catéter.⁴⁰

Em homens, a rota predominante de invasão é o espaço intraluminal, através da luz interna do sistema de drenagem, sugerindo uma fonte exógena. Isto demonstra que a ascensão de bactérias intraluminalmente é mais rápida e ocorre de 32 a 48 horas após a inserção. Na rota extraluminal, ao longo do espaço virtual entre a superfície externa do catéter e a mucosa uretral, a invasão microbiana acontece em média, após 72 a 168 horas.^{41, 42, 43, 45}

A torneira da bolsa coletora é comumente contaminada durante o uso em cerca de 15 a 20% dos casos, e sua abertura regular para drenagem da urina também permite o acesso de bactérias à bolsa coletora e desta migram para o tubo de drenagem, o catéter e certamente para a bexiga. A disseminação retrógrada da bolsa para a bexiga ocorre em 24 a 48 horas. Uma vez na bexiga, pequeno número de micro-organismos (100 UFC/mL) aumenta rapidamente para níveis maiores que 100.000 UFC/mL em menos de 24 horas. Tem sido demonstrado que desconectar o catéter para a drenagem também contamina o sistema.^{40, 44} Por essas razões, as amostras de

urina para cultura jamais devem ser obtidas da bolsa coletora, uma vez que a urina acumulada possibilita o desenvolvimento de micro-organismos contaminantes.²²

O catéter vesical pode inibir certos mecanismos de defesa que normalmente previnem ou minimizam as interações das células epiteliais com as bactérias, isto é, com a formação da camada de glicosaminoglicano dos biofilmes.^{40, 45} O desenvolvimento de biofilme entre o catéter e a mucosa uretral também permite um ambiente favorável para a invasão e proliferação bacteriana pela rota extraluminal. A maioria das mulheres apresenta bacteriúria em torno de 70-80%, e os homens apresentam em média de 20 a 30%. Na prática urológica o biofilme pode ser demonstrado nos catéteres, nas bolsas de drenagem e outros corpos estranhos e próteses.⁴⁰

Estudos envolvendo pacientes cateterizados mostraram que quando os catéteres foram inseridos na sala de cirurgia apresentaram menor incidência de bacteriúria precoce do que aqueles cujo procedimento foi realizado nas enfermarias, ou na ala de emergência. Tais dados sugerem que aumentar as barreiras de precauções no momento de inserção do catéter pode reduzir os riscos de bacteriúria precoce.⁴⁶

Stamm e Coutinho (1999) determinando a incidência e fatores de risco relacionados a ITU em pacientes adultos submetidos a sondagem vesical de demora observaram a incidência de ITU em 11% dos casos, os quais foram cateterizados tanto em centro cirúrgico, quanto em UTI e emergência.^{46, 47} Por outro lado, Souza Neto *et al* (2008) avaliando o momento do início da bacteriúria relacionada a cateterização vesical de demora pelo sistema fechado, em pacientes adultos internados em UTI, observaram que nenhum paciente apresentou bacteriúria e/ou cultura positiva durante os 3,5 dias de permanência do catéter e comentaram que todos os pacientes foram sondados no centro cirúrgico, em ambiente estéril e com técnica asséptica, o que pode ter influenciado nos resultados obtidos.⁴³

Pacientes com sonda urinária de qualquer tipo apresentam um alto risco de desenvolver infecção relacionada ao catéter, ocasionada principalmente, por espécies de *Pseudomonas*. A existência de um protocolo, por escrito, quanto aos cuidados com a utilização do catéter, está associada a uma baixa incidência de ITU relacionada a esse dispositivo.⁴⁸

Só deve ser realizada a cateterização vesical quando realmente necessário, e retirada o mais breve possível. A sonda não deve ser utilizada com o objetivo de criar comodidade para quem cuida do paciente. Realizar sempre a lavagem das mãos antes e após a manipulação do sistema; usar técnica asséptica de inserção do catéter; usar luvas estéreis, gazes estéreis e geleia lubrificante de uso único; Usar catéter com o menor calibre possível; fixar o catéter, evitando movimentos que tracionem a uretra.^{22, 44}

Segundo Pedrosa e Couto (2003), o sistema fechado deve ser mantido estéril sem desconectar a sonda do sistema coletor; na ocorrência de contaminação deve-se trocar todo o sistema; durante a coleta de urina, evitar a disjunção; manter o fluxo urinário livre, evitando dobrar o tubo do catéter e esvaziar sempre a bolsa; trocar catéteres com problemas de funcionamento e manter a bolsa coletora em nível inferior à bexiga; limpeza regular do meato urinário com antisséptico não é

recomendada, assim como não se deve trocar a sonda urinária com intervalos regulares. Pacientes sondados com infecção urinária devem ser alojados em quarto separado de paciente sondado sem infecção.⁴⁵

Há muitas técnicas diferentes em uso para a cateterização intermitente, tais como as técnicas estéreis ou as técnicas limpas. A principal diferença entre ambas as técnicas é que na primeira se deve utilizar luvas estéreis na inserção e manipulação do catéter e luvas de procedimentos na técnica limpa. Podem ser usados catéters estéreis, do tipo padrão ou hidrofílicos de múltiplo uso, o qual é trocado diariamente ou semanalmente e ainda podem ser utilizados os *condoms* para coleta de urina de pacientes masculinos.²²

Por ser um catéter externo, o *condom* é uma alternativa efetiva e fácil para manipulação em homens. Estudos sugerem uma baixa incidência de bacteriúria relacionada ao dispositivo.⁴⁹ Por outro lado, pesquisas demonstram que a frequente manipulação do *condom* aumenta o risco de bacteriúria, embora os pacientes relatem ser mais confortável e menos doloroso do que o catéter inserido na uretra.²²

Em pacientes com cateterização de pequena duração, é recomendado que amostras sejam obtidas por coleta da urina direto do dispositivo do catéter (Figura 5) usando técnica asséptica ou, se o catéter não possuir o local apropriado para a coleta, puncionar diretamente no tubo coletor com agulha e seringa estéreis, após higienização.²²



Figura 5 – Coleta de urina direto do dispositivo do catéter.

(Fonte: Souza Neto *et al.*, 2008)⁴³

REFERÊNCIAS

1. Thomas, C. E.; Sexton, W.; Benson, K.; Sutphen, R.; Koomen, J. Urine collection and processing for protein biomarker discovery and quantification. *Câncer Epidemiol Biomarkers Prev*, v. 19, n.4, p. 953-959, 2010.
2. Echeverry, G.; Hortin, G. L.; Rai, A. J. Introduction to urinalysis: historical perspectives and clinical application. *Method Mol Biol.*, v. 6, n. 41, p.1 – 12, 2010.
3. Pahl, M. M. C.; Ejzenberg, B.; Ragazzi, S. L. B.; Machado, B. M.; Pedra, C. A.; Baldacci, E.; Okay, Y. Tratamento ambulatorial de criança com infecção urinária complicada. *J Pediatr*, v. 72, p. 303-310, 1996.
4. Lewi, D.S.; Correa, L.; Wey, S. B. Infecções Do Trato Urinário. In: Salomão, R.; Pignatari, A. C. C. Guia de medicina ambulatorial e hospitalar de Infectologia. Cap. 6, Barueri, São Paulo: Manole, 2004, p.85-95.
5. Zhou, H.; Yuen, P.S.T.; Pisitkun, T.; Gonzales, P.A.; Yasuda, H.; Dear, J. W.; Gross, P.; Knepper, M.A.; Star, R.A. Collection, storage, preservation, and normalization of human urinary exosomes for biomarker discovery. *Kidney Int*, v.69, n. 8, p. 1471-1476, 2006.
6. Linscott, A. S. Specimen collection, transport, and acceptability. In: Isenberg, H. D. (ed). *Clinical Microbiology Procedures Handbook*, 2th. ed. ASM Press: Washington, 2007, p. 2.1.30.
7. Nhs-Nice Urinary tract infection in children – diagnosis, treatment and long-term management. Clinical Guideline of National Collaborating Centre for Women’s and Children’s Health and the National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE), 2007.
8. CDC – The National Healthcare Safety Network Manual (NHSN). Patient Safety Component Protocol. Centers for Disease Control and Prevention, CDC, 2008.
9. Sangrador, C. O.; Valdivieso, M. F. B. Métodos para la recogida de muestras de orina para urocultivo y perfil urinário. *Anal Pediatr.* v.67, n. 05, p. 442-449, 2007.
10. Vaillancourt, S.; Mcguillivray, D.; Zhang, X.; Kramer, M. S.. To clean or not to clean: Effect on contamination rates in midstream urine collections in toilet-trained children. *Pediatrics*, v. 119, n. 6, p. 1288-1293, 2007.
11. Karacan, C.; Erkek, N.; Senel, S.; Gunduz, S. A.; Catli, G.; Tavil, B. Evaluation of urine collection methods for the diagnosis of urinary tract infection in children. *Med Prin Pract.*, v. 19, p. 188-191, 2010.
12. Lynster, L.C.T.; Nayar, D.M.; Pedler, S.J.; Coulthard, M.G. Home collection of urine for culture from infants by three methods: survey of parents’ preferences and bacterial contamination rates. *Brit Med J.*, v.320, p. 1312-1313, 2000.

13. Withing, P.; Westwood, M.; Watt, I.; Cooper, J.; Kleijnen, J. Rapid tests and urine sampling techniques for the diagnosis of urinary tract infection (UTI) in children under five years: a systematic review. *BMC Ped.*, v.5, p.1-13, 2005.
14. Harsem, M.; Wensing, M.; Brspenning, J.C.C.; Wolters, R.J.; Wouden, J.C.; Grol, R.P.T.M. Management of children's urinary tract infections in Dutch family practice: a cohort study. *BMC Fam Pract.*, v. 8, p.1-7, 2007.
15. Etoubleau, C.; Reveret, M.; Brouet, D.; Badier, I.; Brosset, P.; Fourcade, L.; Garnier, F.; Blanc, P.; Gugons, V. Moving from bag to catheter for urine collection in non-toilet-trained children suspected of having urinary tract infection: A paired comparison of urine cultures. *J Pediatr.*, v. 154, p. 803-806, 2009.
16. Kennedy, K. M.; Glynn, L. G.; Dineen, B. A survey of the management of urinary tract infection in children in primary care and comparison with the NICE guidelines. *BMC Fam Pract.*, v.26, p. 11-16, 2010.
17. Lee, E.J.; Arbuckle, T. E. Urine-sampling methods for environmental chemicals in infants and young children. *J Exp Scien Environm Epidemiol*, v. 19, p. 625-633, 2009.
18. Bolte, R. G. Urinary Frequency In Childhood. In: Fleisher, G. R.; Ludvig, S.; Henretig, F. M.; Ruddy, R. M.; Silverman, B. K. (Ed.). *Textbook of Pediatric Emergency Medicine*. 5th ed. Lippincott Williams & Williams: Philadelphia, PA., 2005, p. 663-669-8.
19. Barr, D. B.; Wilder, L. C.; Caudil, S. P.; Gonzalez, A. J.; Needham, L. L.; Pirkle, J. L. Urinary creatinine concentrations in the U.S. populations: implications for urinary biologic monitoring measurements. *Environm Health Perspect.*, v. 113, p. 192-200, 2005
20. Schroeder, A. R.; Newman, T. B.; Wasserman, R. C.; Finch, S. A.; Pantell, R. H. Choice of urine collection methods for the diagnosis of urinary tract infection in young, febrile infants. *Arch Pediatr Adolesc Med*, v. 159, . 915-922, 2005.
21. Abrahamian, F. M.; Moran, G. J.; Talan, D. A. Urinary tract infections in the emergency department. *Infect Dis Clin N Am.*, v. 22, p. 73-87, 2008.
22. Hooton, T. M.; Bradley, S. F.; Cardenas, D. D.; Colgan, C.; Geerlings, S. E.; Rice, J. C.; Saint, S.; Schaeffer, A. J.; Tambayh, P. A. ; Tenke, P.; Nicolle, L.E. Diagnosis, prevention, and treatment of catheter-associated urinary tract infection in adults: 2009 International Clinical Practice Guidelines from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*, v. 50, n.1, p. 625-663, 2010.
23. Richards, C. L. Urinary tract infections in the frail elderly: Issues for diagnosis, treatment and prevention. *Intern Urol Nephrol*, v. 36, p. 457-463, 2004.
24. Nicolle, L. E. Urinary tract infections in the elderly. *Clin Geriatr Med.*, v. 25, p. 423-436, 2009.
25. Little, P.; Moore, M. V.; Turner, S.; Rumsby, K.; Warner, G.; Lowes, A.; Smith, H.; Hawke, C.; Leydon, G.; Arscott, A.; Turner, D.; Mullee, M. Effectiveness of five different approaches in management of urinary tract infection: randomised controlled trial. *British Med J.*, *BMJ* 2010;340:c199,doi10.1136, 2010.

26. Simerville, J. A.; Maxted, W. C.; Pahira, J. J. Urinalysis: A comprehensive review. *Am Fam Physician*, v. 71, n. 6, p.1153-1162, 2005.
27. Garcia, V.R.C.; Gómez, C.N.; Balaguer, M. D.T.;Morquecho, N.R.; Bailo, M. T.R.; Sandtner, A.S. Es importante la técnica de recogida de la orina para evitar la contaminación de lãs muestras? *Aten Primaria.*, v. 33, p. 140- 144, 2004.
28. Chebabo, A.; Moreira, B. M.; Marangoni, D. V.; Martins, I.; Carneiro, I. C. R. S.; Leao, R.; Santos, R. M. R.; Souza, R. C.; Baltieri, S. R.Trato urinário – Critérios nacionais de infecções relacionadas à assistência à saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), 2007.
29. Unlu, H.; Sardan, Y.Ç.; Ulker, S. Comparison of sampling methods for urine-cultures. *J Nursing Scholarship*, V. 39, n. 4, p. 325-329, 2007.
30. Carvalhal, G. F.; Rocha, L. C. A.; Monti, P. R. Urocultura e exame comum de urina: considerações sobre sua coleta e interpretação. *Rev. AMRIGS*, v. 50, n. 1, p. 59-62, 2006.
31. Avilés, A. G. P.; Hernández, R. L.; Avila, J.L.; Mendonza, R.D.; Zaragoza, C.O. Infección de vias urinarias por espécies de Candida. *Aten Primaria*, v. 38, p. 147-153, 2006.
32. Naber K.G.; Bergman, B.; Bishop, M.C.; Bjerklund- Johansen, T. E.; Botto, H.; Lobel, B. Eau Guidelines for the management of urinary and male genital tract infections. Urinary Tract Infection (UTI). Working Group of the Health Care Office (HCO) of the European Association of Urology (EAU). *Eur Urol*, v. 40, p. 576 -588, 2001
33. McGillivray, D.; Mok, E.; Mulrooney, E.; Kramer, M. S. A head- to-head comparison: “Clean-void! Bag *versus* catheter urinalysis in the diagnosis of urinary tract infection in young children. *J Pediatr*, v.147 , p.451-456, 2005.
34. Liaw, L.C. T.; Nayar, D. M.; Pedler, S. J.; Coulthard, M. G. Home collection of urine for culture from infants by three methods: survey of parents’ preferences and bacterial contamination rates. *British Med J*, v.320, p. 1312-1313, 2000.
35. Alam, M. T.; Coulter, J. B.; Pacheco, J.; Correia, J. B.; Ribeiro, M.G.; Coelho, M. F.; Bunn, J. E. Comparison of urine contamination rates using three different methods of collection: clean-catch, cotton wool pad and urine bag. *Ann Trop Paediatr.*, v.25, n. 1, p. 29-34, 2005
- 36 POLLACK, C. V.; POLLACK, E. S.; ANDREW, M. E. Suprapubic bladder aspiration *versus* urethral catheterization in ill infants: success, efficiency, and complication rates. *Ann Emerg Med.*, v. 23, p.225-230, 1994.
37. Grisi,S.J.F.E.; Escobar, A.M.U.. *Prática Pediátrica*. 2ª. ED., Atheneu: São Paulo, 2000.
38. Fernandes, L.R.A. *Procedimentos básicos em medicina/ sondagens*, 2005. Disponível em www.unimes.br.
39. Grando, S.R.; Kirrchhof, K.; Mose, A. P. *Diagnóstico de enfermagem baseado em procedimentos de Unidade de Terapia Intensiva*. 2010. Disponível em www.unimes.br.

40. Tenke, P. ; Kovacs, B.; Johansen, T. E. B.; Matsumoto, T.; Tambyah, P. A.; Naber, K. G. European and Asian guidelines on management and prevention of catheter-associated urinary tract infections. *Int J Antimicrob Agents*, v.31, p. S68-S78, 2008.
41. Warren, J. W. Catheter-associated urinary tract infections. *Int J Antimicrob Agents*, v.17, p. 299-303, 2001.
42. Martinez, J.A.; Mensa, J. Infecção urinária associada a cateteres urinários em la comunid. *Enferm Infecc Microbiol Clin.*, v. 23 (Supl.), p. 57-66, 2005.
43. Souza Neto, J.L.; Vilela, F.; Kalil, A; Silva, M.N.; Lima, Ar.; Maciel, L.C. Infecção do trato urinário relacionada com a utilização do catéter vesical de demora: resultados da bacteriúria e da microbiota estudadas. *Rev Col Bras Cir.*, v. 35, p. 28-33, 2008.
- 44 Maki, D. G.; Tambyah, P. A. Engineering out the risk for infection with urinary catheters. *Emerg Infect Dis*, v. 7, p. 342-347, 2001.
45. Pedrosa; T. M. G.; Couto, R. C. Prevenção da Infecção do Trato Urinário. In: Couto, R.C.; Pedrosa, T.M.G.; Nogueira, J. M. Infecção Hospitalar e outras complicações não infecciosas da doença – Epidemiologia, Controle e Tratamento. Cap. 25, 3ª.ed. MEDSI: Rio de Janeiro, 2003, p. 513 – 518
46. Tambyah, P. A.; Halvorson, K. T.; Maki, D. G. A prospective study of pathogenesis of catheter-associated urinary tract infection. *Mayo Clin Pro.*, v. 74, p. 131-136, 1999.
47. Stamm, A.M.N.F.; Coutinho, M.S.S.A. Infecção do trato urinário relacionada ao catéter vesical de demora: incidência e fatores de risco. *Rev Ass Med Brasil.*, v. 45, p. 27-33, 1999.
48. Grabe, M; Bishop, M.C.; Bjerklund-Johansen, T.E.; Botto, H.; Çek, M.; Lobel,B.; Naber, K.G.; Palou, J.; Tenke, P.; Wagenlehner, F. Complicated urinary tract infections due to urological disorders. In.: *Guidelines on Urological Infections*. The Netherlands: European Association of Urology (EAU), p.60-65, 2008.
49. Saint, S.; Kaufman, S. R.; Roger, M. A. Condom *versus* indwelling urinary catheters: a randomized trial. *J Am Geriatr Soc*, v. 54, p. 1055-1061, 2005.

25. TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS DE URINA DESTINADAS A CULTURA

Eduardo Monguilhott Dalmarco

Transporte

A maneira mais adequada de se coletar urina para cultura de forma não invasiva, é a coleta do jato médio urinário, metodologia utilizada pela grande maioria dos laboratórios clínicos no mundo inteiro para este tipo de material.^{1,2} Analisando a metodologia de uma forma crítica, verifica-se que apresenta um bom valor preditivo negativo (VPN), ou seja, amostras negativas para crescimento bacteriano realmente são isentas de micro-organismos patogênicos. Já seu valor preditivo positivo (VPP) apresenta níveis inferiores, ou seja, amostras positivas não necessariamente representam infecção urinária. Três dos principais motivos que se pode citar são: 1) coleta inadequada do jato médio realizada pelo paciente; 2) transporte inadequado até o momento da sementeira e finalmente; 3) armazenamento inadequado da amostra antes da sementeira do material nos meios adequados.

A urina é um material biológico rico em substâncias e nutrientes que permitem e auxiliam o crescimento bacteriano.³ Sendo assim, no momento da coleta da amostra, o laboratório clínico além de fornecer um recipiente estéril e devidamente identificado ao paciente, deve também entregar-lhe em mãos instruções por escrito de fácil entendimento, e também instruí-lo verbalmente para que proceda a coleta de forma que a urina contenha o mínimo possível de micro-organismos colonizantes da uretra distal.

Para a coleta da urina destinada a urocultura, é indicada a realização dentro das dependências do laboratório clínico; embora esta recomendação não seja obrigatória, o cuidado é altamente indicado devido às altíssimas taxas de contaminação por acondicionamento e transporte inadequados das amostras colhidas fora do ambiente laboratorial.^{4,5} Caso o laboratório clínico opte por aceitar que amostras para cultura sejam colhidas fora do laboratório, alguns cuidados devem ser tomados para diminuir os problemas enfrentados com este tipo de amostra. Em primeiro lugar, o paciente deve ser informado para que o transporte da urina *in natura* até o laboratório não ultrapasse 30 minutos após a coleta da amostra.³

Segundo padronização preconizada pelo “*Cumitech*” (Cumulative techniques and procedures in Clinical Microbiology)⁶, e por estudos realizados também no Brasil, amostras de urina destinadas a cultura podem permanecer por até 2 horas à temperatura ambiente antes da sementeira, sem que hajam modificações significativas nas contagens bacterianas.^{6,7}

No caso do paciente coletar a amostra em casa, durante o transporte até o laboratório a amostra deve ser acondicionada em caixa termoestável para diminuir

oscilações na temperatura, o que pode favorecer o crescimento de bactérias possivelmente presentes. Se isto não for possível, deverá o paciente proteger a amostra da incidência direta de luz solar e não armazená-la em ambientes acima de 25°C durante o período de transporte.

Nos casos em que a amostra de urina seja coletada em posto de coleta laboratorial, longe do local onde será processada, deverá o posto possuir refrigerador com temperatura controlada para armazenar as amostras até serem enviadas ao laboratório. No momento do transporte, as amostras deverão então ser acondicionadas em recipiente apropriado, hermeticamente fechado e com temperatura controlada abaixo de 25°C.^{8,49}

Não se deve esquecer que outras formas de coleta de urina para cultura também são aceitáveis, como: punção de catéter urinário, punção suprapúbica e saco coletor em crianças. Tais amostras também devem ser transportadas com o mesmo cuidado que as amostras colhidas através da técnica do jato médio. No caso dos sacos coletores é indicado acondicioná-los em frascos destinados a cultura antes de colocá-los no recipiente de transporte, devido à possibilidade de vazamento da amostra.

Outra forma de transporte que vem sendo bastante utilizada nos últimos anos é a metodologia do laminocultivo. O laminocultivo é um sistema baseado em lâmina de plástico com duas faces contendo em cada uma delas um meio de cultura para semeadura de amostras de urina (Figura 1). Na maioria das vezes, o produto é formado por uma lâmina de plástico com uma face contendo ágar CLED e na outra face o ágar MacConkey. Neste sistema a semeadura é realizada antes do transporte ao laboratório, o que diminuiu muito a chance de vazamento e contaminações das amostras durante o transporte. A grande desvantagem do método é a não quantificação de forma exata do número de UFC/mL presentes na amostra, uma vez que os resultados são apenas comparativos aos padrões de crescimento.



Figura 1. Foto representativa de procedimento de laminocultivo.

Armazenamento

A maneira mais adequada para não se comprometer o exame de cultura de urina com possíveis contaminações é a sementeira no momento do recebimento da amostra pelo laboratório. Como este procedimento na grande maioria das vezes é impraticável, algumas considerações são importantes para que o crescimento de micro-organismos contaminantes presentes na amostra seja minimizado.

Em primeiro lugar, no momento do recebimento da amostra o laboratório deverá acondicioná-la em refrigerador (2 - 8°C) até que seja realizada a sementeira. O armazenamento não deverá ultrapassar 24 horas, sendo indicada a sementeira antes deste período.¹⁰

Quando a refrigeração imediata não for possível, a urina poderá ser coletada em recipiente estéril com a presença de preservante (ex: ácido bórico na concentração final de 1,0%) e conservada à temperatura ambiente. Desta forma a amostra poderá ser processada até 24 horas após a coleta, embora alguns autores defendam a possibilidade de acondicioná-la assim por mais tempo antes que seja processada a sementeira.^{11, 12} No caso do uso de preservante, deve-se prestar particular atenção à proporção entre o volume da urina e do preservante devido à possibilidade de ocorrer resultados falsos negativos pela diluição da amostra quando o volume de urina é muito pequeno.^{6, 13} Um fator importante que desencoraja a utilização do ácido bórico como preservante é a sua atividade antibacteriana contra alguns gêneros bacterianos causadores de infecções urinárias, como *Enterococcus* spp.⁹

Vários estudos têm demonstrado que amostras de urina sem conservantes destinadas a cultura não podem ser armazenadas à temperatura ambiente (25°C) por mais de 2 horas antes da sementeira em meios específicos.^{7,14,16} Em um destes estudos, foram utilizadas 100 urinas com menos de um micro-organismo, por campo de imersão⁸, as urinas “não infectadas” selecionadas por esta metodologia foram então semeadas em ágar sangue de carneiro com alça calibrada de 10 microlitros nos seguintes intervalos de tempo: 0hs, 2hs, 4hs e 6hs das suas respectivas coletas. Durante o período do experimento as amostras foram acondicionadas à temperatura ambiente que variou de 22°. à 25°.C. Das 100 amostras analisadas, 18 não apresentaram nenhum crescimento bacteriano nos quatro tempos analisados enquanto a maioria absoluta 82, apresentou crescimento bacteriano significativo. Além disso, foi concluído que o tempo máximo de demora antes de uma amostra de urina ser semeada, sem que a mesma apresente distorções significativas quanto à presença de bactérias em comparação a amostra recém-colhida é de no máximo 2 horas à temperatura ambiente⁷ (Figuras 2, 3, 4 e 5).

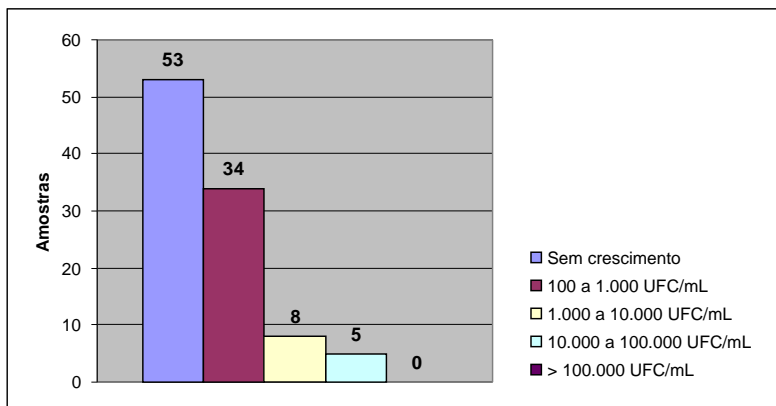


Figura 2 – Avaliação das culturas de urina, semeadas no tempo zero (0) horas.

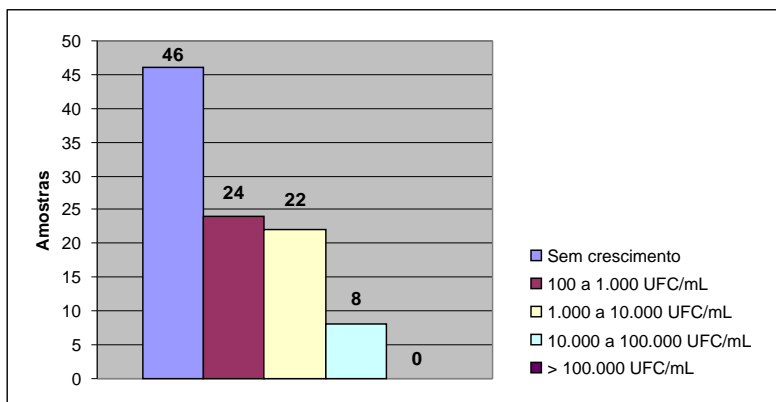


Figura 3 – Avaliação das culturas de urina, semeadas no tempo duas (2) horas.

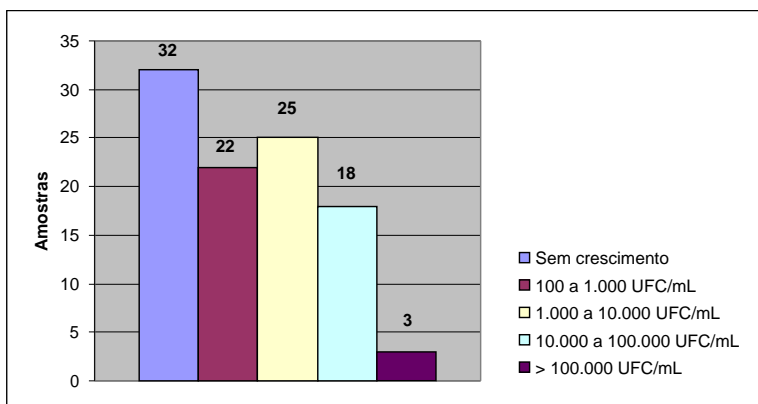


Figura 4 – Avaliação das culturas de urina, semeadas no tempo quatro (4) horas.

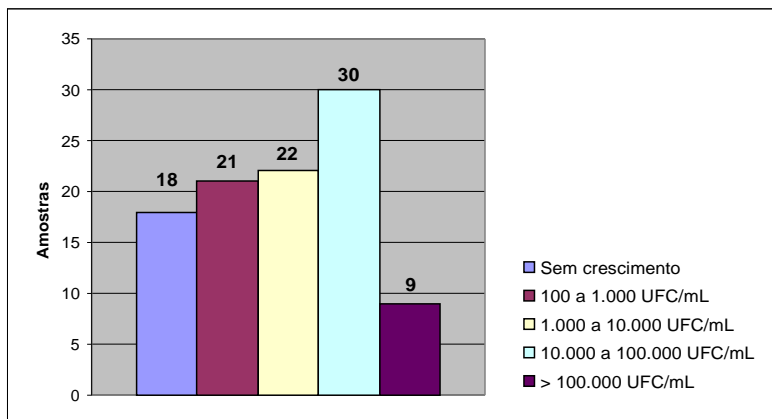


Figura 5 – Avaliação das culturas de urina, semeadas no tempo seis (6) horas.

Outro estudo que reforça a afirmação e que, além disso, desencoraja a utilização de conservantes urinários foi descrito por Gillespie e colaboradores (1999), que utilizou 792 urinas colhidas através da técnica do jato médio, e concluiu que mesmo utilizando-se conservante (ácido bórico) as urinas apresentaram diferenças significativas em suas contagens bacterianas, após armazenamento a temperatura ambiente (22° C) por 12 horas.¹⁵

Além disso, há também o fator econômico que reforça esta recomendação, pois haverá diminuição no número de recoletas de amostras, já que o crescimento bacteriano significativo sem a presença de leucócitos pode levar a suspeita de bacteriúria assintomática, situação onde a coleta de pelo menos mais uma amostra para confirmação do resultado é necessária. E, por fim, deve-se lembrar que a coleta através da metodologia do jato médio carrega micro-organismos naturalmente presentes no terço distal da uretra; o armazenamento da amostra por mais de 2 horas à temperatura ambiente favorece o crescimento dos contaminantes, e poderá produzir contagens de colônias muito diferentes do que realmente a amostra possuía no momento da coleta, comprometendo todo o procedimento de avaliação e liberação do laudo da urocultura.

REFERÊNCIAS

1. Lifshitz, E., and L. Kramer. 2000. Outpatient urine culture: does collection technique matter ? *Arch. Int. Med.* 160: 2537-2540.
2. Pappas, P. G. 1991. Laboratory in the diagnosis and management of urinary tract infections. *Med. Clin. N. Am.* 75:313-325.
3. Miller, J. M., Holmes, H. T., Krisher, K. General principles of specimen collection and handling. Murray, P.R (Org.). *Manual of Clinical Microbiology*, 8^a ed. Washington: ASM press , 2003. p.55-66.
4. Sangrador, C. O., Valdivieso, M.F.B. Sample collection methods for urine culture and analysis. *Ann Pediatr.* 2007; 67(5): 442-9.
5. Alam, M.T., Coulter, J.B., Pacheco, J., Correia, J.B., Ribeiro, M.G., Coelho, M.F., Bunn, J.E. Comparison of urine contamination rates using three different methods of collection: clean-catch, cotton wool pad and urine bag. *Ann Trop Paediatr.* 2005; 25(1):29-34.
6. McCarter, Y.S., E.M. Berd, G.S. Hall, and M. Zervos. 2009. *Cumitech 2C, Laboratory Diagnosis of Urinary Tract Infections.* Coordinating ed., S.E. Sharp. ASM press, Washington, DC.
7. Dalmarco, E.M., Albini, C.A. Efeito do armazenamento à temperatura ambiente (25° C) de urinas destinadas à cultura. Laes e Haes, São Paulo, v.30, n. 178, p. 122-132, 2009.
8. Pilonetto, M., Pilonetto, D.V. *Manual de procedimentos laboratoriais em microbiologia.* Pinhais, PR: Microscience, 1998, 150p.
9. Oplustil, C.P., Zoccoli, C.M., Tobouti, N.R., Sinto, S. I. *Procedimentos básicos em microbiologia clínica.* São Paulo,SP: Sarvier, 2004, 340p.
10. Forbes, B.A., Sahn, D. F., Weissfeld, A.S. Infections of the urinary tract. In: Forbes, B.A. (Org.). *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*, 12a. ed. St.Louis: Elsevier, 2007, p. 842-855.
11. Eriksson, I.,R. Lindman, and M. Thore. 2002. Microbiological evaluation of a commercial transport system for urine samples. *Scand. J. Clin. Lab. Investig.* 62: 325-335.
12. Goodman, L.J., R.L. Kaplan, W.Landau, E. Jung, J. E. Barrett, S. Levin, and A.A. Harris. 1985. Validity of urinary catheter specimen for diagnosis of urinary tract infection in the elderly. *Arch. Int. Med.* 145: 18
13. Nickander, K.K., C. J. Shanholtzer, and L. R. Peterson. 1982. Urine culture transport tubes: effect of sample volume on bacterial toxicity of the preservative. *J. Clin. Microbiol.* 15: 593-595.
14. Hoppin, J.A., Ulmer, R., Calafat, A.M., Barr, D.B., Baker, S.V., Meltzer, H.M., Rønningen, K.S. Impact of urine preservation methods and duration of storage on measured levels of environmental contaminants. *J Exp Sci Environm Epidemiol.* 2006; 16(1):39-48.

15. Gillespie T, Fewster J, Masterton RG. The effect of specimen processing delay on borate urine preservation. *J Clin Pathol.* 1999; 52(2): 95-8.
16. Wheldon D.B, Slack M. Multiplication of contaminant bacteria in urine and interpretation of delayed culture. *J Clin Pathol.* 1977; 30: 615-19.

26. EXAME FÍSICO-QUÍMICO DA URINA

Carmen Antonia Sanches Ito

Introdução

O exame parcial de urina, também conhecido como EAS, EQU, exame de urina de rotina, urina tipo I, sumário de urina, entre outros, é um dos testes mais solicitados na prática clínica. Frequentemente é utilizado como método indireto no diagnóstico de infecção do trato urinário (ITU) por apresentar parâmetros que verificam a presença de bactérias e a resposta inflamatória do hospedeiro. Possibilita também detecção ou suspeita de outras doenças, renais, hepáticas e sistêmicas, oferecendo as vantagens de simplicidade e rapidez na coleta da amostra e em sua execução. Tais características têm feito com que a urinálise seja amplamente requisitada e prontamente efetuada nos diversos serviços de análises clínicas, o que às vezes pode levar à falta de um olhar mais criterioso por parte de quem solicita e/ou realiza o exame.

No intuito de oferecer resultados mais efetivos no que tange às ITUs, tema deste livro, será revisado o que a literatura científica tem publicado a respeito dos parâmetros de interesse neste campo e na sequência será feita uma correlação entre os diversos parâmetros, partindo sempre da prática da realização do exame parcial de urina, o que implica condições nem sempre ideais de coleta mesmo a despeito de toda orientação que se prega na fase pré-analítica do exame.

Propriedades físicas

Cor. Aspecto. Odor

A cor típica da urina é devida principalmente ao pigmento urocromo e varia do amarelo claro até o amarelo escuro, dependendo do grau de hidratação do indivíduo e da concentração da urina (Figura 1). Pequenas quantidades de urobilina e uroeritrina contribuem em menor escala para a coloração da urina fresca. Cores anormais como vermelha, laranja, âmbar, azul, verde, rosa, púrpura, preta, entre outras, ocorrem devido à presença de medicamentos, alimentos, produtos metabólicos, hemácias e infecção. Em relação à ITU não existe uma cor característica, no entanto a urina pode adquirir cor vermelha ou castanha quando acompanhada de hematúria. Além disso, é relatado na literatura coloração verde/azul devido a infecção por *Pseudomonas aeruginosa*^{1,2} e coloração púrpura provocada por *Klebsiella* spp. e *Providencia rettgeri*².



Figura 1. Variação normal da cor da urina

A urina normal é límpida. O aspecto macroscópico muda consideravelmente para turvo em quadros de ITU devido à presença de leucócitos, bactérias e hemácias (figura 2). No entanto, esse parâmetro é inespecífico, pois a turbidez pode ocorrer pela presença comum de outros elementos como cristais variados, muco, leucócitos, hemácias, espermatozoides, fluido prostático, linfa, lipídios, talco, creme vaginal, contaminação fecal, contaminação microbiana e na presença de células epiteliais do trato urogenital, em especial as células escamosas superficiais do trato genital feminino^{2,3}.

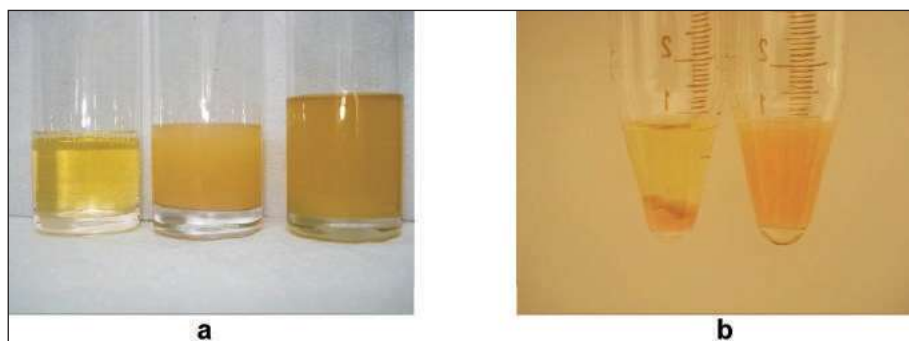


Figura 2. Aspecto da urina. a) urina límpida, urina turva devido à presença de cristais de uratos amorfos e moderadamente turva devido à presença de leucócitos, hemácias e bactérias. b) Urina turva devido à presença de cristais de uratos amorfos após centrifugação e descarte do sobrenadante evidenciando a cor vermelha-tijolo característica dos depósitos de uratos amorfos.

Turbidez devido à refrigeração da amostra é comum em urinas com pH ácido; ocorre pela precipitação de uratos amorfos e aparece com coloração rosa devido à afinidade da uroeritrina (pigmento rosa) que se liga aos uratos (figura 2).

O odor característico da urina recém-emitida é classificado às vezes como ligeiramente aromático de origem indeterminada. Este odor pode se intensificar em amostras concentradas ou expostas à temperatura ambiente por um longo período. A retenção vesical prolongada pode levar a uma fermentação alcalina com odor amoniacal. Na ITU muitas vezes o cheiro é amoniacal ou fétido. Outras causas de odores anormais incluem fístulas entre o trato gastrointestinal e a bexiga (associada com um cheiro de fezes), decomposição de cistina (associada a um cheiro sulfúrico), medicamentos e alimentação^{1,4}.

3 Análise química

Esterase Leucocitária. Nitrito.

Esterase leucocitária e nitritos são testes indiretos para verificação da presença de leucocitúria e bactérias na urina (Figura 3). Vários trabalhos têm demonstrado a utilidade dos testes rápidos para triagem de ITU, muitos deles utilizando a detecção de esterase leucocitária isolada ou em associação com a pesquisa de nitritos.



Figura 3. Resultado positivo para nitritos e esterase leucocitária em fita reagente utilizada na rotina laboratorial.

Esterase leucocitária

Leucócitos humanos apresentam em seus grânulos primários (azurófilos) mais de 10 tipos de proteínas mostrando atividade de esterase. Esta atividade é comumente utilizada como um marcador para a presença destas células. Os testes têm a vantagem de detectar tanto esterases em leucócitos intactos como esterases livres e,

como os leucócitos são lábeis na urina, a atividade de esterase pode indicar remanescentes dessas células não observadas microscopicamente⁵.

A esterase leucocitária está presente nos leucócitos granulócitos (neutrófilos, eosinófilos, basófilos) e nos monócitos. Não é encontrada nos linfócitos e nem em células do trato urinário e hemácias. Sua detecção representa significativa evidência de leucocitúria¹.

O teste detecta a presença de 5 a 25 leucócitos/campo, dependendo da fita reagente utilizada. Importante lembrar que a reação exige mais tempo do que as demais, até 2 minutos. A ausência de esterase leucocitária, entretanto, não exclui ITU^{2,6,7}. A sensibilidade e especificidade do teste variam e serão discutidos juntamente com os nitritos nas considerações da parte química.

Resultados falso-positivos podem ocorrer na presença de nitrofurantoína e outras substâncias com cores fortes, de conservantes como formalina e de desinfetantes como hipoclorito de sódio. Além disso, a contaminação da urina com fluido vaginal pode dar resultados falso-positivos pela presença de leucócitos (íntegros ou lisados) ou *Trichomonas vaginalis*. Eosinofilúria pode contribuir como fonte de esterase causando resultado falso-positivo².

Densidade urinária elevada, proteína e glicose podem interferir nos resultados do teste por diminuir a intensidade ou inibir a reação. Isso também pode ocorrer com ácido bórico e certos antibióticos como tetraciclina, cefalexina e cefalotina e elevada quantidade de ácido ascórbico².

Nitrito

Nitrito é produzido por bactérias contendo redutase a partir do nitrato da alimentação. Portanto o teste positivo para nitrito é indicativo da presença de bactérias em número significativo (mais que 10.000 por mL) na urina^{3,8}.

Várias bactérias que causam ITU são capazes de reduzir nitrato a nitrito, inclusive esta é uma característica do grupo das enterobactérias, os principais patógenos urinários. Contudo, outros micro-organismos que também causam ITU, como *Staphylococcus saprophyticus*, algumas espécies de *Pseudomonas* e *Enterococcus* não são capazes de produzir nitrito².

O teste depende da conversão de nitrato a nitrito pela ação bacteriana na urina. Essa conversão exige um tempo de contato da bactéria com a urina de no mínimo 4 horas, por isso o teste apresenta melhor resultado com a primeira urina da manhã².

Resultados falso-positivos não são comuns, mas sempre se deve considerar as condições de coleta. Urinas coletadas em saco coletor são passíveis de contaminação com fezes principalmente em meninas, e urinas não processadas dentro de um tempo hábil (no máximo duas horas) e sem os cuidados adequados de coleta e armazenamento podem fornecer resultados falsamente positivos em decorrência da proliferação bacteriana pós-coleta. A presença de alguns medicamentos também pode levar a resultados falso-positivos como a fenazopiridina (Pyridium®) em meio ácido^{1,2,4}.

Um aspecto técnico importante é a presença de urina muito pigmentada que pode fornecer coloração atípica facilmente visualizada, porém os leitores automatizados referem como teste positivo qualquer mudança de cor. Além disso, coloração rosa pode aparecer em fitas vencidas ou naquelas com armazenamento e/ou manipulação incorretos².

O reagente da fita para nitrito é sensível à exposição ao ar, por isso o frasco deve ser imediatamente fechado após a retirada da fita. Após uma semana de exposição ao ar um terço das fitas apresentará cor rosa na região do nitrito e após duas semanas três quartos delas³.

Resultados falso-negativos podem ocorrer na presença de ácido ascórbico, urobilinogênio ou pH baixo (menor que 6). Urinas coletadas ao acaso durante o dia e aquelas de pacientes com catéter de drenagem (sonda de alívio) não mostram boa correlação entre o teste de nitrito e bacteriúria, provavelmente devido ao tempo requerido para a redução química para nitrito na bexiga. Além disso, resultados falso-negativos podem ocorrer pelo fato de alguns micro-organismos formarem outros compostos no processo de redução, como amônia, óxido nítrico ou nitroso, hidroxilamina e nitrogênio, principalmente quando há estase urinária. A falta de nitrato na dieta também pode levar a um resultado falso-negativo^{1,2,5}.

Considerações parte química

A sensibilidade e a especificidade dos testes com tiras reativas variam, mas, de um modo geral, o teste de nitrito possui boa especificidade, porém a sensibilidade é baixa; diz-se então que o teste apresenta um alto valor preditivo positivo, ou seja, quando positivo há boa correlação com ITU ou com bacteriúria. Ocorre o inverso com a esterase leucocitária: o teste positivo apresenta boa sensibilidade e baixa especificidade, com alto valor preditivo negativo, isto é, quando o resultado do teste é negativo exclui-se ITU. Contudo os trabalhos encontrados na literatura divergem muito em relação ao desenho do estudo e o tipo de população avaliada, o que leva a variação dos resultados de sensibilidade e especificidade.

Levando isso em consideração, Devillé e colaboradores (2004)⁹ resumiram os resultados sobre a precisão do diagnóstico de ITU pelo teste da fita reativa num estudo de meta-análise em 2004. A revisão da literatura incluiu 70 artigos de 1990 a 1999 que tinham por objetivos o diagnóstico de bacteriúria ou ITU, ou, ainda, investigar o uso de testes de fita reagente para nitritos e/ou esterase leucocitária. Em geral, a sensibilidade da fita de urina para os nitritos foi baixa (45-60% na maioria das situações), com níveis mais elevados para a especificidade (85-98%). A sensibilidade do teste da fita de urina para esterase leucocitária foi, em geral, ligeiramente superior que para o teste de nitritos (48-86%), enquanto a especificidade variou bastante (17-93%). Combinando os resultados de ambos os testes, com um ou ambos mostrando um resultado positivo, a sensibilidade variou entre 68% e 88%, mas teve efeitos diferentes na especificidade necessitando confirmação dos resultados positivos. Esta revisão demonstrou que resultados negativos de ambos os testes, ni-

tritos e esterase leucocitária, pela fita reagente sozinha podem ser úteis para excluir a presença de infecção, em todas as populações.

Também em 2004, Wilson e colaboradores⁵, revisaram vários estudos sobre o diagnóstico laboratorial de ITU em pacientes adultos. Os critérios para avaliar a importância clínica dos isolados e os métodos laboratoriais utilizados variaram entre os estudos; os dados são apresentados apenas como uma visão geral das características de desempenho dos ensaios e podem ser observados na tabela 1.

Tabela 1 Características do desempenho dos testes de esterase leucocitária e nitrito, sozinhos ou em combinação, para detectar bacteriúria e/ou piúria.

Teste, contagem de colônia	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)	VPP (%)	VPN (%)
Esterase leucocitária				
10 ⁵ UFC/mL	68–98	59–96	19–86	91–97
10 ⁴ UFC /mL	64–77	59–83	16–52	89–96
10 ³ UFC /mL	62–79	55–84	3–81	51–99
Nitrito				
10 ⁵ UFC /mL	19–45	95–98	50–78	82–89
10 ⁴ UFC /mL	8–39	97–98	27–81	85–87
10 ³ UFC /mL	0–50	48–98	0–82	37–99
Esterase leucocitária e Nitrito				
10 ⁵ UFC /mL	35–84	98–100	84	98
10 ³ UFC /mL	0–45	62–98	0–66	42–99
Esterase leucocitária e/ou Nitrito				
10 ⁵ UFC /mL	67–100	67–98	40–95	84–96
10 ⁴ UFC /mL	74–79	66–82	42–54	91–92
10 ³ UFC /mL	71–84	41–83	49–81	46–90

Nota: Todos os números foram arredondados para o número inteiro mais próximo.

UFC, unidades formadoras de colônias. VPP, valor preditivo positivo. VPN, valor preditivo negativo. Adaptado de Wilson e colaboradores (2004)⁵.

Apesar da variabilidade dos estudos os autores puderam chegar às seguintes conclusões: em primeiro lugar, as duas provas (nitrito e esterase), quando utilizadas

em conjunto, apresentam melhor desempenho do que qualquer uma delas utilizada sozinha. Em segundo lugar, os testes têm as melhores características de desempenho para a detecção de bacteriúria com contagem de colônias alta do que aqueles com baixa contagem de colônias. Em terceiro lugar, os testes têm baixa sensibilidade, alta especificidade, baixo valor preditivo positivo e alto valor preditivo negativo. Juntas, as características de desempenho dos testes tornam-nos úteis para detecção de bacteriúria, com base em um resultado negativo em pacientes adultos.

Em crianças com menos de cinco anos os testes de nitrito e esterase leucocitária negativos, bem como resultados negativos da microscopia para leucócitos e bactérias de uma amostra coletada em um saco coletor possuem razoável poder para excluir ITU. Os resultados positivos, no entanto, necessitam investigação, iniciando pela cultura¹⁰.

Também em idosos esses resultados foram observados: quando ambos, nitrito e esterase leucocitária são negativos, a probabilidade da cultura da urina mostrar crescimento de bactérias potencialmente patogênicas é baixa. O valor preditivo negativo nesse caso pode variar de 84% a 92% dependendo da presença de bactérias não redutoras de nitrato. No entanto, o resultado positivo de um dos testes da fita ou de qualquer combinação entre eles não pode totalmente determinar bacteriúria¹¹.

Nos casos de ITU em pacientes fazendo uso de catéter vesical de demora a interpretação dos resultados dos testes de nitrito e esterase leucocitária é mais complexa. Diferente de outras categorias de ITU (cistite aguda, pielonefrite aguda, ITU complicada) o limite da contagem de colônias na cultura é baixo: a contagem de 100 UFC/mL já pode ser indicativa de infecção. A pesquisa negativa de nitritos e esterase leucocitária, nesses casos, exclui ITU somente nos pacientes com catéter vesical de curta duração, porque quase todos os pacientes com catéter de longa duração irão apresentar algum resultado positivo¹².

Pesquisa de nitritos e esterase leucocitária são os dois parâmetros da parte química utilizados para triagem de ITU. Encontra-se na literatura variabilidade nos valores de sensibilidade, especificidade, VPP e VPN. Essa variabilidade ocorre por conta de diversos fatores, desde tipo de população estudada, de metodologia empregada, coleta da amostra etc. Mas de um modo geral os resultados confirmam a utilidades desses testes.

Densidade urinária. pH. Proteína. Hemoglobina.

Outros parâmetros do exame de urina que podem auxiliar no diagnóstico das ITUs são a avaliação da densidade, do pH, a presença de proteínas e de hemoglobina.

A determinação da concentração urinária é uma maneira simples para estimar o estado de hidratação do paciente e é útil para o seu atendimento, tanto nos cuidados intensivos como na gestão ambulatorial.

A concentração de solutos na urina pode ser avaliada medindo a sua osmolalidade ou gravidade específica. A osmolalidade urinária é o método padrão para avaliar a capacidade de concentração ou diluição da urina. Portanto é útil para diagnosticar os estados de doenças tais como hiponatremia ou hipernatremia, necrose tubular aguda, secreção inapropriada do hormônio antidiurético, e assim por diante^{1,13}.

Os rins normais têm a capacidade de produzir urina com uma enorme variação de densidade, entre 1.003 - 1.035. Pessoas saudáveis com ingestão adequada de líquidos apresentam densidade urinária entre 1.016 – 1.022. A utilidade da medida da densidade nos casos de infecção está relacionada principalmente à qualidade da amostra, uma vez que urina diluída, hipotônica, pode levar à lise celular prejudicando a contagem de células e bactérias, e à diluição das substâncias analisadas.

A densidade urinária na rotina laboratorial é determinada por refratômetro ou pela fita reativa. Atualmente, resultados de densidade determinados pela tira reagente são comuns, no entanto a literatura tem demonstrado resultados desfavoráveis para a fita e sugere a utilização do refratômetro como método mais confiável para este fim^{14,15,16}.

O cuidado na determinação da densidade em relação a ITU é legítimo, pois a super-hidratação do paciente pode afetar profundamente os pontos de corte da quantificação bacteriana, seja na triagem microscópica pela coloração de Gram ou na cultura bacteriana. O efeito da diminuição da concentração de bactérias devido à densidade urinária baixa é amplamente discutido por Terra (2007)¹⁷, especialmente em amostra infantil coletada em saco coletor.

Esse autor tece uma relevante discussão sobre os pontos de corte da urocultura demonstrando a importância da restrição de líquido na fase pré-analítica, ao contrário do hábito frequente e não recomendado de hidratar a criança para facilitar a coleta da amostra. Outro aspecto relevante discutido é a utilização de um conjunto de parâmetros (parcial de urina, coloração de Gram, avaliação de mais de uma amostra etc) aliados à urocultura, pois nesse caso a especificidade para o diagnóstico das ITUs será maior que a urocultura isoladamente; vale lembrar que esses parâmetros estão igualmente sujeitos a interferência da diluição da amostra.

O pH urinário pode variar de 4,5 até 8, mas normalmente a urina é ligeiramente ácida (pH entre 5,5 e 6,5) devido à atividade metabólica. O pH varia com a dieta: a ingestão de proteínas tende a causar a acidificação da urina; já a ingestão de vegetais pode levar a alcalinização. O pH da urina fresca não deve chegar a 9, em condições normais ou não. O pH urinário de 9 é indicativo de urina mal preservada^{2,3}.

A presença de bactérias produtoras de urease elevam o pH da urina. A urease hidrolisa a ureia em amônia e CO₂. Em seguida, combina-se com água, formando íons de amônio e íons hidroxila, elevando o pH. Nessas condições podem ser formados os cristais de estruvita (fosfato triplo amoníaco-magnésiano) e de carbonato de apatita (carbonato de cálcio) que em alguns pacientes evoluem para formação de cálculos coraliformes. As bactérias ficam presas nesse tipo de cálculo, o que pode dificultar a terapêutica antimicrobiana. *Proteus*, *Providencia*, *Klebsiella* e *Serratia* são urease positivos¹⁸.

Corynebacterium urealyticum é outro micro-organismo produtor de urease, associado à infecção em pacientes imonodeprimidos que fazem uso prolongado de catéter, como por exemplo, os transplantados renais. Nesses pacientes *C. urealyticum* pode desenvolver cistite ou pielonefrite incrustante, caracterizada pela presença de depósitos de cálculos de estruvita na parede do sistema pielocalicial, podendo se estender até os ureteres e bexiga vesical. Aqui se destaca a importância da avaliação conjunta do exame parcial de urina e urocultura, já que esse micro-organismo pode não desenvolver no período de incubação e meios de cultura utilizados na rotina^{19,20}.

A associação entre a presença de proteína e ITU é comum para determinados autores. Matthai e Ramaswamy (1995) num estudo em crianças de até 5 anos (n: 376) com suspeita de ITU encontraram valores de 79% para sensibilidade e 80% para especificidade da proteinúria em diagnosticar ITU. A proteína foi determinada pelo método do ácido sulfo-salicílico²¹.

Resultados semelhantes foram relatados na revisão de Simerville e cols (2005)³, onde a sensibilidade do teste da fita reagente para proteína (positivo 3+, que corresponde a 300 mg/dL) variou de 63% a 83% dos casos de infecção confirmados por cultura, e a especificidade entre 50% e 53%.

No entanto, outros autores relatam que a presença de proteína em ITU é discreta e variável²² e que sua natureza é mal definida²³. Inclusive Carter e colaboradores (2006)²³ fizeram uma revisão utilizando 80 artigos completos para tentar responder as seguintes questões:

ITU assintomática causa proteinúria/albuminúria?

ITU sintomática causa proteinúria/albuminúria?

Qual é a natureza da proteinúria em pacientes com ITU?

Existem estudos que associam a ITU e proteinúria/albuminúria considerando interferências técnicas, incluindo pH urinário?

As conclusões da revisão desses tópicos são sintetizadas a seguir:

- a) Não há nenhuma evidência para confirmar que ITU assintomática cause proteinúria ou microalbuminúria. Apesar de alguns estudos relatarem uma associação entre ITU assintomática e proteinúria, não houve nenhuma evidência para sugerir uma relação de causalidade. Não foi possível excluir a presença de complicações pré-existentes ao quadro de infecção, tais como diabetes ou nefropatia, que estão independentemente associadas a um risco aumentado para proteinúria.
- b) Há evidências de que ITUs sintomáticas são geralmente associadas com proteinúria e albuminúria, e que proteinúria pode ser amenizada após o tratamento antibacteriano. Um padrão de proteinúria tubular pode discriminar entre pielonefrite (superior) e ITU inferior (cistite), apesar do aumento da excreção de proteínas tubulares poder também ser observado em doença febril não renal.
- c) Há relativamente poucas pesquisas examinando a natureza da proteinúria em pacientes com cistite, embora os dados de dois artigos tenham sugerido que a albuminúria pode estar presente, mas não foi um achado consistente. Pielonefrite é caracterizada por um padrão de proteinúria tubular com albumina sendo observada ocasionalmente.
- d) É improvável que a associação entre ITU sintomática e proteinúria seja decorrente de interferências na técnica.

O significado clínico da proteinúria é muito variável e na prática laboratorial observa-se uma maior relação entre ITU e proteinúria com os métodos quantitativos para proteínas totais (ácido sulfo-salicílico, ácido tricloro-acético e vermelho de pirogalol) do que com a fita de urina, que detecta melhor a albumina.

A presença de sangue na urina pode ser detectada por meio da tira reagente. A reação se baseia na atividade de pseudoperoxidase da hemoglobina e a reação é positiva para eritrócitos intactos, hemoglobina livre e mioglobina. O sangue (hemoglobina) está ausente na urina normal e presente nas hemorragias de qualquer causa que atingem o sistema urinário (litíase, glomerulonefrite, neoplasias, ITUs etc) e também em outras situações como uso de anticoagulantes, exercício físico intenso, queimaduras graves, reações transfusionais, entre outras^{1,2,4}.

Para alguns autores a hematúria na ITU, quando presente, é discreta e aparece como achado isolado, frequentemente relacionada à presença de cálculos, tumores, tuberculose ou ITUs fúngicas²².

Para outros a presença associada a ITU, quando detectada (positivo 1+) pela fita apresenta sensibilidade que varia entre 68 a 92%, porém a especificidade é baixa, entre 42% e 46%³.

A detecção de hemoglobina através da tira reativa pode auxiliar no diagnóstico de ITU, mas deve ser correlacionada com a análise do sedimento, pois uma causa comum de falso-positivo é devida às peroxidases bacterianas. Em adição, na prática observa-se que, em mulheres, outras causas como contaminação menstrual, microtraumas durante a atividade sexual e vaginites podem contribuir para a positividade sem estar associada a ITU.

Sedimentoscopia

A avaliação microscópica da urina permite a detecção direta de leucócitos e bactérias, os quais podem refletir ITU. Geralmente é realizada no sedimento após a centrifugação da amostra com o intuito de concentrar os elementos. A contagem de células e bactérias é discutida em outros capítulos, o objetivo da análise da sedimentoscopia aqui é fazer um paralelo com o que foi discutido sobre as propriedades físicas e a análise química da urina.

Leucócitos. Bactérias. Outros elementos

Leucócitos

A presença de número significativo de leucócitos na urina é indicativa de processo inflamatório do trato urogenital. Número aumentado de leucócitos na urina é denominado de piúria ou leucocitúria. Neutrófilos são os principais leucócitos que aparecem na urina e podem adentrar o trato urinário a partir de qualquer local de sua estrutura, desde o rim até a uretra^{1,2,7}.

As principais causas de leucocitúria (piúria) são as infecções do trato urogenital: cistite, pielonefrite, uretrite, prostatite, balanite e a síndrome uretral aguda ou síndrome disúria-piúria¹.

Leucocitúria estéril (figura 4) pode indicar infecção com agentes bacterianos não usuais como *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum* e *Mycobacterium tuberculosis*. Pode refletir infecção fúngica ou ainda a ruptura de abscesso renal ou do trato urinário. Outras patologias associadas à presença de leucócitos na urina incluem nefrite, litíase, tumor de bexiga, glomerulonefrite, lúpus eritematoso sistêmico, anormalidades anatômicas, nefrocalcinose, refluxo vesicoureteral, doença policística ou presença de corpo estranho. Pode, também, ser observada nos estados febris e após exercício físico extenuante^{1,24}.

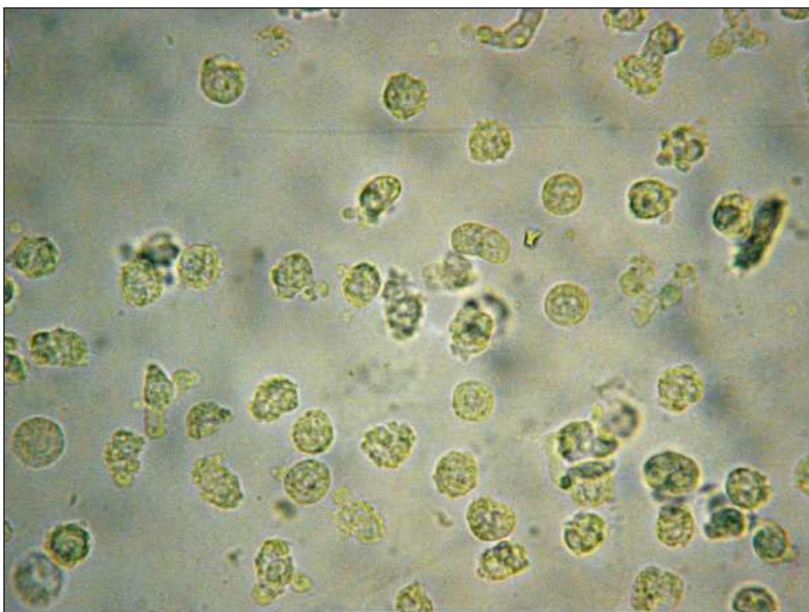


Figura 4. Leucocitúria estéril. Sedimento sem corante (400X).

Além disso, a presença de leucócitos na urina pode representar vaginites, por meio da contaminação da urina com fluidos vaginais que carregam leucócitos e micro-organismos para a urina. A contaminação da urina com secreção vaginal é uma situação frequente e implica num exaustivo trabalho de orientação da coleta, pois além dos casos de vaginites as secreções podem conter leucócitos decorrentes de outros processos genitais infecciosos provocados por *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma*, *Trichomonas vaginalis*²⁵.

Mesmo em situações fisiológicas pode existir grande número de leucócitos no muco endocervical ou na secreção vaginal dependendo da fase hormonal do ciclo reprodutivo feminino. Em adição, reação leucocitária intensa pode ocorrer

quando os lactobacilos em abundância destroem as células epiteliais ao utilizar o glicogênio armazenado nestas²⁶.

Leucocitúria pode ser quantificada por meio da contagem de leucócitos em um hemocítmetro, entre lâmina e lamínula, ou em lâminas descartáveis específicas para essa finalidade (Kcell) em amostras de urina centrifugada ou não centrifugada. Leucócitos e outros elementos da urina podem ainda ser quantificados em sistemas automatizados^{2,5,7}.

A vantagem da microscopia da urina para contagem de leucócitos é a determinação de outros elementos celulares como os cilindros leucocitários, as hemácias e bactérias (figura 5). Uma desvantagem é que os leucócitos deterioraram-se rapidamente na urina que não é fresca ou que não foi adequadamente preservada. Além disso, cada um dos métodos citados anteriormente tem desvantagens que limitam sua utilidade como um teste de rotina⁵.

Outros leucócitos, além dos neutrófilos, podem ser encontrados no sedimento urinário. A eosinofílica é bom indicador de nefrite intersticial aguda, associada à hipersensibilidade a drogas, e é ocasionalmente observada nas infecções crônicas e recorrentes do trato urinário. A diferenciação entre neutrófilos e eosinófilos não é fácil. Deve ser feita após coloração do espécime com corante hematológico, como a coloração de Hansel, após citocentrifugação.

Em urina diluída ou hipotônica os neutrófilos intumescem e os grânulos presentes no citoplasma exibem um tipo de movimento aleatório chamado movimento browniano, que decorre do choque das partículas com as moléculas de água. Por causa da refração do movimento dos grânulos quando os neutrófilos se encontram com esse aspecto são conhecidos como “células glitter”. Em adição leucócitos são rapidamente lisados em urina hipotônica ou alcalina. Aproximadamente 50% são perdidos, desaparecendo após 2-3 horas em temperatura ambiente, o que requer análise imediata do sedimento urinário após a coleta^{2,4}.

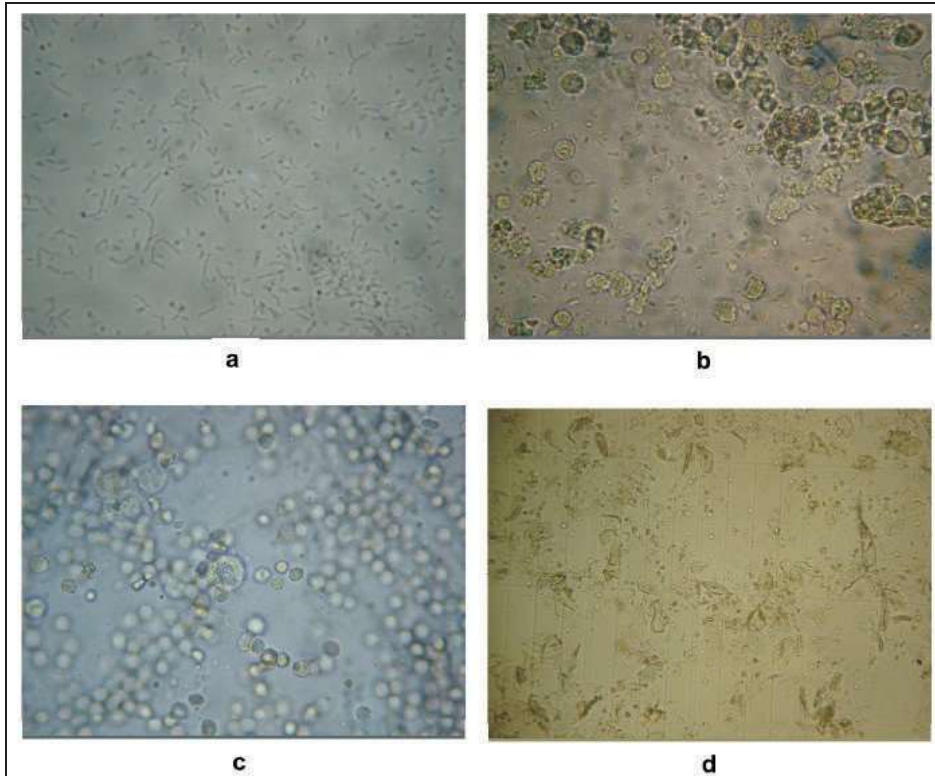


Figura 5. Sedimento urinário com a) bactérias (400X), b) leucócitos e bactérias (400X), c) hemácias (400X), d) células epiteliais escamosas (100X).

Cilindros leucocitários são indicativos de pielonefrite aguda, no entanto doenças glomerulares, nefrite intersticial, nefrite lúpica e síndrome nefrótica podem estar associadas à presença de cilindros leucocitários. Estes cilindros podem ser difíceis de distinguir dos pseudocilindros, formados por grumos de leucócitos originados no trato urinário baixo (figura 6). Pseudocilindros podem ser o resultado de leucócitos aderidos ao muco⁷.

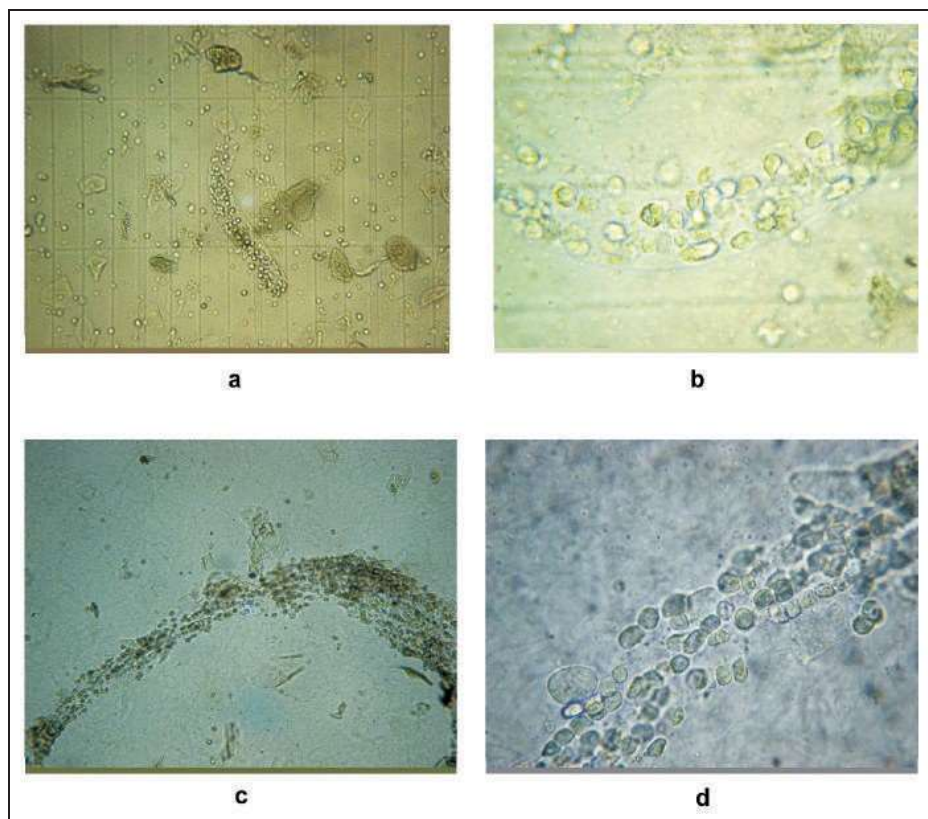


Figura 6. Cilindro leucocitário em: a) aumento de 100X e b) aumento de 400X. Repare a estrutura cilíndrica e a matriz hialina presentes no cilindro verdadeiro. Pseudocilindro em: c) aumento de 100X e d) aumento de 400X. Leucócitos aderidos ao muco em urina de mulher simulando cilindro leucocitário, possivelmente de origem endocervical. Pode-se observar a forma irregular e a ausência da matriz hialina.

A detecção de leucocitúria em exame microscópico do sedimento urinário apresenta sensibilidade de 67% e especificidade de 79% (ponto de corte: 5 leucócitos/ campo) para detectar ITU em crianças. Para detectar bacteriúria em gestantes os resultados são similares, a sensibilidade é de 67% e a especificidade de 80%⁷.

No geral a acurácia da contagem de leucócitos em detectar ITU é semelhante à da esterase leucocitária, ou seja, apresenta elevado valor preditivo negativo (83%-95%) com a sensibilidade variando de 90% a 96% e a especificidade entre 47% e 50%³.

Bactérias

A observação de número elevado de bactérias na urina chama a atenção para a possibilidade de infecção. É preciso, entretanto, afastar a possibilidade de contami-

nação, principalmente em amostra feminina onde é comum a presença de lactobacilos em grande quantidade e não raro associados à leucocitúria (figura 7).

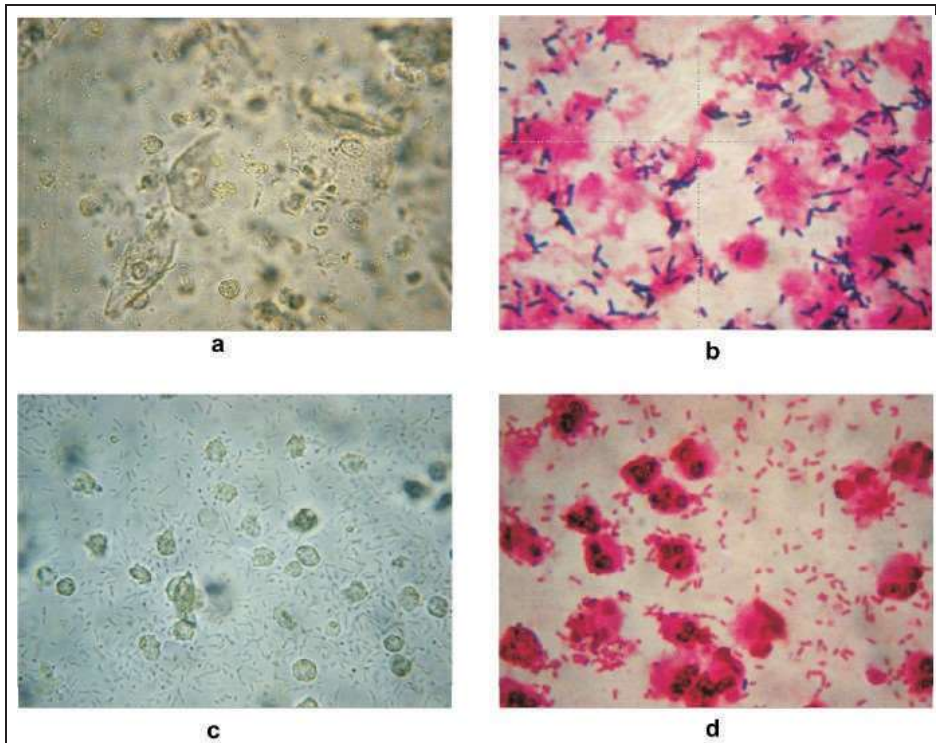
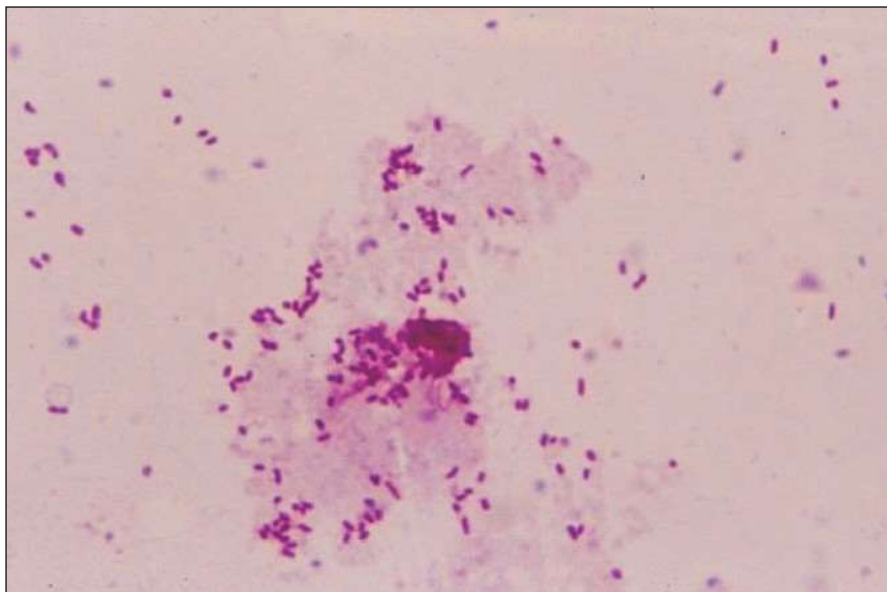


Figura 7. Sedimento com leucócitos e bactérias em grande quantidade no sedimento: a) não corado (400X) e b) corado (Gram) (1000X). A coloração de Gram evidenciou bacilos gram-positivos (lactobacilos), indicando contaminação da amostra com secreção vaginal. Sedimento com leucócitos e bactérias em grande quantidade no sedimento: c) não corado (400X) e d) corado (Gram) (1000X). O Gram evidenciou bacilos Gram-negativos e leucócitos indicando infecção do trato urinário.

As bactérias podem ser detectadas pela coloração de Gram em urinas centrifugadas ou não centrifugadas ou pela observação direta de bactérias em amostras de urina igualmente centrifugadas ou não. O Gram de urina não centrifugada é um método simples que consiste num volume de urina aplicado a uma lâmina de microscópio, seco ao ar, corado com Gram e examinado microscopicamente (figura 8). A presença de uma (1) ou mais bactérias (1000X) correlaciona-se com contagens iguais ou maiores a 10^5 unidades formadoras de colônias/mL⁵.



**Figura 8. Gram da gota de urina não centrifugada (1000X).
A presença de uma ou mais bactérias se correlaciona com
crescimento bacteriano superior a 10^5 UFC/mL**

Gram do sedimento urinário não se correlaciona tão bem com a cultura, mas esse exame é solicitado e realizado com muita frequência. Talvez o ponto favorável desse método seja a capacidade de concentração, útil na detecção de pequena quantidade de bactérias e de contaminantes como leveduras, lactobacilos e *Gardnerella vaginalis* (figuras 9,10).

Ao contrário da leucocitúria a presença de bactérias (qualquer quantidade) no sedimento tem baixa sensibilidade (46% a 58%) e alta especificidade (89% a 94%) em detectar ITU³.

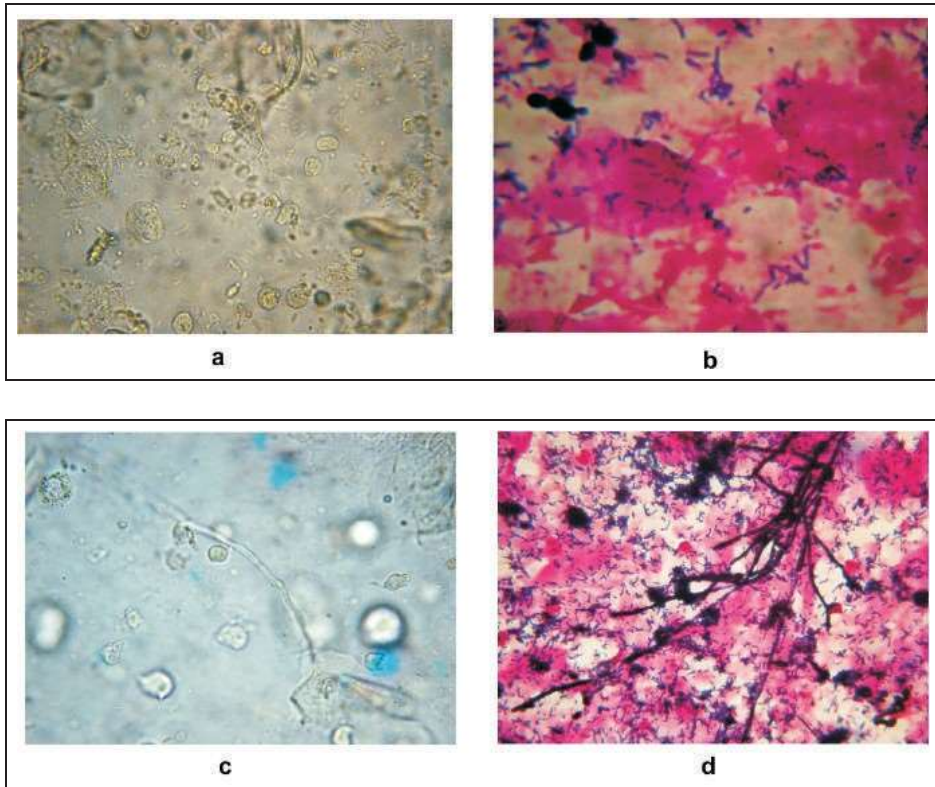


Figura 9. Presença de leveduras no sedimento a) não corado (400X) e b) corado (Gram) (1000X). Pseudohifas no sedimento c) não corado (400X) e d) corado (Gram) (1000X). Pode-se observar ainda a presença de lactobacilos (b e d).

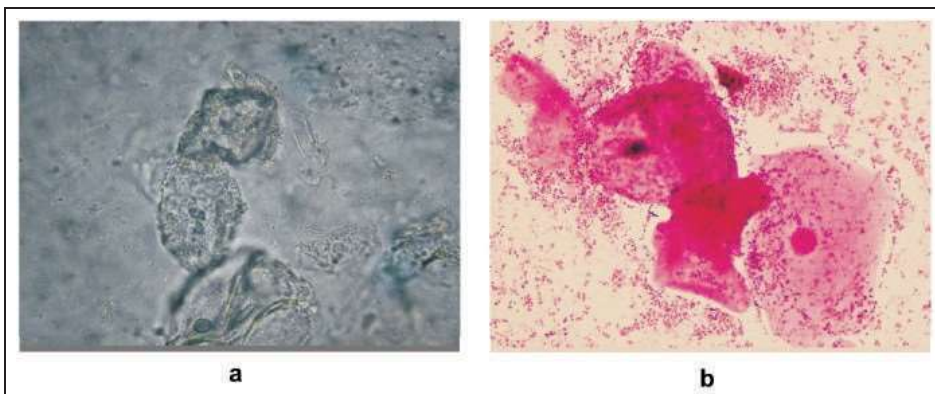


Figura 10. Presença de células indicadoras de vaginose (clue cells) no sedimento a) não corado (400X) e b) corado (Gram) (1000X).

Outros elementos

Células epiteliais aparecem com frequência no sedimento de urina, principalmente as células epiteliais escamosas e sugerem contaminação. A presença de grande número dessas células deve servir de alerta para a observação de agentes como *Trichomonas vaginalis* (figura 11), leveduras, células indicativas de vaginose bacteriana (*clue cells*) e lactobacilos, mesmo na presença de leucocitúria (figuras 9, 10).



Figura 11. *Trichomonas vaginalis* em sedimento de urina (400X).

A presença de cristais de fosfato triplo amoníaco magnésiano em urinas alcalinas sugere ITU por espécies de *Proteus* (figura 12).



Figura 12. Cristais de fosfato triplo amoníaco-magnésiano associado a bacteriúria (400X).

Além disso, contaminantes como ovos de *Enterobius vermicularis* podem ser evidenciados no sedimento urinário (figura 13).



Figura 13. Ovo de *Enterobius vermicularis* encontrado em urina de criança (400X).

Considerações Finais

O parcial de urina oferece várias informações que podem auxiliar o clínico no diagnóstico diferencial das ITUs. Os principais parâmetros são a detecção de leucocitúria e bacteriúria. Ambos são avaliados de forma indireta pela pesquisa de esterase leucocitária e de nitritos, respectivamente. Também são avaliados diretamente no sedimento urinário corado ou não.

Vários fatores podem interferir nos resultados destes testes, mas os principais problemas podem ser evitados com a garantia de uma amostra de qualidade para a realização do exame. Amostras diluídas e/ou contaminadas devem ser exceções na prática diária, restritas a casos específicos onde não se tem o controle desses fatores, como na incapacidade renal de concentração urinária, pacientes acamados, psiquiátricos ou com outras características que oferecem resistência à higienização e assim por diante.

Outros cuidados são igualmente importantes durante a realização dos exames. Sem dúvida o processamento imediato da amostra evita alterações decorrentes da proliferação bacteriana pós-coleta, mas um aspecto muito importante é a visão global do exame parcial de urina pelo executor.

Amostras com resultados discrepantes entre fita e sedimento devem ser investigadas e confirmadas. Na prática é comum observamos esterase leucocitária positiva e contagem de leucócitos dentro da faixa normal de referência, principalmente com leitores automáticos. Geralmente o que ocorre é um problema com o tempo de leitura dessa reação que é maior do que as outras reações da fita. O contrário também ocorre, pois leucócitos e hemácias sofrem lise em pH maior do que 6,0 ou em urinas diluídas.

Urinas alcalinas (pH maior que 7,5) por sua vez sugerem infecção por bactérias que degradam a ureia em amônia. Entretanto, amostras não processadas em tempo hábil ou mal armazenadas podem apresentar alcalinização devido a bactérias contaminantes. Urina extremamente alcalina (pH 9,0) é mais indicativo de contaminação do que infecção.

Outro aspecto relevante é a correlação leucócito-bactéria. Sempre que um desses achados estiver presente deve-se procurar o outro, já que a presença de leucocitúria e bacteriúria pode apresentar um valor preditivo positivo de até 100% em relação à cultura. A ausência de ambos também é importante, pois se pode excluir o desenvolvimento de bactérias patogênicas na cultura já que o valor preditivo negativo da mesma forma pode chegar até 100%, dependendo dos métodos utilizados e da quantidade de bactérias presentes⁸.

O termo bacteriúria, no entanto, deveria ser utilizado somente para bactérias que são classificadas como prováveis patógenos. Deve-se confirmar se a bactéria não são, por exemplo, lactobacilos, espécies de corinebactérias, *Gardnerella vaginalis*, estreptococos alfa-hemolíticos ou anaeróbios, considerados contaminantes de origem uretral ou vaginal²⁵.

Deve-se observar também a presença de células epiteliais escamosas que é indicativa de contaminação a partir do introito vaginal ou do prepúcio e auxilia na interpretação dos dados sobre bacteriúria²⁷.

Baixas contagens de bactérias na urina (10^2 a 10^4 UFC/mL) devido à diluição da amostra, ao quadro clínico (síndrome uretral aguda), à presença de bactérias de crescimento lento (*Staphylococcus saprophyticus*, *Corynebacterium urealyticum*), não usuais ou fastidiosas (*Haemophilus influenzae*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Campylobacter* spp., entre outros) e fungos (*Blastomyces* e *Coccidioides*) podem levar a erros na interpretação do resultado entre leucócitos e bactérias, no exame parcial de urina e/ou na urocultura. A bacterioscopia (coloração de Gram e coloração para bacilo álcool-ácido resistente) poderia ser útil nesses casos²⁵.

Não se deve esquecer que além da síndrome uretral aguda outros quadros infecciosos sintomáticos podem ser provocados por *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia tracomatis*, *Mycoplasma*, e *Trichomonas vaginalis*²⁵.

Para garantir a utilidade da urinálise em auxiliar o diagnóstico de ITU é necessária a observação criteriosa das fases do exame (coleta, processamento, interpretação e liberação dos resultados), quem é o paciente (gênero, idade, uso de medicamentos, presença de comorbidades etc.), tipo de amostra, e a necessidade de testes adicionais ou nova coleta para confirmar determinados resultados.

Em alguns serviços toda urocultura é acompanhada do exame parcial de urina independente do pedido médico. Da mesma forma a presença de bactérias no exame parcial de urina é acompanhado da bacterioscopia, sempre que necessário. Esta abordagem contribui muito para avaliação da qualidade da amostra, pois se pode detectar facilmente a presença de agentes de vaginites como *Gardnerella vaginalis*, *Candida* spp. e *Trichomonas vaginalis*. E mesmo a presença de lactobacilos, muitas vezes acompanhados de leucocitúria elevada, além de contribuir para a interpretação dos resultados da cultura.

Essa é uma conduta que vai contra a tendência em otimizar recursos e tempo na avaliação laboratorial da saúde, mas por outro lado a favor das novas práticas de saúde onde o ser humano não é um dado estatístico. Não adianta fazer mais exames para uma população cada vez maior, temos que solicitar os exames com mais direcionamento e realizá-los com mais precisão.

REFERÊNCIAS

1. Mcpherson RA , Ben-Ezra J, Zhao S . Basic examination of urine. in: Mcpherson RA, Pincus MR, editors. *Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods*. 21^a ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2007.
2. Strasinger SK. *Uroanálise e fluidos biológicos: atlas e texto*. São Paulo: Livraria Médica Paulista Editora Premier, 5^a ed, 2009.
3. Simerville JA, Maxted WC, Pahira JJ. Urinalysis: a comprehensive review. *Am Fam Physician*. 2005; 71(6):1153-62.
4. McBride LJ. *Textbook of urinalysis and body fluids*. Philadelphia: Lippincott, 1998.
5. Wilson ML, Gaido I. Laboratory diagnosis of urinary tract infections in adult patients. *Clin Infect Dis*. 2004; 38:1150-58.
6. Sawyer KP, Stone LL. Evaluation of a leukocyte dip-stick test used for screening urine cultures. *J Clin Microbiol*. 1984; 20(4): 820-1.
7. Camargos FC, Lima LC, Mendes EM, Bahia M. Leucocitúria. *Rev Med Minas Gerais*. 2004; 14(3):185-9.
8. Young JL, Soper DE. Urinalysis and urinary tract infection: update for clinicians. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2001;9:249-55.
9. Devillé WL, Yzermans JC, Duijn NPV, Windt DAV, Bouter LM. The urine dipstick test useful to rule out infections. A meta-analysis of the accuracy. *BMC Urol*. 2004;4:4.
10. Whiting P, Westwood M, Watt I, Cooper J, Kleijnen J. Rapid tests and urine sampling techniques for the diagnosis of urinary tract infection (UTI) in children under five years: a systematic review. *BMC Pediatr*. 2005;5:4.
11. Sundvall P-D, Gunnarsson RK. Evaluation of dipstick analysis among elderly residents to detect bacteriuria: a cross-sectional study in 32 nursing homes. *BMC geriatr*. 2009;9:32.
12. Alcaide ML, Lichtstein DM. Management of urinary tract infections in patients with urinary catheters. A national clinical guideline. Edinburgh: Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN). 2006 July. 29-33 p.
13. Chadha V, Garg U, Alon US. Measurement of urinary concentration: a critical appraisal of methodologies. *Pediatr Nephrol*. 2001;16:374-82.
14. De Buys Roessingh AS, Drukker A, Guignard JP. Dipstick measurements of urine specific gravity are unreliable. *Arch Dis Child*. 2001;85(2):155-7.
15. Stuempfle KJ, Drury DG. Comparison of 3 methods to assess urine specific gravity in collegiate wrestlers. *J Athl Train*. 2003;38(4):315-9.
16. Costa CE, Bettendorff C, Bupo S, Ayuso S, Vallejo G. Comparative measurement of urine specific gravity: reagent strips, refractometry and hydrometry. *Arch Argent Pediatr*. 2010;108(3):234-8.
17. Terra, P. *Vias urinárias: controvérsias em exames laboratorias de rotina*. 1^a ed. São Paulo: Atheneu, 2006.

18. Tostes V, Cardoso LR. Recentes avanços em litíase urinária. *J Bras Nefrol* 2001;23(3):166-73.
19. López-Medrano F, Garcia-Bravo M, Morales JM, Andre AS, San Juan R, Lizasoain M, Aguado JM. Urinary tract infection due to corynebacterium urealyticum in kidney transplant recipients: an underdiagnosed etiology for obstructive uropathy and graft dysfunction—results of a prospective cohort study. *Clin Infect Dis*. 2008;46:825–30.
20. Vázquez V, Morales MD, Serrano C, Reus M, Llorente S, García YJ. Corynebacterium urealyticum en pacientes con trasplante renal. Imágenes características de la tc y ultrasonografía de la cistitis y pielitis incrustant. *Nefrologia*. 2004. 24(3):288-293.
21. Matthai J, Ramaswamy M. Urinalysis in urinary tract infection. *Indian J Pediatr*. 1995;62(6):713-6.
22. Heilberg IP, Schor N. Abordagem diagnóstica e terapêutica na infecção do trato urinário – ITU. *Rev Assoc Med Bras*. 2003;49(1): 109-16.
23. Carter JI, Tomson CR, Stevens PE, Lamb EJ. Does urinary tract infection cause proteinuria or microalbuminuria? A systematic review. *Nephrol dial transplant*. 2006;21(11):3031-7.
24. Stamm WE. Urinary Tract Infections and Pyelonephritis. In: Dennis L. Kasper, D L; Braunwald, E; Hauser, H; Longo , D; Jameson, JL; Fauci, AS. *Harrison's principles of internal medicine*. 16ª ed. New York: McGraw-Hill, 2005.
25. Franz M, Horl WL. Common errors in diagnosis and manegement of urinary tract infection I: Pathophysiology and diagnostic techniques. *Nephrol Dial Transplant*. 1999;27:2746-53.
26. Araújo SR. *Citologia e Histologia Básicas do Colo Uterino para Ginecologistas: “Uma sessão de slides”*. Curitiba: VP editora, 1999.
27. Carvalho GF, Rocha LCA, Monti PR. Urocultura e exame comum de urina: considerações sobre sua coleta e interpretação. *Revista da amrigs, porto alegre*, 2006; 50(1):59-62.

27. EXAME CITOLÓGICO DA URINA

Júlio Cezar Merlin

Introdução

A análise urinária citológica foi possível, iniciou e desenvolveu-se de forma progressiva, após a utilização da microscopia ótica, importante recurso técnico laboratorial. Obviamente, este fato também decorre da grande facilidade de obtenção deste material biológico, o qual é produzido e excretado de forma fisiológica e contínua, contendo juntamente com a água, elementos próprios de avaliação funcional, tanto de origem celular que se esfoliam naturalmente ou induzidos por alterações teciduais patológicas, associado à presença de elementos outros que também são eliminados por esta importante via de excreção, auxiliando muito no entendimento e no diagnóstico de muitas patologias que comprometem o aparelho urinário. Pode-se afirmar também que, baseado neste espectro, a citologia urinária atualmente percorre dois caminhos distintos de avaliação laboratorial, embora possam ser complementares:

Citopatologia urinária

visa principalmente à avaliação oncótica e hormonal deste seguimento, através do preparo de esfregaços de sedimento corados por colorações universais ou específicas para cada um desses fins, onde a coloração de Papanicolaou é bastante utilizada;

Citologia urinária

Denominada de uroanálise, que compreende a avaliação laboratorial do sedimento urinário a fresco, sem a utilização de colorações quaisquer, onde os elementos encontrados, celulares ou não (leucócitos, hemácias, cilindros, cristais, bactérias, células epiteliais, entre outros) podem determinar a presença de comprometimento das vias urinárias inferiores e superiores.

Para que isso seja possível, faz-se necessário o conhecimento da estrutura histológica de todo o sistema.

Histologia do aparelho urinário

A fisiologia do aparelho urinário é favorecida, de forma natural, pela anatomia e histologia de seus componentes, facilitando desta forma a regulação renal, a

formação da urina e sua excreção. O rim é a principal estrutura funcional através de seus elementos constitutivos, os néfrons. Estes são responsáveis pela filtração do plasma, determinada por agentes controladores da absorção e da secreção ao longo de sua extensão, com consequente formação da urina. Cada néfron é composto por glomérulo, túbulo contorcido proximal, alça de Henle, túbulo contorcido distal, túbulo coletor e ducto coletor.

Os ureteres, bexiga e uretra funcionam basicamente como estruturas condutoras e eliminadoras da urina formada, desprovidas praticamente de outras funções fisiológicas maiores, como acontece nos rins.

Embora cada parte anatômica possua características histológicas próprias e adequadas à sua função específica, capilares sanguíneos, tecido conjuntivo de sustentação, células mesenquimais e tecido epitelial são os mais encontrados. O tecido epitelial, em especial, se apresenta de várias formas, porém sem perder as suas características gerais. Estas considerações são de vital importância quando da análise urinária citológica, seja ela a fresco ou após coloração.

Os glomérulos são constituídos pela cápsula de Bowman, estrutura esta formada por um emaranhado de finos capilares sanguíneos (capilares glomerulares) revestidos por dois folhetos capsulares, sendo um interno (visceral) e outro externo (parietal). O espaço encontrado entre os dois folhetos é denominado de espaço capsular. É neste espaço que é drenado o filtrado do plasma através das paredes dos capilares e do folheto visceral. Epitélio simples pavimentoso reveste o folheto parietal, ao passo que o folheto visceral é formado por tecido epitelial modificado durante o período embrionário que apresenta características próprias, ou seja, grupo de células com numerosos prolongamentos e denominadas de podócitos. Estas células juntamente com o glomérulo provêm barreira de filtração seletiva.^{1,2}

O filtrado glomerular alcança o túbulo contorcido proximal, o qual é constituído por tecido epitelial cuboide ou colunar baixo. Estas células possuem microvilosidades (borda em escova), pois possuem importante função absorviva.^{1,2} O seguimento posterior ao túbulo contorcido proximal é a Alça de Henle, estrutura em forma de “U” que possui um seguimento espesso e outro delgado e o túbulo contorcido distal. Ambos possuem estruturas histológicas semelhantes, providas por epitélio cúbico simples, porém com pequenas diferenças morfológicas e funcionais.^{1,2}

As vias urinárias e a bexiga armazenam a urina formada até a sua excreção. Possui histologicamente a mesma estrutura básica, onde a mucosa é formada por um epitélio de transição, exceto a uretra que é revestida por epitélio estratificado e pseudoestratificado colunar^{1,2} (Figura 1 e 2).

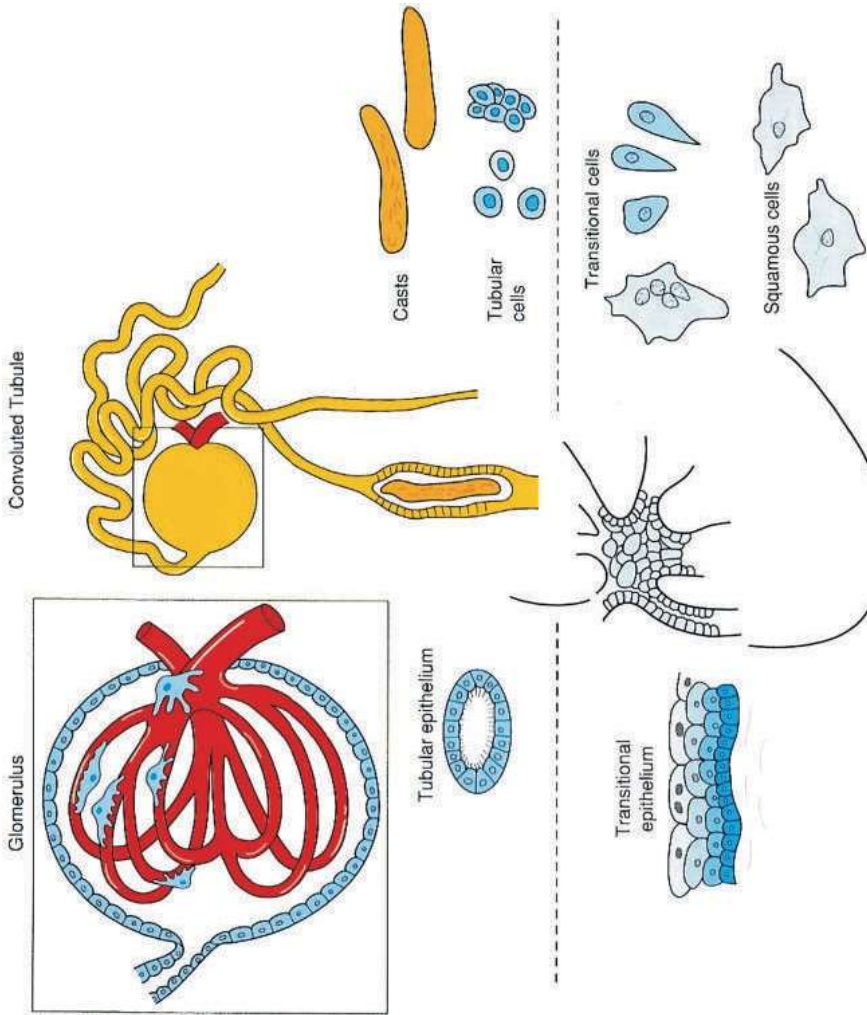


Figura 1: histologia dos rins e vias urinárias.⁶

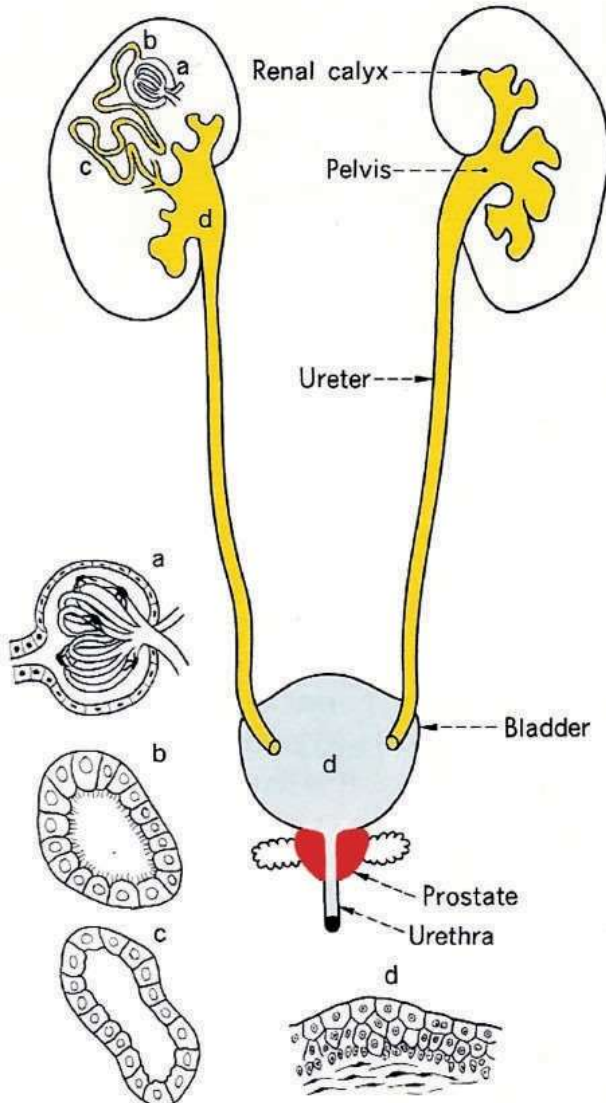


Figura 2: distribuição histológica dos rins e vias urinárias.⁶

Citologia urinária

A análise microscópica do sedimento urinário a fresco (citologia de urina) fornece informações valiosas e extremamente relevantes no diagnóstico de diversas patologias renais e das vias urinárias, tais como *, inflamatórias, neoplásicas e cálculos renais. A presença de elementos como leucócitos, hemácias, células epiteliais,

cilindros, cristais, muitas vezes direcionam e identificam o local do comprometimento, bem como o motivo, extensão e gravidade das lesões. A variabilidade dos processos empregados pode determinar resultados com entendimento divergentes, por esse motivo a execução dos procedimentos elaborados para tal análise deve seguir padronização, determinada pela quantificação desses elementos, seja através de contagens, estimativas aproximadas, ou simplesmente a notificação de sua presença ou não. O *Clinical Laboratory Standarts Institute* (CLSI) recomenda as padronizações, muito delas devidamente descritas e aceitas na literatura.³

Preparo do sedimento

É universal o entendimento da utilização de amostras de urinas frescas, ou devidamente estabilizadas. As células ou outros elementos não celulares podem sofrer deterioração devido ao armazenamento inapropriado ou prolongado, resultando em pesquisas muitas vezes falsamente negativas ou ainda o aparecimento de artefatos, como por exemplo, a formação de cristais em urina sob refrigeração. Leucócitos, hemácias e cilindros podem sofrer desintegração, principalmente em urinas alcalinas.^{3,4,5}

O preparo para análise do sedimento urinário deve seguir ainda, em cada laboratório, os procedimentos já determinados previamente, independentemente da utilização de metodologia convencional ou comercial. Embora, cada vez mais os sistemas comerciais estarão presentes, considerando-se o fato de maior facilidade, reprodutibilidade e organização na execução, os métodos convencionais de centrifugação e análise microscópica da gota entre lâmina e lamínula são de boa confiabilidade, desde que estejam bem padronizados, obrigatoriamente.^{3,4,5}

Contagens

Os procedimentos de análise e contagem de células ou outros elementos presentes no sedimento urinário ocorrem, na sua grande maioria, após a centrifugação. A utilização de volumes fixos da amostra, tanto na centrifugação, como na alíquota a ser examinada priorizam um resultado mais confiável e reprodutivo. Um volume fixo ideal para centrifugação, segundo as padronizações existentes e a literatura, varia entre 10 e 15 mL, sendo 12 mL o volume preferido, pela existência de tubos cônicos graduados prontos para esta condição, os quais já permitem no mesmo tempo, a imersão completa de fitas reativas para a análise físico-química. No entanto, volumes menores podem ser utilizados, quando da amostra de crianças, por exemplo. Da mesma forma, o volume a ser examinado deve ser conhecido e este fato se evidencia mais facilmente quando são utilizadas câmaras de contagem de células como Câmaras de Neubauer e de Fuchs-Rosenthal ou sistemas comerciais desenvolvidos especificamente para a análise urinária, tais como: sistema KOVA, QUICK-PREP Urinalysis Sistem, entre outros. Embora os sistemas comerciais estejam disponíveis para utilização, a maioria dos laboratórios clínicos utiliza ainda o exame do sedimento centrifugado a fresco, entre lâmina e lamínula. Para essa análi-

se, recomenda-se a utilização de 0,02 mL (20 µL), retirados a partir da ressuspensão de 1 mL e após desprezado o sobrenadante. Devem ser contados 10 campos microscópicos, utilizando para a contagem de leucócitos, hemácias e células epiteliais, objetiva de 40X (normalmente aumento total de 400X, quando ocular de 10X). Para a quantificação de cilindros também devem ser observados pelo menos 10 campos microscópicos, porém, a objetiva de 10X (normalmente aumento total de 100X, quando ocular de 10X) e a observação das bordas da lamínula são mais indicadas, pois derivam nestes locais maiores presença de cilindros.^{3,4}

A contagem de leucócitos e hemácias obtém-se a partir da média aritmética dessas células encontradas. É considerado como valor de referência para leucócitos o encontro de até 5 a 8 leucócitos por campo microscópico examinado (400X). Hemácias no sedimento urinário não são esperadas habitualmente e sua presença pode estar relacionada com lesões das membranas glomerulares, injúrias de origem inflamatória na mucosa da bexiga (cistites) ou ainda traumas na mucosa do(s) ureter(es) causados por deslocamento de cálculos renais.^{3,4,5} Porém, valores de referência têm sido relatados na literatura: até 5 a 10 hemácias por campo microscópico (400X), utilizando-se análise direta do sedimento após centrifugação; 5.000 a 10.000 mil hemácias por mL de urina, utilizando-se câmara de contagem, também após centrifugação.^{17,14}

A quantificação de cilindros no sedimento é feita geralmente por 1+, 2+ ou 3+ (alguns laboratórios utilizam até 4+), onde o significado quantitativo de cada um desses deve ser de conhecimento de todos que realizam a citologia de urina. Obviamente se faz obrigatório relatar no relatório de exame os tipos de cilindros encontrados, caso seja esta a situação.

Leucócitos

A presença de leucócitos no sedimento de urina esta associada a inflamações ou infecções do trato urinário (ITU), principalmente quando de origem bacteriana e em patologias como uretrites, cistites e pielonefrites. Indicam, nestes casos, provável infecção aguda quando da presença de leucocitúria intensa. Embora as glomerulonefrites também se enquadrem como doenças inflamatórias, no entanto não são causadas normalmente pela ação direta ou presença de bactérias nos rins refletindo, portanto, mecanismo fisiopatológico diverso, não deixando, porém de apresentar leucocitúria. Releva-se este acontecimento pela grande capacidade de infiltração leucocitária (principalmente neutrófilos) em locais de inflamação e ao longo de todo o trato urinário (Quadro 1).²³ A presença do agente bacteriano no sedimento (bacteriúria) pode determinar o diagnóstico diferencial correto. Contudo, processos infecciosos de origem viral, parasitária ou fúngica também contemplam o aumento de leucócitos, embora nas infecções virais possam predominar leucócitos linfomononucleares ou ainda a presença de alterações morfológicas em células epiteliais (herpesvírus, citomegalovírus). Isso implica, mais uma vez, na boa valorização da análise citológica do sedimento urinário no diagnóstico diferencial entre essas patologias.^{5,6}

SEDIMENTO	MAIS FREQUENTE	MENOS FREQUENTE
Leucocitúria	- pielonefrites - infecções do trato urinário baixo	- glomerulonefrites - rejeição de transplante - comprometimento renal por doenças sistêmicas

Quadro 1: adaptado de <http://sigcb.com.ar/CDinterpretation/te/bc/295.htm>²³

A contagem de leucócitos no sedimento centrifugado ou sem centrifugação, segundo estudos de Arakawa *et al.* desenvolvido no Japão, ainda pode ser utilizado no acompanhamento de pacientes com infecção urinária após terapia antimicrobiana, mesmo sendo a urocultura a forma mais utilizada (baseado em modelo europeu e americano). No entanto, a avaliação da leucocitúria (piúria) pode reproduzir o mesmo resultado com maior facilidade técnica e a um custo menor, independente da forma de contagem, em câmara com urina não centrifugada ou a análise de 5 ou mais campos após centrifugação. A presença de leucócito na urina não centrifugada e mais de 5 leucócitos por campo após centrifugação são indicadores de persistência da infecção, mesmo na vigência ou após a utilização de antimicrobianos.⁸

Para uma perfeita avaliação dos resultados obtidos na análise do sedimento, cuidados técnicos adicionais devem ser sempre observados, pois em urinas hipotônicas e alcalinas poderá haver lise dos leucócitos em até 50% no prazo de uma hora, com a amostra em temperatura ambiente. Quando sob refrigeração a diminuição de 50% ocorrerá em duas horas.⁹ Urinas contaminadas devido a assepsia pobre, tanto em homens como em mulheres, podem apresentar leucocitúria.⁵

A presença e a intensidade da turbidez da urina ao exame macroscópico esta relacionada frequentemente com a presença de leucócitos, sendo diretamente proporcional ao número encontrado (Figura 3).^{4,5}

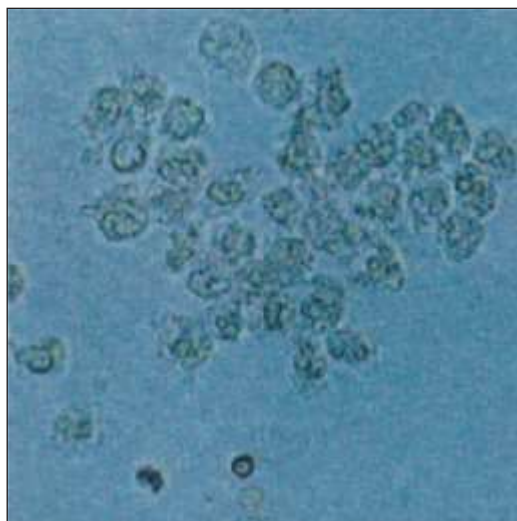


Figura 3: leucócitos. ²³

Hemácias

Hematúria é a denominação da presença de hemácias no sedimento urinário, podendo ser micro ou macroscópica, dependendo da intensidade e localização da lesão, bem como da integridade destas células. A hematúria macroscópica pode ser verificada já na coloração da urina, a qual será avermelhada ou hemorrágica, quanto maior a presença de hemácias íntegras, principalmente.^{4, 5} Por sua vez, a hematúria microscópica pode ser assintomática e, possui prevalência na população geral que varia de 0,5 a 22 %, de acordo com alguns estudos.^{14, 15, 16, 17} A morfologia eritrocitária no sedimento urinário não difere das suas características no sangue, persistindo como disco bicôncavo e refringente na urina isotônica (Figura 4). Na urina hipertônica haverá tendências de enrugamento celular (perda de água) determinando o aparecimento de crenação ou irregularidades da membrana (hemácias crenadas), ao passo que nas hipotônicas o edema será o efeito verificado mais comum, ocasionando lise celular (hemólise) com a liberação de hemoglobina livre. Nestas ocasiões de hemólise na urina a detecção de hemoglobina livre ou de ferro pelas fitas reativas pode não vir acompanhada da presença de eritrócitos íntegros no exame do sedimento.^{4, 5}

Menor que os leucócitos, ausência de núcleo e de estruturas intracitoplasmáticas evidentes, sua identificação, principalmente para os iniciantes ou menos experientes, pode-se tornar mais difícil. A confusão mais comum desta célula é com células leveduriformes (fungos). Alguns critérios e achados podem facilitar esta diferenciação: ausência de brotamentos laterais; contorno enegrecido quando observadas por intermédio de movimentos rotatórios para cima e para baixo do micrométrico; coloração com aspecto mais amarelado, devido à presença de hemoglobina no seu interior. Outro recurso disponível que pode ser utilizado é o acréscimo de ácido acético a 2% ao sedimento, pois as células leveduriformes são resistentes, diferentemente das hemácias que se rompem. Podem provir de qualquer local do trato urinário, desde o glomérulo até o meato uretral. Nas mulheres podem aparecer sem que exista algum significado clínico relevante, por contaminação durante a menstruação.^{4, 5} Presença elevada de eritrócitos no sedimento urinário determina enfermidades urinárias baixas ou renais (Quadro 2).²³

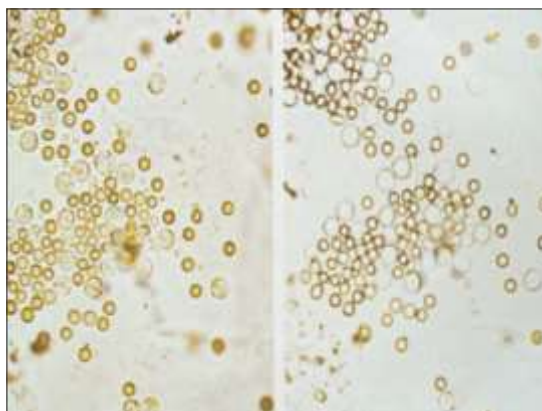


Figura 4: Hemácias e leucócitos.²⁴

<http://biomedicinafacil.blogspot.com/>

SEDIMENTO	MAIS FREQUENTE	MENOS FREQUENTE
Hematúria	<ul style="list-style-type: none"> - glomerulonefrites - comprometimento renal por doenças sistêmicas - tumores benignos e malignos dos rins e vias urinárias - traumatismos - má formação - trombose de vasos renais 	<ul style="list-style-type: none"> - cistite - tuberculose - nefropatia diabética - pielonefrites - doenças renais hereditárias

Quadro 2: adaptado de <http://sigcb.com.ar/CDinterpretation/te/bc/295.htm>.²³ Em negrito patologias inflamatórias e infecciosas do trato urinário que apresentam hematúria.

A observação de fragmentos eritrocitários (esquizócitos), eritrócitos com protrusões citoplasmáticas vesiculares (acantócitos), eritrócitos crenados (crenócito), diferentes tamanhos e formas anômalas são denominados de dismorfismo e garantem importante relação com a origem glomerular destas células (Quadro 3). Nos casos de hematúria microscópica o atentamento para este detalhe é fator determinante no entendimento da origem, pois eritrócitos de natureza não glomerular preservam sua morfologia natural (isomórficas). Esses achados informam, em especial, no diagnóstico de doença glomerular, como na glomerulonefrite, em pacientes com ausência de cilindúria e proteinúria no exame de urina.^{4, 5, 10} Alguns estudos têm demonstrado que pode ocorrer hematúria e cilindúria após exercício físico, demonstrando que, embora não seja patológica, a natureza dos eritrócitos é glomerular, pois são eritrócitos com dismorfismo presente (pseudonefrite atlética).^{11, 12, 13}

Diversos estudos têm buscado explicações para os fenômenos de dismorfismo. Quatro delas podem ser entendidas com prováveis causas: a) danos na membrana celular e na perda da hemoglobina ao transitarem pelos diversos segmentos do néfron, enfrentando diferentes concentrações iônicas e de osmolaridades; b) traumatismo mecânico por compressão ao atravessarem a membrana basal glomerular, com conseqüente deformação da membrana; c) a eritrofagocitose pelas células tubulares renais; d) liberação de enzimas digestivas na presença de processos inflamatórios glomerulares.^{17, 18, 19, 20, 21, 22}

POPULAÇÕES DE HEMÁCIAS ENCONTRADAS EM SEDIMENTOSCOPIA URINÁRIA	
População	Características das formas das hemácias
Acantócito	Em anel e com protrusões citoplasmáticas vesiculares
Células G1	Em rosca, com uma ou mais projeções citoplasmáticas
Codócito	Em sino ou em aspecto de alvo
Esquizócito	Fragmentos de hemácias irregulares
Hemácias "Fantasmas"	Hipocromia importante com afinamento da membrana

Quadro 3: Adaptada de VASCONCELLOS *et al.*¹⁷

Células Epiteliais

É de se esperar a presença de células epiteliais no sedimento urinário, certamente em quantidades extremamente variáveis, levando-se em conta que estes tipos celulares (epitélio) fazem constante esfoliação, tendo como única via de saída, a urina. Podem ser definidos três tipos de células epiteliais que revestem os rins e via urinárias: as células tubulares, células de transição e células pavimentosas. Em aspectos gerais as células tubulares recobrem praticamente todo o rim; as células epiteliais de transição estão localizadas desde a pelve renal até a porção proximal da uretra, incluindo a bexiga; já, por sua vez, as células epiteliais pavimentosas recobrem praticamente toda a mucosa uretral. Desta forma, podemos determinar a origem de cada uma delas, quando presentes no sedimento, já que podem ser oriundas de qualquer local. Contudo, mesmo possuindo essas células, diferentes tipos morfológicos ou características, pode haver, muitas vezes, dificuldades de diferenciação entre elas. No entanto, quando isso se torna possível, podem auxiliar sobremaneira a origem do processo patológico.^{1, 4, 5}

Morfológicamente as células de origem tubular apresentam características arredondadas, cúbicas ou cilíndricas, pouco maiores que um leucócito, com núcleo central ou mais periférico podendo, podendo nesta última forma, muitas vezes confundidas com cilindros, provocando a necessidade de análise cuidadosa, onde um importante fator diferencial é a presença do núcleo, o qual deve ser insistentemente procurado (Figura 5). Elevado número destas células no sedimento podem indicar dano nos túbulos renais, como na pielonefrite, glomerulonefrite ou mesmo necrose tubular aguda. Essas células podem se apresentar ainda altamente refringentes pela incorporação de gorduras (lipídeos) presentes no filtrado glomerular, sendo denominadas nestes casos de “corpos ovais gordurosos” e podendo estar frequentemente associado à lesão glomerular, por exemplo, na síndrome nefrótica, necrose tubular grave, *diabetes mellitus*, traumas, entre outros. Para melhor observação dessas estruturas podem ser utilizada coloração de Sudan III ou microscópio com luz polarizada.^{1, 4, 5}

As células transicionais se apresentam pouco maiores que as tubulares, com aspectos mais ovalados, poliédricas ou caudadas, núcleo menor e citoplasma mais abundante (Figura 6). Uma quantidade aumentada dessas células e agrupada na forma de sincícios pode estar presente após procedimentos urológicos invasivos, não tendo, porém, nenhum significado clínico.

Possuindo grande tamanho, comparado com as duas outras, as células pavimentosas contem núcleo pequeno e central, determinando uma baixa relação núcleo/citoplasmática (Figura 7). Sua origem é uretral e, quando se trata de mulheres, pode ser vaginal. Sua presença não esta associada a alguma patologia específica, exceto quando raramente em urina de mulheres, se apresentam na forma de *clue cell* (células epiteliais escamosas recobertas por cocobacilos, na sua maior parte) indicando infecção por *Gardnerella vaginalis*. Por outro lado, ainda em urina de mulheres, uma grande quantidade de células epiteliais escamosas no sedimento urinário pode representar contaminação vaginal.^{1, 4, 5}

Alterações morfológicas nestas células acontecem e podem ser observadas em situações neoplásicas ou tumorais dos rins e das vias urinárias, não sendo, no entanto, a análise do sedimento de urina centrifugado e a fresco, a melhor forma de identificá-las. Encontramos sim, melhor desempenho nestes casos, no exame citopatológico urinário após coloração de Papanicolaou, em lâminas preparadas preferencialmente em citocentrífugas ou fixadas após centrifugação por concentração progressiva.^{2, 5}



Figura 5: células tubulares.²³

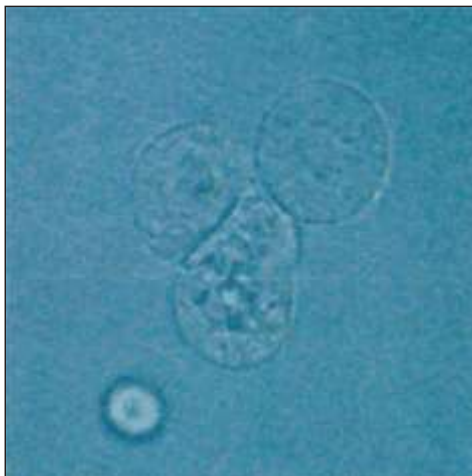


Figura 6: células transicionais.²³



Figura 7: Células epiteliais escamosas.²³

Cilindros

Estas estruturas geralmente não estão presentes ou fazem parte da urina. As células tubulares renais secretam uma glicoproteína denominada de proteína de Tamm-Horsfall, que segundo se sabe é a base de formação de todos os cilindros. Essa mucoproteína não é detectada pelas fitas reativas de urina e, embora a presença de cilindros na urina (cilindrúria) seja frequentemente acompanhada de proteinúria, estes podem aparecer sem a evidência de proteinúria concomitante, principalmente em situações de não comprometimento glomerular ou renal ou simplesmente denominadas de fisiológicas.^{4,5}

A formação dos cilindros acontece nos túbulos renais, mas principalmente nos túbulos contorcidos distais e ductos coletores, fato este justificado pelo entendimento que, nestes locais a urina atinge sua concentração e acidez máxima, contribuindo sobremaneira para esta condição, pois a proteína de Tamm-Horsfall frente a essas situações urinárias torna-se gelatinosa e pode incorporar à matriz do cilindro outras proteínas, solutos e células. O exercício físico e o estresse também auxiliam neste processo. Por este motivo os cilindros, além de se apresentarem como marcadores de lesões renais ou glomerulares podem estar presentes no sedimento urinário em situações de normalidade. Isso depende, é claro, do tipo específico encontrado e, nestes casos, caracteriza-se como um achado transitório e não permanente^{4, 5, 17} Geralmente em situações de comprometimento renal de origem inflamatória ou infecciosa, outros fatores desencadeantes podem aparecer, tais como, leucócitos, hemácias, células epiteliais, proteínas (passagem dos capilares para a luz tubular), provocando modificações nos componentes urinários, aliado a estase no local, contribuindo diretamente para o processo. O local, a extensão e a gravidade do dano onde é formado o cilindro, determinam sua forma, largura, tamanho e componentes,

desempenhando importante papel na elucidação e no diagnóstico das patologias que envolvem o rim.^{4,5}

Muitos são os cilindros que podem ser encontrados, representando diferentes situações, patológicas ou não. Observar-se-á na sequência, cada um deles e a situação clínica que representa (Tabela 4).

Cilindros Hialinos

São os encontrados com maior frequência, porém quando presentes em pequena quantidade (até 2 cilindros / campo microscópico), pode ser considerado normal, ou seja, não relacionado com algum dano renal. É composto praticamente por matriz gelatinosa derivada da glicoproteína de Tamm-Horsfall, com ausência de conteúdo ou estruturas celulares no seu interior (pode aparecer uma ou 2 células epiteliais ou leucócitos sem mudança da denominação). Isso o caracteriza morfológicamente com um aspecto de baixa refringência ou incolor (índice de refração próximo ao da urina), dificultando às vezes, sua observação no sedimento (Figuras 8, 9 e 10). São condições que possibilitam o encontro desses cilindros na urina: **a)** não patológicas: exercício físico, desidratação, exposição prolongada ao calor e estresse emocional; **b)** patológicas: glomerulonefrite, pielonefrite, doença renal crônica e insuficiência cardíaca congestiva.^{4,5}

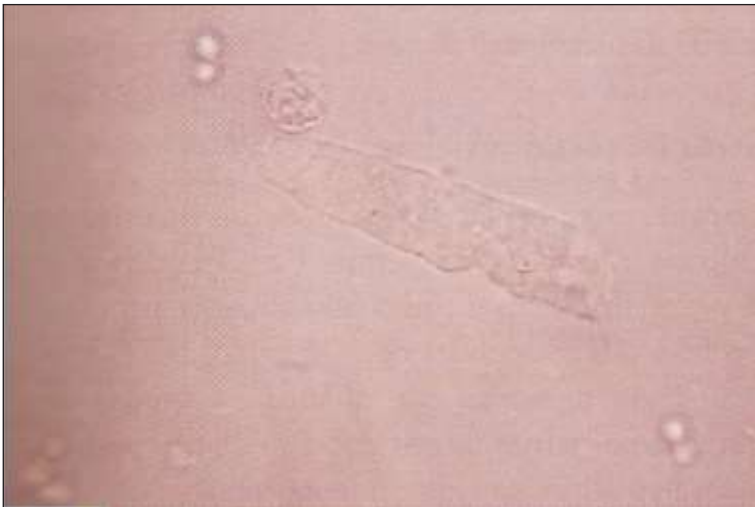


Figura 8: cilindro hialino (400x).⁴



Figura 9: cilindro hialino (400x).⁴

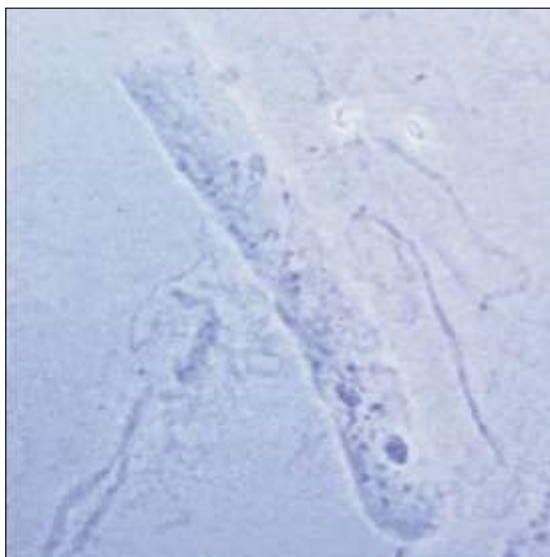


Figura 10: cilindro hialino (400x).²³

Cilindros Leucocitários

São compostos geralmente por neutrófilos, sempre se observando a presença de matriz e bordas, pois podem ser facilmente confundidos com aglomerados leucocitários, também presentes em urinas com leucocitúria intensa (Figuras 11 e 12). Os leucócitos podem sofrer degradação no interior do cilindro dando a esses

uma característica granular (cilindros granulados). A sua presença está associada frequentemente com pielonefrite (infecção do trato urinário superior), tornando-se um importante diferenciador de infecções do trato urinário inferior (cistites, uretrites). Inflamações agudas não bacterianas também podem apresentar cilindros leucocitários, como na nefrite intersticial, na nefrite lúpica e na glomerulonefrite.^{4, 5, 6}

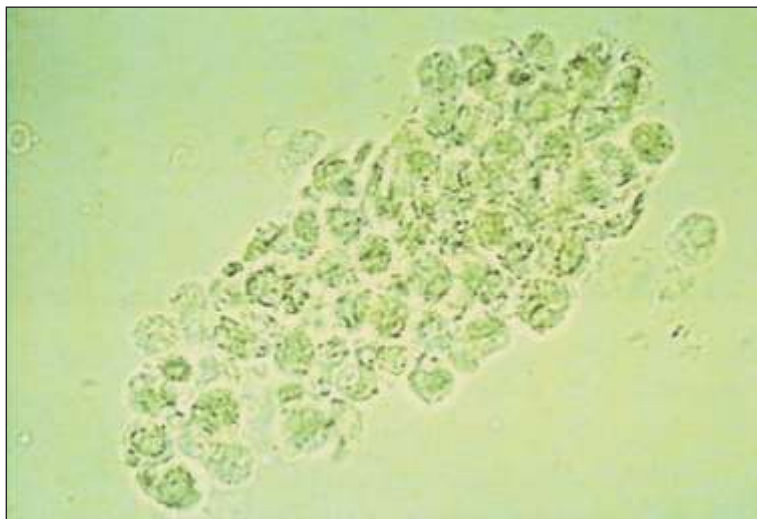


Figura 11: aglomerado leucocitário (400X).⁴

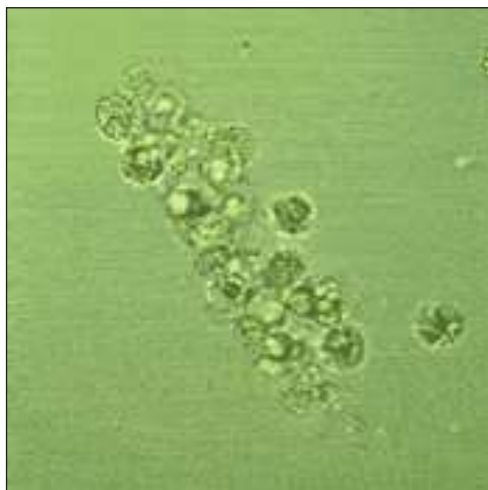


Figura 12: cilindros leucocitários (400X).²³

Cilindros Hemáticos (eritrocitários)

A especificidade da relação entre a presença de cilindros eritrocitários no sedimento urinário e lesão renal ou glomerular (hematúria de origem renal) é inequívoca. Em grande parte das vezes vem acompanhado de proteinúria e dismorfismo eritrocitário, porém mesmo quando presente como achado isolado é patognomônico de glomerulopatia. O dano glomerular de qualquer origem permite a passagem de eritrócitos para a luz tubular. São extremamente sensíveis ao meio, podendo ocorrer a degradação eritrocitária denotando aspecto granular. O aspecto mais hemoglobínico (amarelado ou castanho) o diferencia de cilindros granulares de outras células (leucócitos e células epiteliais) (FIGURAS 13, 14 e 15). São encontrados nas glomerulonefrites, nefrite lúpica, trauma e na pielonefrite grave.^{4,5,6}



Figura 13: cilindros eritrocitários (hemáticos) (400X).²³



Figura 14: cilindro hemático (400X).⁴

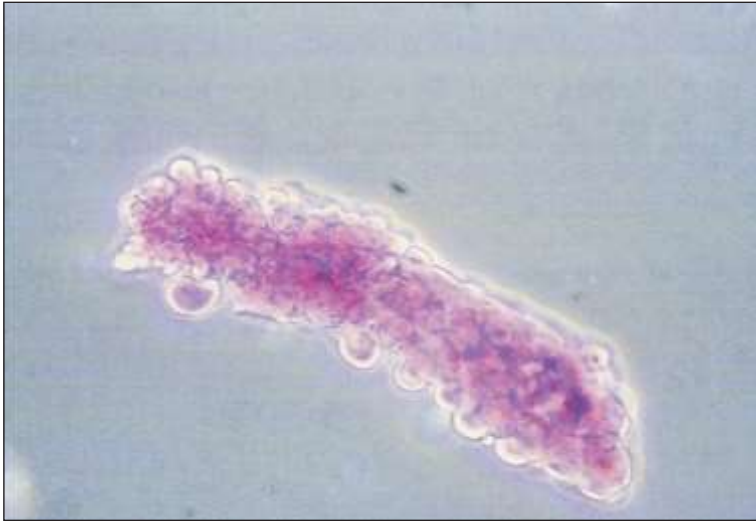


Figura 15: cilindro hemático (400X).⁴

Cilindros de Células Epiteliais

Por ser formado por células do epitélio tubular, representam lesões renais principalmente do tipo necrótica, com ruptura do revestimento tubular (Figuras 16, 17). Podem ser provocados por doenças virais (citomegalovírus), drogas ou rejeição por aloenxerto. Na pielonefrite podem estar presentes.^{4, 5, 6}



Figura 16: cilindros células epiteliais (a fresco). 400X.⁴



Figura 17: cilindros células epiteliais (corado por KOVA) (400X).⁴

Cilindros Granulares (granulosos)

Morfológica e caracteristicamente, estes cilindros se apresentam com conteúdo interno de aspecto granuloso, decorrente principalmente da desintegração de componentes integrados à matriz, como células epiteliais, leucócitos, entre outros. Podem ser classificados, de acordo com o aspecto mais fino ou grosseiro dos grânulos em granulosos finos e grossos, respectivamente (Figuras 18, 19, 20, 21). Contudo, objetivamente até o momento não há interesse clínico na distinção desses dois subtipos. São estruturas facilmente observáveis no exame do sedimento, mesmo no menor aumento (100X), tornando-se desnecessário o uso de maior aumento (400X) para este fim. Em condições de estase tubular, elevando a permanência dos cilindros granulares na luz tubular, ocorrerá uma maior desintegração dos seus grânulos, deixando-os com características céreas. Embora, tal qual os cilindros hialinos, os cilindros granulosos podem aparecer em situações fisiológicas após exercícios físicos, estresse, entre outros. Entretanto, a sua presença no sedimento urinário está associada a estados de doenças ou comprometimento renal, na maioria das vezes, tais como, pielonefrite, glomerulonefrite ou outras enfermidades renais significativas, agudas ou crônicas.^{4, 5, 6}

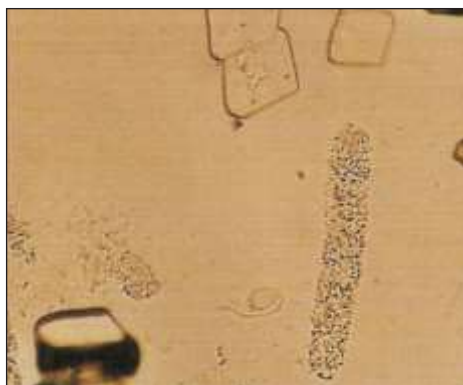


Figura 18: cilindros granulosos.⁴



Figura 19: cilindros granulosos.⁴

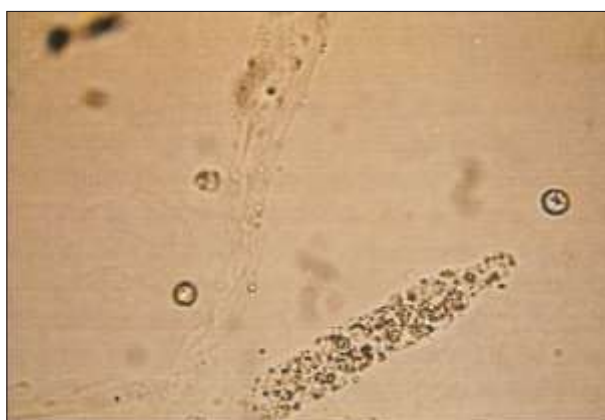


Figura 20: cilindros granulosos.⁴

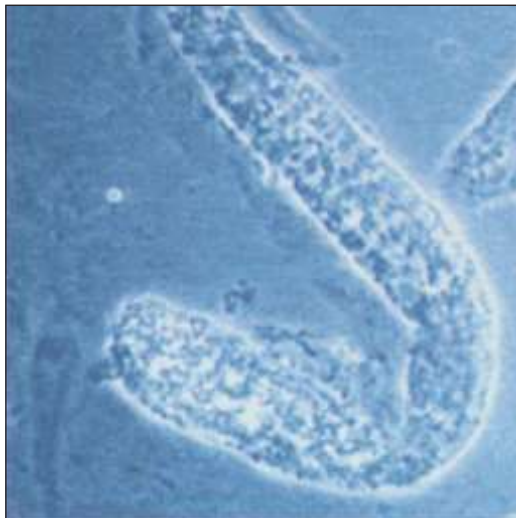


Figura 21: cilindros granulares (granulosos).²³

Cilindros Céreos

É resultante, normalmente, de estase tubular extrema, fato este que explica o aspecto curto, largo, rombo, de conteúdo dissolvido e homogêneo e com alta refringência (Figura 22). Denota lesão ou insuficiência renal grave, hipertensão maligna, amiloidose renal e nefropatia diabética. Na rejeição por aloenxerto também é encontrado.^{4, 5, 6}



Figura 22: cilindros céreos (400X).²³

Cilindros Gordurosos

Constituídos por elementos de gordura de variados tamanhos (triglicerídeos, colesterol) e estão associados a enfermidades degenerativas tubulares, tais como, síndrome nefrótica, glomeruloesclerose diabética, glomerulonefrite crônica e no lúpus. O exame do sedimento após a coloração com Sudam III pode facilitar a identificação desses cilindros.^{4, 5, 6}

TIPOS DE CILINDROS	SIGNIFICADO CLÍNICO
Cilindros Hialinos	1. Patológicos: pielonefrite, glomerulonefrite, insuficiência cardíaca 2. Não Patológicos: desidratação, exercício físico, exposição ao calor, estresse emocional
Cilindros Leucocitários	Pielonefrite, glomerulonefrite, nefrite intersticial, nefrite lúpica
Cilindros Eritrocitários (Hemáticos)	Glomerulonefrites, pielonefrite grave, trauma, nefrite lúpica
Cilindros Granulares (Granulosos)	Pielonefrite, glomerulonefrite, outras enfermidades renais
Cilindros Céreos	Insuficiência renal grave, amiloidose renal, hipertensão maligna, nefropatia diabética
Cilindros Gordurosos	Síndrome nefrótica

Tabela 4: tipos de cilindros urinários e o significado clínico.

Parasitos

Seja por contaminação fecal ou vaginal, ou mesmo pela ocupação no trato urinário provocando infecção, alguns parasitos, tais como fungos, helmintos e mais amiúde protozoários, podem ser observados na urina. A *Candida spp* é o fungo mais comum encontrado, principalmente em urina de mulheres ou urina de pacientes diabéticos (Figura 23). Quanto aos helmintos, o *Enterobius vermicularis* é o agente mais comum (Figura 24). No entanto, em relação aos protozoários e, mesmo em relação aos dois primeiros, sem sombra de dúvidas, o *Trichomonas vaginalis* é o mais comumente encontrado. A análise citológica do sedimento urinário a fresco, é a maneira mais importante de diagnóstico, onde se observa o protozoário, o qual se caracteriza morfológicamente por apresentar aspecto arredondado, piriforme ou ameboide, com o tamanho aproximado de um leucócito (neutrófilo). Porém, o achado mais evidente são os seus movimentos flagelares que provocam deslocamentos débeis e francamente visíveis (Figura 25). Habitualmente a infecção pelo *Trichomonas vaginalis* é acompanhada de intensa leucocitúria e de elevada esfoliação epitelial. *Balantidium coli* também pode ser encontrado.^{5, 6}



Figura 23: *Candida spp.* (400X).⁴



Figura 24: *Enterobius vermicularis* (400X).²⁴

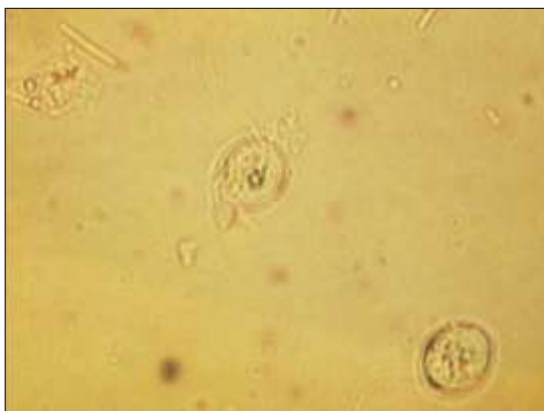


Figura 25: *Trichomonas vaginalis* (400X).²⁴

REFERÊNCIAS

1. Junqueira, L. C.; Carneiro, J. *Histologia Básica*. 11ª. Ed, Guanabara-Koogan, São Paulo, 2006.
2. Takahashi, M. *Color Atlas of Câncer Cytology*. 3a. ed, Igaku-Shoin, Tokyo-New York, 2000.
3. Clinical Laboratory Standarts Institute (CLSI). *Urinalysis and Collection, Transportation and Preservation of Urine Specimens. Approved Guideline. GP16-A2, 2ª Ed*, Pensilvania-Wayne, 2001.
4. Strasinger, S. K.; Dilorenzo, M. S. *Urinalise e Fluídos Corporais*. 5ª Ed, Livraria Médica Paulista Editora, São Paulo, 2009.
5. Graff, S. L. *Analisis de Orina – Atlas Color*. 1ª Ed revisada, Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, 1987.
6. Takahashi, M. *Color Atlas of Câncer Cytology*. 3a Ed, Igaku-Shoin, New York, 2000.
7. Cutler, P. *Como Solucionar Problemas em Clínica Médica*. 3ª Ed, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1999.
8. Arakawa, S.; Nakano, Y.; Miura, T.; Shigemura, K.; Tanaka, K & Fujisawa, M. *Clinical Study of Complicated Urinary Tract Infection Using The UTI Criteria (Draft Fourth Edition): Measurement Methods for Pyuria*. *International Journal of Urology*, 2006.
9. Trigger, D. R. & Smith, J. W. G. *Survival of urinary leukocytes*. *J. Clin. Pathol.* 19:443-447, 1966.
10. Van Iseghem, P. H.; Hauglustaine, D.; Bollens, W & Michielsen, P. *Urinary Erythrocyte Morphology in Acute Glomerulonephritis – Case Report*. *British Medical Journal*, vol 287, 1983.
11. Fassett, R. G.; Owen, J. E.; Fairley, J.; Birch, D. F. & Fairley, K. F. *Urinary Red-Cell Morphology During Exercise*. *British Medical Journal*, vol 285, 1982.
12. Farley, K. F.; Birch, D. F. *Hematuria: a Simple Method for Identifying Glomerular Bleeding*. *Kidney*, 21:105-8, 1982.
13. Siegel, A. J.; Hennekens, C. H.; Solomom, H. S & Van Boeckel, B. *Exercise Related Hematuria. Findings in a Group of Marathon Runners*. *JAMA*, 241: 391-2, 1979.
14. Bastos, M. G.; Martins, G. A. & Paula, R. B. *Diagnóstico Diferencial na Hematúria*. *J Bras Nefrol*, c. 20, p. 425-40, 1998.
15. Messing, E. M. *et al.* *Hematuria Home Screening: Repeating Tests Results*. *J Urol*, v. 154, p. 57-61, 1995.
16. Vehaskari, V.M. *et al.* *Microscopic Hematuria in School Children: Epidemiology and Clinic-Pathologic Evaluation*. *J Pediatr*, v. 95, p. 676-84, 1979.
17. Vasconcellos, L. S.; Penido, M. G. M. G. & Vidigal, P. G. *Importância do Dismorfismo Eritrocitário na Investigação da Origem da Hematúria: Revisão de Literatura*. *J Bras Patol Med Lab*, v. 41, p. 83-94, 2005.

18. Jones, B. F. Urine Osmolality and Urinary Red Cell Morphology. *Nephron*, v. 59, p. 157, 1991.
19. Kitamoto, Y. *et al.* The Mechanisms of Glomerular Dismorphic Red Cell Formation in the Kidney. *Tohoku J Exp Med*, v. 167, p. 93-105, 1992.
20. Kubota, H. *et al.* Mechanisms of Urinary Erythrocyte Deformity in Patients with Glomerular Disease. *Nephron*, v. 48, p. 339-9, 1988.
21. Kohler, H. *et al.* Acanthocyturia: a Characteristic Marker for Glomerular Bleeding. *Kidney*, v. 40, p. 115-20, 1991.
22. Rath, B. *et al.* What Makes Red Cells Dysmorphic in Glomerular Hematuria? *Ped Nephrol*, v. 6, p. 424-7, 1992.
23. <http://sigcb.com.ar/CDinterpretation/te/bc/295.htm> (acessado em 09/05/2010)
24. <http://biomedicinafacil.blogspot.com/> (acessado em 09/05/2010)

28. A CONTRIBUIÇÃO DA CITOMETRIA DE FLUXO NO DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DAS ITUs

*Eduardo Marques
Railson Henneberg*

Atualmente a realização de testes laboratoriais de forma automatizada é uma tendência no laboratório clínico. Setores como a hematologia clínica e a bioquímica clínica são exemplos do sucesso do uso da automação, como garantia de confiabilidade e capacidade de realizar números expressivos de exames com qualidade. Com relação à urinálise, a necessidade da implementação de sistemas automatizados, ainda não é unanimidade entre os profissionais que atuam na área. Atualmente inúmeros estudos buscam entender ou correlacionar as possíveis diferenças entre os métodos tradicionais de contagem celular na urina, com o método automatizado de análise de partículas dos equipamentos, tentando estabelecer os reais benefícios de sua implantação na rotina laboratorial.

O modo de analisar uma amostra de urina acompanhou vários momentos do avanço do conhecimento científico, como a invenção do microscópio; a criação de métodos bioquímicos; o advento das tiras reativas e mais atualmente, os métodos totalmente automatizados de análise e contagem celular. Em geral, a maioria dos laboratórios, realiza o exame de urina pelos métodos manuais, subdividindo o teste em exame físico, químico e análise do sedimento, sendo as etapas de difícil padronização, o que torna a análise de urina um exame com grande variabilidade de resultados, dificultando a utilização diagnóstica, principalmente nas infecções urinárias.

Os fatores que dificultam a padronização do exame de urina de forma manual são diversos e complexos (Quadro 1). Assim, um procedimento de qualidade, gera um custo elevado aos laboratórios, principalmente pela necessidade de uma equipe de profissionais amplamente treinados e qualificados para a realização do exame. Atualmente, tanto o *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI) dos Estados Unidos como o *European Urinalysis Guidelines* recomendam a padronização do exame de urina, por meio de um sistema automatizado e/ou de um procedimento padronizado em câmara de contagem de células de volume pré-definido¹.

Quadro 1 - Fatores a serem padronizados no exame de urina

Critérios de aceite da amostra	Volume de urina a ser centrifugado
Qualidade da tira reativa	Métodos de contagem: uso ou não de câmaras de contagem
Tempo de centrifugação	Dosagens bioquímicas complementares
Rotação da centrífuga	Uso ou não do urodensímetro
Calibração da centrífuga	Valores de referência
Confecção do laudo	Variabilidade interobservadores

Especificamente com relação a análise do sedimento urinário, entre as dificuldades encontradas, destacam-se a subjetividade da identificação microscópica; a pequena reprodutibilidade e a dificuldade do estabelecimento de limites de referência o que leva a uma falta evidente de padronização. Por outro lado, a maioria dos analisadores automatizados de urina utilizam como método de contagem e análise celular a citometria de fluxo, o que permite contagens mais precisas das partículas, além de uma redução substancial do trabalho no setor. Assim, as várias limitações, principalmente na identificação correta de alguns elementos do sedimento urinário (cilindros, cristais, entre outros.), seguem sendo um fator limitante para sua maior utilização. Analisando todos os fatores, o debate sobre a utilização da citometria de fluxo no setor da urinálise e a utilização como ferramenta diagnóstica se faz necessário. Dentro do contexto, o capítulo visa proporcionar ao leitor o conhecimento de princípios básicos da citometria de fluxo, as comparações com os métodos manuais e analisar de forma clara quando e onde ela pode ser útil.

Princípios da citometria de fluxo utilizados na uroanálise

Fazendo-se uma abordagem didática, propõe-se definir o que é a citometria de fluxo e os princípios que estão envolvidos. O uso é amplamente difundido nas análises hematológicas, porém, é um assunto relativamente novo na análise do sedimento de urina.

Como o nome diz, não fica difícil conceituar o termo citometria de fluxo, que nada mais é do que “medir” as células, individualmente, que passam através de uma câmara de contagem arrastadas por um fluxo constante de um líquido condutor de eletricidade. É claro que não é algo assim tão simples, uma vez que há diversos problemas envolvidos nas medidas. O fato de a urina não ser constituída apenas de células, mas de várias partículas como cristais e cilindros, além de micro-organismos (bactérias, leveduras e protozoários) e, onde muitas vezes apresentam tamanhos e estrutura semelhantes, pode acabar interferindo na contagem das células urinárias. Assim, não é utilizado apenas um princípio ou metodologia, mas sim um conjunto, capazes não só de identificar como diferenciar as células de partículas e micro-organismos e, em alguns casos, separá-los em subpopulações.

Propõe-se a desvendar a metodologia pelo estudo da câmara de contagem. Ela é estreita o suficiente de modo a permitir que apenas uma partícula ou célula passe por vez.

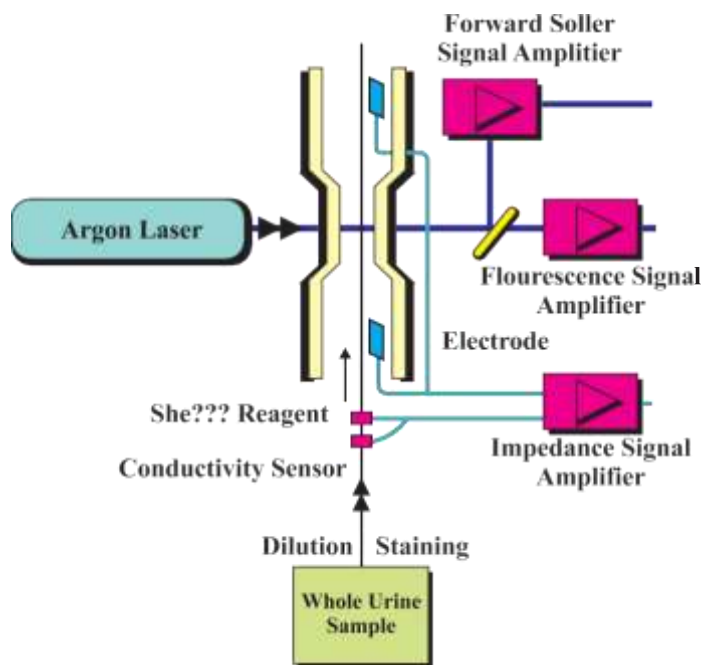


Figura 1 – Esquema da câmara de contagem do equipamento UF-100 da Sysmex . (autorizado pela Sysmex ®).

Na entrada da câmara de contagem, pode-se perceber a existência de dois sensores de condutividade, dentre os quais existe uma diferença de potencial com valor fixo. O líquido de arraste (um líquido condutor de eletricidade) mantém essa diferença de potencial constante. As células, de uma maneira geral, são más condutoras de eletricidade, ou seja, possuem uma **bioimpedância**. Quando passam entre os eletrodos, as células modificam a diferença de potencial destes, gerando um sinal que é diretamente proporcional ao tamanho da célula. Assim, quanto maior o tamanho, maior a bioimpedância, logo maior e mais longa a modificação na diferença de potencial dos eletrodos, ou em outras palavras, maior o sinal registrado pelo equipamento.

No meio da câmara de contagem, um feixe de laser de argônio incide sobre as partículas e células que estão passando, enfileiradas uma a uma. O laser de argônio não é usado ao acaso. Ele possui um comprimento de onda de 488 nanômetros, capaz de excitar dois corantes fluorescentes diferentes ao mesmo tempo. Os corantes são adicionados a uma porção de urina previamente separada dentro do equipamento e aquecidos para melhor resultado da coloração. A carbocianina emite uma fluorescência esverdeada e cora principalmente estruturas de membrana. Já a fenantridina, insere-se entre os ácidos nucleicos e coram

estas estruturas nucleares numa coloração alaranjada. Assim, se tomar-se como exemplo a fluorescência emitida por duas células como leucócitos e eritrócitos, comumente presentes no sedimento urinário, observa-se á que o leucócito além de possuir fluorescência de uma extensa região de membrana (é maior que os eritrócitos) ainda possui fluorescência nuclear, enquanto que o eritrócito só possui fluorescência de membrana, já que não apresenta núcleo. Logo o sinal de fluorescência gerado por um leucócito é maior e mais intenso que o sinal gerado por um eritrócito. A fluorescência caracteriza então o segundo princípio envolvido na citometria de fluxo.

Ao mesmo tempo em que excita os corantes, o feixe de laser acaba por ser desviado. O desvio ocorre em várias direções, mas o equipamento possui detectores que avaliam apenas o desvio frontal (*forward scatter light*), diferentemente dos analisadores hematológicos que analisam também a luz desviada lateralmente. Em outras palavras, a luz desviada frontalmente é a interrupção do feixe de laser que chega ao detector localizado do outro lado da câmara de contagem, e, por sua vez tem relação direta com o tamanho da célula ou partícula que o interrompeu. Para exemplificar tomar-se-á duas células: uma epitelial e um eritrócito. A célula epitelial desvia o laser por muito mais tempo já que é muito maior que um eritrócito, assim o sinal gerado é maior e mais intenso. Este é, então, o terceiro e último princípio envolvido nos citômetros para urinálise.

Como já definiram-se os princípios, precisamos entender agora como o equipamento interpreta os sinais, que são gerados na forma de picos (para todos os parâmetros).

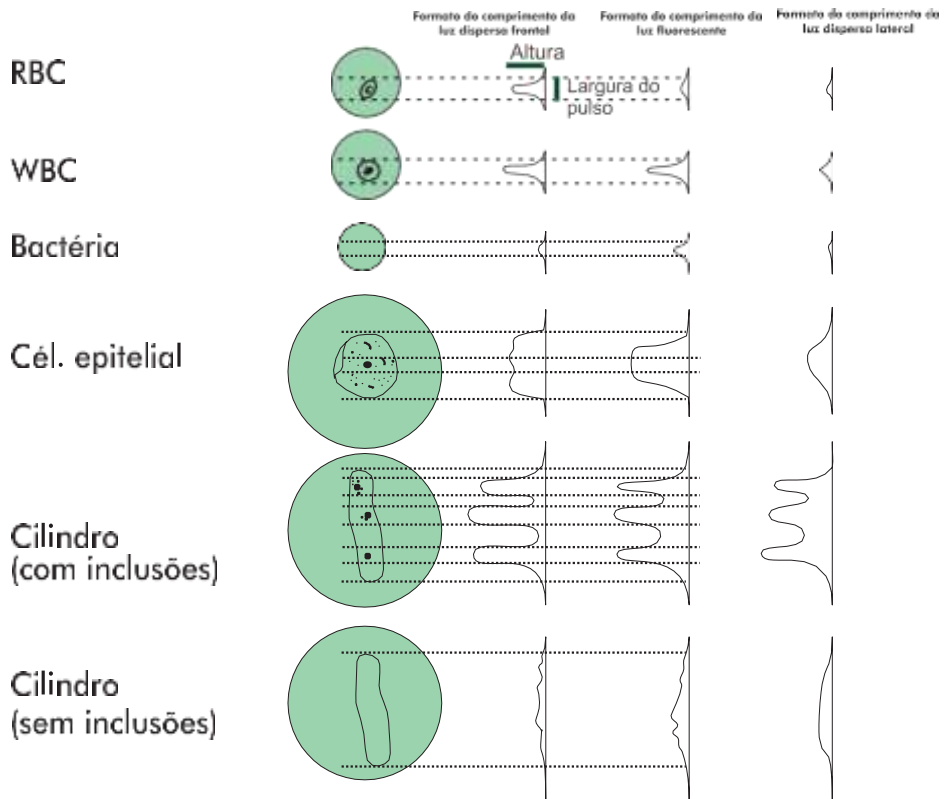


Figura 2 – Os sinais gerados pelos sensores do Sysmex UF-100. Nota-se que todos são construídos na forma de picos onde pode-se avaliar a altura dos picos (intensidade do sinal) e o tamanho da base (correlação com a área da partícula que o gerou). (Autorizado pela Sysmex®).

Cada sinal é, então, convertido pelo software do aparelho em um ponto que é plotado em dois gráficos: um de forma a analisar e quantificar partículas menores (eritrócitos, leucócitos e bactérias, leveduras e espermatozoides), e outro gráfico maior, onde se analisa células epiteliais, cilindros hialinos e cilindros com inclusões.

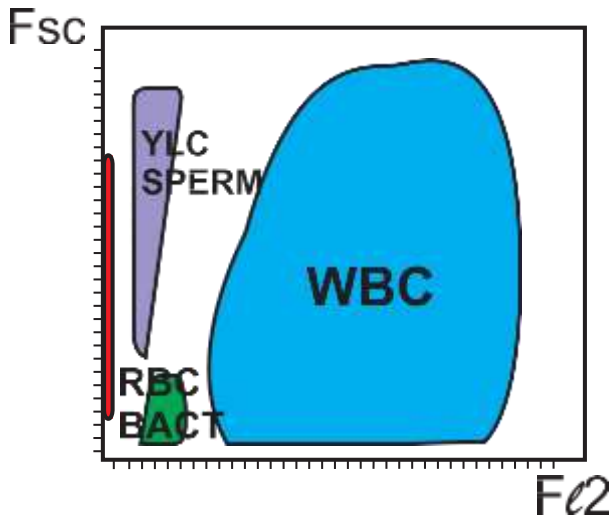


Figura 3 – O gráfico que analisa eritrócitos, leucócitos, bactérias, leveduras e espermatozoides (adaptado do manual Sysmex UF-100). Nota-se que sua construção se dá no eixo das abscissas pela fluorescência e no eixo das coordenadas pela luz desviada frontal (*Forward scatter light*).

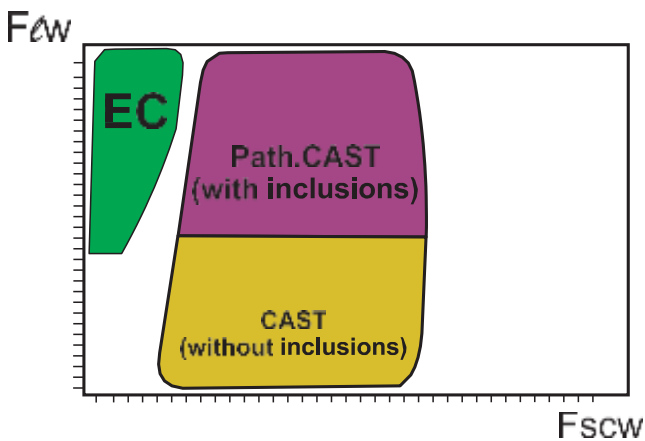


Figura 4 – O gráfico que analisa cilindros hialinos, cilindros com inclusões e células epiteliais (adaptado do manual Sysmex UF-100). Nota-se que sua construção se dá no eixo das abscissas pela luz desviada frontal (*Forward scatter light*) e pela fluorescência no eixo das coordenadas. A diferença com relação ao gráfico anterior é que ao invés da altura do sinal em forma de pico usa-se o tamanho da base do sinal.

A interpretação dos gráficos faz-se de maneira bastante simples. Tomar-se-á como exemplo hemácias *versus* leucócitos (Figura 3). Os eritrócitos, por apresentarem área de membrana muito menor que os leucócitos encontram-se próximo do eixo das abscissas (fluorescência), além de desviar pouca luz, encontrando-se próximo do eixo das coordenadas (luz desviada frontal). Já os leucócitos possuem além da fluorescência de membrana a fluorescência do núcleo (acham-se afastado do eixo das coordenadas) e da mesma forma desviam mais luz que os eritrócitos (estão afastados do eixo das abscissas). O raciocínio se aplica para todos os parâmetros, com a diferença de que no caso do gráfico apresentado na Figura 4, usa-se o tamanho da base do pico ao invés da altura .

Linha sysmex – modelos UF-50, UF-100 e UF-1000

Dentre os fabricantes de equipamentos de automação laboratorial, a Sysmex destaca-se por possuir uma linha específica para a urinálise. Os modelos UF-50, UF-100 e UF-1000 já possuem razoável tempo no mercado, principalmente em laboratórios com grande demanda de exames. O modelo UF-100, identifica as amostras por código de barra, aspira cerca de 800 μL de urina, e por fluorescência, cora o DNA e as membranas dos elementos da urina. Células, bactérias e cilindros são analisados por impedância elétrica para a determinação do volume; pela dispersão de luz para análise do tamanho e por corantes fluorescentes (fenantridina para ácidos nucleicos e carbocianina para membranas celulares) identificando características citoplasmáticas e nucleares. As células são classificadas de acordo com o tamanho, forma, volume e características de coloração em *scattergrams* (Figuras 3 e 4) o que facilita a visualização².

O modelo UF-50 é uma opção da Sysmex para laboratórios com menor demanda de exames de urina. Com a total validação do sistema UF-100, o modelo tem como atrativo o menor custo. A principal diferença do UF-50 é a menor velocidade de análise, cerca de 70 segundos por amostra, praticamente metade do modelo UF-100, o que representa uma capacidade de trabalho de 50 amostras por hora.

Recentemente foi lançado o modelo UF-1000 que possui como importante diferencial em relação aos outros dois modelos (UF-50 e UF-100) uma análise mais sensível para a detecção de bactérias. O equipamento também aperfeiçoou a análise ótica, identificando cerca 65.000 partículas em cada amostra analisada, o que melhorou a sensibilidade e a precisão na classificação e separação dos elementos analisados.

Além dos parâmetros anteriormente fornecidos pelos outros modelos, o UF-1000 oferece informações como alarmes específicos para infecções do trato urinário (ITUs) e uma função exclusiva a respeito da análise de bactérias, o que permite uma contagem adicional, com um volume maior de urina, o que melhora a precisão e sensibilidade na detecção de infecções bacterianas, bem como de contagens de bactérias entre 10^3 e 10^4 /mL.

Utilidade clínica da citometria de fluxo na urinálise

Vários estudos são periodicamente publicados sobre o uso da citometria de fluxo como um método novo para a análise de uma amostra de urina. A implantação da automação no setor da urinálise através destes equipamentos (citômetros de fluxo), requer intensos estudos preliminares para avaliar a viabilidade e a confiabilidade que estes analisadores poderão trazer ao laboratório. A complexidade dos serviços prestados pelo laboratório, a demanda de exames, o atendimento ambulatorial ou hospitalar são fatores a serem rigorosamente analisados para uma consciente e correta utilização destes equipamentos.

A citometria de fluxo na uroanálise tem sido estudada como uma maneira de melhorar a acurácia e a precisão das contagens de células, visto que as técnicas manuais são reconhecidamente, métodos que apresentam inúmeras limitações e interferências, além do grande período de tempo para sua realização. Em geral, os citômetros de fluxo contam mais células que as contagens manuais, o que pode ser explicado pela perda ou lise de células durante as etapas de centrifugação, decantação e ressuspensão.

Vários estudos demonstram que o modelo UF-100 da Sysmex possui satisfatória correlação com as técnicas manuais, principalmente para as contagens de eritrócitos e leucócitos^{3,4,5}. Porém, para a identificação dos outros elementos do sedimento urinário, em geral, o modelo possui limitações, o que justifica a utilização da avaliação microscópica para a avaliação dos elementos. Na sequência, será explicitada a utilização de alguns parâmetros obtidos a partir dos citômetros e a real importância no diagnóstico das infecções do trato urinário e das doenças renais.

Contagens de leucócitos e bactérias

Na rotina laboratorial os testes de triagem para o diagnóstico das ITUs podem ser classificados em métodos que utilizam ou não a cultura de urina. A triagem mais rápida para as ITUs é realizada pelas provas de nitrito e esterase leucocitária, obtidas nas tiras reativas. Aliado as informações a contagem de bactérias e leucócitos pelos métodos automatizados tem sido preconizados como úteis para uma detecção mais rápida das ITUs.

Um dos maiores interesses do uso das contagens automatizadas, baseia-se na importância da contagem de bactérias. Como os procedimentos de crescimento, identificação e teste de sensibilidade são demorados e de custo elevado, o enfoque na contagem de bactérias de maneira automatizada tem como objetivo diminuir os casos de culturas desnecessárias, bem como economizar tempo nos setores de urinálise e microbiologia clínica. O estabelecimento de valores de referência, ou limites que possam indicar uma infecção do trato urinário é o foco de muitos pesquisadores, mesmo que os fabricantes recomendem pontos de corte (*cut-off*) próprios. Evans (2006) utilizando *cut-offs* para bactérias de 3000/μL e de 111/μL para leucócitos reduziu o número de amostras que requeriam cultura em 40% (Figura 5). Relatando a avaliação do modelo UF-100, após um ano de utilização do equipamento, Gessoni

(2003) sugere que valores abaixo de 3000/ μL para bactérias e 25/ μL para leucócitos indicam uma taxa de 98% de probabilidade de culturas negativas.

A boa correlação entre contagens elevadas de bactérias com concomitante elevação do número de leucócitos é um dado importante para a avaliação da necessidade do cultivo de uma amostra de urina, tendo um excelente valor preditivo positivo para as infecções do trato urinário. No entanto, resultados falso-negativos podem ocorrer nos citômetros de fluxo, detectadas em culturas positivas com contagens baixas de bactérias no equipamento. Uma das explicações para este quadro, seria a presença de bactérias, com diâmetro entre 0,5 – 1,5 μm , como o *Staphylococcus aureus*, para as quais o analisador não possui sensibilidade de detecção suficiente⁶.

O uso da contagem automatizada de bactérias deve levar em consideração vários fatores, dentre eles a característica ambulatorial ou hospitalar do laboratório no qual o equipamento está inserido. Visto que as infecções urinárias de origem ambulatorial têm como principais agentes etiológicos as enterobactérias, a sensibilidade das contagens de bactérias pelos citômetros teria um valor preditivo mais aceitável para detectar estas infecções. Por outro lado, nos ambientes hospitalares, este perfil pode ser significativamente diferente, visto que outros patógenos como alguns cocos, poderiam diminuir a eficiência das contagens.

Apesar de fornecer parâmetros importantes para bactérias e leucócitos estes índices precisam ser analisados com muito cuidado, o que limita muitas vezes, o sucesso do seu uso, sem um critério bem definido. É importante salientar que não existem limites bem definidos do que é ou não patológico para contagens de bactérias e leucócitos, sendo fundamental o estabelecimento de valores de referência próprios para cada laboratório, respeitando as características⁶.

O lançamento recente do modelo UF-1000 da Sysmex, com uma contagem estendida para bactérias, demonstra a tendência das novas gerações de equipamentos automatizados, diminuindo suas limitações e melhorando a utilização no diagnóstico das infecções do trato urinário.

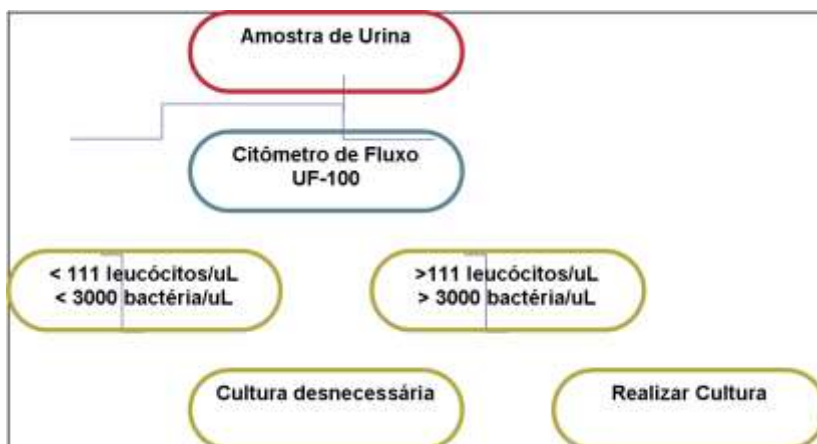


Figura 5 – Fluxograma para avaliação da necessidade da realização de cultura de urina (EVANS, 2006, adaptado).

Dismorfismo eritrócitário

O estudo da morfologia dos eritrócitos encontrados na urina têm sido útil para a identificação do foco da hemorragia renal. A variação do tamanho dos eritrócitos, presença de protusões ou fragmentações celulares caracterizam o dismorfismo eritrócitário, sendo que a presença, na maioria dos casos, reflete uma hemorragia glomerular^{7,8}. Quanto a sua localização, as hematúrias podem ser classificadas em glomerulares, de origem nefrológica ou não, glomerulares de origem urológica. A investigação da hematúria requer anamnese e exame físico detalhados, além de uma investigação laboratorial e de imagem que possam ser elucidativas. Como o exame de urina é, na maioria dos casos, o ponto de partida para futuros procedimentos diagnósticos, os achados laboratoriais como proteinúria, cilindros eritrocitários e dismorfismo eritrocitário, são fortes indicativos de uma hemorragia de origem glomerular⁹.

Os eritrócitos que provém dos túbulos, ductos ou de outros locais do trato urinário e que caracterizam as hemorragias não glomerulares, são chamadas de eritrócitos isomórficos, enquanto que, as eritrócitos dismórficos, provindos dos glomerulos, variam em forma, dimensão e conteúdo de hemoglobina¹⁰. A alteração da morfologia eritrocitária mais relacionada com a hemorragia glomerular é o acantócito, que por várias protusões celulares são melhores visualizados pela microscopia de contraste de fase¹¹.

Vários fatores devem ser analisados para uma boa avaliação do dismorfismo eritrocitário na urina. A realização de exercícios físicos, grande ingestão de líquidos antes da coleta e o tempo para realizar o teste parecem ter influência em qualquer método de análise da variação morfológica do eritrócito¹¹. Assim, a falta de valores de referência bem definidos e a necessidade de profissionais com ampla experiência, dificultam uma utilização mais ampla da informação.

Com relação aos limites para a identificação do dismorfismo eritrocitário, não existe um consenso definido, porém a presença de pelo menos 5% de acantócitos é um indicativo de hemorragia de origem glomerular¹². A literatura demonstra grandes variações de limites, com oscilações entre achados de 10 até 80% de eritrócitos dismórficos, com variáveis índices de sensibilidade e especificidade^{13,14,15}. Assim o uso de citômetros que avaliam de forma mais específica, o volume das células, vem sendo usado também para melhorar a performance desta informação tão importante na urinálise.

O uso da microscopia de contraste de fase tem sido considerada a forma mais adequada de avaliar o dismorfismo eritrocitário, mesmo que alguns autores validem o estudo com a microscopia ótica convencional quando associado a uma técnica de coloração. Dentre as limitações dos métodos, destacam-se o alto custo dos microscópios de boa qualidade, principalmente os de contraste de fase; o grande tempo para a realização da análise e a impossibilidade do arquivamento das lâminas.

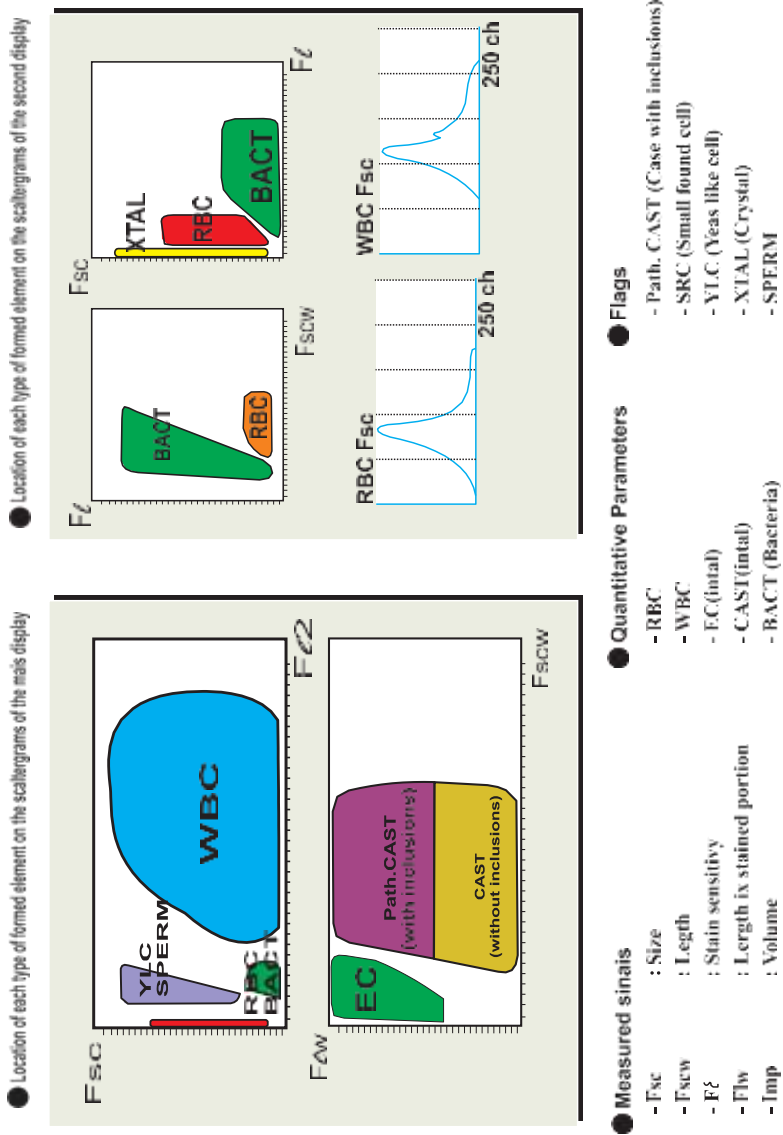


Figura 6 – Display do equipamento UF-100 da Sysmex (autorizado pela Sysmex).

Nos citômetros, através da impedância, são fornecidos histogramas com informações a respeito do volume dos eritrócitos, o que permite uma visualização mais precisa das possíveis variações morfológicas destas células (Figura 6). Pelo fato dos eritrócitos que atravessam a membrana capilar dos glomérulos sofrerem algumas alterações de forma, a tendência destas células é de possuírem volumes médios diminuídos quando comparados com eritrócitos que não passaram pelos glomérulos. Assim, o critério de Kitasato parece ser útil na distinção de hemorragias glomerulares e não glomerulares. Utilizando-se o histograma de volume, o ponto de discriminação para lesão glomerular baseia-se na presença de eritrócitos com volumes menores que 126 ch, enquanto que sangramentos não glomerulares seriam caracterizados por eritrócitos com volumes maiores que 84 ch^{16,17} (Quadro 2). Quando os critérios não conseguem distinguir a origem da hematúria, outros achados laboratoriais podem ser associados, como a contagem de leucócitos, presença de bactérias ou leveduras, que indicam um sangramento de origem não glomerular, enquanto que a visualização de células tubulares renais ou cilindros patológicos indicariam a origem glomerular.

Quadro 2 – Critérios baseados no histograma de distribuição dos volume dos eritrócitos no citômetros para a determinação da origem da hematúria – Critério de Kitasato (HYODO, 1997).

Critério de Kitasato	
Hemorragia glomerular	Mais que 80% dos eritrócitos : ≤ 126 ch Menos que 80% dos eritrócitos : ≥ 84 ch
Hemorragia não glomerular	Mais que 80% dos eritrócitos: ≥ 84 ch
Hemorragia mista	Menos que 80% dos eritrócitos: ≤ 126 ch Menos que 80% dos eritrócitos: ≥ 84 ch

Em relação às técnicas que utilizam a microscopia (ótica e contraste de fase) como método de detectar o dismorfismo eritrocitário, a citometria de fluxo representa uma maneira mais rápida de realizar esta identificação, o que pode ser importante para o direcionamento do paciente para uma avaliação urológica ou nefrológica, diminuindo o número de análises microscópicas desnecessárias¹⁶. Porém não é consenso, que a citometria de fluxo possa substituir totalmente a microscopia do sedimento urinário, pois algumas características celulares, são ainda, apenas vistas sob olhares de observadores experientes e atentos. A associação das informações obtidas pelos citômetros e pela microscopia, talvez seja a metodologia mais coerente para uma melhor detecção do dismorfismo eritrocitário.

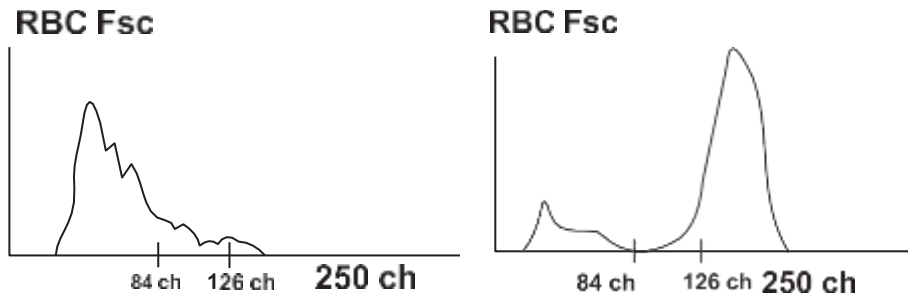


Figura 7 – Exemplo da utilização do critério de Kitasato. À esquerda, exemplo de um scattergram de uma hemorragia glomerular. À direita, hemorragia não glomerular.

Cilindros e outros elementos

A introdução dos citômetros de fluxo na rotina laboratorial do setor da urinálise aumenta a capacidade de análise dos laboratórios, o que pode otimizar os serviços prestados, principalmente pela velocidade com que as informações são obtidas. Com relação às contagens de eritrócitos e leucócitos, os analisadores apresentam boa correlação com outras metodologias de contagens (câmaras de contagem), bem como com as tiras reativas².

O debate em relação a substituição das técnicas que utilizam a microscopia pelas metodologias automatizadas, é foco de muitos estudos, que procuram estabelecer algoritmos ou fluxogramas que possam indicar quando a revisão microscópica se faz necessária (Figura 8). Dentro do contexto, a análise de elementos como cilindros, leveduras e cristais parecem ser a principal limitação verificada pelos citômetros, o que justifica a identificação, através da microscopia.

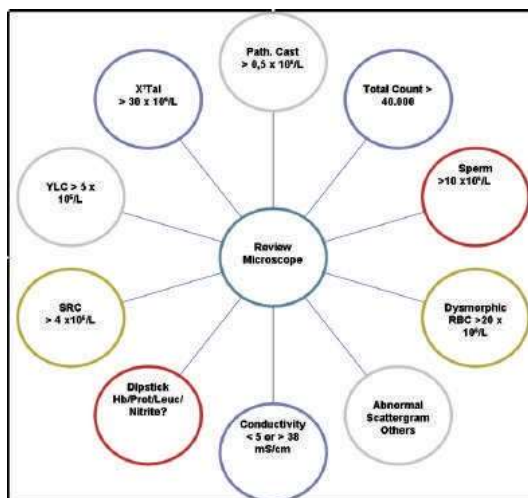


Figura 8 – Critérios para a revisão microscópica a partir do UF-100 (Adaptado OTTIGER, 2003).

O equipamento UF-100 da Sysmex demonstra uma tendência de resultados falso-positivos para a determinação de cilindros, provavelmente por confundir outros elementos de volume semelhante¹⁹. Em pesquisa realizada por Gai (2003), foi avaliada a performance do modelo UF-50 da Sysmex em um serviço de nefrologia. O estudo revelou pequena correlação de resultados entre o equipamento e a microscopia de contraste de fase para a análise de cilindros e cristais, com destaque para a baixa sensibilidade do equipamento em detectar os cilindros, visto que em 40% das amostras que apresentaram estes elementos na análise microscópica, o equipamento não acusou a presença.

Os citômetros discriminam os cilindros hialinos (sem inclusões) de outros cilindros patológicos (contendo grânulos, células e outras inclusões que geram sinal fluorescente). As principais causas para resultados falso-positivos para cilindros nos modelos UF-100 são altas contagens de leucócitos, cristais, filamentos de muco e a presença de *Trichomonas*¹⁹. Bottini (1) relata que o principal interferente nas contagens dos cilindros é a presença de filamentos de muco. No caso de presença de cristais de oxalato de cálcio, leveduras e bactérias elevariam as contagens de hemácias. Com relação aos cristais e leveduras, provavelmente devido ao fato de apresentarem tamanho e volume idêntico ao dos eritrócitos, desviam a mesma quantidade de luz. Já as leveduras, ainda emitem fluorescência numa intensidade muito próxima à dos eritrócitos, o que pode sobrepor a região onde são analisadas (Figura 3). Já para as bactérias, provavelmente a contagem alterada ocorre pela formação de aglomerados bacterianos, que acabam por desviar luz e emitir fluorescência na mesma região das hemácias.

Assim é evidente a necessidade de revisão microscópica para a correta identificação dos cilindros, cristais patológicos e a presença de *Trichomonas* spp. Os citômetros analisando apenas o volume das células, não têm capacidade para avaliar formas diferentes, o que é indispensável para a identificação dos elementos. Os alertas que os equipamentos fornecem (*flags*) é outra maneira para indicar a necessidade de uma revisão microscópica (figura 8).

Considerações finais

Considerando todos os parâmetros discutidos neste capítulo e ainda, a tendência cada vez maior de se aliar padronização e qualidade aos exames laboratoriais, chega-se à conclusão que a automação do setor de uroanálise é uma realidade e já se faz presente em muitos laboratórios mundo afora. Não só pela capacidade de processamento de amostras em função de tempo, mas pela precisão na análise das mesmas, principalmente para elementos como eritrócitos, leucócitos e bactérias. Aliando-se um conjunto de metodologias e técnicas de análises de última geração à contagem de uma quantidade muito grande de partículas presentes na urina, pode-se, em alguns casos até eliminar-se a microscopia na análise destas amostras.

Por outro lado, quando alguns elementos como cristais, cilindros e leveduras estão presentes em grande quantidade, a revisão da amostra ao microscópio se

faz necessária. Aqui, deve-se fazer uma ressalva: a revisão ao microscópio tem um rendimento maior, uma vez que esta análise é dirigida, ou seja, avaliar-se-ão apenas os elementos alterados quantitativamente ou sinalizados pelo equipamento como alterações patológicas.

A quantificação de bactérias pelos citômetros também é um parâmetro extremamente importante, uma vez que o fazem com grande precisão e padronização. Assim, correlacionar quantitativamente a presença de bactérias com infecções do trato urinário e culturas positivas tem se constituído uma importante ferramenta de auxílio de diagnóstico e tratamento destas doenças.

Assim é de se esperar que num futuro muito próximo a presença dos citômetros urinários seja cada vez mais frequente, até o dia em que serão indispensáveis ao setor, como os analisadores hematológicos hoje são para a hematologia.

REFERÊNCIAS

1. Bottini,P.V.; Grlipp.C.R. Urinálise: comparação entre microscopia óptica e citometria de fluxo. *Jornal Brasileiro Patologia Medica Laboratorial*, v.42, N.3, p.157-162, 2006.
2. Ben-Ezra,J.; Bork,L.; Mcpherson, R.A. Evaluation of the Sysmex UF-100 automated urinalysis analyzer. *Clinical Chemistry*, 44:1, 92-95, 1998.
3. Evans,R.; Davidson,M.M.; Sim,L.R.W.; Hay,A.J. Testing by Sysmex UF-100 flow cytometer and with bacterial culture in a diagnostic laboratory: a comparison. *Journal Clinical Pathology*, 59,661-662, 2006.
4. Gessoni, G.; Valverde,S.; Maturi, A.; Antico,F.; Manoni,F. Cytometry in the diagnosis of acute urinary tract infections: one year's experience. *Scand.Journal. Clinical Laboratory Invest.* 64:77-80, 2004.
5. Gai, M.; Piccoli, G. B.; Segoloni,G.P.; Lanfranco,G. Microscopic urinalysis and automated flow cytometry in a nephrology laboratory. *Clinical Chemistry*, 49, n°09, 2003.
6. Koken,T.; Aktepe,O.C.; Serteser,M.; Samli,M.; Kahraman,A.; Dogan,N. Determination of cut-off values for leucocytes and bacteria for urine flow cytometer (UF-100) in urinary tract infections. *International Urology and Nephrology*, 34:175-178, 2002.
7. SIMPSON,L.O. Effects of normal and abnormal urine on red cell shape. *Nephronology*, 60(03), 383-383, 1992.
8. Stapleton,F.B. Morphology of urinary red cell blood cells: A simple guide in localizing the site of hematuria. *Pediatr. Clín. N. Am.* 34(3):561-569, 1987.
9. Vasconcellos,L.S.; Penido, M.G.M.G.; Vidigal,P.G. Importância do dismorfismo eritrocitário na investigação da origem da hematúria: revisão da literatura. *Jornal Brasileiro de Patologia Médica Laboratorial*, v.41(2), 83-94, 2005.
10. Crompton,C.H.; Ward,P.B.; Hewitt,I.K. The use of urinary red cell mophology to determine the source of hematuria in children. *Clin. Nephrol.*, v.39, p. 44-9, 1993.
11. Tomita,M. *et al.* A new morphological classification of urinary erythrocytes for differential diagnosis of hematuria. *Clin. Nephrol.* 37(2):84-89, 1992.
12. Birch,D.F.; Fairley,K.F. Hematuria: glomerular ou nonglomerular?. *Lancet*, v.2, p.845-846, 1979.
13. De Santo,N.G. *et al.* Phase contrast microscopy of the urine sediment for the diagnosis of glomerular and nonglomerular bleeding-data in children and adults with normal creatinine clearance. *Nephrol.*, v. 45, p.35-39, 1987.
14. Dinda,A.K. *et al.* Diagnosis of glomerular haematuria:role of dysmorphic red cell, G1 cell and bright-field microscopy. *Scand. J. Clin.Lab. Invest.*, v.57,p.203-208,1997.
15. Zaman,Z.;Proesmans,W. Dysmorphic erythrocytes and G1 cells as markers of glomerular hematuria.*Pediatr. Nephrol.* V.14,p.980-4, 2000.

16. Apeland,T.; Mestad,O.; Hetland,O. Assessment of haematuria: automated urine flowmetry vs microscopy. *Nephrology Dialysis Transplantation.*, v. 16; 1615-1619, 2001.
17. Hyodo,T.; Kumano,K.; HAGA,M. *et al.* Analysis of urinary red blood cells of healthy individuals by na automated urinary flow cytometer. *Nephron.*, 75:451-457,1997.
18. Hyodo,T.; Kumano,K.;Sakai,T. Differential diagnosis between glomerular and nonglomerular hematuria by automated urinary flow cytometer. *Kitasato University Kidney Center criteria.* *Nephron.*, 82:312-323,1999.
19. Langlois,M.R.; Delanche,J.R.; Steyaert,S.R.; Everaert,K.C.; De Buyzere,M.L. Automated flow cytometry compared with an automated dipstick reader for urinalysis. *Clinical Chemistry*,45:1, p.118-122, 1999.

29. A CONTRIBUIÇÃO DO LABORATÓRIO DE HEMATOLOGIA NO DIAGNÓSTICO DAS ITUs

Everson Augusto Krum

Uma breve revisão de hematopoese

Após anos de estudos e diversos trabalhos publicados, não resta dúvida de que a origem das células sanguíneas ocorre em órgãos hematopoéticos primários e secundários, desde as ilhotas de Wolff no período embrionário recente, passando pelo baço, fígado e finalmente ocorrendo quase que exclusivamente na medula óssea. A partir de células tronco hematopoéticas, estímulos adequados conduzem a divisão celular para a produção de células especializadas que dirigem-se ao sangue periférico e passam a constituir o grande exército de defesa contra agravos e organismos invasores.

Para que possa-se entender o significado da presença na urina de células sanguíneas, é necessário a mínima compreensão do papel de cada uma das células, sua fisiologia e em quais situações a “presença” de leucócitos, hemácias e outras células sanguíneas, podem auxiliar no diagnóstico conclusivo ou diferencial de infecções, doenças ou síndromes que a análise de urina pode fornecer ao profissional solicitante.

Hemácias

Os eritrócitos são células sanguíneas oriundas da célula tronco hematopoética que, após receber estímulo da eritropoetina (EPO), transformam-se de uma célula grande e nucleada em uma célula pequena e sem núcleo, com algumas enzimas responsáveis por obter energia a partir de glicose. Durante o processo pode ocorrer estresse de escassez de energia, pH inadequado e pouco espaço para sobreviver e passar entre sinusoides e capilares estreitos que constituem o sistema vascular do ser humano.

O principal fator estimulador para divisão e proliferação de hemácias é a eritropoetina, uma glicoproteína sintetizada no rim humano. Estudos procuram detalhar que outros fatores estimuladores podem agir positiva ou negativamente na regulação da divisão celular estimulada por EPO. Em situações em que ocorra diminuição do fluxo sanguíneo no rim (anemia, hemólise, hemorragia, choque cardiogênico, choque hipovolêmico não hemorrágico, insuficiência renal aguda ou crônica) células sensoriais situadas no glomérulo renal reconhecem a anormalidade funcional e estimulam a porção secretora a liberar EPO. A proteína circula pelo sangue e chega à medula óssea quando então encontra receptores localizados nas unidades formadoras de colônias eritropoéticas, que passam a se dividir seguida e cumulativamente dando origem aos eritrócitos maduros. O processo de divisão celular dura um período de cerca de 7 dias, podendo em situações de necessidade, ser reduzido para 5 dias.

A análise e interpretação de alterações das hemácias presentes no exame do sedimento urinário deve, portanto, levar em conta a sua dinâmica de produção, fatores desencadeantes e interferentes.

Hemoglobina

A hemoglobina é uma proteína formada pela união de cadeias globínicas; no indivíduo adulto a maior parcela (cerca de 97% do total) é constituída de 2 cadeias alfa (a) e 2 cadeias beta (b), contidas em um invólucro com moléculas de ferro oxidado ou reduzido que têm a importante propriedade de ligar moléculas de oxigênio. A hemoglobina transporta o oxigênio desde os tecidos mais bem irrigados e calibrosos até os capilares mais distantes e estreitos; neste momento, por ação de um gradiente de pressão, 2,3- difosfoglicerato (2,3-DPG) se intercala nas ligações ferro e oxigênio e libera o oxigênio para perfundir pelo tecido.

Após cerca de 120 dias enzimas atuam na obtenção de energia para o metabolismo eritrocitário, dentre elas a bomba iônica, que impede a entrada de sódio plasmático na hemácia, bem como impede a saída de potássio eritrocitário para o plasma. A hemácia também já passou por inúmeras deformações e retornou à forma original, e ainda o agora defeituoso sistema de reversão do estado oxidado e reduzido do ferro da hemoglobina, incapaz de transportar oxigênio, leva a hemácia a apresentar falhas metabólicas graves que passam a impossibilitar sua vida.

Quando estes fenômenos são irreversíveis e definitivos, a hemácia ao passar pelo baço sofre um estresse metabólico, que funciona como controle de qualidade morfo fisiológico: as hemácias mais senis acabam rompendo a membrana e parte do conteúdo é ligado à haptoglobina presente no plasma. Por fim o complexo é fagocitado por células do sistema monocítico fagocitário, outra parte extravasa para o plasma e tem início o mecanismo de excreção de metabólitos.

Eritrócitos e urina

É comum a presença de pequeno número de eritrócitos na urina, observados durante o exame microscópico do sedimento. É considerado normal encontrar até 5 mil hemácias/ μ l ou 3 por campo(400 X), se durante o exame do sedimento for encontrado número aumentado de hemácias associado a cilindros hemáticos suspeita-se de sangramento de origem renal, enquanto o número aumentado sem cilindros ou proteinúria é indicativo de sangramento de origem não renal. A avaliação cuidadosa das características morfológicas dos eritrócitos permite caracterizar hemácias dismórficas, que estão presentes em casos de hemorragia glomerular. Pessoas normais apresentam hemácias deformadas em pequenas quantidades misturadas com hemácias normais.

A presença de hemácias em quantidade aumentada é observada em casos de glomerulonefrite, lúpus nefrítico, nefrite intersticial, trombose de veia renal, dentre outros. Também causam aumento do número de hemácias as doenças infecciosas

agudas e crônicas do trato urinário inferior, cálculos, tumor, estenose, cistite hemorrágica, reações tóxicas a determinados medicamentos, apendicite aguda e outras doenças infecciosas como salpingite e diverticulite.

Pigmento urinário

Após a hemoglobina se dissociar do ferro, ocorre ligação com uma proteína transportadora presente no plasma e que irá conduzi-la ao fígado. Antes de chegar aos hepatócitos, este complexo proteico é denominado de bilirrubina indireta, sendo que no fígado sofrerá reação de conjugação dando origem ao diglicuronato de bilirrubina, passando a ser denominado de bilirrubina direta. Após a conjugação, as células hepáticas liberam o complexo para a corrente sanguínea que progressivamente sofre reações enzimáticas de degradação e transformação em biliverdina.

Uma parte do complexo sofre modificação estrutural e é encaminhado ao intestino para ser excretado na forma de estercobilinogênio, um pigmento de cor marrom característico das fezes humanas. Outra parte do complexo dirige-se ao rim onde é convertido em urobilinogênio, pigmento amarelo característico da urina. As doenças que cursam com aumento da destruição eritrocitária podem apresentar hiperprodução de pigmento urinário, isto é, quanto maior a destruição de hemácias, maior a conjugação de bilirrubina no fígado e conseqüentemente maior produção de urobilinogênio excretado na urina, levando à coloração escura encontrada em muitos processos hemolíticos.

Dois exames laboratoriais podem auxiliar na detecção da etiologia das anemias hemolíticas, a contagem de reticulócitos e o teste de Coombs direto. A contagem de reticulócitos reflete a produção eritrocitária, estando claramente aumentada nos casos de hemólise acentuada. O teste de Coombs direto pesquisa a presença de imunocomplexos na membrana das hemácias ou a presença de anticorpos no plasma, permitindo identificar ou caracterizar doenças imunomediadas como artrite, lúpus etc.. Com o resultado de teste de Coombs positivo, é possível direcionar as hipóteses diagnósticas para mecanismos imunomediados de destruição das hemácias.

As principais causas de aumento da destruição eritrocitária são as anemias hemolíticas, que podem ser motivadas por mecanismos imunomediados ou sem participação do sistema imune. As principais etiologias de hemólise eritrocitária são: ação direta de agentes imunogênicos na membrana das hemácias, por formação de imunocomplexos com hemácias e posterior retenção e destruição pelo sistema monocítico fagocitário (SMF) e ainda por formação de imunocomplexos e depósito na membrana das hemácias e também com destruição pelo SMF.

Também no grupo de doenças caracterizadas por destruição eritrocitária imunomediada está incluída a hemoglobinúria paroxística noturna, uma doença que apresenta aumento da destruição das hemácias por ativação do Sistema Complemento. A destruição é resultante de uma modificação constitucional da membrana eritrocitária, que parece ser devida a uma alteração do gene *pigA*, que não expressa proteínas de superfície da membrana da hemácia; como consequência não ocorre a

inibição da ação do sistema complemento ativado, levando aos efeitos do complexo de ataque a membrana (CAM) e inevitável destruição da hemácia. Com o acúmulo da urina no período noturno, esta apresenta uma coloração escura pela manhã, resultante da ação do complemento e hemoglobinúria. É importante ressaltar que estudos recentes mostram que, ao contrário do amplamente entendido, a ação do Complemento não ocorre somente à noite, razão da denominação paroxística noturna, mas também durante o dia: simplesmente não haveria grande quantidade de urina que permitisse a visualização da coloração escura.

Quando o paciente com hemólise apresenta teste de Coombs negativo, indicando que não há participação do sistema imune na destruição eritrocitária, a pesquisa da causa da hemólise aumentada deve incluir as hemoglobinopatias (isto é, alterações na síntese, como as talassemias, ou na estrutura das hemoglobinas, como a anemia falciforme, metahemoglobinemia, dentre outras). Além da hemoglobina, a hemácia pode ter modificações estruturais da membrana, muitas delas hereditárias como estomatocitose e esferocitose hereditárias.

Em todas as situações envolvendo mudanças da forma, estrutura ou função da hemácia pode ocorrer abreviação do ciclo de vida eritrocitário: a célula é destruída através dos diversos mecanismos apresentados, gerando um acúmulo de pigmentos urinários e consequentemente urina escura.

Outras situações que envolvem destruição acelerada, prematura ou não, das hemácias são decorrentes de trauma direto dos pequenos vasos como após caminhada ou corrida, lesões por agentes químicos, tais como determinados medicamentos, mas também outros produtos como cobre, alumínio etc., além das intoxicações por produtos de animais peçonhentos como aranhas e cobras venenosas.

Para auxiliar no diagnóstico diferencial, outras causas de hemólise e hemoglobinúria são: trauma devido a próteses cardíacas, infecções, doenças de hemoglobina instável, síndrome hemolítica urêmica, púrpura trombocitopênia trombótica e ação de medicamentos oxidantes.

Situação exatamente oposta ao excesso de pigmento ocorre quando, por insuficiência hepática, principalmente dificuldade na conjugação do diglicuronato de bilirrubina decorrente de lesão obstrutiva, ocorre um quadro de diminuição de pigmentos urinários e consequente urina clara. Nestes casos, havendo anormalidade de hemoglobina, a hemácia não consegue ter o ciclo de vida normal e é destruída mais precocemente.

Proteína de Bence Jones e mieloma múltiplo

Mieloma múltiplo (MM) é uma desordem hematológica em que os linfócitos produzem cadeias imunoglobulínicas leves (*kappa* ou *lambda*) de forma anormal, isto é, um defeito estrutural de produção. O aumento da excreção renal das cadeias defeituosas causa dano tubular, obstrução local e insuficiência renal progressiva, gerando um quadro conhecido como "rim do mieloma", em que uma das características é a presença de cilindros eosinofílicos identificados através de aná-

lise histopatológica. Outra alteração renal é o depósito glomerular de cadeia leve que conduz à síndrome nefrótica. Algumas raras vezes o rim perde a capacidade de reabsorção dos túbulos renais proximais levando a glicosúria, aminoacidúria, hipouricemia e hipofosfatemia, numa condição que recebe a designação de Síndrome de Fanconi adquirida (6).

Leucócitos

As células leucocitárias são produzidas na medula óssea pelos precursores mieloides a partir de estímulos desencadeados por agentes infecciosos, sendo o principal a interleucina 1 (IL-1), que atua na diferenciação da *stem cell* mieloide em células da linhagem neutrofílica. Os segmentados e bastonetes são células maduras, encarregadas da defesa contra agentes externos, que circulam no sangue de 10 a 11 horas em média. Na medula existe um exército de leucócitos de cerca de 10 a 12 vezes o existente no sangue circulante.

Num vaso sanguíneo há dois grupos principais de leucócitos, constantemente invertendo a distribuição: metade circula na luz do vaso e outra metade fica aderida ao endotélio vascular. Alguns fatores como descargas adrenérgicas, choro da criança, exercício físico e corticoides podem estimular a migração do grupo marginal para junto do grupo circulante, aumentando as contagens.

A partir do local inflamado, infeccionado, traumatizado ou necrosado são liberados fatores de estímulo por monócitos/macrófagos (interleucina), por agentes infecciosos (oligopeptídeos bacterianos) ou por linfócitos. Quando, após o estímulo são consumidos os neutrófilos circulantes e os marginais, começa a liberação das células armazenadas na medula óssea, principalmente de bastonetes, processo chamado de desvio à esquerda, indicando condições mais severas de infecção/inflamação.

As principais causas de aumento sanguíneo das contagens de neutrófilos (neutrofilia) estão relacionadas com infecções bacterianas (abscesso, apendicite, angina, septicemia), doenças inflamatórias (artrite reumática, reumatismo articular agudo, alergia), necroses teciduais (infarto agudo do miocárdio, pancreatite), neoplasias etc.

Para chegar ao alvo, os neutrófilos vão “rolando” pela margem dos vasos, até que encontram o local para passagem por diapedese através da membrana do endotélio. Chegando aos tecidos, os neutrófilos ingerem por fagocitose os corpos estranhos, formando um vacúolo citoplasmático. Com o englobamento do invasor, o neutrófilo produz substâncias tais como peróxido de hidrogênio, mieloperoxidasas, iodo, bromo etc, que lisam a membrana bacteriana. Os ribossomos passam a sintetizar substâncias auxiliares na destruição, sendo visualizados (na coloração hematológica) como corpo azulado situado na periferia da célula, chamado de corpúsculo de Döhle.

Para completar a destruição, os lisossomos dos neutrófilos sintetizam hidrolases (granulações tóxicas) que realizam a destruição completa das bactérias. Os neutrófilos sem os grânulos morrem dando origem ao “pus”.

Leucócitos e urina

Ao exame microscópico da urina, os neutrófilos são vistos como esferas granuladas de cerca de 12 μ m de diâmetro, com características dos segmentos nucleares bem definidas e identificáveis. À medida que passa o tempo e ocorre degeneração nuclear, algumas características são perdidas. A presença de até 10 mil leucócitos/ml ou até 5 por campo (400X) é considerada normal. O aumento no número de leucócitos, principalmente neutrófilos (piúria), é encontrado em doenças renais e do trato urinário, durante episódios de febre e mesmo após exercícios físicos desgastantes.

Assim como o aumento de leucócitos sanguíneos é indicativo de processos infecciosos, na urina pode auxiliar no diagnóstico de infecções agudas, ou ruptura de abscesso renal ou do trato urinário. O achado de leucócitos ligeiramente aumentados associado com cilindros leucocitários pode ocorrer em casos de infecções bacterianas como pielonefrite aguda ou crônica e não bacterianas como glomerulonefrite aguda ou nefrite.

Outros casos de processos inflamatórios localizados, agudos ou crônicos como cistite, prostatite e uretrite, são responsáveis pelo achado de leucócitos aumentados.

É relativamente comum a procura de serviço de atendimento médico, por um paciente com queixa de dor abdominal, náusea, vômito e febre. O exame de urina pode ser solicitado para auxiliar o diagnóstico. Os principais sintomas de apendicite (abdômen agudo) são dor abdominal, cólicas, vômitos, febre, com aumento dos neutrófilos e principalmente dos bastonetes (desvio à esquerda). Tem-se que diferenciar (através de exame de urina) a apendicite ou peritonite de infecção urinária.

REFERÊNCIAS

1. Bernard, J. Hematologia 9^a edição 2000 ed. Medsi Rio de Janeiro
2. Failace, Renato. Hemograma: Manual de Interpretação. 3^a edição. 1995, ed. Artes Médicas, Porto Alegre
3. Ribeiro, Wilker Ramos, Hematologia Uma introdução ao Estudo 1^a edição, 1996, ed. Nacional, Goiânia.
4. Silva, Paulo Henrique; Hashimoto, Yoshio; Interpretação Laboratorial do Eritrograma, 1^a edição, 1999, ed. Lovise, São Paulo.
5. Verrastro, Terezinha; et. al., Hematologia e hemoterapia, fundamentos , 1^a edição, 1996, Ed. Atheneu, São Paulo.
6. Maiolino A *et al.* Mieloma Múltiplo e insuficiência renal. Rev. bras. hematol. hemoter. 2007;29(1):86-91

30. A CONTRIBUIÇÃO DO LABORATÓRIO DE BIOQUÍMICA AO DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DAS ITUs

Mauren Isfer Anghebem-Oliveira

A pielonefrite, infecção do trato urinário (ITU) superior, incluindo túbulos e interstício, geralmente ocorre pela ascendência de bactérias causadoras de ITU inferior para os rins. Essa ascendência é condicionada por fatores como: gravidez, obstruções, alterações na próstata, bexiga neurogênica, refluxo vesicoureteral. Isto é, se um indivíduo tem um bloqueio do trato urinário, refluxo ou outra anormalidade estrutural, uma infecção pode contribuir para a lesão progressiva dos rins. Além disto, algumas condições patológicas são conhecidamente fatores de risco para ITU e lesão renal, como as doenças imunossupressoras e o diabetes *mellitus*.¹ A ITU é a infecção bacteriana mais comum em crianças, o que torna seu diagnóstico e tratamento precoce fundamental para evitar danos em longo prazo, como cicatrizes renais, hipertensão e insuficiência renal crônica.

A urinálise e a urocultura são os testes de escolha para diagnosticar ITU, e a cintilografia renal com ácido dimercaptosuccínico marcado com tecnécio 99 (99mTc-DM-SA) é o padrão-ouro usado para verificar o local das alterações parenquimatosas do rim causadas por infecções renais. Mas, considerando que a urocultura tem como limitação a demora, e a 99mTcDMSA, a exposição à radiação e alto custo, o laboratório de bioquímica pode ter um papel coadjuvante no diagnóstico de ITU.^{2,3}

Por muito tempo a dosagem de creatinina sérica foi utilizada para auxiliar na investigação de lesão renal aguda. Mas, considerando que a concentração plasmática de creatinina pode variar em virtude da massa muscular, metabolismo muscular, idade e sexo, a dosagem não atende os critérios de um bom marcador de disfunção renal. Outro fator negativo é que, para haver uma alteração significativa nas concentrações séricas de creatinina, o rim precisa ter perdido mais de 50% de sua função. E, além disso, quando a taxa de filtração glomerular está reduzida, o rim tenta compensar com um aumento na secreção tubular de creatinina, o que superestima sua função.⁴

Uma vez que a determinação de creatinina e ureia nitrogenada séricas possuem baixa especificidade e sensibilidade para detectar dano renal precoce, tem sido grande a busca por biomarcadores urinários e plasmáticos que possam auxiliar no diagnóstico, localização do dano renal, e no monitoramento do tratamento do quadro infeccioso das ITUs.^{5,6}

Um biomarcador deve atender certos critérios, como:

- Ser determinado por técnicas não invasivas, de baixo custo e de fácil execução e interpretação;
- Apresentar alta linearidade, sensibilidade e especificidade;
- Permitir o reconhecimento da etiologia da lesão renal;
- Permitir a correlação com o local da lesão (segmento renal);
- Permitir correlação com o grau ou intensidade da lesão renal.^{4,7}

Um único biomarcador pode não ser suficiente para atender todos os critérios acima citados e diagnosticar lesão renal aguda causada por ITU, sendo necessário o uso de múltiplos marcadores.⁵

Biomarcadores Urinários

Albumina Urinária

Proteínas de alto peso molecular não são filtradas pelos glomérulos em condições normais. Agressões na membrana glomerular decorrentes de processos inflamatórios ou obstrutivos aumentam sua permeabilidade, permitindo a passagem de macromoléculas, como a albumina (aproximadamente 69 KDa). Portanto, a presença de albumina urinária é sinal de disfunção glomerular, e a concentração da proteína é diretamente proporcional à gravidade da lesão glomerular.⁸

Em casos de lesão severa do glomérulo, a albumina corresponde a mais de 50% das proteínas totais detectadas na urina. Nos casos moderados, a albumina compreende menos de 50%, provavelmente pela maior capacidade dos túbulos renais em reabsorver albumina que outras proteínas mais pesadas, como a imunoglobulina G (IgG; 150 KDa).⁸

A determinação de albumina urinária é recomendada para diagnóstico precoce de nefropatia diabética e está bem estabelecida. Quanto ao auxílio no diagnóstico de ITU, seu uso não está bem definido. Um grupo de pesquisadores acredita que a ITU possa causar aumento transitório da excreção urinária de albumina.⁹ Contudo, outros autores relatam que a presença de ITU assintomática não aumenta a excreção de albumina urinária, servindo apenas como marcador de doenças crônicas.^{10,11}

Alfa-1-microglobulina

Proteínas de baixo peso molecular (abaixo de 30 KDa) são clareadas da circulação pela filtração glomerular, que ocorre quase que livremente. Após a filtração no glomérulo, aproximadamente 99% dessas proteínas são reabsorvidas nos túbulos proximais. Sendo assim, um aumento na excreção urinária sugere lesão tubular.⁶

Esta proteína de baixo peso molecular (27 KDa) é sintetizada pelo fígado e, depois de secretada para o plasma, pode complexar-se à imunoglobulina A ou outras moléculas, ou permanecer na forma livre. Em sua forma livre, a alfa-1-microglo-

bulina (A1M) é livremente filtrada pelo glomérulo e totalmente reabsorvida pelo túbulo proximal, sendo catabolizada.^{7,12,13}

Quando há lesão tubular, a reabsorção de A1M é comprometida, aumentando sua excreção urinária. Por este motivo, a determinação de A1M urinária tem sido feita para detectar precocemente lesão tubular decorrente de pielonefrite, intoxicações por metais pesados ou nefropatia diabética.¹²

Beta-2-microglobulina

A beta-2-microglobulina (B2M) é um polipeptídeo formado por 100 aminoácidos e de peso molecular de 12 KDa, integrante do complexo de histocompatibilidade de classe I. Produzida por todas as células nucleadas em uma taxa constante, sob condições fisiológicas a B2M está presente em baixas concentrações no plasma. Esta concentração não é influenciada pela idade ou massa muscular, no entanto aumenta em processos infecciosos, inflamatórios e síndromes proliferativas.¹⁴ A B2M é livremente filtrada pelo glomérulo, reabsorvida e catabolizada pelo túbulo proximal, não sendo, portanto, detectada na urina em condições normais. Elevações na concentração urinária de B2M indicam lesão tubular.^{8,13}

Citocinas

As citocinas são proteínas solúveis, de baixo peso molecular, produzidas geralmente em resposta ao estímulo antigênico, e que funcionam como um mensageiro químico para regulação do sistema imune adaptativo e inato. As interleucinas 6 e 8 (IL-6 e IL-8) são citocinas que participam da regulação do sistema imune e tem sido aplicadas no auxílio ao diagnóstico de ITU em adultos e crianças. A IL-6 tem se mostrado promissora na diferenciação entre pielonefrite aguda e ITU baixa em crianças.²

Enzimas Urinárias

Algumas enzimas urinárias tem sido apontadas como biomarcadores precoces e não invasivos de lesão renal aguda: alanina aminopeptidase (AAP), fosfatase alcalina (FAL), N-acetil- β -glucosaminidase (NAG), lactato desidrogenase (LDH), α -glutathione-S-transferase (α -GST), π -glutathione S-transferase (π -GST), e γ -glutamyl transpeptidase (γ -GT). Essas enzimas são liberadas por diferentes porções do néfron (túbulo proximal, alça de Henle, túbulo distal) refletindo, assim, o dano celular destes locais.¹³

A NAG é uma enzima de alto peso molecular (aproximadamente 130 Kda), presente nos lisossomos das células do túbulo proximal, e pode ser determinada por técnicas não invasivas para determinar disfunção renal. É a enzima mais amplamente dosada para detecção de comprometimento renal devido a sua boa estabilidade na urina. Concentrações urinárias aumentadas de NAG tem sido encontradas em ITU, indicando lesão tubular e, mais precisamente, perda da integridade lisossomal.^{8,15}

A determinação urinária de enzimas tubulares fornece alta sensibilidade, porém moderada especificidade. Um exemplo é a NAG, que tem suas concentrações aumentadas em diversas condições como: glomerulonefrite, ITU e diabetes *mellitus*.⁸

Molécula de Injúria Renal-1 (KIM-1)

A molécula de injúria renal-1 (KIM-1, do inglês *kidney injury molecule-1*) é uma glicoproteína de membrana celular expressa em humanos e roedores frente a modificações fenotípicas no túbulo proximal, como aquelas induzidas por isquemia renal, nefrotoxinas (por exemplo, cisplatina e ácido fólico) e cistos renais. Em suma, KIM-1 é um receptor que se expressa apenas na célula epitelial renal lesada, tornando-a um fagócito.¹⁶

A KIM-1 não é detectada em urina de indivíduos saudáveis, e nenhum outro órgão a expressa em taxas que possam influenciar a excreção renal. Desta forma, as concentrações urinárias elevadas sugerem processo patológico renal em andamento, e tem se mostrado sensível nos casos de lesão do túbulo proximal.¹⁶⁻¹⁸

Proteína de Ligação do Retinol – RBP

A proteína de ligação do retinol (RBP – do inglês *retinol-binding protein*) é uma proteína de 21 KDa, sintetizada pelo fígado, que liga-se com a pré-albumina e vitamina A. Uma vez que a RBP é livremente filtrada pelos glomérulos e quase totalmente reabsorvida nos túbulos proximais, qualquer redução na função tubular pode causar um aumento nas concentrações urinárias desta proteína.^{7,13}

A determinação urinária de RBP tem como vantagem sobre a determinação urinária de AIM a estabilidade em pH baixo.⁷

Biomarcadores Plasmáticos

Cistatina C

A cistatina C, ou inibidora da protease da cisteína, é uma proteína de baixo peso molecular (12,8 KDa), produzida constantemente por todas as células nucleadas independentemente de qualquer situação patológica, massa muscular, sexo ou dieta. Por ter um tamanho pequeno, além de seu alto ponto isoelétrico (pI = 9,2) ela é livremente filtrada pelo glomérulo, sem sofrer secreção tubular. No túbulo proximal a cistatina C é totalmente metabolizada. Isto significa dizer que, se as concentrações plasmáticas de cistatina C estiverem aumentadas indicam uma redução na taxa de filtração glomerular e, conseqüentemente, um maior comprometimento renal.^{13,19,20}

Um aumento de 50% na concentração plasmática de cistatina C pode predizer a injúria renal aguda até 2 dias antes da elevação da creatinina plasmática.⁴

Lipocalina Associada à Gelatinase dos Neutrófilos (NGAL)

A lipocalina associada à gelatinase dos neutrófilos (NGAL – do inglês *neutrophil gelatinase-associated lipocalin*) é uma proteína de baixo peso molecular (25 KDa) da superfamília das lipocalinas, sintetizada durante a maturação dos precursores dos granulócitos na medula óssea. Fica armazenada nos grânulos dos neutrófilos maduros, complexada à gelatinase, sendo liberada por células epiteliais, tubulares renais e hepatócitos em resposta a condições inflamatórias e infecções bacterianas.⁷

Acréscimos nas concentrações séricas de NGAL sugerem redução na taxa de filtração glomerular da proteína, indicando lesão renal aguda, especialmente em crianças. E essa elevação é detectada poucas horas após a lesão renal aguda, sendo que a elevação da creatinina sérica vai ocorrer após 1-3 dias.^{3,4,21} Sua concentração plasmática aumenta em indivíduos com ITU, asma, doença pulmonar obstrutiva crônica, e enfisema pulmonar.⁴

Procalcitonina

Precursora da calcitonina, a procalcitonina (PCT) está presente no interior das células C da tireoide. Em condições normais, a concentração plasmática de PCT após o terceiro dia de vida é inferior a 0,5 µg/L. No entanto, durante situações de estresse, como uma infecção bacteriana severa, pode haver uma importante produção extratireoideana de PCT, especialmente pelo sistema mononuclear fagocitário, proporcionando um aumento nas concentrações plasmáticas deste pro-hormônio.^{2,22} A PCT é detectável no sangue a partir de quatro horas após uma injeção de endotoxina, mantendo-se em concentrações elevadas por até 24 horas. Isto porque ocorre uma inibição da sua clivagem com formação de catacalcina (21 aminoácidos), calcitonina (32 aminoácidos) e N-procalcitonina (57 aminoácidos), preservando a PCT intacta na circulação, com meia vida plasmática de aproximadamente 24 horas.²³

Em crianças, a PCT mostrou-se útil na diferenciação entre pielonefrite aguda e ITU baixa, além de prever lesão do parênquima renal. Entretanto, sua aplicação no diagnóstico de pielonefrite em adultos ou outros grupos não está comprovada.²²

Outras Dosagens Bioquímicas

Considerando que a ITU pode ocasionar injúria renal aguda, definida como declínio abrupto da função renal com acúmulo de produtos tóxicos ao organismo, é possível encontrar também alterações no equilíbrio hidroeletrólítico e ácido-básico. Desta forma, a dosagem plasmática e urinária de eletrólitos como o sódio, potássio, fosfato, cálcio e cloro, além da determinação dos gases sanguíneos, pode auxiliar na avaliação da condição renal.⁷

O diagnóstico laboratorial das ITUs é feito pelo exame de urina e urocultura, e a rapidez no correto diagnóstico pode evitar consequências em longo prazo, incluindo cicatrizes renais, hipertensão e insuficiência renal crônica. Todavia, em grupos

especiais (idosos, crianças e imunocomprometidos) a ITU pode ter uma apresentação clínica incomum e até assintomática, dificultando o diagnóstico clássico. Além disso, é importante determinar a severidade e extensão da infecção para escolher o tratamento mais adequado, e para isso, tem-se empregado biomarcadores para auxiliar nestas situações.

REFERÊNCIAS

1. Kofteridis, D.P.; Papadimitraki, E.; Mantadakis, E.; Maraki, S.; Papadakis, J.A.; Tzifa, G.; Samonis, G. Effect of diabetes mellitus on the clinical and microbiological features of hospitalized elderly patients with acute pyelonephritis. *J. Am. Geriatr. Soc.* 2009; 57:2125-8.
2. Nanda, N.; Juthani-Mehta, M. Novel biomarkers for the diagnosis of urinary tract infection-a systematic review. *Biomark Insights.* 2009; 5:111-21.
3. Yilmaz, A.; Sevetoglu, E.; Gedikbasi, A.; Karyagar, S.; Kiyak, A.; Mulazimoglu, M.; Aydogan, G.; Ozpacaci, T.; Hatipoglu, S. Early prediction of urinary tract infection with urinary neutrophil gelatinase associated lipocalin. *Pediatr. Nephrol.* 2009; 24:2387-92.
4. Nguyen, M.T.; Devarajan, P. Biomarkers for the early detection of acute kidney injury. *Pediatr. Nephrol.* 2008; 23:2151-7.
5. Vaidya, V.S.; Waikar, S.S.; Ferguson, M.A.; Collings, F.B.; Sunderland, K.; Gioules, C.; Bradwin, G.; Matsouaka, R.; Betensky, R.A.; Curhan, G.C.; Bonventre, J.V. Urinary Biomarkers for Sensitive and Specific Detection of Acute Kidney Injury in Humans. *Clin. Transl. Sci.* 2008; 1:200-208.
6. González Rodríguez, J.D.; Canalejo, D.; Martín Govantes, J.J.; García de Guadiana, L.; Rex, C.; González Morales, M.; Cayuela, A. Proteinuria in urinary infection and acute pyelonephritis in paediatric patients: can it replace scintigraphic studies in diagnostic localisation? *Nefrologia.* 2009; 2:163-9.
7. Lisowska-Myjak, B. Serum and Urinary Biomarkers of Acute Kidney Injury. *Blood Purif.* 2010; 29:357-365.
8. Shokeir, A.A. Role of urinary biomarkers in the diagnosis of congenital upper urinary tract obstruction. *Indian J. Urol.* 2008; 24:313-9.
9. AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diabetic nephropathy (Position Statement). *Diabetes Care.* 2004; 27: Supl. 1, S79-S83.
10. Hernández, C.; Simó, R. Albumin Excretion Rate Is Not Affected by Asymptomatic Urinary Tract Infection. *Diabetes Care.* 2004; 27:1565-69.
11. Wu, I.; Parikh, C.R. Screening for kidney diseases: older measures *versus* novel biomarkers. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2008; 3:1895-901.
12. Penders, J.; Delanghe, J.R. Alpha 1-microglobulin: clinical laboratory aspects and applications. *Clin. Chim. Acta.* 2004; 346:107-18.
13. Bagshaw, S.M.; Langenberg, C.; Haase, M.; Wan, L.; May, C.N.; Bellomo, R. Urinary biomarkers in septic acute kidney injury. *Intensive Care Med.* 2007; 33:1285-96.
14. Herrero-Morín, J.D.; Málaga, S.; Fernández, N.; Rey, C.; Diéguez, M.A.; Solís, G.; Concha, A.; Medina, A. Cystatin C and beta2-microglobulin: markers of glomerular filtration in critically ill children. *Crit. Care.* 2007; 11:R59.
15. Mohkam, M.; Karimi, A.; Habibian, S.; Sharifian, M. Urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase as a diagnostic marker of acute pyelonephritis in children. *Iran. J. Kidney Dis.* 2008; 2:24-8.

16. Bonventre, J.V. Kidney injury molecule-1 (KIM-1): a urinary biomarker and much more. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2009; 24:3265-8.
17. Chaturvedi, S.; Farmer, T.; Kapke, G.F. Assay validation for KIM-1: human urinary renal dysfunction biomarker. *Int. J. Biol. Sci.* 2009; 5:128-34.
18. Waanders, F.; van Timmeren, M.M.; Stegeman, C.A.; Bakker, S.J.; van Goor, H. Kidney injury molecule-1 in renal disease. *J. Pathol.* 2010; 220:7-16.
19. Newman, D.J. Cystatin C. *Ann. Clin. Biochem.* 2002; 39:89-104.
20. Jovanović, D.; Krstivojević, P.; Obradović, I.; Durdević, V.; Dukanović, L. Serum cystatin C and beta2-microglobulin as markers of glomerular filtration rate. *Ren. Fail.* 2003; 25:123-33.
21. Wheeler, D.S.; Devarajan, P.; Ma, Q.; Harmon, K.; Monaco, M.; Cvijanovich, N.; Wong, H.R. Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a marker of acute kidney injury in critically ill children with septic shock. *Crit. Care Med.* 2008; 36: 1297–1303.
22. Bressan, S.; Andreola, B.; Zucchetto, P.; Montini, G.; Burei, M.; Perilongo, G.; Da Dalt, L. Procalcitonin as a predictor of renal scarring in infants and young children. *Pediatr. Nephrol.* 2009; 24:1199-204.
23. Tang, H.; Huang, T.; Jing, J.; Shen, H.; Cui, W. Effect of procalcitonin-guided treatment in patients with infections: a systematic review and meta-analysis. *Infection.* 2009; 37:497-507.

31. MÉTODOS RÁPIDOS DE TRIAGEM DE UROCULTURAS

Helena A. P. Homem de Mello de Souza

As amostras de urina formam a categoria mais numerosa de materiais biológicos examinada diariamente pelos laboratórios de Microbiologia Clínica. No entanto, mesmo em laboratórios hospitalares, somente uma pequena porcentagem das amostras resultará em crescimento significativo nas culturas. Uroculturas são requisitadas frequentemente, especialmente nos hospitais, como parte do protocolo de atendimento de pacientes febris, mesmo na ausência de sinais e sintomas de infecções do trato urinário (ITU) (1).

A grande proporção de culturas negativas obtidas diariamente estimulou o desenvolvimento de métodos de triagem rápida na tentativa de eliminar a necessidade de cultivar as amostras não bacteriúricas. Assim, um método de triagem rápido e sensível para triar as amostras negativas beneficiaria o laboratório e o paciente, reduzindo custos e diminuindo o tempo de liberação do resultado (2).

A etiologia das ITUs é primariamente bacteriana, e um número significativo de pacientes com infecção é bacteriúrico, mas assintomático. Portanto, as amostras de urina recebidas no laboratório de Microbiologia podem ser tanto para o diagnóstico de pacientes sintomáticos como para triagem de pacientes assintomáticos com risco aumentado de ITU e de possíveis sequelas importantes (3).

Segundo McCarter e colaboradores (4), os métodos rápidos de triagem de urina são utilizados para detectar bactérias e/ou leucócitos diretamente na amostra. O objetivo dos métodos é fornecer evidência ou não de ITU antes dos resultados de cultura serem disponibilizados. Os testes devem ser realizados antes da cultura para agilizar a liberação das amostras negativas e para reduzir o número de culturas a ser semeado. Desta forma, se o método de triagem for positivo, a cultura é semeada. Se negativo, não há necessidade. Armazena-se a amostra por um tempo definido para o caso do médico requisitar posteriormente a cultura.

Assim sendo, um método de triagem ideal seria 100% sensível na detecção de todas as amostras que necessitam de cultura, e 100% específico na rejeição de todas as amostras que são cultivadas desnecessariamente. Até o momento, nenhum teste de triagem atingiu o objetivo. Além das diferenças de sensibilidade e especificidade, os métodos atualmente utilizados variam no poder preditivo positivo (VPP) e negativo (VPN) na detecção de contagens superiores a 10^5 UFC/ml e bacteriúria de baixo nível, bem como de micro-organismos fastidiosos. Devido à baixa prevalência de ITU, mesmo no ambiente hospitalar, é possível que um teste de triagem tenha alto VPN, mas um número absoluto de falsos-negativos inaceitavelmente alto (5).

Os testes de triagem atualmente utilizados incluem métodos microscópicos e não microscópicos (Tabela 1), além dos métodos automatizados, que serão abordados em outro capítulo.

Tabela 1: Métodos rápidos de triagem de urina microscópicos e não microscópicos

MÉTODO DE TRIAGEM	CONSTITUIÇÃO	INTERPRETAÇÃO
Coloração de Gram	Método microscópico baseado na propriedade morfotintorial dos micro-organismos; células também são visualizadas	Cada bactéria vista corresponde a uma contagem de 10^5 UFC/ml; a presença de muitas células epiteliais escamosas e múltiplos morfotipos bacterianos sugere contaminação
Tira reativa	Substratos para determinadas enzimas impregnados em papel de filtro para detecção de bactérias e leucócitos	Mede a atividade de nitrato-redutase (de bactérias gram-negativas) e leucocito-esterase; útil na triagem de pacientes sintomáticos
Teste enzimático em tubo	Reagente desidratado em tubo	Mede a liberação de catalase por bactérias, leucócitos e eritrócitos pela adição de peróxido de hidrogênio à urina; direcionado para triagem de pacientes assintomáticos

Adaptado de: MCCARTER, Y. S. *et al.* *Cumitech 2C: Laboratory diagnosis of urinary tract infections*. ASM Press, Washington, DC, 2009.

Métodos microscópicos

A microscopia da urina de pacientes sintomáticos pode ser útil para determinar rapidamente o tipo e a contagem de bactérias na urina (4). A bacteriúria pode ser detectada microscopicamente através da coloração de Gram de amostras de urina centrifugadas ou não centrifugadas, ou pela observação direta de bactérias em amostras não coradas (6). A coloração de Gram de amostras não centrifugadas é um método simples, fácil e barato de triagem de ITUs. Um volume de 0,01ml de urina bem homogeneizada e não centrifugada é colocado no centro de uma lâmina de microscopia, seco ao ar ou em estufa a baixa temperatura, corado pela coloração de Gram e examinado microscopicamente em campo de grande aumento (1.000X) (7). O teste foi considerado por vários autores sensível para detecção de $\geq 10^5$ UFC/ml, mas insensível para a detecção de números inferiores de bactérias.

O método da coloração de Gram de urina tem a importante vantagem de fornecer informação imediata sobre a natureza da bactéria ou levedura infectante, e assim ajudar o médico na seleção da terapia antimicrobiana empírica, o que tem importância em algumas situações. Apesar da coloração de Gram não ser indicada primariamente para visualizar morfologia celular, a presença e a quantidade relativa de células podem ser avaliadas. A presença de leucócitos indica piúria. A presença de muitas células epiteliais escamosas e múltiplos morfotipos bacterianos sugere contaminação (4).

Métodos não microscópicos (tiras reativas)

O teste do **nitrito** está baseado na redução dos nitratos (provenientes da dieta) a nitritos pela ação de bactérias gram-negativas presentes na urina. O teste será mais acurado se for realizado numa amostra da primeira urina da manhã ou de uma urina que tenha sido coletada 4 h ou mais após a última micção. Esse tempo é necessário para permitir que os micro-organismos na bexiga possam metabolizar os nitratos a níveis confiavelmente detectáveis. O teste é razoavelmente efetivo na identificação de ITU devido a membros da família *Enterobacteriaceae* (os patógenos mais comumente envolvidos em ITUs), mas falha na identificação de ITUs devidas a bactérias gram-positivas (*S. saprophyticus*, enterococos), *Pseudomonas* spp. ou leveduras (6).

O teste da **leucócito-esterase** é um método de triagem prático com sensibilidade de 75-96% e especificidade de 94-98% na detecção de 10 ou mais leucócitos por campo microscópico de grande aumento (1.000X). A piúria está presente em quase todas as mulheres com ITU sintomática aguda e na maioria das mulheres com uretrite causada por *N. gonorrhoeae* ou *C. trachomatis*, e a ausência de piúria sugere um diagnóstico alternativo. Piúria sem bacteriúria significativa em uma mulher disúrica sexualmente ativa sugere enfaticamente uretrite por uma bactéria fastidiosa. O método mais acurado para a detecção de piúria é o exame de uma amostra de urina de jato médio não centrifugada em um hemocítometro simples (câmara de Neubauer); dez ou mais leucócitos por mm^3 é considerado anormal, e a maioria das mulheres com ITU apresentam centenas de leucócitos por mm^3 . Para pacientes com um teste de leucócito-esterase negativo que apresente sintomas urinários, uma avaliação microscópica para piúria ou uma cultura deveria ser realizada. A presença de hematúria também deveria ser pesquisada por ser comum em mulheres com ITU, e incomum em mulheres com uretrite ou vaginite, e, portanto, seria útil no diagnóstico diferencial (8).

Acham-se disponíveis comercialmente tiras reativas em que os testes de **nitrito e leucócito-esterase** estão presentes numa única fita reagente e podem ser lidos em menos de 2 minutos. As tiras são mais úteis na triagem de pacientes sintomáticos, são muito simples de usar e têm custo baixo (4). Os dois testes, quando realizados juntos, apresentam desempenho melhor do que se realizados separadamente, detectam melhor a bacteriúria em altas contagens, têm baixa sensibilidade, alta especificidade, baixo VPP e alto VPN. Avaliados juntos, as características de desempenho dos testes os tornam úteis como uma maneira de excluir o diagnóstico de bacteriúria com base em um resultado negativo (6).

Nos anos 1980, quando Stamm e colaboradores lançaram as bases atuais do diagnóstico das ITUs, diversos estudos provaram que a presença de piúria associada a uma contagem de colônias $\geq 10^2$ UFC/ml é um melhor preditor de cistite do que a presença de $\geq 10^2$ UFC/ml ou $\geq 10^5$ UFC/ml sem piúria (9,10). Portanto, testes de triagem que levam em conta bacteriúria e piúria conjuntamente apresentam vantagem, teoricamente, sobre os métodos individuais na identificação de pacientes com ITU.

Um outro teste rápido encontrado na literatura internacional detecta a liberação de **catalase** por bactérias, leucócitos e eritrócitos na urina. A urina é colocada em um tubo contendo reativo dessecado, adiciona-se peróxido de hidrogênio, e o conteúdo do tubo é misturado. A formação de espuma na superfície do líquido dentro de 1 a 2 minutos indica reação positiva. O teste foi primariamente idealizado para a triagem de pacientes sintomáticos (3).

O aspecto mais importante dos métodos de triagem de urina é a habilidade de detectar amostras positivas. Tendo em vista que a presença de baixos níveis de bactérias com piúria pode ser significativo em alguns pacientes, Pezzlo e colaboradores analisaram os métodos da tira de leucócito-esterase e nitrito, e do tubo de catalase quanto à capacidade de detectar bacteriúria de baixo nível com piúria. As sensibilidades de ambos os métodos foi de 95%; no entanto, o método da catalase detectou significativamente mais amostras com bactérias em contagens $< 10^5$ UFC/ml, especialmente *Candida* spp. Por outro lado, as amostras contendo *Enterococcus* spp. apresentaram a mais alta porcentagem de falsos-negativos em ambos os métodos, devido aos testes avaliados conterem substratos não metabolizados pelo gênero (3).

Limitações dos métodos:

O método da coloração de Gram apresenta desvantagens que limitam sua utilidade na maioria das situações clínicas:

1ª) É um teste insensível, sendo confiavelmente positivo somente se a concentração de bactérias na urina for $\geq 10^5$ UFC/ml; infecções com concentrações bacterianas de 10^2 – 10^3 UFC/ml podem não ser detectadas pelo teste (6).

2ª) O teste é tecnicamente trabalhoso, e devido à escassez de material em muitos esfregaços, a visualização de uma quantidade grande de lâminas torna-se enfadonha para o técnico (11).

A detecção de bactérias por microscopia urinária é, portanto, bastante específica, mas pouco sensível para ITU (a ausência de bactérias microscopicamente detectáveis não exclui o diagnóstico). Assim sendo, seu uso deveria ser reservado a pacientes com suspeita de pielonefrite aguda, ITUs invasivas, ou outros pacientes para os quais seria importante ter uma informação imediata sobre a natureza do patógeno envolvido (6).

O uso das tiras reativas também apresenta limitações: em pacientes que urinam frequentemente a diluição das enzimas (nitrito-redutase e leucócito-esterase) pode resultar em falha na detecção. Concentrações de ácido ascórbico de 25mg/dl ou mais podem ocasionar resultados falso-negativos em amostras contendo pequenas quantidades de nitrito. Outras substâncias interferentes incluem concentrações elevadas de glicose, densidade elevada, a presença de cefalexina ou cefalotina, e altas concentrações de ácido oxálico ou tetraciclina (4).

Outra limitação dos testes de triagem é a característica das amostras. Urinas não indicadas para os testes incluem aquelas grosseiramente hematóricas, amostras de pacientes neutropênicos, e amostras em que se suspeita de contagens baixas po-

rém significativas. Certas amostras necessitam ser cultivadas a despeito dos resultados dos testes de triagem, como as obtidas de pacientes transplantados renais, urinas obtidas por punção suprapúbica, amostras de esvaziamento de bexiga (*bladder washout specimens*), de massagem prostática, ou amostras cirúrgicas e obtidas por cateterismo em clínicas uropediátricas ou gineco-obstétricas.

Um teste de triagem positivo pode resultar em culturas negativas devido a fatores que limitam a especificidade (por exemplo, um micro-organismo fastidioso), ou devido à persistência de indicadores de ITU após o início da terapia antimicrobiana. Nestes casos, o teste de triagem é um preditor melhor de infecção do que a cultura (5).

Um estudo realizado em um complexo hospitalar da Inglaterra demonstrou que o uso de tiras reativas com múltiplos parâmetros (como as rotineiramente utilizadas na maioria dos laboratórios brasileiros) com a finalidade de descartar as amostras negativas, diminuiu significativamente a carga de trabalho da Seção de Microbiologia. A avaliação de quatro parâmetros analisados pelas tiras (leucócito-esterase, nitrito, sangue e proteína) em qualquer nível de positividade (desde traços) proporcionou um VPN de 98,3% e uma sensibilidade e especificidade resultantes de 98,3% e 19,2%, respectivamente, demonstrando uma clássica perda de especificidade para um ganho em sensibilidade (12).

Diversos estudos podem ser encontrados na literatura nacional e internacional avaliando o desempenho dos testes rápidos de triagem de ITU em diferentes populações. WILSON & GAIDO (6) revisaram os métodos culturais e não culturais de diagnóstico de ITU em adultos, e concluíram que a urinálise é útil como um método para excluir bacteriúria, mas não é substituto para a cultura. Recentemente (2008), a triagem de bacteriúria assintomática em mulheres grávidas foi revista nos Estados Unidos, e foi buscado um teste de triagem rápida com alto VPN para bacteriúria assintomática que pudesse substituir a cultura. Desta forma as uroculturas seriam então realizadas somente para pacientes com teste de triagem positivo. Os autores concluíram que nenhum teste de triagem disponível até aquele momento teria esta capacidade (13). No Brasil, em 2002, MARTINO e colaboradores (11) avaliaram o desempenho dos métodos de triagem de bacteriúria em crianças (nitrito, leucócito-esterase, e coloração de Gram de urina centrifugada e não centrifugada). Nenhum dos métodos simples de triagem ou combinação de métodos forneceu nível de sensibilidade suficiente para afastar a urocultura quantitativa no diagnóstico da ITU na infância. A coloração de Gram (de urina centrifugada e não centrifugada) teve o maior índice de concordância com a cultura, apesar do elevado número de falsos-negativos.

Em 2004 foi publicada uma meta-análise envolvendo a literatura referente ao diagnóstico de bacteriúria ou ITU pelo uso de tiras para nitrito e/ou leucócito-esterase (14). De maneira geral a revisão demonstrou que a tira urinária, sozinha, foi útil em todas as populações, para excluir a presença de infecção se os resultados de ambos, nitritos e leucócito-esterase, eram negativos. A sensibilidade das combinações quando um ou ambos os testes eram positivos variou entre 68 e 88% em diferentes grupos de pacientes, e os resultados positivos tiveram de ser confirmados.

Na prática ambulatorial, a combinação dos testes com pelo menos um deles positivo é muito sensível, mas, devido à sua baixa especificidade, a utilidade da tira urinária, sozinha, permanece duvidosa para o diagnóstico de ITU.

Uma revisão sistemática da literatura sobre o uso das tiras urinárias para excluir ITU revelou que a prática não deveria ser utilizada para triagem de bacteriúria assintomática em mulheres grávidas, quando é importante detectar todos os resultados positivos (15). A resposta definitiva para estabelecer o papel da urinálise com tiras reativas numa estratégia para excluir o diagnóstico de ITU seria avaliar o seu uso em estudos prospectivos randomizados e controlados em populações individualizadas.

REFERÊNCIAS

1. Hyams, K. C. Inappropriate urine cultures in hospitalized patients receiving antibiotic therapy. *Arch. Intern. Med.* 147:4-49, 1987.
2. Souza, H. A. P. H. M. O uso da coloração de Gram como método de triagem para bacteriúria. Curso de Especialização em Bacteriologia Clínica, UFPR, 1994.
3. Pezzlo, M. T. et al. Detection of bacteriuria e pyuria by URISCREEN, a rapid enzymatic screening test. *J. Clin. Microbiol.* 30:680-684, 1992.
4. Mccarter, Y. S. et al. *Cumitech 2C: Laboratory diagnosis of urinary tract infections.* ASM Press, Washington, DC, 2009.
5. Eisenstadt, J. & Washington, J. A. Diagnostic microbiology for bacteria and yeasts causing urinary tract infections. In: *MOBLEY, H. L. T. & WARREN, J. W. Urinary Tract Infections – Molecular Pathogenesis and Clinical Management.* ASM Press, Washington DC, 1996.
6. Wilson, M. L. & GAIDO, L. Laboratory diagnosis of urinary tract infections in adult patients. *Clin. Infect. Dis.* 38:1150-1158, 2004.
7. Tilton, R. E. & Tilton, R. C. Automated direct antimicrobial susceptibility testing of microscopically screened urine cultures. *J. Clin. Microbiol.* 11: 157-161, 1980.
8. Hooton, T. M. & Stamm, W. E. Diagnosis and treatment of uncomplicated urinary tract infection. *Infect. Dis. Clin. N. Am.* 11: 551-581, 1977.
9. Stamm, W. E. et al. Diagnosis of coliform infection in acute dysuric women. *N. Engl. J. Med.* 307:463-468, 1982.
10. Stamm, W. E. et al. Causes of the acute urethral syndrome in women. *N. Engl. J. Med.* 303:409-415, 1980.
11. Martino, M. D. V. et al. Métodos bacteriológicos de triagem em infecções do trato urinário na infância e adolescência. *J. Bras. Nefrol.* 24:71-80, 2002.
12. Patel, H. D. et al. Can urine dipstick testing for urinary tract infection at point of care reduce laboratory workload? *J. Clin. Pathol.* 58:951-954, 2005.
13. Lin, K. & Fajardo, K. Screening for asymptomatic bacteriuria in adults: evidence for the U.S. Preventive Services Task Force reaffirmation recommendation statement. *Ann. Intern. Med.* 149:W-20-W-24, 2008.
14. Deville, W. L. et al. The urine dipstick test useful to rule out infections. A meta-analysis of the accuracy. *BMC Urol.* 4:4-17, 2004.
15. St John, A. et al. The use of urinary dipstick tests to exclude urinary tract infection. A systematic review of the literature. *Am. J. Clin. Pathol.* 126: 428-436, 2006.

32. METODOLOGIAS PARA UROCULTURA

Carlos Augusto Albini
Bárbara Pereira Albini

Cultura de Urina - Considerações Gerais

Urina é o material mais comum no laboratório de microbiologia, sendo o responsável pela maior carga de trabalho dos microbiologistas (1). Destina-se a verificar se o paciente possui uma infecção do trato urinário (ITU), como cistite ou pielonefrite, ou ainda a presença de bacteriúria significativa em pacientes assintomáticos com alto risco de infecção (2). Utiliza-se, igualmente, para controle de cura no tratamento.

Embora a presença de bactérias na urina em quantidades significativas se trate de um achado importante, pouco valor tem quando se utiliza apenas uma amostra para o diagnóstico (3). Os dados da urinálise, a coloração de Gram da gota de urina não centrifugada, indicações clínicas do paciente, idade, sexo, utilização de antimicrobianos, resultado de cultivo anterior e o motivo da solicitação da cultura são fundamentais para a realização, interpretação e escolha dos meios de cultura e método a serem utilizados. A urina, quando cultivada, deve refletir a qualidade da amostra. Critérios rígidos de coleta, transporte e armazenamento devem ser estabelecidos para propiciar um diagnóstico adequado. O laboratório deve ser informado da suspeita de ITU por micro-organismos fastidiosos, uma vez que tais patógenos não se desenvolvem nos meios de cultura rotineiramente utilizados e podem induzir a um resultado falso-negativo (4).

Meios de Cultura Disponíveis

Muitos meios de cultivo têm sido propostos e utilizados para cultura de urina. Observa-se, internacionalmente, uma tendência no emprego de Ágar Sangue de Carneiro (AS) e Ágar MacConkey (MC) (1; 5; 6). No Brasil a utilização de Ágar Cistina Lactose Eletrólito Deficiente (CLED), associado ou não ao MC, tem sido observada com frequência (2; 4; 7; 8; 9). O CLED foi inicialmente desenvolvido para ser utilizado em laminocultivos e com o tempo passou a ser empregado em placas. A grande vantagem do uso do CLED é a possibilidade do desenvolvimento tanto de micro-organismos gram-positivos, como gram-negativos. Uropatógenos de características mais exigentes, como o *Streptococcus agalactiae*, desenvolvem-se de maneira satisfatória no intervalo de 18 a 24 horas de incubação aeróbia. O CLED, ainda apresenta a vantagem de impedir o desenvolvimento de colônias espalhadas (*swarming*) de determinadas cepas de *Proteus* spp., o que é imprescindível princi-

palmente quando se utiliza placas contendo meios de cultura com gotículas de umidade. A utilização do CLED com o MC ainda pode auxiliar o diagnóstico, uma vez que elimina a necessidade da realização da coloração de Gram das colônias existentes nas placas, pela seletividade do MC para bactérias gram-negativas. principalmente quando o desenvolvimento microbiano apresenta-se semelhante nas duas placas. Alguns laboratórios substituem o MC pelo Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB) ou Ágar Teague, devido à disponibilidade em estoque e pela similaridade dos agentes seletivos.

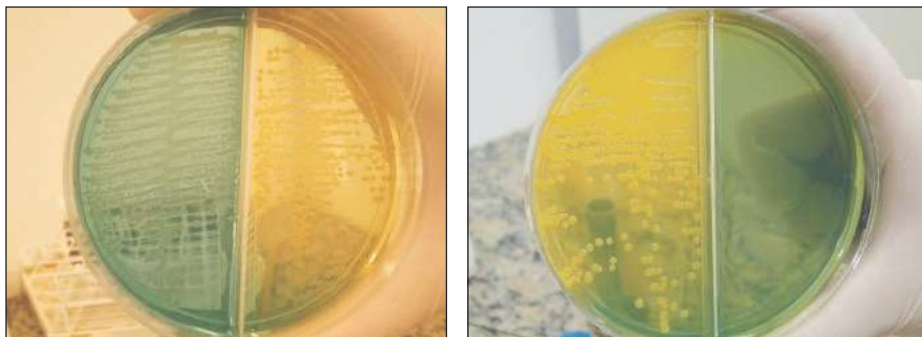


Figura 1 Biplaca de CLED.

Desenvolvimento

de colônias lactose negativa (esquerdo) e colônias lactose positivas, resultantes de duas diferentes amostras de urina. Contagens de colônias superior a 100.000 U.F.C/mL de urina.



Figura 3 CLED com desenvolvimento de 3 diferentes tipos de colônias sugestivas de gram-negativos.

Foi proposta uma modificação do CLED visando à identificação direta presumida da maioria dos uropatógenos. Os autores substituíram a lactose por celobiose, e adicionaram substratos para proporcionar a leitura de indol, gás sulfídrico e reação de fenilalanina-desaminase. Em 73% (145/198) das uroculturas positivas, os uropatógenos foram identificados utilizando-se a morfologia colonial e as provas bioquímicas obtidas diretamente do CLED modificado (10).

Meios cromogênicos

Na última década têm sido propostos e utilizados meios cromogênicos (AC) de diferentes procedências com variadas formulações, entretanto a utilização tem sido limitada em função dos preços praticados em função do alto custo praticado. Considerando que a maioria das amostras de urina fornece cultura negativa, principalmente quando existem rígidos protocolos de coleta, a utilização de meios dispendiosos torna-se questionável. Ainda assim, os AC apresentam vantagem de verificação da contaminação da amostra pelas diferentes características coloniais observadas. Alguns autores recomendam a utilização de outros meios de cultura como complemento (11; 12; 13; 14).

Em um estudo sobre a evolução do uso de um novo AC para uropatógenos em comparação com AS e MC analisaram-se 900 amostras de urina de pacientes hospitalizados. O AC detectou todos os uropatógenos verificados nos meios de referência, incluindo bacilos gram-negativos, *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. e leveduras. A cor e morfologia das colônias no AC diferenciaram *E. coli*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa* e *Acinetobacter* spp. A similaridade de pigmentação produzida por isolados de *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. e *Citrobacter* spp. dificultou a distinção entre eles. Entretanto, os isolados foram facilmente identificados como coliformes pela coloração azul metálica característica. Os *Estafilococos* foram facilmente detectados: *S. aureus* e *S. epidermidis* proporcionaram colônias de tamanho regular com coloração branca para amarelada e *S. saprophyticus* produziu colônias opacas rosadas. Todos os estreptococos foram detectados, mas as colônias se desenvolveram como colônias difusas, planas e secas e, portanto, testes adicionais foram requeridos para a identificação. Enterococos foram facilmente diferenciados pela pigmentação turquesa forte e o crescimento típico na superfície do ágar. Leveduras desenvolveram-se em típicas colônias cremosas, de aspecto úmido e convexas. A acurácia da determinação da susceptibilidade à antimicrobianos também foi testada através de colônias isoladas diretamente do AC. Os resultados mostraram excelente correlação entre resultados com micro-organismos selecionados dos meios de referência. (15)



Figura 4. Ágar cromogênico A com colônias características de *E.coli*.



Figura 5. Ágar cromogênico B com colônias características de *E.coli*.



Figura 6. Ágar cromogênico C com colônias características de *E.coli*, observe-se a diferença de tonalidade das colônias em meios de diferentes procedências.

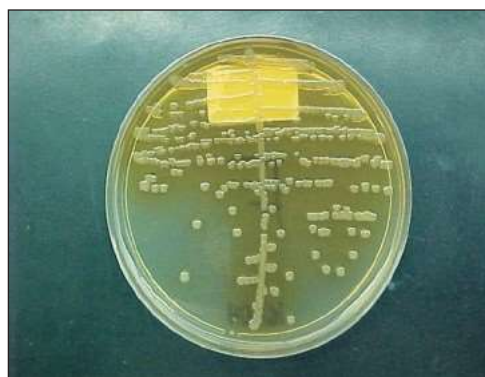


Figura 7. Ágar cromogênico com desenvolvimento de colônias típicas de *Proteus* spp.



Figura 8. Ágar cromogênico aspecto de colônias típicas de *Klebsiella* spp.

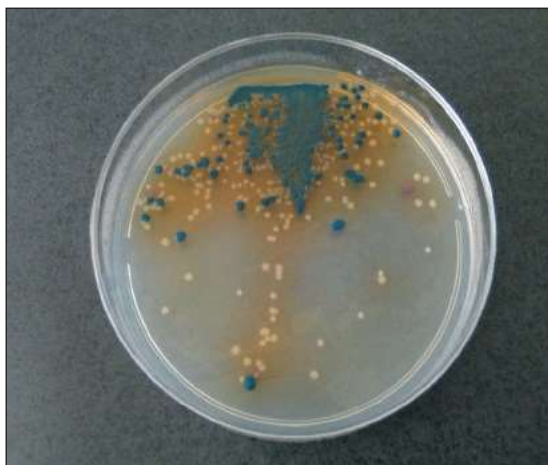


Figura 9. Ágar cromogênico com desenvolvimento de 3 diferentes colônias oriundas de uma amostras de urina com 3 micro-organismos distintos.

Em outro estudo comparativo entre três ACs para isolamento de uropatógenos analisaram-se 243 amostras de urina. Observaram-se 235 culturas positivas das quais 151 culturas puras e 84 culturas mistas. Os AC detectaram entre 96,6 a 99,1% das amostras. A principal diferença da não detecção entre os meios foi para *Staphylococcus* spp. Baseado no total de cepas encontradas (348), a taxa de identificação de *E. coli*, *P. mirabilis* e *Enterococcus* spp. nos meios foi de 59,2 a 61,2% das amostras. Portanto, as taxas de detecção e identificação entre os 3 meios foram bem próximas e apenas pequenas diferenças foram notadas. (16)

Na comparação de desempenho entre CLED e determinado AC para uropatógenos foram analisados 1466 amostras de 4 laboratórios usando o método semiquantitativo da alça de 1µL e tira de papel filtro. O grau de acurácia na identificação dos patógenos foi mensurado em comparação com a identificação presuntiva usando a coloração da colônia suplementado com simples testes de bancada, com identificação obtida de 2 sistemas comerciais. Verificou-se que não há diferença significativa entre o desempenho da alça, tiras de papel de filtro e CLED, mas o AC apresentou melhor desempenho que o CLED para detecção de isolados significativos e culturas mistas. A diferença foi maior usando o método da alça. A identificação dos micro-organismos usando sistemas comerciais gerou > 99% de concordância e foi considerado como padrão para o AC. Usando o critério de coloração de colônia do fabricante em combinação com o teste do indol, o AC apresentou 99% de especificidade para *E. coli*, embora o resultado tenha sido reduzido para 97% na omissão do teste de indol. O *Citrobacter* spp. foi o patógeno, mas comumente não identificado dando falsa identificação presuntiva como *E.coli*. Utilizando-se o teste de oxidase para diferenciar *Pseudomonas* spp. e ausência de produção de indol para identificar *P. mirabilis*, o AC proveu identificação de 86,8% de isolados gram-negativos. O restante de 13,2% requereu identificação adicional. (17)

Em comparação entre um AC com AS e MC em urocultura observou-se que não foi possível a diferenciação de *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp e *Serratia* spp. Também não foi possível diferenciar *S.agalactiae* e lactobacilos. O AC propiciou a redução de mais de 50% do tempo de inoculação e mais de 20% no tempo despendido com o trabalho. Conclui-se, portanto, que a utilização e a relação custo-benefício são mais adequadas quando o AC é utilizado junto com o AS (13).

Em uma análise de viabilidade financeira da utilização de AC em comparação aos métodos tradicionais de isolamento e identificação de uropatógenos avaliaram-se 586 uroculturas obtendo-se 23,2% de culturas positivas e 76,8% de culturas negativas. Foi realizada uma análise de custo utilizando o meio cromogênico para semeadura e identificação comparando-se com os custos utilizando-se o CLED. Como resultado observou-se que o meio cromogênico ultrapassou 9,33% em custos diretos em relação ao CLED. (18)

Foi avaliada, também, a eficácia de um meio cromogênico em amostras de urina, visando verificar a identificação direta de *Escherichia coli*. Cerca de 9,4% (13/138) das amostras de *E.coli* não puderam ser identificadas na placa por serem betaglucoronidase negativas; no entanto em 99,3 % do total de isolados a identificação foi correta (19).

Os meios de cultivo preparados no laboratório devem sofrer rigoroso controle de qualidade quanto à esterilidade e função (20). Já, os meios adquiridos comercialmente devem possuir certificação de qualidade emitida pelo fabricante.

Vantagens da utilização dos diferentes meios

A vantagem da utilização do AS reside no fato de possibilitar a verificação da hemólise do meio. A prova auxilia na identificação de estreptococos e estafilococos, muitos dos quais implicados em ITU. Como a maioria dos micro-organismos presentes na urina, de maneira significativa ou não, desenvolve-se de maneira satisfatória no AS, a utilização pode auxiliar na verificação de contaminantes, principalmente pela diferença de tamanho das colônias.

Por sua vez, a utilização do CLED é vantajosa pela facilidade de preparo, aquisição e custo.

A vantagem de se utilizar o MC, conjuntamente a um meio não seletivo, é dispensar na maioria dos casos em que se observa desenvolvimento, a necessidade de realizar-se a coloração de Gram das colônias obtidas. Assim é possível comparar as colônias existentes nos dois meios, verificar se ocorrem em quantidades semelhantes no meio seletivo para gram-negativos e no meio de amplo desenvolvimento eliminando a necessidade de coloração das colônias.

Por fim, o emprego do meio cromogênico pode reduzir o trabalho e propiciar resultados mais rápidos.



Figura 10 Ágar sangue/MC com desenvolvimento de colônias hemolíticas no AS e colônias não fermentadoras de lactose no MC. Contagem de colônias superior a 100.000 U.F.C/mL de urina.

Tendências

Pelas características dos meios utilizados na urocultura e pela natureza dos micro-organismos mais significativos nas ITUs, observa-se uma tendência em utilizar um meio não seletivo como AS ou CLED e um meio seletivo para gram-negativos, como o MC ou o EMB.

Na literatura internacional observa-se a recomendação de meios de cultura destinados ao isolamento de gram-positivos, como Ágar Feniletanol (AF) e Ágar Colistina Ácido Nalidíxico (CNA). Em determinados tipos de amostras de urina polimicrobiana, utilizados os meios tradicionais, ocorre o desenvolvimento de colônias gram-negativas, o que impede a visualização de colônias gram-positivas que podem se desenvolver lentamente e possuir menor tamanho (1).

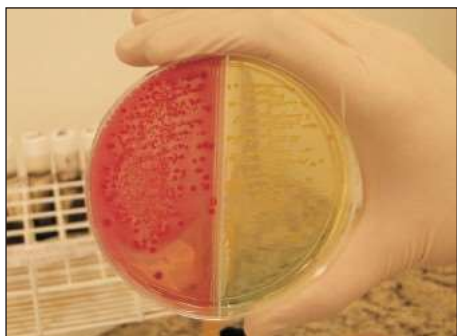


Figura 11. Placa de MC/CLED com colônias fermentadoras da lactose.

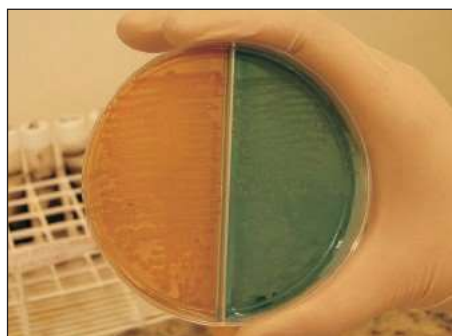


Figura 12. Placa de MC/CLED com colônias não fermentadoras da lactose.



Figura 13. Placa de MC/MC colônias não fermentadoras da lactose (esq) e colônias fermentadoras da lactose (dir).



Figura 14. Placa de MC/CLED com desenvolvimento sugestivo de microorganismos gram-positivos.

Alguns laboratórios ainda utilizam meios amplos não seletivos, como Ágar Triptico de Soja (TSA) ou Ágar Padrão de Contagem (APC), para realizar uma semeadura *pour plate*, visando à obtenção da contagem de colônias. Atualmente, parece não existir justificativa para o procedimento, uma vez que a utilização das alças calibradas propicia uma adequada contagem de colônias e facilita a realização do trabalho.

Meios especiais, como Ágar Chocolate Suplementado, podem ser necessários na suspeita de patógenos incomuns e fastidiosos. Micro-organismos anaeróbios são raramente encontrados em ITU, entretanto a suspeita pode requerer meios especiais, condições de incubação específicas e metodologia de coleta adequada (21; 22). Tais fatos podem e devem ser monitorados pela coloração de Gram da gota de urina não centrifugada (23).

Metodologias para Urocultura

Há diversas metodologias propostas para o urocultivo: método da placa de derramamento- diluição, método da placa de listras-alça calibrada, método da placa de derramamento-diluição, método da placa de listras-alça calibrada, método do papel de filtro, método de imersão em lâmina-laminocultivo, método de cúpula, método da microgota e método de cultura em coxim (3;24), sendo que os métodos mais utilizados atualmente são o da alça calibrada, do laminocultivo e da diluição.

A **metodologia da alça calibrada** ou método do estriamento em superfície, (5) através da coloração de Gram da gota de urina não centrifugada, possibilita a observação da quantidade de micro-organismos presentes na amostra. Pode-se assim, definir a escolha da alça calibrada mais adequada para o ensaio. Quando não se observam micro-organismos, ou existe menos de um por campo de maior aumento (1000 X), ou ainda o paciente encontra-se em tratamento com antimicrobianos, emprega-se a alça calibrada de 10 μL (0,01 mL). Como o resultado final é expresso em U.F.C. (unidades formadoras de colônias), deve-se multiplicar por 100 o número de colônias observadas. Quando se visualiza pelo menos um micro-organismo por campo de imersão (1000 X), emprega-se a alça calibrada de 1 μL (0,001 mL), onde, o resultado final é obtido multiplicando-se por 1000 o número de colônias que se desenvolveram (1). As alças podem ser constituídas de diversos materiais como níquel-cromo, platina ou plástico. Quando adquiridas comercialmente devem vir certificadas quanto à calibração, com aceitabilidade de um coeficiente de variação de mais ou menos 20%. A utilização constante do material pode causar desajustes, assim, recomendam-se verificações periódicas da calibração baseadas na intensidade de utilização (6). Independentemente da alça utilizada é necessário especial cuidado na sementeira do material. Deve-se imergir, na urina bem homogeneizada, na posição vertical (ângulo de 90° C) apenas a parte terminal da alça (*loop*). A introdução da alça em ângulos diferentes pode ocasionar adsorção de volumes inadequados de urina.



Figura 15. Introdução da alça calibrada de 10 μ L de m



urina.



Figura 17. Comparação de tamanho entre as alças de 1 μ L e 10 μ L.



Figura18. Diâmetro da alça calibrada de 10 μ L.

A amostra deve ser depositada em toda a parte central da placa, em uma estria única de cima para baixo, e estriando-se perpendicularmente à estria central de um lado para o outro da placa, de cima para baixo. Tal sementeira visa obter o máximo de colônias isoladas e certificar a esterilidade da placa, pois colônias não originárias do início da sementeira podem ser oriundas de contaminação do meio de cultura.



Figura 19. Inoculação da urina na parte central da placa.

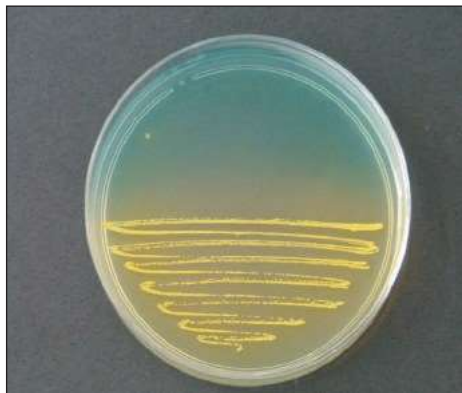


Figura 21. Aspecto macroscópico de uma placa de CLED contaminado. A amostra de urina era estéril. O desenvolvimento observado originou-se de uma pequena colônia contaminante existente na parte central da placa. Observe-se que no início da semeadura não houve desenvolvimento microbiano. Compare com o desenvolvimento homogêneo obtido na placa seguinte

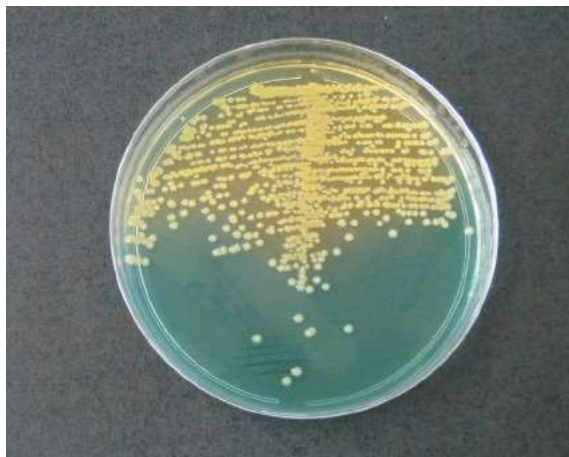


Figura 22. Aspecto homogêneo do desenvolvimento de uma amostra de urina contendo colônias fermentadoras da lactose.

Na metodologia descrita utilizam-se, preferencialmente, meios de cultura não seletivos (AS, CLED, AC) com o objetivo de obter uma quantificação final das colônias. A incubação deverá ser aeróbia, por 18 a 24 horas, a 36° C. Caso não ocorra desenvolvimento e o exame da gota de urina não centrifugada tenha sido positivo, ou ainda o paciente esteja sob a vigência de antimicrobianos, sugere-se a incubação por mais 24 horas (5). Amostras obtidas por metodologia invasiva devem igualmente sofrer uma incubação mais prolongada (1).

A **metodologia do laminocultivo** consiste na utilização de lâminas plásticas estéreis contendo uma cavidade interna capaz de aderir e fixar diferentes tipos de meios de cultura. Geralmente a lâmina possui duas faces, nas quais são dispostos dois, três ou quatro diferentes meios de cultura. Normalmente emprega-se um meio amplo não seletivo (AS, CLED, APC ou AC) visando à contagem de colônias associado a outros meios que auxiliam na identificação prévia de uropatógenos, tais como Citrato, Cetrimide ou Ágar Fenilalanina. Os meios adicionais visam identificar a maioria dos uropatógenos. A inoculação consiste em mergulhar a lâmina na urina bem homogeneizada, retirar o excesso de amostra encostando à lateral da lâmina no frasco e incubar, em condições aeróbias, por 18 a 24 horas, a 36° C. A interpretação do cultivo é baseada em escala comparativa fornecida pelo fabricante que propicia a contagem de colônias do urocultivo.



Figura 23. Laminocultivo à direita com desenvolvimento colonial conflente de colônias fermentadoras da lactose e à direita laminocultivo não inoculado.

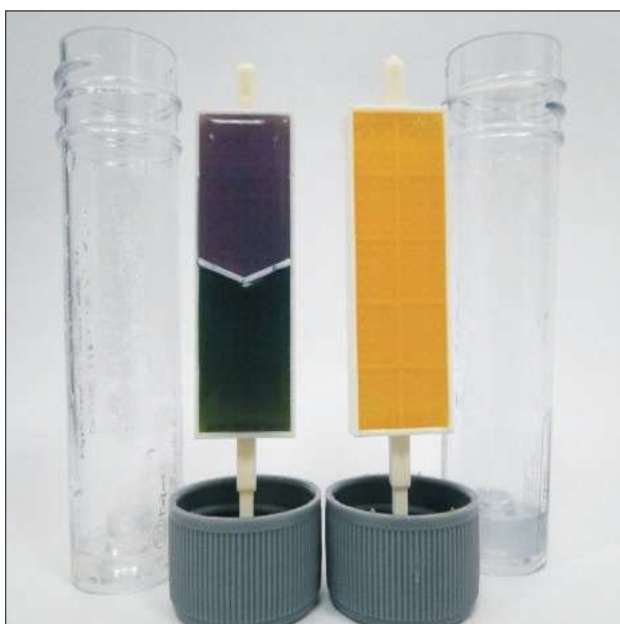


Figura 24. Laminocultivo à esquerda meios de identificação presuntiva e à direita meio para contagem de colônias.

A metodologia descrita, bastante rápida e prática, foi desenvolvida para diagnóstico no consultório médico, sendo posteriormente utilizada em laboratórios de microbiologia. Apresenta vantagens como à sementeira rápida sem necessidade de uma chama de bico de *Bunsen*, ou mesmo câmara de segurança biológica; entretanto na maioria das amostras de urina com contagem de colônias alta, o que ocorre com certa frequência em muitos pacientes, o crescimento é observado de maneira confluyente. O fato impossibilita a visualização de contaminação e o trabalho com as colônias isoladas, que constitui uma das bases da identificação bioquímica e dos testes de resistência na microbiologia (1). A maior vantagem do método parece ser o transporte do material quando as condições de refrigeração não são disponíveis. Pode ainda ser útil em inquéritos epidemiológicos (25).

A **metodologia da diluição** consiste na diluição da amostra em soro fisiológico, em volumes variados, observadas as seguintes concentrações finais: 1:10, 1:100 e 1:1000. As diluições da urina são depositadas em placas estéreis, e adicionado meio de cultura estéril, resfriado a 42° C, a fim de se obter uma sementeira *pour plate*. As placas são incubadas aerobicamente, por 18 a 24 horas, a 36° C. Após a incubação, escolhe-se a que apresenta um desenvolvimento mais adequado. A urina sofre centrifugação, e o sedimento é semeado em meios amplos e seletivos. Apesar da metodologia acarretar muito trabalho e ser bastante dispendiosa, trata-se do método mais confiável e exato (4). Muitas variações do método foram descritas e utilizadas no passado. Bier (1975) recomendou utilizar 10 mL de ágar fundido e resfriado a 45° C, misturado com volume pré estabelecido de urina não centrifugada, de acordo com a quantidade de micro-organismos observados no exame direto (se for (+) utilizar 1 mL, (++) 0,1 mL e (+++) 0.01 mL). Observou o desenvolvimento após 24 horas e interpretou de acordo com a contagem de colônias obtidas.

A grande quantidade de tubos, pipetas e placas resulta em muito material a ser lavado, esterilizado ou descartado e pode propiciar contaminações indesejáveis. Uma variação do método consiste em se realizar uma determinada diluição da urina e semeá-la com o auxílio de uma alça de Drigalski, bastão de vidro em "L" ou similar no meio de cultivo adequado. Assim, o isolamento e a contagem seriam realizados no mesmo momento.

O advento do método das alças calibradas e a facilidade em obtê-las levaram a uma menor utilização do método da diluição. A menor precisão na contagem de colônias parece não justificar o método, uma vez que os valores de contagens normalmente são elevados e devem ser correlacionados com outras observações obtidas do paciente e do material biológico analisado.

Interpretação dos cultivos

A maioria das ITUs são causadas por um grupo de poucos micro-organismos, como *Escherichia coli*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus* spp (5; 26; 27). Grande parte dos uropa-

tógenos implicados em processos de bacteriúria significativa pertence à microbiota fecal e genital de pacientes de ambos os sexos. O fato pode dificultar a interpretação das culturas e reforça a necessidade de se investir em rígidos protocolos de coleta e conservação das amostras. Não há possibilidade de se utilizar uma norma geral para todos os laboratórios, uma vez que a população de pacientes, internados ambulatoriais ou *home care*, de diferentes idades e com diferentes patologias, ou ainda pacientes transplantados, podem modificar a etiologia das infecções. A maioria das amostras recebidas no laboratório, se coletadas corretamente, resultam em cultivos negativos (19). Da mesma forma que geralmente, as ITUs são causadas por um único tipo de micro-organismo. Estima-se que apenas 5% dos cultivos são polimicrobianos (27; 28). Estudos apontam para o fato que a maioria dos isolados polimicrobianos são insignificativos (29). As exceções podem ser observadas em grupos especiais de pacientes, como os cateterizados, diabéticos ou em cuidados intensivos (30).

A Sociedade Americana de Microbiologia sugere que o processamento das amostras deve ser baseado no método de coleta utilizado, assim passa-se a ter dois distintos procedimentos: a urina coletada por métodos não invasivos e a obtida por metodologia invasiva.

Quadro 1- Guia para processamento microbiológico de amostras de urina obtidas por método não invasivo

Fonte: MC CARTER *et al.* (2009)

Tipo de amostra	Processamento	Tempo de incubação	Número de isolados	Contagem de colônias	O que fazer?
UJM, saco coletor ou catéter	1 µl em ASE ou MC ou CLED	16 horas	1	< 10.000 > 10.000	IMM ID e TSA
			2	Ambos < 10.000 Ambos > 10.000	IMM ID e TSA de ambos
				1 isol. <10.000	IMM
				1 isol. > 10.000	ID e TSA
			3 ou +	1 > 100.000 2 isol. < 10.000 Outro resultado	ID e TSA IMM IMM, reportar como microbiota

Quadro 2 - Guia para processamento microbiológico de amostras de urina obtidas por métodos invasivos

Fonte: MC CARTER *et al.* (2009)

Tipo de amostra	Processamento	Tempo de incubação	Número de isolados	Contagem de colônias	O que fazer?
Urina de catéter, punção suprapúbica, citoscopia ou nefrostomia	10 µl em AS e MC ou CLED	48 horas	1	< 1.000 > 1.000	IMM ID e TSA
			2	Ambos < 10.000 Ambos > 10.000	IMM ID e TSA de ambos
			1	< 1.000	IMM
			1	> 1.000	ID e TSA
			3 ou +	1 > 10.000 2 < 1.000	ID e TSA IMM

Legendas utilizadas: IMM = identificação morfológica mínima (BGN, CGP, BGP, DGN); ID= identificação bioquímica ou sorológica; TSA= teste de susceptibilidade a antimicrobianos, quando o isolado for apropriado. UJM = urina obtida pelo jato médio; isol.= micro-organismo isolado.

Os quadros são autoexplicativos e expressam o procedimento a ser executado pelo microbiologista conforme o método de coleta e o resultado obtido. Não expressam a presença de leucócitos na amostra e as indicações clínicas do paciente que podem efetivamente auxiliar no estabelecimento do diagnóstico das ITUs. A identificação dos uropatógenos será discutida em outros capítulos, entretanto, critérios de identificação devem ser rigidamente estabelecidos visando à elucidação dos episódios de infecção recorrentes ou reinfeção. O resultado de um isolamento de *Escherichia coli* pode significar pouco se não for citado o biotipo ou a metodologia de identificação. Assim, a adoção de sistemas de identificação, que propiciam a obtenção de um valor numérico baseado nas provas bioquímicas positivas, pode ser útil na verificação da similaridade dos micro-organismos isolados.

Crítérios de interpretação de ITU relacionados à assistência à saúde, recentemente descritos, apresentam especificidade próprias (31) e serão tratados no capítulo de ITU nosocomial.

Resultados de Uroculturas

Os resultados das uroculturas devem estar baseados nos critérios de interpretação estabelecidos pelo laboratório, e necessitam ser descritivos para traduzir a relevância clínica dos resultados. Resultados negativos devem ser reportados acom-

panhados da metodologia de contagem utilizada. Assim, recomenda-se, junto com o resultado, expressar a exatidão do método. Exemplificando: não houve desenvolvimento microbiano ($<$ que 100 U.F.C/mL de urina ou $<$ que 1.000 U.F.C/mL de urina). O resultado traduz a técnica utilizada, com a respectiva alça calibrada. Os critérios de identificação morfológica mínima (IMM) devem ser descritivos o suficiente para delimitar certos grupos bacterianos, como por exemplo: CGP (cocos gram-positivos) catalase positiva, BGN (bacilos gram-negativos) oxidase positiva. O laboratório deve ter estabelecidos os critérios para identificação da maioria dos uropatógenos. Na presença de mais de um micro-organismo reportado, deve-se explicitar a contagem de colônias de cada isolado. O resultado do isolamento de microbiota mista deve vir acrescido da sugestão de recoleta do material. Exemplificando: houve desenvolvimento misto de coliformes e enterococo; sugere-se nova coleta de material. O paciente em questão apresentava no parcial de urina uma quantidade apreciável de células epiteliais e poucos leucócitos (26). Convém lembrar que o laboratório de microbiologia deve fornecer instruções detalhadas a respeito da coleta de urina (5). Certamente se as urinas fossem coletadas no laboratório, sob supervisão direta, resultados mais adequados poderiam ser obtidos.

REFERÊNCIAS

1. MC Carter, Y.S. et al. *Cumitech 2C: Laboratory diagnostics of urinary tract infections*. Washington, D.C.: ASP PRESS, 2009.
2. Silva, C. H. P. de M. e. *Bacteriologia um texto ilustrado*. Terezópolis: Eventos, 1999.
3. Kunin, C. M. *Infecções urinárias: Diagnóstico, tratamento e prevenção*. 4. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 1991.
4. Santos Filho, L. *Manual de microbiologia clínica*. 4. ed. João Pessoa: Universitária/UFPB, 2006.
5. Isenberg, H. D. *Essential procedures for clinical microbiology*. Washington, D.C.: ASM PRESS, 1998.
6. Isenberg, F. D. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*, Washington, D.C.: American Society for Microbiology, 1992.
7. Oplustil, C. P. et al. *Procedimentos básicos em microbiologia clínica*. São Paulo: Sarvier, 2000.
8. Pilonetto, M.; Pilonetto, D. V. *Manual de procedimentos laboratoriais em microbiologia: POPs em microbiologia*. Pinhais: Microscience, 1998.
9. Albini, C. A. *Cultura de urina: Análise das metodologias, interferência sobre os resultados e proposta para padronização*. 54 f. Monografia (Especialização em Bacteriologia) – Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1994.
10. Albini, C. A.; Souza, H. A. P. H. M. De; Carvalho, S. B. de. *Meio de Cled: Proposta de modificação visando melhoria na identificação de uropatógenos*. Newslab, São Paulo, n. 74, p. 108-123, fev./mar. 2006.
11. Chaux, C. et al. *Comparison of three chromogenic agar plates for isolation and identification of urinary tract pathogens*. *Clin. Microbiol. Infect.*, n. 8, p. 641-645, 2002.
12. Ciragil, P. et al. *Evaluation of a new chromogenic medium for isolation and identification of common urinary tract pathogens*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, n. 25, p. 108-111, 2006.
13. D'souza, H. A.; Campbell, M.; Baron, E. J. *Practical bench comparison of BBL CHROMagar orientation and standard two-plate media for urine cultures*. *J. Clin. Microbiol.* v. 42, p. 60-64, 2004. Disponível em: <www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC321721/> Acesso em: 8/04/2008.
14. Scarparo, C. et al. *Comparative evaluation of two commercial chromogenic media for detection and presumptive identification of urinary tract pathogens*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* n. 21, p. 283-289, 2002.
15. SAMRA, Z. et al. *Evaluations of use a new chromogenic agar in detection of urinary tract pathogens*. *Journal of clinical microbiology*. n 4, p. 990-994, 1998.

16. Chaux, C. et al. Comparison of three chromogenic agar plates for isolation and identification of urinary tract pathogens. *Clin. Microbiol. Infect.* n. 8, p. 641-645, 2002.
17. Fallon, D. et al. A comparison of the performance of cystine lactose electrolyte deficient (CLED) agar with Oxoid chromogenic urinary tract infection (CUTI) medium for the isolation and presumptive identification of organisms from urine. *J. Clin. Pathol.* n. 55, p. 524-529, 2002.
18. Costa, R. C., Albin, C.A. & Souza, H.M. Análise da viabilidade econômica da utilização de meio cromogênico para cultura de urina. 21f. Projeto de pesquisa (Especialização em Microbiologia) – Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, 2010.
19. Oliveira, B. G. de. et al. A identificação direta pelos meios cromogênicos é confiável a ponto de dispensar as provas bioquímicas? *Newslab*, São Paulo, n. 75, p. 130-142, abr./mai. 2006.
20. CLSI M22 Quality Assurance for Commercially Prepared Microbiological Culture Media, M22-A2, Vol. 16, No. 16. 1996. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI - formerly NCCLS), Villanova, PA
21. Brook, I. Urinary tract infection caused by anaerobic bacteria in children. *Urology*, n. 16, p. 596-598, 1980.
22. Brook, I. Urinary tract and genitourinary suppurative infections due to anaerobic bacteria. *Int. J. Urol.*, n.11, p. 133-141, 2004.
23. Stingham, A.E. M.; Albin, C.A.; Souza, H. A. P. H. de M. Coloração de Gram: Como fazer, interpretar e padronizar. Pinhais: Microscience, 2002.
24. Levinson, W.; Jawetz, E. *Microbiologia médica e imunologia*. 7. ed. Porto Alegre: Art Med, 2005.
25. Río, G. De; Dalet, F. *Infecciones urinárias*. Barcelona: SmithKline Beecham, 1996.
26. Struthers, J. K.; Westran, R. P. *Clinical bacteriology*. Washington, D.C.: ASM PRESS, 2003.
27. Koneman, E. W. et al. *Color atlas and textbook of diagnostic microbiology*. 5. ed. Philadelphia: Lippincott, 1997.
28. Bartlett, R. C.; Treiber, N. Clinical significance of mixed bacterial cultures of urine. *Am. J. Clin. Pathol.*, n. 82, p. 319-322, 1984.
29. Siegman-Igra, Y. The significance of urine cultures with mixed microbiota. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.*, n. 3, p. 656-659, 1994.
30. Warren, J. W. et al. A prospective microbiologic study in patients with chronic indwelling catheters. *J. Infect. Dis.*, n. 146, p. 719-723, 1982.
31. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Infecção do trato urinário – ITU: Critérios nacionais de infecções relacionadas à assistência à saúde*. [Brasília]: Setembro, 2009.

33. IDENTIFICAÇÃO DE UROPATÓGENOS POR TESTES FENOTÍPICOS (BACILOS GRAM-NEGATIVOS)

Adriana Pereira de Matos Marques Silva

A prevalência dos uropatógenos depende da origem das amostras e varia com o sexo e a idade do paciente. A microbiota bacteriana perineal que se origina no trato gastrointestinal é constituída por patógenos comuns⁷. Em amostras ambulatoriais estudos mostram que, dentre as bactérias Gram-negativas, a prevalência é primeiramente de *Escherichia coli* em segundo lugar *Klebsiella pneumoniae* e *Proteus mirabilis*^{1,2,6,9,10}, já em amostras hospitalares podemos encontrar além destas enterobactérias, outras menos frequentes como *Enterobacter* spp., *Morganella morganii*, *Citrobacter* spp., *Serratia* spp., *Providencia* spp. e os não fermentadores *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*.

Outros micro-organismos não menos importantes também devem ser lembrados como potenciais patógenos do trato urinário: *Corynebacterium urealyticum*, *Enterococcus* spp., *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* (homens idosos) e *Staphylococcus saprophyticus*⁷, porém estes não serão tratados neste capítulo.

Baseado em princípios do metabolismo bacteriano, enzimas codificadas no material genético e vias metabólicas, diversas provas bioquímicas *in vitro* podem ser realizadas de acordo com a característica de cada espécie a ser identificada.

Enzimas produzidas e codificadas no genoma bacteriano são características do gênero e da espécie. Para identificar a produção dessas enzimas utilizamos substratos incorporados em meios de cultivo com sistema indicador que detecta a utilização deste substrato ou a presença de produtos metabólicos específicos.

O procedimento promove a identificação do gênero e da espécie da bactéria em questão. As características específicas de cada micro-organismo que se manifestam bioquimicamente permitem que seja realizada sua identificação.

Em urocultura devemos avaliar a presença de dois grupos de bacilos gram-negativos: as bactérias da família *Enterobacteriaceae* e os bacilos gram-negativos não fermentadores aeróbios estritos.

Neste capítulo iremos mencionar as principais provas bioquímicas de identificação fenotípica dos bacilos gram-negativos mais frequentemente isolados em urocultura classificando-os nos dois grupos.

Identificacao de enterobactérias

Com poucas exceções, todos os membros da família *Enterobacteriaceae* demonstram as seguintes características:

- » Fermentação da glicose;
- » Citocromo oxidase negativa;
- » Redução de nitrato a nitrito.

A partir de colônias recém-isoladas de urocultura positiva com crescimento em ágar seletivo como MacConkey ou ágar não seletivo e diferencial Cled (18 a 24 horas de cultura a 35 a 37°C) observamos a característica da colônia no meio de cultura e o metabolismo da lactose.

Se a bactéria utiliza a lactose chamamos lactose positiva, já quando a lactose é negativa, a bactéria não fermenta o açúcar presente no meio de cultura diferencial. Por definição, a fermentação é um processo metabólico de redução que ocorre em ambiente anaeróbio, onde o substrato orgânico serve como aceptor final de elétrons⁷. Nos sistemas de prova bacteriológica, esse processo é detectado pela mudança de coloração dos indicadores de pH como consequência da formação de ácidos tanto pela utilização de lactose como pela glicose.

Para as colônias lactose negativa, realiza-se a **prova da oxidase** que detecta a presença de citocromo-oxidase com tiras de papel absorvente impregnadas com p-fenilenodiamina. Com o auxílio de um palito de madeira, plástico ou alça de platina, coloca-se a colônia em contato com a tira reagente. As alças de níquel-cromo podem produzir reações falso-positivas, devido à presença de traços de óxido de ferro na superfície flambada do metal. A leitura dos resultados deverá ser realizada após 10 a 20 segundos, pois muitos micro-organismos podem produzir reações falso-positivas tardias. Na ausência da alteração de cor da tira em contato com a colônia, o teste será considerado negativo. Já a reação positiva se dá com o aparecimento da cor roxa imediatamente no local da inoculação da bactéria (Fig. 1).

Como mencionado anteriormente, todas as Enterobactérias são oxidase negativa, ou seja, todos os micro-organismos que desenvolvem a atividade de citocromo-oxidase podem ser excluídos da família *Enterobacteriaceae*.

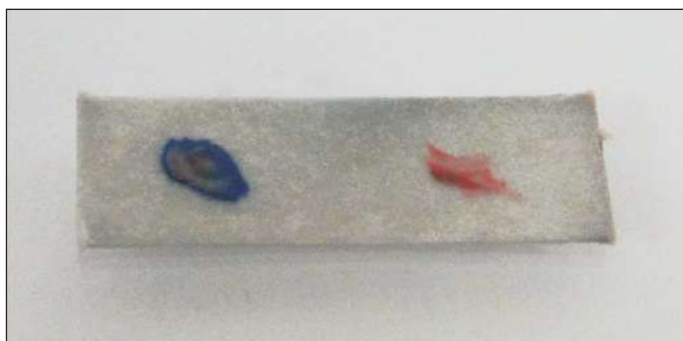


Figura 1. Tira com reação de citocromo-oxidase, à esquerda prova positiva, à direita prova negativa.

Quanto à **redução de nitratos**, todas as Enterobactérias, com exceção de certos biótipos de *Pantoea* (*Enterobacter*) *agglomerans* e certas espécies de *Serratia* e *Yersinia*, reduzem nitratos a nitritos⁷.

Os micro-organismos que reduzem nitratos têm a capacidade de extrair oxigênio destes compostos para formar nitritos e outros produtos de redução. A presença de nitritos no meio é detectada por adição de N,N-dimetil- α -naftilamida e ácido sulfanílico, com formação de um corante diazônio vermelho, o p-sulfobenzeno-azo- α -naftilamida. Para proceder a prova deve-se inocular o caldo contendo nitrato de potássio com uma alçada do micro-organismo em estudo isolado de um cultivo puro em ágar e incubar a 35°C por 18 a 24 horas. Após incubação adicionar algumas gotas de cada um dos reagentes ao meio (N,N-dimetil- α -naftilamida e ácido sulfanílico).

O desenvolvimento de cor vermelha 30 segundos após a adição dos reagentes indica a presença de nitritos e reação positiva para a redução de nitratos (Fig. 2). Se não houver desenvolvimento de cor após adição dos reagentes, pode ser que os nitratos tenham sido reduzidos a nitritos (reação negativa) ou que tenham sido reduzidos a produtos diferentes de nitritos, como amônia, nitrogênio molecular, óxido nítrico, óxido nitroso e hidroxilamina. Portanto é necessário adicionar uma pequena quantidade de pó de zinco a todas as reações negativas. Os íons zinco reduzem os nitratos que ainda estiverem presentes no meio a nitritos e o desenvolvimento da cor vermelha após adição desse agente indica a presença de nitratos, confirmando que a reação é realmente negativa³.

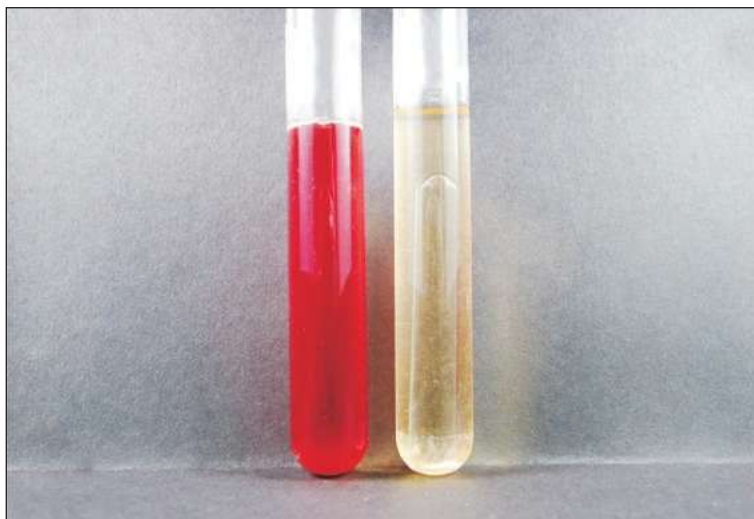


Figura 2. Prova da redução de nitratos. À esquerda prova positiva, à direita prova negativa.

Sistema de Identificação com Kit Compacto

Dando seguimento à identificação de enterobactérias podemos utilizar kits comerciais que podem conter diversas provas bioquímicas.

Os kits para identificação de enterobactérias, disponíveis na forma tradicional ou miniaturizada (Fig. 3), constituem-se de cinco diferentes tubos, onde é possível obter a leitura de dez provas bioquímicas. As provas positivas somadas equivalem a um determinado número existente num catálogo de identificação, com diferentes percentuais de acerto.

Os tubos são identificados respectivamente como:

- Tubo 1: meio de EPM (Escola Paulista de Medicina);
- Tubo 2: caldo Lisina;
- Tubo 3: meio de MIO (Motilidade, Indol e Ornitina);
- Tubo 4: ágar Citrato de Simmons e
- Tubo 5: caldo Rhamnose.

Para efeito de triagem bioquímica existem disponíveis os meios de EPM e MILI na forma tradicional ou miniaturizada. São indicados para a maioria das Enterobactérias significativas em coprocultura e para os BGN isolados em urina de pacientes comunitários.

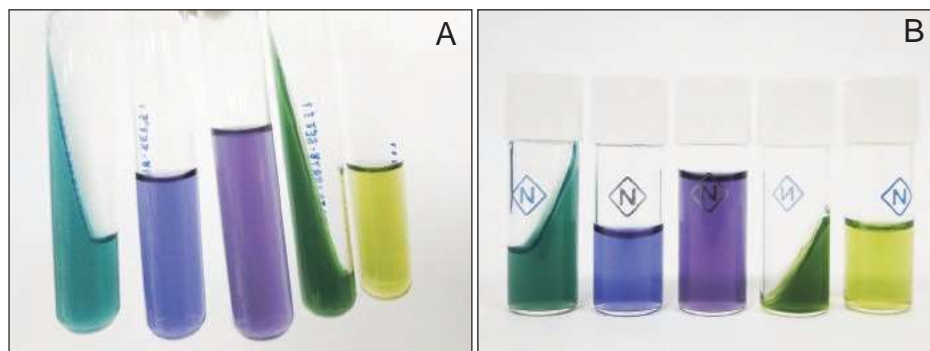


Figura 3: A) Kit para Enterobactérias na forma tradicional
B) Kit para Enterobactérias na forma miniaturizada

Provas de identificação do Kit para Enterobactérias

Tubo EPM

O meio de cultura contido neste tubo é uma das modificações do meio de Rugai e Araujo elaborado na Escola Paulista de Medicina para realizar simultaneamente os testes de produção de gás a partir da glicose, H_2S , urease e triptofano desaminase¹².

LTD (L-triptofano desaminase ou fenilalanina desaminase).

O meio contém substrato para a constatação da presença da enzima que degrada o triptofano através da detecção do ácido fenilpirúvico, que é evidenciado pelo desen-

volvimento de cor verde-garrafa no ápice do tubo. A prova é útil para a diferenciação de espécies de *Proteus*, *Morganella* e *Providencia* de outras enterobactérias.

Glicose

Muitas bactérias, incluindo todas as Enterobactérias, fermentam a glicose para formar ácido pirúvico. Esta prova de identificação detecta a utilização da glicose pela via metabólica fermentativa, conhecida como via de Embden-Meyrhopf (EMP)⁷. A fermentação é detectada por mudança do pH do meio para ácido (Fig. 4).

Gás

O gás resultante da fermentação bacteriana é uma mistura de hidrogênio e dióxido de carbono formado pela clivagem do ácido fórmico. Neste caso é possível visualizar a produção de gás no meio a partir da fermentação da glicose.



Figura 4: Tubo EPM: à esquerda glicose positiva com gás; à direita LTD e H₂S positivos.

H₂S (sulfeto de hidrogênio)

Uma característica importante para identificação de certas espécies de bactérias é a capacidade de liberar enxofre a partir de aminoácidos ou outros compostos

que contêm enxofre na forma de H_2S . Existem vários indicadores para a detecção do H_2S que contêm ferro ou chumbo. O ponto final da detecção do H_2S é a produção de um sulfeto de metal pesado insolúvel que produz um precipitado da cor negra no meio quando a prova é positiva (Fig. 5).



Figura 5: Tubo EPM com H₂S resultado positivo.

Tubo LISINA

Descarboxilação da Lisina

A presença de enzimas que descarboxilam aminoácidos originam aminas de reação alcalina e CO_2 . Este meio de cultura líquido contém o aminoácido lisina e glicose como fonte de energia. Durante a incubação, a bactéria produz ácido pela fermentação da glicose, acidificando o meio, porém a produção de cadaverina (produto da descarboxilação da lisina) promove a reversão do pH do meio, que mantém a coloração púrpura original após o tempo regulamentar de incubação (Fig. 6).



Figura 6: Caldo lisina. À esquerda resultado negativo, à direita resultado positivo.

Tubo MIO

Motilidade

Outra característica importante para identificação é a motilidade bacteriana. As bactérias se movem por meio de flagelos, cujo número e localização variam entre as diferentes espécies.

A motilidade neste kit é detectada no ágar semissólido por meio da visualização de uma zona difusa de crescimento projetada a partir da linha de inoculação (Fig. 8).

Indol

É um dos produtos da degradação do aminoácido triptofano. As bactérias que produzem triptofanase podem clivar o triptofano e produzir indol, ácido pirúvico e amônia. O indol pode ser detectado em um meio de prova com triptofano observando-se o aparecimento da cor vermelha após a adição de uma solução que contenha p-dimetilaminobenzaldeído (reativo de Ehrlich ou Kovacs) (Fig. 7).

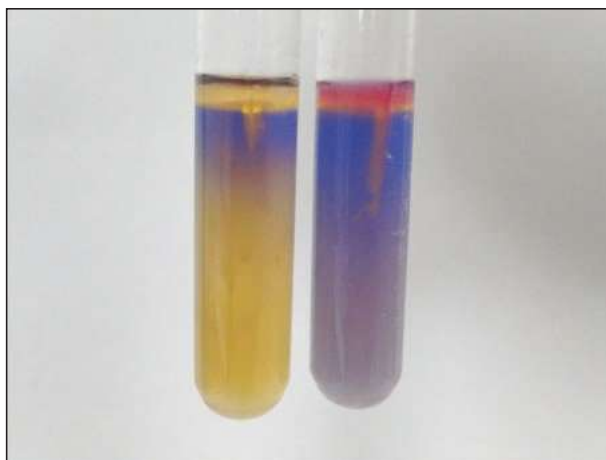


Figura 7: Meio MIO. À esquerda indol negativo, à direita positivo.

Descarboxilação da Ornitina

Da mesma forma que é detectada a descarboxilação da lisina através da formação de produto que alcaliniza o pH, ocorre a detecção do produto alcalino putrescina que mantém a coloração púrpura original do meio após incubação (Fig. 8).



Figura 8: Meio MIO. À esquerda prova da ornitina e da motilidade negativa; à direita as duas provas positivas.

Tubo CITRATO

Citrato de Simmons¹¹

O princípio desta prova é determinar a capacidade de um micro-organismo utilizar o citrato como única fonte de carbono para metabolismo e crescimento.

É um ágar inclinado que contém em sua formulação azul de bromotimol como indicador. Um pequeno inóculo da colônia do micro-organismo é semeado na superfície do meio. Se o inóculo for grande, compostos orgânicos formados na parede celular de bactérias que estão morrendo podem liberar carbono e nitrogênio em quantidades suficientes para dar um resultado falso-positivo.

O aparecimento de cor azul no meio após 24 horas de incubação indica a presença de produtos alcalinos resultantes da utilização do citrato e um resultado positivo para a prova de identificação (Fig. 9).

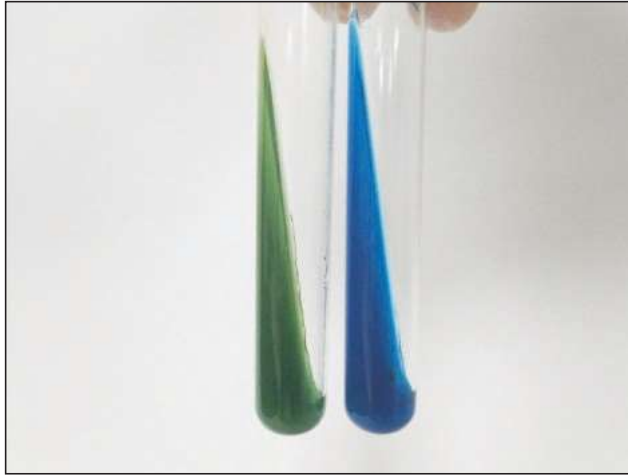


Figura 9: Meio Citrato de Simmons. À esquerda resultado negativo, à direita resultado positivo.

Tubo RHAMNOSE

Fermentação da Rhamnose

É um açúcar contido em meio líquido com indicador de pH para caracterizar a fermentação pela bactéria analisada.

A prova é considerada positiva quando o indicador presente no meio muda de cor para amarelo indicando a produção de ácido após a fermentação da rhamnose (Fig. 10).



Figura 10: Caldo Rhamnose. À esquerda resultado negativo, à direita resultado positivo.

Leitura e Interpretação do Kit de Enterobactérias

A cada prova positiva atribui-se um valor numérico e ao final temos um somatório de quatro dígitos que corresponde ao biotipo da bactéria. O gênero e a espécie poderão ser encontrados no Manual de Identificação de Enterobactérias que deve ser fornecido pelo fabricante do kit. O manual sugere a realização de provas complementares quando a possibilidade do biotipo é inferior a 85%. Essas provas geralmente são de fermentação de açúcares como arabinose, manitol, sorbitol, xilose, adonitol, inositol, maltose ou reação de Voges-Proskauer (VP) ou utilização domalonato.

A leitura do kit deve ser realizada de acordo com a tabela (Tab. 1) a seguir:

Tabela 1: Leitura das Provas Bioquímicas do Kit de Identificação de Enterobactérias

PROVA	LEITURA POSITIVA	LEITURA NEGATIVA
LTD	verde musgo ou verde garrafa no ápice do meio EPM (Fig. 3)	verde azulado (igual à cor original)
Lactose	na placa de isolamento primário: - no MacConkey: rosa - no Cled: amarela	Na placa de isolamento primário: - no MacConkey: transparente - no Cled: transparente
H ₂ S	precipitado preto na base do meio EPM (Fig. 4)	ausência de precipitado preto
Glicose	amarelo na base do meio EPM (Fig. 03)	Meio de EPM permanece verde azulado
Gás	presença de bolhas na base do meio EPM	ausência de bolhas
Lisina	roxo ou roxo acinzentado no caldo lisina (Fig. 5)	amarelo (Fig. 5)
Indol	vermelho após adição do reativo de Kovacs ao meio MIO (Fig. 6)	Amarelo (Fig. 6)
Ornitina	roxo ou roxo acinzentado no meio MIO (Fig. 7)	meio MIO amarelo (Fig. 8)
Motilidade	turvação do meio MIO (Fig. 7)	turvação somente no local da picada (Fig. 7)
Citrato	azul e/ou crescimento no ágar citrato (Fig. 9)	cor original do meio (verde) sem crescimento
Rhamnose	Amarelo no caldo rhamnose (Fig. 10)	verde (igual a cor original) (Fig. 10)

Para cada prova positiva atribui-se um valor numérico e para prova negativa o valor atribuído é zero. A somatória vai gerar um código de 4 dígitos.

Os números correspondentes às provas estão descritos na tabela abaixo (Tab. 2):

Tabela 2: Números Correspondentes ao Resultado Positivo das Provas Bioquímicas

LTD	LAC	H ₂ S	Σ	GLI	GAS	LIS	Σ	IND	ORN	MOT	Σ	CIT	RHA	Σ
6	2	1	Σ	6	2	1	Σ	6	2	1	Σ	2	1	Σ

LEGENDA: LTD: triptofano desaminase; LAC: lactose; H₂S: sulfeto de hidrogênio; GLI: glicose; LIS: lisina; IND: indol; ORN: ornitina; MOT: motilidade; CIT: citrato; RHA: rhamnose.

O biotipo corresponde ao resultado do somatório de cada uma das 4 colunas com o símbolo Σ, como por exemplo, se todas as provas fossem positivas, o somatório seria de 9993. A partir daí verifica-se o valor correspondente ao biotipo no manual.

Sistema de Identificação com Meio Rugai Modificado

Para a identificação presuntiva das enterobactérias, pode-se utilizar o meio de Rugai e Lisina-motilidade (Rugai modificado) combinados (Fig. 11). É caracterizado pela presença de substratos que promovem a verificação da fermentação da glicose, produção de gás, H₂S e indol, hidrólise da ureia, desaminação do triptofano, descarboxilação da lisina e motilidade em um só tubo.



Figura 11: Meio Rugai com Lisina

O meio tem a finalidade de tornar mais rápida e simples a identificação deste grupo de micro-organismos⁸. Estudos mostram que sua especificidade tem sido próxima de 95%⁴. A interpretação dos resultados das provas bioquímicas é a mesma do kit compacto, porém para chegar à identificação presuntiva do micro-organismo é necessário ter como base as principais características fenotípicas de cada espécie utilizando a tabela de interpretação ilustrada a seguir (Fig. 12)

IDENTIFICAÇÃO PRESUNTIVA DE BACIOS GRAM-NEGATIVOS A PARTIR DO DESENO EM CLED E MACCONKEY (URIPROV), NO MEIO DE RUGAI COM LISINA

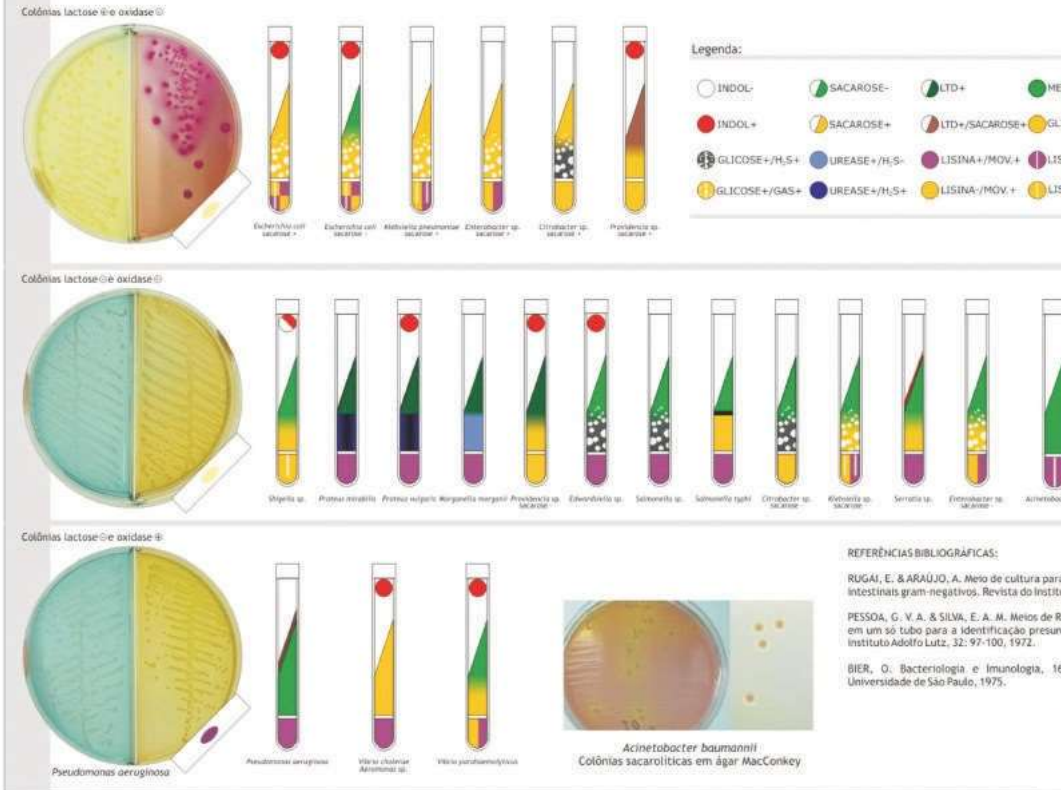


Figura 12: Tabela de Interpretação do Meio Rugai com Lisina - FONTE:
http://www.newprov.com.br/catalogo_produtos.php?id_grupo=4

Características Chave para Identificação das Principais Espécies

A tabela a seguir (Tab. 3) mostra as principais características de identificação utilizadas para separar os principais gêneros de Enterobactérias classificadas em tribos7.

Tabela 3: Características-Chave para Identificação das Enterobactérias Mais Comuns em Urocultura

TRIBO	GÊNERO	H ₂ S	IND	CIT	LTD	MOT	LIS	ORN
Tribo I: Escherichieae								
Gênero: <i>Escherichia</i>								
<i>E. coli</i> +--+++/-								
Gênero: <i>Shigella</i>								
<i>S. sonnei</i> -----+								
Tribo III: Salmonelleae								
Gênero: <i>Salmonella</i> +++----								
Tribo IV: Citrobactereae								
Gênero: <i>Citrobacter</i>								
<i>C. freundii</i> +++--/+								
<i>C. koseri</i> +++--+								
Tribo V: Klebsielleae								
Gênero: <i>Klebsiella</i>								
<i>K. pneumoniae</i> +++--+								
<i>K. oxytoca</i> +++--+								
Gênero: <i>Enterobacter</i>								
<i>E. aerogenes</i> +++--+								
<i>E. cloacae</i> +++--+								
Gênero: <i>Serratia</i>								
<i>S. marcescens</i> +--+----								
Tribo VI: Proteeae								
Gênero: <i>Proteus</i>								
<i>P. vulgaris</i> +/-+/-+++*-								
<i>P. mirabilis</i> +++/-+++*-								
Gênero: <i>Morganella</i>								
<i>M. morganii</i> +--+---								
Gênero: <i>Providencia</i>								
<i>P. rettgeri</i> -----								
<i>P. stuartii</i> -----								
<i>P. alcalifaciens</i> +/-+-----								

LEGENDA: H₂S: sulfeto de hidrogênio, IND: indol; CIT: citrato; LTD: fenilalanina desaminase; MOT: motilidade; LIS: lisina; ORN: ornitina; ++: reação fortemente positiva; +: 90% ou mais de cepas positivas; -: 90% ou mais de cepas negativas; +/-: 50-90% de cepas positivas; -/+ : 50-90% de cepas negativas. *: Motilidade dispersa em meio não inibidor. **: Imóvel a 37°C; móvel a 22°C.

FONTE: Adaptado de KONEMAN, E. Diagnóstico Microbiológico – Texto e Atlas Colorido. 6ed. 2008.

Com essas provas bioquímicas combinadas do kit de Enterobactérias podemos identificar o gênero e a espécie dos bacilos gram-negativos fermentadores mais comuns em urocultura.

Identificação de não fermentadores

Os bacilos gram-negativos não fermentadores são micro-organismos aeróbios, não esporulados que não utilizam carboidratos como fonte de energia ou os degradam através de outras vias metabólicas como a oxidativa.

Ao observar uma das seguintes características devemos suspeitar de um bacilo gram negativo não fermentador:

- Ausência de evidência de fermentação da glicose ou lactose;
- Reação positiva de citocromo-oxidase.

Testes Utilizados na Identificação de Não Fermentadores

Utilização da Glicose

Para verificar a forma de utilização da glicose, Hugh e Leifson⁵ elaboraram um meio que contém 0,2% de peptona e 1,0% de carboidrato (proporção 1:5). São necessários 2 tubos de cada meio carboidrato para o teste e um tubo branco, ou seja, sem carboidrato. Um dos meios com carboidrato é exposto ao ar e os outros são vedados com vaselina. Os micro-organismos oxidativos produzem ácido apenas no tubo exposto ao oxigênio atmosférico, os micro-organismos fermentativos produzem ácidos em ambos os tubos e as bactérias assacarolíticas permanecem inertes nos 2 tubos, conservando um pH alcalino após a incubação de 48 a 72 horas (Fig. 13).

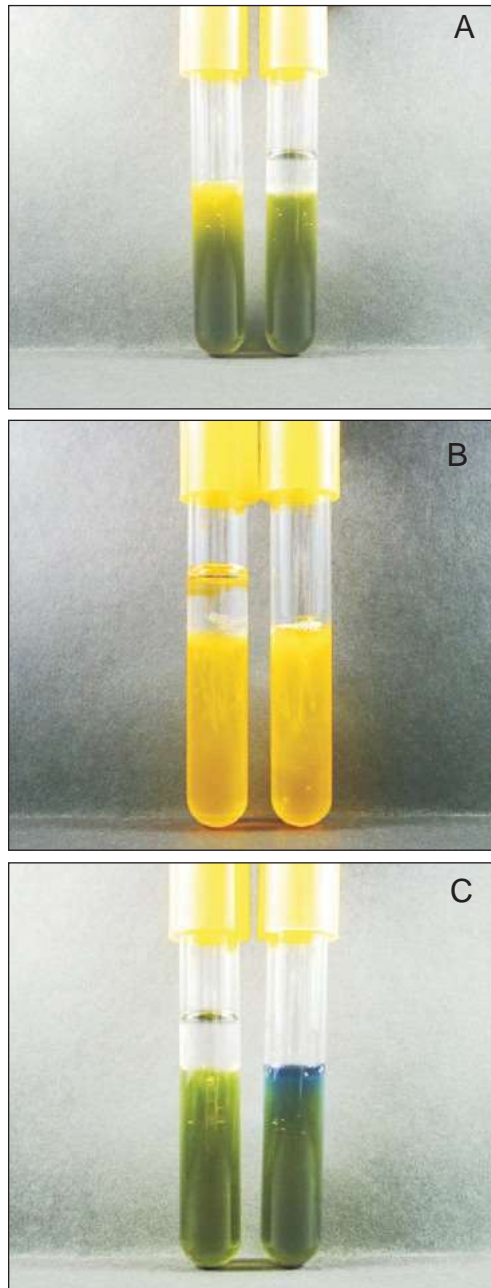


Figura 13. Meio de OF-glicose.
A. Utilização da glicose por via oxidativa.
B. Utilização da glicose por via fermentativa.
C. Ausência de utilização da glicose (inerte).

Motilidade

Para os micro-organismos não fermentadores um meio semissólido para a verificação da motilidade pode não ser apropriado, pois a motilidade, na maioria dos casos é muito sutil e pode ser relatada como falso negativo. Deve-se então efetuar a semeadura por punção apenas nos 4mm superiores do meio para que seja possível visualizar a prova de forma adequada.

Outra forma de verificação desta característica do não fermentador é a preparação da gota. Nesta técnica utiliza-se uma cultura em caldo de enriquecimento a 35-37°C de 6 a 24 horas (p. ex. BHI) que é colocada sobre uma lâmina com lamínula e observada com objetiva de 40x com luminosidade reduzida à procura da motilidade. As bactérias móveis apresentam movimentos direcionais e mudança de posição em relação às outras (Fig. 14).



Figura 14. Prova da motilidade. À esquerda prova positiva; à direita, negativa.

Produção de Pigmento

Os pigmentos hidrossolúveis e difusíveis incluem a fluoresceína (pioverdina), a piocianina e a piorrubina, que modificam a coloração do meio de cultura e podem ser encontrados em *P. aeruginosa*. Existem meios como Pseudomonas P e Pseudomonas F que contêm peptonas especiais a fim de que o micro-organismo produza a pigmentação após crescimento em 25-30°C de 18-24 horas.

Hidrólise da Ureia

Utilizando meio de cultura com concentração adequada de ureia, pode-se obter resultados positivos mais rapidamente utilizando um inóculo denso. No

caso dos não fermentadores o ágar ureia de Christensen é o mais indicado por detectar menores quantidades de amônia. Os micro-organismos não fermentadores podem produzir uma mudança de cor do meio para vermelho em até 48 horas. No início, a superfície inclinada torna-se vermelha, visto que a reação alcalina, que resulta da clivagem de pequenas quantidades de ureia, é aumentada pelas aminas formadas a partir da descarboxilação oxidativa dos aminoácidos na parte do meio exposta ao ar (Fig. 15).



Figura 15. Hidrólise da ureia. À esquerda prova positiva; à direita, negativa.

Redução de Nitratos

O teste é realizado da mesma forma que mencionado anteriormente para as Enterobactérias em 2 etapas onde o parâmetro final é o aparecimento da cor vermelha após adição de ácido sulfanílico e N,N-dimetil- α -naftilamina ou após a adição do zinco em pó quando não houver a formação da cor vermelha (Fig. 2).

Desnitrificação de Nitratos e Nitritos

Os não fermentadores que podem reduzir o nitrato ou nitrito (ou ambos) a nitrogênio gasoso podem ser submetidos ao teste no caldo nitrato-nitrito com tubo de Duhram invertido. A interpretação da prova se dá pela visualização do acúmulo de gás no interior do tubo de Duhram.

Descarboxilação de aminoácidos

Para os não fermentadores é indicada a utilização do meio com base de Möller para a detecção da descarboxilação cujo princípio baseia-se em uma mudança de pH.

Diferente das Enterobactérias, os não fermentadores exibem atividade fraca de descarboxilase e podem produzir aminas insuficientes para a viragem do indicador de pH. Ao utilizar pequenas quantidades de substratos (1 a 2mL) e um inóculo denso de micro-organismos pode melhorar o método de Möller. A sensibilidade da detecção pode aumentar utilizando vaselina para vedação do meio. Os tubos devem ser incubados por até 5 dias a 35°C antes de interpretar a reação negativa que se mantém da cor inicial do meio. Os parâmetros finais da reação são a formação da coloração púrpura intensa (Fig. 6).

Hidrólise da Gelatina

Para a prova da hidrólise da gelatina é possível utilizar meio de cultura preparado com concentração específica de ágar quando, após inoculação e incubação da bactéria observa-se a liquefação do meio quando o micro-organismo produz gelatinase. Após a retirada do meio da estufa é necessário deixá-lo à temperatura ambiente por alguns minutos para verificar se o ágar não voltou a solidificar e somente assim considerar a prova positiva.

Características Chave para Identificação das Principais Espécies

Para *P. aeruginosa* isoladas de urocultura pode-se iniciar a identificação observando as seguintes características:

- Colônias grandes, espalhadas e com odor de uvas;
- Produção de piocianina que modifica a cor do meio de cultura;
- Colônias oxidase positiva (dentro de 10 segundos).
- Algumas características adicionais podem ser analisadas:
- Crescimento em ágar cetrimide;
- Crescimento a 42°C;
- Desnitrificação de nitratos e nitritos.

As características para identificação presuntiva de *A. baumannii*, o segundo patógeno não fermentador mais frequente em uroculturas são as seguintes:

- Bacilos ou cocobacilos gram-negativos na coloração de Gram;
- Crescem bem em MacConkey e com uma coloração levemente rosada (que pode ser útil na diferenciação das colônias);
- Não produzem citocromo-oxidase;
- Rápida utilização da glicose e da lactose a 10%, com produção de ácido pela via oxidativa;
- São imóveis;
- É a única espécie do gênero que cresce a 44°C;
- São resistentes à penicilina.

A tabela a seguir (Tab. 4) contém as provas de identificação dos dois principais não fermentadores isolados em urocultura para diferenciá-los de outras espécies.

Tabela 4: Características-Chave para Diferenciação dos Não Fermentadores Mais Comuns em Urocultura

GELATINA UREIA PIGMENTO O/F MALTOSEREDUCAO DE NITRATO O/F GLICOSE CRESCIMENTO A 42°C COXIDASE MOTILIDADE
Gênero <i>Pseudomonas</i>
Grupo fluorescente
<i>P. aeruginosa</i> ++++VVVV Pioverdina/Piocianina
<i>P. fluorescens</i> ++-+V-V Pioverdina
<i>P. putida</i> ++-+V-V Pioverdina
Grupo stutzeri
<i>P. stutzeri</i> ++-+++V-
<i>P. mendocina</i> ++-+-V-
Gênero <i>Acinetobacter</i>
<i>A. baumannii</i> --+++VV-
<i>A. lwoffii</i> ----VV-

LEGENDA: +, 90% ou mais de cepas positivas; -, 90% ou mais de cepas negativas; V, 11-89% de cepas positivas

FONTE: Adaptado de KONEMAN, E. Diagnóstico Microbiológico – Texto e Atlas Colorido. 6ed. 2008.

Sistemas de identificação automatizada para bactérias gram-negativas de interesse em urocultura

Sistema MicroScan Walkaway

O Walkaway (Dade MicroScan) é um instrumento totalmente automatizado que incuba qualquer combinação de até 96 painéis convencionais. Adiciona de modo automático os reativos aos painéis, quando necessário, efetua a leitura e interpreta os resultados nos painéis e imprime os resultados, sem nenhuma intervenção do operador.

Além dos painéis convencionais contém painéis fluorescentes rápidos que empregam compostos marcados fluorescentes e exigem apenas incubação de 2 horas para identificação. Vários estudos demonstraram que o Walkaway fornece uma identificação acurada das enterobactérias. Já os estudos com painéis de identificação de Gram-negativos (painel colorimétrico desidratado Neg ID tipo 2 – DCP e painel fluorimétrico rápido Neg ID – RFP) para identificação de não fermentadores demonstram resultados mais satisfatórios com painéis RFP, com os quais foi obtida identificação correta com uma média acima de 75%⁷.

A nova versão atualizada dos painéis Rapid Gram Negative Identification Tipo 3 apresentou resultados de identificação correta em um estudo multicêntrico e outro conduzido na Universidade de Illinois, em Chicago, acima de 91%⁷.

O sistema de identificação automatizada MicroScan pode ser considerado confiável para identificação de bacilos gram-negativos fermentadores e não fermentadores da glicose.

Sistema Vitek

O Sistema Vitek (Biomerièux) foi inicialmente introduzido para efetuar testes de sensibilidade a antimicrobianos. A identificação de enterobactérias e não fermentadores foi aprimorada em 1996 (cartão GNI+). A identificação se dá em curto prazo, em uma média de 4 a 12 horas. O sistema tem amplo uso em laboratórios clínicos e tem sido aceito como abordagem confiável para rápida identificação de bacilos-gram-negativos comumente encontrados.

O cartão contém 47 testes que ajudam na identificação dos Gram-negativos e a média de acurácia do equipamento é acima de 90% quando comparado a métodos de identificação fenotípica manual⁷.

Outra vantagem do sistema é a identificação em curto prazo de tempo. Estudos mostram que a identificação completa de não fermentadores pode começar a partir de 4 horas chegando a identificação em no máximo 18 horas⁶.

REFERÊNCIAS

1. Berdichevski, R. H. *et al.* Prevalência de uropatógenos e sua resistência aos antimicrobianos em uroculturas realizadas no Hospital São Lucas da PUCRS. *Rev AMRIGS*. v. 42, n. 3, p. 137-42, 1998.
2. Chaves, J. M., *et al.* Perfil de resistência e sensibilidade dos antimicrobianos utilizados em infecções urinárias no Hospital de Referência São Lucas da cidade de Crateús- Ceará. *Rev. Bras. An. Cl.* 35(supl): 38B, 2003.
3. Finegold, S. M; Martin, W. J., Scott E. G. *Bailey Scott's Diagnostic Microbiology*. 5 ed. Saint Louis: CV Mosby. 1978. p. 490.
4. Fuck, R. Análise crítica do meio de Rugai modificado na identificação de uropatógenos gram-negativos. Monografia de conclusão de curso de Especialização em Microbiologia, PUC-PR, 2005.
5. Hugh, R.; Leifson, E. The taxonomic significance of fermentative *versus* oxidative metabolism of carbohydrates by various gram negative bacteria. *J. Bacteriol.* 66: 24-26. 1953.
6. Koch, C. R.; *et al.* Resistência antimicrobiana dos uropatógenos em pacientes ambulatoriais, 2000-2004 *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* vol.41 no.3 Uberaba mai/jun 2008.
7. Koneman, E. W. *Diagnóstico Microbiológico – Texto e Atlas colorido*. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2008. 1565 p.
8. Pessoa, G. V. A., SILVA, E. A. M. Meios Rugai e lisina-motilidade combinados em um só tubo para a identificação de enterobactérias. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 32: 97-100, 1972.
9. Poletto, K Q; REIS, C. Suscetibilidade antimicrobiana de uropatógenos em pacientes ambulatoriais na Cidade de Goiânia, GO *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 38(5):416-420, set-out, 2005.
10. Rieger, A., HORTA J.A. Prevalência de patógenos bacterianos e perfil de sensibilidade aos antimicrobianos em uroculturas de amostras comunitárias *Rev. Bras. de An. Cl.* 35(supl): 37B, 2003.
11. Simmons, J. S. A culture medium for differentiating organisms of typhoid-colon aerogenes groups and for isolation of certain fungi. *J. Infect. Dis.* 39: 209-214, 1926.
12. Toledo, M. R, *et al.* EPM – Modificação do meio de Rugai e Araujo para a realização simultânea dos testes de produção de gás a partir da glicose, H₂S, urease e triptofano desaminase. *Rev. Microbiol.* 13 (4): 309-15. 1982.

AGRADECIMENTO: A Daniel Ribeiro Albini, pela confecção das fotos utilizadas no capítulo.

34. IDENTIFICAÇÃO DE UROPATÓGENOS POR TESTES FENOTÍPICOS (GRAM-POSITIVOS)

Pedro Alves d'Azevedo

Diferentes espécies de bactérias acham-se associadas às Infecções do Trato Urinário (ITU's), embora fungos, leveduras e vírus também possam produzi-las. A espécie causadora mais provável de ITU depende da maneira como foi adquirida em ambientes intra ou extra-hospitalar (Heilberg & Schor, 2003). As espécies mais frequentes na ITU adquirida fora do ambiente hospitalar, são em ordem de frequência: *Escherichia coli*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Proteus spp*, *Klebsiella spp*, *Enterococcus faecalis* e *Staphylococcus aureus*, sendo que das bactérias citadas, somente *Staphylococcus saprophyticus*, *Enterococcus faecalis* e *Staphylococcus aureus* são gram-positivas, embora ainda *Streptococcus grupo B e D* possam também ser identificados em algumas situações.

Tabela 1 - Identificação simplificada dos cocos gram-positivos (gênero) de importância clínica

Gênero	Catalase	Motilidade	NaCl 5%	Oxidase	Aeróbio	Tétrade Estrito
<i>Staphylococcus</i>	pos	neg	pos	neg	não	não
<i>Planococcus</i>	pos	pos	pos	neg	pos	variável
<i>Micrococcus</i>	pos	neg	pos	pos	variável	variável
<i>Enterococcus</i>	neg	variável	pos	neg	não	não
<i>Streptococcus</i>	neg	neg	variável	neg	não	não
<i>Aerococcus</i>	neg	neg	pos	neg	não	pos
<i>Stomatococcus</i>	variável	neg	neg	neg	não	variável

Adaptada do *Manual of Clinical Microbiology*, 2007.⁴

De forma geral, dos testes indicados acima, um é essencial para identificar e diferenciar o principal gênero envolvido nas ITU's. Sem dúvida o de maior importância é o teste da catalase que vai separar o gênero *Staphylococcus* dos gêneros *Enterococcus* e *Streptococcus*.

Tabela 2 - Identificação das espécies de *Staphylococcus* de maior importância nas ITUs

Identificação	Catalase	DNAse	Coag	PYR	Agar manitol	Novob	Ureia
<i>Staphylococcus aureus</i>	pos	pos	pos	neg	pos	neg	variável
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	pos	neg	neg	neg	neg	pos	pos
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	pos	neg	neg	neg	neg	neg	pos

Se o gênero *Staphylococcus* for identificado previamente pelo esquema simplificado anterior, aconselha-se que o Laboratório de Microbiologia Clínica utilize os seis testes apresentados na tabela acima. As provas da coagulase, DNAse e do ágar manitol vão separar *Staphylococcus aureus* das duas outras espécies que podem ser identificadas como causadoras de ITU's. A prova do PYR é confirmatória para algumas espécies de *Staphylococcus*, sendo negativa para as principais espécies envolvidas nas ITU's e podendo ser utilizada como um diferencial entre as espécies de cocos gram-positivos envolvidas nesse tipo de infecções. Por fim, a prova da novobiocina a ser utilizada irá separar *S. saprophyticus* das outras espécies de estafilococos não produtores de coagulase (ENPC) que não são comumente isoladas de infecções urinárias que são positivas frente à prova.

Identificação de *Enterococcus* e *Streptococcus* grupo B e D de maior importância nas ITUs

Gênero	PYR	LAP	BE	NaCl 6,5%
<i>Enterococcus</i>	pos	pos	pos	pos
<i>Streptococcus</i>	neg ¹	pos	neg ²	neg

¹*S. pyogenes* é PYR positivo ²*S. bovis* e alguns *S. viridans* são positivos

Os quatro testes acima indicados são sugestivos para uma correta identificação do gênero *Enterococcus* e para diferencia-los do gênero *Streptococcus*. Após uma correta identificação do gênero *Enterococcus*, a identificação da espécie *E. faecalis*, que é a espécie mais comumente isolada de ITU's, pode ser feita através de métodos automatizados ou tradicionalmente através de fermentação de carboidratos conforme a figura 1. Se o laboratório de Microbiologia Clínica fizer uso de sistemas automatizados para a identificação das espécies, no caso, a identificação é confiável^{1,2}. Em relação à fermentação de carboidratos devemos utilizar no mínimo a arabinose (neg), o sorbitol (pos), a sorbose (neg) e o manitol (pos) conforme a figura 1. Além disso, fazer a prova da pigmentação (neg) e da motilidade (neg) seria importante para diferenciar de outras espécies pertencentes ao gênero (*E. gallinarum* e *E. casseliflavus*).

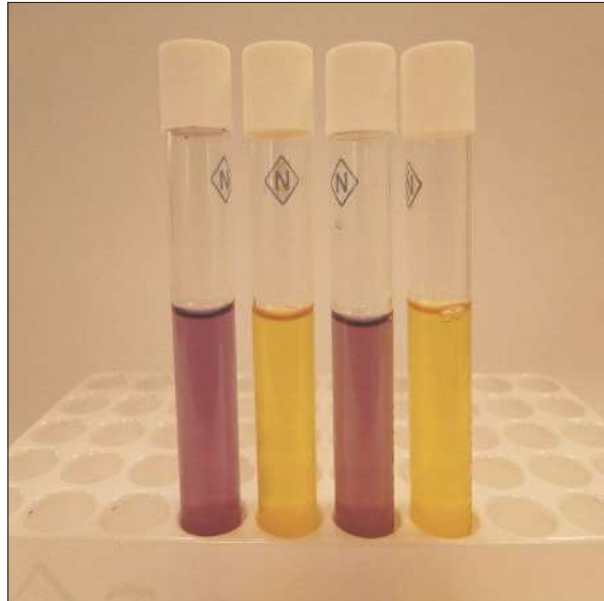


Figura 1 – Fermentação de carboidratos (arabinose(neg), sorbitol (pos), sorbose (neg) e manitol (pos))

Para a identificação de um possível *Streptococcus* do grupo B devem ser realizados os seguintes testes: CAMP-Test, Teste do hipurato e produção de pigmento laranja. Para a identificação de *Streptococcus* do grupo D, que seria do Complexo *bovis* será necessário verificar o crescimento em presença de NaCl 6,5% (neg), e as provas da Bile-esculina (pos) e do PYR (neg) as mesmas já citadas para identificar o gênero *Enterococcus*.

Provas Laboratoriais utilizadas para a identificação dos patógenos

Teste de produção de catalase

A atividade da catalase deve ser verificada pelo teste da decomposição da solução de peróxido de hidrogênio a 3%, adicionando-se a uma gota de suspensão bacteriana, uma gota de peróxido de hidrogênio. A reação positiva é indicada pela formação de bolhas.

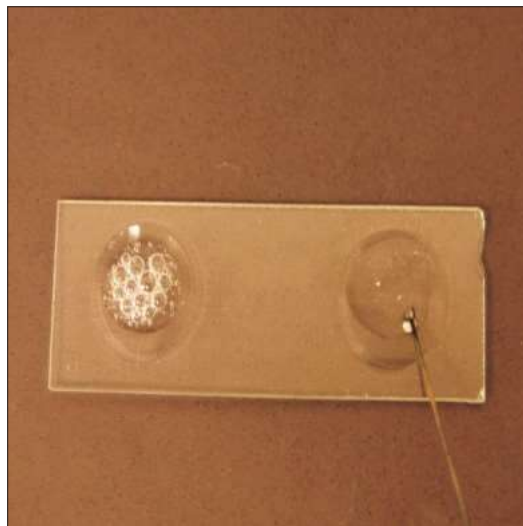


Figura 2 – Produção de catalase

Teste da DNase

O teste de DNase é utilizado para detectar a degradação do Ácido Desoxirribonucleico (DNA), contido no meio de cultura, por bactérias, como o *Staphylococcus aureus*, que possuem uma enzima extracelular, a desoxirribonuclease, responsável pela reação. Ao utilizar-se um meio comercial deve-se, após a incubação, inundar a placa com uma quantidade de ácido clorídrico (HCl) a 1N para revelar a atividade enzimática. Uma zona clara em volta do crescimento bacteriano indica reação positiva. Caso não haja atividade da enzima o HCl reagirá com o ácido nucleico intacto, que tornará o meio opaco.



Figura 3 – Teste da DNase

Teste da Coagulase

A atividade da coagulase é utilizada para distinguir espécies patogênicas de *Staphylococcus* de espécies não patogênicas, sendo um indicador adequado da patogenicidade de *S.aureus*. A prova da coagulase em tubo consiste em acrescentar em um tubo de ensaio contendo plasma de coelho comercial uma suspensão de micro-organismos (caldo de cultura) ou colônias provenientes de um meio sólido e incubar a 35° C. A formação de coágulos após 4 h, ou às 24 h de incubação é interpretada como uma prova positiva. A ausência de coagulação após 24 horas de incubação é uma prova negativa.



Figura 4 – Teste da coagulase, evidenciando a formação do coágulo no tubo superior

Isolamento em ágar Manitol

O ágar manitol deve ser utilizado para identificação presuntiva de *Staphylococcus aureus*: a fermentação (degradação) do manitol pelo micro-organismo com a produção de ácido muda a cor do meio de rosado para amarelo. Devido à alta concentração de cloreto de sódio (NaCl) no meio há inibição de crescimento de bastonetes gram-negativos.



Figura 5 – Crescimento e fermentação em ágar manitol

Teste da Ureia

O teste deve ser realizado da mesma maneira que realizamos para identificar e diferenciar enterobactérias. O princípio do teste está baseado no meio proposto por Christensen em 1946 cuja recomendação de uso é para a detecção da produção da urease.



Figura 6 – Teste da ureia

Testes de hidrólise do L-pirroglutamil-b-naftilamida (teste de PYR) e hidrólise da L-leucina-b-naftilamida (teste de LAP)

Os testes de PYR e de LAP devem ser efetuados a partir do preparo de suspensões espessas de uma cultura recente, em 0,2 ml de caldo Todd-Hewitt contendo 0,01% de PYR (Sigma, Chemical Company, St. Louis, MO, EUA) ou 0,02% de LAP (Sigma). Após adição do inóculo, as suspensões devem ser incubadas a 35°C por 4 horas. A presença da atividade enzimática será evidenciada pela formação de um complexo púrpura ou rosa forte após a adição de uma solução reveladora contendo dimetilaminocinamaldeído (Sigma) a 1% em HCl a 10% (v/v).

O teste de PYR, além da forma tradicional, também pode ser encontrado sob a forma de sistemas comerciais PYR kit.



Figura 7 – Prova do PYR

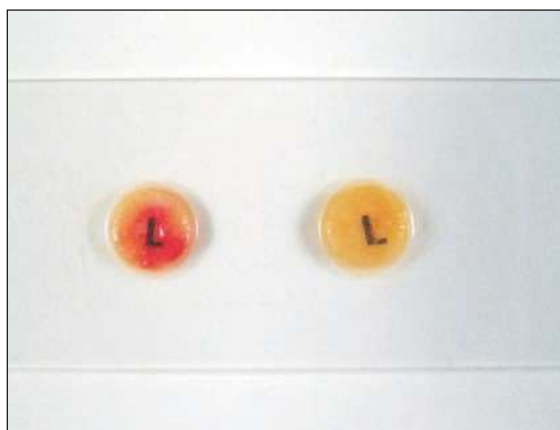


Figura 8 – Prova do LAP

Teste da hidrólise de esculina na presença de bile

Os isolados devem ser semeados em ágar bile-esculina inclinado, contido em tubos de vidro e incubadas a 35°C, por 18-24 horas. O escurecimento do meio é indicativo da hidrólise da esculina na presença de 40% de bile pelos enterococos.



Figura 9 – Teste da hidrólise da bile em presença de esculina

Teste de crescimento em meio com Cloreto de Sódio (NaCl) a 5 % e 6,5%

Os isolados devem ser semeadas em 3,0 ml de caldo BHI (Brain Heart Infusion Broth) contendo 5% ou 6,5% de NaCl e indicador de pH púrpura de bromocresol a 0,0016%. A turvação do meio, acompanhada ou não da alteração de cor, indica reação positiva.



Figura 10 – Teste de crescimento em meio de NaCl a 6,5%

Utilização de carboidratos

A verificação da utilização de carboidratos deverá ser feita a partir da inoculação de duas gotas de uma suspensão densa de cultura recente em caldo Heart Infusion Broth, adicionado de 0,1% do indicador de pH (púrpura de bromocresol, em solução alcoólica a 1,6%) e 1% de um dos açúcares a serem testados (arabinose, sorbitol, sorbose e manitol), todos Sigma. As leituras devem ser realizadas diariamente, durante um período de até sete dias de incubação a 35°C. A alteração da coloração para amarela indica a utilização do carboidrato e produção de ácido, com consequente viragem do indicador.

Testes de motilidade e produção de pigmento

Para o teste de motilidade deve ser utilizado o meio Motility Medium, distribuído em volume de três ml em tubos de vidro, inoculado com auxílio de uma agulha de níquel-cromo e incubado a 35°C, por até sete dias.

A produção de pigmento deve ser verificada após cultivo na superfície de placas contendo ágar BHI, acrescido de 5% de sangue desfibrinado de carneiro, e incubado a 35°C, por 18-24 h. Após esse período, a ocorrência de crescimento apresentando pigmentação deve ser inspecionada com a ajuda de um “swab” de algodão branco.

Teste de susceptibilidade à novobiocina

A susceptibilidade à novobiocina deve ser investigada em isolados de ENPC de amostras urinárias. Para a realização do teste, cada amostra, obtida de cultura recente, deverá ser semeada em placa de agar soja tripticaseína (como base preferencial) mas ao mesmo tempo poderá, na rotina, usar seu ágar-sangue contendo 5% de sangue desfibrinado de carneiro, ou ainda MHA com sangue, o mesmo utilizado no laboratório para fazer antibiograma de fastidiosos. Em seguida, discos de novobiocina devem ser aplicados e as placas incubadas por 18-24 horas a 35°C. A presença de zona inibição de crescimento de qualquer tamanho, ao redor do disco, deve ser interpretada como indicativo de susceptibilidade.

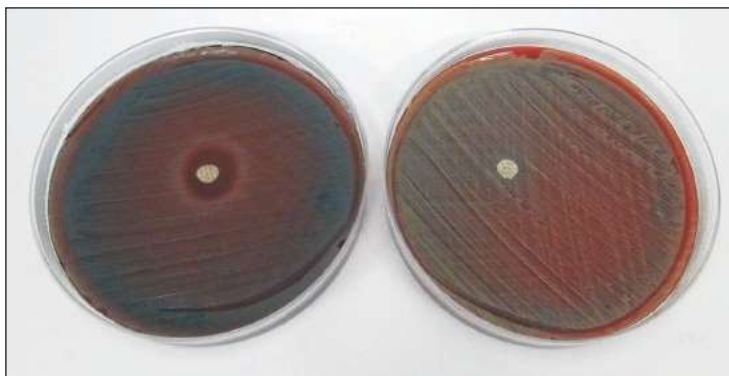


Figura 11 – Teste de susceptibilidade à novobiocina

CAMP-Test

O teste de CAMP é baseado na detecção de uma substância (fator CAMP) que potencializa a ação lítica da beta-hemolisina de *Staphylococcus aureus* sobre hemácias de carneiro, tendo como efeito a formação de uma área de hemólise sinérgica em forma de seta ou meia lua, quando os estreptococcus β -hemolíticos do grupo B são semeados sob a forma de estrias perpendiculares.



Figura 12 – CAMP test

Teste do hipurato

O teste está baseado na pesquisa de hipuricase, que hidrolisa o ácido hipúrico produzindo benzoato de sódio e glicina. A detecção da glicina é feita com ninhidrina (oxida grupos alfa-amino, presentes na glicina). A amônia liberada reage com a ninhidrina residual, originando a cor azul.



Figura 13 – Teste do hipurato

REFERÊNCIAS

- 3 d'Azevedo PA, Dias CAG, Gonçalves AL, Rowe F, Teixeira LM. 2001. Evaluation of an automated system for the identification and antimicrobial susceptibility testing of enterococci. *Diag Microbiol Infect Dis*, 40:157-161.
- 4 d'Azevedo PA, Siqueira I, Gugel J, Antunes ALS, Secchi C, Pasternak J, Martino MDV. 2009. Evaluation of the automated system Vitek2 for identification and antimicrobial susceptibility testing of Brazilian gram-positive cocci strains. *Braz J Infect Dis*, 13:107-110.
1. Heilberg IP & Schor N. 2003. Diagnosis and clinical management of urinary tract infection. *Rev Assoc Med Bras*, 49:109-116.
2. Murray, P.R. et al. 2007. *Manual of Clinical Microbiology*. 9ª ed. 2 vol, Washington, DC: ASM, 1200 p.
- 5 Oplustil CP, Zoccoli CM, Tobouti NR & Sinto SI. 2004. *Procedimentos básicos em Microbiologia Clínica*. 2 ed., Sarvier, São Paulo, 340 p.
- 6 Woodford HJ & George J. 2009. Diagnosis and management of urinary tract infection in hospitalized older people. *J AM Geriatr Soc*, 57:107-114.

AGRADECIMENTO: A Daniel Ribeiro Albini, pela confecção das fotos utilizadas no capítulo.

35. A BIOLOGIA MOLECULAR NO DIAGNÓSTICO DAS INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO

Keite da Silva Nogueira

Os métodos de diagnóstico molecular têm vantagens e desvantagens para a sua adoção em laboratórios de Bacteriologia. Atualmente, o emprego de diagnóstico molecular é restrito a laboratórios especializados ou laboratórios de referência em Bacteriologia. Isso ocorre devido a vários fatores, como custo das técnicas e dificuldade na obtenção de kits comerciais, sendo a maior parte das técnicas desenvolvidas no próprio laboratório. A grande vantagem da Biologia Molecular em relação à Bacteriologia é a informação em tempo real e a capacidade de detecção de alguns agentes que não crescem em meios de cultura. Com isso, embora o teste seja mais caro, uma conclusão precoce do diagnóstico evita custos adicionais no tratamento.

Dessa forma, as técnicas de diagnóstico molecular têm um papel importante a desempenhar na Bacteriologia clínica, embora a sua adoção não substitua as metodologias convencionais. Em geral, os ensaios moleculares são aplicados em laboratórios especializados para melhorar a eficiência de diagnóstico laboratorial bacteriológico, sendo o principal uso de tais ensaios o de completarem o diagnóstico onde as abordagens convencionais correntes são inadequadas. Como na identificação de bactérias de difícil crescimento ou na genotipagem para estudos epidemiológicos. A adoção de abordagens moleculares em Bacteriologia clínica vem sendo reforçada com o desenvolvimento de uma variedade maior de kits de diagnóstico, bem como a existência de mais laboratórios acreditados.

Para a identificação de bactérias que causem infecções do trato urinário (ITUs), assim como as demais infecções, os métodos de identificação molecular devem ser considerados em três diferentes cenários:

- (a) para a identificação de um organismo já isolado em cultura pura,
- (b) para a identificação de um organismo a partir de amostras com cultura negativa, ou quando há suspeita de micro-organismos que não crescem em meios de cultura e
- (c) para a rápida detecção de um organismo em uma definição de diagnóstico a partir de amostras clínicas.

Identificação e caracterização molecular a partir da colônia isolada

A identificação e caracterização molecular da bactéria a partir da colônia isolada fornecem informações complementares à identificação fenotípica. As informações podem ser usadas para identificação de espécies raramente isoladas e/ou com difícil identificação fenotípica, para favorecer a compreensão dos fatores virulência dos patógenos envolvidos, elucidar mecanismos de resistência a antimicrobianos e analisar o perfil clonal de amostras, auxiliando condutas clínicas ou avaliações epidemiológicas.

Técnicas como Reação em Cadeia da Polimerase (PCR do inglês “Polymerase Chain Reaction”) e sequenciamento dos produtos de PCR podem ser usados para estudar genes específicos e identificar espécies, enquanto técnicas de genotipagem como análise de fragmentos de restrição por eletroforese em gel em campo pulsado (RFLP-PFGE do inglês “*Restriction Fragment Length Polymorphisms - Pulsed Field Gel Electrophoresis*”) ou Polimorfismo por amplificação randômica de DNA (RADP do inglês “Random amplification DNA polymorfism”) podem ser utilizados na avaliação da clonalidade e relação genética entre isolados bacterianos.

Para facilitar o estudo, os itens abaixo possuem uma breve descrição das técnicas de biologia molecular que podem ser usadas na caracterização de uropatógenos isolados em cultura, sua finalidade e alguns resultados encontrados em estudos usando essas técnicas.

Genotipagem de amostras

Um exemplo da utilidade desses métodos no diagnóstico das ITUs é a investigação das infecções urinárias recorrentes. É muito importante para o clínico, nesse caso, distinguir entre re-infecção ou recidiva. Os métodos de tipagem RFLP-PFGE ou RADP podem ser utilizados para identificar se os isolados bacterianos obtidos nas culturas positivas possuem padrões genéticos diferentes ou idênticos. Padrões genéticos diferentes sugerem re-infecção, enquanto padrões genéticos idênticos sugerem permanência do patógeno no trato urinário e infecções recidivas, ou ainda, uma cepa com fatores de virulência próprios que persiste no trato gastrointestinal. O conhecimento dos fatores que levam a recorrência da infecção pode ajudar na decisão da melhor conduta terapêutica e preventiva das infecções recorrentes, já que muitos podem tornar-se infecções complicadas, especialmente em mulheres e crianças.¹

Análise do polimorfismo de macrofragmentos de restrição separados por eletroforese em campo pulsado (RFLP-PFGE)

A técnica de RFLP baseia-se na hidrólise do DNA com enzimas de restrição e posterior separação por eletroforese dos fragmentos gerados, que correspondem a padrões de restrição específicos. Estes padrões podem ser característicos de uma espécie ou de uma estirpe.²

Enzimas de restrição são endonucleases que reconhecem sequências específicas na molécula de DNA, clivando-o de forma precisa, sempre que encontra sua sequência de reconhecimento. Uma vez que estirpes distintas apresentam diferenças no genoma e algumas destas estarão no interior da sequência de reconhecimento da(s) enzima(s) de restrição utilizada(s), o tamanho dos fragmentos de DNA cromossômico gerados serão diferentes de acordo com a sequência de DNA das estirpes analisadas.²

Devido à dimensão do DNA cromossômico (tipicamente entre 800-8000 kb em bactérias), a maioria das enzimas de restrição gera um elevado número de fragmentos, por outro lado, enzimas de corte pouco frequente podem gerar fragmentos de DNA muito grandes. Os dois casos impossibilitam a análise dos perfis por eletroforese simples. A separação destes fragmentos de grandes dimensões é conseguida pela técnica de eletroforese em campo pulsado (PFGE).³

Durante a eletroforese de campo contínuo, os fragmentos de DNA acima de 30-50 kb migram com a mesma velocidade, independentemente do tamanho. Isto é visto no gel como uma única grande banda difusa. Se, no entanto, os fragmentos de DNA forem forçados a mudar de direção durante a eletroforese, os fragmentos de diferentes tamanhos começam a se separar uns dos outros. Cada nova orientação do campo elétrico em relação ao gel faz com que o fragmento de DNA de menor tamanho se mova na nova direção mais rapidamente do que o fragmento maior de DNA, o que proporciona uma separação melhor dos fragmentos de tamanho diferente.³

O preparo das moléculas de DNA para restrição envolve primeiramente a imobilização das células numa matriz de agarose, de modo a evitar quebras não específicas do DNA devido à agitação mecânica, e a lise das células bacterianas para extração e purificação do DNA, que permanecerá dentro da matriz de agarose.⁴

Para restrição é necessário escolher a enzima adequada para cada espécie bacteriana. A enzima deve produzir no mínimo 10 fragmentos para que possua poder discriminatório.⁵ Entre os uropatógenos podemos citar a enzima XbaI usada para *Escherichia coli* e outras enterobactérias, Sma para estafilococos ou Spe para *Pseudomonas aeruginosa*.⁶

A resolução de PFGE depende de vários fatores como: composição e concentração da agarose, solução tamponante, tensão da corrente elétrica (voltagem), tempo de pulso e tempo de corrida eletroforética. Esses parâmetros também devem ser ajustados de acordo com o micro-organismo, enzima de restrição utilizada e o tamanho dos fragmentos produzidos.¹⁻⁵

De acordo com critérios sugeridos por Tenover *et al.* uma linhagem é considerada semelhante à outra quando ocorre um único evento genético, como uma mutação, uma inserção ou deleção, que altere o padrão de bandas. Qualquer um destes eventos altera o padrão da linhagem epidêmica em duas ou três bandas. Uma bactéria é considerada possivelmente relacionada quando as mudanças de padrão de restrição forem compatíveis com dois eventos genéticos, resultando em alterações envolvendo entre 4 e 6 bandas. Quando o padrão da linhagem epidêmica possuir mais da metade das bandas diferentes em relação ao padrão de outras bactérias, estas devem ser consideradas não relacionadas geneticamente.⁶

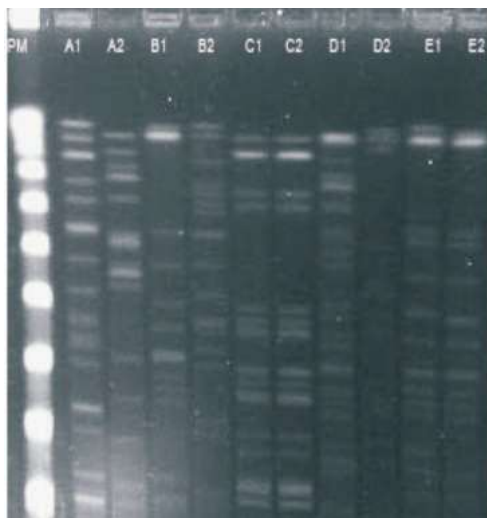
Quando duas ou mais bactérias da mesma espécie são isoladas a partir de culturas do mesmo paciente, obtidas em diferentes episódios de infecção urinária, pode-se avaliar o perfil genético dessas amostras e a possível similaridade genética entre os isolados. Assim, usando os métodos de tipagem, quando os dois isolados possuem similaridade genética, trata-se de persistência do micro-organismo no epitélio urinário, ou seja, infecções recidivas. Se não há similaridade entre os isolados, trata-se de uma re-infecção. Alguns estudos demonstraram que uma cepa de *E. coli* pode causar uma ITU que, apesar de ter sido devidamente tratada e de não ser novamente encontrada em repetidas culturas de urina após o tratamento, ressurgue como uma nova ITU 3 anos depois. Nesse caso, ainda não está claro se essas estirpes podem persistir na microbiota fecal ou se podem ter sido readquiridas a partir de outra origem.⁷

Apesar de existirem poucos estudos para determinar qual a frequência das recidivas entre as populações que apresentam ITU repetida, sabe-se que o trato digestivo é o principal reservatório dos micro-organismos que causam essas infecções e, por isso, acredita-se que de maneira geral a re-infecção seja mais comum que a persistência do uropatógeno no trato urinário.⁷ A diferenciação pode ser importante por que alguns fatores de risco são diferentes para os dois tipos de infecção, assim como o tratamento e as medidas profiláticas podem ser distintos nos dois casos. O PFGE é considerado o melhor método para avaliar persistência da infecção e também a eficácia do antimicrobiano no tratamento da infecção urinária.⁸

Muitos autores têm usado a tipagem molecular para entender melhor esse tipo de infecção. Estudos com crianças que apresentavam ITUs recorrentes, através da avaliação do perfil genético das amostras por PFGE concluíram que, na maioria dos casos, as amostras isoladas em diferentes episódios de infecção eram altamente relacionadas ou indistinguíveis, ou seja, que em crianças a recidiva endógena é maior que a re-infecção.^{8, 9} Em mulheres adultas, uma meta-análise mostrou que na maioria das vezes o perfil genético das cepas é diferente, indicando maior prevalência de re-infecção.^{10, 11} Em pacientes cateterizados, infecções por *Proteus mirabilis* são frequentes. Usando o método de PFGE em isolados de ITU confirmou-se que cepas presentes em biofilmes no catéter tinham perfil idêntico ao isolado na urina dos pacientes. E ainda, que uma cepa com o mesmo perfil pode persistir no trato urinário dos pacientes mesmo após troca de catéter, períodos de não cateterização e terapia antimicrobiana.¹² Ou-

tro estudo mostrou, ainda, similaridade genética entre cepas de *P. mirabilis* isoladas nas fezes e nos catéteres de pacientes com ITU.¹³

A PFGE pode ser usada também na avaliação da eficácia terapêutica na erradicação bacteriana. Estudo comparando cepas isoladas de infecção antes e após tratamento mostrou que em 18 de 19 casos com vários micro-organismos diferentes, os micro-organismos isolados antes e após tratamento foram idênticos, muito relacionados ou relacionados, o que significa persistência após tratamento.¹⁴



Legenda = Avaliando 5 pacientes com infecções recorrentes A, B, C, D, E e 2 diferentes isolados de episódios distintos de infecção 1 e 2, pode-se dizer que os isolados dos pacientes A, B e D foram geneticamente diferentes (re-infecção), enquanto os isolados dos pacientes C e E foram idênticos (recaída).

OBS: Foto cedida pelo autor

Figura 1 – Análise de amostras de *K. pneumoniae* por PFGE.

Fonte: O autor, 2010.

Polimorfismo por amplificação randômica de DNA (RAPD)

Além das análises de fragmentos de restrição, outras técnicas de tipagem genética podem ser usadas com a mesma finalidade. Entre elas destacam-se as técnicas de tipagem baseadas em reações em cadeia da polimerase (PCR), que variam com a dimensão e a natureza das sequências oligonucleotídicas usadas como iniciadores. São elas: ribotipagem por PCR, Rep-PCR, RAPD e tipagem baseada em sequências nucleotídicas. Essas técnicas tornaram-se importantes, porque a análise pode ser realizada mesmo quando a quantidade de DNA a ser analisada é pequena. Além disso, permitem a análise epidemiológica de elevado número de isolados de modo simples e rápido. Nem todos os métodos são igualmente eficazes, diferindo no poder discriminatório entre níveis taxonômicos. Algumas destas técnicas apresentam alguns problemas de reprodutibilidade, relacionados com a sensibilidade a ligeiras alterações das condições reacionais. A técnica de RAPD é a mais simples delas e pode ser usada para estudos envolvendo infecções recorrentes ou persistência bacteriana pós-tratamento.⁹

O método RAPD - *randomly amplified polymorphic DNA fingerprints* - baseia-se na análise do polimorfismo dos fragmentos de DNA amplificado aleatoriamente. Resulta da utilização de uma sequência iniciadora escolhida empiricamente (de 9 - 10 pares de bases) e dois ciclos de PCR de baixa especificidade, com baixa temperatura, onde os iniciadores formam híbridos com sequências que não são totalmente complementares. Esses ciclos iniciais são seguidos de outros com maior especificidade e o resultado será um conjunto de produtos de amplificação, com diferentes tamanhos e características de um genoma particular. As dificuldades de padronização (condições reacionais muito variáveis em função das sequências iniciadoras) e de reprodutibilidade são as principais limitações da técnica. Além disso, o processo de amplificação é extremamente sensível a pequenas diferenças de temperatura de hibridação, conduzindo a variabilidade nos perfis.¹⁰

O uso no estudo dos uropatógenos é semelhante ao do PFGE, sendo menos usado que o primeiro pela dificuldade em reproduzir os resultados. Um estudo realizado em mulheres com infecções recorrentes comparou amostras obtidas em episódios diferentes de infecções com a técnica de RAPD e encontrou cepas diferentes em 75% das pacientes estudadas.¹⁵

Pesquisa de genes de virulência ou resistência

A pesquisa de genes de resistência a antimicrobianos pode ser usada em estudos epidemiológicos ou para elucidar casos de resistência atípica em uropatógenos. Da mesma forma a pesquisa de genes de virulência pode ajudar a entender mecanismos de patogenicidade e os fatores que favorecem a persistência dos micro-organismos nas infecções recidivas. A técnica não é usada na rotina laboratorial para diagnóstico das ITUs, mas podem ser úteis em trabalhos de pesquisa e epidemiológicos que visem conhecer melhor os uropatógenos a fim de melhorar medidas terapêuticas e preventivas. A técnica de Biologia Molecular mais usada nesses casos é a reação em cadeia da polimerase, capaz de detectar facilmente genes específicos.

A Reação em Cadeia da Polimerase - Polymerase Chain Reaction (PCR) é um processo de amplificação de um fragmento específico de DNA, realizado por uma enzima, a DNA polimerase, e mediado por oligonucleotídeos iniciadores (primers) e dependente de ciclos de temperatura. O princípio é baseado na repetição de 3 reações, que acontecem conforme variação na temperatura de incubação da reação. Na primeira etapa, de desnaturação, a temperatura é elevada para cerca de 95°C, e a fita dupla de DNA é separada em duas fitas simples. Na segunda etapa, de anelamento, a temperatura é reduzida para 55°C e ocorre o anelamento dos primers com suas sequências complementares específicas no DNA alvo; e na terceira etapa, de extensão, ocorre a extensão do DNA a partir do primer formando fragmentos de DNA de tamanho específico. Cada cópia do DNA pode então servir como mais um modelo para a amplificação posterior, o que faz com que o aumento do número de moléculas do DNA contendo o gene de interesse seja logarítmico, já que o número de produtos de PCR é dobrado a cada ciclo. Após aproximadamente 30 ciclos é possível detectar o produto de PCR, o que indicará a presença do gene pesquisado na amostra.¹⁶

Muitos trabalhos e revisões têm sido publicados sobre a detecção de genes de resistência a antimicrobianos e sua importância. No caso de uropatógenos destaca-se a pesquisa de resistência a quinolonas (mutações em genes *gyrA* e *parC* por exemplo) e aos betalactâmicos (genes *bla* para produção de betalactamases), grupos mais utilizados no tratamento desse tipo de infecção.¹⁷⁻¹⁹

1. A pesquisa de genes de virulência também é uma grande área de estudo, com trabalhos em grupos de risco que apresentam infecções recorrentes ou complicadas para melhor compreensão e atuação clínica.^{20,21} O patógeno com fatores de virulência mais estudados é *E. coli*, por ser o mais frequente em ITU.^{22,23} Sabe-se que a presença de alguns genes como genes G adesinas das classes I, II e III estão relacionados infecções recorrentes. Outros genes de virulência encontrados em *E. coli* uropatogênicas, são hemoaglutinina manose-resistente - MRHA (do inglês *Mannose-resistant Haemagglutination*), hemolisina (Hlys), fimbria 1C e antígenos O e K.¹⁵

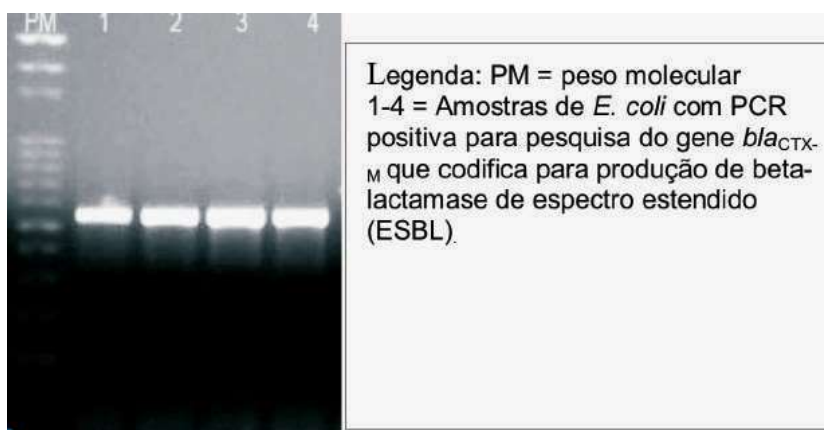


Figura 2 - Pesquisa do gene *bla*_{CTX-M} por PCR em *E. coli*.

Fonte: O autor, 2010.

Identificação bacteriana

A identificação da espécie bacteriana por métodos moleculares pode ser usada quando o micro-organismo é uma espécie nova ou rara, de difícil identificação, muito semelhante fenotipicamente a outras espécies ou, ainda, quando se necessita rapidez nos resultados. O método padrão para identificação da espécie bacteriana é o sequenciamento de segmentos de RNA ribossomal.

Onde não há nenhuma indicação sobre a identidade de um organismo bacteriano, emprego de amplificação de genes codificadores do RNA ribossomal em conjunto com sequenciamento do fragmento de DNA amplificado provou ser valioso.^{24, 25} Em bactérias, há três genes que compõem a rRNA funcional, ou seja, 5S, 16S e 23S rRNA. O gene rRNA 16S tem sido mais empregado para a finalidade de identificação, por ser altamente conservado, dependendo do gênero. Os genes rRNA 16S são encontrados em todas as bactérias e podem acumular mutações em um processo lento, em taxa constante

ao longo do tempo. Porções altamente variáveis da sequência de rRNA 16S fornecem sequências únicas para qualquer bactéria e informações úteis sobre as relações entre os diversos gêneros. Uma ampla gama de primers pode ser concebida para reconhecer as regiões conservadas do rRNA 16S e amplificar regiões variáveis ou regiões de diagnóstico, sem a necessidade de conhecer qualquer sequência prévia ou informação filogenética sobre o isolado bacteriano desconhecido. Mais recentemente, o emprego da região intergênica do rRNA 16S-23S tornou-se popular devido a seu número elevado de cópias e sequência de alta variabilidade.²⁶

Globalmente, o emprego de outras regiões do rRNA não tem sido muito utilizado, e atualmente o único equipamento de identificação universal bacteriana baseado em sequenciamento disponível no mercado, MicroSeq 500 16S DNA ribossomal (rDNA) (Applied Biosystems, Foster City, CA), é baseado em gene do rRNA 16S.²⁷ A análise da sequência obtida em métodos de identificação empregando o locus do gene rRNA requer o uso de softwares. Blastn e FASTA são as ferramentas de softwares normalmente utilizadas para fazer as comparações entre a sequências da consulta e outras depositadas em bancos de dados.²⁸

Em isolados a partir de urina, o método tem sido principalmente usado na identificação de micobactérias,^{29, 30} mas pode ser usado também para qualquer isolado. Estudos comparando o Microseq 500 com outros métodos automatizados como Vitek ® e Phoenix ® demonstram a superioridade da identificação baseada em sequenciamento para várias espécies bacterianas.³¹

A singularidade do rRNA 16S pode ser usada também na construção de sondas específicas de DNA, marcadas com fluoróforos ou outros marcadores de reação, para serem usadas na pesquisa direta de micro-organismos nas amostras clínicas. Essas técnicas serão discutidas na seção 2.2.

Identificação de um organismo a partir da urina

A identificação de bactérias a partir da amostra de urina usando técnicas moleculares acrescentou grande sensibilidade ao diagnóstico de ITU causado por micro-organismos que não crescem nos meios de cultura usuais, ou que crescem lentamente. Apesar de pouco citados, alguns patógenos não usuais podem causar infecções como cistites, pielonefrites e uretrites. Com o avanço das técnicas de Biologia Molecular, alguns kits comerciais já estão disponíveis com essa finalidade, e a melhoria no diagnóstico fez com que a importância e prevalência desse grupo de patógenos fosse reconhecida, especialmente em grupo especiais de pacientes, como idosos e transplantados renais.

Alguns trabalhos têm mostrado também a possibilidade de uma análise completa da urina por Biologia Molecular, pesquisando os principais uropatógenos e genes de resistência a antimicrobianos, ou seja, substituindo a cultura tradicional. Esses métodos ainda estão em estudo, e apesar de terem alto custo e necessitarem de equipamentos especiais, os defensores de sua implantação na rotina laboratorial acreditam que a rapidez no diagnóstico (1-2 horas) poderia compensar o custo porque a terapia correta seria iniciada mais rapidamente.

Abordaremos abaixo as técnicas usadas na pesquisa dos patógenos atípicos, com crescente importância nos laboratórios de rotina, e, ainda, de forma breve, as novas técnicas em estudo para o diagnóstico rápido de ITU.

Pesquisa de bactérias que não crescem nos meios usados para urocultura

A etiologia bacteriana pode ser demonstrada na maioria dos episódios de ITU e as espécies bacterianas mais comuns vistas em diferentes grupos de pacientes já foram bem definidas. No entanto, continuam a existir grupos de pacientes nos quais a etiologia é incerta. Mesmo entre as mulheres jovens com sintomas agudos e piúria, há um subconjunto no qual nenhum patógeno pode ser isolado. Um substancial número de homens com prostatite inflamatória não tem nenhum micro-organismo aparente demonstrável, e continuam a ser considerados portadores de cistite intersticial idiopática. Nesses casos, a Biologia Molecular tem tido grande sucesso. A identificação de bactérias como *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*, *Actinobaculum schaalii* e *Chlamydia trachomatis* em uretrites e outras ITUs, antes consideradas idiopáticas, tem auxiliado no correto tratamento dessas infecções. Outros grupos bacterianos não frequentes, mas importantes em ITU como *Corynebacterium urealyticum*, *Corynebacterium genitalium*, *Corynebacterium pseudogenitalium*, *Haemophilus influenzae* e *Haemophilus parainfluenzae*, que podem ser isolados usando meios disponíveis no laboratório, também tem a detecção melhorada na urina usando-se Biologia Molecular.

A técnica mais usada com essa finalidade é a PCR em tempo real. O procedimento é um ensaio quantitativo para qualquer sequência de DNA amplificável, que difere da PCR tradicional por ter o produto de PCR detectado ao mesmo tempo em que é formado, em um sistema fechado, o que permite avaliação quantitativa da amostra, automação e menor risco de contaminação, já que exclui a etapa de eletroforese e manipulação do produto amplificado.^{32,33}

A detecção em tempo real é possível com o uso de sondas fluorescentes que se ligam aos produtos de PCR enquanto eles estão sendo gerados e emite fluorescência proporcional à quantidade de produto formado. O sistema de amplificação é acoplado a outro de detecção de fluorescência que permite a construção de curvas de produto formado *versus* ciclos de amplificação. Nos últimos anos, alguns sistemas comerciais automatizados de PCR em tempo real estão disponíveis. Em sistemas como o LightCycler™ e SmartCycler®, o monitoramento da fluorescência é realizado em tempo real usando corantes fluorescentes como SYBR-Green I, que se liga a qualquer DNA dupla-fita (não especificamente gerados durante a amplificação PCR). Outros, como a TaqMan, usa sondas fluorescentes que se ligam especificamente às sequências-alvo amplificadas. Atualmente, muitos primers e sondas de segmentação do gene rRNA 16S foram desenvolvidos nestes sistemas para detectar e identificar bactérias universalmente.³²

A amostra deve ser urina de primeiro jato para pesquisa dos patógenos intracelulares e jato médio para os demais. A extração de DNA das amostras deve ser realizada por kits de extração adequados como o High Pure (Roche Applied), Sciencev QIAamp (Qiagen), IsoQuick (Orca Research), MagNA Pure LC (Roche – sistema automatizado) ou outro kit/método de purificação equivalente. Para alguns testes existem também kits comerciais disponíveis para amplificação/detecção. Alguns exemplos são o kit para pesquisa de *C. trachomatis* da Abbot, pesquisa de *Mycoplasma genitalium*

Real-TM da Sacace Biothechnologies e pesquisa de Clamídia, Ureaplasma e Mico-plasma pelo “MultiPrime” Line Kits E coli. Muitas técnicas caseiras também têm sido utilizadas na detecção desses micro-organismos por PCR, mas como são manuais e usam sistemas abertos com fases distintas para a amplificação e análise do amplicon, estão sujeitas a contaminação, sendo inadequadas para diagnóstico em laboratórios com alta carga de trabalho.

As infecções por esses patógenos podem ser diagnosticadas por cultura. No entanto, a cultura é onerosa, uma vez que requer meios de cultura especiais e conhecimento. A sensibilidade da detecção por PCR varia de 92 a 100%, podendo ser igual ou maior que da cultura,^{34, 35} e a principal vantagem é a rapidez. Pode levar 2-5 dias para o isolamento de *Ureaplasma* spp. e *M. hominis*, e até 8 semanas para a cultura de *M. genitalium*. No entanto, as técnicas de amplificação de ácidos nucleicos podem detectar os agentes infecciosos em 8 h.³⁶⁻⁴⁰

Para pesquisa de *C. trachomatis* as técnicas de amplificação de ácidos nucleicos são cada vez mais utilizadas. Essa bactéria pode causar infecções graves que, quando diagnosticadas precocemente, são tratadas com uma dose única de azitromicina. Porém, não crescem em meios de cultura, e o diagnóstico convencional (imunofluorescência) é difícil e trabalhoso e vem sendo substituído por métodos moleculares. O teste Amplicor PCR, desenvolvido pela Roche Diagnostics para detecção de DNA de *C. trachomatis* foi o primeiro aprovado pelo Food and Drug Administration (FDA). Atualmente muitos estudos têm comprovado a sua confiabilidade. No entanto, esses sistemas continuam a ser caros e não são totalmente automatizados. A PCR em tempo real (TaqMan tecnologia, a ABI 7900, Applied Biosystems) pode ser acoplada a um método automatizado de extração de DNA (Pure Magna, Roche), tornando possível o processamento de grande número de amostras de maneira totalmente automatizada, com baixa exigência de tempo técnico do laboratório.⁴¹

O *Actinobaculum schaalii* é outro micro-organismo que pode causar ITU e septicemia, porém há dificuldade de identificar através do cultivo. Para obter um diagnóstico rápido foi desenvolvida uma técnica de PCR em tempo real (TaqMan) quantitativa. Um estudo na Dinamarca em 2008-2009 detectou *A. schaalii* em 22% das amostras de pacientes com idade > 60 anos. O ensaio demonstrou que *A. schaalii* é mais comum do que implícito pelo cultivo de rotina. Em 90% das amostras de urina positivas por PCR, outros uropatógenos comuns foram identificados.⁴²

Apesar da técnica de real time PCR ser a mais difundida com essa finalidade, outras técnicas baseadas em amplificação e/ou hibridização com sondas marcadas podem ser utilizadas. Sondas com rRNA 16s tem sido usadas para identificar novos patógenos em grupos de interesse.⁴³ E sistemas usando amplificação e sondas como APTIMA Combo 2 (Gen-Probe) e BDProbeTec (Becton Dickinson Diagnostics) são usados em alguns laboratórios na detecção de *C. trachomatis*.⁴¹

Diagnóstico rápido da etiologia das ITU

Usando um arranjo de biossensores eletroquímicos com base em sistemas micro-eletromecânicos (MEMS), foi desenvolvido um teste altamente sensível de 50 minutos para identificar bactérias patogênicas. O sensor de superfície funciona usando monocamadas automontadas. A estratégia de detecção baseia-se na hibridização tipo “sanduíche” de sondas de DNA contra rRNA 16S bacteriano. Usando um painel com sondas de DNA complementares ao rRNA 16S dos uropatógenos mais comuns, incluindo *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Pseudomonas* e *Enterococcus*, o método pode ser usado no diagnóstico das ITUs. Os “sanduíches” de hibridização dos pares de sondas e alvo rRNA 16S são medidos utilizando amperometria como transdutor de sinal. Foi desenvolvido também um biossensor complementar com ensaio eletroquímico para um rápido teste de sensibilidade a antibióticos (TSA). Usando rRNA 16S bacteriano como um marcador de crescimento, compara-se o nível de rRNA 16S do patógeno crescido na presença de antibióticos usados no tratamento de ITU, incluindo ampicilina, ciprofloxacina, sulfametoxazol-trimetoprim, gentamicina e ceftriaxona, ao nível de 16S rRNA do patógeno crescido sem antibiótico. A diferença entre 16S rRNA em diferentes condições de crescimento corresponde ao TSA do patógeno obtido a partir do laboratório de Microbiologia clínica. Com isolamentos bacterianos, o perfil do TSA pode ser determinado com o biossensor eletroquímico em 45 minutos de incubação. Utilizando amostras de urina do paciente o TSA pode ser consistentemente determinado após 150 minutos de incubação. As amostras devem ser urinas de coleta recente, testadas dentro de 1 a 2 horas após a coleta⁴⁴. Os resultados comparados com os de cultura em laboratório de Microbiologia clínica usando 2.600 amostras apresentaram detecção espécie-específica para 100% das urinas com gram-positivos e 98% das urinas com gram-negativos.^{44, 45} Muitos estudos vêm sendo realizados para melhorar estas metodologias a fim de tornar possível a implantação nos laboratórios de Microbiologia clínica, para análise não somente de urina mas dos vários fluidos orgânicos.^{45, 47}

REFERÊNCIAS

1. Kauffmann, M.E., Pulsed Field Gel Electrophoresis, in *Molecular Bacteriology*, N.W.a.A.P. Johnson, Editor. 1998, Humana Press: Totoma. p. 33-50.
2. Jordens, J.Z., Genomic DNA digestion and Ribotyping, in *Molecular Bacteriology*, N.W.a.A.P. Johnson, Editor. 1998, Humana Press: Totowa. p. 17-32.
3. Basim, E.B.H.S., Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) Technique and its use in *Molecular Biology*. *Turk J Biol*, 2001. 25: p. 405-418.
4. Finney, M., Pulsed-field gel electrophoresis. *Curr Protoc Mol Biol*, 2001. Chapter 2: p. Unit2 5B.
5. Darini, V.D.M.J.C.F.C.B.A.L.C., Eletroforese em campo pulsante em bacteriologia – uma revisão técnica. *Revista do Instituto Adolf Lutz*, 2005. 64(2): p. 155-161.
6. Tenover, F.C., *et al.*, Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol*, 1995. 33(9): p. 2233-9.
7. Brauner, A., S.H. Jacobson, and I. Kuhn, Urinary *Escherichia coli* causing recurrent infections--a prospective follow-up of biochemical phenotypes. *Clin Nephrol*, 1992. 38(6): p. 318-23.
8. Jantunen, M.E., *et al.*, Recurrent urinary tract infections in infancy: relapses or reinfections? *J Infect Dis*, 2002. 185(3): p. 375-9.
9. Koljalg, S., *et al.*, Persistence of *Escherichia coli* clones and phenotypic and genotypic antibiotic resistance in recurrent urinary tract infections in childhood. *J Clin Microbiol*, 2009. 47(1): p. 99-105.
10. Hooton, T.M., Recurrent urinary tract infection in women. *Int J Antimicrob Agents*, 2001. 17(4): p. 259-68.
11. Drekonja, D.M. and J.R. Johnson, Urinary tract infections. *Prim Care*, 2008. 35(2): p. 345-67, vii.
12. Sabbuba, N.A., E. Mahenthalingam, and D.J. Stickler, Molecular epidemiology of *Proteus mirabilis* infections of the catheterized urinary tract. *J Clin Microbiol*, 2003. 41(11): p. 4961-5.
13. Mathur, S., *et al.*, Genotyping of urinary and fecal *Proteus mirabilis* isolates from individuals with long-term urinary catheters. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2005. 24(9): p. 643-4.
14. Osawa, K., *et al.*, Evaluation of antibacterial efficacy of drugs for urinary tract infections by genotyping based on pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). *J Infect Chemother*, 2002. 8(4): p. 353-7.
15. Karkkainen, U.M., *et al.*, Recurrence of urinary tract infections in adult patients with community-acquired pyelonephritis caused by *E. coli*: a 1-year follow-up. *Scand J Infect Dis*, 2000. 32(5): p. 495-9.
16. Clewley, N.A.S.a.J.P., DNA amplification : general concepts and methods, in *Molecular Bacteriology*, N.W.a.A.P. Johnson, Editor. 1998, Humana Press: Totowa, USA. p. 63-82.

17. Ince, J. and A. McNally, Development of rapid, automated diagnostics for infectious disease: advances and challenges. *Expert Rev Med Devices*, 2009. 6(6): p. 641-51.
18. Sundsfjord, A., *et al.*, Genetic methods for detection of antimicrobial resistance. *APMIS*, 2004. 112(11-12): p. 815-37.
19. Woodford, N. and A. Sundsfjord, Molecular detection of antibiotic resistance: when and where? *J Antimicrob Chemother*, 2005. 56(2): p. 259-61.
20. Dobrindt, U., [Virulence factors of uropathogens]. *Urologe A*. 49(5): p. 598-605.
21. Oelschlaeger, T. and R. Funfstuck, [Recurrent urinary tract infections in women. Virulence of pathogens and host reaction]. *Urologe A*, 2006. 45(4): p. 412, 414-6, 418-20.
22. Johnson, J.R., *et al.*, Colonization with and acquisition of uropathogenic *Escherichia coli* as revealed by polymerase chain reaction-based detection. *J Infect Dis*, 1998. 177(4): p. 1120-4.
23. Anderson, G.G., *et al.*, Intracellular bacterial communities of uropathogenic *Escherichia coli* in urinary tract pathogenesis. *Trends Microbiol*, 2004. 12(9): p. 424-30.
24. Patel, J.B., 16S rRNA gene sequencing for bacterial pathogen identification in the clinical laboratory. *Mol Diagn*, 2001. 6(4): p. 313-21.
25. Kolbert, C.P. and D.H. Persing, Ribosomal DNA sequencing as a tool for identification of bacterial pathogens. *Curr Opin Microbiol*, 1999. 2(3): p. 299-305.
26. Gurtler, V. and V.A. Stanisich, New approaches to typing and identification of bacteria using the 16S-23S rDNA spacer region. *Microbiology*, 1996. 142 (Pt 1): p. 3-16.
27. Patel, J.B., *et al.*, Sequence-based identification of *Mycobacterium* species using the MicroSeq 500 16S rDNA bacterial identification system. *J Clin Microbiol*, 2000. 38(1): p. 246-51.
28. Goldenberger, D., *et al.*, Molecular diagnosis of bacterial endocarditis by broad-range PCR amplification and direct sequencing. *J Clin Microbiol*, 1997. 35(11): p. 2733-9.
29. Cloud, J.L., *et al.*, Identification of *Mycobacterium* spp. by using a commercial 16S ribosomal DNA sequencing kit and additional sequencing libraries. *J Clin Microbiol*, 2002. 40(2): p. 400-6.
30. Therese, K.L., *et al.*, DNA sequencing by Microseq kit targeting 16S rRNA gene for species level identification of mycobacteria. *Indian J Med Res*, 2009. 129(2): p. 176-81.
31. Fontana, C., *et al.*, Use of the MicroSeq 500 16S rRNA gene-based sequencing for identification of bacterial isolates that commercial automated systems failed to identify correctly. *J Clin Microbiol*, 2005. 43(2): p. 615-9.
32. Espy, M.J., *et al.*, Real-time PCR in clinical microbiology: applications for routine laboratory testing. *Clin Microbiol Rev*, 2006. 19(1): p. 165-256.
33. Mothershed, E.A. and A.M. Whitney, Nucleic acid-based methods for the detection of bacterial pathogens: present and future considerations for the clinical laboratory. *Clin Chim Acta*, 2006. 363(1-2): p. 206-20.

34. Colaizy, T.T., *et al.*, PCR methods in clinical investigations of human ureaplasmas: a minireview. *Mol Genet Metab*, 2003. 80(4): p. 389-97.
 35. Teng, K., *et al.*, Comparison of PCR with culture for detection of *Ureaplasma urealyticum* in clinical samples from patients with urogenital infections. *J Clin Microbiol*, 1994. 32(9): p. 2232-4.
 36. Stellrecht, K.A., *et al.*, Comparison of multiplex PCR assay with culture for detection of genital mycoplasmas. *J Clin Microbiol*, 2004. 42(4): p. 1528-33.
 37. Eastick, K., *et al.*, A novel polymerase chain reaction assay to detect *Mycoplasma genitalium*. *Mol Pathol*, 2003. 56(1): p. 25-8.
 38. Yoshida, T., *et al.*, Rapid detection of *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma parvum*, and *Ureaplasma urealyticum* organisms in genitourinary samples by PCR-microtiter plate hybridization assay. *J Clin Microbiol*, 2003. 41(5): p. 1850-5.
 39. Yoshida, T., *et al.*, Quantitative detection of *Mycoplasma genitalium* from first-pass urine of men with urethritis and asymptomatic men by real-time PCR. *J Clin Microbiol*, 2002. 40(4): p. 1451-5.
 40. Jurstrand, M., *et al.*, Detection of *Mycoplasma genitalium* in urogenital specimens by real-time PCR and by conventional PCR assay. *J Med Microbiol*, 2005. 54(Pt 1): p. 23-9.
 41. Jatou, K., J. Bille, and G. Greub, A novel real-time PCR to detect *Chlamydia trachomatis* in first-void urine or genital swabs. *J Med Microbiol*, 2006. 55(Pt 12): p. 1667-74.
 42. Bank, S., *et al.*, *Actinobaculum schaalii*, a common uropathogen in elderly patients, Denmark. *Emerg Infect Dis*. 16(1): p. 76-80.
 43. Stamm, W.E. and S.R. Norrby, Urinary tract infections: disease panorama and challenges. *J Infect Dis*, 2001. 183 Suppl 1: p. S1-4.
 44. Liao, J.C., *et al.*, Use of electrochemical DNA biosensors for rapid molecular identification of uropathogens in clinical urine specimens. *J Clin Microbiol*, 2006. 44(2): p. 561-70.
 45. Mastali, M., *et al.*, Optimal probe length and target location for electrochemical detection of selected uropathogens at ambient temperature. *J Clin Microbiol*, 2008. 46(8): p. 2707-16.
 46. Lazcka, O., F.J. Del Campo, and F.X. Munoz, Pathogen detection: a perspective of traditional methods and biosensors. *Biosens Bioelectron*, 2007. 22(7): p. 1205-17.
- Sun, C.P., *et al.*, Rapid, species-specific detection of uropathogen 16S rDNA and rRNA at ambient temperature by dot-blot hybridization and an electrochemical sensor array. *Mol Genet Metab*, 2005. 84(1): p. 90-9.

36. MICROBIOLOGIA DAS ITUs BASEADA EM EVIDÊNCIAS

Marcelo Pilonetto

Introdução

A medicina baseada em evidencia é o uso consciente, explícito e judicioso da melhor evidência atual para auxiliar na tomada de decisões sobre os cuidados individuais de cada paciente, inclusive do diagnóstico. Tem sido mal interpretada por alguns autores como uma ferramenta para corte de custos ou controle pela demanda de exames, o que de fato não o é.

Frequentemente os profissionais de saúde, incluindo os microbiologistas clínicos encontram-se diante de dilemas em relação a um determinado diagnóstico e então utilizam da experiência individual e a melhor evidencia externa disponível para tomar as decisões. Nenhuma das duas ferramentas deve ser utilizada sozinha. Por exemplo: um microbiologista vê-se diante de uma placa de Agar CLED onde foi semeado uma urocultura e houve desenvolvimento de *Escherichia coli*. Se ele usar apenas a experiência individual ele vai pensar que o isolado é definitivamente o agente etiológico de uma infecção urinaria, portanto o antibiograma deve ser realizado e o paciente submetido à antibioticoterapia. Por outro lado se ele analisar a contagem de colônias, que no caso foi de apenas 5.000 UFC/mL; a presença de células epiteliais descamativas (20 por campo de grande aumento) e a ausência de leucócitos provavelmente sua conclusão diagnóstica modificará e, baseado nas **evidências** acima descritas trata-se de uma contaminação ou no máximo uma colonização por *E. coli* e não mais uma infecção.

Breve história

A Medicina baseada em evidencia evolui do conceito de Práticas Baseadas em Evidência e posteriormente chegou ao campo do Laboratório Clínico. A Medicina Baseada em Evidência teve os primeiros movimentos na segunda metade do século XIX em Paris, na França. Na década de 90 do século XX (1993-1999) vários artigos científicos foram publicados sobre como interpretar resultados numéricos de artigos médicos (JAMA I a XV). Paralelamente a Universidade de Oxford idealizou o Centro de Medicina Baseada em Evidencia o qual está bem desenvolvido e hoje conta com um website (www.cebm.org) onde podem ser encontradas diversas informações como publicações, eventos, palestras, ferramentas de TI e várias outras aplicações voltadas para a Medicina Baseada em Evidência. Assim já se encontra no número

15 a revista *Evidence Based Medicine* (vinculada ao *British Medical Journal*), a qual publica bimensalmente, desde 1995, uma compilação de artigos contendo assuntos exclusivamente relacionados ao tema. No campo da Microbiologia um dos primeiros artigos específicos sobre o tema foi escrito por Giuseppe Giocoli do Grupo de Trabalho “Evidence-based Medicine,” da Associação Italiana de Microbiologia Clínica, em 2000 – na forma de uma carta ao editor (Giocoli 2000). Desde então a Microbiologia Baseada em Evidência, embora um assunto ainda recente para muitos, vem ganhando força e aplicabilidade na pesquisa e na rotina em Microbiologia Clínica. O presente capítulo não pretende esgotar o tema, mas sim introduzir o leitor aos conceitos básicos da nova especialidade do Laboratório Clínico e bem como permitir verificar as vantagens de utilizar a moderna ferramenta no diagnóstico microbiológico.

A microbiologia baseada em evidência surgiu, assim como toda a EBM, como uma resposta aos avanços tecnológicos e uma necessidade de aumentar a eficiência e reduzir custos no laboratório clínico. O principal objetivo é potencializar o diagnóstico e o prognóstico clínico. Entretanto, cabe ressaltar que o diagnóstico baseado em evidência ainda é bem menos desenvolvido que o tratamento baseado em evidência.

Dentro do papel essencial do Laboratório de Microbiologia Clínica no diagnóstico das doenças infecciosas, pode-se sintetizar as seguintes etapas:

1. Paciente possui alguma queixa/problema e busca auxílio médico;
2. O clínico, a partir da análise da queixa e de sinais e sintomas procura por evidências de infecção e estabelece uma hipótese de diagnóstico clínico;
3. Para confirmação ou exclusão desta hipótese o médico solicita um ou vários exames (p.ex.: parcial de urina e urocultura na suspeita de uma Infecção do Trato Urinário)
4. No caso da confirmação laboratorial da hipótese diagnóstica o clínico poderá iniciar o tratamento, com subsídios científicos e não empíricos para o tratamento.

Analisando a situação acima percebe-se que a análise microbiológica encontra-se dentro dos preceitos de metodologia científica, ou seja: existe um problema (queixa do paciente), para resolver esta situação é estabelecida uma hipótese. Para verificar esta hipótese propõe-se um método (exame laboratorial) e o resultado determina se a hipótese será aceita (paciente tem a infecção) ou rejeitada (paciente sem infecção). Na microbiologia baseada em evidência procura-se definir em termos mais precisos qual será o percentual de probabilidade de uma hipótese ser aceita ou rejeitada. Para tanto serão utilizados indicadores de desempenho dos testes laboratoriais, que permitirão o cálculo destas probabilidades conforme veremos a seguir.

Conceitos de MBE

Para aplicar melhor os conhecimentos de BEM é preciso definir alguns termos comumente empregados nas análises baseadas em evidência, conforme a seguir:

- **Probabilidade pré-teste (PPreT):** é o percentual de chance que um indivíduo tem de ter um determinado diagnóstico baseado apenas em dados empíricos, epidemiológicos ou base de dados laboratoriais;
- **Probabilidade pós-teste (PPosT):** é o percentual de chance que um indivíduo tem de ter um determinado diagnóstico baseado em dados empíricos, epidemiológicos ou base de dados laboratoriais acrescido do incremento percentual resultante de um exame que fornece evidência(s) de que está ocorrendo um processo infeccioso. Caso o exame não localize esta evidência (p.ex.: resultado negativo) a probabilidade pode sofrer uma redução ao invés de acréscimo;

Exemplo prático 01 e 02:

Um paciente com suspeita de infecção urinária, submetido ao exame de urocultura tem uma probabilidade pré-teste de 25% de apresentar ITU. Se após realizado o exame de detecção de nitrato o resultado for positivo a probabilidade pós-teste para ITU será acrescida para 84%. Porém, se a pesquisa for negativa, a probabilidade pós-teste será reduzida para 12%.

Neste momento o leitor se pergunta: é possível eu calcular sempre as minhas probabilidades pré-teste e pós-teste? A resposta é sim, é possível. Entretanto primeiro é preciso definir, através de estudos bem controlados, a probabilidade pré-teste. Como pode ser feito? Baseado em análises epidemiológicas de determinada região ou serviço pode ser definido o número de casos de uma determinada infecção na população da qual são solicitados exames. Alternativamente, pode-se utilizar a base de dados de um laboratório e verificar do total de pacientes submetidos àquele exame quantos realmente tinham a doença e quantos não. Assim o laboratório precisa alimentar a base de dados com o resultado final do diagnóstico, seja ele clínico e/ou laboratorial. Já a probabilidade pós-teste pode ser definida aplicando à PPreT, um fator definido pelo desempenho do teste. O desempenho do teste é medido pela **Razão de Verossimilhança (ou Likelihood ratio- LR).**

Razão de Verossimilhança – TV (ou Likelihood ratio- LR): esta razão é um dos indicadores da eficácia de um exame. Quanto maior a razão de verossimilhança positiva (RV +) mais aumenta a probabilidade de um indivíduo ter a doença. Ou seja, a RV + representa quantas vezes mais um indivíduo com a doença tem a possibilidade de ter um teste positivo / alterado ou quanto um exame de laboratório pode aumentar a probabilidade diagnóstica da doença em questão. Por outro lado, quanto menor a razão de verossimilhança negativa (RV -) mais seguramente ele é excluído do quadro quando tem um resultado negativo ou normal. Ou seja, a RV - indica quantas vezes mais um indivíduo sem a doença tem a possibilidade de ter um teste negativo / não alterado OU quanto um exame de laboratório pode diminuir a probabilidade diagnóstica da doença em questão.

A razão de verossimilhança é calculada utilizando-se os dados do Teorema de Bayes, o qual também é utilizado para calcular a Sensibilidade, Especificidade, Valor Preditivo Positivo e Valor Preditivo Negativo de um teste. Estes quatro últimos indicadores são clássicos para avaliar o desempenho de um novo método diagnóstico proposto. Entretanto, geralmente os índices são bastante afetados pela prevalência da doença conforme discutido no Exemplo 2. Além de calcular da TV a partir do Teorema de Bayes hoje existem sistemas de informática que calculam automaticamente os valores, bastando alimentar os resultados verdadeiros positivos, verdadeiros negativos, falsos positivos e falsos negativos – todos eles presente na tabela 2 X 2 do Teorema de Bayes. Caso você não disponha de todos estes elementos a RV + pode ser calculada conforme a seguir:

RV +: sensibilidade/ 1 – especificidade (usar números absolutos e não em percentuais)

Avaliando a utilidade de um exame através da Razão de Verossimilhança (RV)

Para que um novo exame laboratorial tenha um bom desempenho é recomendado que a RV+ e a RV - sejam definidas a partir dos resultados de pelo menos 500 casos e 500 controles. O número é bem expressivo e geralmente não é atingido em muitos estudos publicados em revistas científicas de renome internacional. Porém, se este n for atingido é possível classificar a utilidade da RV, conforme a seguir:

LR+ de 1 a 2 : diagnóstico incerto, mudança insignificante na probabilidade pós-teste.

LR+ de 2 a 5: pequenas mudanças na probabilidade pós-teste.

LR+ de 5 a 10: mudanças moderadas na probabilidade pós-teste.

LR+ > 10: mudanças conclusivas no diagnóstico.

LR+ > 20: Ideal para realizar um diagnóstico definitivo.

Para visualizar melhor o efeito numérico do valor da RV, vamos retomar o exemplo prático 1, onde o indivíduo tinha 25% de probabilidade pré-teste e após realizar um exame de pesquisa de nitrito, o qual resultou positivo, sua probabilidade pós-teste subiu para 80%. Os valores são calculados, conforme veremos adiante, baseados em uma revisão de literatura (Whiting P *et al.*, 2006) que definiu uma RV + para o Nitrito de 15,9, ou seja, que provoca mudanças conclusivas no diagnóstico. Entretanto quando for observado a presença de nitrito e leucócito – esterase (RV +: 28,2) na tira reativa de urinálise a probabilidade pós-teste deste mesmo paciente ter infecção do trato urinário (ITU) sobe de 80% para 88%. Portanto fica mais seguro ainda afirmar que o paciente tem ITU.

Como foi calculada a probabilidade? Existem pelo menos três maneiras de determinar a probabilidade pós-teste: ou utiliza-se um nomograma (vide abaixo), ou uma fórmula ou uma ferramenta interativa, como a disponível em <http://www.cebm.net/index.aspx?o=1161>

Fórmula:

Chance pós-teste = (chance pré-teste) X (RV +)

Probabilidade pós-teste = chance pós-teste / (chance pós teste + 1)

Exemplo 1:

No caso do paciente descrito anteriormente que tinha 25% de probabilidade de ter uma ITU e foi submetido ao teste de nitrito (RV +: 15,9)

Chance pré-teste: 1:4 (25%)

RV +: 15,9

Chance pós-teste: (1:4) x 15,9 = 3,98

Probabilidade pós-teste: 3,98 / (3,98 + 1) = 0,7992 = 80%

Exemplo 2:

No caso do paciente descrito anteriormente que tinha 25% de probabilidade de ter uma ITU e foi submetido ao teste de nitrito e leucócito-esterase (RV +: 28,2)

Chance pré-teste: 1:4 (25%)

RV +: 28,2

Chance pós-teste: (1:4) x 28,2 = 7,05

Probabilidade pós-teste: 7,05 / (7,05 + 1) = 0,8757 = 88 %

Exemplo 3:

No caso do mesmo paciente que tinha 25% de probabilidade de ter uma ITU e foi submetido à microscopia onde foi observado piúria (> 10 leuco/campo) e bacteriúria (RV +: 37). Calcule a probabilidade pós-teste dele ter uma infecção urinária, utilizando a fórmula dada anteriormente. Você deve encontrar uma probabilidade pós-teste de 90,2%

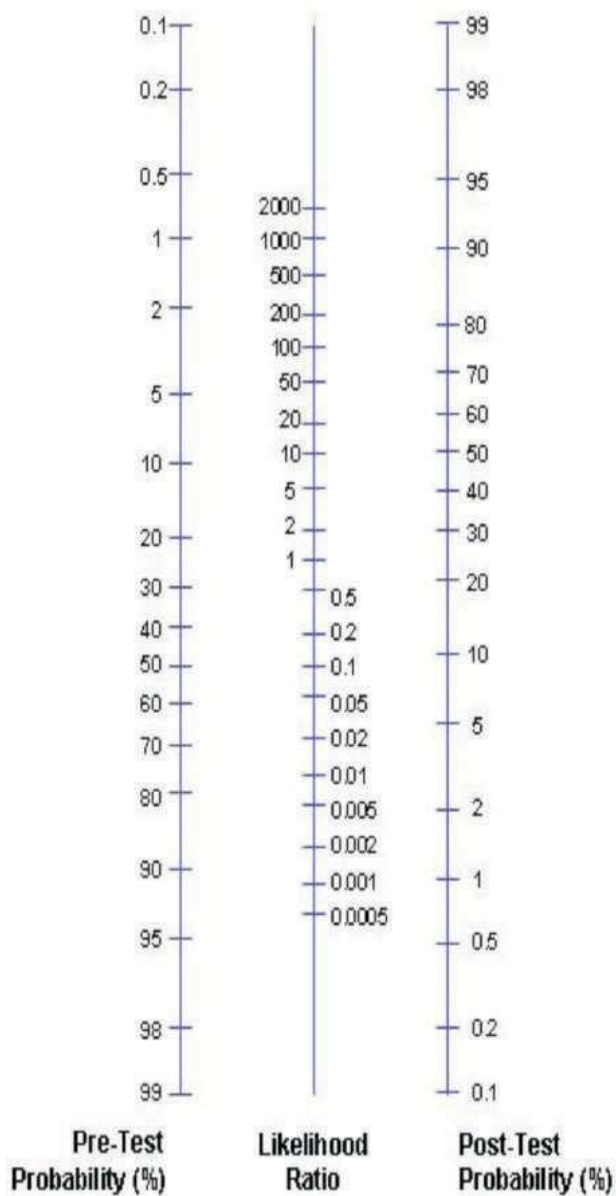


Figura 1: Nomograma

Exemplo prático: Diagnóstico de *Neisseria* por PCR

Para demonstrar como a prevalência de uma doença pode afetar significativamente os indicadores de desempenho comumente utilizados (sensibilidade, especificidade, VPP e VPN) o leitor pode imaginar a seguinte situação: um novo método molecular foi proposto para pesquisar *Neisseria gonorrhoeae* por PCR. Segundo o fabricante o método possui sensibilidade (S) de 97%; especificidade (E) de 99%; VPP de 99% e VPN: 97%. Olhando estes valores você pode deduzir várias observações importantes, como: 97% dos pacientes com a doença terão um teste positivo (S: 97%); 99% dos pacientes sem a doença terão um teste negativo (E: 99%); o indivíduo que tiver um teste positivo tem 99% de probabilidade de ter a doença (VPP: 99%) e finalmente, o indivíduo que tiver um teste negativo tem 97% de probabilidade de não ter a doença (VPN: 97%).

Entretanto, para definir os parâmetros o estudo do fabricante utilizou não utilizou amostras aleatórias da população em geral ou de mulheres que buscaram atendimento pré-natal, pois no caso o n teria que ser muito grande e o custo do estudo de validação do método seria muito alto, pois a prevalência da doença é baixa. Na verdade foi analisado como grupo teste 100 indivíduos com a presença da doença e um grupo controle com 100 indivíduos (ausência da doença). Portanto a prevalência no grupo estudado é de 50% (Chance pré-teste de ter a doença é de 1:1). O cálculo dos indicadores acima foi efetuado a partir da Tabela 2 x 2, a qual neste estudo seria a seguinte:

Tabela 01

	Grupo com a Doença		Grupo Controle (sem a doença)		Totais	
PCR positivo	97	a	b	1	98	a+b
PCR negativo	3	c	d	99	102	c+d
Totais	100	a+c	b+d	100	200	a+b+c+d

Sensibilidade (S): $a / a+c * 100 = 97/100*100 = 97\%$

Especificidade (E): $d / b+d * 100 = 99/100*100 = 99\%$

Valor Preditivo Positivo (VPP): $a / a+b * 100 = 97/98*100 = 99\%$

Valor Preditivo Negativo (VPN): $d / c+d * 100 = 99 / 102*100 = 97\%$

Agora imagine-se que tenha sido implantado o método pois os indicadores acima (S, E, VPP e VPN) convenceram que se trata de um ótimo exame tanto para incluir (resultado positivo) como para excluir a doença (resultado negativo) em questão, ou seja uretrite por *Neisseria gonorrhoeae*. Entretanto, conforme foi afirmado anteriormente, os parâmetros (S, E, VPP e VPN) são fortemente influen-

ciados pela prevalência da doença. Imagine uma situação real, e não mais um estudo científico de validação, onde uma mulher grávida realizará o exame pré-natal e o clínico solicita o exame de PCR para *Neisseria* no laboratório. O resultado é positivo e o obstetra lhe pergunta: “- Qual é a probabilidade da minha paciente realmente ter a doença?” Ele está preocupado com o resultado pois trata-se de uma Doença Transmitida Sexualmente (DST); a paciente afirma ter um único parceiro, o qual é fiel; se ela tiver mesmo a doença a gravidez será de risco; ela poderá questionar a fidelidade do marido; etc. Por outro lado você responde prontamente: “- Baseado nos estudos de validação do novo e confiável método eu diria que a chance é de 99% , pois este é o valor preditivo positivo do exame.” Aqui há um equívoco muito grave e infelizmente comum: extrapolar os resultados de uma pesquisa do tipo caso-controle para a população em geral. No caso da validação do método a prevalência era de 50% (1:1) ou seja, 100 indivíduos tinham a doença e outros 100 não apresentavam a doença. Já em grávidas que realizam exame pré-natal a prevalência da doença (uretrite por *Neisseria*) é de apenas 1% (1:100). Portanto, para obter-se uma amostra com 100 indivíduos doentes, será necessário realizar a pesquisa de *Neisseria* em 10.000 mulheres grávidas. Como a sensibilidade e a especificidade do teste foram pré-definidas pelo fabricante é possível re-calcular o VPP e o VPN, pois estes dependem da prevalência da doença. Observe-se a aplicação das informações à tabela 2 X2. Realizando os cálculos novamente será possível observar:

Tabela 02

	Grupo com a Doença		Grupo Controle (sem a doença)		Totais	
PCR positivo	97	a	b	99	196	a+b
PCR negativo	3	c	d	9.801	9.804	c+d
Totais	100	a+c	b+d	9.900	10.000	a+b+c+d

Sensibilidade (S): $a / a+c * 100 = 97/100 * 100 = 97\%$

Especificidade (E): $d / b+d * 100 = 9801/9900 * 100 = 99\%$

Valor Preditivo Positivo (VPP): $a / a+b * 100 = 97/196 * 100 = 49,5\%$

Valor Preditivo Negativo (VPN): $d / c+d * 100 = 9.801/9.804 * 100 = 99,9\%$

Analisando os cálculos da Tabela 1 e comparando com a Tabela 2, observa-se mudança drástica no VPP do estudo científico (99%) para o VPP re-calculado para a população de mulheres grávidas (49,5%). Portanto a resposta correta para a pergunta do obstetra, à luz das informações seria: “- Baseado na prevalência da doença na população onde a paciente se encontra e também nos estudos de validação do novo e confiável método eu diria que a chance é de 49,5% , pois é o valor preditivo positivo do exame.” Assim interpretação do clínico poderia ser a seguinte: “- Bom

então ela tem uma chance de 50%, ou seja de 1:1 de realmente ter a doença. No caso é necessário um outro exame para confirmar o diagnóstico ou excluir a doença!”

Mas há um inconveniente no caso descrito acima: a demora para re-calcular todos os valores para cada população com diferentes prevalência da doença (a qual pode ser chamada de probabilidade pré-teste). É justamente no tipo de análise que entra a importância de se aplicar a Microbiologia Baseada em Evidência e seus indicadores. No mesmo caso da mulher grávida descrito anteriormente a resposta ao obstetra poderá ser dada baseado nas seguintes fórmulas e cálculos:

Probabilidade pré-teste (Prevalência): 1% ou 1:100 (obtida da literatura)

Probabilidade pós-teste = chance pós-teste / (chance pós teste + 1)

Chance pós-teste= (chance pré-teste) X (RV +)

RV +: sensibilidade/ (1 – especificidade)

Cálculo:

RV +: $0,97 / (1 - 0,99) = 97$

Chance pós-teste= $(1/100) \times (97) = 0,97$

Probabilidade pós-teste = $0,97 / (0,97 + 1) = 49,2 \%$

Finalmente, através dos novos conhecimentos adquiridos com a leitura do capítulo será possível responder ao médico: “- Baseado na prevalência da doença na população onde a paciente se encontra e também na razão de verossimilhança do método dir-se-ia que a chance agora é 97 vezes maior que antes do teste ou a probabilidade pós-teste é de **49,2 %** .”

Mas se achar-se muito trabalhoso os cálculos basta traçar no nomograma acima uma reta que tenha origem em 1% (probabilidade pré-teste) e que passe pelo RV de 97m que encontrar-se á em poucos segundos a probabilidade pós-teste – próximo a 50%. Assim para qualquer outro grupo com prevalência diferente, basta mudar o ponto de origem e passar pelo RV para o exame dado e encontrar rapidamente a probabilidade pós-teste desejada pelo clínico. Com o avanço da tecnologia móvel, na verdade já existem aplicativos para Hanhelds (PALM e outros) e iPhone em que basta você informar a Probabilidade pré-teste e o VR e ele calculará a probabilidade pós-teste.

Finalmente, diante das vantagens abordadas no capítulo fica evidente a necessidade dos microbiologistas se apropriarem do conhecimento não somente para aplicar os cálculos de probabilidade no dia a dia, mas também como uma forma requintada de fornecer laudos onde além do tradicional resultado, seja informada a probabilidade do indivíduo ter a doença antes e após a realização do teste. Sem dúvida seria a melhor aplicação da microbiologia baseada em evidência.

REFERÊNCIAS

Whiting P, Westwood M, Bojke L, Palmer S, Richardson G, Cooper J, Watt I, Glanville J, Sculpher M, Kleijnen J Clinical effectiveness and cost-effectiveness of tests for the diagnosis and investigation of urinary tract infection in children: a systematic review and economic model. *Health Technol Assess.* 2006 Oct;10(36):iii-iv, xi-xiii, 1-154.

37. RESISTÊNCIA DE UROPATÓGENOS A AGENTES ANTIMICROBIANOS

Libera Maria Dalla Costa
Andrea Lucena

Resistência aos β -lactâmicos

Betalactâmicos

Os β -lactâmicos são a classe de antimicrobianos mais amplamente utilizados na prática clínica para tratamento de infecções hospitalares e comunitárias, e dentre eles os mais prescritos são as cefalosporinas. Representam aproximadamente 50% dos antimicrobianos utilizados de forma sistêmica. São a classe mais flexível de antimicrobianos, devido à sua versatilidade e diversidade em termos de propriedades químicas, espectro de ação e esquema de administração. Sua estrutura básica é composta por três componentes principais, o anel β -lactâmico (ácido 6-penicilânico), anel tiazolidínico (penicilinas) ou diidrothiazina (cefalosporinas) e a cadeia lateral, sendo esta última responsável pela maior parte das características farmacodinâmicas e do espectro de ação do antimicrobiano. Os β -lactâmicos reúnem os antimicrobianos mais importantes utilizados na prática clínica, dentre eles destacam-se as penicilinas, cefalosporinas, monobactâmicos e carbapenêmicos.¹

O primeiro antimicrobiano desse grupo usado na prática clínica foi a benzilpenicilina (Penicilina G), a qual não pode ser administrada por via oral por que é destruída pelos ácidos estomacais; enquanto que a fenoximetilpenicilina (Penicilina V) pode ser administrada por via oral, porque apresenta estabilidade frente esses ácidos. As penicilinas apresentam anel β -lactâmico comum ligado a um anel tiazolidínico. O isolamento e produção em grande escala do ácido 6-penicilânico, núcleo central da benzilpenicilina, possibilitou o desenvolvimento das penicilinas semissintéticas, cujos grupos e principais representantes são os seguintes:

As aminopenicilinas (ampicilina e amoxicilina) apresentam espectro de ação contra bactérias gram-positivas, exceto estafilococos produtores de penicilinas. A presença do grupo amino lhes permite atravessar o canal das porinas e exercer a sua atividade contra bactérias gram-negativas. A amoxicilina apresenta melhor absorção via oral que a ampicilina, e potência inferior que a penicilina G contra bactérias gram-positivas e cocos gram-negativos, embora não haja diferença na eficácia destas drogas.²

As carboxipenicilinas (carbenicilina e ticarcilina) são carboxiderivados das penicilinas, que não apresentam menor atividade que a penicilina G e ampicilina

sobre cocos gram-positivos, porém sua principal vantagem é sua atividade contra *P. aeruginosa*, *A. baumannii* e *Proteus* indol positivos. A ticarcilina apresenta potência superior à carbenicilina, especialmente contra amostras de *P. aeruginosa*. Atualmente a carbenicilina não é mais utilizada.²

As ureidopenicilinas (piperacilina) foram sintetizadas a partir da ampicilina pela adição do grupo acil ao grupo amino da ampicilina. Esses antimicrobianos têm maior poder de penetração através do envelope celular e maior afinidade pelas proteínas ligadoras da penicilina (do inglês *Penicillin-Binding Proteins* – PBPs).²

As cefalosporinas foram desenvolvidas na década de 50, para tratamento de infecções por *Staphylococcus aureus* produtores de β -lactamase. A primeira cefalosporina disponível para uso clínico foi a cefalotina. Logo em seguida foi lançada a cefaloridina, e alguns anos mais tarde a cefazolina. Esses compostos foram classificados como cefalosporinas de primeira geração e possuem boa atividade contra cocos gram-positivos, exceto *S. aureus* resistentes à oxacilina, enterococos e estreptococos resistentes à penicilina não produtores de β -lactamases, porém possuem atividade moderada contra bacilos gram-positivos.^{3,4}

As cefalosporinas de segunda geração ampliaram a atividade das cefalosporinas sobre bacilos gram-negativos. A cefuroxima é a representante dessa geração e possui a vantagem de ser mais ativa contra gram-negativos que as de primeira geração, além de preservarem a atividade contra cocos gram-positivos.^{3,4}

As cefamicinas, cujo principal representante é a cefoxitina, também são classificadas como cefalosporinas de segunda geração, porém diferem das demais porque possuem diferente espectro de ação. São ativas contra cocos gram-positivos e bacilos gram-negativos e são as únicas cefalosporinas com boa atividade contra bactérias anaeróbias.^{3,4}

No início da década de 80 (1981 nos EUA e 1984 no Brasil), foram desenvolvidas as cefalosporinas de terceira geração, com o objetivo de ampliar o espectro de ação das cefalosporinas contra bacilos gram-negativos. As vantagens desta classe de antimicrobianos sobre as cefalosporinas de segunda geração são maior estabilidade frente à ação das β -lactamases e meia-vida prolongada, permitindo a sua administração em intervalos maiores. Esses compostos são mais ativos contra bacilos gram-negativos, e mantêm atividade semelhante às de segunda geração contra gram-positivos, mas apresentam menor potência contra estafilococos e enterococos. Além disso, esses agentes também passaram a ter boa penetração liquórica. Fazem parte desse grupo cefotaxima, ceftriaxona (mais utilizada em hospitais), ceftazidima e cefoperazona (com atividade antipseudomonas). A ceftazidima é a cefalosporina de terceira geração com menor atividade contra bactérias gram-positivas, tendo atividade comparável às demais cefalosporinas de terceira geração contra *Enterobacteriaceae* e atividade superior à cefoperazona contra *P. aeruginosa*.^{3,4}

Apesar do avanço na atividade das cefalosporinas de terceira geração, a emergência na produção das β -lactamases derivadas das enzimas plasmídicas TEM- e SHV- por bactérias gram-negativas limitaram o sucesso desses compostos.

O aprimoramento da molécula das cefalosporinas levaram ao desenvolvimento das cefalosporinas de quarta-geração, cefepime e cefpirome cuja atividade é pouco afetada pelas β -lactamases do tipo AmpC, e também apresentam maior permeabilidade através da membrana externa da bactéria. Seus aspectos de ação são similares, porém o cefpirome apresenta atividade discretamente superior contra bactérias gram-positivas, enquanto o cefepime é mais ativo contra enterobactérias. Apresentam atividade antipseudomonas comparável às cefalosporinas de terceira geração. Possuem atividade antipseudomonas e atividade antiestafilocócica semelhante às cefalosporinas de primeira geração e também são mais ativos contra enterococos que as cefalosporinas de terceira geração.^{4,5,6}

Aztreonam foi o primeiro derivado sintético do grupo dos antibióticos monocíclicos a ser utilizado na prática clínica. Este agente pode ser uma opção terapêutica para tratamento de infecções por gram-negativos, mas não possui atividade contra bactérias gram-positivas ou anaeróbias.⁷

No final da década de 70 foi desenvolvida uma nova classe de antimicrobianos, os carbapenêmicos. Essa classe inclui compostos que variam na estrutura química, resistência à ação das β -lactamases, espectro de ação e na habilidade de inibir ou induzir a produção de β -lactamases. O imipenem, meropenem e ertapenem são os compostos representantes dessa classe disponíveis comercialmente no Brasil e EUA.⁸

Mecanismo de ação

A atividade dos β -lactâmicos é decorrente da habilidade desses compostos de interferir com a síntese do peptidoglicano, componente fundamental da parede celular bacteriana. A biossíntese do composto é complexa e envolve várias etapas, nas quais os diferentes β -lactâmicos podem atuar. Nos micro-organismos gram-positivos o peptidoglicano é responsável por mais de 50% do peso seco da célula e constitui uma espessa camada externa. Nos bacilos gram-negativos, ao contrário, é uma fina camada correspondente a 10% do peso seco da célula bacteriana, e localiza-se entre a membrana externa e a membrana citoplasmática. Entre essas duas membranas, encontra-se o espaço periplasmático, onde ficam localizadas as β -lactamases nos micro-organismos gram-negativos.^{4,7,8}

Resistência aos β -lactâmicos

Vários mecanismos de resistência aos β -lactâmicos são desenvolvidos pelas bactérias, dentre eles a produção de β -lactamases é considerada o principal em bactérias gram-negativas.^{9,10} Além disso, alterações de alvo de ação (PBPs), alterações de permeabilidade de membrana externa e efluxo ativo também podem estar presentes em algumas espécies.¹⁰

Resistência aos β -lactâmicos por alteração das moléculas alvo

Esse tipo de resistência ocorre por alteração das proteínas ligadoras de penicilina (PBPs), que receberam esse nome por serem o sítio de ligação do antibiótico, porém a denominação também é utilizada para se referir ao sítio de ação dos outros

β -lactâmicos. São proteínas de alto peso molecular, transpeptidases, carboxipeptidases e endopeptidases localizadas na membrana citoplasmática das bactérias, e correspondem a 1% das proteínas da membrana. As PBPs estão envolvidas em diversas etapas da biossíntese do peptidoglicano, constituinte essencial da parede celular responsável pela integridade do micro-organismo. São denominadas numericamente de acordo com seu peso molecular, de maneira que quanto maior o peso molecular menor é a numeração que recebem.¹¹

Os antibióticos β -lactâmicos inibem as PBPs agindo como análogos estruturais desses peptídios da parede celular, formando um complexo acil-enzima estável, ao invés do complexo transitório que ocorre normalmente durante a formação do peptidoglicano. Normalmente essas enzimas catalizam a renovação do peptidoglicano que permite a bactéria crescer e dividir-se. A inibição das PBPs resulta na morte celular, uma vez que são essenciais para o crescimento bacteriano.¹¹

As PBPs variam em número, função, estrutura e afinidade aos β -lactâmicos. A existência de múltiplas e diferentes PBPs explica as diferentes respostas das bactérias a um mesmo antibiótico. A resistência aos antibióticos β -lactâmicos decorrente de alterações nas PBPs é mais comum em micro-organismos gram-positivos que em gram-negativos. As PBPs normalmente possuem alta afinidade de ligação aos β -lactâmicos e são inibidas por concentrações muito baixas desses agentes.¹¹

A resistência mediada por PBPs pode ocorrer quando a bactéria produz uma PBP adicional de baixa afinidade. *S. aureus* possuem normalmente quatro PBPs que podem ser substituídas por uma PBP adicional denominada PBP2a ou PBP2'. Esta PBP é capaz de substituir a função das demais PBPs dessa bactéria permitindo a transpeptidação, porém possui baixa afinidade aos β -lactâmicos. Consequentemente, a resistência à oxacilina em *S. aureus* confere resistência a todos os β -lactâmicos. A codificação dessa PBP de baixa afinidade está relacionada à aquisição do gene *mecA* por *S. aureus*.¹²

A resistência a penicilina mediada por PBPs em *Enterococcus* spp. está associada à superprodução de uma PBP preexistente de baixa afinidade (PBP5), capaz de substituir as funções das outras PBPs na célula. A presença de PBPs de baixa afinidade em enterococos é responsável pela concentração inibitória mínima 10-100 vezes maior da penicilina G, ampicilina, amoxicilina, piperacilina e imipenem, dos enterococos em relação aos estreptococos. Quando ocorre a resistência associada à presença de PBPs de baixa afinidade mesmo os agentes β -lactâmicos que apresentarem atividade contra o germe não são bactericidas contra a maioria das cepas. A resistência a cefalosporinas é ainda mais pronunciada e leva a ineficiência da droga *in vitro*.¹³

Resistência aos β -lactâmicos por alteração de permeabilidade da membrana

A membrana externa das bactérias gram-negativas representa uma barreira para a penetração de compostos hidrofílicos. A entrada dessas substâncias é controlada por porinas, que são canais proteicos que expandem a membrana externa e permitem a passagem passiva de moléculas hidrofílicas. A maioria das porinas envolvidas no transporte de antimicrobianos pertencem às subfamílias *OmpF* ou

OmpC, com exceção de OprD em *P. aeruginosa* e CarO em *A. baumannii*. A perda, redução na expressão ou mutação das porinas, contribui para a resistência aos antimicrobianos, particularmente quando mecanismos adicionais de resistência são expressos. A diminuição da permeabilidade da membrana reduz o acúmulo interno do antibiótico, permitindo que haja tempo para o desenvolvimento de mecanismos de resistência, tais como alteração do alvo ou inativação enzimática da droga.¹⁴

Algumas bactérias gram-negativas, como *P. aeruginosa* e *A. baumannii*, apresentam intrinsecamente redução da sensibilidade aos β -lactâmicos, característica associada à redução de permeabilidade da membrana externa. Em *P. aeruginosa*, a redução da permeabilidade é decorrente do menor número de porinas e das diferentes propriedades físico-químicas apresentadas em relação às porinas das enterobactérias. As *Enterobacteriaceae* podem apresentar alteração no tipo de porina expressa, redução no nível de expressão da porina ou presença de uma porina mutada. A sensibilidade aos β -lactâmicos em *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia* e *Klebsiella* está intimamente relacionada à presença de porinas específicas pertencentes aos grupos OmpC and OmpF.¹⁴

Troca de porinas - Vários estudos têm demonstrado que há relação entre o balanço na expressão de porinas e a sensibilidade aos β -lactâmicos em *K. pneumoniae*. Já foi demonstrado que durante o tratamento de pacientes com infecções por esse micro-organismo ocorreu a substituição da OmpK35 (do grupo de porinas OmpF que têm um canal maior), pela OmpK36 (do grupo de porinas OmpC que têm um canal menor). A expressão da sensibilidade aos β -lactâmicos, incluindo cefepime, cefotetan, cefotaxima e ceftiprome, é 4-8 vezes maior em cepas que expressam a OmpK35 do que nas cepas que expressam a OmpK36. Essas amostras também apresentavam a superexpressão da bomba de efluxo AcrAB que excretava o antimicrobiano que entrava. Esses dois mecanismos somados causavam diminuição severa da concentração intracelular da droga.¹⁵

Diminuição na expressão das porinas - O efeito da diminuição da expressão das porinas também já foi demonstrado como responsável pela diminuição da sensibilidade em enterobactérias. Foi observada a emergência de variantes de *Enterobacter aerogenes* resistentes ao imipenem, originárias de uma cepa sensível, após alguns dias de tratamento com a droga. Além disso, observou-se restauração da sensibilidade ao imipenem em isolados recuperados alguns dias após a interrupção do tratamento.¹⁴

Mutação das porinas - As únicas mutações em porinas detectadas em amostras clínicas de *Enterobacteriaceae* selecionadas após tratamento são as mutações nas porinas OmpC e Omp36.

Estudos *in vitro* e *in vivo* reportaram que a produção aberrante ou modificada de uma proteína de membrana externa (OMP), de 54-kDa em *P. aeruginosa*, está relacionada com a resistência aos carbapenêmicos associada ou não à produção de carbapenemases. Além disso, foram reportadas várias mutações no gene *oprD* que conferem redução da sensibilidade aos carbapenêmicos. Essa proteína é usualmente conhecida como OprD ou porina D2. A perda da produção da OprD ocorre devido à

inativação do gene *oprD*. Essa perda causa resistência ao imipenem e sensibilidade reduzida ao meropenem, embora isso nem sempre leve a um nível de resistência detectável com os pontos de corte convencionais. A perda de OprD apenas confere resistência aos carbapenêmicos, mas não aos demais β -lactâmicos. A perda de porina por mutação é frequente em *P. aeruginosa* durante a terapia com imipenem.¹⁶

Resistência aos β -lactâmicos por produção de β -lactamases

O principal mecanismo de resistência aos β -lactâmicos é a produção de β -lactamases, enzimas que têm a capacidade de hidrolisar o anel β -lactâmico, impossibilitando sua atividade antimicrobiana.⁹

A capacidade das β -lactamases de conferir resistência depende da quantidade de enzima produzida, da habilidade da enzima em hidrolisar o anel β -lactâmico, e da velocidade com que o antimicrobiano penetra pela membrana celular.⁹ As β -lactamases são produzidas por inúmeras espécies de bactérias, entretanto apresentam diversidade estrutural e de localização. Em bactérias gram-positivas, as β -lactamases são secretadas no meio extracelular, apresentando dessa forma atividade menor que em bactérias gram-negativas. Em bactérias gram-negativas as β -lactamases localizam-se no espaço periplasmático, podendo atingir concentrações maiores e agir de modo mais eficaz sobre os β -lactâmicos, que atravessam este espaço para atingir o seu alvo de ação, as PBPs.⁹

As β -lactamases têm sido classificadas com base nas suas características funcionais^{17, 18} ou na sua estrutura primária¹ A classificação mais simples se baseia na sequência de proteínas, cuja homologia dos motivos conservados e não conservados classifica as β -lactamases e quatro classes A, B, C e D.^{1, 19} Esta classificação é uma versão atualizada da versão anterior proposta por Bush em 1989.^{20, 21} As classes A, C e D são denominadas “serina β -lactamases”, porque possuem serina no sítio ativo para facilitar a catálise, enquanto as que pertencem à classe B são denominadas “metalo- β -lactamases”, pois contêm um ou dois íons zinco no sítio ativo. Essa classificação tenta combinar elementos de todos os esquemas anteriores e os correlaciona com a estrutura molecular. Em 2005 Jacoby e Munhoz-Prince publicaram uma tabela simplificada desta classificação.²² Em 2010, Bush e Jacoby atualizaram a classificação funcional das β -lactamases.²³ A Tabela 1 apresenta uma simplificação desta classificação adaptada.

As β -lactamases da classe C (grupo 1) incluem as serino-enzimas intrinsecamente resistentes aos inibidores de β -lactamases, mas, ao contrário das β -lactamases de espectro estendido (ESBLs), também são ativas contra as cefamicinas. As β -lactamases da classe C, quando expressas em níveis basais, conferem resistência à amoxicilina e às cefaloporinas de 1ª e 2ª geração. Entretanto em várias espécies, tais como *Citrobacter freundii*, *Enterobacter* spp., *Serratia* spp. e *Pseudomonas aeruginosa*, *Morganella morganii*, a expressão do gene *ampC* é induzível, podendo ocasionar falha terapêutica se forem utilizados β -lactâmicos (especialmente cefalosporinas de terceira geração) no tratamento. *E. coli* e *Shigella* spp. produzem quantidades insignificantes dessas β -lactamases independentemente da presença de

indutores Nesse caso elas não conferem resistência à ampicilina e às cefalosporinas de pequeno espectro, como cefalotina e cefalexina, mantendo a sensibilidade a esse grupo de antimicrobianos.²⁴

No final da década de 80 o gene *ampC* cromossômico de *Enterobacter*, *Citrobacter freundii*, *Serratia* spp. e *P. aeruginosa* transferiu-se para plasmídios isolados de amostras clínicas de *E. coli* e *K. pneumoniae*. As amostras que os adquiriram mostravam a mesma resistência a múltiplos β -lactâmicos, que as cepas parentais do gene *ampC*. Apresentavam resistência à combinação de β -lactâmicos com inibidores de β -lactamase, penicilinas, cefamicinas, cefalosporinas de primeira, segunda e terceira geração e monobactams. A sensibilidade a cefepime e imipenem era mantida.²⁴

As β -lactamases da classe A (grupo 2) incluem uma variedade de enzimas, todas sensíveis aos inibidores de β -lactamase. Dentro da classe encontra-se o grupo 2b de enzimas que inclui as β -lactamases mediadas por plasmídios mais prevalentes encontradas em *E. coli* e *K. pneumoniae*, responsáveis pela resistência a ampicilina e cefalosporinas de primeira geração nessas espécies. Mutantes dessas enzimas deram origem às enzimas do grupo 2be, sendo que o “e” significa que houve expansão no espectro de atividade da enzima, devido a mutações no sítio ativo de β -lactamases dos tipos TEM-1, TEM-2, e SHV-1. Essas enzimas são denominadas “ β -lactamases de espectro estendido” (do Inglês *extended spectrum β -lactamase* – ESBL). O grupo inclui β -lactamases capazes de hidrolisar penicilinas, cefalosporinas terceira geração (ceftriaxona, cefotaxima e ceftazidima) e monobactâmicos (aztreonam).^{25,26,27}

A grande maioria das ESBLs são derivadas dos tipos TEM ou SHV, porém recentemente uma grande expansão de ESBLs do tipo CTX-M tem se disseminado em todo o mundo. São assim denominadas por apresentarem níveis de resistência mais elevados para cefotaxima que para ceftazidima.^{25,26,27} Enzimas CTX-M são agora endêmicas em muitos países com emergência hospitalar e comunitária.^{28,29}

As cefotaximases têm apresentado crescente distribuição e prevalência, sendo que a América do Sul, a região do Mediterrâneo, o nordeste europeu e o leste asiático são responsáveis pela maior parte das descrições A diversidade de enzimas CTX-M é notada especialmente na Europa Oriental e Ocidental, Oriente (Japão) e América do Sul. Alguns estudos mostram que já é a ESBL prevalente no mundo.^{28,29}

As ESBLs não são ativas contra cefamicinas, e muitas cepas são susceptíveis a cefoxitina e cefotetan. No entanto, cepas produtoras de ESBL podem ser resistentes a cefamicinas quando a permeabilidade estiver diminuída, devido à menor quantidade de porinas na membrana. Também não são capazes de degradar carbapenêmicos, permanecendo susceptíveis a esse grupo de antimicrobianos.^{25, 26, 27}

Existem também outros grupos de betalactamases, com características comuns às ESBLs, como 2d, 2e e 2f, que hidrolisam cefalosporinas e são inibidas por ácido clavulânico. No grupo 2 (2e) também está incluída a β -lactamase cromossômica induzível de *Proteus vulgaris*, que hidrolisa cefotaxima, mas não tem boa atividade contra penicilina e aztreonam. Essa enzima difere da enzima AmpC porque é inibida pelo ácido clavulânico, enquanto o grupo 2f (por exemplo *Sme* de *Serratia marces-*

cens) tem atividade contra carbapenêmicos (conferem resistência ao imipenem) e são fracamente inibidas pelo ácido clavulânico.⁹

O grupo 2d são oxacilinas, assim denominadas por que hidrolisam oxacilina mais eficientemente que a benzilpenicilina. São β -lactamases que têm boa atividade contra as cefalosporinas como também contra carbapenêmicos, porém apresentam eficiência muito menor que a das metalo- β -lactamases (M β L).^{30,31, 32} São descritas três classes principais de β -lactamases adquiridas da classe D (grupo 2d), com atividade de carbapenemase em *A. baumannii*, a saber, OXA-23-like, OXA-24-like e OXA-58. Enquanto OXA-23-like é codificada por plasmídios, OXA-24-like é codificada por genes cromossômicos, e *bla*_{OXA-58}-like foi identificada tanto em plasmídios quanto no cromossomo. A OXA-51/69-like é natural e cromossomicamente localizada em *A. baumannii*.^{33, 34} As oxacilinas contribuem significativamente para a resistência aos carbapenêmicos em *A. baumannii*, entretanto os altos níveis de resistência aos carbapenêmicos devidos à expressão de genes que codificam as carbapenemases da classe D requerem um promotor forte como a inserção da sequência móvel IS_{AbaI}.³⁴

As metalo- β -lactamases são enzimas pertencentes à classe B de Ambler ou grupo 3 de Bush, Jacoby e Medeiros¹⁸ e hidrolisam todos os β -lactâmicos comercialmente disponíveis, sendo a única exceção o aztreonam. As enzimas caracterizam-se por necessitarem de zinco para exercerem sua atividade catalítica. Além disso, essas enzimas somente são inibidas por EDTA (ácido etileno-diamino-tetracético) ou compostos derivados do ácido tiolático (ex.: ácido 2-mercaptopropiônico), e não são inibidas por clavulanato, sulbactam e tazobactam.^{35, 36} Alguns pesquisadores dividem o grupo 3 em três subgrupos funcionais que são 3a, 3b e 3c.

No grupo 4 estão incluídas as β -lactamases que apresentam como substrato preferencial as penicilinas e que não são inibidas pelo ácido clavulânico. Essas enzimas são raras, sendo descritas em amostras de *Burkholderia cepacia*¹⁸

Epidemiologia das AmpC plasmidiais

Os genes *ampC* são amplamente distribuídos entre as *Enterobacteriaceae*. Devido à sua localização no cromossomo foram disseminados mais lentamente que os genes de ESBLs. Atualmente, um levantamento em 20 hospitais nos EUA mostrou que genes *ampC* mediados por plasmídeo são mais frequentes do que genes TEM-ESBL, porém menos comuns do que SHV-ESBL. AmpC betalactamases são encontrados mais frequentemente em isolados de *K. pneumoniae*, seguido de *K. oxytoca*, *Salmonella* spp., *P. mirabilis* e *E. coli*. Isolados com AmpC plasmidial foram encontrados na África (Argélia, Tunísia), Ásia (Índia, Japão, Paquistão, Coreia do Sul), Europa (França, Alemanha, Grécia, Itália, Suécia, Reino Unido), Oriente Médio (Arábia Saudita), América do Norte (Estados Unidos), e Américas Central e do Sul (Argentina, Guatemala), sendo que vários agrupamentos geográficos têm sido descritos. Estes incluem um conjunto norte-americano (de MIR-1 e ACT-1), conjunto América Central e América do Sul (FOX-1-2), e um conjunto da Ásia (de CMY-2, CMY-2b, LAT-1, e LAT-2).

Assim como ocorre com cepas produtoras de ESBLs, viagens e transferência de pacientes permitiram a disseminação de enzimas clássicas de um continente para outro. As enzimas do tipo CMY são prevalentes e amplamente distribuídas, enquanto que as enzimas do tipo DHA foram isoladas com menos frequência. Muitas cepas de bactérias produtoras de AmpC plasmidial também produzem TEM-1, TEM-2, SHV-5 ou CTX-M-15.³⁷

Epidemiologia das ESBL

Estudos epidemiológicos mostram que na América do Norte a prevalência de ESBL é próxima de 5%, apresentando percentagens ligeiramente superiores nos EUA em relação ao Canadá (7,6% VS 4,9%, para EUA e Canadá, respectivamente). As principais famílias predominantes são as famílias TEM e SHV, enquanto que a predominância da família CTX-M é mínima.⁴⁰

The prevalence of ESBLs in Europe is higher than in the USA but lower than in Asia and South America. As primeiras ESBL descritas na Europa pertenciam as famílias TEM e SHV e eram principalmente encontradas em *Klebsiella pneumoniae*. Atualmente tem sido mais encontradas em isolados de *E. coli* de infecções comunitárias, com aumento da ocorrência de enzimas da família CTX-M. The prevalence of ESBLs in Europe is higher than in the USA but lower than in Asia and South America.⁴¹

As taxas de ESBL na América do Sul são as maiores do mundo, sendo que os tipos SHV e TEM são frequentemente encontrados, mas o tipo CTX-M é endêmico e amplamente dominante e o tipo PER tem sido reportado.⁴²

O estudo de Sader e cols (2000) mostrou que a prevalência de ESBL no Brasil é elevada (48,4% em *K. pneumoniae* e 8,9% em *E. coli*).³⁸ Esse dado é reforçado em estudo realizado por nosso grupo e encontrou 57,4% para *K. pneumoniae*, 21,4 % para *K. oxytoca* e 7,2% de ESBL em *E. coli*.³⁹

ESBL adquiridas na comunidade (CA-ESBL)

É importante ressaltar que, apesar de até há pouco tempo ser considerado que os micro-organismos produtores de ESBL eram problemas quase exclusivamente hospitalares, atualmente há evidências que uma causa emergente de infecções em pacientes ambulatoriais em muitas áreas do mundo.⁴² Os casos de CA-ESBL estão mais comumente associados em infecções do trato urinário (ITU). Um estudo relatou que 70% das CA-ESBL em *E. coli* isoladas pertenciam ao tipo CTX-M.⁴³ O cenário clínico típico de infecção comunitária envolvendo ESBL é a ITU, algumas vezes associada com bacteremia, em pacientes idosas do sexo feminino. Os isolados são resistentes aos antimicrobianos de primeira linha para ITU, como ciprofloxacino, sulfametoxazol-trimetoprim, gentamicina e ceftriaxona. Os fatores de risco para esse tipo de infecção incluem diabetes mellitus, uso prévio de quinolonas, ITU recorrentes, hospitalização, antibioticoterapia prévia nos últimos 3 meses e idade superior a 60 anos em pacientes do sexo feminino.⁴⁴

⁴⁵ No Brasil, enterobactérias produtoras de ESBL foram detectadas em cepas isoladas de feridas em pés diabéticos, e em infecções adquiridas na comunidade.

Embora a maioria dos estudos demonstrem que a hospitalização prévia é um fator de risco para CA-ESBL, têm sido reportados estudos com pacientes sem hospitalização prévia recente.⁴⁴

Epidemiologia das Oxacilinas

Oxacilinas que hidrolisam carbapenêmicos são a principal causa mundial de resistência a esta classe de antibióticos em *A. baumannii*. Carbapenemase do tipo OXA-23 em *A. baumannii* está cada vez mais disseminada, com relatos na África, Europa, Oceania, China e América do Sul.³² Em Curitiba, carbapenemases do tipo OXA-23 foram inicialmente reportadas por nosso grupo em 2003,⁴⁶ sendo confirmadas em 99.4% das amostras de *A. baumannii* em trabalho do mesmo grupo, recentemente publicado.⁴⁷ Surtos em hospitais causados por *A. baumannii* clonais produtores de OXA-23 têm sido descritos em muitas partes do mundo (Brasil, Colômbia, Argentina, Polinésia Francesa, China e Coreia do Sul) enquanto outros não clonais foram descritos na Inglaterra e Austrália.^{32,48}

Epidemiologia das MβL

Pseudomonas aeruginosa, um dos principais micro-organismos causadores de infecção nosocomial, é conhecida por apresentar resistência natural a vários agentes antimicrobianos. Além disso, a aquisição de inúmeros mecanismos pode torná-la resistente a todos os antimicrobianos comercialmente disponíveis. Por duas décadas os carbapenêmicos foram considerados uma excelente opção terapêutica para estas infecções.

Até o início de 1990 todas as metalo-β-lactamases eram descritas como β-lactamases espécie-específicas, produzidas intrinsecamente e codificadas cromossomicamente. A primeira β-lactamase zinco-dependente foi descrita em meados de 1960 em *Bacillus cereus* (BCII); no início dos anos 80 uma segunda penicilinase zinco-dependente foi descrita em *Stenotrophomonas maltophilia* (L1). Posteriormente foram descritas metalo-β-lactamases capazes de hidrolisar o imipenem em *Aeromonas hydrophila* e *Bacteroides fragilis*.³⁵ Contudo, desde o início da década de 90 foram descritos novos genes, que codificam MβLs em patógenos clinicamente importantes, tais como *P. aeruginosa*, *A. baumannii* e em membros da família *Enterobacteriaceae*. A caracterização de MβLs codificadas por plasmídios mudou o padrão de disseminação desta classe de enzimas.^{49, 50, 36}

O primeiro relato de *P. aeruginosa* produtora de MβL no Brasil foi referente a uma cepa isolada de vários hospitais do Rio de Janeiro. Os autores descreveram a disseminação de um único clone de *P. aeruginosa* multirresistente, determinado por PFGE, definido como produtor de MβL por testes fenotípicos.⁵¹ No mesmo ano, Toleman e colaboradores caracterizaram uma nova subclasse de MβL, SPM-1, encontrada em uma amostra de *P. aeruginosa* isolada no Complexo Hospital São Paulo/UNIFESP em 1997.⁵²

O isolamento de *P. aeruginosa* resistente a essa classe de antimicrobianos tornou-se frequente nos hospitais brasileiros. Em 2003, Gales e colaboradores avaliaram isolados de *P. aeruginosa* multirresistentes recuperados em hospitais de distintas regiões brasileiras (Bahia, Ceará, Distrito Federal, Paraná e São Paulo). Os autores relataram a emergência e disseminação de um clone epidêmico produtor de SPM-1, nos hospitais de todos os estados avaliados, que recebeu a denominação de clone SP (São Paulo).⁵³ O mesmo

clone também foi relatado em isolados em Pernambuco, Amazonas e Minas Gerais.⁵⁴ Recentemente o mesmo clone descrito por Gales *et al.*, 2003, conhecido como clone epidêmico brasileiro, foi encontrado na região sul e em Goiás.^{56,57} No estudo de Scheffer e cols., 2010,⁵⁶ o principal sítio de isolamento deste micro-organismo foi o trato urinário, fato também observado nos relatos de Gales e cols. em 2003.⁵³

Tabela 1 - Classificação das Principais β -lactamases de Importância Clínica

Grupo	Classe Molecular	Substratos	IAC ^a	EDTA	Exemplos
1	C	Hidrólise maior das cefalosporinas que das benzilpenicilinas, hidrolisa cefoxitina	Não	Não	ACC-1, ACT-1, CFE-1, família CMY, DHA-1, DHA-2, família FOX, família LAT, MIR-1, MOX-1 e MOX-2
1e	C	Hidrólise aumentada da ceftazidima e frequentemente outras oximino-cefalosporinas (cefotaxima, ceftazidima, ceftriaxona, cefepime e aztreonam)	Não	Não	CMY-10, CMY-19, CMY-37 e GC1
2b	A	Hidrólise similar das cefalosporinas e benzilpenicilinas	Sim	Não	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	A	Hidrólise aumentada das oximino-cefalosporinas	Sim	Não	Família CTX-M, TEM-3, SHV-2 BEL1, BES-1, SFO-1, TLA-1TLA-2, VEB e PER
2ber	A	Hidrólise aumentada das oximino-cefalosporinas	Não	Não	TEM-50
2ce	A	Hidrólise aumentada de Carbenicilina e Cefepime	Sim	Não	RTG-4
2de	D	Hidrolisam cloxacilina, ou oxacilina oximino-cefalosporinas	Variável	Não	OXA-11, OXA-15
2df	D	Hidrolisam cloxacilina ou oxacilina e carbapenems	Variável	Não	OXA-23, OXA-24, OXA-25, OXA26, OXA-27, OXA-40 e OXA-48
2e	A	Hidrolisam cloxacilina ou oxacilina e carbapenems	Sim	Não	CepA
2f	A	Hidrolise aumentada de carbapenems, Oximino- β -lactâmicos e Cefoxitina	Sim	Não	KPC-1, KPC-2 e KPC-3 IMI-1, SME-1
3a	B(B1)	Hidrolise de amplo espectro incluindo Carbapenems mas não monobactams	Não	Sim	IMP-1, VIM-1, CcrA, IND-1
	B(B3)				L1, CAU-1, GOB-, FEZ-1
3b	B(B2)	Hidrolisam preferencialmente Carbapenems	Não	Sim	CphA, Sfh-1

FONTE: Adaptado de Bush K & Jacoby GA, 2010^a e Jacoby GA & Munhoz-Prince LS, 2005

NOTA: IAC= Inibição pelo ácido clavulânico.

Resistência às quinolonas

As quinolonas pertencem a um grupo de antibióticos potentes relacionados ao ácido nalidíxico e seus análogos precursores, drogas que têm aplicação clínica limitada devido à emergência de resistência bacteriana. Essa classe de agentes terapêuticos é bactericida, concentração-dependente, que pode ser administrada por via oral ou endovenosa e tem sido usada clinicamente em grande escala tanto em infecções hospitalares quanto comunitárias. A partir do ácido nalidíxico, novas quinolonas foram sintetizadas pela modificação do núcleo original com diferentes substituições na cadeia lateral. Estes novos agentes foram chamados de fluorquinolonas. A introdução do flúor na posição seis na estrutura do anel quinolônico levou à síntese da primeira fluorquinolona, o norfloxacin. Logo a seguir foram lançados ciprofloxacino (1987) e ofloxacino (1991), que apresentam alta absorção intestinal e ótima penetração na maioria dos órgãos e tecidos, além de excelente potência e espectro de ação contra bactérias gram-negativas e gram-positivas⁵⁸. Novas modificações deram origem aos análogos di- e tri-fluorados do ácido nalidíxico, criando a terceira geração das quinolonas, das quais apenas o levofloxacino se encontra disponível no Brasil. Mais recentemente surgiu um novo grupo de quinolonas, classificadas por alguns autores como quinolonas de quarta geração. Elas apresentam maior potência e maior espectro de ação contra os principais patógenos responsáveis por infecções do trato respiratório (gram-positivos e bactérias atípicas), além de anaeróbios, como também, enterobactérias e outras bactérias gram-negativas. Os representantes desse grupo, gatifloxacino e moxifloxacino, incorporam o radical metoxi na posição 8 e por isso são chamados de C8-metoxi-quinolonas.⁵⁹

As quinolonas inibem a síntese do DNA bacteriano, pela sua habilidade em inibir as topoisomerases, enzimas importantes no processo de replicação, recombinação e reparo do DNA. A maioria das bactérias codifica quatro topoisomerases, número variável de acordo com a espécie bacteriana. Essas enzimas são homólogas e constituídas de quatro subunidades. A topoisomerase II é composta por duas subunidades *GyrA* e duas *GyrB*, enquanto que a topoisomerase IV é constituída por duas subunidades *ParC* e duas *ParE*. As subunidades *GyrA* e *ParC* constituem o principal alvo de ação das quinolonas.⁶⁰ A topoisomerase tipo II (DNA girase) é a única enzima que incorpora superespirais negativos no DNA para iniciar a replicação e remove os positivos que se acumulam.⁶¹ A enzima topoisomerase IV age nos estágios terminais da replicação do DNA, permitindo a separação dos cromossomos e consequente formação de células filhas. As fluorquinolonas inibem estas enzimas por estabilizar o complexo DNA-DNA girase ou DNA-topoisomerase IV. Os complexos estabilizados impedem o movimento de replicação, tornando-se irreversíveis. A lesão do DNA e a geração de fitas de DNA interrompidas inibem a sua síntese e resultam em morte celular.⁵⁹

Atualmente são reconhecidos três mecanismos de resistência às quinolonas: (1) mutações enzimáticas que alteram os alvos das drogas, (2) mutações que reduzem o acúmulo das drogas, tais como alterações na permeabilidade da membrana e mecanismos de efluxo, e (3) plasmídeos que protegem as bactérias dos efeitos letais das quinolonas⁶². Geralmente as mutações nos alvos reduzem mais a sensibilidade do que os outros mecanismos, embora os efeitos adicionais de alelos não alvos possam produzir alta resistência.

Mutações enzimáticas

A maioria das bactérias funciona com todas as topoisomerases, embora algumas sejam capazes de funcionar apenas com a DNA girase. Nas bactérias gram-negativas a DNA girase é o principal alvo das quinolonas, enquanto que nas gram-positivas o alvo principal é a topoisomerase IV, sendo a DNA girase intrinsecamente menos suscetível. Desta forma, as mutações que conferem resistência ocorrem primeiro em *gyrA* nas bactérias gram-negativas e em *parC* nas gram-positivas numa frequência de $1/10^6$ a $1/10^9$ células bacterianas. A resistência envolve substituições de aminoácidos nas subunidades GyrA ou ParC, numa região chamada “região determinante de resistência às quinolonas” (*quinolone resistance determinant region* – QRDR).⁶³ Esta região na DNA girase é próxima a tirosina 122, a qual é fortemente ligada aos grupos fosfato no DNA nas primeiras reações de quebra de DNA. Por outro lado, em *S. aureus* e *S. pneumoniae*, as mutações ocorrem mais frequentemente em *parC*, enquanto que em amostras altamente resistentes ocorrem mutações adicionais em *gyrA* e *parE*.

Estudos feitos com *E. coli* e *S. aureus* demonstraram que existem diferentes níveis de resistência às quinolonas, dependendo se as mutações ocorreram no alvo primário, no secundário ou em ambos. As mutações no alvo primário produzem resistência moderada e precedem às do alvo secundário levando a níveis mais altos desta, num modelo de seleção gradual e cumulativa para a resistência (“step-wise fashion”).⁵⁹ Quando uma primeira mutação reduz a sensibilidade da DNA girase em micro-organismos gram-negativos, mutações adicionais em *gyrA* ou mutações em *gyrB* ou *parC* podem aumentar a resistência. O mecanismo plausível para que estas substituições diminuam a suscetibilidade é pela redução da afinidade da droga.⁶⁴ Desta forma, o nível da resistência conferida por uma única mutação no alvo primário depende da redução da afinidade pela enzima criada pela mutação, assim como da afinidade da quinolona pelo alvo secundário. As fluorquinolonas que têm grande afinidade por ambos os alvos (as mais recentes), estarão menos associadas à emergência de resistência.

Um conceito importante de medida da capacidade da bactéria adquirir resistência às quinolonas foi introduzido por Drlica.⁶⁵ Se um grande inóculo de bactérias (10^{10}) for plaqueado em diferentes concentrações de quinolona acima da concentração inibitória mínima (CIM), e as bactérias sobreviventes forem contadas após 3 dias de incubação, isto pode ser observado em uma curva. A menor concentração da droga onde não ocorrem mutantes é chamada MPC (“mutant prevention concentration”) e a variação da concentração onde ocorre seleção de mutantes (janela de seleção de mutantes) fica entre a CIM e a MPC. A seleção de amostras com baixos níveis de resistência pode ser evitada com preservação da atividade das fluorquinolonas. Devido ao fato de raramente ocorrerem mutações múltiplas, poucos mutantes serão seletivamente amplificados quando a concentração da droga exceder o limite superior. As fluorquinolonas apresentam uma frequência de mutação para resistência inferior a um numa população de 10^7 UFC/mL. Já a possibilidade de encontrar

uma célula com duas mutações que conferem resistência às fluorquinolonas é de uma célula em uma população maior que 10^{14} UFC/mL. Em um caso clínico típico, a população bacteriana pode chegar até 10^{10} UFC/mL de bactérias no local da infecção, mas a possibilidade de atingir 10^{14} UFC/mL é remota. Então a resistência raramente ocorrerá quando a concentração da droga está acima do limite superior da janela de seleção de mutantes, que define a MPC.

Mutações nos genes das topoisomerases também foram estudadas em amostras de 8 espécies de *Enterobacteriaceae* (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Providencia stuartii* e *Serratia marcescens*).⁶⁶ Os resultados mostraram que *E. coli* foi a única espécie que apresentou mutações duplas nos genes *gyrA* das amostras resistentes a fluorquinolonas, enquanto que a resistência a altas concentrações de quinolonas nas demais espécies frequentemente estava associada a apenas uma mutação no gene *gyrA*. Os autores observaram que a CIM variava significativamente para amostras que exibiam a mesma mutação no gene *gyrA*, indicando que alterações fora do gene *gyrA* contribuem para a resistência. O tipo e a posição das alterações dos aminoácidos também diferem entre os seis gêneros.

GALES *et al.*,⁶⁶ pesquisaram mutações nos genes das topoisomerases em amostras de *E. coli*, provenientes de 10 centros localizados em 6 países latino-americanos. As amostras com CIM ≥ 32 $\mu\text{g/mL}$ para ciprofloxacino apresentaram mutações duplas no gene *gyrA* e simples nos genes *parC*, enquanto que amostras com CIM 6 $\mu\text{g/mL}$ para ciprofloxacino apresentaram mutações simples nos genes *gyrA* e *parC*. No segundo trabalho os autores estudaram as amostras de *E. coli* sensíveis ao ciprofloxacino (CIM $\leq 0,015$ $\mu\text{g/mL}$ e 0,5 $\mu\text{g/mL}$) da mesma coleção. Os autores observaram que as amostras com CIM $\geq 0,12$ $\mu\text{g/mL}$, apresentavam uma mutação simples nos genes *gyrA*, enquanto que as amostras com CIM $\leq 0,06$ $\mu\text{g/mL}$ não apresentavam mutações nos genes *gyrA* ou *parC*.^{56,68}

Em estudo realizado em nosso grupo, foram estudadas amostras de *E. coli*, provenientes de ITU comunitárias de pacientes atendidos no Hospital de Clínicas da UFPR. Doze amostras foram divididas em três grupos, o primeiro contendo duas amostras sensíveis a todas as quinolonas testadas, o segundo contendo amostras resistentes apenas ao ácido nalidíxico e o terceiro contendo amostras resistentes a todas as quinolonas.⁶⁹ A pesquisa dos genes *gyrA* e *parC* demonstrou que as amostras sensíveis às quinolonas não apresentaram mutações nestes genes. Entretanto, foram observadas três mutações nas amostras resistentes e apenas uma mutação em *gyrA* foi observada em amostras resistentes ao ácido nalidíxico e sensíveis às fluorquinolonas, embora com uma elevação da CIM destas últimas.

Permeabilidade

A membrana das bactérias gram-negativas é uma dupla camada lipoproteica separada pelo espaço periplasmático e a sua hidrofobicidade impede que as substâncias hidrofílicas atinjam o interior das células. As porinas ou proteínas de membrana externa (OMP) são proteínas que servem como canais para certas moléculas

hidrofílicas nestas bactérias. A diminuição da sensibilidade às quinolonas pode estar associada com a deficiência de algumas porinas, como a OmpF e OmpC em *E. coli* e D2 em *P. aeruginosa*.⁵⁹ Bactérias gram-negativas deficientes na produção destas porinas apresentam resistência às quinolonas, porém este mecanismo sozinho não é suficiente para conferir altos níveis de resistência.

Bombas de Efluxo

A resistência às quinolonas causada por redução no acúmulo da droga ocorre também devido ao aumento da expressão de sistemas de efluxo endógenos, encontrados na membrana citoplasmática de bactérias gram-positivas e gram-negativas. Esses sistemas bombeiam ativamente as drogas do citoplasma para fora da célula. As bombas de efluxo podem ser droga ou classe-específicas e são capazes de causar resistência a diversos compostos diferentes, sendo por isso, chamadas de bombas de resistência a múltiplas drogas.^{59, 67} Alguns destes sistemas são expressos de forma constitutiva e outros são controlados por sistemas regulatórios globais ou induzidos por mutações. Bombas de efluxo são categorizadas em 5 superfamílias baseadas na identidade entre as sequências de aminoácidos, na fonte de energia usada para exportar substâncias e nas especificidades dos substratos das diferentes bombas.⁷⁰ Estas são: “ATP binding cassette” (ABC), “Major facilitator superfamily” (MF), “resistance-nodulation-division family” (RND), “small multidrug resistance” (SMR) e a superfamília “multidrug and toxic compounds extrusion” (MATE). Em bactérias gram-negativas, os sistemas de efluxo possuem três componentes: uma bomba localizada na membrana citoplasmática, uma proteína de membrana externa e uma proteína de fusão de membranas. Esta última tem a função de ligar a bomba de efluxo à proteína de membrana externa.

Em *E. coli* o sistema mais importante no efluxo de quinolonas é o AcrAB-TolC. Mutações em *acrR* (um repressor do *acrAB*) aumentam a atividade da bomba.⁷⁰ Por outro lado, mutações que inativam *marR* (um repressor de *marA*) permitem MarA ativar *acrAB*, *tolC* e um gene que diminui a transcrição de *ompF*, diminuindo coletivamente o influxo e aumentando o efluxo de quinolonas. *Pseudomonas aeruginosa* apresenta outro importante exemplo de resistência a quinolonas através de pelo menos quatro bombas de efluxo da família RND: MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN e MexXY-OprM.⁷² Outras bactérias gram-negativas possuem bombas de efluxo para as quinolonas como pode ser visualizado na tabela 2.

Entre as bactérias gram-positivas o determinante de efluxo mais significativo são os sistemas de efluxo da família MF (“major family”), homólogos ao NorA. Vale a pena ressaltar o aumento da expressão de *norA* em *S. aureus* levando a resistência às quinolonas, um gene que codifica o transporte de fluorquinolonas e outros agente.⁶² Uma segunda bomba de efluxo (NorB), exportadora de múltiplas drogas, foi descrita em *S. aureus*, proporcionando resistência a uma ampla variedade de fluorquinolonas, incluindo o moxifloxacino. Ao contrário das bombas de efluxo em gram-negativos, que exportam múltiplas classes de antimicrobianos, as bombas de efluxo do tipo *exporters* transportam apenas as fluorquinolonas, como únicos agentes clínicos relevantes. Em amostras nativas de *Enterococcus faecalis* foi identificado o gene *emeA* (homólogo do NorA) que mostrou contribuir para a resistência intrínseca da bactéria.

Devido à inespecificidade dos sistemas de efluxo, estes podem ser ativados em resposta a uma variedade de compostos, incluindo outros antibióticos não quinolonas, antissépticos, detergentes e até salicilatos. Frequentemente encontram-se os dois mecanismos de ação, alterações nas enzimas alvo e ativação dos sistemas de efluxo, juntos em amostras resistentes. Desta forma, em *E. coli*, na ausência de AcrAB, mutações em *gyrA* apenas dificilmente aumentam as CIMs para as quinolonas, sendo necessária a associação dos mecanismos para que se chegue às amostras clínicas mais resistentes.⁷³

Tabela 2. Bombas de Efluxo em Uropatógenos

Bactéria	Sistema de Efluxo	Família	Droga
<i>E. coli</i>	AcrAB-TolC AcrEF-TolC	RND	FQ
<i>E. coli</i>	MdfA	MF	FQ
<i>Enterobacter</i> spp.	AcrAB-TolC	RND	FQ
<i>Klebsiella</i> spp	AcrAB-TolC	RND	FQ
<i>S. marcescens</i>	SdeAB	RND	FQ
<i>S. marcescens</i>	SdeXY	RND	NOR
<i>P. mirabilis</i>	AcrAB	RND	CIP
<i>C. freundii</i>	?	?	FQ
<i>P. vulgaris</i>	?	?	OFL
<i>P. aeruginosa</i>	MexAB-OprM MexCD-OprJ MexEF-OprN MexXY-OprM	RND	FQ
<i>S. maltophilia</i>	SmeABC SmeDEF	RND	FQ
<i>A. baumannii</i>	AdeABC	RND	FQ
<i>S. aureus</i>		MF	NOR, CIP
<i>S. aureus</i>		MF	NOR, CIP, MOX, SPR
<i>S. aureus</i>		?	NOR, CIP, MOX, GAT, SPR
<i>E. faecalis</i>		MF	

Fonte: Adaptado de Jacoby, 2005

Nota: FQ: fluorquinolonas; NOR: norfloxacinó; CIP: ciprofloxacino; MOX: moxifloxacino; SPR: esparfloxacino; OFL: ofloxacino; GAT: gatifloxacino.

Resistência às Quinolonas Mediada por Plasmídeos (PMQR)

Como já foi discutido anteriormente, são necessárias múltiplas mutações para que haja resistência às quinolonas clinicamente importantes, já que os micro-organismos em geral são altamente suscetíveis. Como as mutações espontâneas são raras, o entendimento tradicional da resistência às quinolonas como um fenômeno mutacional não tinha ainda sido explicado de forma satisfatória para a frequência com que ocorre. O fenômeno poderia ser melhor entendido se elementos transferíveis pudessem participar na diminuição da sensibilidade às quinolonas, o suficiente para a sobrevivência do organismo na presença da droga enquanto mutações sequenciais ocorressem. A presença destes elementos transferíveis também explicaria a forte associação entre a resistência às quinolonas e resistência a outros agentes.⁷⁴

Em 1998 foi descoberta a presença de plasmídeos mediando a transferência horizontal de um gene que codificava resistência às quinolonas.^{75, 76} O gene transferível foi descrito em uma cepa de *K. pneumoniae* do Alabama, EUA, e transferia resistência de baixo nível a quinolonas para uma cepa de *E. coli* e outras bactérias gram-negativas, sugerindo um novo mecanismo de resistência nestas drogas. A resistência às quinolonas mediada por plasmídeo foi então chamada de “*qnr*”. O gene foi clonado e demonstrou produzir uma proteína de 219 aminoácidos que pertence à família de repetições pentapeptídicas,⁷⁷ cujos membros estão envolvidos em interações entre proteínas. A proteína Qnr purificada se liga e protege as enzimas DNA girase e topoisomerase da inibição por ciprofloxacino.

Posteriormente à descoberta no Alabama, o gene *qnr* foi descrito em amostras clínicas de Xangai, na China, onde existem altos níveis de resistência a ciprofloxacino.⁷⁸ Em estudos seguintes, nos Estados Unidos, *qnr* foi descrito em amostras de *K. pneumoniae* e *E. cloacae*, assim como em amostras bacterianas no Egito, Coreia e Países Baixos. Atualmente existem publicações de todas as partes do mundo, demonstrando a ampla distribuição destes genes.⁷⁴

A família das Qnrs apresenta os seguintes genes já descritos (entre parênteses o micro-organismo onde ocorreu a primeira identificação): *qnrA* (*K. pneumoniae* e *E. coli*), *qnrS* (*Shigella flexneri*), *qnrB* (enterobactérias), *qnrC* (*Proteus mirabilis*) e *qnrD* (*Salmonella enterica*). Nos plasmídeos onde é carregado, *qnr* tem sido encontrado em integrons ou estruturas semelhantes, próximo a um elemento chamado Orf513, provavelmente uma recombinase envolvida em aquisição sítio-específica de genes de resistência. Frequentemente os plasmídeos que carregam *qnr* também codificam uma ESBL, tais como enzimas tipo AmpC, FOX-5 ou as ESBLs CTX-M-9 ou SHV-7. Esta poderia ser uma das razões para a alta frequência de resistência às quinolonas observada em bactérias produtoras de ESBLs.⁷⁹

Embora os genes de Qnr sozinhos produzam um nível de resistência comparado à primeira mutação em DNA girase (geralmente um aumento na CIM do ciprofloxacino de 0,008 para 0,25 µg/ml), este baixo nível tem importância clínica pois amplia a janela de seleção de mutantes, assim como as mutações em *gyrA*, e da mesma forma aumenta a MPC do ciprofloxacino em 10X, facilitando a seleção de mutações adicionais.

Resistência aos aminoglicosídeos

Os aminoglicosídeos são uma família de moléculas contendo um núcleo molecular, um anel aminociclitol, que pode ser streptidina ou 2-deoxistreptidina, e dois ou mais amino açúcares ligados ao núcleo por pontes glicosídicas.⁸⁰ São antibióticos altamente potentes, de amplo espectro, cuja história começou na década de 40 com o lançamento da estreptomina. Estas drogas exibem ampla atividade *in vitro* contra vários bacilos gram-negativos de importância clínica, incluindo agentes etiológicos das ITUs: *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Acinetobacter* spp., *Proteus* spp., *Klebsiella* spp., *Serratia* spp., *Morganella* spp. e *Pseudomonas* spp., assim como *Staphylococcus aureus* e alguns estreptococos.⁸¹ Outra característica importante dos aminoglicosídeos é sua capacidade de sinergismo bactericida quando combinados com agentes inibidores da síntese da parede bacteriana, tais como betalactâmicos e vancomicina.⁸²

Os aminoglicosídeos são drogas bactericidas que atuam inibindo a síntese proteica das bactérias ao se ligar de forma irreversível à subunidade ribossomal bacteriana 30S. Os ribossomos bacterianos ligados aos aminoglicosídeos não são mais capazes de efetuar a translação do RNAm durante a síntese proteica, o que leva à morte celular.⁸³ Outros mecanismos de ação destas drogas são a indução ao erro na leitura do código genético com consequente produção de proteínas alteradas, lesão da membrana, alterações nas concentrações iônicas celulares e distúrbios na síntese do DNA e RNA.⁸³ A penetração do antibiótico na bactéria ocorre aparentemente em 3 fases.⁸⁴ Inicialmente ocorre a ligação dos aminoglicosídeos, que têm carga positiva, aos fosfolipídios, lipopolissacarídeos e proteínas da membrana externa (carregados negativamente) nas bactérias gram-negativas, ou ácidos teicoicos em gram-positivos. Neste momento ocorre lesão na membrana bacteriana, aumentando a sua permeabilidade. Numa segunda fase, dependente de energia, a entrada do aminoglicosídeo requer um potencial trans-membrana gerado pela cadeia respiratória local. Isto explica porque bactérias com sistema de transporte de elétrons deficiente, como os anaeróbios, são intrinsecamente resistentes a estas drogas, e porque os enterococos são resistentes a baixas concentrações de aminoglicosídeos. Uma vez dentro da célula o principal alvo do aminoglicosídeo é a subunidade 30S, e para chegar nele a droga se liga ao sítio acceptor A de RNAt da subunidade 16S RNAr, prevenindo o crescimento da cadeia de peptídeos, através de erros de leitura ou pelo término precoce da síntese de peptídeos.⁸⁵ A produção de proteínas, sendo alterada pela interferência na translação do RNAm, gera proteínas aberrantes que são inseridas na membrana, aumentando a permeabilidade celular e consequentemente a entrada de aminoglicosídeos, causando morte celular.

Os aminoglicosídeos são drogas concentração-dependente, efetivos mesmo quando o inóculo bacteriano é grande e raramente ocorre desenvolvimento de resistência no curso do tratamento. São usados como agentes profiláticos em diversas situações clínicas. Gentamicina é o aminoglicosídeo mais usado pelo seu baixo custo e boa atividade contra as bactérias aeróbicas gram-negativas, embora os padrões

locais de resistência devam influenciar a escolha da melhor droga. Em geral, ampicilina, gentamicina e tobramicina são usadas em circunstâncias similares. Ampicilina é particularmente eficiente quando usada contra bactérias resistentes a outros aminoglicosídeos, porque sua estrutura química a torna menos suscetível às enzimas inativadoras, daí a preferência pela droga nas infecções hospitalares.⁸⁰ As principais limitações destes agentes incluem um índice terapêutico relativamente baixo e nefro e ototoxicidade como efeitos colaterais. Eles não são absorvidos oralmente, por causa da sua natureza catiônica, e devem ser administrados por via parenteral.

Existem vários mecanismos pelos quais as bactérias desenvolvem resistência aos aminoglicosídeos: diminuição do aporte e acúmulo do antibiótico (diminuição da permeabilidade), modificações no alvo ribossômico que previne a ligação com a droga, expulsão da droga por bombas de efluxo e, o mais importante de todos, enzimas modificadoras dos aminoglicosídeos. Alguns mecanismos de resistência não se enquadram em nenhuma destas categorias e muitas vezes ocorre mais de um mecanismo envolvido na resistência destas drogas.

Diminuição do aporte de Aminoglicosídeos

O aporte de aminoglicosídeos na célula bacteriana requer a participação da cadeia respiratória, o que gera um potencial elétrico através da membrana citoplasmática. Um baixo nível deste potencial trans-membrana ou mesmo a sua ausência são os responsáveis pela resistência intrínseca das bactérias anaeróbicas aos aminoglicosídeos, assim como a baixa sensibilidade das bactérias anaeróbicas facultativas tais como o enterococo. A resistência pode surgir através de mutações cromossômicas, influenciando o potencial elétrico trans-membrana.⁸⁶ Resistência como resultado de impermeabilidade da membrana, com consequente diminuição do aporte da droga, é descrita em *Pseudomonas aeruginosa*.⁸⁷ Muitas vezes a impermeabilidade ocorre junto à presença de enzimas inativadoras promovendo resistência a múltiplos aminoglicosídeos.

Bombas de Efluxo

Bombas de efluxo bacterianas são reconhecidas atualmente como uma das principais causas de resistência antimicrobiana. As espécies bacterianas que expressam de forma constitutiva estes transportadores são intrinsecamente resistentes a baixos níveis de vários antibióticos. No entanto mutações nos genes regulatórios das bombas ou indução da expressão na presença do substrato podem levar a superexpressão dos genes originalmente constitutivos. Os aminoglicosídeos têm mostrado ser substrato para várias bombas de efluxo, incluindo membros das cinco superfamílias.⁷⁰ A superfamília RND (*resistance nodulation cell division*) está envolvida na resistência aos aminoglicosídeos em várias bactérias gram-negativas, incluindo *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia pseudomallei*, *Acinetobacter baumannii* e *E. coli*.⁸⁷ Os sistemas de bomba de efluxo da família RND estão organizados como uma tríade: uma proteína transportadora na membrana interna, uma proteína periplasmática acessória e um canal proteico na membrana externa, também chamada de proteína de membrana externa (OMP)⁸⁸. Em *P. aeruginosa* os

sistemas MexXY-OprM e MexAB-OprM são responsáveis pelo transporte de aminoglicosídeos,⁷⁰ enquanto que em *E. coli* o sistema AcrAB-TolC, muito semelhante ao MexAb-OprM, é o envolvido no efluxo destas drogas.⁸⁹ Homólogos dos sistemas de efluxo RND Mex e Acr têm sido encontrados em outras enterobactérias também agentes de ITUs tais como: *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella* spp., *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens* e *Morganella morganii*.⁸⁸

Modificação do alvo

Metilases são enzimas capazes de modificar a subunidade 16S do RNAr em posições críticas para que não haja a ligação da droga. Muitos genes que codificam tais enzimas foram identificados em micro-organismos produtores de aminoglicosídeos.⁷⁹ Este mecanismo de autodefesa envolve a metilação pós transcricional do RNAr usando o *S*-adenosilmetionina como cofator. A metilação destes nucleotídeos possivelmente inibe o contato intermolecular com a droga, levando a resistência. Foram descritos genes de metiltransferases em amostras clínicas humanas de bactérias gram-negativas, causando altos níveis de resistência.⁸⁰ Neste caso os genes *rmtA* e *rmtB* foram encontrados em amostras de *P. aeruginosa* e *S. marcescens*, respectivamente, produzindo a enzima Rmt responsável por concentrações inibitórias mínimas > 1.024 µg/ml em quase todos os aminoglicosídeos disponíveis. Existe uma similaridade entre as proteínas Rmt e metilases de 16S RNAr de actinomicetos, sugerindo uma possível transferência genética.⁷⁶ Outra metilase 16S RNAr foi caracterizada em *Klebsiella pneumoniae*, onde o gene estrutural *armA* estava localizado em um plasmídeo junto a vários outros genes de resistência.⁸⁰

Enzimas Modificadoras de Aminoglicosídeos

A inativação dos aminoglicosídeos por enzimas é o mecanismo de resistência mais importante, tanto pela frequência quanto pelo nível de resistência causado, resultando em perda da atividade antibacteriana devido à diminuição da afinidade pelo alvo ribossomal. Acredita-se que tais enzimas tenham se originado dos actinomicetos que sintetizam estes antibióticos.⁸¹ As enzimas são: fosfotransferases (APHs), nucleotidiltransferases (ANT) ou adeniltransferases e acetiltransferases (AAC). Cada uma das três famílias de enzimas é subdividida em classes designadas pelo sítio da modificação, que é indicado entre parênteses. Elas são posteriormente subdivididas em tipos de enzimas (designadas por números romanos) que especificam um fenótipo de resistência específico. Enzimas da mesma classe e tipo que produzem o mesmo fenótipo, mas pertencem a genes diferentes, são designadas por uma letra subscrita. Por exemplo, as enzimas AAC(6')-I, AAC(6')-Ia, AAC(6')-Ib, AAC(6')-Ic, são acetiltransferases de aminoglicosídeos que modificam o antibiótico na posição 6' e produzem o mesmo fenótipo (inativação de tobramicina, amicacina, netilmicina, canamicina e dibecacina), mas são codificados por genes diferentes.⁶⁸ Os aminoglicosídeos modificados nos grupos amino pelas enzimas AAC ou nos grupos hidroxil pelas enzimas ANT ou APH, se ligam fracamente aos ribossomos⁸² e falham em ativar a segunda fase da entrada da droga, dependente de energia, permitindo a sobrevivência da bactéria.

Acetiltransferases de Aminoglicosídeos (AACs)

As AACs compreendem quatro classes de enzimas: AAC(1), AAC(3), AAC(2') e AAC(6'). Elas utilizam acetil coenzima A como doador do grupo acetil para modificação dos aminoglicosídeos nas posições 1 e 3 do anel 2-deoxistreptamine e posições 2' e 6' do anel 6-aminohexose.⁶⁸ A seguir serão descritas apenas as enzimas mais frequentes em agentes envolvidos nas ITUs.

AAC(6') são enzimas de amplo espectro com ação na maioria dos aminoglicosídeos clinicamente importantes e são classificadas em três subfamílias:⁸³ a primeira contém AAC(6')-Ib, AAC(6')-Ie, AAC(6')-IIa, e AAC(6')-IIb. A segunda inclui: AAC(6')-Ia, AAC(6')-Ii, e AAC(6')-Ip, AAC(6')-Iq e AAC(6')-Id. A terceira subfamília é formada por: AAC(6')-Ic, AAC(6')-Id, AAC(6')-If, AAC(6')-Ig, AAC(6')-Ih, AAC(6')-Ij, e AAC(6')-Ik, AAC(6')-Il, -Ir, -Is, -It, -Iu, -Iv, -Iw, -Ix, e -Iz. AAC(6')-I confere resistência a tobramicina, amicacina, netilmicina, canamicina, isepamicina, sisomicina e dibecacina, e os genes de pelo menos 24 enzimas deste grupo já foram identificados, tanto em micro-organismos gram-negativos quanto em gram-positivos. AAC(6')-II produz resistência a gentamicina, tobramicina, netilmicina e sisomicina, mas não a amicacina. Entre todas as enzimas AAC(6'), AAC(6')-Ib é a mais prevalente entre as bactérias gram-negativas (mais de 70% naquelas com perfil AAC(6')).⁸⁴ O gene para AAC(6')-Ib é encontrado em transposons ou integrons, o que facilita sua rápida disseminação frente à pressão seletiva dos antibióticos entre os diversos micro-organismos. O gene para AAC(6')-Ie é parte de um determinante maior de resistência junto à enzima APH(2'')-Ia (gene bifuncional) em estafilococos e enterococos,⁸⁴ conferindo resistência de alto nível a virtualmente todos os aminoglicosídeos, incluindo gentamicina, amicacina, tobramicina, netilmicina e canamicina, mas não estreptomicina. Este gene faz parte de um transposon composto Tn4001, que é amplamente distribuído entre bactérias gram-positivas.⁸⁵ Alguns genes AAC(6') estão sempre presentes no cromossomo bacteriano, causando ou não resistência, como por exemplo: AAC(6')-Ik e AAC(6')-If em *Acinetobacter* spp., AAC(6')-Ig em *A. haemolyticus*, AAC(6')-Ic em *Serratia marcescens* e AAC(6')-Iz em *S. maltophilia*.⁶⁸ Todos os isolados de *Enterococcus faecium* produzem uma enzima cromossômica AAC(6')-Ii, que confere resistência a tobramicina, sisomicina, netilmicina e canamicina.⁸⁶ Outra enzima AAC(6')-Im foi descoberta tanto em *E. faecium* quanto em *E. coli*, assim como em outras bactérias gram-negativas.⁸⁷ Em *Pseudomonas aeruginosa* já foram descritas as seguintes enzimas do grupo levando a resistência: AAC(6')-IIa e -IIb (gentamicina, tobramicina, netilmicina, sisomicina, dibecacina) e AAC(6')-29a e -29b (amicacina, tobramicina, canamicina, dibecacina, e isepamicina).⁶⁸

Enzimas AAC(3)s são amplamente distribuídas entre as bactérias, constituindo o segundo maior grupo de acetiltransferases e o segundo mecanismo mais comum de resistência entre as AACs após as enzimas AAC(6'). Enzimas AAC(3)-I produzem resistência às drogas gentamicina e sisomicina. Genes para AAC(3)-Ia foram detectados em plasmídeos conjugativos e transposons, inseridos em genes cassetes e em integrons de enterobactérias e *Pseudomonas aeruginosa*, assim como

o *aac(3)-Ib*. Enzimas AAC(3)-II produzem resistência a gentamicina, tobramicina, sisomicina, netilmicina e dibecacina, e são também encontradas em bactérias gram-negativas.⁸⁴ AAC(3)-III, AAC(3)-IV e AAC(3)-VI estão menos frequentemente presentes em amostras clínicas.

Representantes da subclasse AAC(2')-I são codificados cromossomicamente e estão presentes principalmente em espécies de *Providencia*, resultando em resistência a gentamicina, tobramicina, netilmicina, dibecacina e neomicina. O gene para AAC(2')-Ia está presente em todas as amostras clínicas de *P. stuartii*, e a resistência é normalmente expressa em baixos níveis.⁸⁸

Fosfotransferases de Aminoglicosídeos (APHs)

As fosfotransferases (ou quinases) de aminoglicosídeos utilizam ATP como segundo substrato e são capazes de fosforilar grupos hidroxil específicos em todas as classes destes antibióticos. Existem sete classes desta enzima APH(3'), APH(2''), APH(3''), APH(4'), APH(7''), APH(6) e APH(9), isoladas em amostras clínicas e em micro-organismos que produzem o antibiótico.⁸⁴ A classe de maior prevalência é a APH(3'), que apresenta sete tipos de enzimas, APH(3')-I até APH(3')-VII. APH(3')-I produz resistência a canamicina, neomicina, lividomicina, paromomicina e ribostamicina. O gene *aph(3')-Ia* foi descoberto em um transposon Tn903 de *E. coli*.⁸⁹ e na sequência foi identificado em plasmídeos e transposons de muitas bactérias gram-negativas, incluindo *K. pneumoniae*, *Salmonella enterica*, *Proteus vulgaris*, *Vibrio cholerae*, *Campylobacter jejuni* e *Pasteurella piscida*.⁶⁸

Ao contrário de APH(3')-I, APH(3')-II é muito raramente encontrada em amostras clínicas, embora o gene desta enzima esteja localizado num transposon (Tn5). O gene para APH(3')-IIb foi identificado no cromossomo de *Pseudomonas aeruginosa*.⁹⁰

Os genes para APH(3')-III foram isolados originalmente em *S. aureus* e *E. faecalis* e posteriormente em bactérias gram-negativas. Eles conferem resistência a canamicina, neomicina, lividomicina, paromomicina, butirosina e ribostamicina, mas não a gentamicina e tobramicina. Apesar do nível de resistência a amicacina ser baixo para esta enzima, amostras de enterococos que expressam APH(3')-III são resistentes ao sinergismo amicacina/ampicilina.⁹¹ Estudos mostraram que o gene *aph(3')-IIIa* tinha grande prevalência entre MRSA do Japão e Europa, assim como em *Enterococcus faecalis* e *E. faecium* resistentes a aminoglicosídeos no Japão (50%). Frequentemente o gene é encontrado combinado a outros genes de enzimas modificadoras de aminoglicosídeos em gram-positivos, ou ainda ligado a genes de resistência a outras classes de antibióticos.⁶⁸

Os genes para APH(3')-IV e -V foram detectados apenas em bactérias produtoras de aminoglicosídeos. APH(3')-VI está associada a *Acinetobacter* spp. e produz resistência a isepamicina, canamicina, neomicina, amicacina, paromomicina, butirosina e ribostamicina.

Quatro genes que codificam enzimas APH(2') foram detectados em bactérias gram-positivas. O gene *aph(2')Ia* se situa a jusante de *aac(6')-Ie* e codifica a parte C-terminal da enzima bifuncional AAC(6')-Ie-APH(2')-Ia. A presença das ativida-

des de acetiltransferase e fosfotransferase nesta enzima encontrada em enterococos, estreptococos e estafilococos, torna-os resistentes a virtualmente todos os aminoglicosídeos disponíveis clinicamente, exceto estreptomina. Outras enzimas como a APH(2')Ib, Ic e Id, também descritas em enterococos, produzem resistência a gentamicina, tobramicina e canamicina, abolindo o sinergismo entre gentamicina e drogas de ação em parede, como vancomicina e ampicilina.⁶⁸

Nucleotidiltransferases de Aminoglicosídeos (ANTs)

As ANTs representam a menor das classes de enzimas modificadoras de aminoglicosídeos, embora atuem sobre drogas de grande importância clínica tais como gentamicina e tobramicina. Os genes que codificam estas enzimas estão amplamente distribuídos entre as bactérias patogênicas e o uso local de aminoglicosídeos seleciona claramente a prevalência regional destes genes (Jana *et al.*, 2006). As ANTs compreendem cinco classes, ANT(2''), ANT(3''), ANT(4'), ANT(6) e ANT(9), que são codificadas tanto cromossomicamente quanto em plasmídeos. Os genes *ant(2'')* e *ant(3'')* estão presentes geralmente em elementos genéticos móveis de organismos gram-negativos, enquanto *ant(4')*, *ant(6')* e *ant(9')* são também encontrados em plasmídeos ou integrados a transposons principalmente em bactérias gram-positivas.⁹² As ANTs utilizam ATP como segundo substrato e agem transferindo AMP ao grupo hidroxil dos aminoglicosídeos, nas posições 2'', 3'', 4', 6' e 9' respectivamente.

O gene *ant(2'')-Ia* confere resistência a gentamicina, tobramicina, sisomicina, dibecacina e canamicina, estando disseminado entre bactérias gram-negativas em plasmídeos conjugativos ou não, transposons e integrons.⁶⁸ ANT(3'') resultando em resistência a estreptomina e espectinomicina, sendo que existem pelo menos oito genes individuais *ant(3'')-I*.⁹³ O gene *ant(3'')-Ia* foi encontrado em transposons e plasmídeos conjugativos de bactérias gram-negativas e *S. aureus*, além de integrons de classe I em enterobactérias, *P. aeruginosa*, *V. cholerae* e *Enterococcus*.

ANT(4')-Ia confere resistência a amicacina, tobramicina, dibecacina, isepamicina e canamicina. Os genes *ant(4')-Ia* são encontrados em grandes plasmídeos conjugativos de *S. aureus* e como parte da região *mec* de estafilococos resistentes a metilina (MRSA).⁹⁴ Este é o principal mecanismo de resistência aos aminoglicosídeos no Japão, entre amostras de *S. aureus* que produzem enzimas modificadoras de aminoglicosídeos, e tem sido identificado em mais de 50% de MRSA na Europa.⁹⁵ ANT(4')-IIa é encontrada apenas em bactérias gram-negativas incluindo *P. aeruginosa* e *Enterobacteriaceae*.⁹⁶

ANT(6)-I confere resistência a estreptomina e o gene *ant(6)-Ia* encontra-se disseminado entre amostras clínicas de estafilococos e enterococos na Europa e Japão.^{97, 98} A maioria das amostras produz outras enzimas modificadoras de aminoglicosídeos, tornando-as resistentes a quase todos eles. ANT(9)-I é restrita a *S. aureus* e produz resistência a apenas espectinomicina.⁹⁹

Resistência a Sulfametoxazol-Trimetoprim (STX-TMP)

Trimetoprim-sulfametoxazol é uma droga ativa contra as enterobactérias, incluindo *E. coli*, o agente etiológico mais frequente em infecções urinárias, além de *Klebsiella pneumoniae* e *Proteus mirabilis*, o que justifica seu uso disseminado no tratamento das ITU. No mundo inteiro tem sido, até há pouco tempo, a droga de escolha no tratamento empírico deste tipo de infecção. Infelizmente a prevalência de uropatógenos resistentes vem aumentando desde os anos 80. Nos EUA, a IDSA (*Infectious Diseases Society of America*) recomenda STX-TMP como primeira escolha no tratamento empírico apenas se a frequência de resistência entre os uropatógenos for menor que 10-20% na comunidade.¹⁰⁰ Estudos americanos recentes mostram que a resistência naquele país varia de 15 a 23% .^{101, 102, 103} Outras publicações têm demonstrado que este panorama se repete em diversos países.^{104, 105, 106} Na América Latina um estudo recente do programa de vigilância antimicrobiana SENTRY demonstrou grande diminuição de sensibilidade de *E. coli* ao STX-TMP (resistência de 40,4%). O estudo englobou Argentina, Brasil, Chile, México e Venezuela e analisou 611 amostras de pacientes com ITU adquirida na comunidade, no ano de 2003.¹⁰⁷

O uso da combinação fixa de trimetoprim (TMP) e sulfametoxazol (SMX) baseia-se no fato que as bactérias são sintetizadoras obrigatórias de ácido fólico, ao contrário dos humanos que o obtêm através da dieta, sendo esta uma combinação que age apenas em procariotos. Trimetoprim e sulfametoxazol inibem a síntese bacteriana do ácido tetraidrofólico, a forma ativa do ácido fólico, que é um cofator necessário na síntese de timidina, purinas e DNA bacteriano.¹⁰⁸ A droga foi introduzida no final dos anos 60, respaldada pelas vantagens do sinergismo na combinação dos dois componentes e baseando-se no fato que não ocorreria desenvolvimento de resistência, já que as duas drogas agem na mesma via de biossíntese.¹⁰⁹

As sulfonamidas são drogas sintéticas que atuam através de analogia estrutural com o ácido p-aminobenzoico na via de biossíntese do ácido fólico. Inibem competitivamente a enzima bacteriana dihidropteroato-sintase (DHPS) catalisando a condensação do ácido p-aminobenzoico (PABA) e 7,8-dihidro-6-hidroximetilpterina-pirofosfato para ácido dihidropteroico, na sequência da reação que leva ao ácido dihidrofólico. O trimetoprim é também uma droga sintética pertencente ao grupo diaminopirimidina, que inibe competitivamente a redução do dihidrofolato ao tetraidrofolato pela enzima dihidrofolato-redutase (DHFR). Este bloqueio sequencial de duas enzimas na via de produção do ácido fólico resulta numa ação bactericida efetiva.¹¹⁰

Diferentes mecanismos mediam a resistência bacteriana ao TMP e sulfonamidas: (1) permeabilidade de barreira e/ou bombas de efluxo, (2) enzimas alvo naturalmente insensíveis, (3) alterações na regulação de enzimas alvo, (4) mutações ou recombinações nas enzimas alvo e (5) resistência adquirida por enzimas alvo resistentes às drogas.¹¹¹

Resistência às sulfonamidas

A resistência cromossômica pode ser explicada através de mutações no gene cromossômico *folP* para a enzima dihidropteroato-sintase (gene *dhps*) em *E. coli*, resultando em diminuição da afinidade para inibição da sulfonamida na enzima. Este tipo de mutação é frequente na natureza entre outras bactérias de importância clínica tais como *S. aureus*, *S. haemolyticus*, *C. jejuni*, *S. pneumoniae*, *N. meningitidis*, *H. influenzae* e *H. pylori*.¹¹⁰

A resistência transferível às sulfonamidas foi descrita inicialmente como sendo mediada por duas enzimas DHPS resistentes codificadas pelos genes *sul1* ou *sul2*.¹¹² O gene *sul1* é geralmente encontrado junto a outros genes de resistência transferíveis em integrons de classe 1, frequentemente em transposons que pertencem à família Tn21. Os genes *sul2* estão geralmente localizados em plasmídeos do grupo de incompatibilidade *incQ* ou outros plasmídeos. Ambos eram encontrados em bactérias gram-negativas resistentes à sulfonamida em igual frequência, mas recentemente a disseminação do gene *sul2* parece ter aumentado com a demonstração de sua maior presença em amostras clínicas de *E. coli*.^{113, 114} No estudo britânico, metade do aumento observado foi devido à aquisição de plasmídeos contendo *sul2* em amostras que já albergavam *sul1*. Em 2003 um novo gene plasmidial de resistência às sulfonamidas, *sul3*, foi descrito em porcos, na Suíça. Este novo gene possui menos de 40% de identidade com os outros genes já conhecidos e foi identificado num plasmídeo conjugativo de 54 kb.¹¹⁵ Na sequência este gene foi descrito em amostras clínicas humanas de *E. coli* resistentes a sulfonamidas, carregado em um grande plasmídeo.¹¹⁶

Resistência ao trimetoprim

A resistência ao TMP devido a mutações nos genes intrínsecos *dfr* já foi descrita em vários patógenos, incluindo *E. coli*. Neste caso já foi descrita a superprodução da enzima DHFR associada ao aumento do valor do K_1 para a droga, resultando em alta resistência ao trimetoprim.¹¹⁷ As mutações podem ocorrer no promotor (região -35), aumento de 1bp entre o códon iniciador e a região -10, além de várias mutações otimizando o sítio de ligação do ribossomo ou outras no gene estrutural levando aos códons mais usados. Todas estas mudanças representam uma importante adaptação evolucionária à presença das drogas antifolato tais como o trimetoprim.¹¹⁰

A resistência transferível ao trimetoprim vem sendo descrita desde a década de 70, após o início do uso de STX-TMP. Ela é causada pelas modificações na enzima alvo, dihidrofolato-redutase (DFR), codificadas pelos genes *dfr*. Até hoje já foram descritos cerca de 30 genes *dfr*, que são numerados consecutivamente a partir do *dfrA1*, o primeiro a ser descrito.¹¹⁸ A origem exata destes genes é desconhecida, mas eles provavelmente foram transferidos horizontalmente de outros micro-organismos para as bactérias patogênicas.¹¹⁰ A disseminação destes genes entre as bactérias patogênicas pode ser explicada pela localização da maioria em cassetes de genes, os quais através dos integrons adquirem grande mobilidade. Os integrons estão inseridos em transposons, predominantemente localizados em plasmídeos e podem inserir, retirar e expressar os cassetes genéticos, e frequentemente genes de resistência.¹¹⁹

Uma grande parte dos genes de resistência ao TMP está agrupada em três famílias estruturais distintas e são encontrados exclusivamente como cassetes de genes em integrons. Fazem parte deste grupo os seguintes genes: *dfrA1*, *dfrA5*, *dfrA6*, *dfrA7*, *dfrA12*, *dfrA13*, *dfrA14*, *dfrA15*, *dfrA16*, *dfrA17*, *dfrA21*, *dfrA22*, *dfrA25*, *dfrB1*, *dfrB2*, *dfrB3*, *dfrB4*, *dfrB5*, e *dfrB6*. Existe outro grupo de genes *dfrA3b*, *dfrA9*, *dfrA10*, *dfrA19*, *dfrA20*, *dfrA23* e possivelmente *dfrA26* que estão associados às CR (“regiões comuns” próximas à extremidade 3’ de integrons de classe 1 e relacionadas a genes de resistência). Restam 4 outros genes (*dfrA3*, *dfrA4*, *dfrA8*, *dfrA24*) estabelecidos em seus hospedeiros através de mecanismos ainda não estabelecidos.¹²⁰ Um dos genes de resistência ao TMP mais frequente entre as bactérias gram-negativas parece ser o *dfrA1*, que ocorre em cassete de genes em integrons de classe 1 e 2. O transposon Tn7 que carrega integrons de classe 2 se disseminou com sucesso devido a sua alta frequência de inserção no cromossomo de *E. coli* e em muitas outras espécies bacterianas.^{121,122} No entanto estudos epidemiológicos recentes demonstram variações regionais, como a maior prevalência do *dfrA12* e *dfrA17* na Coreia e na Austrália, associados a integron de classe 1.^{123,119}

Resistência à vancomicina

Os enterococos apresentam resistência intrínseca a uma série de antimicrobianos (inclusive baixas concentrações de aminoglicosídeos) e pode adquirir resistência a múltiplos antimicrobianos. Os antimicrobianos possuem apenas efeito bacteriostático contra o enterococo, necessitando da associação com um aminoglicosídeo para ter efeito bactericida. As Infecções do trato urinário são exceção e podem ser tratadas com monoterapia.

A vancomicina apresenta atividade contra micro-organismos gram-positivos e foi introduzida na prática clínica em 1958. Seu uso é indicado especificamente no tratamento de infecções estafilocócicas graves causadas por MRSA e em pacientes alérgicos à penicilina e cefalosporinas; também é indicada no tratamento de infecções causadas por enterococos e pneumococos resistentes a penicilina e colites causadas por *Clostridium difficile*. A teicoplanina apresenta mecanismo de ação semelhante à vancomicina, diferenciando-se apenas por apresentar meia vida mais longa e menor toxicidade.¹³⁹

Mecanismo de ação dos glicopeptídeos

A vancomicina, como os outros glicopeptídeos, atua na inibição da síntese da parede celular bacteriana. Antimicrobianos glicopeptídicos interferem na formação da parede celular, ligando-se ao terminal D-alanina-D-alanina (D-ala-D-ala) dos precursores do peptidoglicano com alta afinidade. A formação de um complexo entre o antibiótico e o precursor da cadeia de peptidoglicano impede a ação das enzimas envolvidas nas reações de transglicosilação e transpeptidação na síntese da parede celular bacteriana.¹⁴⁰

Enterococcus resistente à vancomicina (VRE)

A resistência aos glicopeptídeos em enterococos é baseada na alteração do alvo de atuação do antibiótico, o terminal D-alanina-D-alanina do peptidoglicano, que é modificado para D-alanina-D-lactato (D-ala-D-lac), nos fenótipos VanA, B ou D, levando a resistência a vancomicina devido a impossibilidade de ligação com o seu alvo de ação. Por outro lado nos fenótipos VanC, E e G o terminal D-alanina-D-alanina se apresenta alterado para D-alanina-D-serina.^{141, 142} Os fenótipos VanA e VanB representam os fenótipos de resistência mais comumente isolados de amostras clínicas.^{141, 142}

***Staphylococcus aureus* Vancomicina-Intermediário – VISA**

O mecanismo de resistência em amostras VISA baseia-se no aumento da taxa de biossíntese de peptidoglicano, levando a um aumento da quantidade de resíduos de D-Ala-D-Ala (alvos da vancomicina). O excesso de precursores de peptidoglicano “sequestram” a vancomicina em sua parede celular gerando menor disponibilidade do antimicrobiano na molécula alvo intracelular.^{143, 144}

***S. aureus* Resistente à Vancomicina (VRSA)**

A resistência mediada pelo gene *vanA* está baseada na modificação da via de biossíntese do peptidoglicano, o que resulta na substituição do dipeptídeo D-alanina-D-alanina (D-Ala-D-Ala) por um depsíptídeo quimicamente distinto a D-alanina-D-lactato (D-Ala-D-Lac). A simples substituição da ligação peptídica por uma ligação depsi-peptídica elimina a ponte de hidrogênio, crítica para a ligação da vancomicina.^{143, 144}

A descrição dos primeiros casos de VRE na década de 1980, trouxe uma grande preocupação quanto ao potencial do desenvolvimento de resistência a vancomicina em *S. aureus* (VRSA) devido a aquisição do gene *vanA* dos enterococos. Cepas de *S. aureus*, totalmente resistentes a vancomicina (VRSA) devido a aquisição do gene *vanA* foram inicialmente reportados nos Estados Unidos da América (EUA). Entretanto, até o momento apenas nove casos de VRSA foram relatados nos EUA, e mais dois casos em outros países (Índia e Irã), indicando que esse mecanismo de resistência, embora de grande relevância não se dissemina rapidamente.¹⁴⁴

Epidemiologia de VRE

Enterococos foram, inicialmente, considerados patógenos de baixa virulência, se comparados a germes como *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus pyogenes*; entretanto, sua capacidade de colonizar e causar infecções extraintestinais está sendo esclarecida. A produção de substâncias agregativas, por determinadas linhagens de enterococos, pode mediar a adesão a células tubulares renais proporcionando o desenvolvimento de ITU.

No final da década de 80 foram publicados os primeiros casos de enterococos resistentes a vancomicina.^{145, 146, 147} A primeira descrição de VRE no Brasil ocorreu na cidade de Curitiba, identificado como *E. faecium*¹⁴⁸ e posteriormente caracte-

rizado como genótipo *vanD*.¹⁴⁹ Posteriormente *E. faecalis* tornou-se a espécie de VRE predominante nos hospitais brasileiros e atualmente sua localização é restrita a determinados centros. Por outro lado, as infecções por *E. faecium* aumentam drasticamente quando ocorre o isolamento de *E. faecium* resistentes a vancomicina.¹⁵⁰ A ocorrência de enterococos resistentes à vancomicina (VRE) tem aumentado progressivamente nos Estados Unidos e em algumas partes da Europa, nos últimos cinco anos. VRE tem contribuído com aproximadamente 25% das infecções por enterococos de pacientes de unidade de terapia intensiva (UTI). A alta incidência das infecções por VRE é atribuída ao uso extensivo de vancomicina em hospitais.^{151, 152}

A prevalência de VRE na Europa varia entre 1-40%, dependendo do país analisado e muitos aspectos da aquisição e disseminação ainda são desconhecidos.¹⁵³

Resistência às Polimixinas

As polimixinas são polipeptídios ligados ao ácido α,γ -diaminobutírico formando compostos cíclicos. O mecanismo de ação dos antimicrobianos independe da entrada na célula bacteriana e resulta em aumento da permeabilidade da membrana com rápida perda de conteúdo celular e morte da bactéria. Agem como um detergente catiônico que se liga fortemente aos fosfolipídios da membrana citoplasmática bacteriana, provocando sua ruptura (atividade bactericida). A resistência a polimixinas em bactérias gram-negativas está relacionada a mudanças na arquitetura da membrana.¹⁵⁴

No Brasil existem duas polimixinas disponíveis no comércio: colistina (polimixina E) e polimixina B. Ambas possuem excelente atividade sobre diversos bacilos gram-negativos fermentadores e não fermentadores, incluindo *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *Klebsiella pneumoniae* e *E. coli*. Algumas enterobactérias são naturalmente resistentes à sua ação, como *Proteus mirabilis*, *Flavobacterium* spp, *S. maltophilia*, *B. cepacea*, *Edwardsiella* spp., *Providencia* spp. e *Serratia marcescens*.^{154, 155}

A absorção oral da polimixina é baixa, além disso é tóxica podendo causar bloqueio neuromuscular, parada respiratória e insuficiência renal aguda, que ocorre em cerca de 20% dos pacientes. Apesar de suas limitações, as polimixinas são a última opção de tratamento os gram-negativos multirresistentes inclusive aos carbapenêmicos.^{154, 155}

REFERÊNCIAS

Betalactâmicos

1. Ambler RP. The structure of Beta-Lactamase. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 1980; 289: 321-331.
2. Bush LM, Calmon J, Johnson CC. Newer Penicillins and beta-lactamase inhibitors. *Inf Dis Nor Amer.* 1995; 9(3): 653-686.
3. Sader HS, Jones RN. Cefalosporinas: quatro gerações de evolução estrutura. *Rev Assoc Med Bras.* 1995; 41: 144-150.
4. Tavares W. Cefalosporinas e Análogos: Cefamicinas e Oxacefemas. In *Manual de Antibióticos e Quimioterápicos Antifécciosos*, 3ª ed. São Paulo: Editora Ateneu, 2001, 461-527.
5. Sanders CC. Cefepime: The next generation? *Clin Infect Dis.* 1993; 17: 369-379.
6. Endimiani A, Perez F, Bonomo R. Cefepime: a reappraisal in an era of increasing antimicrobial resistance. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2008; 6(6): 805-24.
7. Tavares W. Penemas, Carbapenemas, Sulfopenemas, Carbacefemas e Trine-mas. In *Manual de Antibióticos e Quimioterápicos Antifécciosos*, 3ª ed. São Paulo: Editora Ateneu, 2001; 529-546
8. Tavares, W. Monobactâmicos. In *Manual de Antibióticos e Quimioterápicos Antifécciosos*, 3ª ed. São Paulo: Editora Ateneu, 2001, 547-554.
9. Livermore DM. Beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev.* 1995; 8(4): 557-84.
10. Tavares W. Resistência Bacteriana. In *Manual de Antibióticos e Quimioterápicos Antifécciosos*, 3ª ed. São Paulo: Editora Ateneu, 2001; 55-144
11. Dawson CG, Coffey TJ. b-lactam resistance mediated by changes in Penicillin-Binding Proteins. In: Woodford, N and Johnson, AP editors. *Methods in Molecular Medicine, Molecular Bacteriology, Protocols and Clinical Applications*, 1st ed. Humana Press; 1998, P. 537-553.
12. Hiramatsu K, Katayama Y, Yuzawa H, Ito T. Molecular genetics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Int J Med Microbiol.* 2002; 292: 67-74.
13. Fontana R, Ligozzi M, Pittaluga F, Satta G. Intrinsic penicillin resistance in *enterococci*. *Microb Drug Resist.* 1996; 2(2): 209-13.
14. Pages J-M, James, CE, Winterhalter M. The porin and the permeating antibiotic? A selective diffusion barrier in Gram-negative bacteria. *Nat rev Microbiol.* 2008; 6: 893-903.
15. Martinez-Martinez, L. Extended-spectrum beta-lactamase and the permeability barrier. *Clin Microbiol Infect.* 2008; 14(2): 82-89.
16. Livermore, DM. Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: our worst nightmare? *Clin Infect Dis.* 2002; 34: 634-640.
17. Richmond MH, Sykes RB. The β -lactamase of gram-negative bacteria and their possible physiological roles. *Adv. Microb. Physiol.* 1973; 9: 31-88.

18. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structures. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1995; 39: 1211-1233.
19. Ambler RP, Coulson AFW, Fre're J-M, Ghuysen B, Joris, Forsman M, Levesque RC, Tiraby G, Waley GA. standard numbering scheme for the class A β -lactamases. *Biochem J*. 1991; 276: 269-272.
20. Bush K. Characterization of β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 1989; 33(3): 259-263.
21. Bush K. Characterization of β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 1989a; 33(3): 271-276.
22. Jacoby GA, Munhoz-Prince LS. The New beta-Lactamases. *N Engl J Med*. 2005; 352(4): 380-391.
23. Bush K, Jacoby GA. Updated Functional Classification of β -Lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010; 54(3): 969-976.
24. Jacoby GA. AmpC beta-lactamases. *Clinical Microbiology Reviews*. 2009 Jan; 22: 161-182.
25. Bradford PA. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev*. 2001; 14(4): 933-51.
26. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18(4):657-86.
27. Livermore DM. Defining an extended-spectrum beta-lactamase. *Clin Microbiol Infect*. 2008; 14(S1): 3-10.
28. Bonnet R. Growing group of extended-spectrum β -lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2004; 48: 1-14.
29. Govinden U, Mocktar C. Geographical evolution of the CTX-M beta-lactamases - an update. *African Journal of Biotechnology*. 2007; 6(7): 9.
30. Poirel L, Nordmann P. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. *Clin Microbiol Infect*. 2006; 12: 826-836.
31. Walther-Rasmussen J, Hoiby N. OXA-type carbapenemases. *J Antimicrob Chemother*. 2006; 57: 373-383.
32. Perez F, Hujer AM, Hujer KM, Decker BK, Rather PN, Bonomo RA. Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007; 51: 3471-84.
33. Corvec S, Poirel L, Naas T, Drugeon H, Nordmann P. Genetics of acquisition and expression of the carbapenem-hydrolyzing oxacillinase gene *blaOXA-23* in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007; 51: 1530-33.
34. Zong Z, Xiaoju L, Valenzuela JK, Partridge SR, Iredell J. An outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing OXA-23 carbapenemase in western China. *Inter J Antimicrob Agents*. 2008; 31:50-54.
35. Bush K. Metallo- β -lactamases: A class apart. *Clin Infect Dis*. 1998; 27(S1): S48-S53.

36. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile β -lactamases, *Clin Microbiol Rev.* 2007; 20(3): 440-458.
37. Shahid M, Sobia F, Singh A, Khan HM, Hawkey PM, Huq A, Khardori, N. AmpC [beta]-lactamases and bacterial resistance: an updated mini review. *Rev Med Microbiol.* 2009; 20(3): 41-55.
38. Sader H S. Antimicrobial resistance in Brazil: Comparison of results from two multicenter studies. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases.* 2000; 4: 91-99.
39. Nogueira KS, Higuti IH, Nascimento AJ, Teresawa LB, Oliveira S, Matos AP, Souza HAPHM, Cogo LL, Dalla-Costa LM. Occurrence of extended-spectrum beta-lactamases in *Enterobacteriaceae* isolated from hospitalized patients in Curitiba, southern Brazil. *Braz J Infect Dis.* 2006; 10(6): 390-5.
40. Bush, K. Extended-spectrum b-lactamases in North America, 1987-2006. *Clinical Microbiol Infect.* 2008; 14 (Suppl. 1): 134-143.
41. Canton R, Novais A, Valverde A., Machado E, Peixe L., Baquero F, Coque, TM. Prevalence and spread of extended-spectrum b-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in Europe. *Clin Microbiol Infect.* 2008 14(1): 144-153.
42. Villegas MV, Kattan JN, Quinteros MG, Casellas J M. Prevalence of extended-spectrum b-lactamases in South America. *Clin Microbiol Infect.* 2008; 14 (1): 154-158.
43. Paterson D. Resistance in gram-negative bacteria: *Enterobacteriaceae*. *Am J Infect Control.* 2006; 34(5) suppl 22: S1.
44. Rodriguez-Bano J, Navarro MD, Romero L, Muniain MA, de Cueto M, Rios MJ, Hernandez JR, Pascual A. Bacteremia due to extended-spectrum B-lactamase-producing *Escherichia coli* in the CTX-M era: a new clinical challenge. *Clin Infect Dis.* 2006; 43: 1407-1414.
45. Motta RN, Oliveira MM, Magalhães PSF, Dias AM, Aragão LP, Fortu AC, Carvalho CBM. Plasmid-mediated extended-spectrum beta-lactamase-producing strains of *Enterobacteriaceae* isolated from diabetes foot infections in a Brazilian diabetic center. *Braz J Infect Dis.* 2003; 7(2):129-34.
46. Dalla-Costa LM, Coelho J M, Souza HAPM, Castro ME, Stier CJN, Bragganolo KL, *et al.* Outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the OXA-23 enzyme in Curitiba, Brazil. *J Clin Microbiol.* 2003; 41: 3403-06.
47. Bier KES, Luiz S, Sheffer, MC, Gales AC, Paganini, MC, Nascimento AJ, Carignano E, Dalla-Costa, LM. Temporal evolution of carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* in Curitiba, southern Brazil. *Am J Infect Control.* 2010; 38(4):308-14.
48. Villegas MV, Kattan JN, Correa A, Lolans K, Guzman AM, Woodford N, *et al.* Dissemination of *Acinetobacter baumannii* clones with OXA-23 carbapenemase in Colombian hospitals. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007; 51:2001-4.
49. Walsh TR. Metallo- β -Lactamases: the Quiet before the Storm? *Clin Microbiol Rev.* 2005; 18(2): 306-325.

50. Watanabe M, Iyobe S, Inoue M, Mitsushashi S. Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1991; 35: 145-151.
51. Pellegrino FL, Casali N, Santos KR, Nouér AS, Scheidegger EM, Riley LW, Moreira BM. *Pseudomonas aeruginosa* epidemic strain carrying bla(SPM) metallo-beta-lactamase detected in Rio de Janeiro, Brazil. *J Chemother*. 2006; 18: 151-6.
52. Toleman MA, Simm AM, Murphy TA, Gales AC, Biedenbach DJ, Jones RN, Walsh TR. Molecular characterization of SPM-1, a novel metallo- β -lactamase isolated in Latin America: report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme. *J Antimicrob Chemother*. 2002; 50: 673-679.
53. Gales AC, Menezes LC, Silbert S, Sader HS. Dissemination in distinct Brazilian regions of an epidemic carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing SPM metallo-beta-lactamase. *J Antimicrob Chemother*. 2003; 52(4): 699-702.
54. Poirel L, Magalhaes M, Lopes M, Nordmann P. Molecular analysis of metallo-beta-lactamase gene bla(SPM-1)-surrounding sequences from disseminated *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Recife, Brazil. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004; 48: 1406-9.
55. Cipriano R, Vieira VV, Fonseca EL, Rangel K, Freitas FS, Vicente AC. Coexistence of epidemic colistin-only-sensitive clones of *Pseudomonas aeruginosa*, including the blaSPM clone, spread in hospitals in a Brazilian Amazon City. *Microb Drug Resist*. 2007;13:142-6.
56. Sheffer MC, Bazzo ML, Steindel M, Darini AL, Clímaco E, Dalla-Costa LM. Intrahospital spread of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in a University Hospital in Florianópolis, Santa Catarina, Brazil.
57. Zavaschi AP, Gaspareto PB, Martins AF, Gonçalves AL, Barth AF. Outbreak of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing SPM-1 metallo- β -lactamase in a teaching hospital in southern Brazil. *J Antimicrob Chemother*. 2005; 56: 1148-1151.

Quinolonas

58. Andriole, V.T. The Quinolones. 2 Ed. New York: Academic Press, 1998. P.417-419.
59. Hooper D C. Mechanisms of Action and Resistance of Older and Newer Fluoroquinolones. *Clinical Infectious Diseases*. 2000; 31(Suppl 2):S24-8.
60. Hooper DC. Emerging mechanisms of fluorquinolone resistance. *Emerg Infect Dis*. 2001; 337-41
61. Wang JC. DNA topoisomerases. *Annu Rev Biochem*. 1996; 65: 635-92.
62. Jacoby G A. Mechanisms of Resistance to Quinolones. *Clinical Infectious Diseases*. 2005; 41: S120-6.
63. Cabral JHM, Jackson AP, Smith CV, Shikotra N, Maxwell A, Liddington RC. Crystal structure of the breakage-reunion domain of DNA gyrase. *Nature*. 1997; 388: 903-6.

64. Barnard FM, Maxwell A. Interaction between DNA gyrase and quinolones: effects of alanine mutations at GyrA subunit residues Ser83 and Asp87. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001; 45:1994–2000.
65. Drlica K. The mutant selection window and antimicrobial resistance. *J Antimicrob Chemother* 2003; 52:11–7.
66. Weigel, LM, Steward, C. Tenover, F. gYRa Mutation associated with fluorquinolones resistance in Eight species of Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother.* 1998; 42 (10): 2661–2667.
67. Gales AC, Gordon KA, Wilke WW, Pfaller MA, and Jones RN. Occurrence of Single-Point IA Mutations Among Ciprofloxacin-Susceptible *Escherichia Coli*. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2000a. 36: 61–64.
68. Gales AC, Jones RN, Gordon KA, Sader HS, Wilke WW, Beach ML, Pfaller MA, Doern GV. Activity and Spectrum of 22 Antimicrobial Agents Tested Against Urinary Tract Infection Pathogens in Hospitalized Patients in Latin America: Report From The Second Year of The SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1998). *J Antimicrob Chemother.* 2000b. 45: 1295–303.
69. Ito CAS, Gales AC, Tognim MCB, Munerato P, Dalla-Costa LMD. Quinolone-Resistant *Escherichia coli*. *Braz J Infect Dis.* 2008, 12(1): 5–9.
70. Masuda N, Sakagawa E, Ohya S, Gotoh N, Tsujimoto H, Nishino T Substrate specificities of MexAB-OprM, MexCD-OprJ, and MexXY-OprM efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000; 44:3322–3327.
71. Wang H, Dzink-Fox JL, Chen M, Levy SB. Genetic characterization of highly fluoroquinolone-resistant clinical *Escherichia coli* strains from China: role of *acrR* mutations. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001; 45: 1515–21.
72. Poole K. Efflux-mediated antimicrobial resistance. *J Antimicrob Chemother.* 2005; 56: 20–51.
73. Komp Lindgren P, Karlsson A, Hughes D. Mutation rate and evolution of fluoroquinolone resistance in *Escherichia coli* isolates from patients with urinary tract infections. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003; 47: 3222–32.
74. Strahilevitz J, Jacoby G A, Hooper D C e Robicsek A. Plasmid-Mediated Quinolone Resistance: a Multifaceted Threat. *Clin Microbiol Rev.* 2009 oct; 664–689.
75. Martínez-Martínez L, Pascual A, Jacoby GA. Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet.* 1998; 351: 797–9.
76. Tran JH, Jacoby GA. Mechanism of plasmid-mediated quinolone resistance. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002; 99: 5638–42.
77. Wang M, Tran JH, Jacoby GA, Zhang Y, Wang F, Hooper DC. Plasmid mediated quinolone resistance in clinical isolates of *Escherichia coli* from Shanghai, China. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003; 47: 2242–8.
78. Paterson DL, Mulazimoglu L, Casellas JM, *et al*. Epidemiology of ciprofloxacin resistance and its relationship to extended-spectrum b-lactamase production in *Klebsiella pneumoniae* isolates causing bacteremia. *Clin Infect Dis.* 2000; 30: 473–8.

Aminoglicosídeos

79. Jana S, Deb JK. Molecular understanding of aminoglycoside action and resistance. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2006; 70: 140–150.
80. Vakulenko SB, Mobashery S. Versatility of Aminoglycosides and Prospects for Their Future. *Clin Microbiol Rev*. 2003 jul; 430–450.
81. Moellering RCJr, Weinberg AN. Studies on antibiotic synergism against *enterococci* II. Effect of various antibiotics on the uptake of ¹⁴C-labeled streptomycin by *enterococci*. *J Clin Investig*. 1971; 50: 2580–2584.
82. Davies J E. Resistance to aminoglycosides: mechanisms and frequency. *Rev Infect Dis*. 1983; 5 (suppl 2): 261–267.
83. Fourmy D, Recht MI, Blanchard SC, Puglisi JD. Structure of the A-site of *E. coli*. 16 S rRNA complexed with an aminoglycoside antibiotic. *Science*. 1996; 274: 1367–1371.
84. Taber HW, Mueller JP, Miller PF, Arrow AS. Bacterial uptake of aminoglycoside antibiotics. *Microbiol Rev*. 1987; 51: 439–457.
85. Mingeot-Leclercq M P, Glupczynsk Y e Tulkens P M. Aminoglycosides: activity and resistance. *Antimicrob. Agents Chemother*. 1999; 43:727–737.
86. Moellering RCJr. The *enterococcus*: a classic example of the impact of antimicrobial resistance on therapeutic options. The Garrod Lecture. *J. Antimicrob. Chemother*. 1991; 28: 1–12.
87. Poole K. Aminoglycoside Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antim Agents Chemother*. 2005 Fev; 479–487.
88. Poole K. Efflux-mediated antimicrobial resistance. *J Antimicrob Chemother*. 2005; 56:20–51.
89. Piddock LJV. Clinically Relevant Chromosomally Encoded Multidrug Resistance Efflux Pumps in Bacteria. *Clinical Microbiology Reviews*. 2006 apr;382–402.
90. Poole K. Efflux-mediated multiresistance in Gram-negative bacteria. *Clin Microbiol Infect*. 2004; 10: 12–26.
91. Rosenberg EY, Ma D, Nikaido H. AcrD of *Escherichia coli* is an aminoglycoside efflux pump. *J Bacteriol*. 2000; 182:1754–1756.
92. Maravic G. Macrolide resistance based on the Erm-mediated rRNA methylation. *Curr Drug Targets Infect Disord*. 2004; 4:193–202.
93. Galimand M, Courvalin P, Lambert T. Plasmid-mediated high-level resistance to aminoglycosides in Enterobacteriaceae due to 16S rRNA methylation. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003; 47: 2565–2571.
94. Rarther PN. Origins of aminoglycoside modifying enzymes. *Drug Resist Updat*. 1998; 1: 295–291.
95. Fluit ADC, Visser MR, Schimtz F-J. Molecular Detection of Antimicrobial Resistance. *Clin Microbiol Rev*. 2001 oct; 836–871
96. Lambert T, Ploy MC, Denis F, Courvalin P. Characterization of the chromosomal *aac(6)-Iz* gene of *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999; 43: 2366–2371.

97. Shaw KJ, Rather PN, Hare RS, Miller GH. Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside-modifying enzymes. *Microbiol Rev.* 1993; 57:138–163.
98. Paulsen IT, Firth N, Skurray RA. Resistance to antimicrobial agents other than B-lactams., p. 175–212. In K. B. Krossley and G. L. Archer (ed.), *The staphylococci in human disease.* 1997. Churchill Livingstone, New York, N.Y.
99. Costa Y, Galimand M, Leclercq R, Duval J, Courvalin P. Characterization of the chromosomal *aac(6)-Ii* gene specific for *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1993; 37:1896–1903.
100. Chow JW, Kak V, You I, Kao SJ, Petrin J, Clewell DB, Lerner SA, Miller GH, Shaw KJ. Aminoglycoside resistance genes *aph(2'')-Ib* and *aac(6')-Im* detected together in strains of both *Escherichia coli* and *Enterococcus faecium*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2001; 45: 2691–2694.
101. Rather PN, Orosz E, Shaw KJ, Hare R, Miller G. Characterization and transcriptional regulation of the 2'-N-acetyltransferase gene from *Providencia stuartii*. *J Bacteriol.* 1993; 175: 6492–6498.
102. Oka A, Sugisaki H, Takanami M. Nucleotide sequence of the kanamycin resistance transposon Tn903. *J. Mol. Biol.* 147:217–226.
103. Hachler H, Santanam P, Kayser FH. Sequence and characterization of a novel chromosomal aminoglycoside phosphotransferase gene, *aph(3)-Iib*, in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1996; 40: 1254–1256.
104. Leclercq R, Dutka-Malen S, Brisson-Noel A, Molinas C, Derlot E, Arthur M, Duval J, Courvalin P. Resistance of enterococci to aminoglycosides and glycopeptides. *Clin Infect Dis.* 1992; 15:495–501.
105. Boehr DD, Daigle D, Wright GD. Domain–domain interactions in the aminoglycoside antibiotic resistance enzyme AAC (6'-APH(2'')). *Biochemistry.* 2004; 43: 9846–9855.
106. Partridge SR, Collis CM, Hall RM. Class 1 integron containing a new gene cassette, *aadA10*, associated with Tn1404 from R151. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002; 46:2400–2408.
107. Sugiyama M, Yuasa K, Bhuiyan MZ, Iwai Y, Masumi N, Ueda K. IS43 *mec*-mediated integration of a bleomycin-resistance gene into the chromosome of a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain isolated in Japan. *Appl Microbiol Biotechnol.* 1996; 46:61–66.
108. Ida T, Okamoto R, Shimauchi C, Okubo T, Kuga A, Inoue M. Identification of aminoglycoside-modifying enzymes by susceptibility testing: epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Japan. *J Clin Microbiol.* 2001; 39: 3115–3121.
109. Schmitz FJ, Fluit AC, Gondolf M, Beyrau R, Lindenlauf E, Verhoef J, Heinz HP, Jones ME. The prevalence of aminoglycoside resistance and corresponding resistance genes in clinical isolates of staphylococci from 19 European hospitals. *J Antimicrob Chemother.* 1999; 43: 253–259.

110. Shaw KJ, Munayyer H, Rather PN, Hare RS, Miller GH. 1993. Nucleotide sequence analysis and DNA hybridization studies of the *ant(4₋)-IIa* gene from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 37:708–714.
111. Ounissi H, Derlot E, Carlier C, Courvalin P. Gene homogeneity for aminoglycoside-modifying enzymes in gram-positive cocci. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1990; 34: 2164–2168.
112. Kobayashi N, Alam M, Nishimoto Y, Urasawa S, Uehara N, Watanabe N. Distribution of aminoglycoside resistance genes in recent clinical isolates of *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* and *Enterococcus avium*. *Epidemiol Infect.* 2001; 126: 197–204.
113. Murphy E. Nucleotide sequence of a spectinomycin adenylyltransferase AAD(9) determinant from *Staphylococcus aureus* and its relationship to AAD(3₋)(9). *Mol Gen Genet.* 1985; 200:33–39.

Sulfametoxazol-trimetoprim (STX-TMP)

114. Warren JW, Abrutyn E, Hebel JR, Johnson JR, Schaeffer AJ, Stamm WE. Guidelines for antimicrobial treatment of uncomplicated acute bacterial cystitis and acute pyelonephritis in women. *Infectious Diseases Society of America (IDSA). Clin Infect Dis.* 1999; 29: 745–58.
115. Zhanel GG, Hisanaga TL, Laing NM, DeCorby MR, Nichol KA, Weshnoweski B, Johnson J, Noreddin A, Low DE, Karlowsky JA, Hobana DJ. Antibiotic resistance in *Escherichia coli* outpatient urinary isolates: final results from the North American urinary Tract Infection Collaborative Alliance (NAUTICA). *International Journal of Antimicrobial Agents.* 2006; 27:468–475.
116. Hames L, Rice CE. Antimicrobial resistance of urinary tract isolates in acute uncomplicated cystitis among college-aged women: choosing a first-line therapy. *J Am Coll Health.* 2007; 56: 153–6.
117. Colgan R, Johnson JR, Kuskowski M, Gupta K. Risk factors for rimethoprim-sulfamethoxazole resistance in patients with acute uncomplicated cystitis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008; 52: 846–51.
118. De Francesco MA, Ravizzola G, Peroni L, Negrini R, Manca N. Urinary tract infections in Brescia, Italy: etiology of uropathogens and antimicrobial resistance of common uropathogens. *Med Sci Monit.* 2007; 13: BR136–44.
119. Bean DC, Krahe D, Wareham DW. Antimicrobial resistance in community and nosocomial *Escherichia coli* urinary tract isolates, London 2005–2006. *Ann. Clin Microbiol Antimicrob.* 2008; 7: 13
120. Ling TK, Xiong J, Yu Y, Lee CC, Ye H, Hawkey PM. Multicenter antimicrobial susceptibility survey of gram-negative bacteria isolated from patients with community-acquired infections in the People's Republic of China. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006; 50: 374–8.
121. Rock W, Colodner R, Chazan B, Elias M and Raz R. Ten Years Surveillance of Antimicrobial Susceptibility of Community-Acquired *Escherichia coli* and Other Uropathogens in Northern Israel (1995–2005). *IMAJ.* 2007; 9:803–805.

122. Andrade SS, Sader HS, Jones RN, Pereira AS, Pignatari ACC, Gales A. Increased resistance to first-line agents among bacterial pathogens isolated from urinary tract infections in Latin America: time for local guidelines? *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2006 nov; 101(7): 741-748.
123. Masters PA, O'Bryan TA, Zurlo J, Miller DQ, Joshi N. Trimethoprim-sulfamethoxazole Revisited. *Arch Intern Med*. 2003;163:402-410.
124. Darrell JH, Garrod LP, Waterworth PM. Trimethoprim: laboratory and clinical studies. *J Clin Pathol*. 1968; 21: 202-209.
125. Sköld, Ola. Resistance to trimethoprim and sulfonamides. *Vet. Res*. 2001; 32 261-273.
126. Huovinem P. Resistance to Trimethoprim-Sulfamethoxazol. *Clinical Infectious Diseases*. 2001; 32:1608-14.
127. Adrian PV, Klugman K P. Mutations in the dihydrofolate reductase gene of trimethoprim resistant isolates of *Streptococcus pneumoniae*, *Antimicrob. Agents Chemother*. 1997; 41 : 2406-2413.
128. Enne, VI, Livermore DM, Stephens P. *et al*. Persistence of sulphonamide resistance in *Escherichia coli* in the UK despite national prescribing restriction. *Lancet*. 2001; 357: 1325-8.
129. Kernn, M. B., Klemmensen T, Frimodt-Moller N. Susceptibility of Danish *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infections and bacteraemia, and distribution of sul genes conferring sulphonamide resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2002; 50: 513-16.
130. Perreten V, Boerlin P. A new sulfonamide resistance gene (*sul3*) in *Escherichia coli* is widespread in the pig population of Switzerland. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2003; 47: 1169-72.
131. Grape M, Sundström M, Kronvall G. Sulphonamide resistance gene *sul3* found in *Escherichia coli* isolates from human sources. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2003; 52: 1022-1024.
132. Flensburg J, Sköld O. Massive overproduction of dihydrofolate reductase as a response to the use of trimethoprim, *Eur J Biochem*. 1987;162: 473-476.
133. Sköld O, Widh A. A new dihydrofolate reductase with low trimethoprim sensitivity induced by an R-factor mediating high resistance to trimethoprim. *J Biol Chem*. 1974; 249: 4324-4325.
134. White PA, McIver CJ, Rawlinson WD. Integrons and gene cassettes in the enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001; 45: 2658-2661.
135. Grape M, Sundström L, Kronval G. Two New *dfp* Genes in Trimethoprim-Resistant Integron-Negative *Escherichia coli* Isolates *Antimicrob Agents Chemother*. 2007 may; 1863-1864.
136. Blahna MT, Zalewski CA, Reuer J, Kahlmeter G, Foxman B, Marrs CF. The role of horizontal gene transfer in the spread of trimethoprim-sulfamethoxazole resistance among uropathogenic *Escherichia coli* in Europe and Canada. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2006; 57: 666-672.

137. Brolund A, Sundqvist A, Kahlmeter G, Grape M. Molecular characterisation of Trimethoprim Resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* during a Two Year intervention on Trimethoprim Use. PLoS ONE. 2010 fev; 5(2): e9233.
138. Lee JC, Oh JY, Cho J. The prevalence of trimethoprim-resistance-conferring dihydrofolate reductase genes in urinary isolates of *Escherichia coli* in Korea. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2001; 47: 599–604.

Resistência à vancomicina

139. Tavares W. Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. Rev Soc Bras Med Trop. 2000, 33(3) 281-301.
140. Reynolds PE. Structure, biochemistry and mechanism of action of glycopeptides antibiotics. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1989; 943-950.
141. Depardieu F, Podglajen I, Leclercq R, Collatz E, Courvalin P. Modes and modulation of antibiotic resistance gene expression. Clin Microbiol Rev. 2007; 20(1): 79-114.
142. Courvalin P. Vancomycin resistance in gram-positive cocci. Clin Infect Dis. 2006; 42:25-34.
143. Lowy, FD. Antimicrobial Resistance: The Example of *Staphylococcus aureus*. J Clin Invest 2003, 111: 1265 – 1273.
144. Howden, BP; Davies JK, Johnson, PDR; Stinear, TP and Grayson, ML. Reduced Vancomycin Susceptibility in *Staphylococcus aureus*, Including Vancomycin-Intermediate and Heterogeneous Vancomycin-Intermediate Strains: Resistance Mechanisms, Laboratory Detection, and Clinical Implications. Clin Microbiol Rev. 2010; 23(1): 99-139.
145. Uttley AHC, Collins, CH, Naidoo J, George, RC. Vancomycin-Resistant Enterococci. Lancet 1988; i:57-8.
146. Leclercq R, Derlot E, Duval J, Courvalin P. Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. N Engl J Med 1988; 319: 157-62.
147. Kaplan, AH, Gilligan PH, Facklam RR. Recovery of resistant enterococci during vancomycin prophylaxis. J Clin Microbiol. 1988; 26:1216-8.
148. Dalla-Costa LM, Souza DC, Martins LTF, Zanella RC, Bockmann S, Sader HS, Souza HHM. Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*: first case in Brazil Braz J Infec Dis. 1998; 2(3) 160-3.
149. Dalla-Costa LM, Reynolds PE, Souza HAPHM, Souza DC, Palepou M-FI, Woodford N. Characterization of a Divergent *vanD*-Type Resistance Element from the First Glycopeptide-Resistant Strain of *Enterococcus faecium* Isolated in Bra in Brazil. Clin Microbiol Infect. 2004; 10:260-2.
150. Gales AC, Sader HS, Ribeiro J, Zoccoli C, Barth A, and Pignatari AC. Antimicrobial susceptibility of Gram-positive bacteria isolated in Brazilian hospitals participating in the SENTRY program 92005-2008). Braz J Infect Dis. 2009; 13(2):90-98.

151. Deshpande LM, Fritche TR, Moet, GJ, Biedenbach DJ and Jones RN. Antimicrobial resistance and molecular epidemiology of vancomycin-resistant enterococci from North America and Europe: a report from the SENTRY antimicrobial surveillance program. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2007; 58:163-70.
152. Biedenbach DJ, Moet GJ, Jones RN. Occurrence and antimicrobial resistance pattern comparisons among bloodstream infection isolates from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997–2002). *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2004; 50:59– 69.
153. Werner G, Coque TM, Hammerum AM, Hope R, Hryniewicz W, Johnson A, Klare I, Kristinsson KG, Leclercq R, Lester CH, Lillie M, Novais C, Olsson-Liljequist B, Peixe LV, Sadowy E, Simonsen GS, Top J, Vuopio-Varkila J, Willems RJ, Witte W, Woodford N. Emergence and spread of vancomycin resistance among enterococci in Europe. *Eurosurveillance.* 2008; 13(47): 1-11.
154. Kaye, D. Current use for old antibacterial agents: polymyxins, rifampin, and aminoglycosides. *Infect Dis Clin N Am* 2004; 18: 669–689.
155. Gales AC, Reis, AO and Jones, RN. Contemporary Assessment of Antimicrobial Susceptibility Testing Methods for Polymyxin B and Colistin: Review of Available Interpretative Criteria and Quality Control Guidelines. *J clin Microbiol* 2001; 39(1):183-190.

38. TESTE DE SUSCETIBILIDADE DE UROPATÓGENOS AOS ANTIMICROBIANOS

Libera Maria Dalla Costa
Andréa Lucena

O teste de suscetibilidade aos antimicrobianos (TSA), também chamado de antibiograma, consiste no cultivo do micro-organismo na presença de antimicrobianos e a verificação da presença ou ausência de crescimento bacteriano. O antibiograma é rotineiramente realizado *in vitro* pelo método de disco difusão. Kirby e Bauer, (1966)¹ padronizaram o método, permitindo o controle das inúmeras variáveis que afetam a qualidade dos testes realizados.

Os testes de sensibilidade aos antimicrobianos são indicados para os micro-organismos cuja espécie possa apresentar resultados variáveis de sensibilidade, ou para acompanhar o eventual desenvolvimento de resistência de bactérias que ainda não apresentam resistência, frente aos antimicrobianos utilizados no tratamento.

Os testes de suscetibilidade podem fornecer resultados quantitativos ou apenas qualitativos. Os testes qualitativos classificam o micro-organismo em categorias sensíveis (S), intermediários (I) ou resistentes (R). Por sua vez os testes quantitativos permitem determinar a concentração de antimicrobiano capaz de inibir o crescimento bacteriano ou mesmo diferenciar níveis de resistência intermediária².

O teste qualitativo utiliza discos impregnados com concentração fixa do antimicrobiano que são depositados sobre uma placa contendo meio sólido, previamente inoculada com uma concentração padrão do micro-organismo teste. A droga se difunde de forma concêntrica, até o ponto em que ocorre a ausência completa de crescimento formando um halo de inibição de crescimento em volta do disco. Cada antimicrobiano apresenta um halo de inibição específico e depende diretamente da sensibilidade da bactéria e da velocidade de difusão do antimicrobiano no meio. O halo de inibição é medido e comparado com tabelas de interpretação que classificam a bactéria em quatro categorias: sensível, intermediária, resistente e não sensível³.

O teste quantitativo utiliza concentrações crescentes da droga adicionadas a meios sólidos ou líquidos, previamente inoculados com uma concentração fixa do micro-organismo teste. A menor concentração da droga capaz de inibir completamente o crescimento bacteriano é chamada de Concentração Inibitória Mínima (CIM). O resultado é liberado em microgramas da droga por mL⁴.

Aparelhos automatizados também podem ser utilizados para a determinação do perfil de suscetibilidade bacteriana, porém, frequentemente há necessidade de realização de testes adicionais para a detecção de mecanismos de resistência aos antimicrobianos.

O método de disco-difusão em ágar (Kirby Bauer), por sua boa reprodutibilidade, fácil execução e baixo custo, é usado na maioria dos laboratórios de microbiologia para determinar o perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos frente a bactérias de crescimento rápido³.

O Brasil não tem normas próprias para a realização do TSA, por isso utiliza as normas descritas pelo *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI), órgão americano que normatiza procedimentos laboratoriais. Os procedimentos técnicos para a realização de TSA aqui descritos seguem as normas do CLSI. Esses documentos são periodicamente revisados e podem sofrer alterações que devem ser incorporadas pelos laboratórios de Microbiologia^{3,5}. É importante que o laboratório providencie o acesso atualizado ao documento original ou acesse o site da ANVISA: www.anvisa.gov.br/reblas/reblas_public_disco_difusao.pdf, que disponibiliza os documentos em Português⁶.

Teste do disco difusão³

Preparo das placas de ágar Mueller-Hinton

Para avaliação da sensibilidade de bactérias que crescem aerobicamente, o meio de cultura recomendado pelo CLSI é o ágar Müller-Hinton (MHA). O MHA é considerado o melhor meio de cultura para realização de provas de sensibilidade de bactérias não exigentes por que apresenta boa reprodutibilidade, baixos níveis de inibidores de sulfonamidas, trimetoprim e tetraciclina, e proporciona um crescimento satisfatório para a maioria dos patógenos.

1. O MHA é obtido comercialmente e deve ser preparado seguindo as instruções do fabricante.
2. Após a autoclavagem do meio deve-se aguardar até que atinja a temperatura de 45-50°C, para então distribuí-lo em placas de Petri em volume suficiente para atingir uma espessura aproximada de 4 mm. O volume de 60-70 mL de meio em placas de 150 mm de diâmetro e 25-30 mL em placas de 90 mm é suficiente para obter essa espessura. Caso seja necessário o meio pode ser suplementado com 5% de sangue de carneiro desfibrinado.
3. O pH deve ser conferido a cada lote, devendo estar entre 7,2-7,4. O pH do meio pode ser medido por eletrodo de superfície, ou deixando solidificar uma pequena quantidade de meio na ponta do eletrodo, ou ainda macerando uma pequena quantidade de MHA e mergulhando a ponta do eletrodo no meio.
4. Após o preparo das placas deve-se aguardar até que estas atinjam a temperatura ambiente, e incubar a 35,5°C uma amostra representativa de cada lote, armazenando o restante à temperatura de refrigeração (2-8°C), por até 7 dias. O armazenamento por períodos mais longos requer embalagem em sacos plásticos hermeticamente fechados e controle cuidadoso com cepas que apresentam padrão de sensibilidade conhecido, para certificar-se que não sofreram dessecação que possa prejudicar a qualidade

dos testes. Antes de usar as placas observar se o meio apresenta excesso de umidade, caso isto seja observado colocar as placas em uma estufa a 35°C ou em uma capela de fluxo laminar, com as tampas ligeiramente entreabertas, até que a umidade superficial evapore (10-30 minutos).

5. Meios com excesso de timina ou timidina podem reduzir ou anular o efeito inibitório das sulfonamidas e do trimetoprim, produzindo falsa resistência (halos menores e menos nítidos ou ausência de halo).
6. O teor excessivo de cátions divalentes, principalmente magnésio e cálcio, reduzirá os tamanhos dos halos de inibição, enquanto que o baixo teor produzirá halos de inibição excessivamente grandes, nos testes com aminoglicosídeos e tetraciclina contra *Pseudomonas aeruginosa*, como também afeta os resultados dos testes de daptomicina em geral. O excesso de íons de zinco pode reduzir os tamanhos dos halos de inibição dos carbapenêmicos.

Preparo do Padrão de Turvação para Padronização do Inóculo

A turvação do inóculo bacteriano é comparada à de uma suspensão de sulfato de bário (BaSO_4) com turbidez equivalente ao padrão 0,5 de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL). A escala McFarland pode ser adquirida comercialmente ou pode-se preparar o tubo 0,5 de McFarland da seguinte forma:

1. Preparar cloreto de bário (BaCl_2) a 0,048 mol/L (1,175% p/v de $\text{BaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$).
2. Preparar ácido sulfúrico (H_2SO_4) a 0,18 mol/L ou 0,36 N (1% v/v).
3. Adicionar 0,5 mL de BaCl_2 a 99,5 mL de H_2SO_4 , agitando continuamente.
4. Distribuir 5 mL da suspensão em tubo de vidro com tampa de rosquear e espessura semelhante aos utilizados para preparo do inóculo bacteriano para a realização do antibiograma.
5. Verificar a correta densidade ótica (DO) do padrão 0,5 da escala de McFarland, utilizando um espectrofotômetro em comprimento de onda de 625 nm: deve corresponder a uma absorbância de 0,08 a 0,10.
6. Armazenar os tubos em temperatura ambiente ao abrigo da luz.
7. Antes do uso, agitar vigorosamente o tubo padrão usando um agitador do tipo "Vortex" verificar a turvação. A DO do padrão deve ser conferida mensalmente e a solução deverá ser substituída se apresentar partículas grandes.

Preparo do Inóculo

O teste deve ser realizado a partir de colônias puras e isoladas em ágar não seletivo com crescimento recente (24 horas). Dois métodos podem ser empregados na preparação do inóculo: o método da suspensão direta e o método do crescimento em caldo.

No método da suspensão direta, as colônias bacterianas são diretamente suspensas no caldo de cultura ou solução salina e ajustadas a uma turvação equivalente ao tubo 0,5 da escala McFarland, enquanto no método do crescimento, a bactéria é

inoculada em caldo e a suspensão incubada em estufa (2-6 horas) até obter o crescimento desejado. Será descrito com detalhes o método da suspensão direta por ser o mais simples e mais utilizado.

1. Tomar 3 a 5 colônias e transferi-las para um tubo contendo 5 a 10 ml de solução salina a 0,9%, caldo de Mueller-Hinton (MHB), ou caldo tríptico de soja (TSB). Embora o MHB seja recomendado pelo CLSI, outros meios podem ser utilizados como medida econômica sem prejuízo na qualidade do teste.
2. Agitar o tubo em agitador tipo “Vortex”;
3. Calibrar o nefelômetro com o padrão 0,5 de McFarland. Caso seja empregado o nefelômetro digital, um tubo contendo salina ou o mesmo meio de cultura em que foi preparada a suspensão bacteriana deve ser utilizado e colocado no local direcionado ao “blank tube”. A absorbância deve estar entre 0,08 e 0,10;
4. Fazer a leitura do tubo contendo a suspensão bacteriana, que deve apresentar absorbância semelhante à leitura do tubo padrão;
5. Se for necessário diminuir a turvação, ajustar a absorbância adicionando caldo de cultura ou salina, conforme a técnica escolhida. Se for necessário aumentar a turvação, incubar a cultura por período mais longo ou aumentar a concentração da suspensão dissolvendo mais colônias na salina;
6. A suspensão bacteriana obtida por qualquer um dos métodos (suspensão direta ou crescimento) contém 1 a 4×10^8 Unidades Formadoras de Colônia/mL (UFC/mL), equivalente a 0,5 da escala de McFarland, e poderá ser utilizada para a realização do teste de Disco-Difusão (Kirby-Bauer).

Semeadura das placas, aplicação dos discos e leitura dos halos de inibição

1. Um *swab* de algodão estéril é mergulhado no tubo contendo a suspensão bacteriana ajustada a 0,5 da escala de McFarland. O excesso da suspensão deve ser removido comprimindo o *swab* contra a parede do tubo;
2. Com o próprio *swab*, a suspensão bacteriana é inoculada sobre a placa de Mueller-Hinton, girando a direção da semeadura 60 graus em relação à anterior, por três vezes; por último, passar o *swab* ao redor da borda interna da placa, de modo a cobrir toda a superfície do ágar e obter um crescimento bacteriano confluyente.
3. Após a absorção da suspensão bacteriana (tempo máximo de 15 minutos), distribuir os discos de antimicrobianos sobre a placa de Mueller-Hinton. Deve-se colocar no máximo 12 discos de antimicrobianos em placas de 150 mm e até 5 discos em placas de 90 mm. Cada laboratório de Microbiologia, juntamente com o Serviço de Infectologia, Serviço de Controle de Infecção Hospitalar e Farmácia Hospitalar deve decidir sobre a seleção de antimicrobianos a ser testada. A Tabela 1 traz uma sugestão dos discos a serem testados para bactérias isoladas de urina, com base na tabela do CLSI, 2010⁵.

4. As placas devem ser invertidas e incubadas pelo período recomendado para cada bactéria, a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, para então proceder a leitura do antibiograma. O tempo de incubação adequado para bactérias da família *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp. e *P. aeruginosa* é de 16 a 18 horas e para *Acinetobacter* spp., complexo *B. cepacia* e *S. maltophilia* deve ser de 20 a 24 horas. As placas devem ser incubadas por 24 horas completas para realizar a leitura da oxacilina e da vancomicina para *Staphylococcus* spp. e da vancomicina para *Enterococcus* spp.
5. Os diâmetros dos halos de inibição de crescimento ao redor de cada disco são medidos em milímetros com o auxílio de uma régua milimetrada apropriada (halômetro) ou paquímetro, que deve ser encostado na parte de trás da placa de petri. A medida do halo de inibição deve ser feita com luz refletida, a alguns centímetros de distância de uma superfície preta opaca para os seguintes micro-organismos: Enterobactérias, *P.aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *Enterococcus* spp. e *S. aureus*. As seguintes exceções devem ser observadas: halos de oxacilina, vancomicina e linezolid (*S. aureus*) e vancomicina (*Enterococcus* spp) devem ser lidos com luz transmitida. É importante que os halos sejam medidos com a placa aberta para que colônias que cresceram dentro do halo de inibição possam ser visualizadas. Deve-se medir o halo de inibição considerando o crescimento visível a olho nu. O véu de crescimento (*swarming*) de *Proteus* deve ser ignorado, lendo-se a zona clara de inibição do crescimento. Para sulfametoxazol-trimetoprim deve-se desconsiderar um ligeiro crescimento (20% ou menos) e medir a margem mais óbvia para determinar o diâmetro da zona de inibição. A leitura deve ser realizada observando-se o período de incubação recomendado para cada micro-organismo. O diâmetro dos halos de inibição dos testes de disco-difusão correlaciona-se inversamente com a CIM.

Há um grande número de variáveis que podem afetar a qualidade dos resultados obtidos no antibiograma pelo método de difusão de disco. Por isso recomenda-se a realização de rigoroso controle de qualidade durante a execução dessa técnica. A qualidade do antibiograma depende da qualidade dos reagentes utilizados e do rigor na execução da técnica. Dentre as variáveis que mais afetam o antibiograma pode-se destacar: o preparo dos meios de cultura; o controle do pH e umidade do meio; o tempo, a temperatura e a atmosfera de incubação; a concentração do inóculo; o armazenamento dos discos de sensibilidade.

O armazenamento dos discos deve se feito em congelador (não do tipo *frost free*) à temperatura de -14°C ou inferior. O armazenamento de uma pequena quantidade de estoque de uso pode ser feito em refrigerador à temperatura de 8°C pelo período máximo de uma semana. Alguns agentes como os β -lactâmicos com ou sem inibidores mantêm maior estabilidade se forem armazenados em congelador até o momento do uso. Os discos devem ser retirados da geladeira ou do freezer uma a duas horas antes da sua aplicação sobre a placa, para atingir a temperatura ambiente. (CLSI, documento M2-A8, 2009).

Devem ser utilizadas cepas de referência com padrões fenotípicos de sensibilidade conhecidos, para controlar a precisão e a acurácia dos testes de susceptibilidade aos antimicrobianos. As cepas padrão recomendadas pelo CLSI são procedentes da *American Type Culture Collection* (ATCC). Para os laboratórios que utilizam as normas de realização do antibiograma segundo o CLSI as cepas utilizadas são as seguintes: *E. coli* ATCC 25922 e *E. coli* ATCC 35218 para controle do antibiograma de enterobactérias; *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* ATCC 35218 e *P. aeruginosa* ATCC 27853 para controle do antibiograma de *P. aeruginosa* e *Acinetobacter* spp.; *E. coli* ATCC 25922 e *P. aeruginosa* ATCC 27853 para controle do antibiograma do complexo *Burkholderia cepacia* e *Stenotrophomonas maltophilia*; *S. aureus* ATCC 25923 e *E. coli* ATCC 35218 para controle de qualidade do antibiograma de *S. aureus*; *S. aureus* ATCC 25923 para o controle do antibiograma de *Enterococcus* spp.; *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 para o controle de qualidade do antibiograma de *S. pneumoniae*, estreptococos beta-hemolíticos e estreptococos do grupo *viridans*.

Interpretação dos Resultados

A categoria sensível (S) significa que uma infecção por essa cepa pode ser tratada adequadamente com a dose recomendada do antimicrobiano usado para o sítio da infecção. A categoria intermediária (I) inclui isolados com CIMs do agente antimicrobiano que se aproximam de níveis sanguíneos e tissulares atingíveis e para os quais as taxas de resposta podem ser inferiores àquelas para isolados sensíveis. A categoria intermediária indica eficácia clínica nos sítios corpóreos em que há concentração fisiológica das drogas (por exemplo, quinolonas e β -lactâmicos na urina) ou quando é possível usar uma dose da droga maior que a normal (por exemplo, β -lactâmicos). Essa categoria também inclui uma zona-tampão, o que deverá impedir que pequenos fatores técnicos não sujeitos a controle causem discrepâncias importantes na interpretação, especialmente no caso de drogas com margens estreitas de farmacotoxicidade. A categoria de cepas resistentes (R) não é inibida pelas concentrações sistêmicas dos agentes antimicrobianos geralmente atingíveis nos regimes terapêuticos normais e/ou se inserem na faixa de maior probabilidade de ocorrência de mecanismos específicos de resistência microbiana (por exemplo, β -lactamases), além da eficácia clínica não ter sido confiável nos estudos terapêuticos. A categoria de cepas não sensíveis (NS) inclui as cepas para as quais apenas foi designado o critério interpretativo sensível devido a ausência ou rara ocorrência de cepas resistentes.

Para a categorização dos resultados das amostras bacterianas em sensíveis, resistentes ou intermediárias a determinado antimicrobiano, os halos de inibição obtidos são comparados àqueles preconizados nas tabelas interpretativas encontradas na versão original em inglês do último documento do CLSI, 2010⁵ ou no seguinte endereço: www.anvisa.gov.br/reblas/reblas_public_disco_difusao.pdf⁶.

As bactérias podem apresentar resistência intrínseca aos antimicrobianos e recomenda-se verificar essa característica para evitar a liberação de resultados errôneos. Antes da liberação dos resultados deve-se verificar as resistências intrínsecas, contidas na Tabela 2. Além disso, deve-se observar a necessidade de testes adicionais para a confirmação dos resultados encontrados no método de disco-difusão.

Determinação da concentração Inibitória mínima⁴

Os métodos abaixo descritos são usados para determinar a concentração inibitória mínima (CIM), que usualmente é reportada em microgramas por mililitro ($\mu\text{g/ml}$), de um agente antimicrobiano necessária para inibir um micro-organismo. Os agentes antimicrobianos são usualmente testados em diluições seriadas múltiplas de dois, e a menor concentração que inibe o crescimento visível de um micro-organismo é considerada a CIM.

Método: Diluição Em Ágar (Ágar-Diluição)

Concentrações Testadas

As concentrações a serem testadas devem ser baseadas nas recomendações do CLSI que incluem pelo menos duas diluições abaixo e duas diluições acima dos pontos de corte das categorias resistente e sensível, lembrando que devem estar incluídos os pontos de corte das cepas controle.

Preparo da Solução Estoque

O cálculo da concentração da solução estoque deve ser feito a partir da maior concentração a ser testada, levando-se em consideração o tamanho da placa a ser utilizada. A solução de antimicrobiano será diluída no volume total de MHA distribuído em cada placa, 50 vezes no caso de utilizar placas grandes.

Ex: Placas 90 mm – utilizarão 20 mL de MHA = multiplicar a maior [] por 20
Placas 150 mm – Utilizarão 50 mL de MHA = multiplicar a maior [] por 50

1. A validade da solução de antimicrobianos é curta por isso deve-se preparar o menor volume possível de solução estoque (5 mL, 10 mL).
2. Observar a solubilidade do sal no documento M7-A8 do CLSI (CLSI, 2009), para escolher o diluente apropriado.
3. Calcular o peso do antimicrobiano observando sua potência e, caso se utilize medicamento deve-se também considerar a sua pureza.

$$\text{Peso (mg)} = \frac{[\] \text{ SE } (\mu\text{g/mL}) \cdot V (\text{mL})}{\text{Potência } (\mu\text{g/mg})}$$

4. A solução estoque geralmente não contamina devido à alta concentração do antimicrobiano. A solução deve ser esterilizada utilizando filtro de 0,22 μm de diâmetro e volume apropriado deve ser distribuído em tubos de vidro, polipropileno ou poliestireno esterilizados e estocados preferencialmente a -60°C ou menos por 6 meses. As soluções de antimicrobianos nunca devem ser congeladas a temperaturas superiores a -20°C ou em freezer do tipo *frost free*. Os tubos devem ser descongelados

conforme a necessidade e utilizados no mesmo dia. A solução não deve ser congelada novamente e o volume não utilizado deve ser desprezado.

5. Na primeira placa quantidade suficiente da solução estoque será adicionada ao ágar Mueller-Hinton para que a primeira diluição contenha a maior concentração a ser testada. A seguir, a solução estoque sofrerá sucessivas diluições em água destilada para obter concentrações 20 ou 50 vezes maiores que as concentrações desejadas (dependendo do tamanho da placa utilizada). Quantidade necessária de cada diluição será adicionada ao meio para se obter as concentrações a serem testadas em cada placa.

Preparo das Placas

1. Preparar o ágar Mueller-Hinton conforme instruções do fabricante.
2. Distribuir em alíquotas com o volume adequado, usar frascos bem vedados e que permitam o fácil manuseio. Para placas de 150 mm as alíquotas devem ser de 49 mL e para placas de 90 mm as alíquotas devem ser de 19 mm.
3. Resfriar em banho-maria até 48-50°C. Adicionar o antimicrobiano na concentração adequada, homogeneizar bem, distribuir em placas de 150 mm ou 90 mm.

Preparo do Inóculo

1. A concentração bacteriana equivalente à turvação do tubo 0,5 da escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL) é preparada de maneira semelhante aos testes de disco-difusão.
2. A suspensão bacteriana na concentração 0,5 da escala MacFarland deve ser diluída 1:10 em solução salina estéril, para obter a concentração final de 10^7 UFC/mL.
3. Para obter a concentração final de 10^4 UFC por amostra inoculada, utiliza-se uma micropipeta automática ou multinoculador com pinos metálicos que depositam 1-2 mL sobre a superfície do ágar, obtendo-se cerca 10^4 UFC por ponto inoculado.

Inoculação, Incubação e Leitura das Placas

- 1 Distribuir alíquotas de 100 mL das amostras diluídas em placas de ELISA de 96 poços.
- 2 Inocular as placas de ágar utilizando um multi-inoculador com 96 pinos. As amostras devem inoculadas primeiro em placa controle sem antibiótico e, na sequência, nas demais placas com concentrações crescentes do antimicrobiano. Por último, inocular também outra placa controle sem antimicrobiano, para avaliar se ocorreu contaminação durante o procedimento e o carregamento significativo de antimicrobianos durante o processo.

- 3 Aguardar a secagem do inóculo (tempo máximo de 30 minutos). Incubar a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ observando o tempo de incubação apropriado para cada micro-organismo.
- 4 O tempo de incubação para bactérias da família *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp. e *P. aeruginosa* é de 16-20 horas e para *Acinetobacter* spp., complexo *B. cepacia* e *S. maltophilia* deve ser de 20 a 24 horas. As placas devem ser incubadas por 24 horas completas para realizar a leitura da oxacilina e da vancomicina para *Staphylococcus* spp. e da vancomicina para *Enterococcus* spp.
- 5 Proceder à leitura da CIM, que é a menor concentração que inibe completamente o crescimento bacteriano. Desconsiderar a película formada pelo depósito bacteriano.

Método: E-Test^{®7}

O método de E-test[®] baseia-se na combinação dos princípios dos testes de diluição em caldo e difusão em ágar. Da mesma forma que outros métodos que avaliam a CIM, o E-test[®] quantifica a suscetibilidade aos antimicrobianos.

A determinação da CIM com tiras de E-test[®] (AB Biodisk, Slona Sweden) consiste na utilização de fitas plásticas, impregnadas com concentrações crescentes do antimicrobiano, que são depositadas sobre uma placa contendo meio de cultivo sólido, previamente inoculada com uma concentração padrão do micro-organismo teste. Quando a tira é aplicada sobre a superfície da placa de ágar inoculada ocorre a imediata liberação do antimicrobiano da fita para o ágar, formando um gradiente contínuo e estável do antimicrobiano ao redor da fita. A inibição ocorre na forma elíptica e a leitura da CIM é realizada no primeiro ponto de intersecção da fita em que o crescimento bacteriano foi completamente inibido.

Métodos automatizados²

O uso de instrumentos automatizados e semiautomatizados para a realização do antibiograma vem apresentando crescente interesse. Os equipamentos variam em complexidade desde a simples leitura ótica das zonas de inibição (ou ponto final de crescimento) até sistemas completamente automatizados que possibilitam o interfacimento com o sistema geral de informação do laboratório e/ou hospital.

Os métodos automatizados avaliam apenas duas a quatro diluições do antimicrobiano e, dessa maneira, fazem apenas um cálculo aproximado da CIM. Na maioria das vezes o aparelho relata se a bactéria apresentou a CIM maior ou igual ao ponto de corte de resistência, menor ou igual ao ponto de corte de sensibilidade ou igual ao ponto de corte da categoria intermediária de resistência. Dessa maneira os métodos automatizados não substituem a determinação da CIM fornecida pelos métodos manuais, que incluem várias diluições acima e abaixo dos pontos de corte de resistente ou sensível, além de várias diluições intermediárias.

Os painéis de antimicrobianos incluídos nos sistemas automatizados são amplos e tendem a cobrir as necessidades da maioria dos laboratórios, porém oferecem pouca flexibilidade de escolha. A exclusão de antimicrobianos testados menos frequentes, a adição de novos antibióticos ou a remoção dos indesejados são demoradas.

A principal vantagem dos sistemas automatizados é a rapidez, permitindo a rápida adequação da terapêutica antimicrobiana. O benefício clínico para o paciente, proporcionado pela rapidez do sistema, só será alcançado, porém, se os resultados forem prontamente comunicados ao médico assistente. Os sistemas automatizados são menos suscetíveis a erros do operador e reduzem o trabalho técnico quando comparados aos sistemas manuais, embora o custo dos insumos somados ao preço da aquisição, empréstimo ou *leasing* do equipamento seja maior. Os sistemas automatizados, de maneira geral, possuem *softwares* de gerenciamento que permitem o monitoramento da resistência através do manuseio eletrônico dos dados.

De maneira geral, para as enterobactérias o desempenho dos sistemas automatizados correlaciona-se razoavelmente com os métodos de referência, mas têm sido reportados problemas, especialmente com resistência mediada por β -lactamases. A presença concomitante de múltiplas enzimas em um isolado ocorre cada vez mais frequentemente dificultando a sua detecção pelos sistemas automatizados. Uma grande limitação dos sistemas é a diferenciação entre resistência relacionada à produção de β -lactamases de espectro estendido (ESBL) da resistência produzida por enzimas do tipo AmpC e da produzida pela enzima K1 de *K. oxytoca* ou da hiperprodução de betalactamases do tipo SHV-1. Outro fator complicador para a detecção correta da resistência pelos sistemas automatizados é o relato de carbapenemas em enterobactérias. Essas enzimas, embora pouco frequentes, já foram relatadas no Brasil e tendem a aumentar sua incidência por serem codificadas por plasmídios.

Tabela 1. Lista de Antimicrobianos Sugeridos para Bactérias Isoladas da Urina

Enterobactérias	<i>P. aeruginosa</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Enterococcus</i> spp.
Ac. Nalidíxico ¹	Amicacina	Amicacina	Cefalotina ⁹	Ampicilina
Cefalotina	Aztreonam	Amp./Sulbactam	Cefoxitina ¹⁰	Ciprofloxacino
Amox./Clavulanato ²	Ceftazidima	Ceftazidima	Ciprofloxacino ¹¹	Norfloxacino
Ceftriaxona ^{3,5}	Cefepime	Cefepime	Gentamicina	Nitrofurantoina
Cefepime ⁴	Ciprofloxacino	Ciprofloxacino	Nitrofurantoina ¹¹	Vancomicina
Ciprofloxacino ¹	Gentamicina	Gentamicina	Norfloxacino ¹¹	
Ertapenem ⁶	Imipenem	Imipenem	Sulfazotrim ¹¹	
Gentamicina ⁶	Meropenem	Meropenem	Vancomicina ¹²	
Meropenem ⁷	Pip./Tazobactam	Sulfazotrim	Novobiocina ¹³	
Nitrofurantoina		Polimixina ⁸		
Norfloxacino ¹				
Sulfazotrim				

Nota: A lista de antimicrobianos a serem testados, demais testes e observações são sugestões que devem ser avaliadas de acordo com as necessidades locais.

Legenda:

1. Testar apenas para prever resistência a fluorquinolonas (ciprofloxacino) em *E. coli* e *Salmonella* spp. e não liberar o resultado do teste. Se o resultado do ciprofloxacino for igual ao do ácido nalidíxico, liberar sem nenhuma observação. Se o ácido nalidíxico for resistente e o ciprofloxacino for sensível, o resultado pode incluir a seguinte observação: A resistência ao ácido nalidíxico pode indicar falha terapêutica com o uso de fluorquinolonas.
2. Testar apenas para auxiliar na pesquisa de ESBL (zona fantasma) e não liberar.
3. Pesquisar ESBL em todas as enterobactérias que apresentam resistência à ceftriaxona e/ou cefepime. Todas as cefalosporinas de terceira geração devem ser liberadas como resistentes para todas as amostras que apresentarem fenótipo positivo para ESBL.
4. O resultado de cefepime não precisa ser editado.
Se o resultado do cefepime for resistente deve ser liberado, se o resultado for intermediário em disco determinar a CIM (E-test ou por diluição em caldo ou ágar). Enquanto não forem publicados estudos conclusivos sobre a eficácia clínica do uso de cefepime, no tratamento de infecções por bactérias produtoras de ESBL, o laboratório pode optar por liberar o resultado acrescido de uma observação alertando que a eficácia clínica do cefepime no tratamento de infecções por bactérias produtoras de ESBL é duvidosa.
5. O resultado das cefalosporinas de terceira (ceftriaxona) e quarta (cefepime) geração para as bactérias do grupo CESP (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus vulgaris*, *Providencia* e *Morganella*) pode ser liberado conforme obtido no laboratório (S, I ou R), com a anotação IB (indutor de betalactamase), acrescido de uma observação alertando que o tratamento com cefalosporinas de terceira geração podem levar a falha terapêutica.
6. Sensibilidade a gentamicina e resistência a ampicilina é um fenótipo incomum. Neste caso a gentamicina não tem ação *in vivo*, portanto deve ser editada para resistente.
7. Todos os resultados intermediários ou resistentes aos carbapenêmicos devem ser confirmados por E-test ou por diluição em caldo ou ágar, para determinar a CIM para os carbapenêmicos e realizar a pesquisa de carbapenemases (Teste de Hodge modificado).
Se o teste de Hodge for negativo, liberar CIM dos carbapenêmicos. Caso o teste de Hodge for positivo, além de liberar a CIM dos carbapenêmicos deve-se acrescentar a seguinte observação: "Micro-organismo produtor de carbapenemase. A eficácia clínica dos carbapenêmicos no tratamento de infecções por enterobactérias produtoras de carbapenemase é duvidosa. Comunicar a Infectologia e/ou o Serviço de Controle de Infecção Hospitalar.
8. Só liberar em casos de resistência a carbapenêmicos.
9. Isolados resistentes a oxacilina devem ser liberados como Cefazolina R, pois são resistentes a todos os β -lactâmicos, incluindo aqueles com inibidores de β -lactamases.
10. Teste da suscetibilidade à ceftioxima é o método de escolha para a detecção de resistência mediada pelo gene *mecA*, entretanto a resistência a oxacilina por outros mecanismos deve ser avaliada pelo teste de triagem em placa e incluir o teste de β -lactamase.
11. Para *S. saprophyticus* em amostras de urina liberar apenas estes antimicrobianos.
12. Só liberar para amostras resistentes aos demais antimicrobianos.
13. Testar apenas para auxiliar na identificação de *S. saprophyticus*.

Tabela 2. Resistência Intrínseca Apresentada por Algumas Espécies Bacterianas

Espécies	Antimicrobianos
Todas as Enterobactérias	Penicilinas, glicopeptídeos (vancomicina e teicoplanina), macrolídeos, clindamicina e linezolida
Cedecea spp.	Polimixinas, Ampicilinas, Cefalotina
Citrobacter freundii	Ampicilina, Amoxicilina, Amoxicilina/Clavulanato, cefalosporinas de 1ª geração, Cefoxitina
Citrobacter diversus (koseri)	Ampicilina, Amoxicilina, Carbenicilina, Ticarcilina
Edwardsiella tarda	Polimixinas
Enterobacter spp.	Ampicilina, Amoxicilina, Amoxicilina/Clavulanato, cefalosporinas de 1ª geração, Cefoxitina
Escherichia hermannii	Ampicilina, Carbenicilina, Piperacilina, Ticarcilina
Hafnia alvei	Ampicilina, Amoxicilina, Amoxicilina/Clavulanato, cefalosporinas de 1ª geração, Cefoxitina
Klebsiella spp.	Ampicilina, Amoxicilina, Carbenicilina, Piperacilina, Ticarcilina
Proteus mirabilis	Polimixinas, Nitrofurantoína, Tetraciclina, Tigeciclina
Proteus vulgaris e Proteus penneri	Ampicilina, Amoxicilina, Cefalosporina de 1ª geração, Cefuroxime, Nitrofurantoína, Polimixinas, Tetraciclina, Tigeciclina
Morganella morganii	Ampicilina, Amoxicilina, Amoxicilina/Clavulanato, cefalosporinas de 1ª geração, Cefuroxime, Nitrofurantoína, Polimixinas, Tetraciclina, Tigeciclina
Providencia spp.	Ampicilina, Amoxicilina, Amoxicilina/Clavulanato, cefalosporinas de 1ª geração, Cefuroxime, Gentamicina, Polimixinas, Nitrofurantoína
Serratia marcescens	Amicacina, Nitrofurantoína
Serratia spp.	Ampiciliana, Amoxicilina, Amoxicilina/Clavulonato, cefalosporinas de 1ª geração, Cefuroxime, Polimixinas

continua

continuação

Espécies	Antimicrobianos
Todos os bacilos gram-negativos não fermentadores	Cefoxitina, glicopeptídeos (vancomicina e teicoplanina), macrolídeos, lincosaminas, daptomicina, linezolida
<i>A. baumannii</i>	Ampicilina ¹ , amoxicilina ¹ , amoxicilina/clavulanato, cefalosporinas de 1 ^a , 2 ^a e 3 ^a geração, ertapenem, trimetoprim, fosfomicina
<i>P. aeruginosa</i>	Ampicilina, amoxicilina, amoxicilina/clavulanato, cefalosporinas de 1 ^a e 2 ^a geração, cefotaxima, ceftriaxona, ertapenem, cloranfenicol, kanamicina, ácido nalidíxico, tetraciclina, tigeciclina, trimetoprim ²
Complexo <i>Burkholderia cepacia</i>	Ampicilina, amoxicilina, ticarcilina, ticarcilina/clavulanato, cefalosporinas de 1 ^a geração, ertapenem, imipenem, ciprofloxacino, cloranfenicol, trimetoprim, fosfomicina, polimixinas, aminoglicosídeos
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ³	Todos os betalactâmicos exceto ticarcilina/clavulanato, aminoglicosídeos, trimetoprim ⁴
Todos os gram-positivos	Aztreonam, polimixinas e ácido nalidíxico
<i>Streptococcus</i> spp	Aminoglicosídeos (exceto como sinergistas) ⁵ .
<i>S. aureus</i> resistente à metilicina – MRSA	Todos os betalactâmicos
<i>S. saprophyticus</i>	Ceftazidima, fosfomicina e novobiocina
Enterococos ⁵	Penicilina G, carbenicilina, ticarcilina, todas as cefalosporinas, aminoglicosídeos (exceto como sinergistas) ⁶

Fonte: Adaptado de Livermore, 2000⁸

Nota:

¹*A. baumannii* pode ser sensível a ampicilina-sulbactam devido à atividade do sulbactam contra esta espécie.

²*P. aeruginosa* é moderadamente sensível às sulfonamidas e pode parecer sensível *in vitro* ao sulfametoxazol-trimetoprim, mas deve ser considerado resistente.

³*S. maltophilia* pode parecer sensível *in vitro* a ceftazidima, mas deve ser considerada resistente).

⁴*S. maltophilia* é resistente ao trimetoprim, mas é sensível a sulfametoxazol-trimetoprim.

⁵Enterococos são sensíveis *in vitro* a sulfametoxazol-trimetoprim, embora sejam resistentes a sulfonamidas não associadas. Recomenda-se evitar o uso de sulfametoxazol-trimetoprim no tratamento contra enterococos.

⁶Resistência a baixos níveis, mas podem ser usados associados com penicilinas como agentes no tratamento de infecções por estreptococos e enterococos.

Testes suplementares para detecção fenotípica de mecanismos de resistência aos antimicrobianos

Detecção de ESBL

Por vários anos, o CLSI tem recomendado a realização de testes adicionais para detecção de ESBL em *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* e *P. mirabilis*. Segundo a recomendação as amostras com resultados positivos deveriam ser reportadas como resistentes às cefalosporinas, independentemente dos resultados encontrados nos testes de susceptibilidade. O trabalho adicional necessário para realizar esses testes e o aumento da prevalência de ESBL em outras espécies de enterobactérias, não *Klebsiella* e não *Escherichia coli*, para as quais a detecção de ESBL apresenta limitações de sensibilidade e especificidade, levaram especialistas a encontrar uma alternativa para prevenir o mau uso de cefalosporinas. Além disso, estudos clínicos têm demonstrado que o sucesso terapêutico com cefalosporinas está mais relacionado com a concentração inibitória mínima (CIM) do que com a presença desses mecanismos de resistência⁹. De acordo com os estudos, os testes de produção de ESBL não seriam mais necessários se os pontos de corte fossem reduzidos, exceto para estudos epidemiológicos ou com a finalidade de controle de infecção hospitalar¹⁰.

O EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) foi o primeiro comitê a reduzir a CIM de sensibilidade para as cefalosporinas para ≤ 1 $\mu\text{g/mL}$ e recomendou a divulgação dos resultados encontrados, independentemente da produção de ESBL¹¹. Em 2010 o CLSI aprovou novos pontos de corte para ceftriaxona (≤ 1 $\mu\text{g/mL}$), cefotaxima (≤ 1 $\mu\text{g/mL}$); ceftazidima (≤ 4 $\mu\text{g/mL}$) e aztreonam (≤ 4 mg/L); o ponto de corte para cefepime não foi alterado^{5,12}. A Tabela 3 apresenta os pontos de corte para as cefalosporinas e aztreonam utilizados até o fim de 2009 e os novos pontos de corte aplicados a partir de janeiro de 2010^{5,13}.

Tabela 3. Pontos de Corte para Cefalosporinas de Amplo Espectro e aztreonam

ATM	M100-S19 (2009)						M100-S20 (2010)					
	CIM ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)			Halo (mm)			CIM ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)			Halo (mm)		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R
ATZ	≤ 8	16	≥ 32	≥ 22	16-21	≤ 15	≤ 4	8	≥ 16	≥ 21	18-20	≤ 17
CAZ	≤ 8	16	≥ 32	≥ 18	15-17	≤ 14	≤ 4	8	≥ 16	≥ 21	18-20	≤ 17
CRO	≤ 8	16-32	≥ 64	≥ 21	14-20	≤ 13	≤ 1	2	≥ 4	≥ 23	20-22	≤ 19
CTX	≤ 8	16-32	≥ 64	≥ 23	15-22	≤ 14	≤ 1	2	≥ 4	≥ 26	23-25	≤ 22
CPM	≤ 8	16	≥ 32	≥ 18	15-17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	≥ 18	15-17	≤ 14

Fonte: CLSI 2009, documento M100-S19¹³; CLSI 2010, documento M100-S20⁵

Legenda: ATM: Antimicrobiano; ATZ: Aztreonam; CAZ: Ceftazidima;
CRO: Ceftriaxona; CTX: Cefotaxima; CPM: Cefepime

O laboratório pode realizar os testes adicionais de detecção de ESBL para fins epidemiológicos e prevenir a sua disseminação. Os métodos recomendados pelo CLSI para triagem e confirmação da detecção de ESBL em *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *E. coli* e *P. mirabilis* serão descritos a seguir⁵. Todos os testes utilizam uma suspensão bacteriana com turvação na escala 0,5 da escala MacFarland.

Teste de Triagem

Os testes de triagem baseiam-se no padrão de sensibilidade das cepas às cefalosporinas de terceira geração, em especial ceftazidima e cefotaxima. Já os testes propostos para confirmação baseiam-se na comparação da sensibilidade da amostra em presença do β -lactâmico e do mesmo associado aos inibidores de β -lactamase. Um aumento da sensibilidade verificado quando o inibidor de β -lactamase está associado ao β -lactâmico indica a produção de ESBL.

A diminuição de suscetibilidade a alguns antimicrobianos β -lactâmicos é um indicio da produção de ESBL. Segundo o CLSI (2010), amostras que apresentarem aumento da CIM ou redução de halo de inibição para as cefalosporinas abaixo dos limites apresentados na Tabela 4 devem ser considerados possíveis produtoras de ESBL. Em todos esses casos, porém, o CLSI sugere a realização de um teste confirmatório⁵.

Tabela 4. Halos indicativos da presença de ESBL

Antimicrobianos	K. pneumoniae, K. oxytoca e E. coli		P. mirabilis	
	Halo (mm)	CIM ($\mu\text{g/mL}$)	Halo (mm)	CIM ($\mu\text{g/mL}$)
Aztreonam	≤ 27	≥ 2	NA	NA
Ceftazidima	≤ 22	≥ 2	≤ 22	≥ 2
Ceftriaxona	≤ 25	≥ 2	NA	NA
Cefotaxima	≤ 27	≥ 2	≤ 27	≥ 2
Cefpodoxima	≤ 17	≥ 8	≤ 22	≥ 2

Fonte: CLSI 2010 – documento M100-S20⁵

Testes Confirmatórios

Dentre os testes confirmatórios os mais aceitos são os testes de duplo disco difusão, também denominado teste do disco-aproximação (DD ou DA), e o teste de adição de ácido clavulânico, ou disco combinado (DC). O teste de DD foi idealizado por Jalier *et al.* em 1988¹⁴ e consiste na colocação de discos de cefalosporinas de amplo espectro como ceftazidima, cefuroxima, cefotaxima e aztreonam, distante 30 mm (centro a centro) de um disco que contenha um inibidor de β -lactamase, de preferência ácido clavulânico. A produção de ESBL é indicada por um aumento ou deformação nos halos de inibição ao redor dos discos dos β -lactâmicos¹⁵.

No teste do DC compara-se o halo dos discos de 30 µg dos antimicrobianos (ceftazidima, cefotaxima, ceftriaxona ou aztreonam) *versus* o halo dos discos dos mesmos antibióticos com ácido clavulânico. O aumento no halo de inibição ≥ 5 mm na presença do inibidor, em comparação ao halo das cefalosporinas, confirma a presença de ESBL⁵.

Em métodos dilucionais, pode-se comparar a CIM das cefalosporinas isoladas e associadas a 2 µg de ácido clavulânico. Uma diminuição ≥ 3 diluições na presença do inibidor é indicativa da produção de ESBL⁵.

A detecção de ESBL por E-test® consiste em utilizar uma fita contendo em uma das extremidades concentrações crescentes de ceftazidima ou cefotaxima, enquanto na outra, o mesmo antibiótico associado a uma concentração fixa (2 µg/mL) de ácido clavulânico. A realização deste teste é muito semelhante à realização do teste de adição de ácido clavulânico; porém, o antimicrobiano é adicionado em uma fita que proporciona a CIM para a cefalosporina sozinha e associada ao ácido clavulânico. Quando a razão entre as cefalosporinas associadas ao ácido clavulânico e a cefalosporina sozinha for ≥ 8 , presume-se que há produção de ESBL¹⁶.

Outros Métodos Fenotípicos (Sistemas automatizados)

O uso de instrumentos automatizados e semiautomatizados variam em complexidade, compreendendo desde os que realizam leitura ótica das zonas de inibição (ou ponto final de crescimento) até sistemas completamente automatizados que possibilitam o interfaceamento com o sistema de informação do laboratório e/ou hospital.

A principal vantagem dos sistemas automatizados é a rapidez, permitindo a adequação da terapêutica antimicrobiana, desde que os resultados sejam prontamente comunicados ao médico assistente. Os sistemas automatizados são menos suscetíveis a erros do operador e reduzem o trabalho técnico quando comparados aos sistemas manuais, embora o custo dos insumos somados ao preço da aquisição, empréstimo ou *leasing* do equipamento seja maior. Esses sistemas possuem softwares de gerenciamento que permitem o monitoramento da resistência através do manuseio eletrônico dos dados. Os sistemas automatizados, entretanto, testam poucas diluições (geralmente 3 a 4), que incluem os pontos de corte de sensível, intermediário e resistente; embora ofereçam os resultados em g/mL, estes representam o *breakpoint* e não a CIM.

Mais de 20 sistemas de identificação/antibiograma já foram desenvolvidos; os principais sistemas comercializados no Brasil são o sistema semi-automatizado Microscan® (Dade Behring Inc., Deerfield, IL, USA) e os automatizados Microscan Walkaway (Dade Behring Inc., Deerfield, IL, USA) e Vitek ou Vitek 2 (bioMérieux Vitek, Hazelton, Missouri – EUA).

De maneira geral, para as enterobactérias a performance dos sistemas automatizados correlaciona-se razoavelmente com os métodos de referência, mas têm sido reportados problemas, especialmente quando a resistência decorre da produção de β -lactamases. A presença concomitante de múltiplas enzimas em um isolado ocorre cada vez mais frequentemente dificultando a sua detecção pelos sistemas automati-

zados. Uma grande limitação dos sistemas é a discriminação entre a resistência relacionada à produção de ESBL, a produzida por enzimas do tipo AmpC, a produzida pela enzima K1 de *K. oxytoca* e a hiperprodução de betalactamases do tipo SHV-1¹⁷.¹⁸ A detecção de resistência a carbapenêmicos em enterobactérias é um problema emergente e a capacidade de detecção de resistência mediada por carbapenemases em amostras *K. pneumoniae* com resistência intermediária ou plena aos carbapenêmicos apresentou elevada porcentagem de falsa sensibilidade. Isto foi verificado especialmente com os sistemas Vitek (Vitek 1 apresentou falsa sensibilidade em 67% dos casos e o Vitek2 em 33%). Por outro lado o sistema MicroScan Walkaway apresentou falsa sensibilidade em apenas 6,7% dos casos¹⁹.

Recomenda-se utilizar teste de disco difusão para confirmar resultados resistentes ou intermediários para carbapenêmicos em *K. pneumoniae*, como também no caso de haver falha no tratamento de infecções por amostras de *K. pneumoniae* sensíveis aos carbapenêmicos pelo antibiograma automatizado. Esta conduta também deve ser seguida no caso de discrepância dos resultados de imipenem e meropenem, e caso persista sugere-se o envio a um laboratório de referência¹⁹.

A detecção de resistência a vancomicina em bactérias gram-positivas também pode apresentar problemas. Os primeiros casos de VRSA não foram corretamente detectados pelos sistemas automatizados, entretanto alguns fabricantes de sistemas automatizados já aperfeiçoaram seus aparelhos para detecção dos isolados VRSA. Atualmente os sistemas Vitek 2 (bioMerieux Vitek, Hazelton, Missouri – EUA) e Microscan® (Dade Behring Inc., Deerfield, IL, USA) são capazes de detectar isolados VRSA.

Métodos automatizados geralmente detectam VISA quando a CIM para a vancomicina é 8µg/mL, mas a sensibilidade desses métodos não está comprovada quando a não está comprovada quando a CIM for 4µg/mL.

Detecção de ESBL em espécies diferentes de *E. coli*, *Klebsiella* spp. e *Proteus mirabilis*

A detecção de ESBL em micro-organismos diferentes de *Klebsiella* spp., *Escherichia coli* e *P. mirabilis* não tem recebido muita atenção. Métodos baseados na ação de inibidores fornecem melhores resultados em bactérias que não produzem outras β-lactamases resistentes aos inibidores, como as do tipo AmpC, porque altos níveis de AmpC podem impedir o reconhecimento de ESBL. Este problema é maior em bactérias que possuem β-lactamases cromossômicas induzíveis, por ex. *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Providencia* spp., *Aeromonas* spp., *Morganella morganii*, *Citrobacter freundii*, *Hafnia alvei* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Para esses micro-organismos, o clavulanato pode ser um forte indutor da produção de AmpC, aumentando a resistência às drogas usadas na triagem e produzindo um resultado falso negativo para produção de ESBL. Uma alternativa é a utilização de cefepime no teste de triagem. Altos níveis de expressão de AmpC têm efeito

mínimo na atividade de cefepime, o que faz dessa droga um agente de detecção de ESBL na presença de AmpC²⁰. Amostras hiper-produtoras de AmpC apresentam teste de triagem positivo para ESBL, mas falham no teste confirmatório que usa ácido clavulânico como inibidor.

Deteção de β -lactamase do tipo AmpC em *Klebsiella* spp. e *E. coli*

A deteção de enzimas do tipo AmpC em *E. coli* e *Klebsiella* spp. pode ser indicada em amostras que apresentam características de ESBL, porém apresentam resistência a cefoxitina. Os testes fenotípicos usam inibidores de AmpC como cloxacilina e ácido fenilborônico.

Disco combinado com cloxacilina (DC)

Este método utiliza discos de (CFO, CAZ, CTX) cefoxitina, ceftazidima e cefotaxima sozinhos e adicionados de 10uL da solução estoque de cloxacilina a 50 μ g/uL, previamente preparada e armazenada a -80°C. O teste é considerado positivo se a amostra apresentar o halo de inibição da cefalosporina-cloxacilina 5 mm \geq ao da cefalosporina sem o inibidor²¹.

Disco combinado (DC) com ácido fenilborônico (APB)

O teste é realizado utilizando os mesmos discos e de maneira semelhante ao teste com a cloxacilina, entretanto utiliza como inibidor de AmpC uma solução de APB a 30 μ g/ μ L, previamente preparada e armazenada a -80°C. A interpretação do teste é semelhante, isto é, quando a diferença entre o halo de inibição da associação cefalosporina-APA e a cefalosporina sem inibidor for \geq 5 mm indica que o teste é positivo²².

Deteção de Metallo- β -Lactamases (M β Ls)

As M β Ls são carbapenemases da classe B de Ambler que se caracterizam pela habilidade em hidrolisar carbapenêmicos, pela resistência aos inibidores de beta-lactâmicos disponíveis comercialmente, e pela inibição por íons metais quelantes. As M β Ls adquiridas ocorrem em bactérias de grande importância clínica, tais como *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp., além de membros da família *Enterobacteriaceae*, e são responsáveis por surtos de infecções hospitalares em todo o mundo, inclusive em nosso meio²³.

A pesquisa de M β L pode ser realizada por diferentes metodologias fenotípicas; dentre elas as mais utilizadas são o teste de duplo-disco difusão (DD) e do disco combinado (DC), além de um teste comercial, as fitas de E-test® M β L (AB Biodisk, Slona Sweden).

Nos testes de DD de ceftazidima (30 mg) é colocado na placa a uma distância de 20 mm do disco de papel filtro ao qual se adiciona 3 μL de uma solução pura de ácido 2-mercaptopropiônico (2-MPA)²⁴. A diluição da concentração do 2-MPA parece melhorar os resultados deste teste²⁵. Este tipo de teste pode ser usado com outros inibidores tais como EDTA 0,5M²⁶ ou o ácido mercaptoacético (SMA)²⁷. O aumento do halo de inibição ou aparecimento de “zona fantasma” entre o inibidor e a ceftazidima é indicativo da presença de M β L^(24,25,26,27).

Os testes de discos combinados (DC), utilizam dois discos de 10 μg de imipenem (IP), um deles adicionado de 5 μL (730 μg) de solução de EDTA 0,5M. O resultado é considerado positivo quando a diferença entre os halos de IPM e IPM+EDTA for ≥ 7 mm²⁸. O teste tem bom desempenho entre espécies de *Pseudomonas*. Pode-se também utilizar meropenem (MER) como substrato²⁹. Outros autores desenvolveram testes do tipo DC usando EDTA como inibidor e IP como substrato, com bons resultados entre as enterobactérias^{25,30}.

O E-test® M β L (AB Biodisk, Slona Sweden) é um teste comercial de triagem para produtores de M β Ls e consiste em uma tira plástica onde uma metade está impregnada com um gradiente de substrato betalactâmico (IP) e na outra metade, outro gradiente de substrato junto a um inibidor de M β L (EDTA) em concentração constante³¹. Uma redução na CIM ≥ 3 diluições na presença do EDTA é interpretada como sugestiva da produção de M β L, assim como a presença de zonas “fantasmas” entre os dois gradientes ou deformações na elipse de inibição do IP. O teste parece ter pouca eficiência em detectar M β L em cepas sensíveis aos carbapenêmicos e em enterobactérias^{29,32,33}.

De modo geral os testes descritos acima foram utilizados principalmente para detectar produtores de M β L das subclasses IMP e VIM, enquanto em nosso meio prevalece o subtipo SPM. Da mesma forma estes testes têm melhores resultados frente a *Pseudomonas* resistentes aos carbapenêmicos, havendo maiores problemas de detecção entre as enterobactérias, *Acinetobacter* e bactérias sensíveis aos carbapenêmicos. Atualmente não existe um teste de triagem para metalo- β -lactamases que seja recomendado pelo CLSI⁵.

Detecção de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)

Klebsiella pneumoniae carbapenemase (KPC) é uma enzima da classe A de Ambler, inicialmente descrita em isolados de *K. pneumoniae*, sendo posteriormente detectada em outros membros da família *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas aeruginosa*. Esta enzima hidrolisa penicilinas, cefalosporinas de espectro ampliado, monobactâmicos e carbapenêmicos, sofrendo discreta inibição pelo ácido clavulânico. A enzima KPC é codificada pelo gene *bla*_{KPC}, localizado em plasmídeo, facilitando a transmissão de resistência.

Para prevenir sua disseminação todas as amostras suspeitas devem ser testadas para a presença de KPC^{5,13,34}. As amostras que apresentarem resistência a uma ou mais cefalosporinas de amplo espectro e CIM elevada ou redução do tamanho do

halo de inibição para carbapenêmicos devem ser submetidas ao teste de Hodge modificado, mesmo que o aumento de resistência ainda se encontre dentro da faixa da sensibilidade. O teste de Hodge modificado apresenta sensibilidade e especificidade superior a 90% na detecção de carbapenemase em enterobactérias^{5,13}.

O teste consiste na inoculação de uma suspensão na escala 0,5 de MacFarland de *E. coli* ATCC 25922, sobre uma placa de ágar Muller-Hinton, colocando-se um disco de meropenem no centro da placa. A amostra teste e amostras controle positivo e controle negativo devem ser semeadas perpendicularmente ao disco, sem tocá-lo. O aumento do crescimento da amostra de *E. coli*, formando uma reentrância no encontro do halo de inibição com a amostra teste indica Hodge positivo e a amostra é considerada produtora de carbapenemase^{5,13}.

Detecção de resistência à vancomicina em *Enterococcus* (VRE)

A resistência a vancomicina em enterococos ocorre devido a alteração do sítio alvo deste antimicrobiano. A modificação do terminal D-alanina do peptidoglicano para D-alanina-D-lactato (D-ala-D-lac) nos fenótipos VanA, VanB e VanD e D-serina (D-ala-D-ser) nos fenótipos VanC, VanE e VanG, produzem redução de afinidade à vancomicina³⁵.

Amostras em que a leitura do antibiograma, apresentarem um halo de inibição intermediário ou qualquer sinal de crescimento dentro da zona de inibição visualizado a olho nu com luz transmitida devem ser submetidas ao teste confirmatório de resistência à vancomicina por diluição em ágar⁵.

O teste de triagem de resistência a vancomicina utiliza ágar infusão cérebro e coração (BHI) acrescido com 6 µg/mL de vancomicina. Deve-se preparar uma suspensão bacteriana a uma concentração 0.5 da escala MacFarland, inocular 1-10 µL na superfície do ágar e incubar a 35 ± 2°C em ar ambiente por 24 horas completas. A presença de uma ou mais colônias é indicativo de resistência à vancomicina⁵.

A resistência à vancomicina em enterococos também pode ser confirmada utilizando-se E-Teste (AB Biodisck, Slona Sweden)³⁵.

Detecção de resistência a oxacilina em *S. aureus*

A resistência à oxacilina mediada pelo gene *mecA* deve ser pesquisada utilizando discos com 30µg de cefoxitina, seguindo todas as recomendações do antibiograma, exceto que a temperatura de incubação seja mantida entre 33-35°C (se for superior a 35°C pode levar a falha na detecção de MRSA). O tempo de incubação é semelhante ao antibiograma pelo método de Kirby-Bauer (16-18 h), exceto para estafilococos não produtores de coagulase, para os quais o tempo de incubação deve ser de 24 horas. A cepa de *S. aureus* ATCC 25923, negativa para o gene *mecA*, e a cepa ATCC 43300, positiva para o gene *mecA* devem ser utilizadas como controle do teste. Os halos de inibição da cefoxitina ≤ 21mm para *S. aureus* e ≤ 24mm para estafilococos não produtores de coagulase são considerados indicativos da presença

do gene *mecA*; os halos $\geq 22\text{mm}$ para *S. aureus* e $\geq 25\text{mm}$ para estafilococos não produtores de coagulase são considerados negativos para o gene *mecA*. Os isolados que apresentarem teste positivo para o gene *mecA* devem ser reportados resistentes para oxacilina e todos os demais β -lactâmicos. Deve ser liberada uma observação no antibiograma alertando que o isolado é MRSA⁵.

Deteção de resistência a vancomicina em *S. aureus*

A primeira cepa de *S. aureus* apresentando resistência plena à vancomicina (*Staphylococcus aureus* vancomicina-resistente - VRSA) foi encontrada em 2002, embora, cepas com resistência intermediária à vancomicina (VISA), foram isoladas primeiramente no Japão, em 1996 e posteriormente em muitos outros países, incluindo o Brasil³⁵.

Os pontos de corte para a resistência a vancomicina variam dependendo das diretrizes adotadas em cada país. Segundo o CLSI (2010), os pontos de corte para resistência intermediária (VISA) são 4 – 8 $\mu\text{g/mL}$, enquanto que a resistência plena a vancomicina (VRSA) $\geq 16 \mu\text{g/mL}$ ⁵.

O teste de disco difusão não é recomendado para detectar a suscetibilidade a vancomicina, por que este teste não diferencia entre amostras sensíveis e amostras com resistência intermediária a vancomicina VISA. Entretanto este teste é capaz de detectar amostras com resistência plena a vancomicina (VRSA), quando mediado pelo gene *vanA*. Amostras VRSA não produzem halo ao redor do disco⁵.

O teste de triagem para detecção de resistência à vancomicina é recomendado pelo CLSI (2010). Este teste é realizado e interpretado de maneira semelhante ao teste realizado para enterococos. O documento salienta, entretanto que o teste de triagem não detecta todas as amostras com resistência intermediária a vancomicina (CIM $\leq 4 \mu\text{g/mL}$). Por isso recomenda-se que a resistência a vancomicina seja determinada utilizando a concentração inibitória mínima (CIM) pelo método de diluição em caldo em todas as amostras que crescerem no teste de triagem em ágar⁵. Fenótipos VRSA devem ser confirmados antes da liberação.

O E-Teste (AB Biodisk, Slona Sweden) é capaz de detectar resistência plena a vancomicina (VRSA) e resistência intermediária a vancomicina (VISA)⁵. Entretanto, o Etest pode produzir resultados de CIM superiores que os produzidos por microdiluição em caldo.

Deteção de sensibilidade a Polimixina

A avaliação da sensibilidade a polimixina deve ser realizada utilizando métodos que fornecem a concentração inibitória mínima (CIM), por microdiluição em caldo. Os testes de disco difusão não são recomendados pelo CLSI, 2010⁵.

Métodos de Detecção Molecular da Resistência

O método molecular mais simples e mais utilizado para detectar genes codificadores de β -lactamases é a reação em cadeia da polimerase (*Polymerase Chain Reaction* ou PCR), que utiliza iniciadores (*primers*) específicos para os genes de β -lactamases. As sequências podem ser escolhidas com base nas publicadas no GENBANK. Os iniciadores são selecionados de forma a se anelar com regiões conservadas, isto é, que sofrem poucas mutações. Esse método, apesar de bastante sensível e adequado para a detecção rotineira de β -lactamases, quando é realizado para fins de pesquisa necessita do sequenciamento dos nucleotídeos, para confirmação do tipo de enzima codificada^{37,38}.

REFERÊNCIAS

1. Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, Turck, M., Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized single disk method. *Am J Pathol.* 1996; 45:493-496.
2. Richter S, Ferraro MJ. Susceptibility Instrumentation and Computerized Expert Systems for data analysis and interpretation. In: *Manual of Clinical Microbiology.* 9th edition, ASM Press, Washington, 2007, 245:256.
3. Clinical Laboratory Standard Institute. Performance standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Disk Susceptibility Tests; Approved Standard; M2-A10, 10th ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2009a.
4. Clinical Laboratory Standard Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved Standard; M7-A8, 8th ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2009b.
5. Clinical Laboratory Standard Institute. Performance standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; M100-S20, 20th Informational Supplement. In: Institute CLS, ed. document M100-S20. Wayne, Pennsylvania, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute 2010.
6. www.anvisa.gov.br/reblas/reblas_public_disco_difusao.pdf
7. Leverstein-Maurine van HA, Fluit ADC, Paauw A, Box ATA, Brisse S, Verhoef J. Evaluation of the Etest ESBL and the BD Phoenix, VITEK 1, and VITEK 2 Automated Instruments for Detection of Extended-spectrum Beta-Lactamases in Multiresistant *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. *J Clin Microbio.* 2002; 40(10): 3703–3711.
8. Livermore D, Winstanley TG, Shannon KB. Interpretative reading: recognizing the unusual and the inferring resistance mechanisms from resistance phenotypes. *J Antimicrobial Chemother* 2000; S1: 87-102.
9. Lee SY, Kuti JL, Nicolau DP. Cefepime pharmacodynamics in patients with extended spectrum betalactamase (esbl) and non-esbl infections. *J Infect.* 2007; 54: 463-468.
10. Maglio D, Ong C, Banevicius MA, Geng Q, Nightingale CH, Nicolau DP. Determination of the in vivo pharmacodynamic profile of cefepime against extended-spectrum-betalactamase-producing *escherichia coli* at various inocula. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004; 48: 1941-1947.
11. EUCAST. Breakpoints and expert rules for 3rd e 4th generation cephalosporins and Enterobacteriaceae with and without β -lactam resistance organisms. In: *Testing ECoAS*, ed: Euopean Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2009.
12. Endimiani A, Perez F, Bonomo RA. Cefepime: A reappraisal in an era of increasing antimicrobial resistance. *Exp Rev Antimicrob Infect Ther.* 2008; 6: 805-824.
13. Clinical Laboratory Standard Institute. Performance standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; M100-S19, 20th Informational Supplement. In: Institute CLS, ed. document M100-S19. Wayne, Pennsylvania, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute 2009.

14. Jarlier V, Nicolas M-H, Fournier G, and Philippon A. Extended broad-spectrum β -lactamases conferring transferable resistance to newer β -lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis*. 1988; 10: 867-878.
15. Livermore DM, Brown DFJ. Detection of β -lactamase-mediated resistance. *J Antimicrobial Chemother*. 2001; 48: 59-64.
16. Cormican MG, Marshall SA, Jones RN. Detection of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing strains by the Etest ESBL screen. *J Clin Microbiol*. 1996; 34(8): 1880-4.
17. Jacoby GA. AmpC beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev*. 2009; 22: 161-182.
18. Paterson D L, Bonomo RA. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev*. 2005; 18(4): 657-86.
19. Tenover FC, Kalsi RK., Williams PP, Carey RB, Stocker S, Lonsway D, Rashied JK, Biddle JW, McGowan JE, Hanna B. Carbapenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* not detected by automated systems. *Emerg Infect Dis*. 2006; 12(8): 1209-1213.
20. Thomson KS. Controversies about extended-spectrum and AmpC beta-lactamases. *Emerg Infect Dis*. 2001; 7(2):333-6.
21. Doi Y, Paterson DL. Detection of plasmid-mediated class C beta-lactamases. *Int J Infect Dis*. 2007; 11(3): 191-7. 2007.
22. Song W, Jeong SH, Kim JS, Kim HS, Shin, DH, Roh KH, Lee, KM. Use of boronic acid disk methods to detect the combined expression of plasmid-mediated AmpC β -lactamases and extended-spectrum β -lactamases in clinical isolates of *Klebsiella* spp., *Salmonella* spp., and *Proteus mirabilis*. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2007; 57(3): 315-8. 2007.
23. Figueiredo DQ, Castro LSC, Santos KRN, Teixeira LM, Mondino SSB. Detecção de metalo-beta-lactamases em amostras hospitalares de *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*. *J Bras Patol Med Lab*. 2009; 45(3): 177-184.
24. Arakawa Y, Shibata N, Shibayama K, Kurokawa H, Yagi T, Fujiwara H, Goto M. Convenient Test for Screening Metallo- β -Lactamase-Producing Gram-Negative Bacteria by Using Thiol Compounds. *J Clin Microbiol*. 2000; 38(1): 40-43.
25. Picão RC, Andrade SS, Nicoletti AG, Campana EH, Moraes GC, Mendes RE, and Gales AC. Metallo-B-Lactamase Detection: Comparative Evaluation of Double-Disk Synergy *versus* Combined Disk Tests for IMP-, GIM-, SIM-, SPM-, or VIM-Producing Isolates. *J Clin Microbiol*. 2008; 46(6): 2028–2037.
26. Lee K, Chong Y, Chin HB, Kim YA, Yong D and Yun JH. Modified Hodge and EDTA disk-synergy tests to screen metallo- β -lactamase-producing strains of *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species. *Clin Microbiol Infect*. 2001; 7(2): 88-102.
27. Lee K, Lim YS, Yong D, Yum JH, and Chong Y. Evaluation of the Hodge Test and the Imipenem-EDTA Double-Disk Synergy Test for Differentiating Metallo-B-Lactamase-producing Isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. *J Clin Microbiol*. 2003; 41(10): 4623–4629.

28. Yong, D., Lee, K., Yum, J.H., Shin, H.B., Rossolini, G.A., Chong, Y. Imipenem-EDTA Disk Method for Differentiation of Metallo- β -Lactamase-Producing Clinical Isolates of *Pseudomonas* spp. And *Acinetobacter* spp. J Clin Microbiol. 2002; 40(10): 3798-3801.
29. Pitout JDD, Gregson DB, Poirel L, McClure Jo-A, Le P, and Church DL. Detection of *Pseudomonas aeruginosa* Producing Metallo- β -Lactamases in a Large centralized Laboratory. J Clin Microbiol. 2005; 43: 3129-3135.
30. Franklin C, Liolios L, Peleg A Y. Phenotypic Detection of Carbapenem-Susceptible Metallo-B-Lactamase-Producing Gram-Negative Bacilli in the Clinical Laboratory. J Clin Microbiol. 2006; 44(9): 3139-3144.
31. Walsh TR, Bolmstrom A, Qwarnstrom A, Gales A. Evaluation of a New Etest for Detection Metallo- β -lactamases in Routine Clinical Testing. J Clin Microbiol. 2002; 40(8): 2755-2759.
32. Yan J-J, Wu J-J, Tsai S-H, Chuang C-L. Comparison of the double-disk, combined disk, and Etest methods for detecting metallo-B-lactamases in gram-negative bacilli. Dign. Microbiol Infect Dis. 2004; 49:5-11.
33. Marchiaro P, Mussi M A, Ballerini V, Pasteran F, Viale A M, Vila AJ, Llimansky AS. Sensitive EDTA-Based Microbiological Assays for Detection of Metallo-B-Lactamases in Nonfermentative Gram-Negative Bacteria. J Clin Microbiol. 2005; 43(11): 5648-5652.
34. Patel JB, Rasheed I, Kamile J, Brandon K. Carbapenemases in Enterobacteriaceae: activity, epidemiology, and laboratory detection. Clin Microbiol News. 2009; 31(8): 55-62.
35. Courvalin P. Vancomycin resistance in gram-positive cocci. Clin Infect Dis. 2006; 42:25-34.
36. Howden, BP; Davies JK, Johnson, PDR; Stinear, TP and Grayson, ML. Reduced Vancomycin Susceptibility in *Staphylococcus aureus*, Including Vancomycin-Intermediate and Heterogeneous Vancomycin-Intermediate Strains: Resistance Mechanisms, Laboratory Detection, and Clinical Implications. Clin Microbiol Rev. 2010; 23(1): 99-139.
37. Fluit ADC, Visser MR, Schmitz, F-J. Molecular Detection of Antimicrobial Resistance. Clin Microbiol Rev 2001; 14(4): 836-871.
38. Woodford N, Sundsfjord. Molecular detection of antibiotic resistance: When and where? J Antimicrob Chemother. 2005; 56: 259-261.

39. PESQUISA DE SUBSTÂNCIAS ANTIMICROBIANAS EM URINA

Gislene Maria Botão Kussen

Introdução

Tendo em vista ser a cultura de urina um dos exames mais solicitados no laboratório de análises clínicas, observa-se que as infecções do trato urinário (ITU) estão entre as doenças mais comuns em humanos. No entanto pode-se verificar que há um número limitado de bactérias envolvidas nesses casos. A presença de bactérias em amostras de urina não significa necessariamente que o achado seja patognômico. Pode-se observar resultados de culturas falso positivas devido à presença de bactérias na microbiota uretral, encontradas em amostras mal coletadas em que o primeiro jato não foi devidamente desprezado.^{1,2}

Caso uma cultura de urina seja positiva, esta deve ser devidamente analisada através de contagens de colônias, verificação do parcial de urina, coloração de Gram, verificação da maneira como se coletou a amostra, para então fazer a identificação e antibiograma do(s) patógeno(s) em questão.^{1,2}

Contudo, a presença de substâncias inibitórias em amostras de pacientes com forte suspeita de ITU pode trazer sérias consequências para o crescimento “in vitro” de prováveis bactérias causadoras de infecção. Alguns autores sugerem que a presença de ureia, amônia, alterações de osmolaridade, pH ácido devido à presença de secreções prostáticas, entre outros, podem ser inibidores do crescimento de determinados micro-organismos. Uma das causas de se obter cultura de urina falso negativa em pacientes com bacteriúria significativa e/ou forte suspeita de infecção urinária pode ser a presença de substâncias inibidoras, como resíduos de antimicrobianos, impedindo o crescimento da provável bactéria causadora da infecção.³⁻⁵

A importância da coloração de gram como método de triagem

O exame microscópico da urina pode ser considerado como o primeiro passo no diagnóstico laboratorial das ITUs.⁶ Muito eficiente torna-se a coloração de Gram, datada de 1884, principalmente se for realizada de gota de urina não centrifugada. Além de ser o método mais comentado em diversas literaturas internacionais, estudos mostram que a realização da coloração de Gram de esfregaços de amostras não centrifugadas fixadas pelo calor, em que seja visualizada pelo menos uma bactéria por campo em microscopia de imersão, apresenta correlação com culturas positivas em quantidades superiores a 100.000UFC/mL de urina.⁷

O método deve ser considerado, porém, apenas como presuntivo e pode ser falho quando o inóculo bacteriano na urina for inferior ao limite citado. Um dos pontos cruciais da metodologia é a fixação do material na lâmina. Uma vez bem fixado, deve ser devidamente corado pelo método de Gram para avaliação.²

A coloração de Gram, além de possibilitar o direcionamento da terapia antimicrobiana, permite avaliar a presença de leucócitos, provável microbiota anaeróbia, ou até mesmo, contaminação uretral.²

Quando a presença de micro-organismos observados na coloração de Gram, prováveis causadores de infecção, não crescem na cultura, vários fatores devem ser avaliados. Como já demonstrado anteriormente,^{3-5,8} a presença de substâncias antimicrobianas em amostras de urina destinadas a cultura podem resultar em ausência de crescimento. As referidas substâncias são capazes de inibir o crescimento de bactérias prováveis causadoras de infecção presentes em urinas.^{3,4,8}

Detecção de antimicrobianos

Alguns autores sugerem a detecção de certos antimicrobianos em amostras de urina através de técnicas colorimétricas, usando como padrão as culturas de urina negativas.⁵ Türk e cols. quantificaram antibióticos β -lactâmicos em amostras de urina através da cromatografia líquida de alta performance (HPLC);⁹ Kumar e cols. avaliaram a presença de fluoroquinolonas em amostras de urina usando C-18 e colunas de amido,¹⁰ e Liu e cols. demonstraram a presença de quinolonas em amostras de urina por eletroforese com detecção quimioluminescente.¹¹

Fugazzotto,¹² usou uma técnica de cultura para verificar a presença de reais patógenos em pacientes com cistite crônica. O autor sugeriu uma simples adaptação da cultura de urina de pacientes sintomáticos e após muitos anos de estudo verificou a acurácia da técnica. Baseado neste trabalho a técnica foi reproduzida no laboratório de Bacteriologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná no período de 20 de outubro a 03 de novembro de 1998.

Todas as amostras destinadas a cultura foram aliqüotadas para serem congeladas. Foi realizada a coloração de Gram da gota de urina não centrifugada para demonstrar a presença de bactérias e leucocitúria, e cultura de urina com 48 horas de incubação a 36°C.¹³

Foram utilizadas cepas padrões de *Escherichia coli* ATCC (*American Type Culture Collection*) 25922 e *Enterococcus faecalis* ATCC 19433. 10 μ L de cada amostra a ser avaliada foram impregnadas em discos de papel de filtro estéreis de 6 mm de diâmetro e após uma hora em estufa 56°C, foram depositadas em placas de ágar Mueller Hinton medindo 15x150mm com espessura do ágar 4mm, previamente inoculadas com as cepas padrões em concentrações padronizadas de acordo com a escala 0,5 de MacFarland.¹⁴ Após incubação de 18 a 24 horas, procedeu-se a leitura dos halos de inibição. A presença de substâncias antimicrobianas foi verificada observando uma zona de inibição ao redor do disco. O halo foi medido em mm e anotado.¹² A conclusão de casos positivos para esta análise foi estabelecida quando as culturas permaneciam negativas após 48 horas de incubação a 36°C, com presença de leucócitos e/ou bactérias na coloração de Gram da gota de urina não centrifugada, com halos de inibição em ambas as cepas padrões estudadas.

Após avaliação de 400 amostras de urina escolhidas aleatoriamente, foram detectadas 54 amostras com resíduos de substâncias antimicrobianas, sendo que em apenas 22 amostras constava em requisição médica a administração prévia antibióticos. Foram observados 4 casos em que as culturas permaneceram negativas após 48 horas de incubação em estufa a 36°C, com presença de leucócitos e bactérias na coloração de Gram e halos de inibição em ambas as cepas padrões estudadas.¹³



Fig. 1 – Placa de Petri com ágar Mueller Hinton, semeada com *Escherichia coli* (ATCC 25922) e discos de papel de filtro impregnados com urinas suspeitas de conter resíduos antimicrobianos. Observa-se a presença de halos de inibição nas amostras 168, 169 e 170. (Botão, Albini et al. 2000)



Fig. 2 – Placa de Petri com ágar Mueller Hinton, semeada com *Enterococcus faecalis* (ATCC 19433) e discos de papel de filtro impregnados com urinas suspeitas de conter resíduos antimicrobianos. Observa-se a presença de halos de inibição nas amostras 168, 169 e 170. (Botão, Albini et al. 2000)

Outro método descrito em revisões de literatura¹⁵ mostra o uso de cepas *Escherichia coli* NCTC (*National Collection of Type Cultures*) 10418, escolhida justamente pelas características de sensibilidade a todos agentes antimicrobianos orais usados para tratamento de ITU; e uma cepa de *Micrococcus spp.* não classificado. A densidade do inóculo é ajustada para um crescimento confluyente após 18 horas de incubação. Uma cavidade de 7mm de diâmetro é feita na superfície do meio “ágar Isosensitest Oxoid”, para inocular 100µL da urina teste, e após incubação “overnight”, são observadas zonas de inibição ao redor do crescimento.¹⁵

A cultura de urina é o procedimento mais comum dentro do laboratório de Microbiologia. Inúmeros fatores concorrem para que o procedimento possa dar resultado falso positivo, seja por contaminação uretral, vaginal, ou mesmo quando a amostra colhida não foi refrigerada a tempo, possibilitando a proliferação bacteriana da microbiota contaminante. Resultados falso negativos também podem ocorrer, como por exemplo, em casos que há presença de substâncias bacteriostáticas na urina (antibióticos, antissépticos, detergentes, fluido prostático), acidificação da urina, entre outros.^{3, 8, 15}

Em pacientes sob antibioticoterapia, após iniciar o tratamento com o agente antimicrobiano para o qual o micro-organismo em questão é suscetível, a bactéria deve ser eliminada da urina dentro de 48 horas. No entanto, para refazer o exame caso haja recorrência dos sintomas, sugere-se aguardar uma a duas semanas após término do tratamento, uma vez que restos de antimicrobianos serão encontrados nas amostras, impedindo o crescimento do provável micro-organismo causador da infecção.²

Como a técnica de coloração de Gram pode ser utilizada para monitorar a cultura, deve ser considerada como um controle de qualidade interno da metodologia. Vários autores reconhecem que a amostra corada pelo Gram deve ser obrigatoriamente incluída quando se trata de triagens rápidas para detecção de bacteriúria significativa, uma vez que a sensibilidade, especificidade e valores preditivos positivo e negativo possuem comparação bastante favorável com os valores de outros métodos também analisados e referenciados como métodos rápidos. Além de fornecer informações sobre a qualidade da amostra e qual o patógeno mais provável, o método ainda é o mais acessível em termos de reagentes.^{2, 16}

Deve-se ainda ressaltar a importância de uma requisição de exames ao laboratório bem preenchida.¹ Estas nem sempre estão completas, além do fato de que muitas vezes o paciente chega ao local de atendimento já tendo recebido tratamento com antimicrobianos, o que pode ter passado despercebido durante a anamnese.

Pelo exposto conseguiu-se observar a grande importância de se monitorar a bacterioscopia e o preenchimento correto das requisições, pois tais informações vêm a ajudar no melhor desempenho do laboratório. Importante ainda, mencionar no laudo o resultado positivo do Gram embora a cultura seja negativa, de maneira que o clínico requisitante possa perceber que o laboratório esteve atento a essa disparidade entre os dois métodos.

REFERÊNCIAS

1. Clarridge JEJ, J.R.; Pezzlo, M.T. Cumitech-2B laboratory diagnosis of urinary tract infections coordinating. Washington: American Society for Microbiology; 1998.
2. McCarter YSB, E.M.; Hall, G.S.; Zervos, M. . Cumitech 2C Laboratory Diagnosis of Urinary Tract Infections. Washington, D.C.: ASM Press; 2009.
3. Winn Jr. WCA, S. D.; Janda, W. N.; Konemann, E. W.; Procop, G. W.; Schreckenberger, P. C.; Woods, G. L. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6 ed.: Lippincott Williams & Wilkins; 1997.
4. Kaye D. Antibacterial activity of human urine. *J Clin Invest.* 1968 Oct;47(10):2374-90.
5. Quantitative colorimetric measurement of residual antimicrobials in the urine of patients with suspected urinary tract infection [database on the Internet]. 2005 [cited. Available from: http://findarticles.com/p/articles/mi_qa3847/is_200507/ai_n1.
6. Mandell GLD, R.G.; Bennet, J.E. *Enfermidades Infecciosas Principios Y Practica.* 3th ed.; 1991.
7. Forbes BAS, D.F.; Weissfeld, A.S. *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology.* 10th ed.; 1998.
8. Kunin CM. *Urinary tract infections: detection, prevention and management.* 5th ed. Wilkins W, editor.; 1997.
9. Quantification of β -lactam antibiotics in urine and wipe samples from environmental and biological monitoring by SPE and LC-MS/MS [database on the Internet]. [cited. Available from: www.phenomenex.co.kr/main/pds_download.php?no=603.
10. Kumar A, Kumar Malik A, Kumar Tewary D, Singh B. Gradient HPLC of antibiotics in urine, ground water, chicken muscle, hospital wastewater, and pharmaceutical samples using C-18 and RP-amide columns. *J Sep Sci.* 2008 Feb;31(2):294-300.
11. Liu YM, Jia YX, Tian W. Determination of quinolone antibiotics in urine by capillary electrophoresis with chemiluminescence detection. *J Sep Sci.* 2008 Dec;31(21):3765-71.
12. Fugazzotto P. Laboratory Test Technology For Diagnosis And Monitoring Of Urinary Tract Disorder. *Journal [serial on the Internet].* 2008 Date: Available from: <http://www.moonstar.com/~icickay/cystitisresearchcenter.html>.
13. Bier O. *Microbiologia e Imunologia* 13 ed.: Editora Melhoramentos; 1966.
14. Millar MR, Langdale P. Simple microbiological method for the identification of antimicrobial agents prescribed in general practice. *J Clin Microbiol.* 1985 May;21(5):741-4.
15. Cavali MLB, V. M. S. Papel da bacterioscopia da urina como triagem na solicitação de urocultura em serviço de atenção primária. *Rev Paul Pediatr.* 2001 set. 2001;19(3):117-21.

40. TRATAMENTO DAS INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO COMUNITÁRIAS EM ADULTOS

Clóvis Arns da Cunha

As infecções do trato urinário (ITUs) adquiridas na comunidade em adultos são classificadas, do ponto de vista da abordagem clínica, em 4 diferentes infecções:

- a) Bacteriúria assintomática;
- b) Cistite;
- c) Pielonefrite Aguda;
- d) Uretrite

a) Bacteriúria assintomática: é a presença de bactérias na urina, definida por urocultura com contagem de colônias $\geq 10^5$ UFC (unidades formadoras de colônias)/ml de um uropatógeno em paciente que não apresenta sintoma urinário, nem febre. A maioria dos autores recomenda duas uroculturas positivas com o mesmo uropatógeno para caracterizar bacteriúria assintomática. As duas situações clínicas em adultos que se deve solicitar urocultura em paciente assintomático(a) são: a) durante a gestação, já que bacteriúria assintomática, que ocorre em 2 a 7% das grávidas, pode levar à pielonefrite aguda em 20 a 30% dos casos, e esta a trabalho de parto prematuro, recém-nascidos de baixo peso e impacto na mortalidade neonatal;¹ e b) antes de procedimento urológico invasivo, já que há risco maior de bacteriemia.²

Outras situações comuns da presença de bactérias na urina sem causar sintomas, como em pacientes diabéticos,³ paraplégicos, pacientes com catéter urinário, pacientes institucionalizados,⁴ não há benefício de tratamento. Logo, urocultura não deve ser solicitado para estes pacientes, se não apresentarem sintomas de infecção urinária ou febre. O racional de não tratar bacteriúria assintomática, com as duas exceções anteriormente citadas, é porque não há prejuízo da função renal, nem risco de sepsis. Por outro lado, o tratamento pode trazer consequências indesejáveis, tais como: efeitos colaterais do antibiótico usado, gasto financeiro desnecessário e o risco de resistência bacteriana. Em pacientes transplantados renais, é controverso se há benefício do tratamento, havendo uma tendência de se tratar.⁵

Nos casos anteriormente mencionados em que há indicação de tratamento da bacteriúria assintomática, o antibiograma permite escolher a melhor opção terapêutica. Idealmente, as gestantes devem ser avaliadas para bacteriúria assintomática no 1º e 3º trimestre de gestação. Nos casos das gestantes, como não se pode usar quinolonas pelo risco de alterações nas cartilagens de crescimento do recém-nato, os antibióticos β -lactâmicos são os mais utilizados por 7 dias, destacando-se as cefalosporinas, espe-

cialmente as de 1ª geração por via oral como cefalexina e cefadroxil, desde que o uropatógeno isolado seja sensível. Se a bactéria isolada for resistente à cefalosporina de 1ª geração, cefalosporina de 2ª geração, como a cefuroxima, ou a aminopenicilina/inibidor de β -lactamase amoxicilina-clavulanato são boas opções. Macrodantina também pode ser utilizada na gestação. Sulfametoxazol-trimetoprim pode ser usado, se a bactéria isolada for sensível; evitando-se, porém, seu uso nas últimas semanas de gestação porque podem contribuir para hiperbilirrubinemia e kernicterus no recém-nato. Recomenda-se urocultura de controle 1 a 2 semanas após terminado o tratamento nas gestantes para checar se a urocultura foi esterilizada e, depois, mensalmente até o fim da gestação. Se houver recidiva, deve-se tratar novamente. Neste caso, alguns recomendam tratamento mais prolongado de 7 a 14 dias.⁶

Já pacientes não gestantes, que vão ser submetidos a procedimentos urológicos invasivos, as quinolonas têm sido a classe mais utilizada, desde que a bactéria isolada seja sensível. Se sensível, sulfametoxazol-trimetoprim também é uma boa opção. A terapia pode ser iniciada 12 horas antes do procedimento urológico a fim de diminuir a “carga bacteriana urinária” no momento do procedimento e reduzir o risco de bacteriemia.⁷ A maioria dos urologistas, porém, prefere tratar a bacteriúria assintomática por 7 dias, obter urocultura de controle negativa, para então realizar o procedimento urológico eletivo.

Quadro 1: Bacteriúria assintomática

Quando solicitar urocultura para paciente sem sintoma urinário, nem febre ?

a) Gestante; b) Antes de procedimento urológico invasivo

Obs. São as 2 situações em que há benefício de tratamento da bacteriúria assintomática

- b) Cistite: é a infecção da bexiga, na maioria dos casos causada por bactérias. É comum em mulheres tanto jovens, como menopausadas, e incomum em homens, exceto os que apresentam doença prostática, a qual é muito prevalente em idosos. Sintomas típicos de cistite são disúria (dor ou ardência à micção), polaciúria (paciente apresenta necessidade de urinar com mais frequência e urina em pequenos volumes), dor suprapúbica e, eventualmente, hematúria.⁸

Se a disúria vier acompanhada de outros sintomas, especialmente os mencionados a seguir, outros diagnósticos diferenciais⁹ devem ser considerados:

- a) corrimento vaginal de odor fétido ou prurido vaginal sugere vulvovaginite por bactérias e por *Candida*, respectivamente;
- b) febre, náuseas e/ou vômitos, dor lombar ou em flanco sugerem pielonefrite aguda;
- c) vesículas ou úlcera(s) genital(is) sugerem herpes genital;
- d) “exposição sexual de risco” aumenta o risco de uretrite, sendo *Chlamydia trachomatis* o principal patógeno no nosso meio neste caso, seguida de *Neisseria gonorrhoeae*.

O exame físico é pouco útil e costuma ser normal. Cerca de 15 a 20% dos pacientes referem discreto desconforto à palpação de região suprapúbica. O exame físico tem por principal objetivo avaliar a possibilidade de outros diagnósticos diferenciais, como nefrolitíase ou doença inflamatória pélvica nos casos de dor mais significativa à palpação abdominal e/ou pélvica.¹⁰

A presença de leucocitúria, definida por ≥ 10 leucócitos/mm³, é suficiente para confirmar o diagnóstico de cistite não complicada numa paciente jovem com disúria e polaciúria, sem outros sintomas mencionados anteriormente, como corrimento vaginal, que levantariam suspeita de outro diagnóstico diferencial. A fita reagente urinária para demonstrar leucocitúria, embora um pouco menos sensível que o exame microscópico, representa método útil na prática clínica. A fita urinária também pode detectar a presença de nitrito que é mais específica que sensível para o diagnóstico de cistite, isto é, só ocorre em 30% dos casos, mas quando presente em mulher com disúria e leucocitúria é muito sugestivo de infecção urinária. Apenas enterobactérias produzem nitrito, portanto uropatógenos gram-positivos, tais como enterococos e *Staphylococcus saprophyticus*, não produzem. O uso de pyridium, antisséptico urinário, altera a avaliação da fita reagente, já que cora a urina e a fita reagente com pigmento alaranjado, sendo preferido nestes casos a avaliação da leucocitúria através de exame microscópico.¹¹

Hematúria microscópica ocorre em 40 a 60% das pacientes com cistite, e é incomum em vulvovaginite e uretrite. A presença de hematúria (macro ou microscópica) em paciente com suspeita clínica de cistite e leucocitúria confirma tal diagnóstico na maioria dos casos, porém se a dor abdominal for aguda e de forte intensidade, em flanco ou lombar, especialmente na ausência ou com mínima leucocitúria, cálculo urinário deve ser o diagnóstico mais provável. Já a presença de hematúria macroscópica isolada (sem dor) requer investigação de neoplasia do trato urinário. A menstruação é causa de hematúria falso-positiva. E finalmente a presença de hematúria, acompanhada de proteinúria significativa e/ou cilindrúria, deve levantar a hipótese de glomerulopatia.¹²

A urocultura pode ser dispensada nos casos de cistite não complicada. Cistite não complicada é a que ocorre em mulheres jovens, não grávidas, sem alteração anatômica ou doença do aparelho urinário, cálculo urinário ou infecção urinária de repetição. Nos casos de cistite complicada, a urocultura está indicada, já que o uropatógeno isolado e a sua sensibilidade é menos previsível. A definição microbiológica atual de cistite é urocultura com contagem de colônias $\geq 10^2$ UFC/ml, embora muitos laboratórios só consigam isolar bactérias quando a contagem de colônias é igual ou superior a 10^3 UFC/ml. Portanto, contagens de colônias inferiores a 10^5 UFC/ml devem ser valorizadas em mulheres com sintomas de cistite, e podem representar uma fase precoce desta infecção.¹³

Quadro 2: Cistite não complicada

Quando tratar empiricamente mulher jovem com suspeita de cistite, sem necessidade de solicitar urocultura ?

Mulher jovem, não grávida, sem alteração anatômica ou doença do aparelho urinário, sem cálculo urinário ou infecção urinária de repetição, que apresenta disúria, polaciúria, ausência de corrimento vaginal e leucocitúria. A presença de nitrito e/ou hematuria reforça o diagnóstico de cistite; sua ausência não afasta tal diagnóstico.

O tratamento de cistite não complicada é recomendado por 3 dias, se for utilizado fluoroquinolonas ou sulfametoxazol-trimetoprim. A opção da sulfa fica restrita a países com baixa incidência de resistência a este antibiótico, que não é o caso do Brasil. Tal duração (3 dias) apresenta menor recidiva do que dose única e mesma eficácia do que 7 dias.¹⁴ Nos casos de cistite complicada, o tratamento pode ser prolongado até 7 dias. Mais do que 7 dias de tratamento antibacteriano, aumenta significativamente os efeitos colaterais, incluindo maior incidência de candidíase vaginal.¹⁵ Já que em cistite não complicada não há necessidade de colher urocultura, a escolha do antibiótico depende do perfil local de resistência bacteriana. Antibióticos com mais de 20% de resistência, como ampicilina ou amoxicilina e sulfametoxazol-trimetoprim em várias regiões do mundo,¹⁶ não devem ser usados como antibióticos de escolha empírica.

As fluoroquinolonas, como ciprofloxacina(o), norfloxacina(o) e levofloxacina(o), representam boa escolha empírica e são atualmente as mais utilizadas. Como as enterobactérias isoladas em uroculturas apresentam, de modo geral, concentrações inibitórias mínimas (MICs) menores para ciprofloxacino do que para norfloxacino, a primeira teria, em tese, menor risco de desenvolver resistência para toda classe das fluoroquinolonas. Por este motivo, temos preferido ciprofloxacino, na dose de 250mg por via oral 12/12h por 3 dias para as cistites não complicadas; estendendo a duração para 7 dias para as cistites complicadas. Se a opção for norfloxacino, a dose é 400mg por via oral 12/12h. Já levofloxacino, a dose é 500mg via oral 1x/dia, porém o temos reservado para os casos de pneumonia ou sepsis comunitária sem foco definido. Lembrar que as quinolonas de modo geral não devem ser administradas com leite, bem como com outros cátions divalentes, já que estes diminuem sua absorção oral. Fosfomicina e levofloxacino têm aprovação para uso em dose única e também podem ser utilizadas. O uso de nitrofurantoína (não é quinolona) por 3 dias parece ser menos eficaz do que por 7 dias. Desconforto gastrointestinal é o seu principal efeito colateral. β -lactâmicos, como as cefalosporinas, representam segunda linha de tratamento de infecção urinário em adultos em populações onde as quinolonas apresentam baixa resistência, já que apresentam menor concentração urinária que as quinolonas. Por isso devem ser utilizadas por 7 dias, mesmo em cistites não complicadas. As cefalosporinas são os antibióticos mais utilizados em infecções urinárias em gestantes e em crianças, visto que as quinolonas estão contraindicadas nestas populações.^{15,17,18}

Relatos recentes no Brasil do aumento de resistência de uropatógenos comunitários às fluoroquinolonas preocupam e merecem estudos epidemiológicos atualizados.

Para mulheres com cistite de repetição pode ser oferecido diferentes estratégias: a) profilaxia pós-coital, quando os episódios de cistite estão bem relacionados com a atividade sexual; b) profilaxia toda noite; c) não fazer profilaxia e tratar os episódios de cistite. Caso se opte pela profilaxia, sulfametoxazol-trimetoprim, cefalosporina de 1ª geração e nitrofurantoína são as opções mais utilizadas.¹⁹

Quadro 3: Como tratar cistite não complicada ?

- a) Não grávida: ciprofloxacino 250mg via oral 12/12h por 3 dias, ou b) norfloxacino 400mg via oral 12/12h por 3 dias;
b) Grávida: cefadroxil 500mg via oral 12/12h por 7 dias, ou b) cefalexina 500mg via oral 6/6h por 7 dias
-

- c) Pielonefrite Aguda: enquanto a cistite, é uma infecção de mucosa (vesical), a pielonefrite aguda é uma infecção parenquimatosa (pelve renal). Por isso, na pielonefrite aguda, é comum o(a) paciente apresentar sintomas e sinais de comprometimento sistêmico, tais como: febre, calafrios, náuseas e/ou vômitos, hiporexia. Além disso, dor lombar e/ou em flanco do lado do rim comprometido é de ocorrência frequente. A maioria dos pacientes com pielonefrite aguda apresentam sintomas de cistite alguns poucos dias antes dos sintomas e sinais sistêmicos anteriormente mencionados, demonstrando a via ascendente (uretra ? bexiga ? pelve renal) que a bactéria percorre. Porém, em cerca de 20% dos casos, os sintomas de infecção do trato urinário baixo estão ausentes.¹⁷

Todo paciente com suspeita clínica de pielonefrite aguda deve colher urina para urocultura com contagem de colônias e antibiograma. Embora, considerando a sensibilidade e especificidade do exame de urocultura, seja o ideal colher o jato intermediário da primeira urina matinal, na prática, para não retardar o tratamento, prefere-se colher a urocultura no momento do atendimento ao paciente. Uroculturas com contagem de colônias $\geq 10^5$ UFC/ml de uropatógeno confirma microbiologicamente a suspeita clínica.¹⁵

A maioria dos casos podem ser tratados ambulatorialmente com ciprofloxacino 500mg por via oral 12/12h por 7 a 14 dias. Levofloxacino 500mg por via oral 1x/dia por 7 a 14 dias é igualmente eficaz.¹⁸ Já moxifloxacino não atinge níveis urinários adequados e não deve ser utilizado para tratamento de infecção urinária. Temos preferido preservar o uso ambulatorial do levofloxacino para o tratamento das pneumonias e das infecções bacterianas complicadas das vias aéreas altas, bem como sepsis comunitária sem foco clinicamente evidente na avaliação inicial. Norfloxacino não atinge níveis séricos adequados, trazendo risco de falha terapêutica nos pacientes com bacteriemia.

Os pacientes que apresentam sepsis grave ou que não toleram medicação por via oral por apresentarem náuseas e vômitos frequentes devem ser admitidos no hospital. Os pacientes admitidos devem receber o quanto antes, logo após colher urocultura, a primeira dose de ciprofloxacino 400mg por via intravenosa (IV), que deverá ser continuada de 12/12 horas até ser possível a troca para via oral (500mg 12/12h). Levofloxacino 500mg IV 1x/dia, também é adequado e pode ser trocado para via oral (500mg 1x/dia), assim que o paciente tiver condição de ingerir pela via oral, o que geralmente ocorre em 24 a 48 horas. A dose da ciprofloxacino por via intravenosa é 80% (400mg 12/12h) da dose por via oral (500mg 12/12h) porque a sua biodisponibilidade é de 80%. Já levofloxacino, por apresentar biodisponibilidade de 100%, a dose por via intravenosa é a mesma da dose por via oral (500mg 1x/dia). Tanto ciprofloxacino como levofloxacino parecem ter a mesma eficácia e segurança de uso. Análises farmacoeconômicas podem influenciar na decisão da escolha entre as duas, já que algumas apresentações por via intravenosa apresentam elevado custo. Em pacientes com contra-indicação de uso das quinolonas, gestantes por exemplo, ceftriaxona na dose de 2g por via intravenosa tem sido nossa preferência. O total da duração do uso de antibiótico para pielonefrite aguda deve ser de 7 a 14 dias.^{17,18} Em casos extremos de choque séptico ou sepsis grave em paciente que fez uso recente de quinolona, deve-se considerar a possibilidade de uropatógenos resistentes, como enterobactérias produtoras de β -lactamase de espectro estendido (“BLEE ou ESBL”). Nestes casos, carbapenêmicos devem ser considerados, mesmo para uso empírico, enquanto se aguarda o antibiograma da urocultura.

Ecografia de vias urinárias deve ser solicitada nos casos de suspeita de pielonefrite aguda complicada, tais como suspeita de litíase urinária ou abscesso renal.²⁰

Quadro 4: Como tratar pielonefrite aguda ?

1) Tratamento ambulatorial: ciprofloxacino 500mg via oral 12/12h por 7 a 14 dias.

2) Tratamento se indicado hospitalização: a) ciprofloxacino 400mg via intravenosa 12/12h, ou b) ceftriaxona* 2g via intravenosa 24/24h, ou c) carbapenêmico**

* Preferência nos casos de gestantes ou comunidades com alta resistência a fluoroquinolonas

** Pacientes de risco para enterobactérias multirresistentes, como produtoras de ESBL

Em todos os casos de pielonefrite aguda, solicitar urocultura com contagem de colônias e antibiograma

d) Uretrite: é a inflamação da uretra, mais frequentemente causada por infecção, destacando-se os patógenos sexualmente transmissíveis. Por isso, a história recente de contato sexual de risco deve ser investigada, bem como teste anti-HIV deve ser oferecido. Os sintomas mais frequen-

tes são disúria e secreção (descarga) uretral. Prurido uretral é referido por alguns pacientes. Em mulheres, é comum que estes patógenos causem concomitantemente infecção genital, como cervicite. Os 2 patógenos que mais frequentemente causam uretrite são *Neisseria gonorrhoeae* (gonococo), que geralmente causa descarga uretral e/ou cervical purulenta, e *Chlamydia trachomatis*, que geralmente se apresenta com secreção mucosa ou mucopurulenta, sendo a principal causa de uretrite não gonocócica.²¹ No Brasil, a uretrite gonocócica parece ser bem menos frequente que a não gonocócica. Os sintomas da uretrite não gonocócica tendem a ser mais leves e insidiosos. Quanto ao diagnóstico laboratorial, geralmente há leucocitúria e/ou presença de leucócitos na secreção uretral. A bacterioscopia pelo Gram demonstrando diplococos gram-negativos, frequentemente intracelulares, em paciente com secreção uretral purulenta, é patognômico da etiologia gonocócica. Muitos clínicos, porém, preferem o tratamento empírico ao atender paciente com diagnóstico clínico de uretrite pelos motivos que se seguem: a) muitos pacientes não retornam para verificar resultados de exames laboratoriais e decisão médica de tratamento; b) nos casos que a bacterioscopia pelo Gram não revela diplococos gram-negativos, a cultura para o crescimento de gonococo requer meio de cultura especial (Thayer Martin); c) o diagnóstico de uretrite por *Chlamydia trachomatis* requer métodos de biologia molecular; d) mesmo que um dos dois patógenos seja isolado, o paciente deve ser tratado para ambos, já que a coinfeção ocorre em 10 a 30% dos casos; e) o tratamento pode ser feito de forma simples, por via oral: em dose única para cada uma das infecções, ciprofloxacino 500mg para tratamento de uretrite gonocócica (baixa incidência de resistência no Brasil) e azitromicina 1g para não gonocócica (*Chlamydia trachomatis*). É importante que o parceiro(a) sexual também seja tratado(a).

Quadro 5: Tratamento de uretrite sexualmente transmissível

Ciprofloxacino 500mg via oral dose única + azitromicina 1g via oral dose única.

Sempre tratar também o(a) parceiro(a) sexual

REFERÊNCIAS

1. Mittendorf R, Williams MA, Kass EH. Prevention of preterm delivery and low birth weight associated with asymptomatic bacteriuria. *Clin Infect Dis* 1992;14:927.
2. Nicolle L, Bradley S, Colgan R, *et al.* Infectious Diseases Society of America guidelines for the diagnosis and treatment of asymptomatic bacteriuria in adults. *Clin Infect Dis*. 2005;40:643-654.
3. Harding GK, Zhanel GG, Nicolle LE, *et al.* Antimicrobial treatment in diabetic women with asymptomatic bacteriuria. *N Engl J Med*. 2002;347:1576-1583.
4. Nicolle LE. Urinary tract infection in geriatric and institutionalized patients. *Curr Opin Urol*. 2002;12:51-55.
5. Raz R. Asymptomatic bacteriuria. Clinical significance and management. *Int J Antimicrob Agents* 2003;22(suppl 2):45.
6. Patterson JE, Andriole VT. Detection, significance, and therapy of bacteriuria in pregnancy. Update in the managed health care era. *Infect Dis Clin North Am*. 1997;11:593-608.
7. Olson ES, Cookson BD. Do antimicrobials have a role in preventing septicemia following instrumentation of the urinary tract? *J Hosp Infect*. 2000;45:85-97.
8. Bent S, Nallamothu BK, Simel DL, *et al.* Does this woman have an uncomplicated urinary tract infection? *JAMA* 2002;287(20):2701-10.
9. Holmes KK, Stamm WE, Sobel JD. Lower genital tract infections in women: cystitis, urethritis, vulvovaginitis, and cervicitis. In: Holmes KK, Mardh P-A, Sparling PF, *et al.* ed. Sexually transmitted diseases, 4th ed. New York: McGraw Hill; 2008:629:640.
10. Fihn SD, *et al.* Clinical practice: Acute uncomplicated urinary tract infection in women. *N Engl J Med* 349:259, 2003.
11. Bent S, Saint S. The optimal use of diagnostic testing in women with acute uncomplicated cystitis. *Am J Med*. 2002;113(Suppl 1A):20S-28S
12. Pappas PG. Laboratory in the diagnosis and management of urinary tract infections. *Med Clin North Am* 1991; 75:313-325.
13. Kunin CM, White LV, Hua TH. A reassessment of the importance of "low-count" bacteriuria in young women with acute urinary symptoms. *Ann Intern Med*. 1993;119:454-460.
14. Katchman EA, Milo G, Paul M, Christianens T, Baerheim A, Leibovici L. Three-day vs longer duration of antibiotic treatment for cystitis in women: systematic review and meta-analysis. *Am J Med* 2005; 118(11):1196-207.
15. Warren JW, Abrutyn E, Hebel JR, *et al.* Guidelines for antimicrobial treatment of uncomplicated acute bacterial cystitis and acute pyelonephritis in women. Infectious Diseases Society of America (IDSA). *Clin Infect Dis*. 1999;29:745-758.

16. Karlowsky JA, Kelly LJ, Thornsberry C, *et al.* Trends in antimicrobial resistance among urinary tract infection isolates of *Escherichia coli* from female outpatients in the United States. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002;46:2540-2545.
17. Nicolle LE. Uncomplicated urinary tract infection in adults including uncomplicated pyelonephritis. *Urol Clin North Am.* 2008;35:1-12.
18. Hooton TM. The current management strategies for community-acquired urinary tract infection. *Infect Dis Clin North Am.* 2003;17:303-322.
19. Albert X, Huertas I, Pereiro I. Antibiotics for preventing recurrent urinary tract infection in non-pregnant women. *Cochrane Database Syst Rev.* 2004(3):CD001209.
20. Rubenstein JN, Schaeffer AJ. Managing complicated urinary tract infections: The urologic view. *Infect Dis Clin North Am.* 2003;17:333-351.
21. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines. 2006. *MMWR Morb Mortal Weekly Rep.* 2006;55:1-94

41. PROFILAXIA DAS INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO

Mônica Maria Gomes da Silva

Infecção do trato urinário (ITU) está entre as principais causas de infecção bacteriana e acomete desde pacientes com doença urogenital a jovens saudáveis sem comorbidades.¹ Ainda, estima-se que 30 a 40% das mulheres apresentam (ITU) recorrente. Há vários anos estratégias de profilaxia vem sendo estudadas com o intuito de evitar a ocorrência de ITU. Além da quimioprofilaxia realizada com o uso de antibióticos, agentes imunostimulantes e vacina contra *Escherichia coli* estão em investigação para aumentar o armamentário de opções para prevenção da ITU.

Profilaxia com antimicrobianos

O agente ideal para ser usado em profilaxia da ITU deve apresentar as seguintes características: ser usado por via oral, excretado principalmente pela urina, ativo contra os principais agentes causadores de ITU (levando em conta dados de resistência local), seguro, sem toxicidade significativa e de baixo custo.² Na indicação do antibiótico a ser utilizado, em geral, duas regras são lembradas: a dose eficaz para profilaxia costuma ser um quarto da dose de tratamento e drogas habitualmente utilizadas para tratamento devem, se possível, ser evitadas como profilaxia. Finalmente, a profilaxia deve ser iniciada após documentação de urocultura negativa.

Quando indicar profilaxia?

O momento certo para indicar profilaxia é controverso na literatura. Alguns especialistas indicam profilaxia após o segundo episódio de ITU no ano, enquanto outros indicam após 6 episódios ao ano.³ O desejo do paciente deve ser levado em consideração na escolha do momento ideal para a indicação da profilaxia.

Quais antimicrobianos usar como profiláticos?

Vários antimicrobianos foram estudados na prevenção de ITU, estando os principais descritos no quadro 1. Nitrofurantoína, ciprofloxacina, norfloxacina, sulfametoxazol-trimetoprim, cefalexina e cefaclor compreendem a grande maioria dos estudos publicados, sendo que estudos comparativos entre eles, em geral, não demonstraram superioridade de uma droga sobre a outra. Nas comparações com placebo, entretanto, o uso da profilaxia com aqueles antibióticos se mostrou superior que o placebo para desfechos microbiológicos e clínicos.³

Quadro 1: Agentes antimicrobianos e regimes utilizados nos principais ensaios clínicos randomizados de profilaxia de ITU publicados

ANTIMICROBIANO	REGIME ESTUDADO
NORFLOXACINA	200 A 400MG AO DIA
CIPROFLOXACINA	250 A 500MG AO DIA
SULFAMETOXAZOL-TRIMETOPRIM	200/40 AO DIA E PÓS-COITAL
CEFALEXINA	125 A 250MG AO DIA
CEFACTOR	250MG AO DIA
NITROFURANTOÍNA	50 A 100MG AO DIA E PÓS-COITAL

A frequência da utilização do antibiótico (diário, semanal, mensal, pós-coito) e seu tempo de uso também são informações controversas. Como se sabe que mulheres com maior frequência sexual por semana apresentam recorrência maior de infecção do trato urinário, pacientes que apresentam ITU relacionada com atividade sexual beneficiam-se de profilaxia pós-coital, ou seja, o uso de antibiótico é restringido a uma dose após a relação sexual.⁴ Essa estratégia é tão eficaz em prevenir ITU em mulheres quanto o uso diário do antimicrobiano e pode ser uma opção. Ainda, um estudo comparou pefloxacina 400mg 1 vez por semana com doses do mesmo antimicrobiano porém com doses 1 vez mês.⁵ A recorrência microbiológica foi menor com o uso semanal, sendo que para os antimicrobianos disponíveis no Brasil, o uso indicado é diário ou pós-coital, caso a ITU tenha ou não relação com atividade sexual.

A grande maioria dos estudos publicados acompanhou pacientes com até 12 meses de profilaxia.³ A decisão sobre o tempo de uso da profilaxia deve ser individualizada, levando em conta aspectos pessoais das pacientes, como viagem e compromissos profissionais.

O impacto ecológico da profilaxia com antimicrobiano deve ser levado em consideração na escolha desta abordagem. Os agentes utilizados como profiláticos podem modificar a microbiota intestinal, colonização periuretral e vesical de forma distinta (quadro 2).² Os dados de resistência locais devem ser conhecidos a fim de se escolher uma profilaxia adequada e eficaz, além de regimes com acompanhamento adequado com cautela para indução de resistência bacteriana.⁶

Quadro 2: propriedade dos agentes profiláticos no seu efeito nos potenciais patógenos de acordo com sua localização no organismo

Agente	Efeito na remoção de patógenos do (a)		Efeito antibacteriano na urina
	Microbiota intestinal	Área periuretral	
SMZ-TMP	+	+	+
Quinolonas	+	+	+
Nitrofurantoína	-	-	+
Cefalosporina oral	-	-	+
Antissépticos tópicos	-	+	-

+ = eficaz; - = efeito ausente; SMZ-TMP (sulfametoxazol-trimetoprim)

A desvantagem do uso de profilaxia com antimicrobianos quando comparado a outras formas de profilaxia e placebo é a maior ocorrência de eventos adversos. Quinolonas podem estar relacionadas com lesões de partes moles, como tendões e ligamentos, enquanto nitrofurantoína e SMZ-TMP podem causar significativa intolerância gastrointestinal.³ Ainda, nitrofurantoína foi relacionada com a ocorrência de eventos adversos pulmonares agudos, subagudos e crônicos, pouco comuns. Pneumonia e fibrose pulmonar estão relatados na literatura como consequência do uso em estratégia de tratamento e profilaxia.⁷

Profilaxia em populações especiais: gestantes

Sabe-se que a ocorrência de ITU em gestantes pode estar relacionada com baixo peso ao nascer e trabalho de parto prematuro. Assim, recomenda-se triagem de bacteriúria assintomática em gestantes. Nas mulheres que apresentam recorrência do tratamento da bacteriúria ou mesmo história de ITU recorrente antes da gestação discute-se a importância da profilaxia com antibióticos. Um estudo com mulheres que apresentavam infecção do trato urinário recorrente investigou a profilaxia pós-coital com dose única de nitrofurantoína 50mg ou cefalexina 250mg nessa população.⁸ Uma ITU ocorreu no grupo profilaxia comparado a 130 episódios durante 7 meses de acompanhamento, mostrando que o uso da profilaxia foi associado a menor ocorrência de ITU também nessa população. Deve-se discutir com a paciente e o obstetra a segurança dos principais antimicrobianos na gestação, evitando-se em geral SMZ-TMP nos primeiro e terceiro trimestres. Alguns autores, ainda, recomendam profilaxia com antimicrobiano até o termo para gestantes que falharam ao segundo curso de tratamento de bacteriúria assintomática.

Profilaxia em populações especiais: crianças

É bastante controversa a indicação de antibiótico profilático em ITU em crianças. Porém, há relatos de que a principal indicação de uso prolongado de antibióticos em criança é profilaxia de ITU.⁹ Na Europa há estudos que demonstram correlação entre resistência microbiana e uso de antibióticos ambulatorialmente, sugerindo que crianças, grandes consumidores de antibióticos em vários países, usam até 3 vezes mais antibióticos que adultos mais velhos, aumentando o risco de infecção por agente resistente.¹⁰

Roussey-Kesler e colaboradores¹¹ publicaram um estudo prospectivo, multicêntrico, randomizado de profilaxia com SMZ-TMP comparado com não tratamento para prevenção de ITU em 225 crianças de 1 mês a 3 anos de idade com refluxo vesicoureteral (RVU) graus I a III, seguidos por 18 anos. Não houve demonstração de benefício no uso da profilaxia, exceto na análise de subgrupo que incluiu meninos ($p=0.013$) que apresentavam RVU grau III.

Dos estudos publicados que incluíram crianças, algumas conclusões podem ser tiradas. Primeiro, após um episódio de ITU febril, não há indicação de profilaxia com antibiótico. Também não há indicação clara para pacientes que apresentam

RVU graus I e II. Para os pacientes com RVU graus III e IV não se pode concluir se há benefício, de acordo com dados da literatura. Poucos pacientes com graus mais severos de refluxo foram incluídos nos estudos, o que não permite tirar uma conclusão mais clara.¹⁰ É importante ainda ressaltar que nos estudos de profilaxia em crianças, pacientes que apresentaram ITU febril por germe resistente eram na grande maioria pacientes dos grupos de profilaxia, mostrando o maior risco de infecção por agente resistente nos pacientes com longos períodos de uso de antibiótico.¹¹

Profilaxia em populações especiais: usuários de catéteres urinários

Não há indicação de uso de antibiótico sistêmico para prevenção de ITU para pacientes usuários de sonda vesical, devido ao elevado risco de indução de resistência bacteriana. O uso de produtos não antibióticos, como suco de cranberry, sais de metenamina e imunostimulantes não se mostraram eficazes na redução da bacteriúria assintomática nesta população.¹²

Agentes não antimicrobianos: imunostimulantes, suco de cranberry (oxicoco), e estrogênio

O aumento da prevalência de resistência bacteriana nas bactérias causadoras de ITU torna a possibilidade de profilaxia com agente não antibiótico bastante atrativa. Vários lisados bacterianos foram desenvolvidos, sendo alguns para uso intravaginal, parenterais ou orais. Extratos bacterianos podem agir como estimulantes do sistema imune através da ativação de células dendríticas derivadas de monócitos, podendo alterar sua função e maturação.¹³

Dos produtos disponíveis no mercado, o OM-89 foi investigado em estudos randomizados, publicados, comparando o produto a placebo como profilaxia de ITU.¹⁴ Recentemente, uma metanálise avaliou 5 estudos realizados comparando-se lisados bacterianos com placebo, com objetivo de mostrar redução em bacteriúria e ITU. Em 2 estudos, menos pacientes apresentaram disúria e potencialmente leucocitúria e bacteriúria no grupo ativo comparado ao controle (placebo), e estes agentes diminuíram em aproximadamente 1/3 a ocorrência de ITU. Não há dados sobre os demais fatores de risco para ITU nestas populações, como sexo, "status" secretor, alterações hormonais, e é possível que alguns grupos se beneficiem mais que outros com esse tipo de agente. Ainda, não há estudos que comparem os imunostimulantes com antimicrobianos até o momento e os dados publicados ainda são escassos em comparação a profilaxia com antimicrobianos.¹⁵ O uso de suco ou extrato de *cranberry*, fruta conhecida como oxicoco no Brasil, foi bastante investigado nos Estados Unidos por ser de fácil acesso naquele país e possível prevenção sem risco de aumentar a resistência bacteriana. Uma metanálise publicada dos estudos com *cranberry* mostrou que quando comparado ao placebo, seu uso (como suco, cápsulas ou comprimidos) diminuiu a recorrência de ITU, especialmente em mulheres. Seu efeito em pacientes com uso crônico de catéteres, homens e idosos é menos evidente.¹⁶

Sabe-se que na ausência de estrogênio, a micromicrobiota periuretral e vaginal se modifica significativamente, com redução da quantidade de *Lactobacillus* e aumento da presença de *Escherichia coli*¹⁷. Assim, o uso de estrogênios tópicos em mulheres pós-menopausada está associado a diminuição da ocorrência de ITU. Por outro lado, deve-se ter cautela pois a melhora da atrofia vaginal com a utilização de estrogênios pode tornar a atividade sexual mais confortável nessas pacientes e o aumento da frequência sexual pode estar relacionado com maior ocorrência de ITU¹⁸.

Vacinas

Devido ao grande número de infecções comunitárias causadas por *E. coli* extraintestinal (ExPEC), existe grande interesse em se desenvolver outras formas de prevenção que não uso prolongado de antimicrobianos. Existe, entretanto, uma grande diversidade de polissacarídeos de superfície das ExPECs, o que torna o desenvolvimento de vacina desafiador. Estudos recentes mostraram que imunização nasal com ExPEC viva produz resposta imunológica sistêmica significativa, porém, mesmo com ExPEC fazendo parte da microbiota normal dos humanos e de provavelmente ingerirmos essa bactéria diariamente, um pequeno risco de infecção, como sinusite, associado ao uso nasal pode acontecer.¹⁹ Outros alvos de vacina também estão em investigação e formulações distintas, desde nasal, oral, parenteral e intravaginal.

REFERÊNCIAS

1. Johnson JR, Stamm WE. Urinary tract infections in women: diagnosis and treatment. *Ann Intern Med* 1989;111:906–17.
2. Brumiffit W, Hamilton-Miller JMT. Efficacy and safety profile of long-term nitrofurantoin in urinary infections: 18 years' experience. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (1998) 42, 363–371.
3. Albert Xavier, Huertas Isabel, Pereiro Inmaculado, Sanfélix José, Gosalbes Victoria, Perrotta Carla. Antibiotics for preventing recurrent urinary tract infection in non-pregnant women. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. In: *The Cochrane Library*, Issue 1, Art. No. CD001209. DOI:10.1002/14651858.CD001209.pub3
4. Stapleton A, Latham RH, Johnson C, Stamm WE. Postcoital antimicrobial prophylaxis for recurrent urinary tract infection. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *JAMA* 1990;264:703-6.
5. Guibert J, Humbert G, Meyrier A, Jardin A, Vallancien G, Piccoli S. Antibio-prevention of recurrent cystitis. A randomized double-blind comparative trial of 2 dosages of pefloxacin. *Presse Medicale*. 1995;24:213-6.
6. Baerheim A. Empirical treatment of uncomplicated cystitis. *BMJ* 2001;323:1197-8.
7. Williams EM, Triller DM. Recurrent acute nitrofurantoin-induced pulmonary toxicity. *Pharmacotherapy*. 2006 May;26(5):713-8.
8. Pfau A, Sacks TG. Effective prophylaxis for recurrent urinary tract infections during pregnancy. *Clin Infect Dis*. 1992 Apr;14(4):810-4.
9. Profilaxia ATB em criança para ITU: Urinary tract infections: to prophylaxis or not to prophylaxis? Giovanni Montini & Ian Hewitt. *Pediatr Nephrol* (2009) 24:1605–1609.
10. Williams Gabrielle, Wei Lei, Lee Anna, Craig Jonathan C. Long-term antibiotics for preventing recurrent urinary tract infection in children. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. In: *The Cochrane Library*, Issue 1, Art. No. CD001534. DOI: 10.1002/14651858.CD001534.pub4
11. Roussey-Kesler G, Gadjos V, Idres N, Horen B, Ichay L, Leclair MD, Raymond F, Grellier A, Hazart I, de Parscau L, Salomon R, Champion G, Leroy V, Guignon V, Siret D, Palcoux JB, Taque S, Lemoigne A, Nguyen JM, Guyot C. Antibiotic prophylaxis for the prevention of recurrent urinary tract infection in children with low grade vesicoureteral reflux: results from a prospective randomized study. *J Urol*. 2008 Feb;179(2):674-9.
12. Hooton TM, Bradley SF, Cardenas DD, Colgan R, Geerlings SE, Rice JC, Saint S, Schaeffer AJ, Tambayh PA, Tenke P, Nicolle LE. Diagnosis, Prevention, and Treatment of Catheter-Associated Urinary Tract Infection in Adults:2009 International Clinical Practice Guidelines from the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases* 2010;50:625–663.

13. Schmidhammer S, Ramoner R, Holtl L, Bartsch G, Thurnher M, Zelle-Rieser C. An *Escherichia coli*-based oral vaccine against urinary tract infections potentially activates human dendritic cells. *Urology* 2002;60:521–6.
14. Bauera HW, Alloussib S, Cozmae GG, Schulman CC. A Long-Term, Multicenter, Double-Blind Study of an *Escherichia Coli* Extract (OM-89) in Female Patients with Recurrent Urinary Tract Infections. *European Urology* 47 (2005) 542–548.
15. Immunoactive prophylaxis of recurrent urinary tract infections: ameta-analysis Kurt G. Nabera, Yong-Hyun Chob, Tetsuro Matsumotoc, Anthony J. Schaef-ferd. *International Journal of Antimicrobial Agents* 33 (2009) 111–119
16. Jepson Ruth G, Craig Jonathan C. Cranberries for preventing urinary tract infections. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. In: *The Cochrane Library*, Issue 1, Art. No. CD001321. DOI:10.1002/14651858.CD001321.pub2
17. Stamm WE, Raz R. Factors contributing to susceptibility of postmenopausal women to re- current urinary tract infections. *Clin Infect Dis* 1999; 28:723–5.
18. Walter E. Stamm. Estrogens and Urinary-Tract Infection. *JID* 2007:195 (1 March), 623-4.
19. Russo T, Magistrelli G, Herbault N *et al.* Generation of isogenic K54 capsule-deficient *Escherichia coli* strains through TnphoA-mediated gene disruption. *Molec. Microbiol.* 9, 357–364 (1993).

42. MÉTODOS *IN VITRO* PARA ESTUDOS DE INFECÇÕES URINÁRIAS

Márcia Regina Eches Perugini
Regina Mariuza Borsato Quesada

Introdução

As infecções do trato urinário (ITU) acometem pacientes de todas as idades, desde o neonato até o idoso, tanto nas comunitárias quanto aquelas relacionadas à assistência em saúde. Estão em terceiro lugar na lista de infecções bacterianas mais comuns com aproximadamente 4.5 milhões de casos diagnosticados anualmente. *Escherichia coli* (*E. coli*) é o agente causal mais frequente, sendo responsável por 80% de todas as ITUs não complicadas.^{1, 2}

As infecções associadas a catéteres vesicais têm sido consideradas, por alguns autores, como uma das infecções hospitalares mais comuns, correspondendo a mais de um milhão de casos por ano, em hospitais e em *home care*.^{3, 4, 5, 6, 7} Dados americanos indicam que as infecções urinárias representam cerca de 40% das infecções adquiridas em hospitais.^{8, 9} Em outro estudo realizado pelo Consórcio Internacional de Controle de Infecções Hospitalares (*International Nosocomial Infection Control Consortium- INICC*), um grupo que reúne dados de hospitais dos vários continentes, foi relatado que, entre 802.808 pacientes-dia internados em unidade de terapia intensiva, 541.640 tiveram catéter urinário de demora inserido durante sua internação e destes, 6,3 por 1.000 pacientes-dia desenvolveram ITU.¹⁰

Apesar de serem consideradas condições benignas, as ITUs podem causar impacto significativo na qualidade de vida dos indivíduos acometidos e nos encargos para o sistema de saúde, predominantemente devido à alta incidência. Os custos diretos incluem consultas médicas ambulatoriais, diagnóstico laboratorial, uso de antimicrobianos e despesas com internação, bem como os custos associados ao tempo de trabalho perdido e à morbidade.⁶

Entre os pacientes recém-cateterizados, as ITUs são frequentemente assintomáticas (90%), sendo que o tempo de permanência do catéter é o fator de risco mais importante para o desenvolvimento de bacteriúria associada.⁶ Alguns pacientes permanecem cateterizados por apenas dois a quatro dias,¹¹ porém outros podem permanecer por muito tempo. O longo período de permanência dos catéteres na uretra pode levar à formação de biofilmes bacterianos sobre a superfície externa e interna do catéter e até bloquear totalmente o fluxo de urina da bexiga.¹² Em serviços de assistência de longa permanência, da mesma forma, a bacteriúria assintomática relacionada a catéter é a infecção mais comum.¹³

Embora a maioria dos casos de bacteriúria associada a catéter seja assintomática, nos casos em que ocorrem sintomas é possível que sejam observadas febre, uretrite, cistite a pielonefrite aguda, cálculo renal e bacteremia, podendo ocorrer inclusive sepse e morte.¹⁴ Enfim, a taxa de recorrência é alta e as infecções tendem a se tornar crônicas, com vários episódios.¹⁵ Muitos pacientes internados permanecem sondados por apenas dois a quatro dias, mas outros são sondados por períodos mais longos e nestes a infecção é praticamente inevitável.¹¹

A frequência, as complicações e a recorrência associada às ITUs justificam a grande preocupação nos dias de hoje e evidenciam a necessidade de estudos que possibilitem o entendimento da patogênese e tratamento deste tipo de infecção.

O conhecimento das vias de transmissão, dos fatores de virulência dos micro-organismos e do tratamento pode ser utilizado no combate das ITUs.¹⁶ Na maioria das vezes, as ITUs são causadas por micro-organismos que se disseminam a partir das vias urinárias e trato gastrointestinal utilizando-se de estratégias específicas para infectar o trato urinário, entre elas colonização da mucosa ou catéter, evasão do sistema imune, replicação e danos às células do hospedeiro.¹⁷

A disseminação de micro-organismos é facilitada pela capacidade de invasão destes nos tecidos e órgãos, onde expressam os fatores de virulência e criam o ambiente favorável para sua proliferação e proteção do sistema imune. *Escherichia coli* uropatogênica (UPEC), considerada o agente etiológico mais frequente de ITU, por exemplo, ao alcançar o trato urinário, inicialmente coloniza a bexiga e posteriormente causa cistite, mas também pode atingir os ureteres e rins, podendo causar pielonefrite. O trato urinário que é normalmente estéril, quando invadido por esta bactéria aciona a resposta inflamatória do hospedeiro com produção de citocinas, influxo de neutrófilos, esfoliação de células epiteliais da bexiga infectada.^{18, 19}

UPEC, entretanto, são capazes de contornar essa resposta imune inata do hospedeiro, colonizando e persistindo no trato urinário. A capacidade de adesão de UPEC ao hospedeiro é fundamental para que ocorram colonização e invasão das células epiteliais do trato urinário, a despeito do fluxo e volume urinários. Dentro das células epiteliais da bexiga, UPEC são englobadas por membranas, com características semelhantes aos lisossomos ou endossomos.²⁰

As bactérias são capazes de invadir e se multiplicar nas células diferenciadas da superfície no lúmen da bexiga, formando grandes comunidades intracelulares tipo biofilme. O fenômeno já foi observado em modelos animais e em seres humanos.^{20, 21, 22}

Adaptações fisiológicas como o crescimento em biofilmes, associados à resistência a antimicrobianos, intrínseca ou adquirida, prejudicam o tratamento destas infecções. Soma-se ao fato o baixo interesse da indústria farmacêutica no desenvolvimento de novos antimicrobianos, considerando as dificuldades técnicas e econômicas, uma vez que há necessidade de grande investimento e para rapidamente constatar-se o surgimento de resistência, o que limita o uso das novas drogas, especialmente contra micro-organismos gram-negativos.²³

Uma estratégia promissora para amenizar as dificuldades de tratamento seria o desenvolvimento de novos antimicrobianos que utilizassem como alvos, genes que

não fossem essenciais para os hospedeiros, na tentativa de bloquear os problemas causados pelos patógenos e prevenir a interação parasita-hospedeiro, assim como acontece com as espécies não patogênicas.^{16, 24}

A pressão para desenvolver antimicrobianos com novos modos de ação colocaram o estudo dos mecanismos de virulência da bactéria no centro das atenções. Para tanto, inúmeros genes de virulência têm sido identificadas através de análises genéticas e de modelos de estudo, *in vivo e in vitro*.²⁵ Recentemente têm sido propostos, ainda, modelos genéticos duplos para estudar a patogênese das infecções, não apenas do lado do patógeno, mas também do lado do hospedeiro.²⁶

Evidentemente, os melhores são os ensaios clínicos controlados em seres humanos devido às interações complexas que existem entre os patógenos e o hospedeiro, especialmente para estudos farmacocinéticos, e continuam a ser o teste final.

Porém, além do custo excessivo, os ensaios clínicos são lentos, tendem a avaliar um número relativamente baixo de pacientes, e são limitados por questões éticas.¹⁶

Modelos alternativos, como aqueles que utilizam organismos inferiores e plantas, podem propiciar uma abordagem prática relativamente rápida e ética, para o estudo da virulência de bactérias e da eficácia da droga. Os modelos envolvendo animais resolvem parcialmente estes problemas, porém diferenças entre os seres humanos e espécies de animais tornam a avaliação destes modelos problemáticas. Ao lado destas questões, experimentos animais são trabalhosos e requerem o uso de grande número de amostras para obter resultados estatisticamente significativos. Assim, questões do bem estar do animal, dos custos, do tempo consumido, e da dificuldade de avaliar os efeitos que as mudanças nas condições de crescimento devem ser considerados.¹⁶

Modelos *in vitro* que simulem condições *in vivo*, por outro lado, podem fornecer resultados reprodutíveis e precisos, simular colonização *in vivo* e contribuir significativamente para o desenvolvimento de tratamentos.²⁷ É evidente que a complexidade da etiologia e do tratamento da infecção são virtualmente impossíveis de simular em um modelo *in vitro*. Apesar disso, a concordância verificada entre estes modelos e os modelos animais, assim como entre os ensaios clínicos, torna opção bastante atraente.

Os avanços da genética, por sua vez, têm permitido a manipulação de genomas bacterianos e a criação de uma variedade infinita de bactérias recombinantes e, já que a utilização de modelos de mamíferos para esta finalidade não é razoável, os modelos de infecção *in vitro* constituem uma alternativa valiosa, portanto, sistemas *in vitro*, que utilizam células humanas do trato urinário, podem servir de modelo para testar o potencial de virulência de micro-organismos e sua relação com ITU.

Desde a década de 50, quando ensaios *in vitro* analisaram a capacidade de hemaglutinação das fímbricas, pilis e adesinas, os modelos *in vitro* de interação bactéria e célula eucariótica têm sido amplamente utilizados, e fornecido informações importantes sobre a patogenicidade bacteriana, susceptibilidade do hospedeiro e eficácia do tratamento.^{12, 28, 29, 30, 31, 32}

Experimentos relativos à adesão bacteriana^{33, 34, 35, 36} permitiram caracterizar os patógenos urinários, sua frequência e mecanismos de patogenicidade no trato

urinário.³⁷ A utilização de células do epitélio urinário humano como alvo de ligação para *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* (*P. mirabilis*) e outras espécies, isoladas de diferentes formas clínicas de ITU, demonstraram diferenças na capacidade de ligação e afinidade por diferentes tipos de células do epitélio urinário.³⁸ Os primeiros estudos que utilizaram modelos *in vitro* têm sido utilizados para investigar as interações entre UPEC e o epitélio urinário utilizaram culturas de células em monocamadas.^{20, 39, 40, 41, 42, 43, 44} A partir de estudos com culturas de células deste tipo, assim como com modelos *in vivo* de ITU, sugerem que a aderência e invasão de micro-organismos como UPEC, nos tecidos do hospedeiro contribuem significativamente para o seu estabelecimento, bem como para sua persistência destes micro-organismos no trato urinário e a reincidência de infecções.^{45, 46, 47, 48, 49, 50, 51}

Poteriormente foi desenvolvido um modelo de células que permitiram a formação de organoides tridimensionais (3-D).^{52, 53} As estruturas 3-D apresentavam atributos celulares que correspondem ao tecido vivo, como polaridade celular, produção de uma matriz extracelular, e apresentam diferenciação órgão específica.^{52, 54, 55} São, portanto, um sistema mais relevante biologicamente para o estudo de certos aspectos da patogênese microbiana do que as culturas de tecido bidimensionais.⁵⁵

Dados moleculares podem ser facilmente obtidos mesmo na ausência de um modelo experimental ou de um organismo geneticamente manipulável para avaliar fatores de virulência e como ocorrem as interações parasita-hospedeiro.^{57, 58} A partir destes dados foi possível desenvolver estudos *in vitro* que utilizassem a pressão seletiva para avaliar dados genômicos de virulência.^{59, 60}

Outra ferramenta utilizada para avaliar a patogênese de ITU *in vitro* se baseia na informática. A análise computacional hoje é essencial para a compreensão das estruturas e funções relacionadas aos diversos sistemas biológicos. Os avanços da biologia experimental, verificados nos últimos anos, possibilitaram realizar estudos moleculares e organizacionais de muitos processos biológicos e fisiológicos, com mais detalhes do que foi possível até então.⁶¹

Métodos *in vitro* que se baseiam neste tipo de análise podem ser úteis na correção de algumas deficiências e verificados nos modelos tradicionais e assim melhorar a capacidade de prever desfechos clínicos.⁶² A utilização da bioinformática permite definir de características funcionais de circuitos biomoleculares *in vitro*, e assim controlar várias condições como mudança de temperatura, introdução de ruídos entre outros efeitos, mecanismos estes que podem alterar a expressão de vários determinantes genéticos de virulência e têm sido utilizados em várias pesquisas.^{63, 64, 65, 66, 67, 68, 69}

No contexto, Richter e colaboradores⁷⁰ desenvolveu um modelo que empregava um biochip para estudar como os biofilmes são formados sob condições controladas, como variação da velocidade de fluxo da urina e temperatura.

Embora os sistemas experimentais possam ser formulados para uma grande variedade de situações, o entendimento da dinâmica molecular, da regulação gênica, da transdução de sinais, e de outros sistemas biológicos muda muito rapidamente e acarreta necessidade de desenvolvimento de novos modelos cada vez mais sofis-

ticados. Estudos que se baseiam nestes modelos têm se tornado ferramentas cada vez mais úteis no contexto geral da biologia computacional e de sistemas e podem contribuir para a redução de requisitos para análise de determinados processos biológicos, além de identificar componentes de módulos biológicos. Entretanto, a complexidade dos sistemas de modelos biológicos tem demonstrado necessidade de automação deste processo.⁶¹

Vários estudos têm utilizado um modelo físico simples do trato urinário, proposto por Flowers e colaboradores,⁷¹ o qual tenta reproduzir a bexiga cateterizada, para maior compreensão da formação, prevenção de biofilmes, assim como para avaliar a terapêutica antimicrobiana.^{12, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79} Tais modelos *in vitro* podem não substituir estudos *in vivo*, mas apresentam utilidade significativa pois simulam o regime de dose em pacientes que, aliados aos testes de sensibilidade clínica e associados aos resultados dos estudos *in vivo*, parecem prever parâmetros farmacodinâmicos. Entre os benefícios podem ser destacados a redução de custos para o desenvolvimento de drogas, além de redução da exposição de animais e de seres humanos. Embora existam desvantagens, existem características atraentes nos sistemas *in vitro*, não compartilhadas nas abordagens *in vivo*.⁶²

Métodos para Estudos *in vitro* de Adesinas

Métodos para estudo de tropismo de uropatógenos

Tem sido constatado em diversos estudos que micro-organismos uropatogênicos apresentam tropismo por determinados componentes das células que compõem os órgãos urinários. A afinidade está relacionada aos tipos de fímbrias e adesinas bem como aos receptores encontrados nas diferentes células ao longo do trato urinário.

As fímbrias de *E. coli* uropatogênicas foram classificadas inicialmente de acordo com sua capacidade de hemaglutinação em 3 categorias. Assim a primeira delas engloba as fímbrias P e S que acarretam aglutinação de eritrócitos humanos manose resistente⁷⁹ a segunda as fímbrias tipo 1, manose sensível^{81, 82} e a terceira as fímbrias F1c, que não pertence a nenhuma categoria de hemaglutinação conhecida.^{83, 84, 85}

As primeiras fímbrias descritas foram a tipo 1 e a pili P. Um dos primeiros estudos para verificar a interação entre células renais e os uropatógenos foi feito por Roberts e colaboradores⁸⁶ e por Svenson e Källenius.⁸⁷ Nestes os pesquisadores verificaram a presença de receptores para pili P em rins de primata. Posteriormente, utilizando células marcadas com fluorocromo, foi comprovada a interação entre UPEC e células de rins humanos⁸⁸ Da mesma forma, Nowicki e colaboradores³⁹ detectaram receptores específicos utilizando cortes histológicos de rins e comprovaram as diferenças de tropismo das diferentes fímbrias expressas por *E. coli* uropatogênica.

A partir de anticorpos e substâncias análogas que inibem a ligação de adesinas foram identificadas moléculas receptoras que servem de sítio de ligação para pili P em tecidos renais. Nos estudos realizados por Karr e colaboradores,⁸⁹ duas fímbrias geneticamente relacionadas chamadas Pap e Pap-2 ou Prs foram clonadas por meto-

dologia molecular em *E. coli* J 96, o que permitiu a identificação de diferentes sítios de ligação em células renais e eritrócitos.

Experimentos que utilizaram coloração de tecidos infectados com *E. coli* que expressavam pili P ou fimbria Dr marcadas com substâncias fluorescentes evidenciaram que *E. coli* fimbria P se ligam preferentemente ao lúmen dos túbulos renais, enquanto que as células de *E. coli* que apresentam fimbria Dr se ligam ao tecido intersticial e à cápsula de Bowman.^{90, 91} Estes achados combinados com os de variação de fase contribuíram para o conceito geral que a cultura bacteriana contém diferentes tipos de células que interagem com diferentes segmentos do trato urinário.⁹²

Posteriormente, Eto e colaboradores²⁰ identificaram as moléculas receptoras a partir de culturas de células epiteliais da bexiga com *E. coli* portadora da fimbria tipo 1. Utilizando anticorpos específicos contra moléculas que são expressas na superfície destas células, identificaram que as subunidades das integrinas $\alpha 3 \beta 1$ são os receptores da adesina fimH encontrada neste tipo de fimbria. Os anticorpos possibilitaram o bloqueio da invasão bacteriana das células da bexiga sem, entretanto, acarretar diminuição da aderência.

Estudos *in vitro*, assim como com modelos *in vivo*, realizados por Martinez e colaboradores,⁴¹ sugerem que UPEC comanda a maquinaria endocítica e exocítica nas células uroepiteliais durante a infecção, permitindo que as bactérias permaneçam em vesículas fusiformes, para posteriormente, serem reintroduzidas no lúmen da bexiga durante a distensão.

Posteriormente, Thumbikat e colaboradores⁴⁵ relataram o papel de sinalização da proteína UPIIIa, o uroplakin somente com um domínio de um potencial de sinalização citoplasmática, na invasão bacteriana e apoptose, até então desconhecidos. Em resposta à ligação da adesina fimH, a cauda citoplasmática da proteína UPIIIa sofre fosforilação de um resíduo específico de treonina por uma caseína quinase II, seguido de uma elevação de cálcio intracelular. Utilizando anticorpos mono-específicos, estes e outros pesquisadores examinaram a expressão de uroplakins em culturas de células PD07i, uma linhagem de células do epitélio urinário humano normal, que é competente para induzir apoptose por TNF.^{45, 93, 94, 95} A inibição farmacológica destes eventos sinalizadores revoga a invasão bacteriana e apoptose do epitélio uretral *in vitro* e *in vivo*. A mutação de vários sítios de fosforilação na cauda citoplasmática da integrina $\beta 1$ (treoninas, alaninas, tirosinas e fenilalaninas) também atenuou a invasão de *E. coli* mediada por fimH.⁴⁵

É provável que outros receptores do hospedeiro, além de integrina $\beta 1 \alpha 3$ também possam estar envolvidos neste processo de invasão, desta maneira, novas pesquisas ainda são necessárias para definir seu papel durante a ITU e o desenvolvimento de novos protocolos de tratamento. Segundo Thumbikat e colaboradores,⁴⁵ pesquisas na área de variações polimórficas em integrinas $\alpha 3 \beta 1$ ou outros receptores, talvez possam explicar porque alguns indivíduos são mais propensos a infecções do trato urinário crônica e recorrente.

Estudos para avaliar a especificidade de ligação das fímbrias a determinados tipos de células associados, posteriormente, aos de clonagem molecular, permitiram

aos investigadores identificar diferentes tipos de fímbrias. Além da fímbria tipo 1 e da pili P, foram identificados mais pelo menos mais dois tipos de antígenos fimbriais potencialmente envolvidos na ligação ao tecido do trato urinário.^{81, 96, 97, 98}

Modelos para estudar variação de fase fimbrial

Desde os anos 80 já estava bem estabelecido que os fatores de colonização podem ser expressos de maneira variada, e apresentam implicações diferentes nos vários tipos de ITU.^{96, 99, 100, 101}

Foi relatado que a expressão da fímbria tipo 1 alterna com a da fímbria tipo F1c.^{102, 103} A estrutura da fímbria F1c, assim como das fímbrias tipo S, P e tipo 1 parecem ser um único complexo, uma vez que são compostas de subunidades maiores e menores.^{104, 105, 106, 107} Tem sido relatado previamente que os sistemas de exportação de dois componentes do tipo 1 e fímbrias F1c são intercambiáveis e que elementos estruturais destes dois sistemas fimbriais podem ser trocados, resultando em organelas híbridas e com especificidade do receptor alterada.^{102, 103} A variação de fase na expressão da fímbria tipo 1, por exemplo, já tem sido demonstrada desde a década de 50 por Brinton^{108, 109} e Duguid, Gillies.²⁸

O mecanismo genético e os fatores ambientais que promovem a variação de fase foram explicados inicialmente por Abraham e colaboradores,¹¹⁰ os quais encontraram evidências de um elemento promotor invertido na região acima do gene estrutural da fímbria tipo 1 que teriam a função *on/off* de controle na expressão do gen.

A expressão de fímbrias que apresentam funções diferentes aumenta a probabilidade de aderência ou invasão nos tecidos do hospedeiro.¹¹¹ Tem sido proposto que a expressão variável das fímbrias teria dois objetivos principais no auxílio da colonização do trato urinário humano. Um deles seria limitar a exposição imune do antígeno específico e ajudar na evasão da resposta imune, já que são antígenos de superfície.^{112, 113}

A variação de fase da pili P propiciaria a geração de uma população heterogênea de bactérias com capacidade de colonizar as células que expressam Gal- α (1-4) receptores β -Gal. Segundo Nowicki e colaboradores³⁷ o mecanismo de variação de fase nos estágios iniciais contribui também para a patogenicidade dos micro-organismos, pois parece coordenar a expressão dos fatores de superfície que são necessários no epitélio colonizado.¹¹⁴ A frequência desta variação, portanto, é importante não só para controlar os níveis de expressão da própria pili P, mas também tem impacto na regulação de um amplo espectro de outros componentes de superfície, expressos durante a infecção como adesinas fimbriais e não fimbriais, flagelos, proteínas da membrana externa, e da cápsula, já que estes são ligados através de uma rede reguladora a qual é parcialmente induzida pela variação de fase.¹¹⁵

Foi evidenciado, ainda, por outro grupo de pesquisadores que pili P e fímbria tipo 1 não ocorrem na mesma célula de *E. coli* e que existe uma rápida variação de fase entre as células fímbria P e fímbria tipo 1.¹¹⁶ Para estudar a variação de fase o grupo de Nowicki⁴⁰ desenvolveu uma técnica de imunofluorescência direta. Este

método permitiu caracterizar um número maior de células que não eram visualizadas por microscopia eletrônica.

Outra metodologia desenvolvida por estes pesquisadores para estudar a variação de fase fimbrial foi o fracionamento de células fimbriadas. Utilizando eritrócitos e leveduras para absorver as células fimbriadas foi possível estudar a cinética de mudança fimbrial. Subpopulações foram isoladas, inoculadas em caldo e as células fimbriadas foram submetidas a ensaios de imunofluorescência e imunomicroscopia. Através destas técnicas constataram altos níveis de expressão de fímbria P em UPEC e demonstraram que a variação de fase foi extremamente rápida.¹¹⁷

Posteriormente, os mesmos autores desenvolveram uma modificação da técnica de imunofluorescência direta para testar a expressão de fímbrias em colônias em membrana de nitrocelulose. Em geral o uso de anticorpos específicos contra vários tipos de fímbrias mostraram que uma cultura *overnight* de subpopulações que apresentavam apenas um tipo de fímbria, produzia colônias que são heterogêneas com relação a antígenos fimbriais e eram detectadas por aglutinação com sangue específico anti tipo 1 e fímbria S.⁴⁰ A evidência de variação de fase em *E. coli* com pili P e outras fímbrias foi possível ainda utilizando-se microscopia eletrônica e genética molecular.^{118, 119, 120}

Recentemente foi demonstrado por Holden e colaboradores¹²¹ que PapB pode regular a expressão de fímbria tipo 1 em diversos isolados clínicos. PapB é um regulador do operon *pap*, e pertence a uma família de proteínas que estão envolvidas na regulação da produção de diferentes adesinas fimbriais. Estudos de ligação *in vitro* têm demonstrado que a proteína PapB interage com três sequências diferentes (sítios 1, 2 e 3), dois na região intercistrônica *papI-papB* e uma na sequência de codificação *papB*. O sítio 1 parece ser o local preferencial de ligação, já os sítios 2 e 3 parecem ter baixa afinidade. PapB tem um papel autoregulatório, e a expressão da fímbria P é reprimida quando a expressão de PapB é alta, presumivelmente pela ligação de PapB a sítios de baixa afinidade.¹²²

Atualmente, muitos estudos que envolvem análises moleculares como clonagem de regiões reguladoras tem sido utilizados na avaliação deste mecanismo de variação de fase em *E. coli* K-12, assim como a frequência desta transição de fase.^{58, 123, 124, 125}

No estudo publicado em 2007, Holden e colaboradores,¹²³ utilizando um modelo *in vitro*, demonstraram que a expressão destas adesinas é regulada por condições ambientais, como a concentração de aminoácidos e variações de temperatura. Foi constatado que a urina apresenta níveis de aminoácidos suficientes para dar condições de crescimento bacteriano, e a alteração destas condições poderiam alterar a frequência da fase de transição. Esta foi a primeira vez que as frequências de transição de fase foram determinadas para UPEC cultivadas na urina humana, o ambiente fisiológico mais semelhante ao trato urinário humano.

O papel de PapB e FocB na regulação da fímbria F1c foi investigado por outros pesquisadores, utilizando como metodologia um ensaio de mobilidade em gel para detectar a ligação entre DNA e proteína.^{124, 126} Os fragmentos de DNA foram obtidos por produtos de PCR marcados e as proteínas Foc B foram extraídas

e purificadas. A mistura da reação foi submetida a eletroforese em gel de poliacrilamida-bisacrilamida. Posteriormente as proteínas foram purificadas utilizando-se *immunoblotting* e antisoro policlonal anti-Pap-B purificado. O efeito da expressão de FocB em FIM também foi estudado e um plasmídeo pBB1 que foi introduzido em duas cepas de fusão transcricional. Os autores concluíram que FocB pode inibir a expressão de fímbria tipo 1, influenciando a mudança de fase e sugeriram que FocB pode desempenhar um papel semelhante ao de PapB na regulação do determinante FIM. Estes resultados indicam que há comunicação cruzada entre diferentes agrupamentos de genes de adesinas e que os reguladores diferentes PapB-like podem formar complexos heterodimérico/oligomérico envolvidos na coordenação da biogênese fimbrial.¹²⁴

Estudos realizados por Chen e colaboradores⁵⁹ avaliaram os efeitos de mutações *in vitro* com o objetivo de examinar a correlação entre a regulação transcricional, produção da proteína FimH, ligação a manose, produção de biofilme, além de ligação e invasão de culturas de células epiteliais da bexiga. Este grupo confirmou que o operon *fim*, contribui para a formação de uma comunidade bacteriana intracelular (IBCs), além do seu papel no estabelecimento de ITU por mediar colonização e invasão do epitélio da bexiga. A análise *in silico* da sequência do gene *fimH* da *E. coli* 279 identificou um amino-ácido específico que está sob seleção positiva do sítio de ligação manose. Utilizando um mutante de dois destes resíduos em um modelo *in vitro*, estes pesquisadores verificaram que não ocorria a variação de fase, a montagem das fímbrias ou ligação manose *in vitro*. A utilização de um modelo *in vivo* com camundongos confirmou-se também que este mutante apresentou uma redução bastante significativa na colonização da bexiga e foi incapaz de formar IBC após 24 horas da inoculação. Assim, a análise de seleção positiva de amostras fimH sugere que a formação do IBC é crítica para o sucesso para a infecção da bexiga de mamíferos, fornecendo suporte para a utilização da análise de seleção positiva para definir as bases moleculares da patogênese dos patógenos urinários.

O conhecimento do processo de fimbriação assim como dos mecanismos que controlam seu desligamento permitiu manipular o circuito interno de virulência molecular da UPEC através dos meios externos abrindo novas abordagens para a modulação da patogenicidade. A temperatura externa, um regulador chave, não atua apenas como um indicador da progressão da ITU e os impactos de seu curso, mas também pode ser passível de controle significativo na prática clínica. No entanto variações de fase relativamente pequenas podem afetar suas funções qualitativamente, e isto exige que o tipo de análise de sistemas biológicos seja capaz de contribuir com precisão com os processos em escala molecular. Recentemente, foi desenvolvido um modelo de abstração automatizado para investigação do papel da temperatura no controle do circuito genético na regulação FIM (*on/off*). Um estudo realizado por Kuwahara¹²⁷ foi capaz de contornar tais questões através do uso de um modelo sistemático de abstrações, o que permitiu converter um problema computacionalmente muito exigente como o circuito de resposta Fim, em um modelo de abstração automatizada relativamente acessível. Como resultado, foi possível obter avanços

no entendimento da dinâmica interna deste sistema, incluindo a forte dependência da temperatura na determinação de taxas de mudança que podem causar transição entre a fase benigna e a patogênica.

Um modelo *in vitro* em cultura de células uroepiteliais, assim como um modelo *in vivo* de infecção ascendente de ITU e outro hematogênico em camundongo foi utilizado para avaliar a aderência de *P. mirabilis*. Neste estudo foi utilizado um mutante isogênico que não expressava pili P. Em ambos os modelos, o mutante foi menos capaz do que a cepa do tipo selvagem para colonizar tanto o trato urinário inferior quanto o superior, embora a infecciosidade não tenha sido eliminada. Os resultados evidenciam que, embora pili P seja importante, outras adesinas também participam da aderência de *P. mirabilis* às células uroepiteliais. Estes pesquisadores verificaram ainda, por análise de *Westernblot* que o mutante não foi capaz de expressar pili P e que não revertia para o tipo selvagem, mesmo após oito subculturas. Mutações nos micro-organismos ainda, não afetaram a taxa de crescimento de bactérias ou outras propriedades relacionadas com a virulência tais como a motilidade em véu, a hemólise ou a atividade da urease. Uma propriedade fenotípica que foi afetada, entretanto, foi a hemaglutinação.¹²⁵

Estudos recentes indicam que fimH é a invasina de *E. coli* uropatogênica utilizada para se ligar à superfície urotelial e pode induzir eventos de sinalização celular, incluindo a elevação de cálcio e a fosforilação da cauda da UP IIIa, levando a rearranjos do citoesqueleto e invasão bacteriana.^{20, 41, 44, 128} Até recentemente, o mecanismo pelo qual ocorre a ligação de amostras fimH à UP desencadeia um sinal que pode ser transmitido através de uma membrana apical urotelial altamente impermeável permaneceu desconhecido. Wang e colaboradores,¹²⁹ entretanto, mostraram através de microscopia crioeletrônica que a adesina fimH induz mudanças conformacionais em todo o complexo receptor UP, incluindo um movimento coordenado das hélices transmembrana. Os movimentos podem causar uma translocação lateral correspondente da cauda citoplasmática UP, podem ser suficientes para desencadear a sinalização de eventos. Os resultados obtidos sugeriram um novo patógeno que induz um mecanismo de transdução de sinal que desempenha um papel-chave na fase inicial da invasão por UPEC.

Métodos para Estudos *in vitro* de toxinas

A utilização de toxinas secretadas por UPEC está bem determinada. As bactérias usam sistemas de secreção de toxinas do tipo I como alfa-hemolisina,^{44, 130, 131} e sistemas de toxinas tipo V que incluem proteínas autotransportadoras, como Vat e Sat^{132, 133, 134, 135} além das vesículas de membrana externa (OMV) como a CNF1, fator necrotizante e HlyA.^{18, 42, 136, 137, 138, 139, 140}

Toxinas Tipo I

HlyA é uma toxina dependente de cálcio de 110 kDa que forma poros de 2 nm de largura em células do hospedeiro, que leva à lise celular^{141, 142, 143}. Vários autores

verificaram que concentrações sublíticas de hlyA participam na inibição da quimiotaxia e morte bacteriana pelos fagócitos, bem como da estimulação hlyA mediada por apoptose de acolhimento e vias inflamatórias.^{130, 131, 144, 145}

Num estudo de citotoxicidade *in vitro*, utilizando cultura de células foi investigada a toxicidade de mutantes hly e comparado às de *E. coli* 536, uma cepa que apresenta dois determinantes genéticos de hemolisina, localizados em ilhas de patogenicidade distintas.⁴³ Foram utilizadas células em monocamadas de diferentes linhagens, infectadas com a estirpe selvagem e com mutantes contendo apenas um ou com nenhum determinante de hemolisina. Ambos mutantes tiveram toxicidade reduzida para todos os tipos de células testadas em comparação com a estirpe selvagem, porém entre eles nenhuma diferença foi detectada.

Os mesmos mutantes também foram submetidos a ensaios *in vivo* e verificou-se que a toxicidade diminuiu significativamente em ambos mutantes que perderam seus determinantes de hemolisina em comparação com a *E. coli* que apresentava os determinantes. A análise da toxicidade foi realizada pela verificação das características eletrofisiológicas dos poros formados pelas moléculas hlyA em membranas lipídicas sintéticas. Os mutantes não apresentaram preferência por qualquer célula alvo *in vitro* nos ensaios de citotoxicidade. Os autores evidenciaram que os dois determinantes hly codificam toxinas com funções idênticas, no entanto, devido a uma regulamentação diferente de expressão, participam em diferentes etapas do processo infeccioso.⁴³

Estudos recentes têm demonstrado que as concentrações sublíticas de HlyA podem modular uma variedade de vias de sinalização, incluindo estímulo transiente de oscilações de cálcio, a ativação da sinalização do AMP quinase sinalização, e a alteração da fosforilação de histonas e padrões de acetilação.¹⁴⁶ Mecanismos de oscilação do cálcio foram realizados através de medidas do cálcio intracelular e intracelular utilizando citometria de fluxo. Aplicação de concentrações sublíticas provocou oscilações nas concentrações de cálcio em células renais humanas e células endoteliais. A utilização de nifedipina bloqueou os canais formados nas células pela hemolisina e assim o efluxo de cálcio e confirmaram que as oscilações de cálcio era dependente da atividade de formação de poros hlyA. Verificou-se que as oscilações de cálcio não foram mantidas na ausência de toxina no meio. Analogamente, o fluxo de iodeto de propidium em células ocorreu na presença de hlyA, mas as células rapidamente se tornaram impermeáveis para o corante após lavagem da toxina, indicando remoção das lesões da membrana.

Os experimentos realizados por Konisnski *et al.*¹³⁰ fornecem indícios de que uma toxina RTX forma poros de vida muito curta nas membranas das células. Três tipos de células humanas foram utilizadas para esta investigação, chamadas renais embrionárias, células epiteliais dos túbulos renais e células endoteliais vasculares. O fechamento rápido dos poros semelhantes foi observado em bicamadas lipídicas artificiais. As oscilações resultantes da interação de formação e desaparecimento dos poros, juntamente com a redistribuição cálcio celular, obviamente, variam dependendo da concentração de toxinas e de sensibilidade. Os resultados deste estudo

levaram a uma nova explicação para as oscilações de cálcio que ocorrem em células de mamíferos tratados com hlyA.

Posteriormente, Willes e colaboradores⁴⁴ verificaram que as concentrações subblíticas de hlyA estimulam a inativação da proteína Akt quinase, que desempenha um papel central na progressão do ciclo celular, no metabolismo, no tráfico vesicular, sobrevivência e sinalização inflamatória.

Os pesquisadores, utilizando experimentos com culturas de células epiteliais de bexiga humana 5637 (ATCC HTB-9; *American Type Culture Collection*, Manassas, VA), em monocamadas que foram infectadas com bactérias, demonstraram que HlyA pode inibir a ativação da proteína quinase AKt, e que HlyA é capaz de ativar um processo extracelular via Akt, dependente de cálcio e independente de potássio, e para tanto há necessidade de injeção HlyA no plasma do hospedeiro e posterior formação de poro. Estudos de inibição indicam que a ativação da proteína Akt por HlyA envolve a estimulação das proteínas fosfatases do hospedeiro. Estes mesmos autores verificaram ainda, que outras toxinas como aerolisina de *Aeromonas* e de *S. aureus* também podem atenuar de forma significativa a ativação de Akt de uma maneira dose dependente, sugerindo que baixas concentrações da HlyA e outras toxinas podem modular a sobrevivência de células do hospedeiro e as vias inflamatórias no curso da infecção bacteriana.

Toxinas tipo V

E. coli extraintestinais também codificam várias toxinas tipo V conhecidas como autotransportadores.¹⁴⁷ Duas destas, a toxina Vat e a toxina Sat, são expressas frequentemente por UPEC.^{135,135} Vat e Sat foram caracterizadas inicialmente por sua habilidade de induzir uma variedade de efeitos citopáticos nas células do hospedeiro. Embora o papel da toxina Vat na patogênese das ITUs ainda não tenha sido estudado, a toxina tem se mostrado virulenta para *E. coli* de aves (APEC) em modelos infecção respiratória e celulites usando frangos.¹⁴⁸

A expressão de Sat por CFT073, por outro lado, tem mostrado dano nos rins de camundongos ocasionando dissolução da membrana glomerular, perda de células do epitélio tubular e vacuolização dos tecidos renais.^{132, 133} Ao contrário, Sat não parece influenciar a habilidade de CFT073 de colonizar o trato urinário de animais. Toxinas de UPEC também podem ser associadas a vesículas de membrana externa (OMVs) que se formam a partir da superfície celular. As OMVs são utilizadas por muitas espécies bacterianas para facilitar a comunicação intra e inter-específica, a troca de material genético, a adesão bacteriana e invasão das células hospedeiras, e a entrega de toxinas.¹⁴⁹

Tem sido evidenciado que a citotoxina CNF1 de *E. coli* associada a infecções extraintestinais, principalmente ITU,^{150, 151, 152, 153} tem efeitos pronunciados sobre o citoesqueleto de linhagens celulares *in vitro*,^{154, 155} provocando a reorganização da actina nas fibras de estresse, pregas na membrana, e promovendo a dispersão e multinucleação.^{156, 157} A identificação do gene *cnf1* na ilha de patogenicidade cromossô-

micas II está intimamente ligada aos genes para hemolisina e fímbria P.¹⁵³Island e colaboradores⁴², utilizando culturas de células de epitélio de bexiga humana (T24), em monocamadas verificaram que o número de células, assim como a distância máxima de migração na região lesada foi significativamente diminuída. Tais extratos foram obtidos a partir de *E. coli* DH5 α transformada com plasmídeo ou pISS392 ou pGEM3, respectivamente. Este plasmídeo que contém um fragmento intacto do gene *cnf1* de *E. coli* isolada do trato urinário.

Utilizando modelos *in vivo* em camundongos verificou-se que, sob certas condições experimentais, CNF1 fornece uma vantagem notável para *E. coli* dentro da bexiga e dos rins.^{18, 136}

Sabe-se que a secreção de CNF1 acha-se associada a vesículas de membrana. Para demonstrar como esta toxina era translocada do citoplasma bacteriano para o meio externo Kouokan *et al.*¹⁴⁰ realizaram um estudo *in vitro* em culturas da célula HeLa. Verificou-se que CNF1 está estreitamente relacionada às vesículas de proteínas de membrana, sugerindo que tais proteínas têm um papel importante na secreção destas proteínas. Estas vesículas que contêm a toxina CNF, exercem citotoxicidade nas culturas de células HeLa mostrando que o transporte de CNF pela vesícula ocorre de maneira ativa.

Constatou-se ainda que proteínas estruturais nucleoides tipo histona (HNS) têm um papel na regulação negativa da produção de CNF, que afeta a liberação pelas vesículas de membrana externa liberada pela UPEC J96.

A observação de que o Δ HNS mutante da linhagem J96 lançado vesículas mais e *overexpressed* CNF1 fez esta estirpe uma boa ferramenta para nos localizar o CNF1 em frações de células e estudo das proteínas em geral, um fundo UPEC.

Recentemente, foi relatado que o sistema de Tol-Pal *E. coli*, necessário para manter a integridade das OMV, desempenha um papel importante na produção de vesícula. Na verdade, foi demonstrada que a superprodução periplásmica de domínios TolR, da mesma forma que os ligantes Tol, aumentaram a liberação de vesículas na *E. coli* por desestabilizar o envelope celular das bactérias.¹⁵⁸

Quando as células HeLa foram tratadas com CNF1 amostras contendo vesícula, o alargamento e multinucleação foram nitidamente observadas após dois dias de incubação.

Métodos para Estudos *in vitro* de Flagelos

Infecções urinárias ocorrem como contínuas etapas de ascensão da UPEC do pérvio através da uretra até a bexiga ao passar pelo ureter até os rins. Tem sido bem estabelecido, que ao chegar à bexiga, *E. coli* invadem as células superficiais, num processo mediado pela fímbria tipo 1, ativam uma série de eventos que levam à formação de comunidades bacterianas intracelulares (IBC).^{19, 159} Estas comunidades apresentam propriedades de biofilme, e nelas as bactérias ficam protegidas do sistema imune, do fluxo urinário e da terapia antimicrobiana.^{22, 46} Após maturação IBC sofre dispersão e as bactérias liberadas podem invadir novas células e formar novamente IBC.⁴⁷ A reentrada de bactérias nas células para formar novas IBC é um

processo lento no qual a replicação bacteriana cessa, e se estabelece um estado de repouso que funciona como um reservatório que, em resposta a sinais desconhecidos, pode reativar e desencadear uma bacteriúria recorrente.²¹

Sabe-se que flagelos desempenham um papel fundamental na dinâmica de vida dos biofilmes, tendo uma forte influência sobre ultraestrutura e disseminação de biofilme,^{161, 162} O papel dos flagelos na patogênese do trato urinário tem sido objeto de várias investigações. Vários modelos de patogênese bacteriana têm estabelecido que os flagelos são fatores de virulência importantes, embora seu papel na ITU não havia sido esclarecido até recentemente. Sabe-se que a maioria dos uropatógenos isolados de mulheres adultas com cistite, bacteriúria assintomática ou recorrente são móveis. O fato de ocorrer infecção ascendente a despeito do fluxo urinário, sugere que micro-organismos flagelados possuem papel essencial no desenvolvimento da doença. Além disso, já foi determinado o papel que os flagelos desempenham na patogênese de *Proteus mirabilis*.^{169, 170}

Porém, nos estudos *in vivo* realizados por Mulvey *et al.*⁴⁴⁸ no quais havia sido avaliada a virulência de *E. coli* uropatogênicas, não foi possível confirmar a contribuição dos flagelos na patogênese, uma vez que estas bactérias são inoculadas diretamente na bexiga, e isto representa uma limitação deste modelo. Portanto a utilização de modelos *in vivo* não permite verificar se os flagelos são fundamentais na ascensão do trato urinário a partir da região anal e periuretral.

O papel dos flagelos como mediadores da adesão e da motilidade durante a ITU foi investigado por Wright e colaboradores.¹⁷¹ Estes autores hipotetizaram que a dispersão da comunidade bacteriana seria incompleta na ausência de motilidade e interromperia a formação da IBC, atenuando a infecção. A dispersão da IBC é um passo fundamental para estabelecimento da infecção, pois acarreta a propagação de bactérias sobre a superfície do epitélio para iniciar formação de novos IBC.

Foi demonstrado que mutantes flagelares apresentam deficiências na formação de biofilmes em catéteres, *in vitro*, e na colonização do trato urinário.^{169, 172, 173} Além disso, em *E. coli* enteropatogênicas foi demonstrado que os flagelos funcionam como adesinas ou organelas invasivas. Estes dados levaram alguns autores a hipotetizar que os flagelos poderiam contribuir para a virulência de *E. coli* na ITU.^{170, 174}

Recentemente, os detalhes visuais de dispersão da IBC foram determinados através de microscopia de alta resolução⁴⁷.

Wright e colaboradores¹⁷¹ avaliaram se a expressão do gene flagelar estaria ativa durante a cistite, supondo que essa expressão poderia estar relacionada com a patogênese e, em seguida, examinaram o impacto da perda da mobilidade durante a cistite. Estes autores verificaram que os flagelos contribuem para a persistência da UPEC na bexiga e nos rins utilizando um experimento de competição entre o tipo selvagem e um mutante flagelar. Estes experimentos demonstraram que ao contrário da expressão flagelar *in vitro*, na expressão *in vivo* não ocorre a regulação, o que demonstra não haver necessidade de flagelos para a formação, desenvolvimento e dispersão do IBC.

Da mesma forma Lane *et al.*¹⁷⁴ concluíram que, embora os flagelos não desempenhem um papel central no desenvolvimento e da dispersão de IBC, eles aumen-

tam a aptidão da UPEC ao longo do trato urinário. Estes pesquisadores realizaram um estudo a partir de mutantes flagelares construídos na espécie CFT073 de *E. coli*. Os mutantes expressavam quatro tipos de fenótipos flagelares, os mutantes *fliA* e *fliB* que não produziam flagelo, os mutantes *flgM* tinha níveis de flagelina extracelular similar ao da cepa selvagem mas exibiam motilidade menor do que a selvagem, mas exibiam motilidade menor do que a selvagem e a motAB que não era móvel, os mutantes *cheW* e *cheY* eram móveis mas não quimiostáticos. A contagem de colônias da bexiga ou dos rins de ratos foi determinada três dias depois após a inoculação em vários períodos. Estes resultados sugerem que a motilidade assim como a quimiotaxia mediada por flagelos pode não ser absolutamente necessária para a virulência, mas pode contribuir para a adequação de UPEC e, portanto, melhorar significativamente a patogênese da ITU causada pela UPEC

Usando uma fusão *gfp* que expressava o flagelo da classe flagelar I *flhDC* e classe III *fliC* genes foram monitorados para controlar a regulação da cascata de patogenicidade. Sob condições *in vitro* foi verificada expressão forte de ambas as fusões. Em contraste, somente para a classe I de fusão verificou-se expressão significativa nos estágios de desenvolvimento do IBC, incluindo a fase de dispersão. Assim, ao contrário de modelos *in vitro* da motilidade, a cascata de regulamentação apareceu incompleta, *in vivo*. Ao longo da formação do IBC, os mutantes *fliC*, não móveis, alcançaram o mesmo número de IBCs como o tipo selvagem, demonstrando que os flagelos não são essenciais nem necessários para a primeira ou segunda geração de formação de IBC. No entanto, em experimentos de competição entre cepas selvagens e mutantes, demonstrando um papel sutil, mas mensuráveis para os flagelados de virulência.

Outras publicações recentes confirmaram os achados de que bactérias móveis apresentam um papel sutil na patogênese da UPEC¹⁷⁵. A partir de estudos realizados com mutantes inoculados em um modelo de infecção ascendente e de análise genética de bactérias isoladas da urina destes animais, pela técnica de *microarray*, estes pesquisadores concluíram que a bactéria com a capacidade total para produzir flagelos encontram-se numa vantagem competitiva, tanto da bexiga e do rim, embora o mecanismo por que esta vantagem é ainda é incerto. Este estudo de expressão flagelar durante o curso do desenvolvimento IBC constituiu o primeiro exemplo de *checkpoints in vivo*, presentes na produção flagelar detalhada através de estudos genéticos *in vitro*.

Métodos de estudo *in vitro* da formação de biofilmes

A ligação entre a contaminação de um biofilme num dispositivo e ITU em pacientes com sonda vesical por longos períodos é evidente, uma vez que a frequência de infecções urinárias é alta assim como as complicações a ela associadas.¹⁰ Várias pesquisas têm sido realizadas com o objetivo de avaliar qual seria o limite de densi-

dade do biofilme sem que ocorra infecção, identificar fatores bacterianos envolvidos na formação de biofilme em catéteres e desenvolver inibidores destes fatores para prevenir bacteriúria.^{12, 31, 76, 176, 177}

A compreensão da interação entre células e o meio ambiente é fundamental. Estímulos ambientais podem acarretar variações no padrão de expressão gênica, no teor de proteínas na membrana, nos receptores de superfície nas células. Além disso, a comunicação célula-célula tem uma influência considerável sobre o ciclo celular.

A formação do biofilme tem relação com o tipo de catéter utilizado. Os catéteres modernos de látex foram introduzidos pela primeira vez por Frederic Foley em meados de 1930, porém, nas últimas décadas têm sido desenvolvidos catéteres de outros materiais como o poliuretano, o silicone e vários outros polímeros.¹⁷⁸ Entre estes catéteres de silicone, pela compatibilidade tecidual e natureza do material, têm sido considerados padrão ouro.¹⁷⁹ Além disso, vários tipos de revestimentos, tais como hidrogel, foram introduzidas com o objetivo de melhorar a lubrificação e diminuir a formação de biofilme microbiano, entretanto, nenhum material tem sido considerado ideal. As complicações mais comuns associadas a estes dispositivos ainda são as infecções, o bloqueio e a incrustação.¹⁸⁰ Quando expostos a urina, vários componentes são adsorvidos na superfície do catéter e formam uma película, o biofilme.

Sabe-se que as moléculas sinalizadoras de *quorum sensing* são críticas na formação de biofilme, pois coordenam o comportamento da população bacteriana durante a invasão e colonização.¹² Uma destas moléculas é a proteína GlnU (N-acetil-D-glicosamina-1-acetyltransferase fosfato), que tem papel na síntese da adesina polissacarídica β -1,6-N-acetil-Dglucosamina, necessária para a formação de biofilme em *E. coli* e *S. epidermidis*.¹⁸¹

Para maior compreensão da formação do biofilme, Stickler e colaboradores¹² utilizaram um modelo de bexiga cateterizada⁷¹ que consistia de um frasco de vidro de fermentação que era mantido a 37° C por uma camisa de água, tendo um catéter de silicone estéril inserido no frasco através de um tubo de silicone, ligado a uma tomada de vidro na base de um balão. O catéter balão era inflado para garantir que o catéter permanecesse na posição e selasse a saída da bexiga de urina artificial estéril, padronizada por Griffith e colaboradores.¹⁸² Este estudo possibilitou a detecção de moléculas *quorum-sensing* em biofilmes nos catéteres uretrais.

Em estudos posteriores foi verificado que inibidores da GlnU, em conjugação com sulfato de protamina, inibem o *quorum sensing* e podem ser importantes para a inibição da formação de biofilme e bacteriúria subsequentes, e que poderiam ser utilizados para cobrir catéteres urinários para prevenir a formação de biofilmes.⁷⁷

Outro modelo, para estudar os biofilmes, foi proposto por Dolan.¹⁷⁷ no qual foi possível reproduzir um estado de formação constante de biofilme, Estes autores utilizaram um sistema disco-reator de biofilme, que incorporou um fluido intravenoso, conectores sem agulhas, um micro-organismo, o *Enterobacter cloacae*, e um sistema de vazão (1mL/min) que simularam as condições de utilização de catéteres no trato urinário. Desta maneira pode ser usado para investigar e comparar diferentes tratamentos de controle de biofilmes, projetos para estudo de novos tipos de catéteres, ou formulações de diferentes meios.

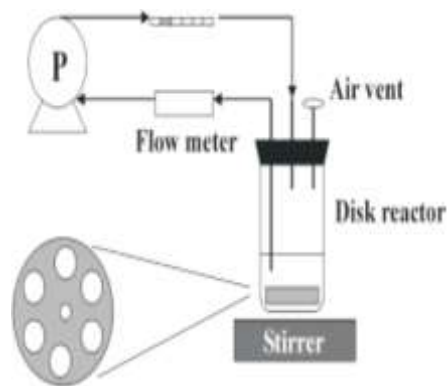


Figura: Sistema disco-reator de formação de biofilme

Fonte: White *et al.* (2001)

Posteriormente, Stickler *et al.*¹⁸³ desenvolveram um sensor simples, o qual era acoplado ao modelo laboratorial de bexiga cateterizada para detectar as fases iniciais da incrustação de urina no catéter e evitar as crises nos pacientes, induzidas pela obstrução do catéter. Em modelos de colonização por *P. mirabilis*, o sensor sinalizou a incrustação em um tempo médio de 43 horas antes que os catéters fossem obstruídos com biofilme cristalino. Posteriormente, estes resultados foram confirmados utilizando um ensaio clínico pela detecção dos sensores na bolsa do sistema coletor. Foi possível detectar a infecção por *P. mirabilis* e os estágios iniciais da incrustação do catéter nos pacientes, o que permitiu a substituição do catéter em tempo suficiente para evitar situações de emergência causadas pelo bloqueio do catéter.¹⁸⁴

O desenvolvimento de biomateriais que removam nutrientes essenciais para o crescimento microbiano, tais como o ferro é outro método promissor de prevenção de bacteriúria. Estudos preliminares mostraram que catecolaminas induziram a formação de biofilme por *S. epidermidis*, transferindo ferro ligado à proteína transferina.¹⁸⁵ Neste sentido, o uso de catéter com revestimento hidrofílico como polivinil pirrolidona e sal foi associado com menos hematúria e uma diminuição significativa na incidência de infecções do trato urinário.¹⁸⁶

Estudos *in vitro* contribuem, ainda, para compreender a dificuldade de eliminar as infecções urinárias nos pacientes cateterizados, tanto por antibioticoterapia sistêmica quanto pela injeção de antiséptico na bexiga⁶² e evitar a transferência de elementos genéticos extracromossomais, dentro dos biofilmes.

Prevenir a formação e o desenvolvimento de biofilmes no interior dos dispositivos é extremamente difícil, uma vez que as concentrações de antimicrobianos para inativar organismos planctônicos geralmente são insuficientes para inibir os micro-organismos do biofilme.^{27, 187, 188, 189} Neste sentido, diversas medidas têm sido pro-

postas, entre elas a utilização de pomadas antimicrobianas e lubrificantes, instilação de bexiga, agentes antimicrobianos em sacos de coleta, impregnação do catéter com agentes antimicrobianos, tais como óxido de prata, ou o uso de antibióticos sistêmicos.^{12,72, 73, 74,75, 78, 190} Para avaliação destes produtos têm sido realizados estudos com modelos *in vitro*.

Além dos antimicrobianos, a impregnação do catéter com antissépticos, como os compostos de prata têm sido estudados como possível medida preventiva, com resultados e eficácia conflitantes na prevenção de bacteriúria. Embora catéteres revestidos por nitrofurazona e por prata pareçam reduzir o desenvolvimento de bacteriúria assintomática em relação aos catéteres controle durante a sua utilização há pouco ou nenhum dado sobre o efeito destes dispositivos em pacientes sintomáticos.¹⁹¹

Os estudos de laboratório em modelos da bexiga cateterizada demonstraram que tanto os catéteres revestidos de prata, quanto os catéteres revestidos por nitrofurazona, bloqueiam biofilmes cristalinos formados por *P. mirabilis*.^{187, 188} Isto pode ser explicado pela quantidade de prata que se difunde na urina do catéter que não é suficiente para controlar o aumento do pH, Além disto, nitrofurazona e tem atividade limitada contra *P. mirabilis*.¹⁹²

A aplicação de corrente elétrica em modelos de catéteres equipado com eletrodos de prata acarreta liberação íons na urina que inibem o crescimento bacteriano e reduzem significativa a taxa de incrustação do catéter por *P. mirabilis*. A utilização destes princípios pode ser úteis na prevenção de incrustação durante o cateterismo de longa duração.⁷⁶

Além da prata, outros antissépticos têm sido utilizados em modelos de estudo com o intuito de avaliar a eficácia contra a colonização bacteriana. Catéteres impregnados com combinações sinérgicas de clorexidina, sulfadiazina de prata e triclosan têm impedido a adesão de um amplo espectro de bactérias extraluminal em sua superfície externa quando comparados a catéteres de látex tratados com hidrogel de prata ou catéteres de silicone com nitrofurazona em um modelo *in vitro* do trato urinário.³¹

Outros pesquisadores preconizam que o catéter balão poderia ser usado como um reservatório de grandes quantidades de substâncias antibacterianas e que a membrana do balão pode garantir a sua liberação controlada na urina residual durante longos períodos. Eles descobriram que o ácido mandélico difundido através do catéter balão, não é muito ativo contra *P. mirabilis* ou outros patógenos urinários, sendo bactericida na urina.¹⁹³ O triclosan, no entanto, é extremamente ativo contra *P. mirabilis*. Em experimentos de laboratório em modelos fornecidos com urina artificial e infectados com *P. mirabilis*, triclosan foi mostrado para difundir através dos balões de todos os catéteres de silicone na urina residual. O aumento do pH urinário e formação de biofilme cristalino sobre o catéter foi inibida.¹⁸⁹

No modelo estudado por Jones e colaboradores¹⁹⁴ utilizou-se como estratégia a substituição de urina artificial por um *pool* de urina humana quando catéteres de látex eram testados. Utilizou-se um catéter colonizado por *P. mirabilis*, que tem íons prata na superfície externa e interna com Triclosan. Impregnaram-se todos os catéteres de silicone, mas não os de látex.¹⁹⁵ Embora os catéteres tenham sido submetidos a ensaios clínicos, ainda existe considerável controvérsia com relação à sua utilização com relação à prevenção e controle da formação de biofilmes.

O uso de testes de zona de inibição, para predizer eficácia clínica de catéter com antimicrobianos, tem sido proposto por vários autores.^{196, 197, 198, 199, 200} Gaonkar, Samphat, Modak,³¹ utilizaram o ensaio de zona de inibição Kirby-Bauer modificado para avaliar o espectro antimicrobiano e determinar a meia-vida de atividade destes antimicrobianos em catéteres, *in vitro e in vivo*. Para tanto foi desenvolvido um novo modelo do trato urinário no qual foi analisada a eficácia de antimicrobianos na prevenção de colonização extraluminal. O modelo urinário utilizado consistia de dois tubos, um dos quais apresentava uma abertura cilíndrica com uma extremidade tampada e o outro, uma extremidade selada com uma rolha de borracha e com um furo no centro. O segundo tubo, que é aberto em uma extremidade, foi utilizado para a coleta de urina, sendo que ambos foram esterilizados com dióxido de etileno. Um segmento de catéter de 6 cm de comprimento, tendo ambas as extremidades selados com silicone para evitar a contaminação intraluminal com as bactérias foi esterilizado e inserido a partir do topo extremidade do tubo 1. O ágar soja tripticase estéril foi colocado ao longo dos lados do tubo ao redor do catéter, deixando a parte superior (1 cm) do catéter saliente no espaço acima do agar, que representa a bexiga. Esta extremidade inferior a coluna com o agar salientes catéter representa meato, e o agar em torno do catéter simula da uretra. O tubo foi então fixado em tubos de 2 a recolher a pequena quantidade de urina que flui para baixo o ágar trato. O meato era inoculado diariamente com *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa* e *Candida albicans*.

A bexiga foi preenchida diariamente com urina estéril fresca e cultivada para determinar o crescimento bacteriano. Os catéteres impregnados com combinações sinérgicas de clorexidina, sulfadiazina de prata, e triclosan apresentaram amplo espectro e resistência contra colonização microbiana na superfície exterior. Verificou-se que os catéteres impregnados com combinações sinérgicas de clorhexidina, sulfadiazina de prata e triclosan demonstraram amplo espectro na superfície.

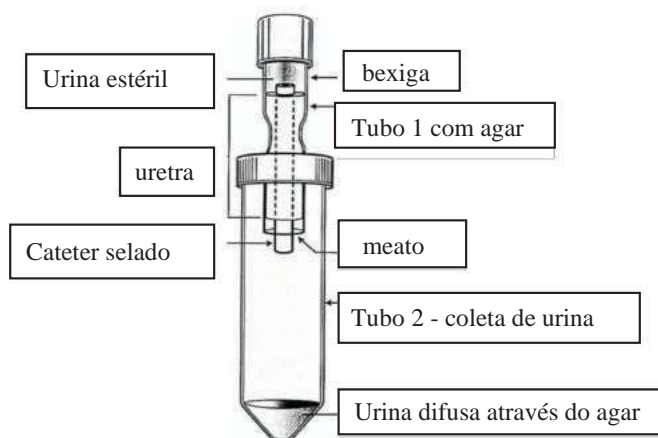


Figura 3. Modelo de trato urinário para estudos *in vitro*.

Fonte: Gaonkar, Sampath, Modak, 2003.

Outro método *in vitro* usado rotineiramente para avaliar a eficácia antimicrobiana de catéter foi a medida de aderência bacteriana na superfície de catéteres. Este envolve a exposição do catéter a crescimento em culturas bacterianas²⁰¹ ou suspensão em tampão fosfato.^{27, 202, 203} A determinação de aderência bacteriana é feita por método semiquantitativo por rolagem em agar,²⁰¹ ou quantitativamente usando métodos de sonificação.^{27, 202, 203}

A aderência *in vitro* que envolve exposição do catéter a bactérias em meios líquidos não reflete a colonização do catéter na área subcutânea *in vivo*. A colonização da superfície externa de catéteres é o resultado da migração bacteriana da pele ao redor do catéter e através do tecido subcutâneo.^{27, 204, 205} Para aproximar a formação do biofilme em modelos de estudo *in vitro*, às condições *in vivo*, Gaonkar, Sampath, Modak,³¹ desenvolveram uma técnica onde um agar *soft* foi colocado em um tubo de cultura e um pedaço de catéter foi colocado verticalmente no centro do tubo de maneira que uma ponta ficava exposta. Desta forma o catéter permanecia em contato estreito com o agar, de maneira que não restasse nenhum espaço entre o catéter e o meio de cultura. Para inoculação cada pedaço de catéter foi inoculado com 10 µl de cultura microbiana diluída até a densidade desejada.

O grupo de Ferriere²⁰⁶ tem estudado a formação de biofilme bacteriano, utilizando urina humana, em catéteres urinários por *E. coli* de bacteriúria assintomática e uropatogênicas. Todas as culturas foram realizadas em pool de urina humana, obtidas de urina humana esterilizada por filtração. A formação de biofilme foi avaliada em micropelotas com células de urina humana. As células não ligadas foram removidas e coradas com cristal violeta. A formação de biofilmes também foi avaliada através de cultura de células em urina humana em tubos de vidro sob condições hidrodinâmicas em catéteres Foley de silicone. Foram cortados pedaços de 4,5 cm de comprimento de e conectados a uma bomba com tubos de silicone. O sistema foi preenchido com urina humana pré-quecida, o catéter foi conectado, e o fluxo foi mantido por 2 horas.

Num outro estudo recente, verificou-se que a capacidade de formação de biofilme na urina humana não pode ser correlacionada com a aptidão da cepa, nem como taxa de crescimento, nem capacidade de carga poderia explicar as diferenças na formação de biofilme entre as cepas de *E. coli* uropatogênica.²⁰⁶

Para examinar a colonização microbiana de catéteres urinários Barford e colaboradores²⁰⁷ criaram outro modelo *in vitro* de colonização do catéter que consistia de um carrinho, catéteres Foley de látex, revestidos com lubrificante, que eram inseridos num tubo de uretra, como pode ser verificado na figura 2. O catéter era empurrado através do balão e, fechado com um anel de borracha. Uma tampa de rosca foi parafusada na câmara da bexiga para que o balão ficasse dentro da câmara. Bolsas coletoras estéreis foram colocadas na extremidade livre do catéter e amarradas ao carrinho de modo que ficassem penduradas abaixo do nível de catéteres. Foram colocadas torneiras na tubulação, o que permitiu a drenagem no recipiente. Após a adição de urina artificial no reservatório, todo o aparato no carrinho era levado para uma sala a 37 ° C. O recipiente era colocado no chão para obter drenagem ótima. Uma bomba foi utilizada numa velocidade de 40-50 mL/h, por 24 h. Os sacos foram esvaziados dentro do recipiente de resíduos, após 9 h. Para os experimentos foi utilizada uma cepa de *Escherichia coli* (SGH031) isolada de ITU.

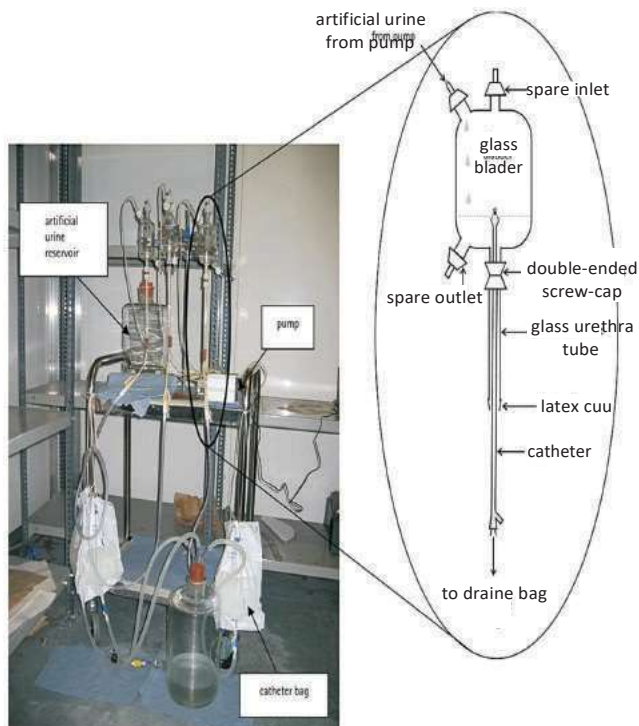


Figura 2: Fotografia do modelo do trato urinário cateterizada, e um diagrama mostrando o detalhe de uma das bexigas com catéter *in situ*.

Fonte: Barford *et al.*, 2008.

Os padrões de crescimento microbiano, obtidos a partir dos catéteres usados em um modelo *in vitro* do trato urinário cateterizada foram comparados com os de catéteres de pacientes. Pedacos dos catéteres foram cortados e os micro-organismos do interior e exterior foram removidos por ultrassom, e quantificados. O DNA era extraído dos catéteres e amplificado por reação em cadeia da polimerase e confirmadas pelo sequenciamento de DNA. As sequências de DNA dos isolados obtidos de diferentes partes do catéter e da urina em um mesmo paciente foram comparadas. Os resultados obtidos foram consistentes com a hipótese de que a contaminação da ponta do catéter é um possível meio pelo qual as bactérias ganham acesso à bexiga.

Os primeiros estudos de formação de biofilme publicados foram realizados em condições estáticas, porém, no final dos anos 80, foram desenvolvidas técnicas diferentes que permitiram avaliar a formação do biofilme em condições dinâmicas. Um sistema amplamente utilizado para estudar o crescimento do biofilme sob fluxo contínuo foram os dispositivos Robins (MRD), compostos de um catéter conectado a um reservatório, via tubulação a uma bomba peristáltica. Para controlar o crescimento do biofilme, inicialmente, uma suspensão de células era bombeada através do catéter e depois a urina fresca. No entanto, ambos os métodos de análise de biofilme existentes não eram capazes de monitorar a resposta celular em tempo real. Para tanto foi desenvolvida uma tecnologia capaz de monitorar continuamente as mudanças fenotípicas, tais como a adaptação e o envelhecimento ao longo do ciclo de vida.

Richter *et al.*⁷⁰ desenvolveram um biochip capaz de detectar mudanças morfológicas de forma contínua. A tecnologia de microchip é bastante adequada para formação do biofilme, pois permite a criação de nichos biológicos, fornecendo condições, tais como velocidades de fluxo fisiológico, mantendo uma temperatura estável durante longos períodos de tempo. A análise de biofilme desta maneira oferece uma grande superfície para facilitar a adesão microbiana um adequado suprimento de nutrientes. Além disso, o aquecimento externo e bombeamento permitem controle exato sobre as condições ambientais. Foi implementada uma técnica para medir continuamente a viabilidade e morfologia celular e as mudanças dielétricas em espectroscopia.

Os modelos, no entanto não conseguiram recriar todos os componentes diferenciados e a estrutura do tecido vistas no epitélio urinário humano. Para contornar a dificuldade foi desenvolvido um sistema de células tridimensionais que utilizou uma tecnologia de cultura, projetada por um grupo de engenheiros americanos pertencentes à Aeronáutica Nacional e Administração do Espaço dos Estados Unidos. O sistema foi criado utilizando-se um bioreator que permitia que as células permanecessem em suspensão na ausência de oxigênio. Tais condições simulavam a microgravidade e, a partir de células individuais, permitiram a formação de orgânoides tridimensionais (3-D).^{52, 53} Tais estruturas possuem atributos celulares que correspondem ao tecido vivo, como polaridade celular, produção de uma matriz extracelular e apresentam diferenciação órgão específica.^{52, 54, 55} Este é um sistema biologicamente mais relevante para o estudo de certos aspectos da patogênese microbiana do que o das culturas de tecido bidimensionais.⁵⁶

Modelos de estudo farmacodinâmicos

O modelo de infecção *in vitro* mais simples analisa como uma cultura de patógenos responde a uma concentração fixa de antimicrobiano. Este modelo corresponde a aproximadamente um paciente infectado que recebe uma infusão constante de agente antibacteriano, por via intravenosa. A partir destes modelos de estudos *in vitro* estáticos, podem ser determinados dois parâmetros, a concentração bactericida mínima (CBM) e a concentração inibitória mínima (MIC).

Porém em clínica, os regimes de doses utilizados são variáveis, já que a maioria é administrada periodicamente o que faz com que a concentração dos antimicrobianos flutue com o tempo e o sítio de infecção. As metodologias de estudos de farmacodinâmica *in vitro* foram desenvolvidas para superar este problema da flutuação dos níveis de antibacterianos.

Nos experimentos de farmacodinâmica *in vitro*, a cultura do patógeno é exposta a um agente antimicrobiano cuja concentração flutua num padrão que simula o perfil farmacocinético humano. A eficácia deste regime de dose utilizado pode ser monitorada, por exemplo, rastreando-se a erradicação dos patógenos viáveis com o tempo.

Modelos de micção *in vitro* foram estudados para avaliar o efeito das concentrações de urina simulando crescimento bacteriano.^{29, 208}

No início de modelos farmacodinâmicos, as bactérias foram inoculadas em uma câmara de volume fixo contendo meio de crescimento, com uma alta concentração do agente antibacteriano. Em seguida, o meio de cultura, sem o agente antibacteriano, foi infundido através de uma bomba peristáltica, diminuindo assim a concentração bactericida, da mesma forma que ocorre na depuração do fármaco *in vivo*.^{209, 210, 211} Posteriormente os pesquisadores desenvolveram modelos de dois compartimentos para simular a farmacocinética observada em seres humanos e para evitar a perda de bactérias através da diluição.⁶²

O aparato consistia de dois recipientes, um maior conhecido como compartimento periférico, ao qual está inserido um compartimento central, separados por um filtro de membrana de diálise.^{212, 213, 214} Alternativamente, o compartimento periférico pode ser baseado no sistema capilar.^{215, 216} O periférico teria a função do soro, onde seria colocado um meio de cultura líquido, o Mueller-Hinton. O central faria a função do tecido e neste seria introduzida uma suspensão bacteriana, no mesmo meio de cultura, para simular uma infecção bacteriana. A difusão da droga a partir do compartimento central para o periférico e a remoção por diluição simulam a depuração do fármaco *in vivo* e acarreтам a exposição do patógeno em diferentes concentrações antimicrobianas ao longo do tempo. O controle das taxas de fluxo permite simular com precisão a farmacocinética do antimicrobiano no corpo humano, no entanto não diferencia os mecanismos de eliminação da droga, tais como filtração glomerular, secreção renal, ou o metabolismo.^{217, 218}

Os primeiros estudos utilizando modelos farmacodinâmicos *in vitro* avaliaram apenas monoterapia. Posteriormente foram realizadas adaptações que permitiram o estudo de combinações de antimicrobianos.^{219, 220, 221, 222} Recentemente foram desenvolvidos modelos que simulavam algumas infecções específicas como endocardite e infecção relacionada a catéter.^{223, 224}

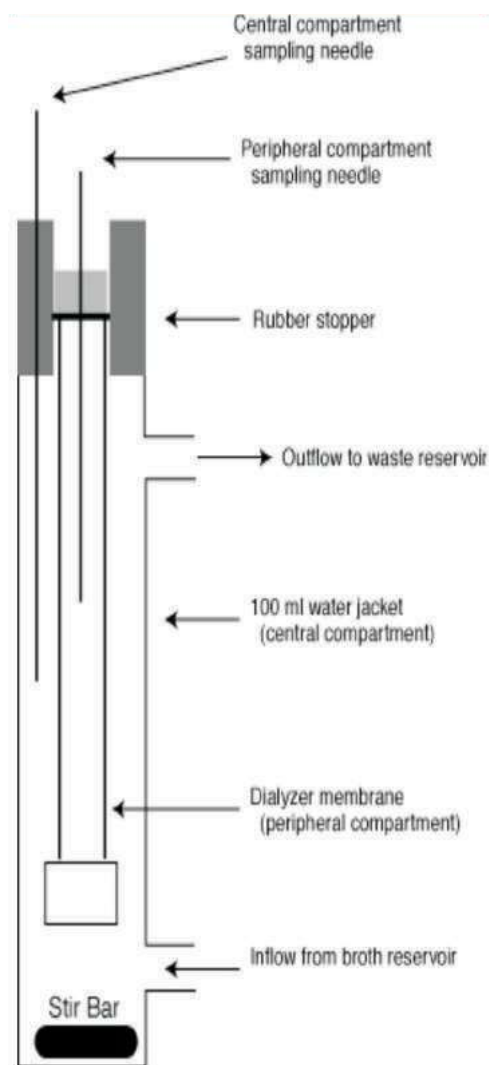


Figura 4. Exemplo de um modelo de farmacodinâmica in vitro de dois compartimentos.

Fonte: White *et al.*, 2001

Embora os modelos *in vitro* apresentem inúmeras vantagens sobre os *in vivo*, algumas questões importantes não podem ser esquecidas. Entre elas encontram-se sistema imune do hospedeiro, a temperatura, já que a febre no processo infeccioso parece contribuir para a atividade bactericida,^{225, 226, 227} a carga microbiana utili-

zada pois um efeito inóculo, em que o MIC aumenta com o aumento de inóculo, pode ser importante,^{228, 229} a virulência das bactérias que podem ser demonstrar mais facilmente *in vivo* do que *in vitro*,²³⁰ a capacidade de ligação às membranas que pode ser um precursora essencial da infecção clínica^{231, 232} a taxa de crescimento *in vitro* é outro fator limitante pois as bactérias parecem se desenvolver com maior rapidez *in vitro* do que em modelos animais ou em soro humano.^{233, 234} Condições iônicas *in vitro* e *in vivo* podem ser diferentes, e podem ter um efeito sobre a atividade antimicrobiana.²³⁵ Alguns experimentos com modelos *in vitro* necessitam de vários dias, mas a maioria dos estudos são limitados a 24 horas. Quanto aos regimes, pode ser possível, a viabilidade das bactérias durante vários dias em modelos *in vitro* podem ser problemáticas. No entanto, a simulação da distribuição de drogas é mais problemática,^{218, 236, 237} e de distribuição de drogas não tem sido bem tratada com estudos em modelo *in vitro*. A fração do agente antibacteriano em soro se liga à proteína e, portanto, efetivamente indisponível para a atividade no local da infecção. Na tentativa de simular em proteínas de ligação vivo, albumina, a principal proteína de ligação para a maioria dos agentes antimicrobianos, foi introduzida em ambos os compartimentos central e periférico de modelos *in vitro*.^{214, 235, 236, 338, 239} Apesar de ligação da droga pode ser realizado *in vitro*, manter as concentrações de proteína viável ao longo do tempo pode ser difícil de um desafio técnico e pode ser suficientemente precisos para simular as condições *in vivo*. Embora a adesão do paciente ao uso de drogas é controlada na maioria dos ensaios clínicos, adesão aos tratamentos é provável com o uso rotineiro de agentes antimicrobianos no mundo real. O efeito da baixa adesão aos regimes de tratamento no desfecho é desconhecido, mas pode ser modelado, pelo menos potencialmente, em sistemas *in vitro*. Muitas outras diferenças entre modelos de estudos *in vitro* e *in vivo* têm sido sugeridas. Por exemplo, a mucosidade de alguns micro-organismos, resistência sérica, resistência à fagocitose.^{240, 241, 242}

Conclusão

Embora existam desvantagens, os sistemas *in vitro* têm muitas características atraentes não compartilhadas nas abordagens *in vivo*. Por exemplo, sistemas *in vitro* são relativamente baratos, podem ser controlados mais facilmente do que em estudos *in vivo*, podem ser avaliados ao longo de uma ampla gama de regimes de dose, podem facilmente avaliar a atividade de agentes antibacterianos contra uma ampla variedade de espécies bacterianas, e podem com mais precisão imitar a exposição bacteriana aos antimicrobianos em humanos do que muitos modelos animais. Assim, os modelos *in vitro* não podem substituir estudos *in vivo*, mas têm claramente uma utilidade significativa.

REFERÊNCIAS

1. Foxman B, Brown P. Epidemiology of urinary tract infections: transmission and risk factors, incidence, and costs. *Infect Dis Clin North Am*. 2003 Jun;17(2):227-41.
2. Zhang L, Foxman B. Molecular epidemiology of *Escherichia coli* mediated urinary tract infections. *Front Biosci*. 2003 Jan 1;8:e235-44.
3. Stamm WE. Catheter-associated urinary tract infections: epidemiology, pathogenesis, and prevention. *Am J Med*. 1991 Sep 16;91(3B):65S-71S.
4. Stamm WE, Norrby SR. Urinary tract infections: disease panorama and challenges. *J Infect Dis*. 2001 Mar 1;183 Suppl 1:S1-4.
5. Maki DG, Tambyah PA. Engineering out the risk for infection with urinary catheters. *Emerg. Infect. Dis*. 2001 Mar-Apr;7(2):342-7.
6. Foxman B. Epidemiology of Urinary Tract Infections: Incidence, Morbidity, and Economic Costs. *Dis Mon*. 2003 Feb;49(2):53-70.
7. Tambyah PA. Catheter-associated urinary tract infections: diagnosis and prophylaxis. *Int J Antimicrob Agents*. 2004 Sep;24 Suppl 1:S44-8.
8. Warren JW. Catheter-associated urinary tract infections. *Int J Antimicrob Agents*. 2001 Apr;17(4):299-303.
9. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. *Am J Infect Control* 2004; 32:470-485.
10. Rosenthal VD, Maki DG, Jamulitrat S, Medeiros EA, Todi SK, Gomez DY *et al*. International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC) report, data summary for 2003-2008, issued June 2009. *Am J Infect Control*. 2010; Mar;38(2):95-104.e2.
11. Warren JW. Catheter-associated urinary tract infections. *Infect Dis Clin North Am* 1997; 11:609-622.
12. Stickler D, Morris NS, Mclean RJC, Fuqua C. Biofilms on Indwelling Urethral Catheters Produce Quorum-Sensing Signal Molecules In Situ and In Vitro. *Applied and Environmental Microbiology*. 1998 Sept; 64(9):3486-3490.
13. Smith PW, Bennett G, Bradley S, *et al*. SHEA/APIC guideline: infection prevention and control in the long-term care facility. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2008 July; 29:785-81.
14. Niël-Weise BS, Daha TJ, van den Broek PJ. Is there evidence for recommending needleless closed catheter access systems in guidelines? A systematic review of randomized controlled trials. *J Hosp Infect*. 2006 Apr;62(4):406-13.
15. Darouiche RO, Donovan WH, Del Terzo M, Thornby JI, Rudy DC, Hull RA. Pilot trial of bacterial interference for preventing urinary tract infection. *Urology* 2001 Sep;58(3):339-44.
16. Seabra R, Bhogal N. Hospital infections, animal models and alternatives. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2009 Jun;28(6):561-8.

17. Wiles TJ, Kulesus RR, Mulvey MA. Origins and virulence mechanisms of uropathogenic *Escherichia coli*. *Exp Mol Pathol*. 2008 Aug;85(1):11-9.
18. Bower JM, Eto DS, Mulvey MA. Covert operations of uropathogenic *Escherichia coli* within the urinary tract. *Traffic* 2005 Jan;6(1):18-31.
19. Mulvey MA, Schilling JD, Martinez JJ, Hultgren SJ. Bad bugs and beleaguered bladders: Interplay between uropathogenic *Escherichia coli* and innate host defenses. *Proc Natl Acad Sci* 2000 Aug 1;97(16):8829-35.
20. Eto DS, Jones TA, Sundsbak JL, Mulvey MA. Integrin-mediated host cell invasion by type 1-piliated uropathogenic *Escherichia coli*. *PLoS Pathog*. 2007 Jul;3(7):e100.
21. Mulvey MA, Schilling SJ, Hultgren SJ. Establishment of a persistent *Escherichia coli* reservoir during the acute phase of a bladder infection. *Infect Immun*. 2001 Jul;69(7):4572-9.
22. Anderson GG, Palermo JJ, Schilling JD, Roth R, Heuser J, Hultgren SJ. Intracellular bacterial biofilm-like pods in urinary tract infections. *Science*. 2003 Jul 4;301(5629):105-7.
23. Chopra I, Schofield C, Everett M, O'Neill A, Miller K, Wilcox M, Frère JM, Dawson M, Czaplewski L, Urleb U, Courvalin P. Treatment of health-care-associated infections caused by Gram-negative bacteria: a consensus statement. *Lancet Infect Dis*. 2008 Feb;8(2):133-9.
24. Alksne LE, Projan SJ. Bacterial virulence as a target for antimicrobial chemotherapy. *Curr Opin Biotechnol*. 2000 Dec;11(6):625-36.
25. Saenz HL, Dehio C. Signature-tagged mutagenesis: technical advances in a negative selection method for virulence gene identification. *Curr Opin Microbiol*. 2005 Oct;8(5):612-9.
26. Pradel E, Ewbank JJ. Genetic models in pathogenesis. *Annu Rev Genet* 2004; 38: 347–363.
27. Gaonkar TA, Modak SM. Comparison of microbial adherence to antiseptic and antibiotic central venous catheters using a novel agar subcutaneous infection model. *J Antimicrob Chemother*. 2003 Sep;52(3):389-96.
28. Duguid JP, Gilles RR. Fimbriae and adhesive properties in dysentery bacilli. *J Pathol Bacteriol*. 74:397-341.
29. Greenwood D. An in-vitro model simulating the hydrokinetic aspects of the treatment of bacterial cystitis. *J Antimicrob Chemother*. 1985 Jan;15 Suppl A:103-9.
30. MacGowan A, Rogers C, Bowker K. The use of in vitro pharmacodynamic models of infection to optimize fluoroquinolone dosing regimens. *J Antimicrob Chemother*. 2000 Aug;46(2):163-70.
31. Gaonkar TA, Sampath LA, Modak SM. Evaluation of the antimicrobial efficacy of urinary catheters impregnated with antiseptics in an in vitro urinary tract model. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2003 Jul;24(7):506-13.
32. Benghezal M, Adam E, Lucas A, Burn C, Orchard MG, Deuschel C, Valentino E, Braillard S, Paccaud JP, Cosson P. Inhibitors of bacterial virulence identified in a surrogate host model. *Cell Microbiol*. 2007 May;9(5):1336-42.

33. Källenius G, Möllby R, Svenson SB, Winberg J, Hultberg H. Identification of a carbohydrate receptor recognized by uropathogenic *Escherichia coli*. *Infection*. 1980;8 Suppl 3:288-93.
34. Källenius G, Svenson S, Möllby R, Cedergren B, Hultberg H, Winberg J. Structure of carbohydrate part of receptor on human uroepithelial cells for pyelonephritogenic *Escherichia coli*. *Lancet*. 1981 Sep 19;2(8247):604-6.
35. Krogfelt KA, Bergmans H, Klemm P. Direct evidence that the FimH protein is the mannose-specific adhesin of *Escherichia coli* type 1 fimbriae. *Infect Immun*. 1990 Jun;58(6):1995-8.
36. Kukkonen M, Raunio T, Virkola R, Lähteenmäki K, Mäkelä PH, Klemm P, Clegg S, Korhonen TK. Basêment membrane carbohydrate as a target for bacterial adhesion: binding of type I fimbriae of *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* to laminin. *Mol Microbiol*. 1993 Jan;7(2):229-37.
37. Nowicki BJ. In vitro models for study of uropathogens In Warren JW, Mobley HLT. *Urinary tract infections: molecular pathogenesis and clinical management 1996*: 341-376.
38. Svanborg-Edén, Larson, Lomberg, Attachment of *Proteus mirabilis* to human urinary sediment epithelial cells in vitro is different from that of *Escherichia coli*. *Infection Immunity*. 1980;27:804-807.
39. Svenson SB, Källenius G. Density and localization of P-fimbriae-specific receptors on mammalian cells: fluorescence-activated cell analysis. *Infection* . 1983 Jan-Feb;11(1):6-12.
40. Nowicki B, Vuopio-Varkila J, Viljanen P, Korhonen TK, Mäkelä PH. Fimbrial phase variation and systemic *E. coli* infection studied in the mouse peritonitis model. *Microb Pathog*. 1986 Aug;1(4):335-47.
41. Martinez JJ, Mulvey MA, Schilling JD, Pinkner JS, Hultgren SJ. Type 1 pilus-mediated bacterial invasion of bladder epithelial cells. *EMBO J*. 2000 Jun 15;19(12):2803-12.
42. Island MD, Warren JW. Effect of *Escherichia coli* Cytotoxic Necrotizing Factor 1 on Repair of Human Bladder Cell Monolayers In Vitro. *Infect Immun*. 1999 Jul;67(7):3657-61.
43. Nagy G, Altenhoefer A, Knapp O, Maier E, Dobrindt U, Blum-Oehler G, Benz R, Emody L Hacker J. Both alpha-haemolysin determinants contribute to full virulence of uropathogenic *Escherichia coli* strain 536. *Microbes Infect*. 2006 Jul;8(8):2006-12.
44. Wiles TJ, Dhakal BK, Eto DS, Mulvey MA. Inactivation of host Akt/protein kinase B signaling by bacterial pore-forming toxins. *Mol Biol Cell*. 2008 Apr;19(4):1427-38.
45. Thumbikat P, Berry RE, Zhou G, Billips BK, Yaggie RE, Zaichuk T, Sun TT, Schaeffer AJ Klumpp DJ. Bacteria-induced uroplakin signaling mediates bladder response to infection. *PLoS Pathog*. 2009 May;5(5):e1000415.
46. Mulvey MA, Lopez-Boado YS, Wilson CL, Roth R, Parks WC, Heuser J, Hultgren SJ. Induction and evasion of host defenses by type 1-piliated uropathogenic *Escherichia coli*. *Science*. 1998 Nov 20;282(5393):1494-7.

47. Hvidberg H, Struve C, Kroghfelt KA, Christensen N, Rasmussen SN, Frimodt-Møller N. Development of a long-term ascending urinary tract infection mouse model for antibiotic treatment studies. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000 Jan;44(1):156-63.
48. Schilling JD, Lorenz RG, Hultgren SJ. Effect of trimethoprim-sulfamethoxazole on recurrent bacteriuria and bacterial persistence in mice infected with uropathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun.* 2002 Dec;70(12):7042-9.
49. Justice SS, Hung C, Theriot JA, Fletcher DA, Anderson GG, Footer MJ, Hultgren SJ. Differentiation and developmental pathways of uropathogenic *Escherichia coli* in urinary tract pathogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004 Feb 3;101(5):1333-8.
50. Kern MB, Struve C, Blom J, Frimodt-Møller N, Kroghfelt KA. Intracellular persistence of *Escherichia coli* in urinary bladders from mecillinam-treated mice. *J Antimicrob Chemother.* 2005 Mar;55(3):383-6.
51. Eto DS, Sundsbak JL, Mulvey MA. Actin-gated intracellular growth and resurgence of uropathogenic *Escherichia coli*. *Cell Microbiol.* 2006 Apr;8(4):704-17.
52. Nickerson CA, Richter EG, Ott CM. Studying host-pathogen interactions in 3-D: organotypic models for infectious disease and drug development. *J Neuroimmune Pharmacol.* 2007 Mar;2(1):26-31.
53. Reznikoff CA, Loretz LJ, Pesciotta DM, Oberley TD, Ignjatovic MM. Growth kinetics and differentiation *in vitro* of normal human uroepithelial cells on collagen gel substrates in defined medium. *J Cell Physiol.* 1987 Jun;131(3):285-301.
54. Unsworth BR, Lelkes PI. Growing tissues in microgravity. *Nat Med.* 1998 Aug;4(8):901-7.
55. Hammond TG, Hammond JM. Optimized suspension culture: the rotating-wall vessel. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2001 Jul;281(1):F12-25.
56. Smith YC, Grande KK, Rasmussen SB, O'Brien AD. Novel three-dimensional organoid model for evaluation of the interaction of uropathogenic *Escherichia coli* with terminally differentiated human urothelial cells. *Infect Immun.* 2006 Jan;74(1):750-7.
57. Ronald LS, Yakovenko O, Yazvenko N, Chattopadhyay S, Aprikian P, Thomas WE, Sokurenko EV. Adaptive mutations in the signal peptide of the type 1 fimbrial adhesin of uropathogenic *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008 Aug 5;105(31):10937-42.
58. Roberts AJ, Wiedmann M. Allelic exchange and site-directed mutagenesis probe the contribution of ActA amino-acid variability to phosphorylation and virulence-associated phenotypes among *Listeria monocytogenes* strains. *FEMS Microbiol Lett.* 2006 Jan;254(2):300-7.
59. Chen SL, Hung CS, Xu J, Reigstad CS, Magrini V, Sabo A, *et al.* Identification of genes subject to positive selection in uropathogenic strains of *Escherichia coli*: a comparative genomics approach. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006 Apr 11;103(15):5977-82.

60. Chen SL, Hung CS, Pinkner JS, Walker JN, Cusumano CK, Li Z, Bouckaert J, Gordone JJ, Hultgren SJ. Positive selection identifies an in vivo role for FimH during urinary tract infection in addition to mannose binding Swaine L. PNAS. Dec 2009; 106(52): 22439–22444.
61. Kuwahara H, Myers C, Samoilov M, Temperature Control of Fimbriation Circuit Switch in Uropathogenic *Escherichia coli*: Quantitative Analysis via Automated Model Abstraction . PLoS Comput Biol. 2010 Mar 26;6(3):e1000723.
62. White RL .What in vitro models of infection can and cannot do. Pharmacotherapy. 2001 Nov;21(11 Pt 2):292S-301S.
63. Gomez-Uribe C, Verghese GC, Mirny LA. Operating regimes of signaling cycles: statics, dynamics, and noise filtering. PLoS Comput Biol. 2007 Dec;3(12):e246.
64. Berthoumieux H, Jullien L, Lemarchand A. Response to a temperature modulation as a signature of chemical mechanisms. Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys. 2007 Nov;76(5 Pt 2):056112.
65. Paster E, Ryu WS. The thermal impulse response of *Escherichia coli*. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008 Apr 8;105(14):5373-7.
66. Samoilov M, Plyasunov S, Arkin AP. Stochastic amplification and signaling in enzymatic futile cycles through noise-induced bistability with oscillations. Proc Natl Acad Sci U S A. 2005 Feb 15;102(7):2310-5.
67. Goutsias J. Classical *versus* stochastic kinetics modeling of biochemical reaction systems. Biophys J. 2007 Apr 1;92(7):2350-65.
68. Miller CA, Beard DA. The effects of reversibility and noise on stochastic phosphorylation cycles and cascades. Biophys J. 2008 Sep;95(5):2183-92.
69. Gillespie DT Stochastic simulation of chemical kinetics. Annu Rev Phys Chem. 2007;58:35-55.
70. Richter L, Stepper C, Reinthaler A, Heer R, Kast M, Brückl H, Ertl P. Development of a microfluidic biochip for online monitoring of fungal biofilm dynamics. Lab Chip. 2007 Dec;7(12):1723-31.
71. Flowers RH, Schwenzer KJ, Kopel RF, Fish MJ, Tucker SI, Farr BM. Efficacy of an attachable subcutaneous cuff for the prevention of intravascular catheter-related infection. A randomized controlled trial. JAMA. 1989 Feb 10;261(6):878-83.
72. Johnson JR, Roberts PL, Olsen R, Moyer K, Stamm WE. Prevention of catheter-associated urinary tract infections with silver oxide-coated urinary catheter: clinical and microbiological correlates. J Infect Dis. 1990 Nov;162(5):1145-50.
73. Kaye D, Hessen MT. Infections associated with foreign bodies in the urinary tract. In: Bisno AL, Waldovogel FA, editors. Infections associated with indwelling medical devices. 2nd ed. Washington: American Society for Microbiology. 1994; 291-307.
74. Maki DG, Stolz SM, Wheeler S, Mermel LA. Prevention of central venous catheter-related bloodstream infection by use of an antiseptic-impregnated catheter: a randomized controlled trial. Ann Intern Med 1997 Aug 15;127:257-266.

75. Karchmer TB, Giannetta ET, Muto CM, Strain BA, Farr MB. A randomized crossover study of silver-coated urinary catheters in hospitalized patients. *Arch. Intern. Med.* 2000 Nov 27;160:3294–3298.
76. Chakravarti A, Gangodawila S, Long MJ, Morris NS, Blacklock AR, Stickler DJ. An electrified catheter to resist encrustation by *Proteus mirabilis* biofilm. *J. Urol.* 2005 Sep; 174:1129–1132.
77. Burton E, Gawande PV, Yakandawala N, LoVetri K, Zhanel GG, Romeo T, Friesen AD, Madhyastha S. Antibiofilm activity of GlmU enzyme inhibitors against catheter-associated uropathogens. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2006 May; 50:1835–1840.
78. Jacobsen SM, Stickler DJ, Mobley HL, Shirliff ME. Complicated catheter-associated urinary tract infections due to *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis*. *Clin Microbiol Rev.* 2008 Jan;21(1):26-59.
79. Korhonen TK, Valtonen MV, Parkkinen J, Vaisanen-Rhen V, Finne J, Orskov F, Orskov I, Svenson SB, Makela PH. Serotypes, hemolysin production, and receptor recognition of *Escherichia coli* strains associated with neonatal sepsis and meningitis. *Infect. Immun.* 1985 May;48:486–491.
80. Schmoll T, Hoschutzky H, Morschhauser J, Lottspeich F, Jann K, Hacker J. Analysis of genes coding for the sialic acid-binding adhesion and two other minor fimbrial subunits of the S-fimbrial adhesin determinant of *Escherichia coli*. *Mol. Microbiol.* 1989 Dec; 3:1735–1744.
81. Duguid JP, Old DC. Bacterial adherence. Chapman & Hall, London, United Kingdom. 1980.
82. Salit, IE, Gotschlich EC. Type I *Escherichia coli* pili: characterization of binding to monkey kidney cells. *J. Exp. Med.* 1977 Nov;146:1182–1194.
83. Klemm P, Orskov I, Orskov F. F7 and type 1-like fimbriae from three *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infections: protein chemical and immunological aspects. *Infect. Immun.* 1982 May;36:462–468.
84. van Die I, van Geffen B, Hoekstra W, Bergmans H. Type 1C fimbriae of a uropathogenic *Escherichia coli* strain: cloning and characterization of the genes involved in the expression of the 1C antigen and nucleotide sequence of the subunit gene. *Gene.* 1985;34(2-3):187-96.
85. Virkola R, Westerlund B, Holthofer H, Parkkinen J, Kekomaki M, Korhonen TK. Binding characteristics of *Escherichia coli* adhesins in human urinary bladder. *Infect. Immun.* 1988 Oct; 56:2615–2622.
86. Roberts JA, Kaak B, Källenius G, Möllby R, Winberg J, Svenson SB. Receptors for pielonephritogenic *Escherichia coli* in primates. *JUrol* 1984; 131:163-168.
87. Svenson SB, Källenius G. Density and localization of P-fimbriae-specific receptors on mammalian cells: fluorescence-activated cell analysis. *Infection.* 1983 Jan-Feb;11(1):6-12.
88. Väisänen-Rhen V, Elo VJ, Väisänen E, Siitonen A, Orskov I, Orskov F, Svenson SB, Mäkella, Korhonen. Adhesin of *Escherichia coli* to human kidney cryostat sections strains. *Femms Microbiol. Lett.* 1985;27:179-182.

89. Karr JF, Nowicki BJ, Truong LD, Hull RA, Moulds JJ, Hull SI. *pap-2*-encoded fimbriae adhere to the P blood group-related glycosphingolipid stage-specific embryonic antigen 4 in the human kidney. *Infect Immun*. 1990 Dec;58(12):4055-62.
90. Nowicki B, Barrish JP, Korhonen T, Hull RA, Hull SI. Molecular cloning of the *Escherichia coli* O75X adhesin. *Infect Immun*. 1987 Dec;55(12):3168-73.
91. Korhonen TK, Virkola R, Holthofer H. Localization of binding sites for purified *Escherichia coli* P fimbriae in the human kidney. *Infect Immun*. 1986 Nov; 54:328-332.
92. Nowicki B, Rhen M, Vaisanen-Rhen V, Pere A, Korhonen TK. Immunofluorescence study of fimbrial phase variation in *Escherichia coli* KS71. *J Bacteriol* 1984 Nov;160(2):691-5.
93. Chen SL, Hung CS, Xu J, Reigstad CS, Magrini V, Sabo A, *et al*. Identification of genes subject to positive selection in uropathogenic strains of *Escherichia coli*: a comparative genomics approach. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Apr 11;103(15):5977-82.
94. Mudge CS, Klumpp DJ. Induction of the urothelial differentiation program in the absence of stromal cues. *J Urol*. 2005 Jul;174(1):380-5.
95. Bishop BL, Duncan MJ, Song J, Li G, Zaas D, Abraham SN. Cyclic AMP-regulated exocytosis of *Escherichia coli* from infected bladder epithelial cells. *Nat Med*. 2007 May;13(5):625-30.
96. Korhonen TK, Vaisanen V, Saxen H, Hultberg H, Svenson SB. P-antigen-recognizing fimbriae from human uropathogenic *Escherichia coli* strains. *Infect Immun*. 1982 Jul;37(1):286-91.
97. Orskov I, Orskov F, Birch-Andersen A. Comparison of *Escherichia coli* fimbrial antigen F7 with type 1 fimbriae. *Infect Immun*. 1980 Feb;27(2):657-66.
98. Väisänen-Rhen V, Saarela S, Rhen M. Mutations in cloned *Escherichia coli* P fimbriae genes that makes fimbriae-production resistant to suppression by trimethoprim. *Microb Pathog*. 1988 May;4(5):369-77.
99. Jann K, Jan B, Schmidt G. SDS polyacrylamide gel electrophoresis and serological analysis of pili from *Escherichia coli* of different pathogenic origin. *FEMS Microbiol Lett*. 11:21-25.
100. Väisänen V, Elo J, Tallgren LG, Siitonen A, Mäkelä PH, Svanborg-Edén C, Källénus G, Svenson SB, Hultberg H, Korhonen T. Mannose-resistant haemagglutination and P antigen recognition are characteristic of *Escherichia coli* causing primary pyelonephritis. *Lancet*. 1981 Dec 19-26;2(8260-61):1366-9.
101. Vaisanen-Rhen V, Elo J, Vaisanen E, Siitonen A, Orskov I, Orskov F, Svenson SB, Makela PH, Korhonen TK. P-fimbriated clones among uropathogenic *Escherichia coli* strains. *Infect Immun*. 1984 Jan;43(1):149-55.
102. Klemm P, Jorgensen BJ, Kreft B, Christiansen G. The export systems of type 1 and F1C fimbriae are interchangeable but work in parental pairs. *J Bacteriol*. 1995 Feb;177(3):621-7.

103. Knudsen TB, Klemm P. Probing the receptor recognition site of the FimH adhesin by fimbriae-displayed FimH-FocH hybrids. *Microbiology*. 1998 Jul;144 (Pt 7):1919-29.
104. Abraham SN, Goguen JD, Sun D, Klemm P, Beachey E H. Identification of two ancillary subunits of *Escherichia coli* type 1 fimbriae by using antibodies against synthetic oligopeptides of fim gene products. *J. Bacteriol.* 1987 Dec;169(12):5530-6.
105. Lindberg F, Lund B, Johansson L, Normark S. Localization of the receptor-binding protein adhesin at the tip of the bacterial pilus. *Nature*. 1987 Jul 2-8;328(6125):84-7.
106. Moch T, Hoschutzky H, Hacker J, Kroncke KD, Jann K. Isolation and characterization of the alpha-sialyl-beta-2,3-galactosyl-specific adhesin from fimbriated *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1987 May;84(10):3462-6.
107. Riegman N, van Die I, Leunissen J, Hoekstra W, Bergmans H. Biogenesis of F7(1) and F7(2) fimbriae of uropathogenic *Escherichia coli*: influence of the FsoF and FstFG proteins and localization of the Fso/FstE protein. *Mol. Microbiol.* 1988 Jan;2(1):73-80.
108. Brinton CC. Non-flagellar appendages of bacteria. *Nature* 1959 Mar;183:782-786.
109. Brinton CC. The structure, function, synthesis and genetic control of bacterial pili and a molecular model for DNA and RNA transport in gram negative bacteria. *Trans. N. Y. Acad. Sci.* 1965 Jun;27(8):1003-54.
110. Abraham JM, Freitag CS, Clements JR, Eisenstein, BI. An invertible DNA controls phase variation of type 1 fimbriae of *Escherichia coli* 1985. *PROC. Natl. Acad. Sci.* 1985; 82:5724-27.
111. Holden NJ, Gally DL. Switches, cross-talk and memory in *Escherichia coli* adherence. *J Med Microbiol.* 2004 Jul;53(Pt 7):585-93.
112. Snyder JA, Lloyd AL, Lockett CV, Johnson DE, Mobley HL. Role of phase variation of type 1 fimbriae in a uropathogenic *Escherichia coli* cystitis isolate during urinary tract infection. *Infect. Immun.* 2006 Feb;74(2):1387-93.
113. Kantele A, Mottonen T, Ala-Kaila K, Arvilommi HS. P fimbria-specific B cell responses in patients with urinary tract infection. *J. Infect. Dis.* 2003 Dec 15;188(12):1885-91.
114. Khan AS, Hacker J. Glycolipid receptors of F1C fimbrial adhesin of uropathogenic *Escherichia coli*. *Adv Exp Med Biol.* 2000;485:213-7.
115. Holden NJ, Uhlin BE, Gally DL. PapB paralogues and their effect on the phase variation of type 1 fimbriae in *Escherichia coli*. *Mol. Microbiol.* Oct;42(2):319-30.
116. Rhen M, Mäkelä PH, Korhonen TK. P-fimbriae of *Escherichia coli* are subject to phase variation. *FEMS Microbiol Lett.* 19:267-271.
117. Nowicki B, Rhen M, Väisänen-Rhen V, Pere A, Korhonen TK. Organization of fimbriate cells in colonies of *Escherichia coli* strain 3040. *J Gen Microbiol.* 1985 May;131(5):1263-6.

118. Eisenstein BI. Phase variation of type 1 fimbriae in *Escherichia coli* is under transcriptional control. *Science*. 1981 Oct 16;214(4518):337-9.
119. Gander RM, Thomas VL. Distribution of type 1 and P pili on uropathogenic *Escherichia coli* O6. *Infect Immun*. 1987 Feb;55(2):293-7.
120. Braaten BA, Blyn LB, Skinner BS, Low DA. Evidence for a methylation-blocking factor (mbf) locus involved in pap pilus expression and phase variation in *Escherichia coli*. *J Bacteriol*. 1991 Mar;173(5):1789-800.
121. Holden NJ, Totsika M, Mahler E, Roe AJ, Catherwood K, Lindner K, *et al*. Demonstration of regulatory cross-talk between P fimbriae and type 1 fimbriae in uropathogenic *Escherichia coli*. *Microbiology*. 2006 Apr;152(Pt 4):1143-53.
122. Forsman K, Göransson M, Uhlin BE. Autoregulation and multiple DNA interactions by a transcriptional regulatory protein in *E. coli* pili biogenesis. *EMBO J*. 1989 Apr;8(4):1271-7.
123. Holden N, Totsika M, Dixon L, Catherwood K, Gally DL. Regulation of P-fimbrial phase variation frequencies in *Escherichia coli* CFT073. *Infect Immun*. 2007 Jul;75(7):3325-34.
124. Lindberg S, Xia Y, Sonden B, Göransson M, Hacker J, Uhlin BE. Regulatory Interactions among adhesin gene systems of uropathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun*. 2008 Feb;76(2):771-80.
125. Zunino P, Geymonat L, Allen AG, Preston A, Sosa V, Maskell DJ. New aspects of the role of MR/P fimbriae in *Proteus mirabilis* urinary tract infection. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2001 Aug;31(2):113-20.
126. Göransson M, Forsman K, Uhlin BE. Regulatory genes in the thermoregulation of *Escherichia coli* pili gene transcription. *Genes Dev*. 1989 Jan;3(1):123-30.
127. Kuwahara H, Myers CJ, Samoilov MS. Temperature control of fimbriation circuit switch in uropathogenic *Escherichia coli*: quantitative analysis via automated model abstraction. *PLoS Comput Biol*. 2010 Mar 26;6(3):e1000723.
128. Dhakal BK, Kulesus RR, Mulvey MA. Mechanisms and consequences of bladder cell invasion by uropathogenic *Escherichia coli*. *Eur J Clin Invest*. 2008 Oct;38 Suppl 2:2-11.
129. Wang H, Glockshuber R, Sun TT, Kong XP, Uropathogenic *E. coli* adhesin-induced host cell receptor conformational changes: implications in transmembrane signaling transduction. *J Mol Biol*. 2009 Sep 18;392(2):352-61.
130. Koschinski A, Repp H, Unver B, Dreyer F, Brockmeier D, Valeva A, *et al*. Why *Escherichia coli* alpha-hemolysin induces calcium oscillations in mammalian cells--the pore is on its own. *FASEB J*. 2006 May;20(7):973-5.
131. Mansson LE, *et al*. Role of the lipopolysaccharide-CD14 complex for the activity of hemolysin from uropathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun* 2007;75:997-1004.
132. Guyer DM, Radulovic S, Jones FE, Mobley HL. Sat, the secreted autotransporter toxin of uropathogenic *Escherichia coli*, is a vacuolating cytotoxin for bladder and kidney epithelial cells. *Infect Immun*. 2002 Aug; 70 (8) :4539-46.

133. Maroncle NM, Sivick KE, Brady R, Stokes FE, Mobley HL. Protease activity, secretion, cell entry, cytotoxicity, and cellular targets of secreted autotransporter toxin of uropathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun*. 2006 Nov;74(11):6124-34.
134. Ewers C, Li G, Wilking H, Kiessling S, Alt K, Antão EM, Laturnus C, Diehl I, Glodde S, Homeier T, Böhnke U, Steinrück H, Philipp HC, Wieler LH. Avian pathogenic, uropathogenic, and newborn meningitis-causing *Escherichia coli*: how closely related are they? *Int J Med Microbiol* 2007 Jun;297(3):163-76.
135. Restieri C, Garriss G, Locas MC, Dozois CM. Autotransporter-encoding sequences are phylogenetically distributed among *Escherichia coli* clinical isolates and reference strains. *Appl Environ Microbiol*. 2007 Mar;73(5):1553-62.
136. Rippere-Lampe KE, O'Brien AD, Conran R, Lockman HA. Mutation of the gene encoding cytotoxic necrotizing factor type 1 *cnf* (1) attenuates the virulence of uropathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun* 2001 Jun;69(6):3954-64.
137. Mills M, Meysick KC, O'Brien AD. Cytotoxic necrotizing factor type 1 of uropathogenic *Escherichia coli* kills cultured human uroepithelial. *Infect Immun*. 2000 Oct;68(10):5869-80.
138. Doye A, Mettouchi A, Bossis G, Clément R, Buisson-Touati C, Flatau G, Gagnoux L, Piechaczyk M, Boquet P, Lemichez E. CNF1 exploits the ubiquitin-proteasome machinery to restrict Rho GTPase activation for bacterial host cell invasion. 2002 Nov 15;111(4):553-64.
139. Davis JM, Carvalho HM, Rasmussen SB, O'Brien AD. Cytotoxic necrotizing factor type 1 delivered by outer membrane vesicles of uropathogenic *Escherichia coli* attenuates polymorphonuclear leukocyte antimicrobial activity and chemotaxis. *Infect Immun*. 2006 Aug;74(8):4401-8.
140. Kouokam JC, Wai SN, Fällman M, Dobrindt U, Hacker J, Uhlin BE. Active cytotoxic necrotizing factor 1 associated with outer membrane vesicles from uropathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun*. 2006 Apr;74(4):2022-30.
141. Bhakdi S, Mackman N, Menestrina G, Gray L, Hugo F, Seeger W, Holland IB. The hemolysin of *Escherichia coli*. *Eur J Epidemiol*. 1988 Jun;4(2):135-43.
142. Boehm DF, Boehm DF, Welch RA, Snyder IS. Domains of *Escherichia coli* hemolysin (HlyA) involved in binding of calcium and erythrocyte membranes. *Infect Immun* 1990 Jun;58(6):1959-64.
143. Ostolaza H, Goñi FM. Interaction of the bacterial protein toxin alpha-haemolysin with model membranes: protein binding does not always lead to lytic activity. *FEBS Lett*. 1995 Sep 11;371(3):303-6
144. Cavalieri SJ, Snyder IS. Effect of *Escherichia coli* alpha-hemolysin on human peripheral leukocyte viability *in vitro*. *Infect Immun*. 1982 May;36(2):455-61.
145. Uhlén P, Laestadius A, Jahnukainen T, Söderblom T, Bäckhed F, Celsi G, Brismar H, Normark S, Aperia A, Richter-Dahlfors A. Alpha-haemolysin of uropathogenic *E. coli* induces Ca²⁺ oscillations in renal epithelial cells. *Nature*. 2000 Jun 8;405(6787):694-7.

146. Hamon MA, *et al.* Histone modifications induced by a family of bacterial toxins. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:13467–13472.
147. Henderson IR, Navarro-Garcia F, Desvaux M, Fernandez RC, Ala'Aldeen D. Type V protein secretion pathway: the autotransporter story. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2004 Dec;68(4):692-744.
148. Parreira VR, Gyles CL. A novel pathogenicity island integrated adjacent to the *thrW* tRNA gene of avian pathogenic *Escherichia coli* encodes a vacuolating autotransporter toxin. *Infect Immun.* 2003 Sep;71(9):5087-96.
149. Mashburn-Warren LM, Whiteley M. Special delivery: vesicle trafficking in prokaryotes. *Mol Microbiol.* 2006 Aug;61(4):839-46.
150. Alonso P, Blanco J, Blanco M, Gonzalez EA. Frequent production of toxins by *Escherichia coli* strains from urinary tract infections: relation with hemagglutination. *FEMS Microbiol. Lett.* 1987;48:391–396.
151. Blanco J, Blanco M, Alonso MP, Blanco JE, Gonzalez EA, Garabal JI. Characteristics of haemolytic *Escherichia coli* with particular reference to production of cytotoxic necrotizing factor type 1 (CNF1). *Res. Microbiol.* 1992; 143:869–878.
152. Caprioli A, Falbo V, Ruggeri FM, Baldassarri L, Bisicchia R, Ippolito G, Romoli E, Donelli G. Cytotoxic necrotizing factor production by hemolytic strains of *Escherichia coli* causing extraintestinal infections. *J Clin Microbiol.* 1987 Jan;25(1):146-9.
153. Blum G, Falbo V, Caprioli A, Hacker J. Gene clusters encoding the cytotoxic necrotizing factor type 1, Prs-fimbriae and alpha-hemolysin form the pathogenicity island II of the uropathogenic *Escherichia coli* strain J96. *FEMS Microbiol Lett.* 1995 Feb 15;126(2):189-95.
154. Caprioli A, Donelli G, Falbo V, Possenti R, Roda LG, Roscetti G, Ruggeri FM. A cell division-active protein from *E. coli*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 118:587–593.
155. De Rycke J, González EA, Blanco J, Oswald E, Blanco M, Boivin R. Evidence for two types of cytotoxic necrotizing factor in human and animal clinical isolates of *Escherichia coli*. *J. Clin. Microbiol.* 1990 Apr;28(4):694-9.
156. Falzano L, Fiorentini C, Donelli G, Michel E, Kocks C, Cossart P, Cabanié L, Oswald E, Boquet P. Induction of phagocytic behavior in human epithelial cells by *Escherichia coli* cytotoxic necrotizing factor type 1. *Mol Microbiol.* 1993 Sep;9(6):1247-54.
157. Fiorentini C, Arancia G, Caprioli A, Falbo V, Ruggeri FM, Donelli G. Cytoskeletal changes induced in Hep-2 cells by the cytotoxic necrotizing factor of *Escherichia coli*. *Toxicon* 26:1047–1056.
158. Henry T, Pommier S, Journet L, Bernadac A, Gorvel JP, Lloubès R. Improved methods for producing outer membrane vesicles in Gram-negative bacteria. *Res Microbiol.* 2004 Jul-Aug;155(6):437-46.
159. Sauer FG, Mulvey MA, Schilling JD, Martinez JJ, Hultgren SJ. Bacterial pili: molecular mechanisms of pathogenesis. *Curr Opin Microbiol.* 2000 Feb;3(1):65-72.

160. Klausen M, Heydorn A, Ragas P, Lambertsen L, Aaes-Jorgensen A, Molin S, Tolker-Nielsen. Biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* wild type, flagella and type IV pili mutants. *Mol. Microbiol.* 48:1511–1524. 2003 Jun;48(6):1511-24.
161. Pratt LA, Kolter R. Genetic analysis of *Escherichia coli* biofilm formation: roles of flagella, motility, chemotaxis and type I pili. *Mol. Microbiol.* 1998 Oct;30(2):285-93.
162. Tolker-Nielsen, T., U. C. Brinch, P. C. Ragas, J. B. Andersen, C. S. Jacobsen, and S. Molin. 2000. Development and dynamics of *Pseudomonas* sp. Biofilms *J. Bacteriol.* 182:6482–6489.
169. Burall LS, Harro JM, Li X, Lockett CV, Himpsl SD, Hebel JR, *et al.* *Proteus mirabilis* genes that contribute to pathogenesis of urinary tract infection: identification of 25 signature-tagged mutants attenuated at least 100-fold. *Infect Immun.* 2004 May;72(5):2922-38.
170. Ronald, A. 2002. The etiology of urinary tract infection: traditional and emerging pathogens. *Am. J. Med.* 113(Suppl. 1A):14S–19S.
171. Wright KJ, Seed PC, Hultgren SJ. Uropathogenic *Escherichia coli* flagella aid in efficient urinary tract colonization. *Infect. Immun.* 2005 Nov;73:7657–7668.
172. Jones BV, Young R, Mahenthiralingam E, Stickler DJ. Ultrastructure of *Proteus mirabilis* swarmer cell rafts and role of swarming in catheter-associated urinary tract infection. *Infect. Immun.* 2004 Jul;72(7):3941-50.
173. Jansen AM, Lockett V, Johnson DE, Mobley HL. Mannose-resistant *Proteus*-like fimbriae are produced by most *Proteus mirabilis* strains infecting the urinary tract, dictate the *in vivo* localization of bacteria, and contribute to biofilm formation. *Infect Immun.* 2004 Dec;72(12):7294-305.
174. Lane MC, Alteri CJ, Smith SN, Mobley HL. Expression of flagella is coincident with uropathogenic *Escherichia coli* ascension to the upper urinary tract. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007 Oct 16;104(42):16669-74.
175. Bahrani-Mougeot FK, Buckles EL, Lockett CV, Hebel JR, Johnson DE, Tang CM, Donnenberg MS. Type 1 fimbriae and extracellular polysaccharides are preeminent uropathogenic *Escherichia coli* virulence determinants in the murine urinary tract. *Mol Microbiol.* 2002 Aug;45(4):1079-93.
176. Raad I, Costerton W, Sabharwal U, Sacilowski M, Anaissie W, Bodey G. Ultrastructural analysis of indwelling vascular catheters: a quantitative relationship between luminal colonization and duration of placement. *J Infect Dis* 1993;168:400-7
177. Donlan R, Murga R, Carson L. Growing biofilms in intravenous fluids. In: Wimpenny J, Gilbert P, Walker J, Brading M, Bayston R, editors. *Biofilms, the good, the bad, and the ugly.* Presented at the fourth meeting of the Biofilm Club; 1999; Powys, UK. p. 23-9.
178. Beiko DT, Knudsen BE, Watterson JD, Cadieux PA, Reid G, Denstedt JD. Urinary tract biomaterials. *J Urol.* 2004 Jun;171(6 Pt 1):2438-44.

179. Denstedt JD, Wollin TA, Reid G. Biomaterials used in urology: current issues of biocompatibility, infection, and encrustation. *J Endourol.* 1998 Dec;12(6):493-500.
180. Tenke P, Kovacs B, Jäckel M, Nagy E. The role of biofilm infection in urology. *World J Urol.* 2006 Feb;24(1):13-20.
181. Itoh Y, Wang X, Hinnebusch BJ, Preston JF 3rd, Romeo T. Depolymerization of beta-1,6-N-acetyl-D-glucosamine disrupts the integrity of diverse bacterial biofilms. *J Bacteriol.* 2005 Jan;187(1):382-7.
182. Griffith DP, Musher DM, Itin C. Urease. The primary cause of infection-induced urinary stones. *Invest Urol.* 1976 Mar;13(5):346-50.
183. Stickler DJ, Jones SM, Adusei GO, Waters MG, Cloete J, Mathur S, Feneley RC. A clinical assessment of the performance of a sensor to detect crystalline biofilm formation on indwelling bladder catheters. *BJU Int.* 2006 Dec;98(6):1244-9.
184. Stickler DJ, Jones SM, Adusei GO, Waters MG. A sensor to detect the early stages in the development of crystalline *Proteus mirabilis* biofilm on indwelling bladder catheters. *J Clin Microbiol.* 2006 Apr;44(4):1540-2.
185. Lyte M, Freestone PP, Neal CP, Olson BA, Haigh RD, Bayston R, Williams PH. Stimulation of *Staphylococcus epidermidis* growth and biofilm formation by catecholamine inotropes. *Lancet.* 2003 Jan 11;361(9352):130-5.
186. Vapnek JM, Maynard FM. A prospective randomized trial of the LoFric hydrophilic coated catheter versus conventional plastic catheter for clean intermittent catheterization. *J Urol.* 2003 Mar;169(3):994-8.
187. Morris NS, Stickler DJ. Encrustation of indwelling urethral catheters by *Proteus mirabilis* biofilms growing in human urine. *J Hosp Infect.* 1998 Jul;39(3):227-34.
188. Morris NS, Stickler DJ, Winters C. Which indwelling urethral catheters resist encrustation by *Proteus mirabilis* biofilms? *Br J Urol.* 1997 Jul;80(1):58-63.
189. Stickler DJ, Jones GL, Russell AD. Control of encrustation and blockage of Foley catheters. *Lancet.* 2003 Apr 26;361(9367):1435-7.
190. Darouiche RO, Cadle RM, Zenon GJ 3rd, Markowski J, Rodriguez M, Musher DM. Progression from asymptomatic to symptomatic urinary tract infection in patients with SCI: a preliminary study. *J Am Paraplegia Soc.* 1993 Oct;16(4):219-24.
191. Johnson JR, Kuskowski MA, Wilt TJ. Systematic review: antimicrobial urinary catheters to prevent catheter-associated urinary tract infection in hospitalized patients. *Ann Intern Med.* 2006 Jan 17;144(2):116-26.
192. Johnson JR, Berggren T, Conway AJ. Activity of a nitrofurazone matrix urinary catheter against catheter-associated uropathogens. *Antimicrob Agents Chemother.* 1993 Sep;37(9):2033-6.
193. Bibby JM, Cox AJ, Hukins DWR. Feasibility of preventing encrustation on urinary catheters. *Cells Mater.* 1995; 2:183-195.

194. Jones GL, Russell AD, Caliskan Z, Stickler DJ. A strategy for the control of catheter blockage by crystalline *Proteus mirabilis* biofilm using the antibacterial agent triclosan. *Eur Urol.* 2005 Nov;48(5):838-45.
195. Merrell DS, Camilli A. Detection and analysis of gene expression during infection by *in vivo* expression technology. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2000 May 29;355(1397):587-99.
196. Bassetti S, Hu J, D'Agostino RB Jr, Sherertz RJ. *In vitro* zones of inhibition of coated vascular catheters predict efficacy in preventing catheter infection with *Staphylococcus aureus* *in vivo*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2000 Aug;19(8):612-7.
197. Solomon DD, Sherertz, RJ. Antibiotic releasing polymers. *J Controlled Release* 1987;6:343-352.
198. Raad I, Darouiche R, Hachem R, Mansouri M, Bodey GP. The broad-spectrum activity and efficacy of catheters coated with minocycline and rifampin. *J Infect Dis.* 1996 Feb;173(2):418-24.
199. Bassetti S, Hu J, D'Agostino RB Jr, Sherertz RJ. Prolonged antimicrobial activity of a catheter containing chlorhexidine-silver sulfadiazine extends protection against catheter infections *in vivo*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001 May;45(5):1535-8.
200. Sherertz RJ, Forman DM, Solomon DD. Efficacy of dicloxacillin-coated polyurethane catheters in preventing subcutaneous *Staphylococcus aureus* infection in mice. *Antimicrob Agents Chemother.* 1989 Aug;33(8):1174-8.
201. Tebbs SE, Elliott TS. A novel antimicrobial central venous catheter impregnated with benzalkonium chloride. *J Antimicrob Chemother.* 1993 Feb;31(2):261-71.
202. Schierholz JM, Bach A, Fleck C, Beuth J, König D, Pulverer G. Measurement of ultrasonic-induced chlorhexidine liberation: correlation of the activity of Chlorhexidine-silver-sulfadiazine-impregnated catheters to agar roll technique and broth culture. *J Hosp Infect.* 2000 Feb;44(2):141-5.
203. Tambe SM, Sampath L, Modak SM. *In vitro* evaluation of the risk of developing bacterial resistance to antiseptics and antibiotics used in medical devices. *J Antimicrob Chemother* 2001;47:589-598.
204. Maki DG, Ringer M. Evaluation of dressing regimens for prevention of infection with peripheral intravenous catheters. Gauze, a transparent polyurethane dressing, and an iodophor-transparent dressing. 1987 Nov 6;258(17):2396-403.
205. Goldblum SE, Ulrich JA, Goldman RS, Reed WP, Avasthi PS. Comparison of 4% chlorhexidine gluconate in a detergent base (Hibiclens) and povidone-iodine (Betadine) for the skin preparation of hemodialysis patients and personnel. *Am J Kidney Dis.* 1983 Mar;2(5):548-52.
206. Ferrières L, Hancock, Klemm P. Specific selection for virulent urinary tract infectious *Escherichia coli* strains during catheter-associated biofilm formation. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2007 Oct;51(1):212-9.

207. Barford JM, Anson K, Coates AR. A model of catheter-associated urinary tract infection initiated by bacterial contamination of the catheter tip. *BJU Int.* 2008 Jul;102(1):67-74.
208. Anderson JD, Johnson K, M Aird MY. Comparison of amoxicillin and ampicillin activities in a continuous culture model of the human urinary bladder. *Antimicrob Agents Chemother.* 1980 Apr;17(4):554-7.
209. Grasso S, Meinardi G, De Carneri I, Tamassia V. New in vitro model to study the effect of antibiotic concentration and rate of elimination on antibacterial activity. *Antimicrob Agents Chemother.* 1978 Apr;13(4):570-6.
210. Keil S, Wiedemann B. Mathematical corrections for bacterial loss in pharmacodynamic in vitro dilution models. *Antimicrob Agents Chemother.* 1995 May;39(5):1054-8.
211. White CA, Toothaker RD, Smith AL, Slattery JT. Correction for bacterial loss in in vitro dilution models. *Antimicrob Agents Chemother.* 1987 Nov;31(11):1859-60.
212. Manduru M, Mihm LM, White RL, Friedrich LV, Bosso JA. A new in vitro model for the assessment of antimicrobial pharmacodynamics: description and assessment of performance characteristics. *J Infect Dis Pharmacother* 1997;2:29-46.
213. Cappelletty DM, Kang SL, Palmer SM, Rybak MJ. Pharmacodynamics of ceftazidime administered as continuous infusion or intermittent bolus alone and in combination with single daily-dose amikacin against *Pseudomonas aeruginosa* in an in vitro infection model. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39:1797-801.
214. Garrison MW, Anderson DE, Campbell DM, *et al.* *Stenotrophomonas maltophilia*: emergence of multidrug-resistant strains during therapy and in an in vitro pharmacodynamic chamber model. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40:2859-64.
215. Reeves DS. Advantages and disadvantages of an in vitro model with two compartments connected by a dialyser: results of experiments with ciprofloxacin. *J Antimicrob Chemother* 1985;15(suppl A):159-67.
216. Zinner SH, Husson M, Klastersky J. An artificial capillary in vitro kinetic model of antibiotic bactericidal activity. *J Infect Dis* 1981;144:583-7.
217. Blaser J, Rieder HL, Luthy R. Interface-area-to-volume ratio of interstitial fluid in humans determined by pharmacokinetic analysis of netilmicin in small and large skin blisters. *Antimicrob Agents Chemother* 1991;35:837-9.
218. Van Etta LL, Fasching CE, Peterson LR, Gerding DN. Comparison study of the kinetics of ceftizoxime penetration into extravascular spaces with known surface area/volume ratio in vitro and in vivo in rabbits. *Antimicrob Agents Chemother* 1983;23:49-53.
219. Blaser J, Stone BB, Zinner SH. Efficacy of intermittent *versus* continuous administration of netilmicin in a two-compartment in vitro model. *Antimicrob Agents Chemother* 1985;27:343-9.

220. Zinner SH, Blaser J, Stone BB, Groner MC. Use of an *in vitro* kinetic model to study antibiotic combinations. *J Antimicrob Chemother* 1985;15(suppl A):221-6.
221. Shah PM. Activity of imipenem in an *in vitro* model simulating pharmacokinetic parameters in human blood. *J Antimicrob Chemother* 1985;15(suppl A):153-7.
222. Lister PD, Prevan AM, Sanders CC. Importance of β -lactamase inhibitor pharmacokinetics in the pharmacodynamics of inhibitor-drug combinations: studies with piperacillin-tazobactam and piperacillin-sulbactam. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41:721-7.
223. Blaser J, Vergeres P, Widmer AF, Zimmerli W. *In vivo* verification of *in vitro* model of antibiotic treatment of device-related infection. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39: 1134-9.
224. Aeschlimann JR, Zervos MJ, Rybak MJ. Treatment of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* with RP 59500 (quinupristin-dalfopristin) administered by intermittent or continuous infusion, alone or in combination with doxycycline, in an *in vitro* pharmacodynamic infection model with simulated endocardial vegetations. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:2710-7.
225. Russell NJ. Adaptation to temperature in bacterial membranes. *Biochemical Society Transactions* 1983;11:333-5.
226. Mackowiak PA, Marling-Cason M, Cohen R. Effects of temperature on antimicrobial susceptibility of bacteria. *J Infect Dis* 1982;145:550-3.
227. Martinez RJ. Plasmid-mediated and temperature-regulated surface properties of *Yersinia enterocolitica*. *Infect Immun* 1983;41:921-30.
228. Brook I. Inoculum effect. *Rev Infect Dis* 1989;11:361-8.
229. Firsov AA, Ruble M, Gilbert D, *et al.* Net effect of inoculum size on antimicrobial action of ampicillin-sulbactam: studies using an *in vitro* dynamic model. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41:7-12.
230. Watson DL. Virulence of *Staphylococcus aureus* grown *in vitro* or *in vivo*. *Res Vet Sci.* 1982 May;32(3):311-5.
231. Schifferli DM, Beachey EH. Bacterial adhesion: modulation by antibiotics which perturb protein synthesis. *Antimicrob Agents Chemother* 1988;32:1603-8
232. Okamoto K, Takashi I, Ichikawa H, *et al.* Adherence of *Yersinia enterocolitica* to mammalian epithelial cell lines. *Microbiol Immunol* 1980;24:1013-22.
233. Watson DL, Prideaux JA. Comparisons of *Staphylococcus aureus* grown *in vitro* or *in vivo*. *Microbiol Immunol.* 1979;23(6):543-7.
234. Brown MRW, Williams P. Influence of substrate limitation and growth phase on sensitivity to antimicrobial agents. *J Antimicrob Chemother* 1985;15(suppl A):7-14.
235. Peterson LR, Shanholtzer CJ. Tests for bactericidal effects of antimicrobial agents: technical performance and clinical relevance. *Clin Micro Ver* 1992;5:420-32.

236. Van Etta LL, Peterson LR, Fasching CE, Gerding DN. Effect of the ratio of surface area to volume on the penetration of antibiotics into extravascular spaces in an in vitro model. *J Infect Dis* 1982;146:423-8.
237. Blaser J, Rieder H, Niederer P, Lüthy R . Biological variability of multiple dose pharmacokinetics of netilmicin in man. *Eur J Clin Pharmacol.* 1983;24(3):399-406.
238. Peterson LR, Van Etta LL, Fasching CE, Gerding DN. Effect of protein binding on simulated intravascular and extravascular kinetics of cefotaxime in an in vitro model. *Antimicrob Agents Chemother* 1984;25:58-61
239. Dudley MN, Blaser J, Gilbert D, Zinner SH. Significance of “extravascular” protein binding for antimicrobial pharmacodynamics in an in vitro capillary model of infection. *Antimicrob Agents Chemother.* 1990 Jan;34(1):98-101.
240. Bergan T, Hoiby N. Epidemiological markers for *Pseudomonas aeruginosa*. 6. Relationship between concomitant non-mucoid and mucoid strains from the respiratory tract in cystic fibrosis. *Acta Pathol Microbiol Scand Suppl.* 1975 Dec;83(6):553-60.
241. Karakawa WW, Kane JA. Immunochemistry of an acidic antigen isolated from a *Staphylococcus aureus*. *J Immunol.* 1975 Jan;114(1 Pt 2):310-5.
242. Karakawa WW, Young DA. Immunological specificity of heat-stable opsonins in immune and nonimmune sera and their interaction with non-encapsulated and encapsulated strains of *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun.* 1979 Jul;25(1) :175-86.

43. MODELOS EXPERIMENTAIS *IN VIVO* PARA ESTUDOS DE INFECÇÕES URINÁRIAS

Edvaldo Antonio Ribeiro Rosa
Terezinha Inez Estivalet Svidzinski

Introdução

Modelos animais são indispensáveis para a elucidação de mecanismos relacionados à etiopatologia de doenças. Nas infecções do trato urinário (ITU) eles também contribuem, pois fornecem informações importantes impossíveis de serem obtidas por meio de testes *in vitro*. Animais permitem estudos sobre interações entre o patógeno e hospedeiro incluindo etapas críticas da relação como a ligação do agente à superfície das células hospedeiras, bem como a interface e dinâmica desde o início do processo infeccioso e a evolução da doença além de aspectos relacionados ao tratamento seja testes de medicamentos ou processos cirúrgicos corretivos ou outros.

O termo *vivissecação* é usado em bioterismo para indicar o uso de seres vivos, principalmente animais, para o estudo dos processos da vida e de doenças, na prática experimental e didática, e todo tipo de manipulação sofrida por seres vivos.

Atualmente, vivencia-se movimento mundial sobre a ética e proteção animal, com argumentos inflamados na tentativa de excluir os modelos animais da experimentação. A linha defende que o conhecimento sobre as doenças deveria ser baseado em experimentos *in vitro*, em linhagens celulares ou modelos computacionais. Apesar disso, existe amplo reconhecimento na comunidade científica sobre a necessidade do uso do modelo animal para experimentação. Gomez e Tomaz (2007) rebatem os argumentos pró-defesa dos animais fundamentando-se no Código de Nuremberg e na declaração de Helsinki, documentos internacionais sobre a ética em pesquisa. Os autores afirmam que toda a experimentação em seres humanos deve ser obrigatoriamente precedida pela experimentação com animais não humanos.¹ Novos medicamentos e outros tipos de tratamento devem ser testados em animais para que a provável eficácia e segurança sejam estabelecidas, pois é ainda menos ético expor seres humanos a tratamentos sem a certeza sobre os benefícios e possíveis efeitos colaterais.

Em várias etapas da pesquisa é necessário observar e verificar como o organismo de um ser vivo responde à manipulação, o que é impossível de alcançar com a experimentação *in vitro* em células ou tecidos isolados. Essas deveriam sim representar as primeiras etapas de uma pesquisa, cujos resultados positivos a seguir seriam avaliados em animais e finalmente em seres humanos. O que na verdade é a

alternativa do bom senso uma vez que nas etapas *in vitro* já seriam eliminadas todas as tentativas sem sucesso “economizando” os animais.

Na verdade o uso de animais em pesquisa acompanha a história da ciência e da humanidade. Os modelos animais garantiram grandes descobertas e acompanharam o desenvolvimento tecnológico. Entretanto, poucos são os textos disponíveis destinados aos modelos animais na área de infecção urinária. Os textos vinculados ao tema em particular descrevem experimentações específicas, com objetivos pontuais. No presente capítulo pretende-se estender o assunto de forma a nortear, sobretudo estudantes e iniciantes na investigação científica sobre modelos animais na elucidação de mecanismos relacionados às ITUs.

Principais modelos animais para o estudo de ITU

Vários animais (coelhos, cães, camundongos, macacos, ratos e cobaias) têm sido usados para elucidar muitos aspectos das ITUs, o objetivo do uso dos animais é mimetizar ao máximo a relação entre micro-organismo e hospedeiro humano.

Alguns fatores relacionados aos animais devem ser observados a fim de garantir o sucesso da infecção experimental; dentre outros são destacados: que o animal precisa ser saudável e bem nutrido; estar livre de patógenos; ser mantido em local limpo e com condições ambientais controladas.

Assim, a suscetibilidade à infecção pode estar condicionada a outros fatores que incluem tipo, raça, sexo, peso e idade. O estabelecimento de uma infecção pela primeira vez requer uma série de avaliações tendo em vista a alta frequência de resistência natural. O tamanho do animal é uma característica fundamental que envolve outros como idade e peso. A questão do tamanho é importante, uma vez que pode ser uma limitação, por exemplo, passar um catéter urinário em um camundongo macho é tarefa quase impossível com os dispositivos disponíveis.

De forma semelhante, é importante levar-se em conta a necessidade ou não quanto ao uso de animais geneticamente idênticos (animais isogênicos). Em algumas situações, a exigência contribui como no momento da padronização de uma determinada técnica; já em outras, como o caso de observar possíveis variações entre indivíduos, deve se optar por animais com *background* genético variável.

Assim, a escolha do modelo animal a ser empregado deve levar em consideração algumas variáveis como (1) espécie (camundongo, rato, coelho, cão, porco, macaco etc.), (2) raça (coelhos “New Zealand”; ratos “Wistar”, “Sprague-Dawley”, “Hooded-Oxford”; camundongos “Razzi”, “CBA”; etc.), (3) sexo (macho ou fêmea), (4) idade, (5) massa corpórea e (6) tamanho de amostra (também conhecido como “n amostral”). Além disso, ainda existe a possibilidade de disponibilidade de mutantes *knock-out* para estudos que envolvam variáveis imunológicas, endocrinológicas e metabólicas. Ainda, animais gnotobióticos *germ-free* (GF) ou *specific pathogen free* (SPF) podem ser muito úteis quando se pretende avaliar a patofisiologia das ITUs com uropatógenos específicos.

O pesquisador deve ter em mente qual(is) a(s) vantagem(ns) em se utilizar uma determinada espécie animal, além das limitações logísticas locais. Uma inspeção prévia acerca da realidade do serviço de bioterismo disponível pode levar às tomadas de decisão mais apropriadas.

Diferentes grupos têm publicado protocolos de indução experimental de ITUs nos mais variados modelos animais e parece não haver um consenso acerca do(s) método(s) mais apropriado(s). A seguir são destacados os animais que contribuíram na obtenção do conhecimento acumulado até o momento apontando vantagens, limitações e algumas aplicações.

Camundongos

Considerado o “espelho milagroso” do ser humano², o camundongo tem sido eleito como animal modelo de várias doenças humanas, pois oferece muitas vantagens cumulativas sobre outros organismos.

Vantagens: Modelo de fácil manipulação, barato e flexível para vários protocolos. Permite condições para o estudo de protocolos de tratamento de ITUs crônicas.³

Limitações: Dificuldade em estabelecer ITUs por bacilos gram-negativos (BGN) em animais normais, porque a dose infectante, no rim, é semelhante à dose letal. Frequente refluxo vesicouretral (RVU) é observado com certas concentrações de inóculo requerendo cuidados especiais para o protocolo de inoculação.

Aplicações: Estudos sofisticados sobre FimH, uma adesina de *E. coli* uropatogênica (UPEC),⁴ comparação da expressão de produtos de genes específicos envolvidos na virulência entre UPEC (*E. coli* uropatogênica) e APEC (*E. coli* patogênica aviária).⁵ O modelo permitiu estudos sobre as condições experimentais para evitar o RVU um dos principais limitantes do uso de camundongos em ITU experimental.⁶

Ratos

A maioria dos estudos de ITU em animais tem sido realizada em ratos, cuja experiência iniciou no princípio do século XX e se estende até hoje.

Vantagens: Baixo custo para aquisição e manutenção. Desenvolvem pielonefrite espontaneamente. Bom modelo para ITU via hematogênica ou por inoculação direta na bexiga ou parênquima renal.

Limitações: Dificuldade em estabelecer ITUs por BGN em animais normais.

Aplicações: Estudos acerca de antibioticoterapia em ITU, efeitos de vacinação e fatores de virulência de bactérias. Pesquisas mostraram por meio desse modelo animal que um produto gênico envolvido na infecção dos rins o *NGAL* é um potencial biomarcador não invasivo de dano renal.⁷ Outra aplicação interessante é o emprego de ratas para avaliação de tratamento homeopático em ITU.⁸

Coelhos

Provavelmente, os coelhos tenham sido os primeiros animais usados no estudo das ITU.

Vantagens: São modelos de fácil manipulação e pouca exigência para manutenção. Oferecem características fisiopatológicas fáceis de monitorar, facilitando o estabelecimento de linhas de corte. O tamanho dos coelhos permite a indução da ITU bem como a obtenção de amostras de urina para controle.⁹ O tamanho facilita estudos envolvendo biomateriais como catéteres, *stents* isoladamente ou recobertos com produtos¹⁰ e também ensaios com inoculação transuretral. Assim, as características desses animais permitem também avaliar a resposta imunológica do hospedeiro, principalmente, a resposta imune humoral com a obtenção de anticorpos contra o agente envolvido na ITU, algumas vezes de interesse do pesquisador.

Limitações: São animais sensíveis à aplicação endovenosa. Há muitos anos foi observado que a inoculação e.v. de *Escherichia coli* não chegou a induzir bacteriúria e sim, a morte dos coelhos.¹¹ Além disso, a resposta nos animais é diferente conforme o micro-organismo em experimentação; por exemplo, é difícil obter a infecção renal por *E. coli*, porém, com a inoculação de *Staphylococcus aureus* via venosa, facilmente se obtém pielonefrite crônica.

Cães

Estudos de indução de ITU em cães ocorreram no início do século XX, porém, não é um modelo muito utilizado.

Vantagens: Parece mimetizar a pielonefrite vista clinicamente em humanos.

Limitações: Dificuldade em obtenção de ITU pela via ascendente o que provavelmente justifica o pequeno uso de cães como modelo de ITU.

Aplicação: Avaliar o efeito da obstrução uretral sobre a atrofia renal, desenvolver pielonefrite persistente por meio de refluxo provocado cirurgicamente.¹²

Macacos

Vantagens: Seria o modelo de ITU mais adequado para estudos sobre fisiopatogenia de doenças humanas, considerando as semelhanças, inclusive em nível de receptores celulares para certas fímbrias presentes em bactérias uropatogênicas.

Limitações: Alto custo e pequeno número de animais disponíveis. Questões éticas, como será visto adiante, são fortes limitadores para o uso de primatas em experimentação.

Aplicação: Demonstração de que *E. coli* uropatogênicas piliadas formam micro-colônias firmemente aderidas aos epitélios do rim e ureter de macacos.¹³ Em *S. saprophyticus*, foi demonstrado o envolvimento de uma hemaglutinina considerada importante no mecanismo de virulência.¹⁴

Uma vez definido qual o modelo experimental animal será utilizado, é recomendável que o uropatógeno a ser empregado seja crescido em condições próximas daquelas que encontrará no trato urinário. Alguns autores recomendam que além de manter as bactérias em meios de cultivo, os uropatógenos sejam crescidos em urina animal esterilizada por filtração.¹⁵ O subcultivo seriado em urina favorece algumas adaptações fenotípicas que implicam em menores intervalos de tempo de adaptação metabólica microbiana (fases *lag*), melhores taxas de sobrevivência microbiana, e mesmo, expressão de atributos de virulência desejáveis.¹⁶ O processo somente é contraindicado na indução hematogênica de pielonefrite, na qual o uropatógeno será administrado por via intravenosa.

Independentemente da via de indução de infecção urinária que se pretende utilizar, é imperioso que o pesquisador tenha um relativo conhecimento sobre a anatomia do modelo animal que será empregado. Assim, há que se estabelecer que o instrumental que será empregado deve variar consideravelmente quando se trabalha com animais de diferentes espécies, sexos e tamanhos.

Longe da pretensão de ser apresentado como um guia de procedimentos, no presente capítulo será abordado algumas estratégias laboratoriais e de bioterismo que se mostraram eficazes para diferentes grupos de pesquisa. Contudo, o pesquisador deve optar por aquele que melhor lhe satisfaça as necessidades, bem como realizar as devidas alterações experimentais que se adéquem à sua realidade logística.

Indução anestésica

O procedimento anestésico deve buscar evitar, ou ao menos, minimizar, os desconfortos da manipulação no animal. Além da abordagem ética e de humanidade relacionada à anestesia, essa também é fundamental para o êxito da experimentação, pois facilita a administração das cargas microbianas, seja por cirurgias, seja por acesso via catéteres.

Em dependendo da espécie animal empregada e da massa corpórea do espécime, diferentes protocolos de anestesia são preconizados. Parece existir um consenso de que um coquetel contendo quetamina e xilazina parece ser o mais indicado para a indução anestésica. A quetamina promove uma “narcoanalgesia”, onde o tônus muscular e alguns reflexos são mantidos, como o laringo–faríngeo e da deglutição. A xilazina inibe a transmissão mediada pela noradrenalina no sistema nervoso central, proporcionando sedação, relaxamento muscular e analgesia.

A tabela 1 apresenta alguns protocolos de indução anestésica empregando xilazina e quetamina.

Tabela 1. Protocolos de indução anestésica com xilazina mais quetamina para alguns animais comumente empregados em ensaios*

Animal	Xilazina		Quetamina	Via de administração	Período hábil
Camundongos	10 – 15 mg/Kg	+	100 – 150 mg/Kg	IP	60 – 100 min
	misturadas na mesma seringa				
Ratos	5 – 10 mg/Kg	+	50 – 75 mg/Kg	IP	30 min
	misturadas na mesma seringa				
Hamsters	10 mg/Kg	+	200 mg/Kg	IP	80 min
	misturadas na mesma seringa				
Coelhos	5 – 10 mg/Kg	+	35 – 50 mg/Kg	IM	90 min
	misturadas na mesma seringa				
Porquinhos da Guiné	5 mg/Kg	+	30 mg/Kg	IM	30 – 45 min
	misturadas na mesma seringa				
Gatos	1,1 mg/Kg	+	22 mg/Kg	IM	20 – 30 min
	misturadas na mesma seringa				
Cães	1 – 2 mg/Kg	+	5 mg/Kg	IV ou IM	30 – 65 min
	misturadas na mesma seringa				
Macacos	0,5 mg/Kg	+	10 mg/Kg	IM	30 – 40 min
	misturadas na mesma seringa				

* Baseados nos propostos de Petitinga de Paiva *et al.* (2005) e do Office of the Animal Care and Use Committee (2007).

Se a intervenção cirúrgica requerer um intervalo de tempo superior àquele hábil, doses de manutenção da anestesia podem ser conseguidas pela administração de $\frac{1}{3}$ ou $\frac{1}{4}$ das doses de indução.

Outros fármacos também podem ser empregados como indutores anestésicos, de acordo com a legislação vigente e a disponibilidade. Informações detalhadas podem ser acessadas em documentos dedicados.^{17, 18}

Vias de inoculação microbiana

A via de administração da carga microbiana pode, em alguns casos, simular os mecanismos dos eventos infecciosos e é decisiva para a obtenção de variantes de infecções do trato urinário. O pesquisador deve ter em mente que diferentes espécies animais reproduzem de forma variável as UTIs humanas. Para tanto é necessário que seja escolhido o modelo animal que mais se aproxime da realidade fisiopatológica que se pretende avaliar.

Independentemente do modelo animal escolhido e da variante de ITU que se pretende induzir, imediatamente após a anestesia, as bexigas dos animais devem ser esvaziadas por suave compressão do abdômen. Uma gota de urina deve ser cuidadosamente coletada com alça calibrada de 10 μ L e espalhada em meio de cultura enriquecido ou seletivo para verificação de esterilidade.¹⁵ Outro indicador útil de pré-existência de infecção é a busca microscópica de células de resposta inflamatória. Animais com bacteriúria ou leucocitúria (mais que 20 PMN/mL de urina) devem ser excluídos.¹⁹

Indução de pielonefrite retrógrada normalmente é conseguida após incisão lombar e inoculação da carga infectante na pelve renal seguida de ligadura frouxa no ureter, logo abaixo do ponto de injeção. Os “braços” da ligadura ficam expostos no flanco do animal para facilitar sua remoção após 24 horas.²⁰ Para a obtenção de um quadro de pielonefrite aguda em coelhos, o ureter de um dos rins é completamente obliterado por sutura antes da inoculação microbiana e os animais são sacrificados 96 horas após.^{21, 22}

Pielonefrite por inoculação direta no parênquima renal pode ser induzida após a exposição renal por via retroperitoneal. O inóculo microbiano (em geral, 10^7 – 10^9 UFC/mL), cujo volume não deve exceder 50 μ L (0,05 mL), é administrado diretamente na medula renal através de agulha 25G, 26G ou 27G e a ferida é fechada com grampos de aço inoxidável de 9 mm.^{7, 23, 24}

A pielonefrite também pode ser induzida por via hematogênica. Administrações intravenosas de um mililitro de suspensões concentradas de bactérias ($>10^9$ UFC/mL) podem ser efetivas.²⁵

Contudo, os rins de ratos são relativamente resistentes à infecção via hematogênica, a menos que sejam realizadas ligaduras nos ureteres. Nessas circunstâncias, somente o rim obstruído se torna infectado.²⁶ Mesmo obstruções ureterais transitórias (15–30 minutos) aumentam significativamente o sucesso da infecção. O aumento na pressão retrógrada promove alterações no fluxo sanguíneo intrarenal com bloqueio de acesso de fagócitos e elevação da capacidade de invasão, multiplicação e disseminação microbiana.

Outro recurso utilizado para a indução hematogênica da pielonefrite em camundongos envolve o pré-tratamento com 0,2 mL de carragenana 2% injetada intravenosamente sete dias antes da inoculação microbiana (10^7 – 10^8 UFC/mL) com 0,2 mL na veia caudal lateral.^{27, 28}

Indubitavelmente, o modelo de ITU mais frequentemente estudado é a infecção de trato urinário ascendente não obstruída. Algumas variantes como uretrites, cistites e pielonefrites, podem ser induzidas pela inoculação transuretral. A modalidade de infecção tem sido amplamente empregada, nos mais diversos modelos animais, desde camundongos¹⁵ até macacos.¹⁶ O princípio é relativamente simples; com o auxílio de um catéter, ou mesmo de uma agulha cujo bisel foi removido, o inóculo microbiano é diretamente injetado na bexiga recém-esvaziada. Como os uropatógenos tendem a aderir às células epiteliais, logo após a inoculação se inicia o processo de colonização e multiplicação microbiana, podendo ocorrer até mesmo formação de biofilmes de arquitetura complexa.

Embora simples, a técnica requer uma série de cuidados acessórios para o pleno estabelecimento da ITU. Como já discutido anteriormente, é muito interessante que o uropatógeno seja crescido em urina estéril para uma adaptação as condições que encontrará durante o curso da infecção. Previamente à inoculação no animal, deve ser realizada uma assepsia nas regiões periuretral e perianal com solução de polivinil-povidona-iodo (PVPI) 10% e o excesso deve ser removido com gaze embebida em água, solução salina, ou PBS estéril.²⁹

Deve ser escolhido o catéter que melhor se adapte às dimensões da uretra da espécie eleita para o estudo, respeitados o tamanho, massa corpórea, idade e sexo. Camundongos fêmeas foram eficientemente infectadas com 50 μ L de suspensão bacteriana utilizando catéter não rígido de polietileno de 0,28 mm (diâmetro interno) e 0,61 mm (diâmetro externo) adaptado a agulha 0,4 \times 20 mm (ou 28G) em seringa de tuberculina de 1 mL.^{30, 31, 32} Ratas podem ser inoculadas com um mililitro de suspensão bacteriana $\sim 10^9$ UFC/mL por meio de catéter intravenoso 24G e $\frac{3}{4}$ de polegada de comprimento ou semelhante.³³

Uma vez escolhido o catéter que melhor se adapte ao modelo experimental, é importante que o mesmo seja lubrificado antes de ser delicadamente introduzido na uretra. A lubrificação pode ser feita empregando vaselina grau farmacêutico estéril, óleo de amendoim estéril³⁴ ou produtos industrializados como o gel K-Y® (Johnson & Johnson do Brasil Ind. Com. Prod. Saúde Ltda) ou similares.³⁵

Diversos autores recomendam a remoção imediata do catéter após a inoculação. Contudo, existem indícios que a manutenção do catéter por mais 10 minutos reduz o risco de vazamentos, com consequente elevação no índice de sucesso de indução infecciosa.³⁵

Um protocolo interessante de infecção ascendente não obstrutiva envolve a incorporação de bactérias em pérolas de ágar na tentativa de obter uma colonização persistente do epitélio urinário.³⁴ Assim, é possível a obtenção de 5×10^3 pérolas de ágar com 20 a 150 μ m de diâmetro em 50 μ L, sendo que cada pérola pode apresentar de 10^5 a 10^6 organismos.

Contudo, a infecção via transuretral pode causar refluxo vesico-urinário (RVU) em camundongos, uma vez que a introdução microbiana diretamente no trato urinário superior e não permite a passagem por importantes passos da patogênese. Além disso, podem ocorrer injúrias no parênquima renal que levam a um modelo não representativo das simples ITUs em humanos.³⁶ A RUV pode ser minimizada pela redução do volume de inoculação para 10 μ L diretamente na uretra e não na bexiga.³⁷

Normalmente, a infecção é considerada estabelecida quando, após sete dias de inoculação, uma densidade bacteriana igual ou superior a 10⁵ UFC/mL de urina é detectável.

Em alguns estudos, a indução de diurese é desejável, principalmente em momentos de coleta para avaliação de bacteriúria. Em camundongos, a experiência mostra que a substituição da água por solução aquosa de glicose 10% servida *ad libitum*.³⁸ Outra manobra consiste em injetar subcutaneamente um volume compatível de solução salina estéril aquecida até 36 °C, 20 a 30 minutos antes da coleta de urina.¹⁶

Além da infecção urinária clássica, algumas variantes também podem ser experimentalmente simuladas. Um exemplo é a prostatite bacteriana crônica (PBC), doença urinária mais comum em homens com mais de 50 anos de idade.³⁹ Para tanto, ratos machos devem ser cateterizados com tubo de polietileno (0,9 mm de diâmetro externo e 2,5 cm de comprimento) estéril lubrificado acoplado em seringa de insulina com agulha. Um volume de 200 μ L de suspensão com 10⁸ UFC/mL é injetado na uretra prostática e a anestesia é mantida por uma hora, para prevenir o vazamento urinário por movimento do rato e para permitir um tempo suficiente para invasão bacteriana da próstata. Para confirmar a PBC, biópsia prostática e coletas de urina devem ser conduzidas. Para caracterização de cronicidade da lesão, os animais devem ser monitorados por quatro semanas após a inoculação, com culturas de urina ou bacterioscopia.

Avaliação microbiológica *post-mortem*

Após o sacrifício dos animais por aprofundamento da indução anestésica, a urina pode ser coletada com seringa e agulha 25G após a exposição da bexiga, diluída seriamente e plaqueada em meios de cultura específicos para o uropatógeno inoculado.

Por técnica cirúrgica em campo asséptico, os rins e bexiga são removidos e inspecionados visualmente em busca de alterações topográficas macroscópicas. A seguir, é recomendável que as superfícies externas desses órgãos sejam impressas contra a superfície de meios de cultura específicos para os uropatógenos inoculados a fim de se verificar qualquer transmigração microbiana que, por ventura, tenha ocorrido.

Culturas microbianas quantitativas de bexiga são conduzidas após a lavagem externa e interna da mesma com solução salina estéril (100-200 mL), seguida de absorção de excesso por papel de filtro estéril. A bexiga e cada um dos rins, individualmente, são homogeneizados em 2 mL e 4 mL, respectivamente, com água destilada estéril. Alíquotas de homogenatos são tomadas, diluídas seriamente e plaqueadas em meios de cultura específicos para os uropatógenos inoculados.

O critério de determinação de estabelecimento de ITUs varia de laboratório para laboratório. Contudo, existe um consenso de que densidades bacterianas iguais ou superiores a 10^5 UFC/mL de urina ou grama de rim podem ser interpretados como eventos de infecção estabelecida. Em procedimentos que envolva inoculação diretamente na medula renal, densidades microbianas por grama de tecido renal ou mililitro de urina que sejam maiores que aquelas inoculadas podem ser interpretadas como indicativas de infecção.

Classificação histopatológica das lesões

Normalmente, um dos rins é seccionado longitudinalmente e de forma seriada. O sistema de coloração mais utilizado é a hematoxilina-eosina, embora outras colorações, específicas para procura de determinadas alterações (p.ex. tricromo de Masson ou ácido periódico de Schiff), também possam ser empregadas.

As lesões renais são classificadas se forma semiquantitativa com variações de escores, segundo os diferentes autores:

Classificação de Larsson e colaboradores⁴⁰

Sistema simplificado de classificação baseado em achados microscópicos e macroscópicos.

0 = sem anormalidades;

1 = pielite microscópica;

2 = pielonefrite microscópica com até dois discretos abscessos pontuais macroscópicos;

3 = alguns abscessos pontuais macroscópicos coalescentes;

4 = lesões macroscópicas confluentes ocupando menos da metade da superfície renal;

5 = lesões macroscópicas confluentes ocupando mais da metade da superfície renal.

Classificação de Johnson e colaboradores⁴¹

Sistema de classificação baseado em “cruzes” de severidade, em função de anomalias microscópicas.

0+ = sem anormalidades;

1+ = pielite branda com baixa a moderada infiltração de neutrófilos na cavidade pélvica, necrose de células epiteliais individuais, e uroepitélio intacto;

2+ = pielite moderada com comprometimento difuso do uroepitélio com infiltração de quantidade moderada de neutrófilos no uroepitélio e no parênquima adjacente a cavidade pélvica;

3+ = pielite severa com inflamação moderada do parênquima adjacente a pélvis e com moderado comprometimento do uroepitélio (que inicialmente é rompido em função da necrose e ulceração ou é posteriormente espessado por hiperplasia regenerativa);

4+ = pielonefrite aguda envolvendo menos de 50% do rim;

5+ = pielonefrite severa, com comprometimento extenso do rim (>50%).

Classificação de Ímamoğlu e colaboradores⁴²

Sistema de classificação semiquantitativa de resposta inflamatória (infiltração de células inflamatórias mononucleares no interstício) e cicatrização (atrofia tubular e fibrose intersticial) para fins comparativos.

0 = sem anormalidades;

1 = envolvimento de menos de 5% do parênquima;

2 = envolvimento de mais de 5% e menos de 10% do parênquima;

3 = envolvimento de mais de 10% do parênquima.

Classificação de Reyes e colaboradores³³

Sistema de classificação mais pormenorizado baseado em algumas evidências histopatológicas individualizadas.

Inflamação tissular:

0 = sem anormalidades;

1 = mínima inflamação;

2 = discreta inflamação;

3 = inflamação moderada;

4 = infiltração celular densa.

Localização primária da inflamação:

1 = subepitelial;

2 = mural;

3 = transmural.

Área total afetada:

1 = menor que 10%;

2 = maior que 10% e menor que 50%;

3 = maior que 50%.

Tipos celulares que compõem o infiltrado inflamatório:

1 = células mononucleares (linfócitos, plasmócitos e macrófagos);

2 = células mononucleares e neutrófilos;

3 = células mononucleares, neutrófilos e infiltrado fibroso.

Alterações epiteliais nos tecidos da bexiga:

0 = sem anormalidades;

1 = hiperplasia mínima, ulceração ou afinamento do epitélio por inflamação;

2 = hiperplasia discreta e infiltrado inflamatório raro;

3 = hiperplasia discreta e infiltrado inflamatório raro acompanhados de pronunciada erosão e/ou ulceração da superfície epitelial.

Micro-organismos ensaiados em animais

Um incontável número de entidades microbianas tem sido empregado na indução experimental de ITUs, seja para fins de compreensão dos mecanismos de regem os eventos de colonização e infecção, seja para a avaliação de antibióticos, quimioterápicos, peptídeos antimicrobianos, fitoterápicos, antiinflamatórios, entre outros.

A Tabela 2 sumariza uma relação de organismos que têm sido empregados na indução experimental de ITUs em diferentes modelos animais.

Tabela 2. Micro-organismos e modelos animais utilizados em experimentos com ITUs induzidas

Micro-organismo	Animal	Referências
<i>Escherichia coli</i>	Camundongo	19, 32, 43, 44, 45, 46, 47
	Rato	7, 39, 40, 42, 48, 49
	cão	50
	Porco (leitão)	51, 52
	Macaco	16
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Camundongo	29, 38
	Rato	34
	Coelho	21, 22
<i>Proteus mirabilis/P. vulgaris</i>	Camundongo	41
	Rato	23, 40
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Camundongo	35, 53
	Rato	34
<i>Enterococcus faecalis</i>	Camundongo	28
	Rato	25
	Coelho	20
<i>Enterococcus faecium</i>	Camundongo	28
<i>Ureaplasma parvum</i>	Rato (várias raças)	33
<i>Candida albicans</i>	Rato	24

Os micro-organismos se caracterizam pela habilidade comum de aderir com certa facilidade ao epitélio dos ductos conectores, bexiga e rins. Além disso, conseguem sobreviver às adversidades físico-químico-ecológicas do trato urinário, bem como são competentes na evasão dos mecanismos de defesa inata e adaptativa. Eles pertencem a várias espécies, que se agrupam em gêneros, classes, filos e mesmo domínios sistemáticos distintos. Pode-se encontrar micro-organismos gram-positivos, gram-negativos, clamídeas e fungos, o que torna a pesquisa com ITUs algo complexo e intrigante.

Questões éticas com animais de experimentação

A questão dos direitos dos animais e a utilização em pesquisas vem sendo discutida desde o século XVII e é motivo de debate nos dias atuais. O filósofo Jeremy Bentham, em 1789, já defendia que independentemente dos animais raciocinarem ou falarem, a questão seria evitar o sofrimento dos mesmos.

Segundo Claude Bernard, em 1865, “Nós temos o direito de fazer experimentos animais e viviseção (...) os resultados obtidos em animais podem ser todos conclusivos para o homem, quando nós sabemos como experimentar adequadamente”

A pesquisa em animais deve ter como diretrizes mínimas: a definição de objetivos legítimos, a imposição de limites à dor e ao sofrimento, a fiscalização de instalações e procedimentos, a garantia de tratamento humanitário, e a responsabilização pública.

No Brasil, a lei 6.638/79 foi a primeira a estabelecer normas para a prática didático-científica da viviseção de animais. A lei estipula que somente estabelecimentos de terceiro grau podem realizar atividades didáticas com animais, desde que, não causem sofrimento aos mesmos. No Rio Grande do Sul, o Código Estadual de Proteção aos Animais (Lei 11915/2003), de 23 de maio de 2003, mantém as características e acrescenta outras de âmbito mais geral. O código propôs a criação de Comissões de Ética para pesquisa em animais, a exemplo das que já existiam para pesquisa em seres humanos.

As Diretrizes para a utilização de animais em experimentos científicos, propostas em 2000, e utilizadas sob a forma de autorregulamentação pelo Hospital de Clínicas de Porto Alegre, já contemplavam importantes questões agora transformadas em lei estadual. Dentre elas, cabe destacar aquelas relativas ao uso de anestésicos, relaxantes musculares e formas de morte para os animais. Após ter permanecido 13 anos em tramitação, em 8 de outubro de 2008, foi aprovada Lei 11.794/08, que regula os procedimentos para uso científico de animais. O projeto cria as Comissões de Ética para Uso de Animais (CEUAs) em cada instituição de pesquisa e o Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), além de estabelecer as normas brasileiras para uso de animais em atividades científicas. Aqueles que não cumprirem a Lei estarão sujeitos as suas prerrogativas que inclui multas e até mesmo da suspensão da atividade do pesquisador

O CONCEA é órgão integrante do Ministério de Estado da Ciência e Tecnologia (MCT) e funciona como instância colegiada multidisciplinar de caráter normativo, consultivo, deliberativo e recursal. É presidido pelo ministro do MCT e integrado por um representante de cada órgão e entidade a seguir indicados: Ministério da Ciência e Tecnologia (MCT); Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); Ministério da Educação (MEC); Ministério do Meio Ambiente (MMA); Ministério da Saúde (MS); Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA); Conselho de Reitores das Universidades do Brasil (CRUB); Academia Brasileira de Ciências (ABC); Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência (SBPC); Federação das Sociedades de Biologia Experimental (FESBE); Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA); Federação Nacional da Indústria Farmacêutica. Além desses, fazem parte também dois representantes das sociedades protetoras de animais legalmente estabelecidas no país.

Assim, a necessária utilização de animais em pesquisas deve guiar-se por princípios orientadores. Para isso, atualmente, conta com o suporte de competente legislação referente à conduta ética em experimentos envolvendo animais às quais as instituições de ensino e pesquisa estão subordinadas. Além da Lei Federal 11794/2008,

deve ser obedecido o contido em outros documentos, como o Decreto 6.899/79. No estado do Paraná, a Lei Estadual 14037/2003-PR norteia essa atividade. Além disso, estão disponíveis resoluções do Conselho Federal de Medicina Veterinária: Resoluções n° 714, n° 876 e n° 879/CFMV.

Cada instituição de ensino superior ou de pesquisa deverá manter em atividade um Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentação (CEAE), que é o órgão responsável pelo acompanhamento das atividades que envolvam a utilização de animais na instituição.

O CEAE tem por finalidade orientar, analisar, emitir parecer e expedir certificados, à luz dos Princípios Éticos na Experimentação Animal elaborado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), sobre os protocolos de experimentação (ensino e pesquisa) que envolvam o uso de animais.

Princípios Éticos na Experimentação Animal de Laboratório

A evolução contínua das áreas de conhecimento humano, com especial ênfase àquelas de biologia, medicina humana e veterinária, e a obtenção de recursos de origem animal para atender necessidades humanas básicas, como nutrição, trabalho e vestuário, repercutem no desenvolvimento de ações de experimentação animal, razão pela qual se preconizam posturas éticas concernentes aos diferentes momentos de desenvolvimento de estudos com animais de experimentação.

Postula-se:

Artigo 1° - É primordial manter posturas de respeito ao animal, como ser vivo e pela contribuição científica que ele proporciona.

Artigo 2° - Ter consciência de que a sensibilidade do animal é similar à humana no que se refere a dor, memória, angústia, instinto de sobrevivência, apenas lhe sendo impostas limitações para se salvaguardar das manobras experimentais e da dor que possam causar.

Artigo 3° - É de responsabilidade moral do experimentador a escolha de métodos e ações de experimentação animal.

Artigo 4° - É relevante considerar a importância dos estudos realizados através de experimentação animal quanto a sua contribuição para a saúde humana em animal, o desenvolvimento do conhecimento e o bem da sociedade.

Artigo 5° - Utilizar apenas animais em bom estado de saúde.

Artigo 6° - Considerar a possibilidade de desenvolvimento de métodos alternativos, como modelos matemáticos, simulações computadorizadas, sistemas biológicos *in vitro*, utilizando-se o menor número possível de espécimes animais, se caracterizada como única alternativa plausível.

Artigo 7° - Utilizar animais através de métodos que previnam desconforto, angústia e dor, considerando que determinariam os mesmos quadros em seres humanos, salvo se demonstrados, cientificamente, resultados contrários.

Artigo 8° - Desenvolver procedimentos com animais, assegurando-lhes sedação, analgesia ou anestesia quando se configurar o desencadeamento de dor ou

angústia, rejeitando, sob qualquer argumento ou justificativa, o uso de agentes químicos e/ou físicos paralisantes e não anestésicos.

Artigo 9º - Se os procedimentos experimentais determinarem dor ou angústia nos animais, após o uso da pesquisa desenvolvida, aplicar método indolor para sacrifício imediato.

Artigo 10º - Dispor de alojamentos que propiciem condições adequadas de saúde e conforto, conforme as necessidades das espécies animais mantidas para experimentação ou docência.

Artigo 11º - Oferecer assistência de profissional qualificado para orientar e desenvolver atividades de transportes, acomodação, alimentação e atendimento de animais destinados a fins biomédicos.

Artigo 12º - Desenvolver trabalhos de capacitação específica de pesquisadores e funcionários envolvidos nos procedimentos com animais de experimentação, salientando aspectos de trato e uso humanitário com animais de laboratório.

Em conclusão ao aqui apresentado, reforçamos que os modelos animais são indispensáveis para a elucidação de mecanismos relacionados à etiofisiopatologia das ITUs. Animais podem e devem ser empregados em estudos científicos, desde que em consonância com os ditames da nova ciência, denominada “Bem Estar Animal” (BEA). Sugere-se ainda, a fim de facilitar o principiante na arte da experimentação animal, que o mesmo consulte as orientações do COBEA (www.cobea.org.br).

REFERÊNCIAS

1. Gomez, R. G. G.; Tomaz, C. A. B. Aspectos éticos da experimentação com animais não humanos. In: Guilhem D, Zicker F. (eds.). *Ética na pesquisa em saúde: avanços e desafios*. Brasília: Letras Livres; Editora UnB, 2007. p. 195-216.
2. Godard, A. L. B. O espelho milagroso: o poder do camundongo. *Jornal da ANBio - Associação Nacional de Biossegurança*, Rio de Janeiro, v. 2, p. 6 - 6, 01 jul. 2001.
3. Hvidberg, H.; Struve, C.; Krogfelt, K. A.; Christensen, N.; Rasmussen, S. N.; Fridomt-Moller, N. Development of a long-term ascending urinary tract infection mouse model for antibiotic treatment studies. *Antimicrob Agents Chemother.* v. 44, n. 1, p.156–163, 2000.
4. Swaine, L.; Chena, C. S.; Hunga, J. S. P.; Jennifer N. W.; Corinne K. C.; Zhaoli, L.; Julie, B. D.; Jeffrey, I. G.; Scott J. H. Positive selection identifies an *in vivo* role for FimH during urinary tract infection in addition to mannose binding. *Proc Natl Acad Sci.* v. 106, n. 52, p. 22439–22444, 2009.
5. Zhao, L.; Gao, S.; Huan, H.; Xu, X.; Zhu, X.; Yang, W.; Gao, Q.; Liu, X. Comparison of virulence factors and expression of specific genes between uropathogenic *Escherichia coli* and avian pathogenic *E. coli* in a murine urinary tract infection model and a chicken challenge model. *Microbiology.* v.155, p.1634–1644, 2009.
6. Johnson, J. R.; Brown, J. J. Defining inoculation conditions for the mouse model of ascending urinary tract infection that avoid immediate vesicoureteral reflux yet produce renal and bladder infection. *J Infect Dis.* v. 173, n. 3, p. 746-749, 1996.
7. Ichino, M.; Kuroyanagi, Y.; Kusaka, M.; Mori, T.; Ishikawa, K.; Shiroki, R.; Kurahashi, H.; Hoshinaga, K. Increased urinary neutrophil gelatinase associated lipocalin levels in a rat model of upper urinary tract infection. *J Urol.* v. 181, n. 5, p. 2326-2331, 2009.
8. Fontes, O. L.; Severino, P.; Zanchetta, B.; Alonso, A. B.; Foltran, F. P.; Gutierrez, M. A.; Chaud, M. V.; Nascimento, G. G. F. Ação terapêutica do medicamento homeopático no tratamento da infecção urinária por *Escherichia coli* em ratas. *Informativo Abfh, Barueri*, v. Ano XV, n. 42, p. 2-4, 2006.
9. Fung, L. C.; Mittelman, M. W.; Thorner, P. S.; Khoury, A. E. A novel rabbit model for the evaluation of biomaterial associated urinary tract infection. *Can J Urol.* v. 10, n. 5, 2007-2012, 2003.
10. Cadieux, P.A.; Chew, B. H.; Knudsen, B. E.; Dejong, K.; Rowe, E.; Reid, G.; Denstedt, J. D. Triclosan loaded ureteral stents decrease *Proteus mirabilis* 296 infection in a rabbit urinary tract infection model. *J Urol.* Jun; v. 175, n. 6, p. 2331-2335, 2006.
11. Lepper, E. H. The production of coliform infection in the urinary tract of rabbits. *J. Pathol. Bacteriol.* v. 24, p. 192-204, 1921

12. Harrison, L. H.; Cass, A. S.; Bullock, B. C.; Clark, C. E. Experimental pyelonephritis in dogs. I. Confirmation by antibody response. *J. Urol.* v. 109, p. 163-166, 1973.
13. Roberts, J. A.; Suarez, G. M.; Kaack, B.; Kallenius, G.; Svenson, S. B. Experimental pyelonephritis in the monkey. Ascending pyelonephritis in the absence of vesicoureteral reflux. *J. Urol.* v. 133, p.1068-1075, 1985.
14. Mardh, P. A.; Hovelius, B.; Melsen, F.; Moller, B. R. Experimental acute pyelonephritis in grivet monkeys, provoked by *S. saprophyticus*. *Acta Path. Microbiol. Immunol. Scand.* v. 88B, p. 225-230, 1980.
15. Hegberg, L.; Engberg, I.; Freter, R.; Lam, J.; Olling, S.; Svanborg Edén, C. Ascending, unobstructed urinary tract infection in mice caused by pyelonephritogenic *Escherichia coli* of human origin. *Infect Immun.* v. 40, n. 1, 273-283, 1983a.
16. Söderhäll, M.; Normark, S.; Ishikawa, K.; Karlsson, K.; Teneberg, S.; Winberg, J.; Möllby, R. Induction of protective immunity after *Escherichia coli* bladder infection in primates. Dependence of the globoside-specific P-fimbrial tip adhesin and its cognate receptor. *J Clin Invest.* v.100, n. 2, 364-372, 1997.
17. Petitinga De Paiva, F.; Maffili, V. V.; Sampaio-Santos, A. C. Curso de manipulação de animais de laboratório. Salvador: Fiocruz. 2005.
18. University of Iowa. Institutional Animal Care and Use Committee. Acessível em: http://research.uiowa.edu/animal/?get=aa_regimens.
19. Håversen, L. A.; Engberg, I.; Baltzer, L.; Dolphin, G.; Hanson, L. A.; Mattsby-Baltzer, I. Human lactoferrin and peptides derived from a surface-exposed helical region reduce experimental *Escherichia coli* urinary tract infection in mice. *Infect Immun.* v. 68, n. 10, p. 5816-5823, 2000.
20. Desnottes, J. F.; Bensman, A.; Ave-Virat, A.; Fontaine, J. L. Experimental retrograde pyelonephritis and cystitis induced in rabbits by a group D *Streptococcus* sp.: serum antibody assay by a hemagglutination test. *Infect Immun.* v. 33, n. 3, p. 647-650, 1981.
21. Giamarellos-Bourboulis, E. J.; Antonopoulou, A.; Raftogiannis, M.; Koutoukas, P.; Tsaganos, T.; Tziortzioti, V.; Panagou, C.; Adamis, T.; Giamarellou, H. Clarithromycin is an effective immunomodulator when administered late in experimental pyelonephritis by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *BMC Infect Dis.* v. 6, p. 31, 2006.
22. Giamarellos-Bourboulis, E. J.; Tziortzioti, V.; Koutoukas, P.; Baziaka, F.; Raftogiannis, M.; Antonopoulou, A.; Adamis, T.; Sabracos, L.; Giamarellou H. Clarithromycin is an effective immunomodulator in experimental pyelonephritis caused by pan-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother.* v. 57, n. 5, p. 937-944, 2006.
23. Rocha Da Silva Teles, H. E.; Barros, M. Site of action of nitrofurantoin in experimental urinary tract infection. *Appl Microbiol.* v. 18, n. 4, p. 547-549, 1969.
24. Miraglia, G. J.; Renz, K. J. Experimental urinary tract infection in rats caused

- by *Candida albicans*. Antimicrob Agents Chemother. v. 3, n. 4, p. 474-477, 1973
25. Montgomerie, J. Z.; Schick, D. G. Treatment of enterococcal pyelonephritis with trovafloxacin and rifampin: in vitro-in vivo contrast. Antimicrob Agents Chemother. v. 42, n. p. 188-189, 1998.
 26. Sobel JD. Pathogenesis of urinary tract infection. Role of host defenses. Infect Dis Clin North Am. v. 11, n. 3, p. 531-549, 1997.
 27. Fernandes, P.; Shipkowitz, N.; Bower, R. Murine models for studying the pathogenesis and treatment of pyelonephritis. Adv Exp Med Biol. v. 224, p. 35-51, 1987.
 28. Meulbroek, J. A.; Oleksijew, A.; Tanaka, S. K.; Alder, J. D. Efficacy of ABT-719, a 2-pyridone antimicrobial, against enterococci, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa* in experimental murine pyelonephritis. J Antimicrob Chemother. v. 38, n. 4, p. 641-653, 1996.
 29. Cudic, M.; Lockett, C. V.; Johnson, D. E.; Otvos, L. Jr. In vitro and in vivo activity of an antibacterial peptide analog against uropathogens. Peptides. v. 24, n. 6, p. 807-820, 2003.
 30. Hegberg, L.; Hull, R.; Hull, S.; Falkow, S.; Freter, R.; Svanborg Edén, C. Contribution of adhesion to bacterial persistence in the mouse urinary tract. Infect Immun. v. 40, n. 1, p. 265-272, 1983b.
 31. Bates, J. M.; Raffi, H. M.; Prasad, K.; Mascarenhas, R.; Laszik, Z.; Maeda, N.; Hultgren, S. J.; Kumar, S. Tamm-Horsfall protein knockout mice are more prone to urinary tract infection: rapid communication. Kidney Int. v. 65, n. 3, p. 791-797, 2004.
 32. Moradi-Bidhendi, S.; Sattari, M.; Pourbakhsh, S. A.; Mobarez, A.; Vandyousefi, J.; Khaki, P.; Heidari, M. H.; Kazemnejad, A. Blocking adherence of uropathogenic *Escherichia coli* isolate to HEP-2 cells and bladder of mice in the presence of antibody against p-fimbriae. Biologicals. v. 35, n. 2, p. 99-105, 2007.
 33. Reyes, L.; Reinhard, M.; O'donnell, L. J.; Stevens, J.; Brown, M. B. Rat strains differ in susceptibility to *Ureaplasma parvum*-induced urinary tract infection and struvite stone formation. Infect Immun. v. 74, n. 12, p. 6656-6664, 2006
 34. Reid, G.; Chan, R. C.; Bruce, A. W.; Costerton, J. W. Prevention of urinary tract infection in rats with an indigenous *Lactobacillus casei* strain. Infect Immun. v. 49, n. 2, p. 320-324, 1985.
 35. Mittal, R.; Sharma, S.; Chhibber, S.; Harjai, K. Contribution of quorum-sensing systems to virulence of *Pseudomonas aeruginosa* in an experimental pyelonephritis model. J Microbiol Immunol Infect. v. 39, n. 4, p. 302-309, 2006.
 36. Johnson, Jr. Reflux in the mouse model of urinary tract infection. Infect Immun. v. 66, n. 12, p. 6063-6064, 1998.
 37. Hopkins, W. J.; Hall, J. A.; Conway, B. P.; Uehling, D. T. Induction of urinary tract infection by intraurethral inoculation with *Escherichia coli*: refining the murine model. J Infect Dis. v. 171, p. 462-465, 1995.

38. Maayan, M. C.; Ofek, I.; Medalia, O.; Aronson, M. Population shift in mannose-specific fimbriated phase of *Klebsiella pneumoniae* during experimental urinary tract infection in mice. *Infect Immun.* v. 49, n. 3, p. 785-789, 1985
39. Sohn, D. W.; Han, C. H.; Jung, Y. S.; Kim, S. I.; Kim, S. W.; Cho, Y. H. Anti-inflammatory and antimicrobial effects of garlic and synergistic effect between garlic and ciprofloxacin in a chronic bacterial prostatitis rat model. *Int J Antimicrob Agents.* v. 34, n. 3, p. 215-219, 2009.
40. Larsson, P.; Kaijser, B.; Baltzer, I. M.; Olling, S. An experimental model for ascending acute pyelonephritis caused by *Escherichia coli* or proteus in rats. *J Clin Pathol.* v. 33, n. 4, p. 408-412, 1980.
41. Johnson, D. E.; Russell, R. G.; Lockett, C. V.; Zulty, J. C.; Warren, J. W.; Mobley, H. L. Contribution of *Proteus mirabilis* urease to persistence, urolithiasis, and acute pyelonephritis in a mouse model of ascending urinary tract infection. *Infect Immun.* v. 61, n. 7, p. 2748-2754, 1993.
42. Imamoğlu, M.; Cay, A.; Cobanoglu, U.; Bahat, E.; Karahan, C.; Tosun, I.; Sarihan, H. Effects of melatonin on suppression of renal scarring in experimental model of pyelonephritis. *Urology.* v. 67, n. 6, p. 1315-1319, 2006.
43. Iwahi, T.; Abe, Y.; Tsuchiya, K. Virulence of *Escherichia coli* in ascending urinary-tract infection in mice. *J Med Microbiol.* v. 15, n. 3, p. 303-316, 1982.
44. Morin, M. D.; Hopkins, W. J. Treatment of mice with staphylococcal enterotoxin B enhances resolution of an induced *Escherichia coli* urinary tract infection and stimulates production of proinflammatory cytokines. *Infect Immun.* v. 66, p. 2466-2470, 1988.
45. Struve, C.; Krogfelt, K. A. In vivo detection of *Escherichia coli* type 1 fimbrial expression and phase variation during experimental urinary tract infection. *Microbiology.* v. 145, n. 10, 2683-2690, 1999.
46. Yuri, K.; Nakata, K.; Katae, H.; Hasegawa, A. Pathogenicity of *Escherichia coli* from dogs with UTI in relation to urovirulence factors. *J Vet Med Sci.* v. 62, n. 11, p. 1197-1200, 2000.
47. Yamamoto, S.; Nakano, M.; Terai, A.; Yuri, K.; Nakata, K.; Nair, G. B.; Kurazono, H.; Ogawa, O. The presence of the virulence island containing the *usp* gene in uropathogenic *Escherichia coli* is associated with urinary tract infection in an experimental mouse model. *J Urol.* v. 165, n. 4, p. 1347-1351, 2001.
48. Taylor, P. W.; Koutsaimanis, K. G. Experimental *Escherichia coli* urinary infection in the rat. *Kidney Int.* v. 8, n. 4, p. 233-238, 1975.
49. Miller, T. E.; Findon, G.; Rainer, S. P.; Gavin, J. B. The pathobiology of sub-clinical pyelonephritis-an experimental evaluation. *Kidney Int.* v. 41, n. 5, p. 1356-1365, 1992.
50. Scott, J. E. S. An experimental study of urinary infection and vesico-ureteric reflux. *Br J Urol.* v. 36, n. 4, p. 501-509, 1964.
51. Pennington, D. J.; Lonergan, G. J.; Flack, C. E.; Waguespack, R. L.; Jackson, C. B. Experimental pyelonephritis in piglets: diagnosis with MR imaging. *Radiology.* v. 201, n. 1, p. 199-205, 1996.

52. Pohl, H. G.; Rushton, H. G.; Park, J. S.; Chandra, R.; Majd, M. Adjunctive oral corticosteroids reduce renal scarring: the piglet model of reflux and acute experimental pyelonephritis. *J Urol.* v. 162, n. 3Pt1, p. 815-820, 1999.
53. Nishi, T.; Tsuchiya, K. Experimental urinary tract infection with *Pseudomonas aeruginosa* in mice. *Infect Immun.* v. 22, n. 2, p. 508-515, 1978.

44. APURAÇÃO DE CUSTOS DE UROCULTURAS

*Maria Elizabeti Villas Boas Tosato
Priscila Guarezi Vitoreti
Marcelo Pilonetto*

A complexidade da economia de mercado na atualidade e as mudanças observadas no âmbito empresarial têm exigido das empresas uma série de adequações às novas chamadas de mercado¹.

Os laboratórios de análises clínicas veem passando por inúmeras modificações nas últimas décadas, seja para acompanhar a evolução da tecnologia evidenciada no século XXI, seja para conseguir sustentar-se em meio a um cenário mais exigente e competitivo.

A evolução da ciência médica trouxe a necessidade de métodos diagnósticos cada vez mais sensíveis, mais precisos e que trazem consigo quase sempre um maior custo. Paralelamente, como muitas outras instituições de saúde, o laboratório tem sofrido impactos profundos em função das mudanças no quadro econômico e político do país².

Sabe-se que a Medicina Laboratorial, sem exceção, enfrenta o desafio financeiro denominado *from to-back process*, ou seja, a necessidade de produzir exames por um preço que o comprador do serviço determina, fato que obriga a adoção de uma administração financeira muito eficaz em termos de racionalização de custos, contudo mantendo a qualidade do produto final³. A perfeita adequação entre qualidade e custos é uma meta permanente no gerenciamento de processos, técnicos ou administrativos em laboratórios clínicos⁴.

A meta de redução de custos a qualquer preço tem colocado os condutores do Sistema de Saúde diante de alternativas, às vezes confusas, às vezes equivocadas⁵. Somando-se ainda a gestão da performance analítica e de custos nos processos técnicos ainda analisada de forma independente na maioria dos laboratórios⁴.

Assim a apuração dos elementos que compõe o custo e o controle tem se mostrado uma ferramenta indispensável para o bom andamento financeiro dos laboratórios de análises clínicas, uma vez que quando estes são determinados, pode-se analisar o resultado financeiro de cada setor e etapa com o objetivo de otimizar métodos e processos, bem como a gestão financeira do laboratório como um todo.

A caracterização dos elementos que compõem os custos de um produto ou serviço deve ser percebida pelas organizações como um importante instrumento de informação gerencial para os seus diversos níveis de planejamento, controle e tomada de decisão. Dentre as informações que os custos podem fornecer, destacam-se: as que auxiliam no controle das operações e das despesas; as associadas ao processo de decisão - por exemplo, se é mais vantajoso continuar produzindo determinado

produto ou terceirizar a produção, e as que subsidiam as medidas de caráter operacional, como a definição da política de preços⁶.

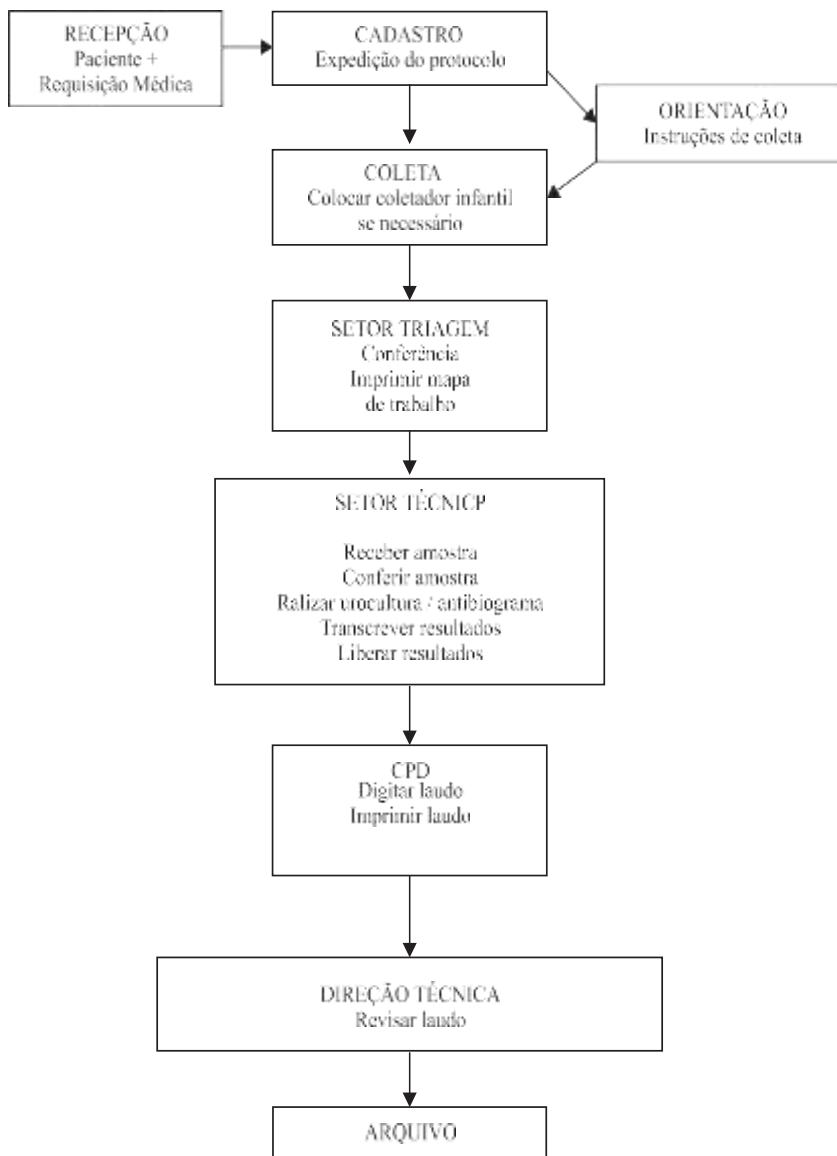
Sistema de custeamento

O sistema de contabilidade de custo baseado em atividades refere-se a uma metodologia de custeio que procura reduzir sensivelmente as distorções provocadas pelo rateio arbitrário dos custos indiretos⁷. No contexto, pode-se definir atividade como um processo que combina, de forma adequada pessoa, tecnologia, materiais, métodos e o ambiente, tendo como objetivo a produção de serviços⁸. Por se tratar de um produtor de serviço, é um consumidor de recursos ou um gerador de despesas⁹. Portanto, a contabilidade de custos coleta, classifica e registra dados operacionais de todas as atividades geradas numa entidade, bem como serve de auxílio na determinação de desempenho, planejamento e controle de procedimentos e de tomada de decisões⁸, sendo útil para: identificar custos de atividades; planejar e controlar atividades; controlar e possibilitar a redução de custos; aumentar a qualidade mantendo a viabilidade financeira; negociação de preços; avaliar desempenho; analisar e determinar as atividades que podem ser executadas por terceiros com menor custo e mais eficiência.

Para realizar um estudo de contabilidade de custos, é preciso considerar que todos os módulos de um laboratório de análises clínicas são consumidores efetivos e nesse sentido, deverão ser conceituados como centro de custo¹⁰. As atividades envolvidas na realização da urocultura estão demonstradas na Figura 1.

Os custos podem ser classificados por diferentes critérios, sendo que os conceitos essenciais são: custos diretos e indiretos. Os custos diretos são aqueles que podem ser apropriados diretamente com o objeto de custeio¹¹, ou seja, todos os materiais de consumo e reagentes e toda mão-de-obra envolvida na execução da análise. Custo indireto significa que as despesas são comuns a várias atividades, setores e produto. Ocorre nos centros auxiliares, representando um gasto complementar na realização da análise e precisam ser rateados para que se determine o custo daquilo que se quer custear. Os seus valores são calculados através de rateio das apurações levantadas. Para proceder ao rateio utilizar o número total de exames realizados durante um mês¹⁰. Após, classificar os custos, identificar, apurar e mensurar de acordo com as fases envolvidas na análise. O custo unitário da análise é realizado de acordo com a apuração dos custos diretos e indiretos¹⁰. Pela metodologia, o custo unitário total da análise é dado pela soma de custo direto e indireto. Fórmula1: $CUA = CD + CI$ (1)

Onde: CT = Custo unitário total; CD = Custo direto; CI = Custo indireto.



Fonte: Parte do fluxograma geral do laboratório.

Figura 1 - Fluxograma das atividades envolvidas na realização de uma urocultura

Levantamento de custos

Para levantamento de custos utiliza-se a urocultura, pois estatisticamente, no setor de microbiologia é o exame mais solicitado.^{1, 12, 13}

O custo unitário final da urocultura é mensurado levando-se em consideração todos os materiais utilizados no centro de custo microbiologia e que estão diretamente relacionados com a sua realização, bem como todos os custos alocados nos centros de custos auxiliares. Tomando como exemplo um laboratório que produza 16.352 exames mensais, sendo 588 exames microbiológicos, desses 334 uroculturas. Do total de uroculturas, 81% (270/334) apresentam resultados negativos e 19% (62/334) resultado positivo, sendo necessário à realização de antibiograma.

Pela diferença de valores nos custos de materiais utilizados, as bactérias isoladas mais comumente são divididas em três grupos: enterobactérias, não fermentadores e cocos gram-positivos. As enterobactérias são mais frequentes com 81% dos isolados, seguido por cocos gram-positivos com 15% e não fermentadores com 4% dos isolados (Figura 2).

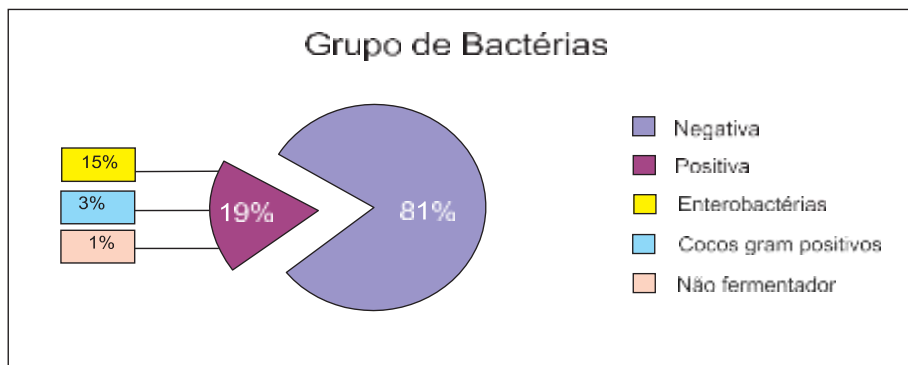


Figura 2 - Estatística do laboratório em relação ao percentual de amostras negativas e positivas e grupos de bactéria

Fonte: Tosato, 2005¹.

Cálculo de custos diretos

Mão-de-obra direta

A remuneração da mão-de-obra diretamente envolvida na análise é calculada com base no salário, encargos sociais e benefícios, correspondendo a um profissional de nível superior (farmacêutico/bioquímico) com carga horária de quatro horas diárias e custo mensal de R\$ 1.915,84, sendo que o custo por segundo corresponde a R\$ 0,0044, e um profissional de nível médio (técnico de laboratório) com custo mensal de R\$ 894,01 e carga horária de quatro horas diárias, sendo que o custo por segundo corresponde a R\$ 0,0021 (Tabela 1)

Tabela 1 - Remuneração total das categorias profissionais envolvidas (mão-de-obra direta).

MÃO-DE-OBRA DIRETA	FARMACÊUTICO/ BIOQUÍMICO (R\$)	TÉCNICO DE LABORATÓRIO (R\$)
Salário	1.1000,00	435,00
Insalubridade (I)	48,00	48,00
13º Salário(II)	95,67	40,25
Férias (III)	95,67	40,25
1/3 (IV)	31,89	13,42
Cesta Básica (V)	56,00	56,00
Encargos Sociais (VI)	396,77	175,95
FGTS (VII)	91,84	38,64
Vale-Transporte (VIII)	-	46,50
Total	1.915,84	894,01

Fonte: SINDESC, CRF,2005

Notas:

I	Insalubridade: 20% do salário mínimo
II	13º Salário: 1/12 – Base de Cálculo Salário + Insalubridade
III	Férias: Base de Cálculo = Salário + Insalubridade
IV	1/3 Férias: Base de Cálculo = Salário + Insalubridade / 3
V	Cesta Básica: SINDESC
VI	Encargos Sociais: INSS 20% SENAC 1%, SESC 1,5%, SEBRAE 0,4%, SEGURO 2,0%, SALÁRIO EDUCAÇÃO 2,5%, INCRA 0,4% = TOTAL: 27,8%
VII	FGTS: 8%
VIII	Vale-transporte: Média 2 ao dia (1,65 x 2 = 3,30 x 22 = 72,60)
	Máximo para Funcionário 6% do salário.

O tempo dispendido é mensurado pela cronometragem em cada fase da execução da análise, obtendo o tempo por procedimento em segundos. De posse do custo por segundo da mão-de-obra e do tempo dispendido em cada fase de execução da análise, obtém-se o custo unitário da mão-de-obra para cada fase, e posteriormente, para o procedimento total. As fases de execução da urocultura no centro de custo microbiologia consistem de: conferência da amostra, coloração da lâmina por Gram, leitura do Gram, semeadura, leitura das placas, realização das provas bioquímicas, leitura das provas bioquímicas, realização do antibiograma, leitura do antibiograma e transcrição dos resultados (Tabela 2).

Tabela 2 - Apuração do custo unitário da mão-de-obra direta utilizada nas fases de realização da urocultura positiva segundo as fases e o tipo de mão-de-obra

FASE	CATEGORIA PROFISSIONAL	TEMPO SEGUNDO	SALÁRIO/SEGUNDO	CUSTO (R\$)
Setor Microbiologia/ Conferência	Técnico de Laboratório	180,00	0,0021	0,3780
Coloração de Gram	Técnico de Laboratório	600,00	0,0021	1,2600
Leitura de Gram	Farmacêutico/ Bioquímico	82,00	0,0044	0,3608
Semeadura	Técnico de Laboratório	136,04	0,0021	0,2857
Leitura das Placas	Farmacêutico/ Bioquímico	73,70	0,0044	0,3243
Realização das Provas Bioquímicas	Técnico de Laboratório	237,44	0,0021	0,4986
Leitura das Provas Bioquímicas	Farmacêutico/ Bioquímico	272,50	0,0044	1,1990
Realização do Antibiograma	Técnico de Laboratório	381,09	0,0021	0,8003
Leitura do Antibiograma	Farmacêutico/ Bioquímico	113,00	0,0044	0,4972
Transcrição dos Resultados	Farmacêutico/ Bioquímico	14,50	0,0044	0,0638
TOTAL 2.090,27				5,6677

Nota: Para amostras coletadas com utilização de coletor infantil, acrescentar 1,084 referente à mão-de-obra do técnico de laboratório

Fórmula para cálculo do custo unitário da mão-de-obra.

Fórmula 2: $CUD_{mod} = T_{proc} \times Rem$ (2)

Onde: CUD_{mod} = Custo unitário direto da mão-de-obra; T_{proc} = Tempo gasto por procedimento em segundos; Rem = Remuneração de trabalho por segundo.

Cálculo do custo unitário da mão-de-obra direta para urocultura negativa (Tabela 3). O procedimento de uma urocultura negativa envolve somente as etapas ilustradas na figura 3 e requer menor disponibilidade de mão-de-obra.

Para o farmacêutico/bioquímico: $CUD_{mod} = 170,20 \times 0,0044$; $CUD_{mod} = R\$0,7489$

Para o técnico de laboratório: $CUD_{mod} = 916,04 \times 0,0021$; $CUD_{mod} = R\$1,9236$

Custo total da mão-de-obra utilizada em uma urocultura negativa = R\$ 2,6726

Tabela 3 - Apuração do custo unitário da mão-de-obra direta utilizada na realização de urocultura negativa segundo as fases e o tipo de mão-de-obra

FASES	CATEGORIA PROFISSIONAL	CUSTO (R\$)
Setor de Microbiologia/ Conferência	Técnico Laboratório	0,3780
Coloração Gram	Técnico Laboratório	1,2600
Leitura do Gram	Farmacêutico/ Bioquímico	0,3608
Semeadura	Técnico Laboratório	0,2857
Leitura das placas	Farmacêutico/ Bioquímico	0,3243
Transcrição Resultados	Farmacêutico/ Bioquímico	0,0638
TOTAL		2,6726

Cálculo do custo unitário da mão-de-obra direta para urocultura positiva (Tabela 2)

O procedimento de uma urocultura positiva envolve as etapas ilustradas na Figura 4 e requer maior disponibilidade de mão-de-obra.

Para o farmacêutico/bioquímico: $CUD_{mod} = 555,70 \times 0,0044$; $CUD_{mod} = R\$ 2,4451$

Para o Técnico de Laboratório: $CUD_{mod} = 1534,57 \times 0,0021$; $CUD_{mod} = R\$ 3,2226$

Custo total da mão-de-obra utilizada em uma urocultura positiva = R\$ 5,6677

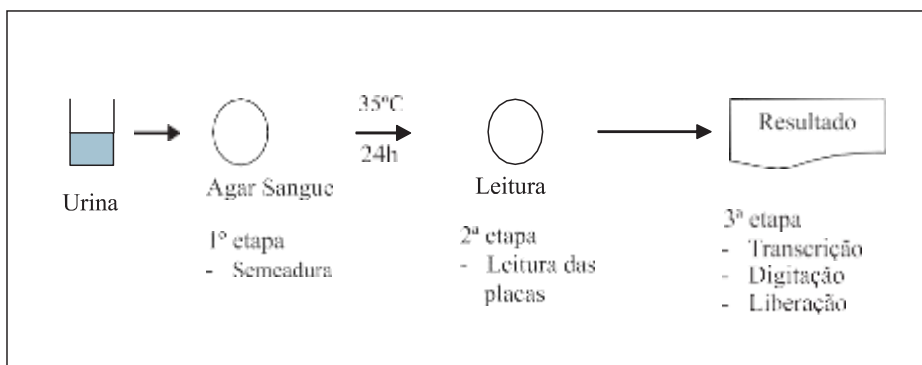


Figura 3 - Procedimento de uma urocultura negativa

Fonte adaptada: CARDOSO, 2003¹⁴.

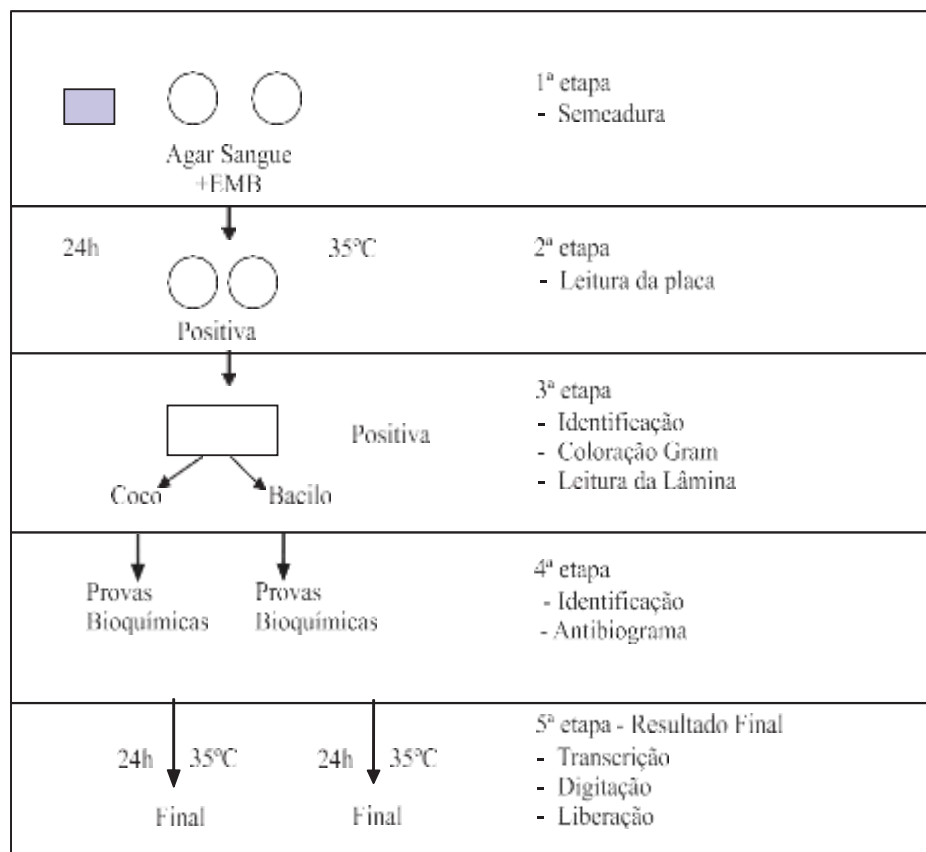


Figura 4 - Procedimento de uma urocultura positiva

Fonte adaptada: CARDOSO, 2003¹⁴

Reagentes e materiais de consumo

Considerar todos os reagentes e materiais de consumo utilizados na realização da análise em todas as fases. Os custos são obtidos através de notas fiscais emitidas pelos fornecedores (Tabela 4, 5).

Cálculo do custo unitário de reagentes e materiais de consumo para urocultura negativa

Para realização de uma urocultura negativa, os reagentes são: placa de semeadura, corantes de Gram, alça calibrada (total de custos R\$ 1,9530) e materiais de consumo que são: frasco estéril, etiquetas, instruções de coleta, embalagem para transporte, formulários (total de custo R\$ 0,4652). Total de reagentes e materiais de consumo: R\$ 2,4182.

Cálculo do custo unitário de reagentes e materiais de consumo para urocultura positiva

Para realização de uma urocultura positiva, há necessidade de maior gasto com reagentes e materiais de consumo. Além dos materiais para semeadura, são utilizados kits de identificação e reagentes para realização do antibiograma. Dependendo do tipo de bactéria isolada o custo pode variar, em função dos diferentes materiais utilizados na identificação e antibiograma. Para calcular esses custos, é realizada média ponderada, levando em consideração a percentagem de bactérias isoladas. O custo de reagentes mensurado em R\$ 14,7536. O custo de materiais de consumo mensurado em R\$ 0,5265. Total de reagentes e materiais de consumo: R\$ 15,2801.

Tabela 4 - Apuração dos custos de reagentes utilizados para a realização de urocultura / antibiograma

REAGENTES	QUANTIDADES	CUSTO TOTAL	Nº DE DETERMINAÇÕES	CUSTO UNITÁRIO
Agar Sangue	10 Placas	18,00	10	1,8000
Agar EMB	10 Placas	18,00	10	1,8000
Muller Hinton (150 x 15mm)	10 Placas	32,00	10	3,2000
Muller Hinton (90 x 15mm)	10 Placas	18,00	10	1,8000
Mini-Kit Enterobactérias	1 Caixa	31,35	10	3,1350
Mini-Kit Não Fermentador	1 Caixa	38,78	5	7,7560
Plasma de Coelho	3 ml	4,35	6	0,7250
Caldo Púrpura Bromocresol	8 Tubos	10,73	8	1,3412
Solução Arabinose	10 ml	12,00	33	0,3686
Meio de Tolerância ao Sal	10 Tubos	10,73	10	1,0730
Agar Bile Esculina	10 Tubos	10,73	10	1,0730
Discos Antibióticos	50 Discos	5,10	50	0,1020
Discos Identificação	50 Discos	4,13	50	0,0826
Swab Esteril	100 Unid	17,00	100	0,1700
Reativo para Catalase	10 ml	3,08	200	0,0154
Tiras para Oxidase	10 Unid	7,05	10	0,7050
Reativo Kovacs	100 ml	33,00	2000	0,0165
Violeta de Genciana	1000 ml	14,85	1000	0,0148
Lugol	1000 ml	9,00	250	0,0360
Álcool- Acetona	1000 ml	12,38	167	0,0741
Fucsina	1000 ml	8,25	1000	0,0082
Cloreto de Sódio 0,85%	1000 ml	4,95	150	0,0330
Alça Calibrada	1 Un	19,88	1000	0,0199
Agulha para Repique	1 Un	13,20	1000	0,0132

Tabela 5 - Apuração dos custos de material de consumo utilizados para a realização de urocultura / antibiograma

MATERIAIS	QUANTIDADE	CUSTO TOTAL (R\$)	CUSTO UNITÁRIO (R\$)
Frasco Estéril	1.000	294,00	0,2940
Etiqueta Adesiva	420	3,86	0,0092
Instruções de Coleta	1.000	10,00	0,0100
Embalagem de Transporte	1.000	32,37	0,0324
Formulário Protocolo	40.000	736,00	0,0184
Formulário Mapa Trabalho	40.000	576,00	0,0144
Tabela para Leitura de Provas Bioquímicas	1.000	10,00	0,0100
Etiqueta Código de Barra	1.000	12,67	0,0127
Formulário Laudo	410.000	1.695,00	0,0413

Depreciação

Os critérios básicos de depreciação de bens, de acordo com a legislação fiscal, estão consolidados no regulamento do Imposto de Renda em seus artigos 305 e 323. A instrução normativa SRF nº. 162, de 31/12/98, aprovou uma extensa relação de bens, com seus respectivos prazos normais de vida útil e taxas anuais de depreciação, que foi ampliada pela Instrução Normativa SRF nº. 130, de 10/11/99. A mesma legislação (artigo 312) estabelece a depreciação em função do número de horas diárias de operação, como descrito a seguir: um turno de 8 horas, coeficiente 1,0; dois turnos de 8 horas, coeficiente 1,5; três turnos de 8 horas, coeficiente 2,0. Sendo assim, para equipamentos com 8 horas de uso ficaria 10% de depreciação ao ano e vida útil de 10 anos, para equipamentos com 16 horas de uso diário 15% de depreciação ao ano e para equipamentos em uso por 24 horas 20% de depreciação ao ano e uma vida útil de 5 anos. Já sistemas de processamento de dados também 20% de depreciação ao ano e 5 anos de vida útil¹⁵. Existem vários métodos para calcular a depreciação. O mais tradicionalmente utilizado é o método das cotas constantes (Tabela 6).

$$\text{Fórmula 3: } D = \frac{C - V}{N} \quad ^3$$

Onde: D = Depreciação anual; C = Custo do equipamento; V = Valor estimado do equipamento na época da substituição (ou valor residual estimado); N = Número de anos de vida útil estimado para o equipamento.

Tabela 6 – Cálculo da depreciação dos equipamentos no centro de custo microbiologia, segundo tipo de equipamento utilizado

Microscópio (*)			Estufa (**)			Banho-Maria (**)			Autoclave (*)			Computador (**)			Geladeira (**)			Geladeira 2 (**)		
Anos de Uso	VA (R\$)	VD(R\$)	Anos de Uso	VA (R\$)	VD(R\$)	Anos de Uso	VA (R\$)	VD(R\$)	Anos de Uso	VA (R\$)	VD(R\$)	Anos de Uso	VA (R\$)	VD(R\$)	Anos de Uso	VA (R\$)	VD(R\$)	Anos de Uso	VA (R\$)	VD(R\$)
1	4.860,00	4.374,00	1	900,00	720,00	1	670,00	536,00	1	1.400,00	1.260,00	1	2.000,00	1.600,00	1	1.200,00	960,00	1	900,00	720,00
2	4.374,00	3.888,00	2	720,00	540,00	2	536,00	402,00	2	1.260,00	1.120,00	2	1.600,00	1.200,00	2	960,00	720,00	2	720,00	540,00
3	3.888,00	3.402,00	3	540,00	360,00	3	402,00	268,00	3	1.120,00	980,00	3	1.200,00	800,00	3	720,00	480,00	3	540,00	360,00
4	3.402,00	2.916,00	4	360,00	180,00	4	268,00	134,00	4	980,00	840,00	4	800,00	400,00	4	480,00	240,00	4	360,00	180,00
5	2.916,00	2.430,00	5	180,00	Zero	5	134,00	Zero	5	840,00	700,00	5	400,00	Zero	5	240,00	Zero	5	180,00	Zero
6	2.430,00	1.944,00	-	-	-	-	-	-	6	700,00	560,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	1.944,00	1.458,00	-	-	-	-	-	-	7	560,00	420,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	1.458,00	972,00	-	-	-	-	-	-	8	420,00	280,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	972,00	486,00	-	-	-	-	-	-	9	280,00	140,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	486,00	Zero	-	-	-	-	-	-	10	140,00	Zero	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Nota: (*) Depreciação = 10% a.a.; Vida Útil = 10 anos. (**) Depreciação = 20% a.a.; Vida Útil = 5 anos

Legenda: VA – Valor do aparelho; VD – Valor depreciado

Fonte: Ministério da Fazenda15

Cálculo do custo unitário da depreciação

Para calcular a depreciação por exame, utiliza-se o valor depreciado mensal pelo número de exames realizados no centro de custo microbiologia (Tabela 7).

$$\text{Fórmula 4: } \text{CUDdep} = \frac{\text{CDm}}{\text{Nmicro}}^4$$

Onde: CUDdep = Custo unitário direto da depreciação; CDm = Custo da depreciação mensal;

Nmicro = Número de exames no centro de custo microbiologia

O cálculo abaixo se refere ao custo unitário da depreciação dos equipamentos utilizados no centro de custo microbiologia.

$$\text{CUDdep} = \frac{131,67}{588} = \text{R\$ } 0,2239$$

Tabela 7 - Custo da depreciação no centro de custo microbiologia segundo tipo de equipamento utilizado por exame

EQUIPAMENTO	VALOR DEPRECIADO (R\$)	VALOR/ANO DEPRECIADO (R\$) (I)	VALOR/ MÊS (R\$) (II)	VALOR/EXAME (R\$) (III)
Microscópio	2430,00	486,00	40,50	0,0689
Estufa	360,00	180,00	15,00	0,0255
Banho-Maria	402,00	134,00	11,17	0,0190
Autoclave	980,00	140,00	11,67	0,0198
Computador	1600,00	400,00	33,33	0,0567
Geladeira	960,00	240,00	20,00	0,0340
Geladeira 2	0,00	0,00	0,00	0,00
TOTAL				0,2239

Fonte: Tabela 6

Nota: Microscópio adquirido em 1998 = 4.860,00 – 5 anos de uso
Estufa adquirida em 2000 = 900,00 – 3 anos de uso

Manutenção

Estão incluídos nos custos de manutenção os gastos com manutenção preventiva, como limpeza, controle de temperatura, lubrificação e checagem de lâmpadas,

mais os gastos com manutenção reparativa, quando necessário. Para base de cálculo foi utilizado como gasto anual 10% do valor do equipamento¹⁰, conforme Tabela 8,

CMm

$$\text{Fórmula 5: } CUDma = \frac{CMm}{N_{micro}}$$

Onde: CUDma = Custo unitário direto da manutenção; CMm = Custo da manutenção mensal; Nmicro = Número de exames no centro de custo microbiologia
O cálculo abaixo se refere ao custo unitário da manutenção.

$$CUDma = \frac{99,42}{588} = R\$ 0,1690$$

Tabela 8 - Custo da manutenção no centro de custo microbiologia segundo tipo de equipamentos utilizados por exame

Equipamento	valor do Equipamento (R\$)	Custo de manutenção		
		Anual (I)	Mensal (II)	Por Exame (III)
Microscópio	4.860,00	486,00	40,50	0,0689
Estufa Bacteriológica	900,00	90,00	7,50	0,0127
Banho-Maria	670,00	67,00	5,58	0,0095
Autoclave	1.400,00	140,00	11,67	0,0198
Computador + Impressora	2.000,00	200,00	16,67	0,0283
Geladeira (1)	1.200,00	120,00	10,00	0,0170
Geladeira (2)	900,00	90,00	7,50	0,0127
Total				0,1690

Fonte: Adaptado de SANNAZZARO, 1998¹⁰

Nota:

I	10%
II	12 meses
III	Mensal / nº de exames (Média: 588,25)
1	Geladeira de amostras
2	Geladeira de meios de Cultura e Reagentes

Cálculo de custos indiretos

Custos indiretos são os gastos comuns a várias atividades, setores e serviços. São rateadas a esses serviços. Os custos indiretos constam de toda mão-de-obra pertencente aos centros de custos auxiliares, que em um laboratório de análises clínicas são: um diretor administrativo, um assistente administrativo, um faturista, uma secretária, uma zeladora, um farmacêutico/bioquímico no setor de triagem de amostras, um farmacêutico-bioquímico como diretor-técnico um auxiliar de laboratório no setor de esterilização e um digitador. A remuneração é apurada com base nos salários de cada categoria profissional com encargos sociais e benefícios. São custos indiretos também ocasionados por despesa operacional e utilidades como: energia elétrica, água, telefone, internet, gás, materiais de controle de qualidade, materiais de escritório, uniformes, materiais de limpeza, seguro, aluguel, IPTU, anuidade do Conselho de Farmácia, alarme, honorários contábeis, materiais de biossegurança. Os custos indiretos foram calculados através de rateio dos custos apurados utilizando o número total de exames realizados no laboratório durante um mês, que no presente estudo foi de 16.352 (Tabela 9, 10 e 11).

Cálculo do custo unitário de despesa operacional e utilidades

$$\text{Fórmula 6: CUI}_{\text{dou}} = \frac{CT}{N} \quad 6$$

Onde: CUI_{dou} = Custo unitário indireto de despesa operacional e utilidades;
CT = Custo total de despesa operacional utilidades; N = Número total de exames no laboratório mensalmente

O cálculo abaixo se refere ao custo unitário de despesa operacional e utilidades.

$$\text{CUI}_{\text{dou}} = \frac{9.635,96}{16352} = \text{R\$ } 0,5893$$

Cálculo do custo unitário da mão-de-obra indireta

$$\text{Fórmula 7: CUI}_{\text{moi}} = \frac{CT_{\text{moi}}}{N} \quad 7$$

Onde: CUI_{moi} = Custo unitário da mão-de-obra indireta; CT_{moi} = Custo total da mão-de-obra indireta; N = Número total de exames no laboratório mensalmente

O cálculo abaixo se refere ao custo unitário indireto de mão-de-obra.

$$\text{CUI}_{\text{moi}} = \frac{19866,34}{16352} = \text{R\$ } 1,2149$$

Tabela 9 - Custo com despesa operacional e utilidades no laboratório de análises clínicas - custo mensal

ITEM	CUSTO
Energia Elétrica	848,21
Água	169,47
Telefone	765,98
Internet	223,69
Gás	10,00
Controle de Qualidade	492,00
Controle de Esterilização	90,00
Honorários Contábeis	1800,00
Material de Escritório	421,03
Uniformes	20,00
Material de Limpeza	400,00
Seguro	28,33
IPTU	150,00
Alugel	4000,00
Conselho de Farmácia	17,25
Alarme	150,00
Material de Biossegurança	50,00
TOTAL	9.635,96

Tabela 10 - Apuração do custo de mão-de-obra indireta segundo categoria profissional nos centros de custos administrativo e auxiliar

Categoria Profissional	Diretor ADM	Assis. ADM	Faturista	Secret.	Zeladora	Farm. Bioq. (triagem)	Auxiliar de Lab (esteriliz)	Faem. Bioq (Dir. Técnico)	Digitador	Assist ADM (Recep)
Salario	5000,00	540,00	1137,00	270,00	258,00	1100,00	385,00	2000,00	362,00	270,00
Insalub	48,00	48,00	48,00	48,00	48,00	48,00	48,00	48,00	48,00	48,00
13° Sal.	420,67	49,00	98,75	26,50	25,50	95,67	36,08	170,67	34,17	26,50
Férias	420,67	49,00	98,75	26,50	25,50	95,67	36,08	170,67	34,17	26,50
1/3 Férias	140,22	16,33	32,92	8,83	8,50	31,89	12,02	14,22	11,39	8,83
Cesta Básica	-	56,00	56,00	56,00	56,00	56,00	56,00	56,00	56,00	56,00
FGTS	403,84	47,04	94,80	25,44	33,72	9184	34,64	163,84	32,80	25,44
Encargos Soc.	1676,22	210,81	409,05	121,16	117,17	396,77	159,34	683,76	151,71	121,16
Vale-Trans	-	40,20	-	56,40	57,12	-	49,50	-	48,00	56,40
Subtotal	8109,62	1056,38	1975,27	638,83	629,51	1915,84	816,66	3307,16	778,24	638,83
Total mão-de-obra indireta										19.866,34

Fonte: CRF, SINDESC, Bolsa de Salários.

Tabela 11 - Apuração do custo unitário indireto por exame com despesa operacional e mão-de-obra indireta no laboratório de análise clínica segundo tipo de custo utilizado pela média do n° total de exames

Tipo de Custo	Total de Custo	Média n° de exames no lac	custo/exame (R\$)
Despesa Operacional e Utilidades	9635,96	16352	0,5893
Mão-de-Obra Indireta	19.865,77	16.352	1,2149
Total			1,8042

Fonte: Tabela 9,10

Apuração do custo unitário da urocultura

Após a apuração dos custos diretos e indiretos, chega-se ao custo unitário final da urocultura calculado pela fórmula abaixo:

$$CUA = CUDmod + CUDr + CUDmc + CUDdep + CUDma + CUImoi + CUIdou \quad (1)$$

Onde:

CUA = Custo unitário da análise; CUDmod = Custo unitário direto da mão-de-obra envolvida; CUDr = Custo unitário direto de reagentes; CUDmc = Custo unitário direto de material de consumo; CUDdep = Custo unitário direto da depreciação; CUDma = Custo unitário direto da manutenção; CUImoi = Custo unitário indireto da mão-de-obra; CUIdou = Custo unitário indireto de despesa operacional e utilidades

Cálculo do custo final da urocultura negativa (Tabela 12)

$$CUA = 2,6726 + 1,9530 + 0,4652 + 0,1690 + 0,2239 + 1,2149 + 0,5893 = R\$ 7,2879$$

Tabela 12 - Apuração do custo unitário da urocultura negativa segundo o tipo de custo

TIPO DE CUSTOS		TABELA DE ORIGEM	CUSTO (R\$)
	Mão-de-obra direta	Tabela 3	2,6726
	Reagentes	Tabela 4	1,9530
	Material de consumo	Tabela 5	0,4652
Direto	- 2 Folhas protocolo	-	
	- 2 folhas mapa de trabalho	-	
	Manutenção	Tabela 8	0,1690
	Depreciação	Tabela 5	0,2239
Subtotal			5,4837
Indireto	Mão-de-obra indireta	Tabela 11	1,2149
	Despesa operacional e utilidades	Tabela 11	0,5893
Subtotal			1,8042
Total			7,2879

Nota: Amostras coletadas com utilização de coletor infantil, acrescentar R\$ 1,084 de mão-de-obra e R\$ 1,60 custo do coletor = R\$ 2.684

Cálculo do custo final da urocultura positiva. (Tabela 13)

$$CUA = 5,6677 + 14,7536 + 0,5265 + 0,1690 + 0,2239 + 1,2149 + 0,5893 = R\$ 23,1450.$$

Conforme demonstrado nas tabelas 12 e 13, o custo direto mostrou-se maior, obtendo-se o percentual de 88,14%, considerando tanto as uroculturas positivas (92,20%) quanto às negativas (75,24%). O percentual do custo indireto calculado foi de 11,86%, levando em conta tanto as uroculturas positivas (7,8%) como as negativas (24,76%). As percentagens estão demonstradas na figura 5. Salienta-se que a percentagem maior observada para o custo direto já era esperada pelo fato de consumo maior de reagentes e mão-de-obra direta.

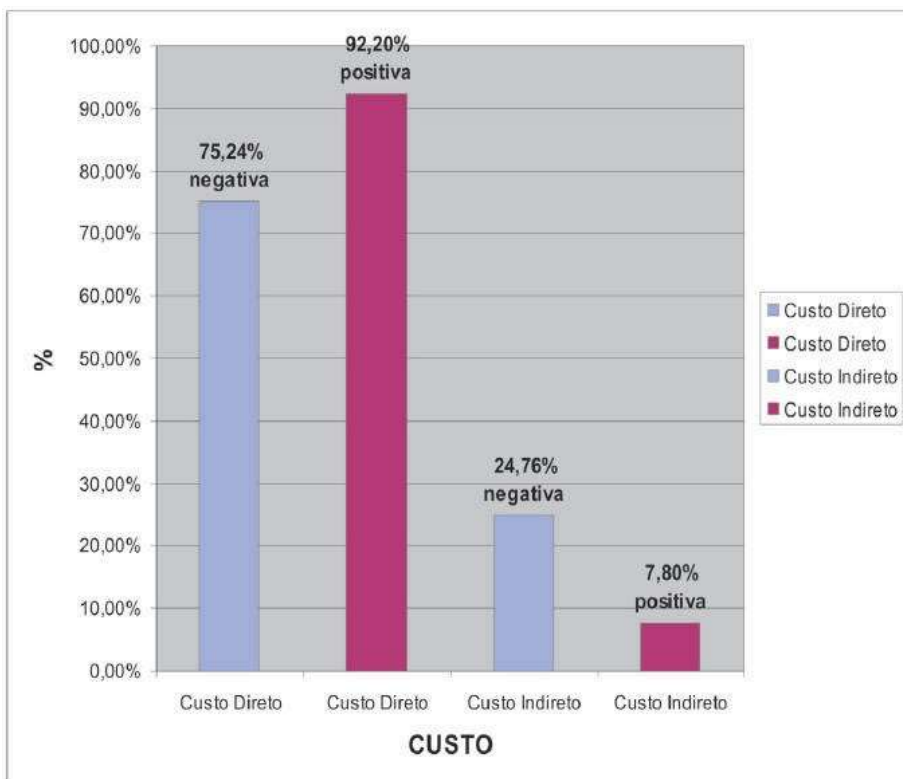
Tabela 13 - Apuração do custo unitário de uma urocultura positiva, segundo tipo de custo

TIPO DE CUSTOS		TABELA DE ORIGEM	CUSTORS R\$	
		Tabela 2	5,6677	
		Tabela 4	14,0587	
			18,8582	
			13,4362	
	Média Ponderada - 14,7536			
	Material de Consumo			
	- 2 Folhas para laudo	Direto	Mão-de-obra Reagentes: a) - Enterobactérias b) - Não Fermentador	
	- 2 Folhas para protocolo			
	- 1 Tabela leitura provas bioquímicas			
- 2 Mapas trabalho				
Manutenção		c) - Cocos gram positivos		
Depreciação	Tabela 7	0,2239		
Subtotal			a = 20,6458 b = 25,4453 c = 20,0233 Média ponderada 21,3408	
Indireto	Mão-de-obra 1	Tabela 11	1,2149	
	Despesas operacional e utiidades	Tabela 11	0,5893	
Subtotal			1,8042	
Total		a = 22,4496 b = 27,2491 c = 21,8271	Média 23,1450	

Nota: Amostras coletadas com utilização de coletor infantil, acrescentar R\$ 1,084 de mão-de-obra e R\$ 1,60 custo do coletor = R\$ 2.684

Tabela 14 – Análise do faturamento bruto e líquido

FATURAMENTO BRUTO			CUSTOS				RESULTADO BRUTO		
	Número de urocultura	Média de preço praticada	Total (R\$)	Unitário (R\$)	Total (R\$)	Unitário (R\$)	Imposto 16,33%	Resultado (R\$)	%
Amostra negativa	272	12,30	3.345,6000	7,2879	1.982,3088	5,0121	2,0086	0,2672	2,17
Amostra Positiva	62	13,60	843,2000	23,1450	1.434,9900	(9,545)	2,2209	(11,7659)	(86,51)
Total			4.188,8000	-	3.417,2988	-	684,0310	87,4702	2,1%

**Figura 5 - Percentual de custo direto e indireto na urocultura positiva e negativa**

Análise dos custos

O custo de um exame representa um acúmulo de custos que se estabelece desde a entrada do paciente no sistema, através de cadastro e orientações de coleta, até a liberação do laudo²¹ e deve abranger todos os recursos necessários nas diferentes fases do processo, que são: pré-analítica, analítica e pós-analítica. A fase pré-analítica é fator primordial para obtenção de resultados confiáveis. A coleta deve ser realizada com o máximo de rigor e a adequada orientação aos pacientes, por escrito, é essencial. “Todo resultado liberado pelo laboratório de microbiologia é consequência da qualidade da amostra recebida”²².

A redução de custos no setor de microbiologia pode ser obtida pela padronização de técnicas e normas rígidas de coleta, transporte e conservação, que aumentaria o lucro das amostras negativas e reduziria os custos com amostras falso-positivas¹³, evitando desperdício de mão-de-obra e materiais com processamento de amostras coletadas inadequadamente.

A grande maioria das amostras de urina analisadas apresenta resultados negativos, principalmente quando o exame solicitado não tem indicação clínica específica ou é apenas para diagnóstico diferencial. Procedimento adequado para triagem rápida das amostras é extremamente oportuno e pode oferecer grande economia de recursos. A coloração de Gram é o mais barato, fácil e provavelmente o mais sensível método de triagem rápida para identificar amostras que contenham 10^5 ou mais UFC/ml²³. Apresenta sensibilidade de 94% e especificidade de 90%²⁴, quando é encontrada uma ou mais bactérias por campo de imersão de gota urina não centrifugada. O encontro de diferentes tipos morfológicos faz supor que se trate de um espécime coletado inadequadamente, contaminado, necessitando de nova coleta²², evitando semeadura desnecessária e, conseqüentemente redução de custos.

Todos os custos devem ser criteriosamente incluídos, considerando os custos diretos e indiretos. No exemplo apresentado elucidou-se que o custo direto representa cerca de 88% do custo total da análise e o indireto cerca de 12%. O que se observa nas discussões práticas é que são considerados apenas custos dos reagentes quando se deseja conhecer o valor final de uma análise. No entanto para concluir sobre o custo final da análise, é necessário considerar gastos com mão-de-obra direta, reagentes, materiais de consumo, depreciação de equipamentos, manutenção, mão-de-obra indireta, despesas operacional e utilidades. A inclusão de todos esses custos permite uma visão crítica.

Os dados expostos permitem concluir que os laboratórios precisam adequar-se à nova realidade econômica e devem lançar mão de ferramentas que auxiliem e propiciem o controle dos processos, assim como seu tempo de execução, permitindo uma otimização de recursos que pode resultar em um incremento da demanda praticada. O grande desafio atual é alcançar e manter a qualidade exigida pela sociedade e conseguir reduzir custos para atender o mercado e manter a competitividade¹⁹.

Apurar custos traz benefícios que são evidentes não só na análise da viabilidade financeira, mas também na análise de mudanças, seja de recursos humanos, mão-de-obra empregada, recursos materiais, reagentes e equipamentos, recursos técnicos e implantação de novas metodologias¹⁴.

REFERÊNCIAS

1. Tosato, Mevb; Pilonetto, M; Scarin, AK. Apuração de Custo para a Realização de Urocultura em um Laboratório de Médio Porte do Setor Privado. NewsLab. ed. 69, p 114-142, 2005.
2. Mugnol, Kcu; Ferraz, MB. Laboratory information system in the assessment and management of costs in clinical laboratories. J. Bras. Patol. Med. Lab. v.42, n. 2, p. 95-102, 2006.
3. Alves, SI; Ogushi, Q. A importância do sistema de informática na administração financeira em laboratórios clínicos. J. Bras. Patol. Med. Lab. vol.42, n. 2, p. 1, 2006.
4. Berlitz, Fa; Haussen, ML. Seis sigma no laboratório clínico: impacto na gestão de performance analítica dos processos técnicos. J Bras Patol Med Lab. v.41, n. 5, p. 301-12, 2005.
5. Taveira, M. Controle de custos em saúde: redução a qualquer preço ou racionalização na busca da eficácia? – elementos para discussão. Revista Saúde em Debate. v.23, n.53, p. 68-80, 1999.
6. Botelho, EM et al. Aplicação do Sistema de custeio ABC em um laboratório de análise clínica. In: XXVII Encontro Nacional de Engenharia de Produção. 2007
7. Martins, Eliseu. Contabilidade de Custos. 9 ed. São Paulo: Editora Atlas, 2003.
8. Leone, George S. G. Curso de Contabilidade de Custos. 2 ed. São Paulo: Editora Atlas, 2000.
9. Ogushi, Quicuco; Alves, Sérgio Luiz. Administração em Laboratórios Clínicos. São Paulo: Editora Atheneu, 1998.
10. Sannazzaro, Carlos A. C. Administração de Laboratório de Análises Clínicas. São Paulo: Grafipress artes gráficas, 1998.
11. Beulke, Rolando; DALVIO, José Berto. Gestão de Custos e Resultados na Saúde. 2 ed. São Paulo: Editora Saraiva, 2000.
12. Albin, Carlos Augusto. Cultura de Urina: Análise das Metodologias, Interferência sobre os Resultados e Proposta para Padronização. Monografia. Curitiba, 1994.
13. Bonin, João Bosco. Análise Preliminar de Custos no Laboratório Privado de Microbiologia Clínica com ênfase em cultura de urina e secreção uretral masculina. 17 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização) – Pontifícia Universidade Católica do Paraná, 2003.
14. Cardoso, Silvia. Contribuição para o estudo dos custos unitários das análises laboratoriais e sua comparação com os preços estabelecidos pelo Sistema Único de Saúde – SUS em um laboratório hospitalar em 2001. 171 f. Dissertação para obtenção do grau de mestre – Universidade de São Paulo – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, 2003.

15. Ministério Da Fazenda – Receita Federal. Depreciação de Bens do Ativo Imobilizado. Disponível em: <<http://www.receita.fazenda.gov.br>> Acesso em: 23 de fev. 2004. p. 1-4.
16. Finegold, S. M.; Baron, E. J.; E. J. Bayley & Scott. Diagnóstico Microbiológico. 7ª ed. Editorial Médica Panamericana: Buenos Aires, 1989.
17. Martino, Marines; Toporovski, Júlio; Mimica, Igor. Métodos bacteriológicos de triagem em infecções do trato urinário na infância e adolescência. Bacteriological methods for screening urinary tract infections during childhood and adolescence. J. Bras Nefrol, 2002. p. 71-80.
18. Sales, Talita Vieira Franco; VAL, José Aloysio da Costa; VIEIRA, Luisane Maria Falci. O papel do Laboratório de Microbiologia nas Infecções do Trato Urinário. Disponível em: <<http://redelab.com.br/foco/08/materia8.htm>> Acesso em: 13 de jan. 2004. p. 1-7
19. Laboratório Associado Redelab. O que é Redelab? Disponível em: <http://www.redelab.com.br/quem_meio.html> Acesso em: 21 de jun. 2003. p. 1-4
20. Grupo De Estudos Em Análises Clínicas Do Crf – Mg (Belo Horizonte). Infecções do trato urinário. Disponível em: <http://www.crfmg.org.br/geac/artigos/artigos_trato_urinario.html>. Acesso em: 05 de fev. 2004. p. 1-3
21. MOTA, José Tadeu; MALAGONI, Norival Júnior. O Gerenciamento dos custos Laboratoriais. LAES & HAES, São Paulo, ano XVIII, n. 106, p. 132-138, abril/maio 1997.
22. Ministério Da Saúde – Anvisa. Manual de Procedimentos Básicos em Microbiologia para o Controle de Infecção Hospitalar: Principais síndromes infecciosas. Módulo 02, Brasília, 2000.
23. Henry, John Bernard et. al. Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais. 19 ed. São Paulo: Editora Manole, 1999.
24. Koneman, Elmer W. et. al. Diagnóstico Microbiológico. 5 ed. Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica, 2001.

Outras bibliografias recomendadas :

Martins, Domingos. Gestão Financeira de Hospitais. 2 ed. São Paulo: Editora Atlas, 2001
Nakagawa, Masayuki. ABC – Custeio Baseado em Atividades. 2ª ed. São Paulo: Editora Atlas, 2001.

Pessoa, Carlos Henrique de M. e Silva; Menezes, Flávia Brum de Paula. Visão Atual sobre a Análise dos Custos Laboratoriais. Newslab, São Paulo: Ano XI, n. 60, out/nov, 2003. p. 88-94.

Sannazzaro, Carlos A. C. Os Custos e as Estratégias para Negociações. LAES e Haes, São Paulo, Ano 25, n. 145, out/nov, 2003. p. 88-02.

Sannazzaro, Carlos A. C. Estudo dos Custos Unitários de Análises Bioquímicas realizadas por Processo Manual. RBAC – Revista Brasileira de Análises Clínicas, Rio de Janeiro, n. 28, p. 39 – 44, 1996.

- Sannazzaro, Carlos A. C. Custos Laboratoriais e a Visão Futura do Administrador de Laboratório. Laes & Haes, São Paulo, ano 24, n. 143, v. 3, 2003. p. 140-148
- Scarin, Alexandra Kiem. Avaliação da Viabilidade das Técnicas Micológicas no Laboratório de Análises Clínicas de Pequeno Porte. 29 f. Trabalho de conclusão de curso (Especialização) – Pontifícia Universidade Católica do Paraná, 2003.
- Vera, Italomar; ITO, Tomoko Sasazawa. Aplicação de Custos no Laboratório Municipal de Curitiba como Ferramenta de Gerenciamento. Laboratório Municipal de Curitiba. Avanços e perspectivas em 10 anos de sede própria. Ed. Especial, p. 39-44. Curitiba, 2002
- Castro, Wagner Barbosa. Gestão estratégica de custos: Veja o que isso pode representar para sua empresa e clientes. Revista Medicina Social. Disponível em: <<http://www.abramge.com.br/artigos.htm>> Acesso em: 07 de jan. 2004. p. 1-5
- Del Porto, Luiz Roberto. Um Autodiagnóstico dos Laboratórios Clínicos. Biosoftware Sistemas Didáticos. Disponível em: <<http://www.biosoftware.com.br/inside.asp?g=artigos>> Acesso em: 1º de maio 2004. p. 1-3
- Matos, João M. Gestão de Custos: jogando a tesoura no lixo. Disponível em: <http://jmdois.com.br/home/an_txt14.htm> Acesso em: 10 de jan. 2004. p. 1-2
- Seki, Mário et al. A inovação de valores nos laboratórios clínicos. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial. v. 39, n. 3, Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/bpml/v39n3/16997>> Acesso em: 01 de maio 2004. p. 211-214.

45. GESTÃO DA QUALIDADE NA CULTURA DE URINA

Emerson Danguy Cavassin

Os processos na área da saúde vêm ganhando eficiência na medida em que incorporam conceitos de produção e qualidade desenvolvidos originalmente em um ambiente muito menos subjetivo: o da indústria de produção.

Sistemas da qualidade tiveram início na década de 30 nos Estados Unidos e ganharam impulso na década seguinte no Japão pós-guerra e em vários outros países do mundo. A partir da década de 50, surgiu a preocupação com a gestão da qualidade, uma nova filosofia gerencial baseada em conceitos, métodos e técnicas adequados a uma nova realidade. A gestão da qualidade total, como ficou conhecida essa nova filosofia gerencial, marcou o deslocamento da análise do produto ou serviço para a concepção de um sistema da qualidade. A qualidade deixou de ser um aspecto do produto e responsabilidade apenas de departamento específico e passou a ser um problema da empresa, abrangendo, como tal, todos os aspectos de sua operação.

A gestão da qualidade passou a se basear na ideia de melhorar sempre os processos correntes. Produzindo mais e melhor, com maior eficiência e menor desperdício.

Estamos habituados a relacionar qualidade com o controle da qualidade analítica, o que na verdade é apenas uma fração do processo de gestão da qualidade. Este engloba processos de garantia da qualidade e melhoria contínua capazes de gerar mudanças constantemente, avaliadas por meio de ferramentas estatísticas, comprovando ou rejeitando as melhorias propostas.

A Gestão da Qualidade segue princípios que objetivam a satisfação plena do cliente, inclusive com superação de expectativas, passam por uma gerência participativa, com desenvolvimento de recursos humanos, constância de propósitos, aperfeiçoamento contínuo, gestão de processos, garantia da qualidade e a não aceitação de erros.

Assim, o programa de gestão da qualidade passa a ser um sistema de gestão facilitador da melhoria contínua da qualidade a ser implementada e mantida e a melhoria contínua da qualidade um conceito gerencial ativo que visa atingir a satisfação do cliente resolvendo problemas identificados e promovendo melhorias constantes, mesmo onde não existem problemas diagnosticados.

O sistema de gestão da qualidade deve ser certificado por terceiros em processos de auditoria com o objetivo de verificar o grau de conformidade com uma dada norma seguida e comprovação da competência para atuação com emissão de certificado por órgão competente, em processos de acreditação e certificação (<http://www.dicq.org.br/>, <http://www.sbpc.org.br/upload/conteudo/320070815172544.pdf>, <http://www.cap.org>).

Garantia da Qualidade - compromisso com um conjunto atividades planejadas e sistemáticas que fornecem confiança de que uma organização preenche os requisitos da Qualidade

Sistema da Qualidade - esforços amplos e coordenados para se alcançar os objetivos da Gestão da Qualidade

Gerenciamento pela Qualidade - inclui os estágios anteriores como também os aspectos econômicos

Gerenciamento pela Qualidade Total - filosofia de gerenciamento focada na Qualidade e na obtenção do sucesso a longo prazo, baseada na satisfação do cliente

Controle da qualidade analítica:

Técnicas e atividades operacionais utilizadas para monitorar o cumprimento dos requisitos da qualidade e legislação vigente (RDC 302, 2005; CLSI M100, 2010)

Registros da qualidade Toda e qualquer anotação, física ou eletrônica, que sirva como evidência objetiva de que a qualidade requerida está sendo atingida. Importante também por permitir ainda a rastreabilidade do processo.

Controle interno da qualidade - CIQ:

Procedimentos conduzidos em associação com o exame de amostras de pacientes para avaliar se o sistema analítico está operando dentro dos limites de tolerância pré-definidos.

Controle externo da qualidade - CEQ:

Atividade de avaliação do desempenho de sistemas analíticos através de ensaios de proficiência, análise de padrões certificados e comparações interlaboratoriais. Também chamada Avaliação Externa da Qualidade (<http://www.pncq.org.br/>, <http://www.control-lab.com.br/>, <http://www.cap.org>).

Um programa de qualidade deve contemplar um sistema no qual se possa avaliar todas as etapas do processo: pré-analítico, analítico, e pós-analítico 1.

Quadro 1 Fases do processamento

Fase pré-analítica	
Atendimento	Atender com cordialidade, buscando reconhecer as expectativas dos pacientes e apresentar soluções objetivas
Abertura de ficha	Reunir os documentos necessários, tais como identificação do paciente e dados do convênio
Interpretação do pedido médico	Interpretar a solicitação do clínico, buscar confirmação sempre que existirem dúvidas com relação aos exames solicitados
Identificação da amostra	É indispensável a identificação individual das amostras de modo a se evitar extravios, também evitar extravasamentos ou contaminação externa. Identificar todos os frascos antes do momento da coleta, confirmando com o paciente dados como nome e data de nascimento. Todas as amostras devem ser acompanhadas de informações que possam contribuir para o diagnóstico. É interessante que o laboratório padronize recipientes para a coleta de cada material biológico. No caso da urina, sempre frascos de boca larga e tampa rosqueável que evite vazamentos.

continua

continuação

Fase pré-analítica	
Instruções e preparo do paciente	Informar ao paciente o processo de coleta do material em detalhes, acompanhado por instruções impressas do método de coleta
Coleta	Proceder a coleta da amostra de acordo com a solicitação médica (punção suprapúbica, sondagem de alívio, jato médio, primeiro jato etc). Na cultura de urina a coleta e o transporte são cruciais na taxa de contaminação e recoletas. É da responsabilidade do laboratório fornecer condições para a coleta adequada com higiene prévia dos genitais para homens e mulheres e saco coletor quando em crianças 2
Conservação da amostra	Manter as condições ideais para preservar os micro-organismos até a chegada na área técnica, evitando perda de patógenos e crescimento exagerado de colonizantes. Amostras de urina devem ser mantidas em cadeia de frio durante todo período da fase pré-analítica. Sabendo que a urina é um meio propício a multiplicação microbiana deve-se observar o limite crítico de até 2 horas a temperatura ambiente após a coleta ou refrigerada por menos de 18 horas. Alternativamente, pode-se fazer a semeadura da urina logo após a coleta ou utilizar conservadores a base de ácido bórico. Uma vez semeada, não existe a necessidade de refrigeração e o material pode ser conservado em temperatura ambiente ou já incubado a 35o C.
Transporte	Manter a integridade dos recipientes durante o período de transporte a fim de evitar extravasamento e contaminação do material. Amostras de urina não semeadas devem ser mantidas em cadeia de frio enquanto que os meios de cultura podem ser transportados a temperatura ambiente
Recebimento e avaliação da qualidade da amostra	Checar a identificação do material e se as condições de recebimento estão de acordo com as necessidades da amostra, principalmente a temperatura para as amostras não semeadas. É indicado que se monitore a temperatura dos malotes recebidos. Não se pode presumir nenhuma informação sobre a amostra ou paciente. Não é indicado que se rotule novamente o material para evitar possíveis trocas. Neste momento alguns critérios de rejeição devem ser observados, tais como frascos mal vedados com extravasamento e possível contaminação da amostra, identificação duvidosa, meios de cultura desidratados ou previamente contaminados e materiais não cultiváveis como ponta de sonda uretral 3
Processamento inicial	Semear as amostras de urinas nos meios adequados e de acordo com a técnica padronizada. Para as amostras semeadas no momento da coleta basta que sejam incubadas (35° C). Nos casos de desvio a amostra deve permanecer exatamente como foi recebida até que os erros possam ser corrigidos. Sempre que possível recomenda-se o registro fotográfico do material inadequado, evidenciado o desvio encontrado.

continua

continuação

Fase analítica	
Realização dos testes	A cultura de urina dever ser realizada por método quantitativo, com determinação do número de unidades formadoras de colônias por ml de urina eliminada e os meios devem garantir a recuperação de bacilos gram-negativos (principalmente entéricos) e também micro-organismos gram-positivos (principalmente cocos). Proceder a incubação e análise do material conforme previsto no manual de procedimentos operacionais padrão. Todos os meios de cultura, corantes e equipamentos utilizados, bem como o pessoal técnico que processa as amostras deve ter sido previamente liberado controle de qualidade com registro de todos os resultados. Os dados brutos gerados na realização do exame devem permanecer arquivados por 5 anos.
Interpretação dos resultados	Interpretar os resultados produzidos e gerar as conclusões. Sempre que possível é recomendado que sejam confrontados resultados anteriores do mesmo exame ou de outros exames correlacionados
Conclusões	Iniciar a montagem do laudo com as informações interpretadas
Fase pós-analítica	
Emissão de laudo	Liberar o laudo para o paciente ou médico assistente. É recomendável que os resultados passem por uma dupla checagem antes da finalização para detectar possíveis desvios durante o processo. Caso o material seja processado mesmo com algum desvio, deve-se incluir nota: "Material processado fora das condições ideais" e descrever sucintamente o motivo do desvio.
Guarda das amostras	Guardar todos os materiais em condições adequadas de modo a manter a estabilidade da amostra por tempo previamente determinado. O ideal é que as amostras não sejam descartadas enquanto não se completarem as investigações.
Assessoria do resultado	Manter um canal de comunicação com o paciente, médico assistente ou comissão de controle de infecção hospitalar para que sejam sanadas dúvidas com relação aos resultados e interpretação dos testes
Informação de resultado crítico	Informar com urgência resultados que signifiquem risco ao paciente ou sejam de interesse epidemiológico, como organismos multirresistentes em pacientes internados ⁴
Informação de exames de notificação compulsória	Periodicamente o laboratório deve fornecer ao serviço de epidemiologia competente a relação de pacientes diagnosticados com os agentes pertencentes à lista de notificação compulsória do seu estado ^{5, 6}

São elementos fundamentais do programa de controle da qualidade: garantia de qualidade das amostras, procedimentos operacionais padrão (manuais), garantia da qualidade técnica dos colaboradores, manutenção dos registros do controle de qualidade, resultados dos exames, participação em programas externos de monitoramento da qualidade, normas de segurança do laboratório, garantia de desempenho dos equipamentos e garantia de qualidade dos insumos laboratoriais, conforme segue.

Quadro 2. Parâmetros para um Programa de Controle da Qualidade ⁷

Manual de procedimentos operacionais padrão	Revisado anualmente ou sempre que acontecerem mudanças no processo. O <i>Clinical and Laboratorial Standards Institute</i> (GP2-A5) traz detalhes de como confeccionar um documento, que deve conter a descrição das técnicas utilizadas, limitações, critérios de rejeição de amostras, uso de reagentes, controle de qualidade e liberação do resultado ⁸ . A metodologia das análises deve ser detalhada e objetiva, com o passo a passo de todas as etapas a serem seguidas. Iniciam com a preparação da amostra, tal como tempo e velocidade de centrifugação, tipos de recipientes, limites de tempo e de estabilidade, bem como precauções, medidas de segurança e uso de EPIs e EPCs, incluindo ainda o descarte dos resíduos gerados. Também, as fontes de erro e interferências, dicas gerais, situações clínicas que influenciam os resultados, procedimentos alternativos e situações onde é aceitável iniciar uma análise de urgência e como manter a estabilidade da amostra caso não possa ser processada em tempo hábil. Também devem constar referências e fontes de consulta bibliográfica. As bulas podem ser incluídas, mas não podem substituir a relação de procedimentos e devem ser atualizadas de acordo com o kit em uso. O manual também deve trazer informações relevantes sobre as fases pré-analítica e pós-analítica e permanecer acessível para todos, seja em formato físico, seja virtual ^{9, 10} .
Colaboradores	Deve haver recurso humano qualificado para o trabalho, com registro de treinamento e de avaliações anuais que garantam a manutenção no seguimento das instruções operacionais dos procedimentos pré-analíticos, analíticos e pós-analíticos. Utilização dos equipamentos de proteção e cumprimento das normas de biossegurança.
Registro do controle de qualidade	Registrar os resultados em formulário apropriado e padronizado. Desenvolver uma análise de causas para cada desvio observado e o registro criterioso das ações corretivas bem como o acompanhamento da sua efetividade.
Resultados de exames	Estabelecer um sistema de revisão dos resultados por colaboradores habilitados. Documentar e notificar imediatamente ao médico assistente quando resultados importantes forem observados, inclusive resultados preliminares. Implantar sistema para detecção de resultados inaceitáveis ou anormais. Os dados brutos devem ser arquivados por pelo menos cinco anos. Quando necessário o laboratório deverá fornecer informações adicionais como limite de detecção, sensibilidade, especificidade, linearidade, valor preditivo positivo e negativo etc.
Participação em programas externos de qualidade (ensaios de proficiência)	O laboratório deve participar de controle de qualidade externo (ensaios de proficiência) que cubram todos os exames realizados. Alternativamente, podem ser utilizados controles de qualidade internos do modo duplo cego ou compartilhado com outros laboratórios devidamente certificados. Os controles devem ser processados pelo mesmo método e pessoal dedicados às amostras clínicas, sem distinção alguma, e os resultados não podem ser compartilhados com outros laboratórios participantes do mesmo ensaio. Há vários métodos de controle de qualidade no mercado. Nestes programas os laboratórios recebem amostras liofilizadas para exames cegos, checando sua exatidão. Os resultados são enviados ao provedor que avalia todos os participantes cruzando os resultados obtidos. Todo resultado não conforme deve disparar um plano de ação com intervenção documentada e acompanhada quanto a sua efetividade

continua

continuação

Normas de segurança	Manter manual de procedimentos de segurança com instruções referentes às precauções padrão estabelecidas, conduta com descarte de resíduos, aplicação de vacinas preconizadas pela legislação e registro de fornecimento de equipamentos de proteção individual (EPI) aos colaboradores
Desempenho de equipamentos	Desenvolver um programa de manutenção preventiva registrado e com acompanhamento, de acordo com a orientação do fabricante. Registrar diariamente a temperatura de equipamentos e os controle de esterilização de estufas e autoclaves Organizar o acesso a todos os manuais em língua portuguesa de equipamentos que produzam resultado analítico. Manter programa de calibração de pipetas, termômetros, balanças e réguas. Registro de procedimentos periódicos de higienização de ambientes como cabine de segurança biológica, centrifugas e microscópios
Garantia da qualidade de meios de cultura	Sempre que produzidos <i>in house</i> deve-se registrar o volume preparado, número do lote, validade, método de esterilização, data do preparo, pH e responsável. Testar a esterilidade e desempenho de todos meios <i>in house</i> com as cepas controle ATCC adequadas e registrar todos os resultados, com os respectivos planos de ação para os desvios observados. Para meios comerciais que não necessitem de nova avaliação da performance deve haver avaliação das características macroscópicas e registro de lote e validade durante o recebimento, com o arquivo dos certificados de análise do fabricante. O documento do CLSI M22-A3 traz a lista completa dos meios que devem ou não ser reavaliados ¹¹
Corantes e reagentes	O rótulo de cada produto deve conter nome, concentração, condições de estocagem, data do preparo, recebimento, quando foi colocado em uso e prazo de validade. Mesmo quando aliquotado, os rótulos devem permitir a rastreabilidade de todas as aliquotas com o reativo de origem. Estocar seguindo instruções do fabricante e testar com controles positivos e negativos antes do uso, semanalmente ou a cada dia de uso, conforme o tipo de teste. Para a água utilizada devem ser seguidos os critérios definidos CLSI C3-A4 (2006) ¹² . Todo resultado não conforme deve disparar um plano de ação com intervenção documentada e acompanhada quanto a sua efetividade
Kits comerciais e antissoros	Cada novo lote e/ou entrega de kits e soros deve ser testado em paralelo com o lote anterior ou com cepas de referência antes de serem colocados em uso. Os resultados devem ser documentados em formulários apropriados. Todo resultado não conforme deve disparar um plano de ação com intervenção documentada e acompanhada quanto a sua efetividade
Teste de avaliação da resistência	Após validação de todas as drogas utilizadas no antibiograma (com 20 ou 30 resultados) realizar controle de cada nova entrega de discos, meios de cultura, fitas com gradiente antimicrobiano, painéis, cartões ou placas de automação. O controle de qualidade analítica dos testes de sensibilidade deve ser repetido semanalmente com as cepas controle indicadas. Para drogas avaliadas esporadicamente, o controle pode ser feito em paralelo com o teste, quando solicitado

Adaptado de OPLUSTIL *et al.* (Procedimentos básicos em microbiologia clínica, 3ª Edição, 2010) sob autorização⁸.

Garantia da qualidade em microbiologia

Na microbiologia, a garantia da qualidade vai além da perfeição técnica na realização dos exames e passa também pela agilidade na liberação dos resultados, no custo do exame e na relevância clínica do teste.

- agilidade: o teste é rápido o suficiente para os resultados auxiliarem na conduta terapêutica?
- razão custo-benefício: o custo do teste é efetivo em relação ao benefício gerado ao paciente à comunidade?
- Relevância clínica: deve auxiliar na prevenção ou tratamento de um quadro infeccioso
- reprodutibilidade: obtem-se os mesmos resultados quando o teste é repetido (precisão)?
- acurácia: o resultado está correto?

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade (precisão) de um exame microbiológico pode ser reduzida a duas variáveis:

1. Falta de homogeneidade da amostra. Todo material clínico deve passar por homogeneização no seu processamento e no momento da sementeira.
2. Falta de estabilidade da amostra. À medida em que o tempo passa podemos ter morte microbiana ou super crescimento. Assim, análises repetidas podem apresentar resultados diversos.

Eficiência

A eficiência de um a cultura é a capacidade de fornecer o diagnóstico correto de um patógeno ou condição patológica.

Sendo medido por duas variáveis

Sensibilidade

Sensibilidade = número de resultados positivos / total de pacientes infectados.

Quanto maior a sensibilidade de um teste, menor o número de resultados falsamente negativos.

Por exemplo, os meios de cultura tradicionalmente utilizados na rotina de urocultura apresentam baixa sensibilidade para um patógeno pouco usual como etiologia de infecção do trato urinário: *Corynebacterium urealyticum*. Reduzindo assim a chance de diagnóstico deste agente. Na tentativa de elevar a sensibilidade do processo, podemos monitorar outros parâmetros associados a este agente, como elevação do pH urinário e hematúria, seguido de nova sementeira das amostras com estes aspectos e cultura negativa em meios mais ricos (mais sensíveis para este agente).

Especificidade

Especificidade = total de resultados negativos / total de pacientes não infectados
Quanto maior a especificidade de um teste, menor o número de resultados falsamente positivos.

Por exemplo: enquanto a coloração de Ziehl–Neelsen de escarro apresenta elevada especificidade no diagnóstico de tuberculose pulmonar ou laríngea, a coloração da urina é menos específica devido aos resultados falsamente positivos pela presença de micobacterias saprófitas.

Fatores que interferem na reprodutibilidade e acurácia dos resultados

As fontes de desvio podem incluir:

- Equipe. A performance do recurso humano está diretamente relacionada à qualidade da educação e treinamento recebido, da experiência do profissional e condições de trabalho¹³

- Fatores do ambiente. Espaço inadequado, iluminação ou ventilação, excesso de ruídos ou calor ou condições pouco seguras de trabalho podem afetar os resultados produzidos.

- Amostras. O método e o tempo entre a coleta e o processamento nem sempre estão sob o controle do laboratório, mas interferem na capacidade de oferecer resultados adequados.

- Pré-analítico. Transporte, identificação, armazenamento e processamento inicial das amostras devem estar descritos em documentos acessíveis a todos para evitar falhas e prejuízo à análise¹⁴

- Insumos. A qualidade dos reagentes, cepas de controle de qualidade, meios de cultura, corantes etc. interferem diretamente na qualidade dos resultados

- Métodos. A escolha da metodologia correta é de extrema importância, alguns métodos apresentam maior acurácia que outros

- Equipamentos. Equipamentos inadequados, ou fora das condições de manutenção podem fornecer resultados de baixa acurácia

- Leitura e interpretação superficial de resultados. A leitura apressada dos resultados, por exemplo, a observação de poucos campos de leitura na microscopia, pode ser causa de erros significativos

- Qualidade da interpretação dos resultados. A interpretação dos resultados obtidos é fundamental em microbiologia, a cada etapa do teste são geradas conclusões que direcionam a testes seguintes até a conclusão do exame. Interpretações equivocadas levarão a conclusões equivocadas

- Reporte de resultados. Nesta fase são comuns os erros de transcrição ou transcrição incompleta de resultados. O que pode ser reduzido com o auxílio do LIS (laboratory interface system) pois reduz-se a necessidade de transcrição de resultados.

Tipos de garantia da qualidade

Existem dois tipos de garantia da qualidade

- **interna:** também chamado como controle da qualidade analítica. Significa que cada laboratório tem um programa para checar a qualidade dos seus testes.

O controle de qualidade envolve

- monitoramento contínuo da qualidade dos testes – avaliação de todos os passos da análise, desde a coleta até a liberação do laudo
- avaliação de insumos, da equipe e de equipamentos utilizados

- **externa:** avaliação da performance através de testes de proficiência externos contratados pelo laboratório.

Em alguns países a participação é obrigatória e regulamentada pelo governo para liberação da licença de funcionamento.

Envolve

- monitoramento periódico da qualidade dos testes

Os objetivos dos testes de proficiência são:

- Garantir aos consumidores (médicos e pacientes) que o diagnóstico feito pelo laboratório tem sua qualidade monitorada
- Permite comparar a performance do laboratório com outros iguais que também participam do programa
 - Identificar erros comuns
 - Encoraja o uso de procedimentos uniformizados entre os participantes
 - Estimula o uso de insumos de qualidade
 - Nos países onde a legislação obriga a participação em programas de proficiência são tomadas medidas administrativas drásticas que podem, inclusive, chegar à revogação da licença de operação dos laboratórios que estejam aquém dos padrões
 - Estimula a implantação de programas de controle de qualidade internos

Os ensaios de proficiência devem ser conduzidos da mesma forma que as amostras de rotina e seguem algumas recomendações:

- Os ensaios devem ser realizados pelo menos 4 vezes ao ano, trimestralmente
- Um mínimo de três amostras devem fazer parte de cada ensaio
- As amostras podem incluir pelo menos 3 das 5 categorias de isolados abaixo:

1. Espécies bacterianas que são de grande importância em termos de saúde pública, mas que são infrequentes na rotina diária, por exemplo: *Corynebacterium diphtheriae*, *Salmonella paratyphi A*.

Brucella e *Salmonella typhi* não devem ser usadas em ensaios de proficiência em função do risco ocupacional que representam

2. biotipos anormais que poderiam gerar identificação equivocada. Por exemplo, *E. coli* H₂S positiva, *E. coli* lactose negativa, *Proteus* urease negativa.

3. Agentes emergentes ou oportunistas. Por exemplo: *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Burkholderia cepacia*.

4. Cultura mista com *Shigella*, *Citrobacter*, *E. coli*, e *Klebsiella* podem ser utilizadas para avaliar a habilidade do laboratório em reisolar os agentes presentes em um material clínico

5. cultura mista com organismos não patogênicos para avaliar a capacidade de reconhecer amostras negativas.

Contaminação de culturas de urina

Certamente, a contaminação das amostras de urina é o problema número um na rotina de urocultura. Resulta em nova coleta, risco de diagnóstico equivocado e atraso no início da antibioticoterapia apropriada. Deste modo todos os esforços da qualidade devem estar alinhados para reduzir suas causas: coleta e transporte inadequados.^{15, 16, 17}

Na tentativa de se definir um indicador aceitável de contaminação de urina o College of American Pathologists (CAP) realizou em 1998 um levantamento com 906 instituições totalizando mais de 200.000 culturas de urina de pacientes não internados e definiu o percentil 90 com 5,6% de contaminação enquanto que o percentil 10 das instituições alcançou 36,8% ou mais de amostras contaminadas¹⁸. O seja, a contaminação pode ser inevitável em um pequeno número de situações específicas e quando as causas não são tratadas a chance aumenta muitas vezes.

Dez anos depois (2008), o CAP voltou a avaliar a frequência de contaminação entre 127 laboratórios, totalizando 14.739 amostras. Desta vez, o percentil 90 reduziu para 0,8% enquanto que o percentil 10 chegou a 41,7%. Desta vez foi possível demonstrar que a refrigeração da amostra e a utilização de instruções impressas resultaram em redução significativa da contaminação¹⁹.

Alguns autores relatam que são gastos anualmente US\$ 566 milhões ao ano com testes de urina. Considerando uma eficiência de 95% neste processo podemos estimar um custo de ineficiência de US\$ 30 milhões ao ano³.

Crítérios de rejeição para culturas de urina

Algumas amostras quando cultivadas não apresentam relevância clínica, não sendo possível correlacionar os resultados obtidos com a avolução do quadro clínico apresentado. Outras vezes, a estabilidade da amostra ou o grau de contaminação com a microbiota colonizante podem comprometer os resultados. Nestes casos é importante uma política que garanta a não realiação da cultura. Seguem alguns exemplos:

- ponta de sonda vesical de demora (cateter de Foley)
- ponta de sonda vesical de alívio
- sedimento urinário

- cultura para anaeróbios de urina obtida pela uretra
- amostra recolhida de bolsa coletora
- amostras de urina não semeadas e mantidas a temperatura ambiente por mais de duas horas ou sob refrigeração por mais de 18 horas
- culturas com crescimento misto em contagem elevada
- amostras colhidas com saco coletor que não tenha passado por troca e higienização a cada 30 minutos e/ou com contaminação fecal visível
- urina contaminada com sangue menstrual (colhida sem tampão)
- urina colhida em frasco não padronizado onde não se possa atestar as condições mínimas de limpeza e esterilidade
- amostras com sujidade visível como pêlos pubianos ou fibras vegetais, ou que tenham sido colhidas sabidamente sem os devidos cuidados de desinfecção prévia
- amostras com identificação duvidosa do paciente
- amostras semeadas em meios de cultura desidratados ou previamente contaminados
- amostras não semeadas quantitativamente (à exceção de punção suprapúbica)
- coleta de jato diferente do solicitado na requisição médica, por exemplo: solicitação de jato médio e coleta de jato total ou primeiro jato
- urina com adição de conservantes derivados de formol

Ferramentas para a melhoria contínua – Lean e Six Sigma

De grandes a pequenos laboratórios todos precisam otimizar diariamente os seus processos para agregar maior valor ao produto com o mínimo de desperdício de tempo, materiais e pessoas e a menor variabilidade possível. Para tanto podem ser aplicadas as metodologias Lean e Six Sigma. O processo Lean, cujas origens remontam ao Sistema Toyota de Produção, baseia-se em um conjunto de ferramentas que não requerem capital significativo para implantação e podem resultar em impacto visível na redução de desperdícios de toda natureza e incrementar a velocidade de produção. O princípio da gestão Lean busca a realização das tarefas com o mínimo de desperdício e com o máximo de padronização para que as coisas sejam feitas da primeira vez, sem a necessidade de repetições e confirmações²⁰.

A confecção de mapas de processo é um bom começo para a aplicação do raciocínio Lean, construído a partir do registro de todos os passos de um determinado processo e subprocessos, ilustrando o seu status atual. Partindo do cenário atual são aplicadas as intervenções e refeito o registro com o novo cenário. Deste modo, facilita-se a gestão do que deveria ser feito e o que está sendo efetivamente realizado.

Six sigma é uma estratégia, um método e uma métrica que objetiva a redução na variabilidade de processos, que pode ser traduzido em última instância em redução de erros e de custos. Um processo que alcança o status de Six Sigma apresenta no máximo 3,4 desvios por milhão de oportunidades. Usadas em conjunto, estas metodologias capacitam uma organização a monitorar e melhorar o nível de qualidade de maneira contínua.

Controle de qualidade dos meios utilizados

Todos os novos lotes ou novas entregas de um mesmo lote devem ser avaliadas pelo controle de qualidade do usuário conforme o grupo do meio de cultura

Os meios de cultura são classificados em dois grupos de acordo com a necessidade de confirmação da performance com testes adicionais realizados pelo usuário¹¹.

a) livres de reteste: meios comerciais que mantêm uma performance constante. Para estes meios o usuário deve manter disponível o certificado de análise fornecido pelo fabricante que atesta as condições ideais de performance do meio utilizado e um sistema de registro para um controle mínimo que envolve: verificação visual da integridade dos meios, espessura do ágar, presença de placas desidratadas, congeladas ou contaminadas, presença de bolhas, hemólise em agar sangue, alterações na cor (provável variação no pH) ou precipitados

b) necessitam reteste: meios comerciais que apresentam variação de performance significativa entre lotes e **todos** os meios produzidos *in house* pelo usuário. Para estes meios, além de registrar as mesmas condições mínimas de qualidade acima, devem ser testados pelo usuário quanto a sua performance com um grupo mínimo de cepas controle

É importante que todos os meios industrializados ou insumos utilizados na produção *in house* tenham os registros solicitados pela legislação nacional.

Quadro 3. Condições de realização do controle de qualidade de meios de cultura

Meio de cultura	Incubação	Cepas controle	Resultado aceito
Ágar sangue	Atmosfera ambiente ou CO ₂ (18-24 h, 35°C)	<i>S. pyogenes</i> (ATCC 19615) <i>S. pneumoniae</i> (ATCC 6305) <i>S. aureus</i> (ATCC 25923) <i>E. coli</i> (ATCC 25922)	Crescimento com beta-hemólise Crescimento com alfa-hemólise Crescimento Crescimento
CLED	Atmosfera ambiente (24-48 h, 35°C)	<i>E. coli</i> (ATCC 25922) <i>P. vulgaris</i> (ATCC 8427) <i>S. aureus</i> (ATCC 25923)	Crescimento com centro amarelo Crescimento com inibição da formação de véu Crescimento com coloração amarela do meio

continua

continuação

Meio de cultura	Incubação	Cepas controle	Resultado aceito
MacConkey	Atmosfera ambiente (18-24 h, 35°C)	<i>E. coli</i> (ATCC 25922) <i>P. mirabilis</i> (ATCC 12453) <i>S. typhimurium</i> (ATCC 14028) <i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	Crescimento de colônias pink Crescimento de colônias sem alteração na cor do meio e inibição parcial e véu Crescimento de colônias sem alteração na cor do meio Inibição parcial do crescimento de colônias pequenas sem alteração na cor do meio
Ágar cromogênico	Atmosfera ambiente (18-24 h, 35°C)	<i>E. coli</i> (ATCC 25922) <i>P. mirabilis</i> (ATCC 12453) <i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	Crescimento de colônias pink Crescimento de colônias acastanhadas Crescimento de colônias pequenas violeta

Cistina lactose eletrólito deficiente

Avaliação da performance de meios nutritivos e seletivos

A avaliação do poder nutritivo e inibitório deve ser realizada com as cepas controle indicadas para cada meio.

a) nutritivos

- turvar as cepas controle na escala 0,5 McFarland ($1,5 \times 10^8$ ufc/ml)
- diluir a suspensão a 1:100 e semear 10 μ L no meio avaliado
- incubar nas condições indicadas
- avaliar a característica esperada das colônias e/ou hemólise
- caso não seja observado crescimento de colônias isoladas pode-se diluir a suspensão 1:1000 e semear 10 μ L

b) seletivos

- turvar as cepas controle na escala 0,5 McFarland ($1,5 \times 10^8$ ufc/mL)
- diluir a suspensão a 1:10 e semear 10 μ L no meio avaliado
- incubar nas condições indicadas
- avaliar a característica esperada das colônias crescidas e inibidas
- caso não seja observado crescimento de colônias isoladas pode-se diluir a suspensão 1:1000 e semear 10 μ L

O controle de qualidade também deve certificar que o teste de sensibilidade aos antimicrobianos apresenta resultados confiáveis. Para tanto, todas as drogas testadas pelo laboratório devem ter sido avaliadas com cepas controle adequadas com um total de 20 ou 30 resultados consecutivos, permitindo no máximo 1 ou 3 desvios, respectivamente.

Após a validação inicial todos os lotes de drogas em uso devem ser avaliados semanalmente contra as mesmas cepas controle e os resultados registrados em planilha própria. Preferencialmente, em gráficos do modelo Levey Jennings com informações sobre lote dos meios e discos avaliados. Para drogas testadas esporadicamente os testes com cepa padrão devem acontecer em paralelo com o teste da amostra clínica ^{21, 22, 23}

Todos os controles realizados devem ficar registrados em formulário próprio por pelo menos 2 anos.

Todas as inadequações devem ser registradas e os planos de ação detalhados até resolução do desvio.

Quadro 4. Condições de realização do controle de qualidade de reativos

Reagente / corante	Controle indicado para o teste		Meio de cultura
	Positivo	Negativo	
Disco bacitracina	<i>S. pyogenes</i>	<i>E. faecalis</i>	Agar sangue
Disco de novobiocina	<i>S. saprophyticus</i>	<i>S. epidermidis</i>	Mueller Hinton agar
Catalase	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	Trypticase soy agar
Plasma citratado	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	Trypticase soy agar
Coloração de gram	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	Esfregaço em lâmina
Reativo de oxidase	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	Trypticase soy agar
Reativo de Kovacs	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	Trypticase soy agar

REFERÊNCIAS

1. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada nº 302, Dispõe sobre Regulamento Técnico para funcionamento de Laboratórios Clínicos. 13 de outubro de 2005.
2. Thomson RB JR. Specimen collection, transport, and processing: Bacteriology. In: Murray PR, *et al*, ed. Manual of Clinical Microbiology, 9th ed. Washington, DC: ASM Press; 2007:55-66
3. Stankovic AK, DiLauri E. Quality Improvements in the Preanalytical Phase: Focus on Urine Specimen Workflow. *Clin Lab Med* 28 (2008) 339–350
4. Steindel SJ, Heard NV. Critical values: data analysis and critique. Q-Probes 92-04. Northfield, IL: College of American Pathologists, 1992
5. Diário Oficial da União; Poder Executivo, Brasília, DF, de 31 out. 1975. Lei Federal 6259, Dispõe sobre a organização das ações de Vigilância Epidemiológica, sobre o Programa Nacional de Imunizações, estabelece normas relativas à notificação compulsória de doenças, e dá outras providências.
6. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 33, Inclui doenças à relação de notificação compulsória, define agravos de notificação imediata e a relação dos resultados laboratoriais que devem ser notificados pelos laboratórios de referência nacional ou regional. 14 de julho de 2005.
7. Oplustil CP, Zoccoli CM, Tobouti NR & Sinto SI. Procedimentos básicos em microbiologia clínica. 3 Ed. São Paulo: Sarvier, 2010.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Laboratory Documents: Development and Control; Approved Guideline—Fifth Edition. CLSI document GP2-A5 (ISBN 1-56238-600-X). Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2006 van Leeuwen AM. 6 Steps to building an efficiency tool. *Advance/Laboratory*. 1999;8(6):88-91
9. Borkowski A, *et al*. Intranet-based quality improvement documentation at the Veterans Affairs Maryland health care system. *Mod. Pathol*. 2001;14:1-5
10. Health Protection Agency. Standards Unit, Department for Evaluations, Standards and Training. Investigation of urine. Issue n 7. Issue date 20.10.09. p. 39. Reference BSOP 41i7
11. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Quality assurance for commercially prepared microbiological culture media - third edition; approved standard M22-A3. Wayne, PA: NCCLS, 2004
12. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Preparation and testing of reagent water in the clinical laboratory; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document C3-A4 (ISBN 1-56238-610-7). Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2006.
13. Farrington M, Amphlett M, Brown DF, Messer S. Fifteen percent of microbiology reports are wrong!: further experience with an internal quality assessment and audit scheme. *J Hosp Infect*. 1995 Jun;30 Suppl:364-71.
14. Coppens A, Speeckaert M, Delanghe J. The pre-analytical challenges of routine urinalysis. *Acta Clin Belg*. 2010 May-Jun;65(3):182-9.

15. Cabedo García VR, Novoa Gómez C, Tirado Balaguer MD, Rodríguez Morquecho N, Rodríguez Bailo MT, Solá Sandtner A. Is the technique used to collect urine important in avoiding contamination of samples? *Aten Primaria*. 2004 Feb 28;33(3):140-4. Spanish. PubMed PMID: 14987497.
16. Lifshitz E, Kramer L. Outpatient urine culture: does collection technique matter? *Arch Intern Med*. 2000 Sep 11;160(16):2537-40. PubMed PMID: 10979067.
17. Robertson J. Changing a urine collection pad (UCP) every 30 minutes reduced contamination of urine samples more than a UCP kept in the nappy in children with suspected urinary tract infection. *Evid Based Nurs*. 2005 Jul;8(3):73. PubMed PMID: 16021702.
18. Valenstein P, Meier F. Urine culture contamination. *Arch Pathol Lab Med*. 1998 Feb;122(2):120-2.
19. Leonas G, Bekeris, MD, FCAP; Bruce Allen Jones, MD, FCAP; Molly K. Walsh, PhD; Elizabeth A. Wagar, MD, FCAP. Urine Culture Contamination A College of American Pathologists Q-Probes Study of 127 Laboratories. (*Arch Pathol Lab Med*. 2008;132:913-917)
20. WERKEMA, MCC. Criando a cultura seis sigma / Cristina Werkema; Nova lima, MG: Werkema Ed, 2004, 256p.
21. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard-Tenth Edition. CLSI Document M02-A10 (ISBN 1-56238-688-3). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 2009
22. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-Eighth Edition. CLSI Document M07-A8 (ISBN 1-56238-689-1). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 2009
23. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twentieth Informational Supplement. CLSI Document M100-S20 (ISBN 1-56238-716-2). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 2010

46. CASOS CLÍNICOS

*Carlos Augusto Albini, Bárbara Pereira Albini,
Helena A. P. Homem de Mello de Souza, Terezinha Inez Estivalet
Svidzinski, Carmen Antonia Sanches Ito, Alessandro Conrado de
Oliveira Silveira, Thiago Neves Batista e Keila Zaniboni Siqueira*

Caso clínico 1

Carmen Antonia Sanches Ito

Mulher com 25 anos, na trigésima segunda semana da primeira gravidez, sem complicações até o momento, relata ardência miccional e dor no baixo ventre há três dias. Apresenta-se afebril e com sinal de Giordano negativo. Foi solicitado parcial de urina e urocultura (resultados abaixo). Após o resultado dos exames laboratoriais, foi prescrita cefalexina 500 mg VO 6/6 horas por três dias e a paciente orientada para realizar novos exames para controle 1 semana após o tratamento com o antimicrobiano.

Parcial de urina:

Aspecto	turvo	Urobilinogênio	normal
Cor	amarelo escuro	Bilirrubina	0
pH	5,0	Nitritos	positivo
Densidade	1.030	Leucócitos	136.000/mm ³
Proteínas	0	Eritrócitos	22.000/mm ³
Glicose	0	Células epiteliais	+
Acetona	0	Cilindros	ausentes
Hemoglobina	+	Cristais	ausentes

Urocultura e antibiograma:

Amostra: Urina (jato médio)

Bactéria.....: Escherichia coli

Contagem de colônias.....: ≥ 105 UFC/mL

Ácido nalidíxico Sensível

Amicacina Sensível

Ampicilina Sensível

Ampicilina/sulbactam Sensível

Cefalotina Sensível

continua

continuação

Cefalexina	Sensível
Ceftriaxona	Sensível
Ciprofloxacina	Sensível
Gentamicina	Sensível
Nitrofurantoína	Sensível
Norfloxacina	Sensível
Sulfazotrim	Sensível



Figura 1. Desenvolvimento de *E. coli* em ágar MacConkey

Avaliação após terapêutica antimicrobiana

As estruturas abaixo foram observadas no exame parcial de urina (figura 2) e coradas pelo Gram (figura 3).

Parcial de urina:

Aspecto	Turvo	Urobilinogênio	normal
Cor	amarelo escuro	Bilirrubina	0
pH	5,0	Nitritos	positivo
Densidade	1.045	Leucócitos	38.000/mm ³
Proteínas	0	Eritrócitos	1.000/mm ³
Glicose	0	Células epiteliais	raras
Acetona	0	Cilindros	ausentes
Hemoglobina	0	Cristais	ausentes



Figura 2. Sedimentoscopia - exame direto (400X)



Figura 3. Sedimentoscopia - exame direto (400X)

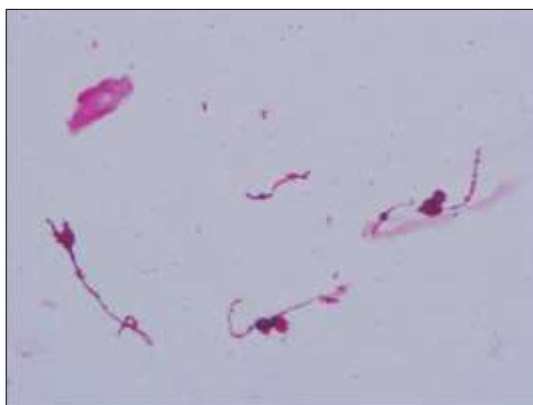


Figura 4. Sedimentoscopia - coloração de Gram (1000X)



Figura 5. Sedimentoscopia - coloração de Gram (1000X)

Urocultura e antibiograma:

Amostra: **Urina (jato médio)**

Bactéria.....:

Não houve desenvolvimento bacteriano.

Questões para discussão

1. **Diante da história clínica, da anamnese e dos exames laboratoriais qual o diagnóstico inicial da paciente?**

Cistite aguda não complicada.

2. **Qual a relação entre ITU e gravidez?**

Durante a gravidez ocorrem alterações anatômicas e fisiológicas nos rins e nas vias urinárias como: dilatação pélvica e do ureter; deslocamento da bexiga pelo aumento do útero para uma região anterior e superior à sua localização normal, o que a torna um órgão abdominal e não pélvico; aumento em cerca de 30-40% do fluxo sanguíneo renal e da taxa de filtração renal levando ao aumento do tamanho e à hiperemia dos rins; aumento da capacidade vesical devido à redução do tônus vesical, relaxamento da musculatura lisa da bexiga e do ureter pela ação da progesterona e lentidão do fluxo urinário e falta de esvaziamento completo da bexiga. Essas modificações facilitam o acesso e a permanência de bactérias no trato urinário o que predispõem à bacteriúria assintomática e as ITUs⁶.

3. **O antimicrobiano utilizado está indicado para a terapêutica de ITU na gestação? Quais não estão?**

Cistite aguda é a principal ITU em mulheres, gestante ou não. Os esquemas terapêuticos mais indicados no caso de gestantes incluem pivmecilina (não comercializado no Brasil), fosfomicina, cefalosporina de primeira geração, amoxicilina e nitrofurantoína^{1,2}. **No Brasil os seguintes esquemas terapêuticos são utilizados¹:**

- Fosfomicina trometamol: administrada em jejum na dose única de 3g da apresentação em pó, diluída em copo d'água;
- Cefalosporinas de primeira geração:
- cefalexina: um comprimido (500mg) em intervalos de 6 ou 8 horas, durante três dias;
- cefadroxil: um comprimido (500mg) em intervalos de 8 ou 12 horas, durante três dias;
- Amoxicilina: um comprimido (500mg) em intervalos de 8 horas, durante três dias;
- Nitrofurantoína: um comprimido (100mg) em intervalos de 6 horas, durante sete dias.

Durante a gravidez quinolonas, tetraciclina e a associação sulfametoxazol + trimetoprima (sulfazotrim) estão contra indicados no primeiro trimestre e sulfonamidas (incluindo sulfazotrim) no último trimestre^{1,2}.

4. O que são as estruturas que aparecem na sedimentoscopia (direta e corada) após o tratamento?

São bactérias com parede celular deficiente (BPCD), podem apresentar-se sem a parede bacteriana ou com parede bacteriana residual; em inglês, cell wall deficient or defective bactéria (CWDB). Historicamente são conhecidas como forma-L bacteriana em homenagem ao Instituto Lister onde trabalhava Emmy Klieneberger que descreveu pela primeira vez (1935) essas formas bacterianas.

Muitas espécies de bactérias podem, sob certas condições induzidas ou espontâneas, perder parte ou toda a parede celular, resultando em células osmo-sensíveis, chamadas de **bactérias com deficiência de parede celular ou com parede defeituosa. Os termos** esferoplasto, protoplasto ou forma-L são utilizados para designar essas formas bacterianas com alteração de parede celular. No entanto, observa-se certa confusão na utilização desses termos, segundo Glover e colaboradores (2009), CWDB capaz de se desenvolver em meios sólidos especializados formando colônias com aspecto de "ovo frito" são denominadas de bactérias em forma-L. As formas-L bacterianas podem ser classificadas em 4 grupos com base em sua capacidade de permanecer no estado na forma-L ou voltar à forma clássica (formas-L estável (irreversível) *versus* instável (reversível) e a presença ou ausência de parede celular residual (esferoplasto *versus* protoplastos):

- Forma-L do tipo **esferoplasto** (presença de parede bacteriana residual) **estável**;
- Forma-L do tipo **esferoplasto** (presença de parede bacteriana residual) **instável**;
- Forma-L do tipo **protoplasto** (ausência de parede bacteriana residual) **estável**;

- Forma-L do tipo **protoplasto** (ausência de parede bacteriana residual) **instável**.

5. **Em que condições essas estruturas são formadas? No caso clínico qual a provável causa do surgimento de forma-L de *E. coli*?**

Condições adversas em geral podem levar a formação de BPCD em várias espécies de bactérias e leveduras, tais como incubação prolongada, incubação em temperaturas subótimas e alta concentração de aminoácido e sal. Exposição bacteriana a antibióticos, principalmente aqueles com ação em parede celular, também podem produzir bactérias com formas variantes⁷.

No caso apresentado a bactéria isolada é sensível à cefalexina, o uso de um antimicrobiano com ação em parede bacteriana inibiu a síntese de peptídeoglicano, principal componente da parede celular, no entanto a lise osmótica bacteriana não ocorreu porque a urina estava hipertônica (densidade: 1.045) em relação ao meio interno da bactéria. Além disso, o pH ácido favorece a viabilidade dessas formas bacterianas independente da concentração da urina⁵.

No entanto, é importante ressaltar que a transformação de uma bactéria com morfologia clássica para uma forma variante é mais uma resposta geral do micro-organismo a situações desfavoráveis do que resultado de um agente específico. Em infecção humana nem sempre se observa história de uso prévio de antimicrobianos com a presença de formas variantes de bactérias⁷.

6. **Qual a conduta nesse caso e como fazer a prevenção?**

Garantir a diluição da urina por meio da ingestão de líquido e reiniciar o tratamento. Considerar a possibilidade de forma-L bacteriana sempre que se usar antimicrobiano com atuação em parede celular, especialmente em ITU onde a osmolaridade e o pH da urina podem sofrer grandes variações de acordo com a menor ou menor ingestão de água.

7. **Pode ocorrer em outros sítios de infecção?**

Sim. Bactérias com parede deficiente já foram isoladas de hemocultura, LCR, líquido sinovial, secreção de amígdala e faringe etc. Há relatos da associação de BPCD com vários tipos de doenças como sarcoidose, doença de Crohn, osteomielite, artrite, meningite, doenças oculares, febre reumática, endocardite e doença de Whipple, entre outras⁴. O papel das BPCDs nestas doenças não é claro, há necessidade ainda de ser estabelecido. No entanto é inegável o interesse que o tema tem despertado novamente em relação ao seu significado em casos específicos, como na persistência bacteriana, na resistência bacteriana aos antimicrobianos, em infecções latente e como alvo de estudo para o desenvolvimento de novos fármacos e vacinas².

8. Quais bactérias podem tornar-se uma bactéria com parede celular deficiente (BPCD)?

Várias bactérias podem tornar-se uma BPCD quando sujeitas a determinados mecanismos de estresse, abaixo as de interesse clínico⁴:

Staphylococcus aureus
Streptococcus pyogenes
Streptococcus viridans
Mycobacterium species
Escherichia coli
Shigella flexneri
Enterococcus faecalis
Clostridium welchii
Clostridium tetani
Neisseriae species
Haemophilus influenzae
Micrococcus species
Bacillus species
Lactobacillus species
Brucella abortus
Bordetella pertusis
Serratia marcescens
Pasteurella multocida
Stenotrophomonas maltophilia
Pseudomonas aeruginosa
Corynebacterium species
Vibrio species
Listeria monocytogenes
Legionella pneumophila
Bacteroides funduliformis
Rhizobium lupinus
Proteus mirabilis
Bifidobacterium bifidum
Salmonella typhimurium
Streptobacillus moniliformis
Nocardia species
Treponema pallidum
Borrelia burgdorferi
Leptospira interrogans

9. Por que a urocultura estava negativa?

A bactéria permanece viável no sistema urinário devido às condições apropriadas (osmolalidade e pH), diferentemente dos meios de cultura utilizados para uro-

cultura, ágar CLED e MacConkey. Nesses meios essas formas bacterianas tendem a não se desenvolver ou apresentar desenvolvimento escasso.

10. Quais as possíveis consequências da não detecção desse fenômeno no caso apresentado?

Esse fenômeno é uma das causas da persistência bacteriana, onde mesmo a bactéria estando sensível ao antimicrobiano ela não é erradicada do sítio de infecção. A manutenção de bactérias no trato urinário (cistite, persistência bacteriana, bacteriúria assintomática) pode levar a quadros infecciosos mais graves, inclusive com risco de mortalidade de acordo com as condições do paciente. Em gestantes se associa a um maior índice de prematuridade, baixo peso e mortalidade perinatal, além de maior morbidade materna.

11. Qual a importância do parcial de urina no diagnóstico das ITUs?

O parcial de urina pode evidenciar situações não detectadas pela urocultura como no caso de forma-L de *E. coli*; infecção por micro-organismos fastidiosos, fungos e parasitas; avaliação da contaminação em mulheres, detecção de agentes de vaginites e uretrites; avaliação da resposta inflamatória (esterase leucocitária e contagem de leucócitos) e da presença de bactérias (nitrito e bactérias). Além de auxiliar na suspeita de situações clínicas não infecciosas como litíase e glomerulonefrite.

REFERÊNCIAS

1. Projeto Diretrizes. Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina. Cistites em Situações Especiais: Tratamento. 2004.
2. Glover WA, Yang Y, Zhang Y. Insights into the Molecular Basis of L-Form Formation and Survival in *Escherichia coli*. PLoS ONE. 2009; 4(10): e7316.
3. Domingue GJ, Woody H. Bacterial persistence and expression of disease. Clin Microbiol Rev. 1997; 10: 320–344.
4. Onwuamaegbu ME, Belcher RA, Soare C. Cell wall-deficient bacteria as a cause of infections: a review of the clinical significance. J Int Med Res. 2005; 33(1): 1-20.
5. Gnärpe H, Edebo L. Conditions Affecting the Viability of Spheroplasts in Urine. Infection and Immunity. 1970; 1(3): 300-304.
6. Grabe M, Bishop MC, Bjerklund-Johansen TE, Botto H, Çek M, Lobel B., Naber KG, Palou J, Tenke P, Wagenlehner F. Guidelines on Urological Infection. European Association of Urology, 2009.
7. Gutman LT, Turck M, Petersdorf RG, Wedgwood RJ. Significance of bacterial variants in urine of patients with chronic bacteriuria. J Clin Invest. 1965; 44: 1945–1952.
8. Silva, NPM, Palmeira, ML. Ciclo “L” em *Proteus vulgaris*: I – 32aaamassas nucleares em esferoplastos induzidos pela penicilina. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 1972; 70(1): 69-75.
9. Markova N, Slavchev G, Michailova L, Jourdanova M. Survival of *Escherichia coli* under lethal heat stress by L-form conversion. Int J Biol Sci. 2010; 6:303-315.

Caso clínico 2

Alessandro Conrado de Oliveira Silveira

Paciente feminino, 43 anos, realizou cirurgia de histerectomia, recebendo alta hospitalar após 4 dias. Uma semana após alta, iniciou com quadro de febre alta (39,5°C), dor suprapúbica, disúria, urgência miccional e polaciúria. Procurou atendimento médico, sendo solicitado parcial de urina, urocultura e antibiograma.

O resultado do parcial de urina:

EXAME QUALITATIVO DA URINA	
Cor	Amarelo escuro
pH	5,5
Densidade	1,014
Aspecto	Turvo
Glicose	Ausente
Proteínas	Ausente
Cetonas	Ausente
Hemoglobina	+
Bilirrubina	Ausente
Urobilinogênio	Ausente
Nitrito	Positivo
Microbiota bacteriana	++++
Células epiteliais	3 p/c
Leucócitos	100 p/c
Hemácias	5 p/c
Muco	++
Cilindros	Ausentes
Cristais	Ausentes

Foi realizado Gram de urina não centrifugada, sendo visualizada microbiota bacteriana mista, com intensa reação leucocitária.

A urina foi semeada com alça calibrada de 1 µL nos meios de Mac Conkey, Cled e ágar sangue de carneiro. Após 24 horas de incubação, verificou-se o crescimento de colônias rosas (figura 1) no Mac Conkey, colônias amarelas grandes e puntiformes no Cled (figura 2) e colônias grandes acinzentadas e pequenas amarelas no ágar sangue de carneiro (figura 3).



Figura 1 – Crescimento bacteriano em Mac Conkey após 24 horas



Figura 2 – Crescimento bacteriano em ágar Cled após 24 horas



Figura 3 – Crescimento bacteriano em ágar sangue de carneiro após 24 horas

As bactérias foram identificadas bioquimicamente, demonstrando a presença de *Escherichia coli* e *Staphylococcus saprophyticus*, ambas em contagens superiores a 100.000 UFC/mL. O antibiograma demonstrou sensibilidade à todos os agentes testados.

Com o objetivo de demonstrar como o crescimento bacteriano de 24 horas pode ser erroneamente considerado contaminante, as placas foram incubadas por mais 24 horas. Apesar do crescimento preponderante de *E. coli*, ficou caracterizado o crescimento de colônias sugestivas de *Staphylococcus* spp., que poderiam ter sido descartadas caso não fosse realizada uma avaliação cuidadosa do crescimento em 24 horas. Na figura 4, o crescimento é monobacteriano, visto que o Mac Conkey é um meio seletivo para Gram-negativos. Nas figuras 5 e 6, verifica-se o crescimento de inúmeras colônias que demonstram a natureza polimicrobiana da infecção.

É importante salientar que *S. saprophyticus* é um dos uropatógenos mais frequentes. Outros estafilococos coagulase negativos devem ser avaliados criteriosamente antes de considerados contaminantes.

A coleta de dados na fase pré-analítica do exame é fundamental para a avaliação de uroculturas com crescimento polimicrobiano, pois vários fatores de risco podem ser detectados, facilitando a escolha da alça calibrada, meios de cultura e tempos de incubação adequados.



Figura 4 – Crescimento bacteriano em Mac Conkey após 48 horas

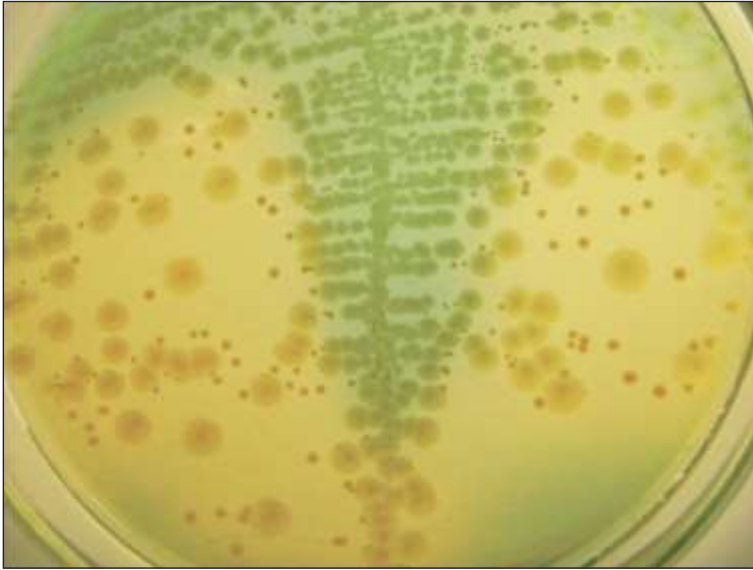


Figura 5 – Crescimento bacteriano em Cled após 48 horas



Figura 6 – Crescimento bacteriano em ágar sangue de carneiro após 48 horas

Questões para discussão

- 1. É comum a presença de ITU causada por mais de um micro-organismo?**
Não, as ITUs polimicrobianas em pacientes ambulatoriais e sem fatores de risco associados (diabetes, neoplasias, cateterismo vesical,...) são incomuns e devem ser sempre criteriosamente avaliadas.
- 2. Em quais situações clínicas podemos ter ITUs polimicrobianas?**
Várias patologias, como diabetes e prostatites, podem facilitar a colonização e permanência na uretra de bactérias potencialmente uropatogênicas. O cateterismo urinário permite que micro-organismos não usualmente uropatogênicos, como *Candida* e estafilococos coagulase negativa, ascendam pela uretra e colonizem a mucosa da bexiga.
- 3. Quando temos crescimento polimicrobiano, quais contagens de colônias são clinicamente relevantes?**
De acordo com os critérios padronizados pela Sociedade Americana de Microbiologia, as bactérias com contagens de colônias superiores a 10.000 UFC/mL devem ser identificadas e realizado o antibiograma. Bactérias com contagens inferiores a 10.000 UFC/mL devem ser reportadas de acordo com suas características morfológicas (hemólise, características morfológicas, testes rápidos, ..).
- 4. Como devo proceder laboratorialmente quando da suspeita de uma ITU polimicrobiana?**
Quando há suspeita clínica de uma ITU polimicrobiana ou presença de uropatógeno incomum, devemos proceder a semeadura com alça calibrada de 10 µL com o objetivo de visualizar contagens de colônias mais baixas. Recomenda-se também semear em meios de cultura enriquecidos, como o ágar chocolate, a fim de recuperar patógenos nutricionalmente exigentes. Também é importante a incubação por tempo prolongado (até 72 horas), com o objetivo de verificar o crescimento de micro-organismos fastidiosos, como *Candida* e *Gardnerella vaginalis*.
- 5. Como o Gram de urina não centrifugada pode auxiliar na triagem das amostras?**
O Gram de urina não centrifugada é um exame simples, barato e de extrema utilidade na avaliação das amostras de urocultura. Inúmeros trabalhos comprovam que a visualização de mais de uma bactéria por campo microscópico (aumento de 1000) é indicativo de ITU com contagem de colônias superior a 100.000 UFC/mL. Além disso, a visualização de microbiota bacteriana mista e reação leucocitária auxilia o microbiologista na interpretação do crescimento polimicrobiano.

REFERÊNCIAS

1. Murray, P. R. Manual of Clinical Microbiology. 9 ed. Washington: ASM Press, 2006.
2. Oplustil, C. P.; Zoccoli, C. M.; Tobouti, N. R.; Sinto, S. I. Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica. 3 ed., São Paulo: Sarvier, 2010.
3. Mccarter, Y. S.; Burd, E. M.; Hall, G. S.; Zervos, M. Coordinating Eds. Cumitech 2C, Laboratory Diagnosis of Urinary Tract Infections. Coordinating ed., American Society for Microbiology, Washington DC, 2009.
4. Silveira, A. C. O.; et al.ii. Como e Quando Valorizar Culturas de Urina Polimicrobianas no Laboratório de Microbiologia Clínica. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial, 46 (4): 289-294, 2010.
5. Albini, C.A.; Souza, H. A. P. H. M.; Stinghen, A. E. M. Coloração de Gram – Como fazer, interpretar e padronizar. 2ª Edição. Curitiba, PR: Microscience, 2003.

Caso clínico 3

Terezinha Svidzinski

VSG, masculino, 60 anos, Aposentado, portador de doença pulmonar obstrutiva crônica e hipertensão arterial sistêmica (HAS) deu entrada hospitalar por crise de insuficiência respiratória. Permaneceu em unidade de terapia intensiva por 20 dias, sob ventilação mecânica, em todo esse período fez uso de sonda vesical e recebeu antibióticos e corticoides. Dez dias após saiu o resultado de uma cultura de urina com desenvolvimento de *Candida albicans* e contagem superior a 10^5 UFC/ml. Uma semana depois foi isolada a mesma espécie de levedura em duas amostras de hemocultura. A urina foi colhida em condições assépticas, 24 horas após troca da sonda urinária.

Os isolados da urina e do sangue eram idênticas, confirmadas por duas técnicas moleculares (NESTED-PCR e RAPD).

Questões para discussão

1. **Nesse caso a candidemia foi consequência da candidura? Ou o contrário? A contaminação da urina teria ocorrido após a candidemia?**

Essa questão é ainda polêmica, a tendência é aceitar a candiduria como consequência da candidemia, entretanto, chamamos a atenção para a literatura que tem mostrado inúmeros fatores de virulência das leveduras que garantiriam que a colonização inicial das porções distais do TGU, poderiam evoluir para infecção urinária e finalmente atingir a corrente circulatória.

2. Essa espécie é frequentemente encontrada em candidúria hospitalar? E comunitária?

Candida albicans é ainda a espécie de levedura mais frequente tanto no meio hospitalar quanto na comunidade, entretanto é importante dar atenção para as alterações que têm ocorrido na etiologia das candidurias, principalmente hospitalares, com a substituição dessa espécie por outras menos responsivas aos azólicos (fluconazol).

3. Qual(is) a(s) dificuldade(s) em se interpretar um resultado de cultura de urina positiva para leveduras?

Diferenciar colonização de infecção, pois ainda não existem pontos de corte para valorização de exames laboratoriais como contagem de colônias. Além disso, não há consenso na literatura: enquanto muitos defendem que candidúria seria em princípio uma colonização, via principalmente formação de biofilme em sonda vesical e, portanto não deveria ser tratada. Outros defendem a evolução de colonização para infecção com risco inclusive de disseminação.

4. Nesse caso quais foram os principais fatores predisponentes à infecção por leveduras?

Considerando que as leveduras são micro-organismos oportunistas, nesse caso entre os fatores envolvidos devem destacar-se internação prolongada em unidade de terapia intensiva, uso de sonda vesical, antibioticoterapia e uso de corticoides

5. Que critérios clínicos e laboratoriais poderiam ser usados para a diferenciação entre colonização e infecção urinária por leveduras?

Esse assunto ainda é polêmico mas devem ser considerados: culturas feitas com urina obtida 24 horas após a remoção ou troca da sonda vesical; resultados semelhantes em culturas seriadas; isolamento de um ou dois tipos morfológicos de colônias, não desenvolvimento concomitante de bactérias, isolamento de espécies menos responsivas aos azólicos como *C. glabrata*, *C. krusei*, por último e ainda com muita discussão o quesito “contagem de colônias” que a despeito de controvérsias para muitos autores poderia ser considerado superior a 10^3 UFC/mL.

6. Como deve ser feita a coleta de amostras de urina para cultura em paciente sondado?

Remoção ou troca da sonda vesical 24 horas antes da coleta, sem desconectar a bolsa de drenagem, realizar a desinfecção do local próprio para a coleta com algodão com álcool. Aspirar a urina com seringa esterilizada.

7. Como deve ser interpretada a contagem de colônias em urocultura com desenvolvimento de leveduras?

Alguns grupos de pesquisa acreditam que a contagem referente a 1.000 UFC/mL é satisfatória para o diagnóstico de candidúria, enquanto que para outros este valor pode ser igual ou superior a 10.000 UFC/mL para maior aprofundamento nesse tema sugerimos dois textos

8. Qual a provável fonte da levedura isolada nesse paciente?

C. albicans é uma levedura endógena, a origem provavelmente deve ter sido a pele do próprio paciente ou do *staff* que colonizou a sonda vesical, a partir daí atingiu a bexiga e na sequência a corrente circulatória.

9. Porque as infecções hospitalares por fungos estão aumentando?

Graças a avanços na área médica, tem aumento a sobrevida de pacientes críticos, estes entretanto são imunocomprometidos, expostos a vários fatores de risco para infecções, entre outros a cateterização, uso de antibióticos de amplo espectro, tempo de hospitalização prolongada, sobretudo em UTI. Esses fatores em conjunto colaboram para o aumento de infecções oportunistas causadas por agentes não cobertos pelos antimicrobianos usados de rotina.

10. Qual seria o tratamento de escolha para esse paciente?

C. albicans responde bem ao fluconazol que é a droga de escolha tendo em vista, a baixa toxicidade, baixo custo e poucas interações medicamentosas.

11. Qual o prognóstico desse paciente?

O quadro de candidemia é muito grave com taxa de mortalidade em torno de 30-60%

12. As técnicas moleculares são usadas rotineiramente? Nesse caso qual foi a sua contribuição?

Não são usadas na rotina, nesse caso foram importantes para comprovar que as leveduras isoladas nos dois sítios eram idênticas, considerando que a identificação de gênero e espécie por meio das características fenotípicas não permitem essa conclusão. A maior contribuição é nesse momento de construção dos conhecimentos sobre a valorização da candidúria, comprovando que a levedura tenha migrado do trato urinário para a corrente circulatória.

13. A coleta de hemocultura deve ser indicada em pacientes com candidúria? Por quê?

Em nossa opinião sim para pacientes graves, com febre a esclarecer, principalmente se estiver neutropênico. Esse cuidado é útil para monitorar a evolução do quadro infeccioso visando fazer um possível diagnóstico de candidemia o mais precoce possível.

14. Porque a urina foi colhida 24 horas após a troca da sonda urinária?

Este é o tempo ideal para minimizar os riscos do biofilme formado sobre a sonda. Tempo de permanência superior o biofilme já estaria maduro fornecendo micro-organismos contaminantes e, menos que 24 horas é um tempo insuficiente para depurar os micro-organismos despreendidos no processo de remoção da sonda anterior.

Caso clínico 4

Terezinha Svidzinski

D. C., 63 anos, masculino, marceneiro, portador de Diabetes Mellitus e hipertensão, apresentou-se ao serviço de emergência de um hospital com queixas de abdome agudo e enterorragia. Após uma cirurgia abdominal foi transferido para a unidade de terapia intensiva. Desde o primeiro dia de hospitalização estava em vigência de antibioticoterapia empírica: metronidazol, gentamicina e ceftriaxona por nove dias. Posteriormente os antibióticos foram alterados para, cefepime, ciprofloxacino e vancomicina por 10, 2 e 30 dias, respectivamente.

Exames solicitados:

Uroculturas sucessivas: Sem desenvolvimento de bactérias mas, no 25º dia de internação desenvolvimento de leveduras com caracteres morfológicos de *Candida tropicalis*, contagem superior a 10^5 UFC/ml.

Coprocultura e cultura de material cirúrgico: negativas para leveduras.

Hemocultura: Desenvolvimento da mesma espécie de levedura em duas amostras de sangue obtidas dez dias após o achado de candidúria.

Os isolados da urina e do sangue eram idênticos, confirmado por duas técnicas moleculares (NESTED-PCR e RAPD)

Após a comprovação da presença de *C. tropicalis* não apenas na urina, mas também no sangue parte dos antibacterianos foram substituídos por antifúngicos e o paciente passou a receber vancomicina, fluconazol e anfotericina B.

Apesar de todo o esforço o paciente foi a óbito 63 dias após o isolamento da levedura no sangue com a causa atribuída à candidemia.

Questões para discussão

- 1. Baseado nos resultados laboratoriais, qual seria o diagnóstico deste paciente?**
Infecção urinária por *Candida tropicalis* com consequente candidemia
- 2. Por que as uroculturas anteriores foram negativas?**
Ou havia uma infecção bacteriana não detectada em função dos antibióticos, ou então esse paciente jamais desenvolveu uma infecção urinária de origem bacteriana.
- 3. Porque houve o desenvolvimento de leveduras só no 25º dia de internação?**
O aparecimento de leveduras geralmente é tardio, esse é um tempo médio de internação para o desenvolvimento de infecção urinária por leveduras, em geral favorecido pela seleção em função do tratamento empírico com antibióticos.

4. Qual a principal preocupação com o isolamento de *Candida não albicans* na urina?

Esse grupo de leveduras inclui espécies menos responsivas aos antifúngicos de primeira escolha como o fluconazol.

5. Como é o índice de mortalidade em infecções hospitalares por leveduras?

Elevado atinge entre 30 e 60% sendo considerado 40% atribuído a própria infecção

6. Porque esse paciente foi a óbito mesmo em vigência de antifúngicos?

A infecção fúngica é tardia, nesse período há sinergismo de vários fatores de risco, dessa forma o balanço das condições de sobrevivência do paciente é cada vez mais desfavorável, evoluindo muito mal, apesar da introdução do antifúngico.

7. O tratamento instituído foi adequado?

O uso dos antibacterianos pode ter sido exagerado, o que representa mais um fator de risco para a candidúria. Além disso administrar fluconazol e anfotericina B concomitantemente não é uma prática comum, considerando que os poliênicos desorganizam o ergosterol da membrana celular enquanto os azólicos inibem a síntese do mesmo alvo.

8. Quais os cuidados necessários após desenvolvimento de leveduras em urina de paciente hospitalizado?

Procurar meios para definir se trata-se de uma colonização ou de uma infecção; confirmar se a urina foi coletada de acordo com o recomendado (troca da sonda); solicitar culturas sucessivas.

9. Quais fatores de risco para candidúria esse paciente estava exposto?

Cirurgia abdominal, internação prolongada e em unidade de terapia intensiva, antibioticoterapia, idade, Diabetes Mellitus.

10. O que existe de consenso sobre infecções fúngicas nosocomiais do trato urinário?

Que a interpretação deve ser feita com cautela, que o agente seja identificado ao nível de gênero e espécie, pois para *C. glabrata* ou *C. krusei* não é indicado o uso de azólicos, fazer uroculturas sucessivas para avaliar repetitividade dos achados e aumento na contagem de colônias.

11. Que particularidades poderiam ser enumeradas quanto ao achado de candidúria por *C. tropicalis* em relação ao prognóstico do paciente?

Essa espécie é uma das mais frequentes em infecções urinárias, forma biofilme com muita facilidade, merece atenção pois tem sido associada à maior morbidade e mortalidade.

12. As técnicas moleculares são usadas rotineiramente? Nesse caso qual foi a sua contribuição?

Não são usadas na rotina, nesse caso foram importantes para comprovar que as leveduras isoladas nos dois sítios eram idênticas, considerando que a identificação de gênero e espécie por meio das características fenotípicas não permitem essa conclusão. A maior contribuição é nesse momento de construção dos conhecimentos sobre a valorização da candidúria, comprovando que a levedura tenha migrado do trato urinário para a corrente circulatória.

13. Casos como esse são frequentes ou raros?

Infelizmente esse caso não é raro, leveduras estão entre os principais agentes de infecção urinária em pacientes internados em UTI por tempo superior a três semanas.

14. Se fosse uma paciente do gênero feminino os riscos seriam ainda maiores?

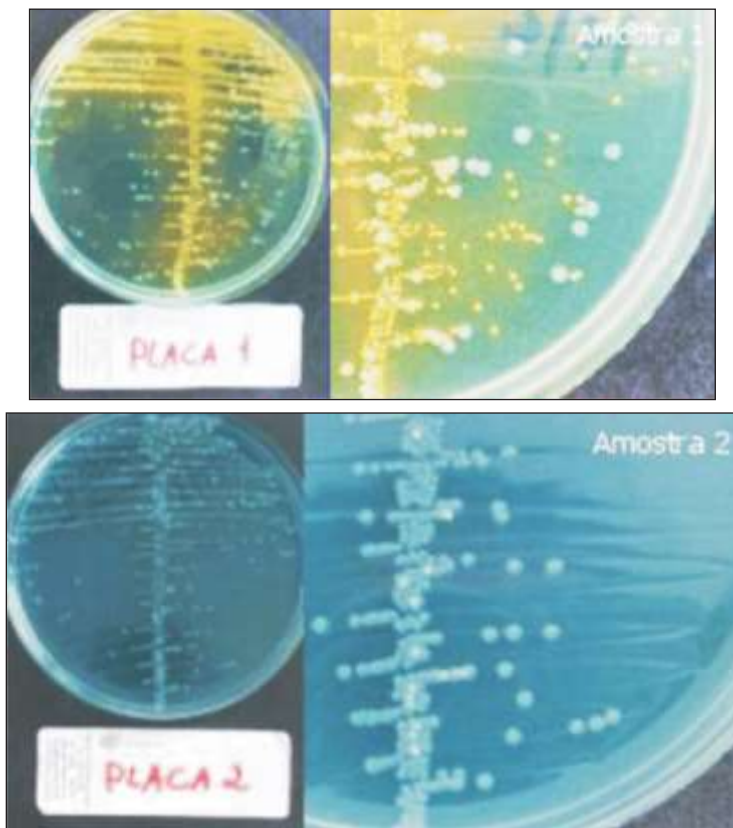
Em princípio mulheres são mais predispostas às infecções urinárias de qualquer etiologia, incluindo as leveduras, entretanto em pacientes expostos a múltiplos fatores de risco, a diferença entre homens e mulheres é bem menor, possivelmente os riscos seriam os mesmos, já que o desfecho (candidemia) está relacionado à debilidade do hospedeiro

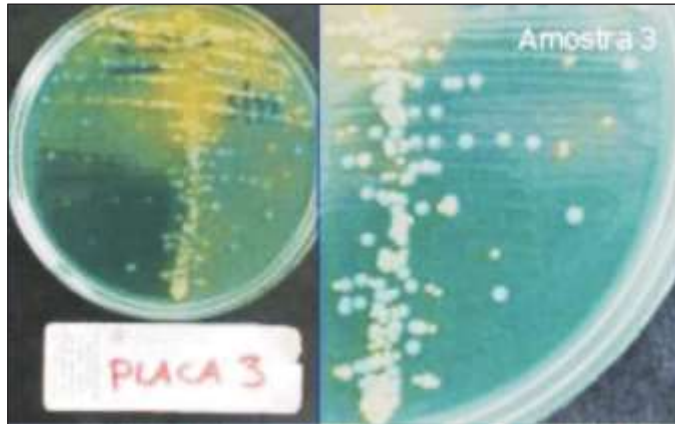
Caso clínico 5

Carlos A. Albini

Helena H. M. Souza

As 3 placas de urocultura a seguir correspondem à semeadura de 3 amostras de urina de saco coletor de uma criança do sexo masculino de 11 meses de idade, colhidas em dias consecutivos, conforme solicitação do pediatra.





OBS.: a 1ª amostra foi coletada em casa, pela mãe, e transportada rapidamente ao laboratório, em temperatura ambiente. As outras 2 amostras foram coletadas no laboratório, seguindo orientação do pediatra.

Quadro clínico

A criança foi levada pela mãe ao consultório do pediatra em visita de rotina, conforme orientação anterior, para acompanhamento de recorrência de infecção urinária. A única queixa apresentada foi de anorexia. O exame físico não revelou febre, irritabilidade ou dor à compressão vesical, mas um moderado atraso pômbero-estatural. A criança não era circuncidada e apresentava um dis- creto refluxo vesico-ureteral, como constatado em cistouretrografia miccional realizada anteriormente.

	1ª amostra	2ª amostra	3ª amostra
Aspecto	Turva	Turva	Turva
Cor	Amarelo claro	Amarelo claro	Amarelo claro
pH	7,5	7,0	6,0
Proteínas	+	+	+
Glicose	Ausente	Ausente	Ausente
Corpos cetônicos	Ausente	Ausente	Ausente
Pigmentos biliares	Ausente	Ausente	Ausente
Leucócito esterase	Ausente	Ausente	Ausente
Hematuria	Ausente	Ausente	Ausente
Nitritos	Positivo	Positivo	Positivo
Leucócitos	30 p/c	40 p/c	20 p/c

continua

continuação

	1ª amostra	2ª amostra	3ª amostra
Cilindros	Ausentes	Ausentes	Ausentes
Hemácias	Ausentes	Ausentes	Ausentes
Cristais	Fosf. Amorfos +	Ausentes	Ausentes
Bactérias (Gram UNC)	BGN 8/CGA CGP 10/CGA	BGN 2/CGA	BNV

OBS: UNC: urina não centrifugada; BGN; bacilos gram-negativos; CGP: cocos gram-positivos; CGA: campo de grande aumento ou 1000x; BNV: bactérias não visualizadas.

Hemograma

Eritrócitos 3.450.000 / ml

Hemoglobina 9,5 g / dl

Volume globular 29,0 %

VCM 84,0 fl

HCM 27,5 pg

CHCM 32,5 %

Leucócitos 11.000 / ml

Bastonetes 11 %

Segmentados 35 %

Eosinófilos 03 %

Linfócitos 45 %

Monócitos 06 %

Plaquetas 340.000 /ml

Questões para discussão

- 1. Que interpretação e seguimento você daria para cada urocultura?**

1ª amostra: contaminada, solicitar nova amostra.

2ª amostra: positiva para a colônia lactose-negativa, identificação e antibiograma.

3ª amostra: resultado descritivo, sem identificação e sem antibiograma.
- 2. Quais os cuidados necessários na coleta de amostras de urina de crianças usando o saco coletor, para evitar contaminação?**

Assepsia dos genitais a cada 30-60 minutos e troca do saco coletor.
- 3. Quais bactérias poderiam ser suspeitas na análise da morfologia colonial das 3 amostras?**

Bacilo gram-negativo (BGN) lactose-negativo, provavelmente *Proteus*, pela história do paciente.

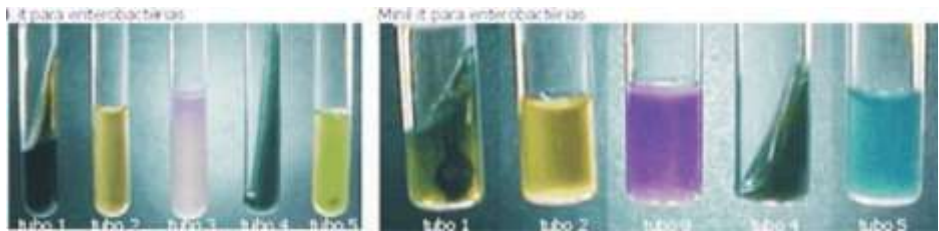
4. No caso de ser necessário realizar antibiograma, quais antibióticos deveriam ser testados?

Deveriam ser testados, no mínimo: ampicilina, cefazolina (ou outra cefalosporina de 1ª geração), gentamicina, nitrofurantoína, norfloxacina e sulfametoxazol-trimetoprim.

5. O dado do paciente ser circuncidado é relevante para a avaliação deste caso?

Sim, porque meninos não circuncidados têm maior tendência a infecções recorrentes por *Proteus*.

6. Tendo em vista as provas abaixo, qual a identificação da bactéria correspondente à colônia lactose-negativa?



Proteus mirabilis.

7. Qual prova bioquímica, dentre as analisadas acima, poderia revelar resultado falso, e em qual sistema de identificação?

A prova da lisina, no sistema de identificação que utiliza o meio de Rugai com lisina, devido à alcalinização do meio da base (lisina-motilidade) após a descarboxilação da lisina, devido à amônia produzida pela hidrólise da ureia no meio superior (Rugai), e que passa pela cera.

8. Como você interpreta os resultados da coloração de Gram das 3 amostras de urina não centrifugadas? Por que é necessário um acompanhamento frequente, com repetição da urocultura a cada visita, em crianças assintomáticas, como é o caso deste paciente?

1ª amostra: contaminada.

2ª amostra: provável ITU, com contagem superior a 100.000 UFC/mL.

3ª amostra: negativa, ou ITU com contagem inferior a 100.000 UFC/mL.

Porque, segundo Zunino, “...os lactentes, principalmente aqueles no primeiro ano de vida, apresentam sinais e/ou sintomas quase sempre inespecíficos. É nesta época que se estabelecem, frequentemente, os danos renais observados evolutivamente, sempre irreversíveis.”

REFERÊNCIAS

1. Zunino, Daltro. Nefrourologia Pediátrica na Prática Diária. Curitiba, Ed. da UFPR, 1993.
2. Silva, Paulo Henrique & Hashimoto, Yoshio. Interpretação Laboratorial do Eritrograma. São Paulo, Ed. Lovise, 1999.
3. Pilonetto, Marcelo & Pilonetto, Daniela V. Manual de Procedimentos Laboratoriais em Microbiologia. Curitiba, Ed. Microscience, 1998.
4. Albini, Carlos Augusto. Cultura de Urina: Análise das Metodologias, Interferência sobre os Resultados e Proposta para Padronização. Monografia apresentada ao Curso de Especialização em Bacteriologia Clínica da UFPR, Curitiba, 1994.
5. Pilonetto, Marcelo. Avaliação de um esquema prático para a identificação presumtiva de *Escherichia coli* isoladas em uroculturas. Monografia apresentada ao Curso de Especialização em Bacteriologia Clínica da UFPR, Curitiba, 1994.
6. Universidade Federal do Paraná. Manual do Laboratório. Curitiba, Hospital de Clínicas, 1990.
7. Souza, Helena A. P. H. M. A coloração de Gram como método de triagem para bacteriúria. Monografia apresentada ao Curso de Especialização em Bacteriologia Clínica da UFPR, Curitiba, 1994.
8. Clarridge, J.E. et al. Cumitech 2A. Laboratory diagnosis of urinary tract infections. Washington, D.C., American Society for Microbiology, 1987.

Caso clínico 6

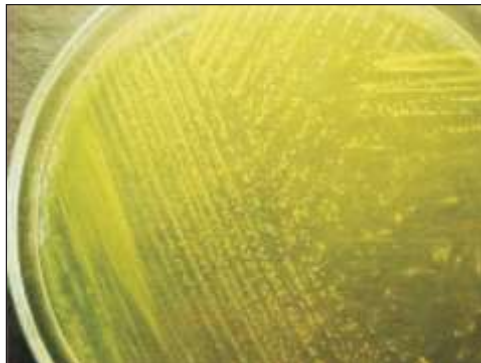
Carlos A. Albini

Helena H. M. Souza

Homem, 56 anos, será submetido a uma prostatectomia. Não relata qualquer problema de saúde anterior. O paciente apresenta sintomas de infecção urinária. Foi solicitado urina parcial com sedimento corado e cultura de urina com antibiograma. Como rotina foi solicitado um hemograma.

Hemograma

Eritrócitos 4.550.000/mm³
Hemoglobina 11,5 g/dL
Volume globular 34,3 %
VCM 75,3 fL
HCM 24,9 pg
CHCM 33,0 %
RDW 20,2 % Anisocitose++
Microcitose +
Pecilocitose +++
Codócitos +++
Policromatofilia +
Eliptócitos terminados em ponta +
Leucócitos 7.700/mm³
Bastonetes 04 %
Segmentados 32 %
Eosinófilos 13 %
Linfócitos 42 %
Monócitos 09 %
Plaquetas 231.000/mm³



A placa acima corresponde à amostra de urina semeada em ágar Cled. Incubada a 36°C por 24 horas.

Questões para discussão

1. A amostra de urina foi semeada no ágar Cled, utilizando-se da técnica por esgotamento. A técnica de semeadura está correta ?

Não. A técnica de semeadura utilizada foi a da semeadura por esgotamento, indicada para a obtenção de colônias isoladas. A técnica recomendada para a semeadura de líquidos com finalidade de quantificação de colônias consiste no estriamento homogêneo de uma quantidade conhecida do material clínico (urina) obtido com uma alça calibrada (1 ou 10 microlitros) por toda a superfície do ágar. O material é descarregado estriando-se com a alça de uma borda à outra da placa de Petri, em linha reta, e em seguida fazendo-se estrias paralelas perpendiculares à estria inicial. Esta técnica é extremamente útil também na visualização de colônias contaminantes nas placas de ágar CLED: o desenvolvimento de colônias “arrastadas” pela passagem da alça indica que se trata de uma colônia que provavelmente estava contaminando a placa, que não foi visualizada no momento da semeadura.

2. Considerando-se a morfologia colonial observada nas placas anteriores e a coloração de Gram da gota de urina não centrifugada, onde foram observados cocos gram-positivos, qual o provável micro-organismo?

Em se tratando de colônias pequenas alfa-hemolíticas de cocos gram-positivos, o provável micro-organismo é um estreptococo ou enterococo.

3. Que provas você utilizaria para uma identificação definitiva?

Segundo a última edição do Manual of Clinical Microbiology, da American Society for Microbiology, são necessárias as seguintes provas:

1. Para definição da família (*Streptococcaceae*): prova da catalase;
2. Para caracterização do gênero *Enterococcus*: crescimento em caldo com 6,5% de cloreto de sódio, crescimento em caldo BHI (“Brain Heart Infusion”) incubado a 45°C, hidrólise da pirrolidonil-betanaftilamida (PYR) e hidrólise da leucina-betanaftilamida (LAP).



Os tubos acima, correspondem a prova da bile esculina e crescimento em meio de tolerância ao sal (M.T.S.).



Os tubos acima, correspondem ao desenvolvimento do microorganismo em questão, no caldo B.H.I. a 45°C e agar motilidade.

4. **Considerando as provas bioquímicas anteriores, o que é possível afirmar quanto à identificação bioquímica do micro-organismo isolado?**
Trata-se provavelmente de uma bactéria do gênero *Enterococcus*.
5. **Quais outros testes deveriam ser realizados?**



Para a definição da espécie, deveriam ser realizados os seguintes testes: hidrólise da arginina, formação de ácido em caldos com manitol e sorbose, utilização do piruvato e tolerância ao telurito.

6. **Considerando os resultados obtidos é possível identificar de maneira definitiva o patógeno isolado?**
Não. Segundo a última edição do Manual of Clinical Microbiology, da American Society for Microbiology, seriam necessárias as provas citadas nas respostas às perguntas 3 e 5. No entanto, analisando-se as provas realizadas, trata-se muito provavelmente da espécie *E. faecalis* (manitol e arginina positivos, embora a arabinose seja negativa para esta espécie).
7. **Quais seriam os antimicrobianos mais adequados para serem testados?**
Penicilina ou ampicilina, vancomicina, gentamicina e estreptomomicina (estes dois últimos com discos de alta concentração, 120 e 300 microgramas, respectivamente) e, em se tratando de isolados urinários, norfloxacin, nitrofurantoina e tetraciclina.
8. **Quais as principais infecções relacionadas com esta bactéria?**
A maioria das infecções são nosocomiais: infecções do trato urinário, bacteremias, endocardites, infecções mistas pélvicas e abdominais e infecções de feridas.

9. Quais os cuidados que devem ser observados no tratamento das infecções graves por este patógeno?

As infecções graves devem ser tratadas combinando-se um agente antimicrobiano que atue em parede celular, como os betalactâmicos, com um aminoglicosídeo. Isto é necessário porque, embora estes agentes possam mostrar-se efetivos *in vitro*, nenhuma das duas classes de antimicrobianos é efetivamente bactericida como terapia única para tratamento de infecções graves por este micro-organismo.

10. Quais os principais mecanismos de resistência observados atualmente neste micro-organismo?

A resistência a penicilina e ampicilina é mediada na maioria das vezes por produção de proteínas ligadoras de penicilina de baixa afinidade, ou, em menor extensão, por produção de betalactamases. A resistência a altos níveis de gentamicina e estreptomicina é conferida principalmente pela produção de enzimas modificadoras de aminoglicosídeos codificadas por plasmídios transferíveis. A resistência à vancomicina está associada à presença de um dos diferentes genes ligase: *vanA*, *vanB*, *vanC-1*, *van C-2* e *van-D*.

REFERÊNCIAS

1. Dalla Costa, L. M; Rubel, R. R; Botão, G. M. D; Souza, D. C. Antibiograma. NEBaC. Curitiba, 1999.
2. Silva, Paulo Henrique & Hashimoto, Yoshio. Interpretação Laboratorial do Eritrograma. São Paulo, Ed. Lovise, 1999.
3. Pilonetto, Marcelo & Pilonetto, Daniela V. Manual de Procedimentos Laboratoriais em Microbiologia. Curitiba, Ed. Microscience, 1998.
4. Albini, Carlos Augusto. Cultura de Urina: Análise das Metodologias, Interferência sobre os Resultados e Proposta para Padronização. Monografia apresentada ao Curso de Especialização em Bacteriologia Clínica da UFPR, Curitiba, 1994.
5. Pilonetto, Marcelo. Avaliação de um esquema prático para a identificação presumtiva de *Escherichia coli* isoladas em uroculturas. Monografia apresentada ao Curso de Especialização em Bacteriologia Clínica da UFPR, Curitiba, 1994.
6. Universidade Federal Do Paraná. Manual do Laboratório. Curitiba, Hospital de Clínicas, 1990.
7. Souza, Helena A. P. H. M. A coloração de Gram como método de triagem para bacteriúria. Monografia apresentada ao Curso de Especialização em Bacteriologia Clínica da UFPR, Curitiba, 1994.
8. Clarridge, J.E. et al. Cumitech 2A. Laboratory diagnosis of urinary tract infections. Washington, D.C., American Society for Microbiology, 1987.

Caso clínico 7

Carlos A. Albini

Helena H. M. Souza

Paciente do sexo masculino, com 71 anos de idade, foi submetido a ressecção de tumor de próstata em abril de 2001. Em dezembro de 2003 apresentou sintomas obstrutivos severos do trato urinário, sendo realizada uma uretrocistoscopia, evidenciando estenose importante na uretra peniana. Em janeiro de 2004 procedeu-se uma uretrotomia interna, apresentando boa evolução pós-operatória. Em março de 2004 passou a apresentar novamente sintomas obstrutivos, ardência uretral significativa e dor em baixo ventre. Foram coletadas duas amostras de urina obtidas pela técnica do jato médio sob supervisão direta. Em ambas foi observada no Gram da gota de urina não centrifugada grande quantidade de leucócitos (mais de 20 por campo de grande aumento) e de bacilos gram-positivos longos (mais de 20 por campo), sem ramificações e esporos, apresentando no corpo celular pontos de condensação de corante (figura 1). Cultivado em biplaca com meios de CLED e ágar-sangue, desenvolveram-se colônias incolores diminutas no meio de CLED (menores que 1 mm) e colônias pouco maiores (1 – 2 mm), alfa-hemolíticas, no ágar-sangue, após 72 horas de incubação a 36°C (figura 2). O micro-organismo mostrou-se imóvel e não produtor de catalase, utilizou glicose no meio de CTA (Cystine Trypticase Agar) e produziu prova de CAMP negativa.



Figura 1 – Gram de urina não centrifugada



Figura 2 – Crescimento em ágar sangue

Questões para discussão

1. **Quais bactérias podem estar implicadas em infecções do trato urinário complicadas?**

As ITUs complicadas, principalmente aquelas associadas ao uso de catéteres urinários, são frequentemente causadas por espécies de bacilos gram-negativos como *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Acinetobacter*, *Serratia* ou *Pseudomonas aeruginosa*, que são relativamente resistentes a antimicrobianos. Estas espécies são geralmente selecionadas por agentes antimicrobianos administrados para o tratamento de outras infecções, especialmente em pacientes hospitalizados.

2. **Quais os métodos usados para coleta de urina para urocultura e as suas indicações?**

Amostra de urina de jato médio – é a mais indicada para cultura. Deve ser feita higiene da genitália externa antes da coleta. O paciente deve ser orientado a desprezar o primeiro jato da urina e coletar o jato médio em frasco estéril de boca larga.

Amostra de urina obtida com saco coletor – é a amostra possível para crianças pequenas. Deve ser feita higiene da genitália externa antes da colocação do saco coletor. Se a amostra não for emitida dentro de uma hora, o saco deve ser trocado, realizando-se nova higiene.

Amostra de urina de paciente com sonda – a cânula deve ser desinfetada com álcool 70% e puncionada com seringa e agulha. Aspirar aproximadamente 10ml de urina e transferir para recipiente estéril.

Punção suprapúbica – indicada para crianças com menos de 2 anos de idade ou na suspeita de infecção por bactérias anaeróbias. A punção direta da bexiga é feita por pessoal especializado.

3. Por que o Gram foi feito da gota de urina não centrifugada e não do sedimento urinário?

O Gram da gota de urina não centrifugada é útil para prever a presença de bactérias e leucócitos em contagens significativas. A presença de um ou mais micro-organismos ou leucócitos por campo de grande aumento (1000X) corresponde a uma provável urocultura com acima de 100.000 unidades formadoras de colônias por ml de urina. O Gram do sedimento urinário favorece a visualização de bactérias contaminantes ou da microbiota normal do trato genito-urinário.

4. Como poderia ser interpretada a cultura da urina tendo em vista a morfologia da bactéria que desenvolveu na placa?

Em geral o crescimento de bacilos gram-positivos em uroculturas é considerado contaminação, especialmente em pacientes do sexo feminino.

5. Qual o fundamento e a utilidade da prova de CAMP?

A atividade hemolítica da beta-hemolisina produzida pela maioria das cepas de *Staphylococcus aureus* é intensificada por uma proteína extracelular formada por estreptococos do grupo B, *Listeria* spp. e *Clostridium* spp. Alguns bacilos gram-positivos produzem uma substância que inibe aquela ação hemolítica (prova de CAMP reverso). A interação da beta-hemolisina com o fator produzido por *Streptococcus agalactiae* resulta em “hemólise sinérgica”, que pode ser facilmente observada em placa de ágar-sangue. Este fenômeno é observado com amostras hemolíticas e não hemolíticas.

6. Quais provas bioquímicas deveriam ser utilizadas para a identificação desta bactéria?

Por se tratar de um bacilo gram-positivo não esporulado aeróbio, as provas de diferenciação usuais são: catalase, fermentação de carboidratos em ágar tripticase-cistina, motilidade, redução de nitratos, hidrólise de ureia e esculina e prova de CAMP.

7. Quais bacilos gram-positivos aeróbios podem ter papel patogênico para o homem e em quais situações?

A maioria dos bacilos gram-positivos (BGP) aeróbios não é patogênica. Algumas poucas espécies podem ser patogênicas para o homem, dentre elas *Ba-*

cillus anthracis, agente do carbúnculo ou antraz, que é adquirido pelo homem quando manipula animais ou seus produtos contaminados com a bactéria (ou quando é vítima de arma biológica). *Bacillus cereus* é uma causa relativamente comum de intoxicação alimentar, geralmente associada a ingestão de carne bovina ou de aves. Os actinomicetos aeróbios (*Nocardia* e *Actinomyces*) são BGP filamentosos que podem causar infecções cutâneas e pulmonares.

8. Explique as reações hemolíticas que as colônias bacterianas podem provocar no ágar-sangue.

As reações hemolíticas provocadas pelo crescimento bacteriano no ágar-sangue podem ser de três tipos:

Total ou beta-hemólise – zona clara ao redor das colônias

Parcial ou alfa-hemólise – zona esverdeada ao redor das colônias

Ausência de hemólise ou gama-hemólise – meio inalterado ao redor das colônias

9. Em que situações podem ser observados leucócitos na urina na ausência de infecção do trato urinário?

Urolitíase, síndrome uretral aguda, vulvovaginite, infecções por micro-organismos exigentes, tuberculose renal, instrumentação uretral ou vesical, depleção severa do espaço extracelular, antibioticoterapia recente, malignidades genito-urinárias, fase inicial da glomerulonefrite aguda pós-estreptocócica, hipertermia em nefropatia crônica, gestação.

10. Em que se baseia a prova da catalase e qual a sua utilidade?

A catalase é uma enzima que decompõe o peróxido de hidrogênio formado pela cadeia respiratória da bactéria em água e oxigênio. Com exceção dos estreptococos, a maioria das bactérias aeróbias e anaeróbias facultativas possuem atividade de catalase. A prova é utilizada com frequência para diferenciar membros da família *Micrococcaceae* de membros da família *Streptococcaceae*.

REFERÊNCIAS

1. Dalla Costa, L. M; Rubel, R. R; Botão, G. M. D; Souza, D. C. Antibiograma. NEBaC. Curitiba, 1999.
2. Silva, Paulo Henrique & HASHIMOTO, Yoshio. Interpretação Laboratorial do Eritrograma. São Paulo, Ed. Lovise, 1999.
3. Pilonetto, Marcelo & Pilonetto, Daniela V. Manual de Procedimentos Laboratoriais em Microbiologia. Curitiba, Ed. Microscience, 1998.
4. Albini, Carlos Augusto. Cultura de Urina: Análise das Metodologias, Interferência sobre os Resultados e Proposta para Padronização. Monografia apresentada ao Curso de Especialização em Bacteriologia Clínica da UFPR, Curitiba, 1994.

5. Pilonetto, Marcelo. Avaliação de um esquema prático para a identificação presumida de *Escherichia coli* isoladas em uroculturas. Monografia apresentada ao Curso de Especialização em Bacteriologia Clínica da UFPR, Curitiba, 1994.
6. Universidade Federal Do Paraná. Manual do Laboratório. Curitiba, Hospital de Clínicas, 1990.
7. Souza, Helena A. P. H. M. A coloração de Gram como método de triagem para bacteriúria. Monografia apresentada ao Curso de Especialização em Bacteriologia Clínica da UFPR, Curitiba, 1994.
8. Clarridge, J.E. et al. Cumitech 2A. Laboratory diagnosis of urinary tract infections. Washington, D.C., American Society for Microbiology, 1987.

Caso clínico 8

Carlos A. Albini

Helena H. M. Souza

Paciente do sexo feminino, 23 anos, gestante com 15 semanas de gestação, vai ao posto de saúde para a primeira consulta de pré-natal. Relata três gestações prévias, sendo duas delas pré-termo. Em acompanhamento para tratamento de diabetes e hipertensão, relata alguns episódios anteriores de infecção do trato urinário (ITU). Solicitado hemograma, parcial de urina e urocultura.

Hemograma:

Eritrócitos: 4.300.000/mm³

Hemoglobina: 11,0 g/dL

Volume globular: 33,0 %

VCM: 76,7 fentolitros (fL)

HCM: 25,6 picogramas (pg)

CHCM: 33,3 %

RDW: 17,0 %

Anisocitose +, eliptócitos +

Leucócitos: 12.000/mm³

Contagem diferencial: neutrofilia sem desvio nuclear à esquerda

Granulações tóxicas +

Plaquetas: 270.000/mm³

Parcial de urina:

Aspecto: ligeiramente turvo
Cor: amarelo-âmbar
pH: 6,5
D: 1,025
Proteínas: Ausentes
Glicose: Ausente
Acetona: Ausente
Hemoglobina: Ausente
Urobilinogênio: Ausente
Bilirrubina: Ausente
Nitritos: Negativo
Leucócitos: 1.000/mm³
Eritrócitos: 1.000/mm³
Células epiteliais: ++
Cilindros: Ausentes
Cristais: Ausentes

Urocultura: desenvolvimento de cocos gram-positivos, contagem: 4×10^3 UFC/mL

Paciente voltou ao consultório um mês depois, como visita de rotina do pré-natal. Médico solicita nova urocultura e parcial de urina, em vista do resultado da cultura anterior.

Parcial de urina:

Aspecto: turvo
Cor: amarelo-âmbar
pH: 6,0
D: 1,025
Proteínas: Ausentes
Glicose: Ausente
Acetona: Ausente
Hemoglobina: Ausente
Urobilinogênio: Ausente
Bilirrubina: Ausente
Nitritos: Negativo
Leucócitos: 2.000/mm³
Eritrócitos: 3.000/mm³
Células epiteliais: ++
Cilindros: Ausentes
Cristais: Ausentes

Urocultura: desenvolveu as colônias observadas na figura 1, em meio de CLED.



Figura 1 - Desenvolvimento em meio de CLED

Provas de identificação:

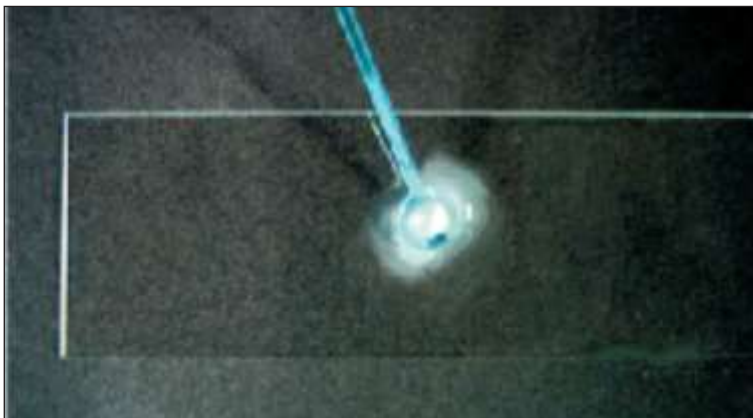


Figura 2 – Prova da catalase



Figura 3 – Crescimento em ágar sangue



Figura 4 – Teste de CAMP

Médico prescreve amoxicilina/clavulanato por 10 dias, e solicita repetição da urocultura após 1 semana de terminado o tratamento. Resultado: cultura negativa.

Questões para discussão

1. Por que a gravidez predispõe à ITU?

Durante a gestação os níveis elevados de progesterona e prostaglandinas promovem o aumento da complacência vesical e a redução do tônus muscular ureteral (e da sua peristalse); estas modificações fisiológicas resultam em aumento da frequência urinária, glicosúria, formação de hidroureter e hidronefrose principalmente à direita. Estas alterações predispõem à transformação das bacteriúrias assintomáticas em infecções sintomáticas do trato urinário.

2. Quais os principais micro-organismos envolvidos em ITU na gestação?

Escherichia coli, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus saprophyticus* (estafilococo coagulase negativa), e *Streptococcus* hemolítico do grupo B (*S. agalactiae*).

3. Por que a ITU na gestação é preocupante?

As infecções do trato urinário associam-se a intercorrências materno-fetais graves, entre elas: abortamento, processos septicêmicos, insuficiência renal, endocardite bacteriana, trabalho de parto pré-termo, parto pré-termo e hipóxia perinatal, paralisia cerebral neonatal, óbito intra-útero e baixo peso ao nascer; aumentando as taxas da morbi-mortalidade materna e neonatal.

4. Quais as possíveis consequências de uma ITU não tratada no início da gestação?

2 a 7 % das gestantes apresentam bacteriúria no primeiro trimestre da gestação. Se não tratadas, 20 a 30% apresentarão pielonefrite aguda no final do segundo ou no início do terceiro trimestre, com risco 2 a 3 vezes maior de mortalidade perinatal. O risco é ainda maior para as multíparas, pacientes com infecção urinária prévia, anomalias anatômicas do trato urinário e parto pré-termo prévio.

5. Quais os cuidados necessários para a coleta de amostras de urina para cultura?

As amostras de urina, principalmente em mulheres, são frequentemente contaminadas com bactérias da microbiota vaginal e perineal. As instruções de coleta devem ser bem claras no sentido de minimizar a contaminação. A região genital deve ser lavada com água e sabonete, enxugada com toalha ou gaze limpa, e a paciente deverá sentar na posição contrária no vaso (de frente para a parede) para afastar os grandes lábios vulvares, evitando assim a contaminação da urina. Colher a primeira urina da manhã, desprezar o primeiro e o último jato de urina e coletar o jato médio em recipiente estéril. Levar ao laboratório no máximo em até uma hora. Para períodos maiores de transporte, as amostras deverão ser acondicionadas em caixa térmica com gelo.

6. A paciente deveria ter sido tratada com antibióticos com o resultado da primeira cultura?

Não, pois culturas com contagens baixas de bactérias não uropatogênicas clássicas devem ser repetidas pelo menos duas vezes para poderem ser consideradas como positivas (se nas três amostras desenvolver a mesma bactéria).

7. Qual a provável bactéria desenvolvida na segunda cultura?

Streptococcus agalactiae (estreptococo beta-hemolítico do grupo B de Lancefield).

8. Baseado nos resultados laboratoriais, qual seria o diagnóstico desta paciente?

Infecção do trato urinário.

9. Quais as possíveis consequências de uma ITU por este agente não tratada, em gestante?

A infecção intra-uterina do feto resulta da disseminação ascendente do GBS a partir da vagina de uma mulher colonizada que tipicamente é assintomática. A aspiração fetal do líquido amniótico infectado pode conduzir a pneumonia neonatal, sepsis ou até óbito fetal. Em mulheres grávidas, o GBS pode causar infecções clínicas, mas a maioria das mulheres não apresenta sintomas associados com colonização do trato genital.

10. O tratamento instituído foi adequado?

Sim, para o tratamento da colonização por GBS recomenda-se o uso de ampicilina (500 mg VO 6/6 h por 10 dias) ou amoxicilina-clavulanato (875/125 mg VO 12/12 h por 10 dias).

11. Quais cuidados adicionais são necessários no tratamento de infecções por este agente?

Deve ser investigada história de alergia à penicilina e de risco para reações anafiláticas. No caso de alergia à penicilina com baixo risco de anafilaxia, o tratamento recomendado pode ser uma cefalosporina de primeira geração (cefazolina, por exemplo) nas doses usuais para tratamento de infecções urinárias. Nos casos de alto risco de anafilaxia, deverá ser realizado teste de suscetibilidade do GBS frente a clindamicina e eritromicina. Em caso de suscetibilidade, o tratamento poderá ser realizado utilizando-se um destes antimicrobianos. Em caso de resistência, o tratamento deverá ser instituído com vancomicina.

12. Como pode ser detectada colonização por este agente?

O trato gastrointestinal é o reservatório natural do GBS e é provavelmente a fonte da colonização vaginal. Aproximadamente 10 a 30% das mulheres grávidas são colonizadas com GBS na vagina ou no reto. A colonização com GBS pode ser transitória, crônica ou intermitente. A cultura de ambas, secreção vaginal e retal, no final da gestação pode detectar as mulheres que provavelmente es-

tarão colonizadas com GBS no momento do parto e que terão um risco maior de transmissão perinatal do agente. É necessário o uso de caldos seletivos para o isolamento do agente (caldo Todd-Hewitt acrescido de gentamicina e ácido nalidíxico, ou caldo GBS).

- 13. Qual a conduta a ser tomada quando se detecta colonização por este agente no final da gestação?**

Deve ser instituída profilaxia intraparto, a menos que tenha sido planejado parto cesáreo, na ausência de trabalho de parto ou ruptura de membrana amniótica.
- 14. A duração do tratamento antibiótico prescrito estava correta?**

Sim, para o caso específico do *Streptococcus agalactiae*, recomenda-se o tratamento por um total de 10 dias, enquanto que para infecções causadas por outras bactérias, o tratamento é geralmente prescrito por 3 dias.
- 15. A paciente tem anemia?**

Para o sexo e idade em questão a paciente apresenta anemia.
- 16. Em caso positivo qual a intensidade?**

É uma anemia discreta.
- 17. Qual a classificação morfofisiológica do eritrograma?**

É uma anemia discreta microcítica (microcitose +) e normocrômica, com população heterogênea (RDW=17,0%). Sem sinais de hemólise.
- 18. Este eritrograma é normal para a gestante?**

Durante a gestação a mulher apresenta uma queda na concentração de hemoglobina em torno de 2 g/dl, esta anemia discreta pode ser fisiológica. O que chama a atenção é a queda do VCM (76,7 fl) sem hipocromia (HCM=25,6 pg), este quadro hematológico pode ser uma anemia ferropriva em instalação. Há microcitose discreta, sem hipocromia e com aumento do RDW. Deveria ser realizada a dosagem de ferro sérico (durante a instalação está normal) e ferritina (que está baixa).
- 19. Que interpretação deve ser dada a contagem global de leucócitos?**

É uma leucocitose que pode ser fisiológica (gestação) ou devida a instalação do processo infeccioso (ITU).
- 20. Que interpretação deve ser dada a contagem diferencial?**

Apresenta uma neutrofilia que pode ser fisiológica (gestação) ou devida a instalação do processo infeccioso (ITU).

21. Qual o significado da presença de (+) de granulações tóxicas?

Pode ser fisiológica (gestação) ou devida a instalação do processo infeccioso (ITU). A interpretação do leucograma, nesta situação, é muito difícil porque as alterações (leucocitose as custas de neutrofilia, sem DNE e granulações tóxicas +) leucocitárias podem ser devidas a gestação. Deveria ser feito outro hemograma após a resolução do processo infeccioso para saber se as alterações foram devidas a ITU ou são fisiológicas. É interessante esclarecer a causa destas alterações porque caso haja uma infecção de recorrência sabe-se como interpretar o hemograma.

REFERÊNCIAS

1. Dalla Costa, L. M; Rubel, R. R; Botão, G. M. D; Souza, D. C. Antibiograma. NEBaC. Curitiba ,1999.
2. Silva, Paulo Henrique & Hashimoto, Yoshio. Interpretação Laboratorial do Eritrograma . São Paulo, Ed. Lovise, 1999.
3. Pilonetto, Marcelo & Pilonetto, Daniela V. Manual de Procedimentos Laboratoriais em Microbiologia. Curitiba, Ed. Microscience, 1998.
4. Albini, Carlos Augusto. Cultura de Urina: Análise das Metodologias, Interferência sobre os Resultados e Proposta para Padronização. Monografia apresentada ao Curso de Especialização em Bacteriologia Clínica da UFPR, Curitiba, 1994.
5. Pilonetto, Marcelo. Avaliação de um esquema prático para a identificação presumida de *Escherichia coli* isoladas em uroculturas. Monografia apresentada ao Curso de Especialização em Bacteriologia Clínica da UFPR, Curitiba, 1994.
6. Universidade Federal Do Paraná. Manual do Laboratório. Curitiba, Hospital de Clínicas, 1990.
7. Souza, Helena A. P. H. M. A coloração de Gram como método de triagem para bacteriúria. Monografia apresentada ao Curso de Especialização em Bacteriologia Clínica da UFPR, Curitiba, 1994.
8. Clarridge, J.E. et al. Cumitech 2A. Laboratory diagnosis of urinary tract infections. Washington, D.C., American Society for Microbiology, 1987.

Caso clínico 9

Thiago Neves Batista

Keila Zaniboni Siqueira

Alessandro Conrado de Oliveira Silveira

Um animal da espécie felina, macho, sem raça definida, com quatro anos de idade apresentou prostração, anorexia, disúria, polaciúria, hematúria. Apresentava histórico de doença do trato urinário inferior de felinos (DTUIF). O animal estava seguindo dieta com ração específica para o quadro clínico. Após manejo clínico para desobstrução uretral e fixação de sonda urinária, o paciente foi observado por um período de 12 horas para observação de recidiva. Sem esta ocorrência o animal recebeu alta com manutenção da dieta e manejo adequado para evitar novas recidivas. Durante o procedimento de desobstrução foram solicitados urinálise, urocultura e antibiograma.

Parcial de urina:

EXAME QUALITATIVO DA URINA	
pH	6,0
Densidade	1,016
Aspecto	Turvo
Glicose	Ausente
Proteínas	++
Cetonas	Ausente
Hemoglobina	+++
Bilirrubina	Ausente
Urobilogênio	Ausente
Nitrito	Ausente
Microbiota bacteriana	++
Células epiteliais	1/campo
Leucócitos	10/campo
Hemácias	20/campo
Muco	+
Cilindros	Ausentes
Cristais de urato amorfos	+

Urocultura e antibiograma:

A urina foi semeada nos meios MacConkey e Cled, ocorrendo o crescimento bacteriano de *Escherichia coli* em contagem superior a 100.000 UFC/mL (Figura 1). Os resultados das provas bioquímicas, que se encontram na tabela 2 confirmaram a identificação bacteriana.

PROVAS BIOQUÍMICAS	
TESTE	RESULTADO
Lactose	+
Indol	+
Gás	+
Motilidade	+
Lisina	+
Ornitina	+
Citrato	-
Rhamnose	+
Triptofano	-
H2S	-



Figura 1. Desenvolvimento de *E. coli* em ágar MacConkey



Figura 2. Antibiograma mostrando que o micro-organismo não tem resistência a nenhum dos antibióticos testados (nitrofurantóina, cefalotina, cefepime, gentamicina, ciprofloxacina, ceftriaxona, ampicilina, tetraciclina, cefovecin, amoxicilina + ácido clavulânico, sulfametoxazol-trimetoprim e cefotaxima).

No antibiograma o micro-organismo não se mostrou resistente a nenhum dos antibióticos testados, sendo então adicionado ao tratamento do animal cefovecina sódica na dose de 8mg/kg, dose única.

Questões para discussão

1. Baseando-se no histórico, na anamnese e nos exames laboratoriais qual o diagnóstico inicial do animal?

Recidiva de doença do trato urinário inferior de felinos (DTUIF) associado à infecção do trato urinário por *E.coli*.

2. Quais as características clínicas da DTUIF e de ITU em gatos?

A DTUIF é descrita como um conjunto de sinais, entre os quais polaquíuria, hematúria, disúria, estrangúria, micção inapropriada, obstrução uretral parcial ou completa. As infecções de trato urinário em gatos são geralmente assintomáticas, e podem passar despercebidas e sem sinal clínico evidente. Disúria, hematúria, polaquíuria, alterações no odor, são mais comumente descritos, sendo que pode ser acompanhado de febre, anorexia, leucocitose e dor a palpação na região renal e vômitos quando acompanhados de pielonefrite¹.

3. Qual a relação entre ITU e a DTUIF?

A origem da DTUIF em gatos é complexa e acredita-se ser multifatorial, sendo, na maioria dos casos, associada a cistite intersticial idiopática². Quadros de DTUIF tendo como causa as ITU's são raros (menos de 3% dos casos). Normalmente a ocorrência de ITU nestes casos são devido à manipulação excessiva e inadequada em procedimentos terapêuticos (passagens sucessivas de sonda uretral e uretostomia perineal).

4. Qual a importância do parcial de urina no diagnóstico na DTUIF?

A interpretação do exame parcial de urina em felinos com DTUIF é útil para auxiliar no diagnóstico definitivo, porém pode apresentar uma série de variações no seu resultado final. Hematúria e proteinúria são os achados mais comumente encontrados, porém podem estar ausentes em alguns casos descritos. Já o achado de cristalúria pode ser observado tanto em animais com a patologia quanto em animais sem sinais clínicos de DTUIF, podendo indicar apenas uma predisposição para cálculos urinários. O achado de piúria na urinálise e observado no caso clínico acima descrito, é relevante indicando na maioria das vezes a presença de infecção urinária concomitante à DTUIF. Em raros casos de cistite idiopática felina, quadro em que não há participação de agentes bacterianos, pode ser detectado uma pequena quantidade de células inflamatórias. Este quadro associado ao fato de que menos de 3% casos de DTUIF são originados por ITU, podem levar a uma não realização de urocultura e uma interpretação errônea do resultado final.

Agradecimento: Gostaríamos de agradecer ao médico veterinário Edgar Cardoso, e a acadêmica Lucy Mara Rozza, pelo auxílio prestado na coleta de dados e atendimento do caso acima descrito.

REFERÊNCIAS

1. Nelson, R.W.; Couto, G.C. Urinary tract infections. In: Small animal internal medicine. 2th edition. St.Louis: Mosby, 1998. 630p.
2. Ling, G.V. Bacterial infections of the urinary tract. In: Stephen J. Ettinger, Edward Feldman (Eds). Textbook of Veterinary Internal Medicine: Diseases of the dog and cat. 5th edition. Philadelphia: W.B. Saunders Co, 2000.1678p.
3. Wertropp, J.L. Gatos com sintomas do trato urinário inferior. Veterinary Focus, vol.17, n.1, p.10-17, 2007.

Caso clínico 10

Barbara Pereira Albini

Carlos Augusto Albini

Apresentação do caso

M.N.G. 30 anos, gestante, dona de casa, foi admitida na emergência de um hospital universitário. Ela apresentava queixas de disúria, mal-estar, poliúria durante três dias. Ela não apresentava história prévia de UTI ou doença crônica nos últimos 12 meses. Não havia história de cateterismo urinário ou outros procedimentos geniturinários. No exame clínico a temperatura corporal era normal, frequência cardíaca de 88 batimentos por minuto, e pressão arterial de 110/55 mm Hg. Ela apresentava um pouco de sensibilidade na palpação do abdômen direito. Exame cardio-respiratório foi normal. Nenhuma outra anomalia foi identificada. A gravidez transcorria normal, nos quatro meses iniciais. Utilizava apenas um polivitamínico. Foram realizados os seguintes exames laboratoriais abaixo descritos com os respectivos valores normais adotados:

Hemoglobina	11,4 g/dL	12 – 16 g/dL
Leucócitos	11.300 cels/mm ³	5000 – 10.000 /mm ³
Plaquetas	319.000 cels/mm ³	140.000 – 500.000/mL
TGP	12 UI/L	1 – 37 UI/L
AST	20 UI/l	10 – 34 UI/L
Ureia	16 mg/dL	10 – 50 mg/dL
Creatinina	0,7 mg/dL	0,4 – 1,4 mg/dL
Leucócitos na urina	35.000/mL	< 10.000/mL ou 5/ campo(400X)
Eritrócitos na urina	20.000/mL	< 10.000/mL
Glicose	92 mg/dL	70 – 100 mg/dL

Uma amostra de urina da paciente foi inoculada em ágar sangue de carneiro 5% e ágar MacConkey incubados a 37° C por 24 h. Realizou-se a coloração de Gram da gota de rina não centrifugada. Observou-se no campo de maior aumento (1000X) cocos gram-positivos de morfologia atípica. Coletou-se nova amostra de urina com supervisão direta, os resultados obtidos foram semelhantes. Após o período de incubação houve desenvolvimento de colônias alfa hemolíticas no agar sangue com contagem de colônias superior a 100.000 U.F.C./ml de urina. As colônias apresentavam uma mesma morfologia, sugerindo tratar-se de um cultivo de apenas um tipo de micro-organismo. No meio de agar MacConkey não houve desenvolvimento microbiano. Realizaram-se as provas para identificação abaixo :

Coloração de Gram das colônias	cocos gram-positivos em tétrades
Catalase	Negativa
Crescimento em caldo a 6,5% de NaCl	Positivo
Hidrólise da esculina	Positivo
PYR	Positivo
Hemólise em agar sangue de carneiro	Alfa



Fig. 1 – Coloração de Gram do desenvolvimento obtido em ágar sangue de carneiro, observar o aspecto de tétrades dos cocos gram-positivos.

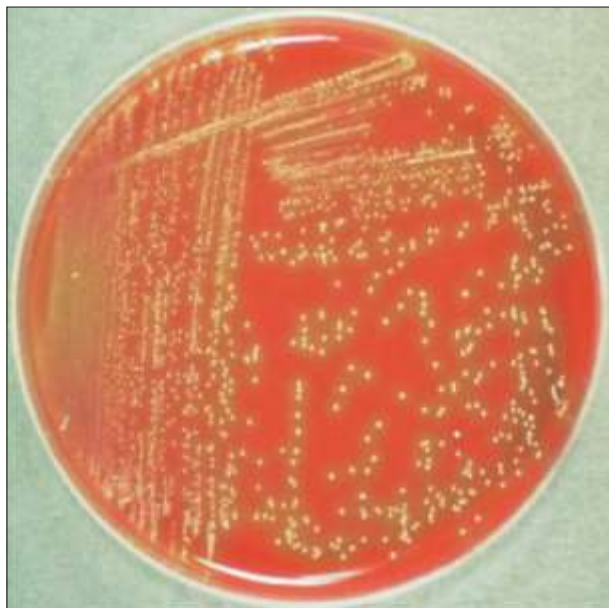


Figura 2. Aspecto da placa de ágar sangue após incubação da urina por 24 horas a 36 graus centígrados. Observar a alfa-hemólise

Confirmou-se a identificação bioquímica com o sistema API (API 20 STREP). Conclui-se trata de *Aerococcus viridans*.

Realizou-se um teste para determinar a susceptibilidade a antimicrobianos, utilizando-se o método de difusão em agar (Kirby & Bauer), seguindo as recomendações do CLSI para estreptococcos não pneumococos. A cepa isolada apresentou susceptibilidade a vancomicina, imipenem, ampicilina e sulbactam cefoperazona. Susceptibilidade intermediária a amoxicilina-clavulanato . Resistência a gentamicina, ciprofloxacina, cefuroxima, cefotaxima e cefazolina.

A paciente foi tratada com ampicilina 500 mg a cada 6 horas por seis dias. A micção normalizou-se e as culturas realizadas após o tratamento, resultaram negativas

Questões para discussão

1. *Aerococcus viridans* é considerado um patógeno humano?

Resposta: na maioria das vezes, não, embora o micro-organismo tenha uma ampla distribuição mundial, sendo encontrado com certa frequência na microbiota anemófila, pode ser isolado em ambientes hospitalares, em vegetais crus ou processados, raramente acha-se implicado em infecções humanas. Ocorre como patógeno de lagostas. O isolamento do potencial patógeno em amostras biológicas humanas tem que ser criterioso, pois o micro-organismo pode ser

encontrado em pequeno número no trato respiratório superior e na pele de indivíduos saudáveis. Quando isolado em culturas, na maioria das vezes é considerado um contaminante.

2. Qual a maior dificuldade de se isolar, identificar e reportar casos de infecções por *A. viridans*?

Resposta: a maior dificuldade se reside na identificação bioquímica, uma vez que o desenvolvimento colonial do patógeno em potencial é externamente semelhante a estreptococos alfa-hemolíticos e enterococos e nem sempre o laboratório de microbiologia realiza e interpreta de maneira adequada a coloração de Gram. A coloração quando realizada de maneira adequada auxilia no diagnóstico pela observação de tétrades gram positivas.

3. *Aerococcus viridans* pode causar outros tipos de infecções?

Sim, tem sido relatado em infecções sistêmicas, meningites, osteomielites, infecções de feridas e infecções urinárias.

4. A gravidez pode ter contribuído para a paciente ter contraído a infecção?

Sim, cerca de 10 a 12% das gestantes adquirem, normalmente no primeiro trimestre da gestação uma ITU. É atualmente a terceira ocorrência clínica mais comum na gestação. Na gravidez ocorre dilatação do trato urinário, ocasionando condições de estase urinária que favorece o desenvolvimento microbiano e instalação da ITU. O aumento progressivo do volume uterino pode contribuir para diminuir o calibre dos ureteres aumentando a estase urinária. A mudança no metabolismo hormonal nas gestantes também pode contribuir para o estabelecimento da ITU no período.

REFERÊNCIAS

1. Christensen JJ, Vibits H, Ursing J, Korner B: *Aerococcus* like organism, a newly recognized potential urinary tract pathogen, *J Clin Microbiol* 1991;29(5):1049-53.
2. Colman G: *Aerococcus*-like organisms isolated from human infections, *J Clin Pathol* 1967;20(3):294-7.
3. Facklam R, Elliott JA: Identification, classification and clinical relevance of catalase-negative gram-positive cocci, excluding the streptococci and enterococci, *Clin Microbiol Rev* 1995;8(4):479-95.
4. Gopalachar A, Akins RL, Davis WR, Siddiqui AA: Urinary tract infection caused by *Aerococcus viridans*, a case report, *Med Sci Monit* 2004;10(11):73-5.
5. Kerbaugh MA, Evans JB: *Aerococcus viridans* in the hospital environment, *Appl Microbiol* 1968;16(3):519-23.

6. Kern W, Vanek E: *Aerococcus* bacteremia associated with granulocytopenia, *Eur J Clin Microbiol* 1987;6(6):670-3.
7. Razeq JH, Thomas GM, Alexander D: The first reported case of *Aerococcus* bacteremia in a patient with HIV infection, *Emerg Infect Dis* 1999;5(6):838-9.
8. Swanson H, Cutts E, Lepow M: Penicillin-resistant *Aerococcus viridans* bacteremia in a child receiving prophylaxis for sickle-cell disease, *Clin Infect Dis* 1996;22(2):387-8.
9. Uh Y, Son JS, Jang IH, Yoon KJ, Hong SK: Penicillin-resistant *Aerococcus viridians* bacteremia associated with granulocytopenia, *J Korean Med Sci* 2002;17(1):113-5.
10. Zhang Q, Kwoh C, Attorri S, Clarridge JE 3rd: *Aerococcus* *urinae* in urinary tract infections, *J Clin Microbiol* 2000;38(4):1703-5.

47. ATLAS

Lavínia Arend



Klebsiella pneumoniae em ágar McConkey



Escherichia coli em ágar McConkey



Placa ágar McConkey contaminada (mais de 3 tipos bacterianos)



Placa ágar cromogênico contaminada (mais de 3 tipos bacterianos)



Placa de ágar CLED contaminada (mais de 3 tipos bacterianos)



Placa de ágar sangue contaminada (mais de 3 tipos bacterianos)



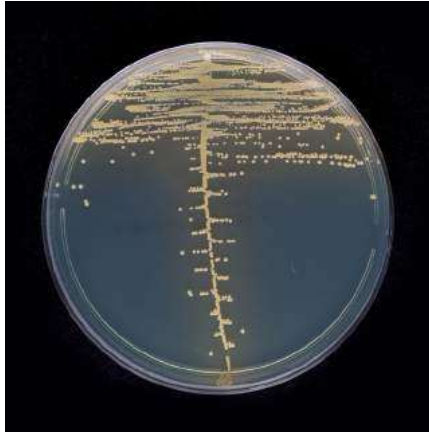
Acinetobacter baumannii em ágar cromogênico



Acinetobacter baumannii em ágar CLED



Staphylococcus aureus em ágar Sangue



Staphylococcus aureus em ágar CLED



Staphylococcus aureus em ágar cromogênico



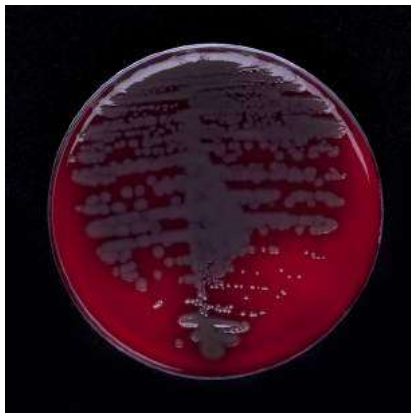
Klebsiella pneumoniae em ágar cromogênico



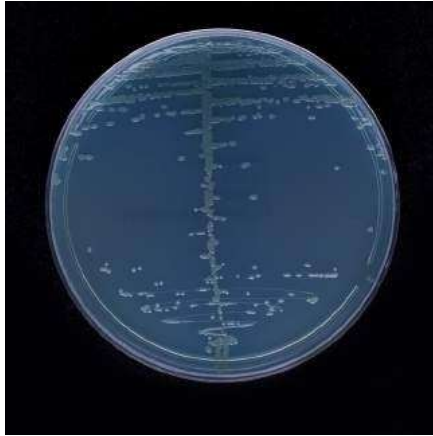
Klebsiella pneumoniae em ágar Sangue



Pseudomonas aeruginosa em ágar MacConkey



Pseudomonas aeruginosa em ágar Sangue



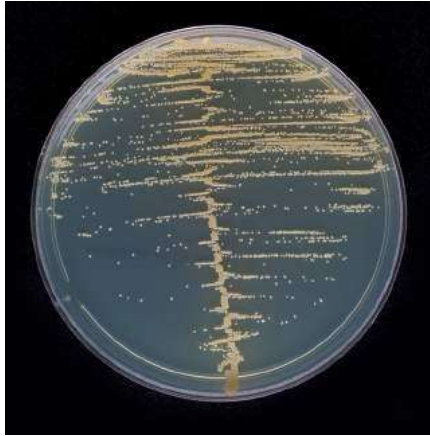
Pseudomonas aeruginosa em ágar CLED



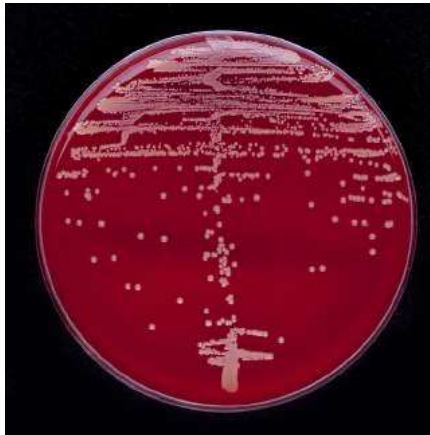
Pseudomonas aeruginosa em ágar cromogênico



Streptococcus agalactiae em ágar CLED



Staphylococcus saprophyticus em ágar CLED



Staphylococcus saprophyticus em ágar Sangue



Proteus mirabilis em ágar cromogênico



Proteus mirabilis em ágar Sangue



Proteus mirabilis em ágar McConkey



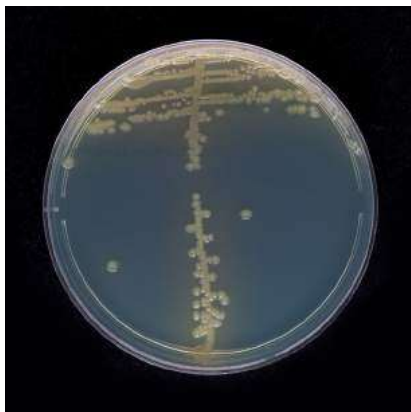
Proteus mirabilis em ágar CLED



Escherichia coli em ágar Sangue



Escherichia coli em ágar cromogênico



Escherichia coli em CLED



Enterococcus faecalis em ágar CLED



Enterococcus faecalis em ágar Sangue



Enterococcus faecalis em ágar cromogênico

SOBRE OS AUTORES

Carlos Augusto Albini

Farmacêutico-bioquímico (UFPR); Especialista em Bacteriologia (UFPR); Especialista em Metodologia Científica (FCHSC); Mestre em Educação (UEPG); Prof. Adjunto IV Departamento de Patologia Médica (UFPR); Diretor do Núcleo de Estudos de Bacteriologia Clínica de Curitiba – NEBaC; Diretor da Newprov Produtos para Laboratório Ltda.



Alessandro Conrado de Oliveira Silveira

Farmacêutico-bioquímico (UFSM); Especialista em Microbiologia (PUC-PR), Doenças Infecciosas e Parasitárias (FURB) e Análises Clínicas (SBAC). Mestre em Ciências Farmacêuticas (UNIVALI). Doutorando em Ciências da Saúde (UFCSPA). Professor das disciplinas de Imunologia Clínica e Microbiologia Clínica da Fundação Universidade Regional de Blumenau (FURB) e Imunologia Clínica e Líquidos Corporais da Faculdade Metropolitana de Blumenau (FAMEBLU).



ão

Helena Aguilar Peres Homem de Mello de Souza

Farmacêutica-Bioquímica (UFPR); Especialista em Bacteriologia Clínica (UFPR); Mestre em Microbiologia, Parasitologia e Patologia (UFPR); Doutoranda em Medicina Interna e Ciências da Saúde (UFPR); Responsável pela Seção de Bacteriologia da Unidade de Apoio Diagnóstico, Hospital de Clínicas (UFPR); Responsável Técnica pela NEWPROV Produtos para Laboratórios Ltda.; Diretora do NEBaC - Núcleo de Estudos de Bacteriologia Clínica de Curitiba.





Adriana Pereira de Matos Marques Silva

Farmacêutica e Bioquímica - PUC-PR. Especialista em Microbiologia Clínica - Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Mestre em Ciências Farmacêuticas - Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Paraná. Farmacêutica Bioquímica Microbiologista e Responsável técnica - Laboratório Aliança Saúde do Hospital Universitário Cajuru – PUC-PR.



Aline Borsato Hauser

Farmacêutica-Bioquímica (UEPG); Especialista em Microbiologia Clínica (UEPG); Mestre em Ciências Farmacêuticas (UFPR); Doutora em Ciências da Saúde (PUCPR); Professora Adjunta do Departamento de Patologia Médica (UFPR), atuando no curso de Farmácia (disciplina de Estágio Supervisionado em Análises Clínicas)



Altair Rogerio Ambrosio

Farmacêutico-Bioquímico (UFPR); Mestre em Ciências Farmacêuticas (UFPR); Farmacêutico-Bioquímico III da Liga Paranaense de Combate ao Câncer.



Amaury Mielle Filho

Médico formado pela Universidade Católica de Campinas especialista em Infectologia pela Sociedade Brasileira de Infectologia membro da IDSA (Infectious Diseases Society of America) professor de Infectologia da Universidade Regional de Blumenau responsável pelo serviço de Infectologia do Hospital Santa Catarina de Blumenau coordenador do serviço de Contro e de Infecção Hospitalar do Hospital Evangélico de Brusque diotor médico do Laboratório de análises genéticas Genolab – Blumenau.



André Luís Fortes Alves

Residência em Cirurgia Pediátrica - Hospital de Clínicas - UFPR;

Especialista em Urologia Pediátrica - Hospital Infantil Pequeno Príncipe - Curitiba - PR



Andréa Carla Nogueira de Lucena

Médica - Faculdade de Medicina da UFRN Residência em Patologia Clínica - Faculdade de Medicina da USP Mestranda do Programa de Pós-graduação em Medicina Interna da UFPR.



Andréa Emilia Marques Stinghen

Farmacêutica-Bioquímica (UFPR); Especialista em Bacteriologia (UFPR); Mestre em Ciências Farmacêuticas (UFPR); Doutora em Ciências da Saúde (PUCPR); Professora Adjunta do Departamento de Patologia Básica(UFPR)



Bárbara Pereira Albini

Farmacêutica-Bioquímica-Industrial (UFPR); Especialista em Gestão e Tecnologia Farmacêutica (Instituto Racine); Mestre em Ciências Farmacêuticas (UFPR); Coordenadora da Garantia da Qualidade da Newprov Produtos para Laboratório Ltda.



Caio Roberto Salvino

Farmacêutico-Bioquímico pela UFSC Especialista em Análises Clínicas pela SBAC e Fisiologia pela UDESC. Professor convidado dos cursos de Especialização em Microbiologia Clínica e Análises Clínicas - SBAC-GO/UFG; SBAC-AM; CRF-RO; CRF/AC; URI/RS e SBAC-RJ. Diretor Geral e Microbiologista Clínico - Laboratório Saldanha - Lages/SC. Chefe do Serviço de Microbiologia Clínica - Hospital Nossa Senhora dos Prazeres - Lages/SC



Carmen Antonia Sanches Ito

Farmacêutica-Bioquímica - Universidade Estadual de Londrina. Mestre em Ciências Farmacêuticas - Universidade Federal do Paraná. Professora das disciplinas de Estágio Supervisionado em Análises Clínicas (Microbiologia e Urinálise) para o curso de Farmácia, e de Microbiologia para o curso de Medicina - Universidade Estadual de Ponta Grossa/PR (UEPG).



Clovis Arns da Cunha

Médico - Universidade Federal do Paraná. Mestrado em Medicina Interna - Universidade Federal do Paraná. Medical Fellow Specialist in Infectious Diseases - University of Minnesota. Professor da UFPR, médico do Hospital de Clínicas da UFPR no Serviço de Infectologia e Transplante de Medula Óssea, médico do Hospital Nossa Senhora das Graças e Diretor Médico do Centro Médico São Francisco.



Cristina Leise Bastos Monteiro

Professora Associada I da Universidade Federal do Paraná. Doutora em Processos Biotecnológicos pela Universidade Federal do Paraná.



Daltro Zunino

Auxiliar de Ensino do Departamento de Pediatria do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná. Especialista em Nefrologia Pediátrica, pelo Hospital de Niños de Buenos Aires. Mestre em Pediatria pela Universidade Federal do Paraná. Responsável pelo Setor de Nefrologia Pediátrica dos Serviços de Pediatria e Nefrologia do Hospital Universitário Evangélico de Curitiba.



Eduardo Monguilhott Dalmarco

Professor de Microbiologia Clínica e Microbiologia Geral da Universidade Regional de Blumenau, para os cursos de Farmácia e Medicina (FURB); Farmacêutico-bioquímico pela Universidade do Vale do Itajaí (1998); Especialista em Microbiologia Clínica pela Pontifícia Universidade Católica do Paraná (2000); Mestre em Farmácia, área de concentração em Análises Clínicas pela Universidade Federal de Santa Catarina (2003); Doutor em Farmácia, área de concentração em Análises Clínicas pela Universidade Federal de Santa Catarina (2011).



Eduardo dos Reis Marques

Farmacêutico-Bioquímico (UFPR); Farmacêutico-Bioquímico Adjunto do Setor de Urinálise do Laboratório Municipal de Curitiba; Farmacêutico-Bioquímico Adjunto do Laboratório do Hospital Erasto Gaertner.



Edvaldo Antonio Ribeiro Rosa

Farmacêutico (UNIMEP); Mestre (UNICAMP); Doutor (UNICAMP); Estágio pós-doutoral (HKU); Professor de Microbiologia, Parasitologia e Imunologia (PUCPR); Professor-orientador do Programa de Pós-Graduação em Odontologia (PUCPR); Coordenador da Área de Concentração em Biociências do Programa de Pós-Graduação em Odontologia (PUCPR).



Elaine Drehmer

Enfermeira - Pontifícia Universidade Católica do Paraná Mestrado em Enfermagem - Universidade Federal de Santa Catarina; Doutorado em Enfermagem pela Universidade de São Paulo (2008); Professor adjunto e editor chefe da revista Cogitare Enfermagem do Departamento de Enfermagem da Universidade Federal do Paraná.



Emerson Danguy Cavassin

Farmacêutico-bioquímico pela Universidade Estadual de Londrina em 1996. Pós-graduação em Análises Clínicas pela UEL. Mestrado em Análises Clínicas pela Faculdade de Farmácia da USP. Doutorado pela Faculdade de Medicina da USP início em 2010. Assessor técnico da seção de Microbiologia no Fleury Medicina e Saúde.



Everson Augusto Krum

Farmácia-Bioquímica (UEPG); Especialista em Hematologia Clínica (UEPG); Mestre em Análises Clínicas (USP); Doutor em Hematologia (Escola Paulista de Medicina); Professor Adjunto (UEPG); Professor Adjunto do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas; Chefe do SDAT do Hospital Regional de Ponta Grossa.



Fábio de Araújo Motta

Médico - Pediatra, Intensivista Pediátrico, Médico do Serviço de Epidemiologia e Controle de Infecção Hospitalar do Hospital Pequeno Príncipe, Vice Coordenador do Núcleo de Pesquisa Clínica do Hospital Pequeno Príncipe, Vice Presidente da Associação Paranaense de Controle de Infecção Hospitalar (APARCH), Mestre em Ciências da Saúde com ênfase em Infecção Hospitalar PUC/PR, Doutorando em Infectologia Aplicada a Saúde da Criança e do Adolescente pela Faculdade Pequeno Príncipe, Consultor em Qualidade do Hospital Vitória (Amil), Presidente do Instituto Paranaense de Acreditação em Serviços de Saúde (IPASS).



Felipe Francisco Tuon

Médico Especialista em Medicina Interna e Infectologia. Doutor em Doenças Infecciosas e Parasitárias pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Professor de Infectologia da Faculdade Evangélica do Paraná. Infectologista do Hospital Universitário Evangélico de Curitiba, Paraná.



Gislene Maria Botão Kussen

Farmacêutica-Bioquímica-Industrial (UFPR); Especialista em Microbiologia Clínica (PUCPR); Farmacêutica-Bioquímica do Setor de Bacteriologia (HC-UFPR); Membro do NEBaC.



Irina Nastassja Riediger

Farmacêutica-bioquímica pela Universidade Federal do Paraná (UFPR); Mestre em Biologia Celular e Molecular pela UFPR; Doutoranda em Biologia Celular e Molecular pela UFPR; Agente Profissional (Farmacêutico-Bioquímico) na Secretaria de Estado da Saúde (PR), lotada no Laboratório Central do Estado do Paraná (LACEN-PR).



Jaime Luís Lopes Rocha

Especialista em Clínica Médica pela Sociedade Brasileira de Clínica Médica. Especialista em Infectologia pela Sociedade Brasileira de Infectologia. Especialista em Medicina de Viagem pela International Society of Travel Medicine. Ex-professor UFPR e UP.



Júlio Cezar Merlin

Farmacêutico-Bioquímico (UEPG); Especialista em Hematologia e Citologia (UEPG); Mestre em Biologia Celular, Molecular e Morfologia (UFPR); Professor Assistente III (PUCPR); Professor (UNICENP)



Jussara Kasuko Palmeiro

Farmacêutica-Bioquímica - Pontifícia. Universidade Católica do Paraná. Tecnóloga em Química Ambiental - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Mestre em Ciências da Saúde, Medicina e Áreas Afins - Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Farmacêutica-Bioquímica da Unidade de Apoio diagnóstico, Setor de Bacteriologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná.



Keila Zaniboni Siqueira

Bióloga, formada pela Universidade do Sagrado Coração – USC/Bauru-SP. Mestre e doutora em Patologia, com ênfase em Imunologia, pela Universidade Estadual Paulista – UNESP/Botucatu-SP. Especialização em Microbiologia Médica pela mesma universidade. Docente na área de Imunologia, Microbiologia e Parasitologia na Universidade Regional de Blumenau – FURB.



Keite da Silva Nogueira

Farmacêutica-bioquímica pela Universidade Federal do Paraná. Mestrado em Microbiologia, Parasitologia e Patologia pela Universidade Federal do Paraná. Farmacêutica do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, atuando na área de Biologia Molecular aplicada ao Diagnóstico de Doenças Infecciosas. Professora de Microbiologia Clínica do Curso de Farmácia da Universidade Campos de Andrade.



Larissa Bail

Farmacêutica-Bioquímica (UEPG); Mestre em Microbiologia, Parasitologia e Patologia (UFPR); Professora (UEPG).



Laura Lúcia Cogo

Farmacêutica Bioquímica da Seção de Bacteriologia do Hospital de Clínicas da UFPR. Doutora em Processos Biotecnológicos pela UFPR.



Lauro Santos Filho

Farmacêutico-Bioquímico pela Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Doutorado pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Pós-Doutorado no Hartford Hospital / Hartford/ Connecticut-USA. Professor Associado III de Microbiologia Clínica da UFPB. Chefe do Departamento de Ciências Farmacêuticas da UFPB.



Lavínia Arend

Farmacêutica-Bioquímica (UFPR); Especialista em Microbiologia (PUCPR); Bacteriologista do LACEN-PR



Libera Maria Dalla Costa

Farmacêutica-bioquímica - Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) Doutora em Ciências (Microbiologia), Universidade de São Paulo (USP). Pesquisadora do Instituto de Pesquisa Pelé Pequeno Príncipe/Faculdades Pequeno Príncipe IPPPP/FPP. Farmacêutica do laboratório de bacteriologia da UAD - Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná.



Mara Cristina Scheffer

Farmacêutica Bioquímica - Universidade Federal de Santa Catarina. Especialista em Ciências do Laboratório Clínico pela Universidade Federal de Santa Catarina e em Biologia Molecular pela Universidade do Sul de Santa Catarina. Mestre em Microbiologia pela Universidade Federal do Paraná. Microbiologista do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário de Florianópolis/ UFSC



Marcelo Pilonetto

Farmacêutico-Bioquímico (UFPR); Especialista em Bacteriologia (UFPR); Mestre em Ciências Farmacêuticas (UFPR); Doutorando em Ciências da Saúde (PUCPR); Professor de Microbiologia do curso de Farmácia (PUCPR); Coordenador da Pós-Graduação Lato sensu em Microbiologia (PUCPR); Microbiologista do LACEN-PR; Consultor do DB Diagnósticos do Brasil.



Márcia Regina Eches Perugini

Bióloga (UEL); Mestre em Microbiologia (UEL); Doutora em Doenças Infeciosas e Parasitárias (USP); Professora Adjunta (UEL).



Maria Edutania Skroski Castro

Enfermeira-obstetra - UFPR. Licenciatura com Habilitação em Programas de Saúde, Ensino de Enfermagem e Ensino de Higiene – UFPR. Especialista em Epidemiologia - Fundação Oswaldo Cruz . Mestre em Engenharia de Produção/ Mídia e Conhecimento/ Organização de Empresas e Instituições - UFSC . Enfermeira da CCIH/HC - UFPR.-



Maria Elizabeti Villas Boas Tosato

Farmacêutica-Bioquímica (UFPR); Especialista em Microbiologia (PUCPR); Farmacêutica-Bioquímica do Laboratório Santa Cruz.



Marisol Dominguez Muro

Farmacêutica-bioquímica pela UFPR. Especialista em Imunologia pela UFPR. Mestre em Biologia Celular pela UFPR. Doutoranda do Programa Saúde da Criança e do Adolescente pelo Instituto de Pesquisa Pelé Pequeno Príncipe Responsável pelo Setor de Micologia do Laboratório Clínico do Hospital de Clínicas da UFPR.



Mauren Isfer Anghebem-Oliveira

Farmacêutica-Bioquímica (PUCPR); Especialista em Análises Clínicas e Toxicológicas (UTPPR); Especialista em Citologia Cérvico Vaginal (SBAC), Mestre em Ciências Farmacêuticas (UFPR); Professora de Bioquímica Clínica (PUCPR).



Meri Bordignon Nogueira

Farmacêutica pela Universidade Federal do Paraná. Mestre em Ciências (Microbiologia – concentração em Virologia) pela Universidade de São Paulo (1997). Doutora em Biologia Celular e Molecular pela Universidade Federal do Paraná (2009). Professora adjunta da disciplina de Virologia, da Universidade Federal do Paraná e farmacêutica-bioquímica do laboratório de virologia da Universidade Federal do Paraná.



Mônica Maria Gomes da Silva

Médica pela Faculdade Evangélica do Paraná. . Neurologista pela Academia Brasileira de Neurologia. Mestre em Medicina Interna pela UFPR. Infectologista e Preceptora do Programa de Residência Médica em Infectologia - Hospital Nossa Senhora das Graças, Curitiba –PR



Pedro Alves D'Azevedo

Farmacêutico-bioquímico (UFRGS). Mestre em Farmacologia (FFCMPA). Doutor em Ciências (Microbiologia) pela UFRJ. Bolsista Produtividade em pesquisa do CNPq. Professor Associado da área de Microbiologia da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre.



Priscilla Guarezi Vitoreti

Farmacêutica (PUCPR); Especialista e Gestão de Laboratório Clínico; Farmaceutica do Laboratório do Hospital Evangélico e Farmacêutica da Vigilância Sanitária de Campo Largo-PR.



Railson Henneberg

Farmacêutico-Bioquímica (UEPG); Mestre em Análises Clínicas (UNESP); Professor Chefe do Laboratório Clínico Escola (UFPR); Professor Assistente III do Departamento de Patologia Médica (UFPR).



Regina Mariuza Borsato Quesada

Farmacêutica-Bioquímica (UEL); Mestre em Farmácia/ Análises Clínicas (USP); Professora Adjunta (UEL).



Renata Homem de Mello de Souza Alves

Médica pela Universidade Federal do Paraná. Residência em Clínica Médica pelo Hospital Evangélico de Curitiba. Especialista em Endocrinologia pelo Serviço de Endocrinologia e Metabologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná – SEMPR. Título de Especialista em Endocrinologia pela Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia.



Shirley Ramos da Rosa Utiyama

Farmacêutica-Bioquímica (UFPR); Mestre em Bioquímica (UFPR); Doutora em Ciências Farmacêuticas (UFPR); Professora Associada do Departamento de Patologia Médica (UFPR) com área de atuação em imunologia clínica, pesquisas e orientações em imunopatologia, com ênfase em autoimunidade.



Sonia Mara Raboni

Graduação em Medicina pela Universidade Federal do Paraná Mestre em Medicina Interna e doutora em Biologia Celular e Molecular pela Universidade Federal do Paraná. Pesquisador colaborador do Instituto Carlos Chagas / Fiocruz, Professor adjunto da disciplina de Infectologia e medico do laboratório de virologia da Universidade Federal do Paraná.



Terezinha Inez Estivalet Svidzinski

Farmacêutica-Bioquímica (UFPR); Mestre e Doutora em Microbiologia e Imunologia (UNIFESP); Professora associada de Micologia Médica (UEM); Responsável pelo Setor de Micologia Médica do Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas (LEPAC-UEM); Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Biociências Aplicadas à Farmácia.



Thiago Neves Batista

Médico Veterinário, formado pela Universidade Estadual de Londrina – UEL. Residência em Clínica Médica de Animais de Companhia pela Universidade Estadual de Londrina – UEL. Mestre e doutor em Medicina Veterinária, área de Clínica Veterinária, pela Universidade Estadual Paulista – UNESP/Botucatu-SP. Docente no Instituto Federal Catarinense.

ÍNDICE REMISSIVO

A

- Abortamento, 173, 742
- Abscesso perinéfrico, 199
- Abscesso renal, 197, 199, 353, 416, 590
- Ácido fenilborônico (apb), 570
- Actina, 60, 61, 64, 65, 614
- Actinobaculum spp, 260, 261
- Adenovirus, 311, 313
- Aderência bacteriana, 109, 126, 171, 622
- Aderência leucocitária, 190
- Adesinas, 59, 60, 62, 65, 71, 74, 101, 171, 172, 179, 195, 495, 605, 607, 609, 610, 611, 612, 616
- Adesinas da família dr, 172
- Adesinas fimbriais, 62
- Aerococcus urinae, 260, 264, 753
- Ágar Chocolate, 136, 248, 256, 257, 443, 717
- Agar Cled, 503, 729, 730
- Agar EMB, 673
- Ágar Feniletanol, 442
- Agar Macconkey, 750
- Ágar Padrão de Contagem, 442
- Agar Sangue de Carneiro, 750
- Ágar Triptico de Soja, 442
- AIDS, 51, 224, 229, 230, 281, 302
- Albumina Urinária, 420
- Alça calibrada, 121, 137, 248, 253, 257, 337, 443, 444, 451, 650, 672, 673, 713, 715, 717, 730
- Alça de Henle, 20, 21, 22, 172, 368, 421
- Alcalose urinária, 171
- Alfa-1-microglobulina, 420
- Alteração das moléculas alvo, 515
- Alteração de permeabilidade da membrana, 516
- Aminoglicosídeos, 37, 218, 276, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 538, 546, 565, 732
- Amônia, 72, 269, 347, 350, 362, 457, 461, 471, 486, 579, 727
- AmpC plasmidiais, 520
- Ampicilina, 37, 160, 178, 210, 218, 499, 513, 514, 516, 519, 534, 535, 562, 564, 565, 588, 705, 727, 731, 732, 747, 751
- Anaeróbios, 45, 47, 48, 133, 153, 197, 255, 259, 362, 524, 530, 699
- Análise microbiológica, 504
- Análise química, 345, 352
- Anatomia, 5, 11, 15, 16, 17, 19, 21, 23, 25, 26, 27, 29, 30, 170, 223, 649
- Anemia, 169, 173, 177, 178, 411, 414, 744
- Anestesia, 135, 323, 649, 650, 652, 657

Antibioticoterapia, 111, 112, 160, 200, 201, 215, 287, 288, 289, 503, 521, 582, 619, 647, 698, 719, 721, 722, 737
Antígeno prostático específico, 134
Antimicrobianos, 8, 37, 39, 40, 41, 46, 49, 69, 72, 85, 86, 103, 131, 135, 136, 138, 139, 152, 162, 174, 176, 177, 178, 179, 201, 209, 211, 234, 236, 238, 239, 248, 276, 327, 373, 435, 437, 443, 446, 450, 474, 475, 490, 494, 495, 496, 513, 514, 515, 516, 517, 519, 521, 522, 523, 525, 527, 529, 531, 533, 535, 537, 538, 539, 540, 541, 543, 545, 547, 549, 550, 551, 553, 554, 555, 556, 557, 558, 559, 560, 561, 562, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 569, 571, 573, 575, 577, 579, 580, 582, 595, 596, 597, 598, 599, 603, 604, 605, 619, 620, 621, 625, 627, 654, 710, 731, 732, 735, 743, 751
Arabinose, 464, 478, 479, 485, 673, 731
Aspecto, 92, 94, 212, 234, 288, 343, 344, 347, 350, 354, 362, 374, 375, 379, 382, 384, 386, 388, 430, 437, 439, 445, 446, 689, 705, 706, 709, 713, 725, 739, 746, 750, 751
Aspergillus, 287, 288, 289
Aspergilose, 287, 288
Aspiração suprapúbica, 158, 159, 319, 321, 322, 323
Atividade bactericida, 190, 191, 540, 626
Ausência de bacteriúria, 117, 120
Azitromicina, 591

B

Bacilos de Doderlein, 47
Bacteriemia, 64, 73, 109, 173, 231, 318, 585, 586, 589
Bacteriocinas, 48, 49
Bacteriúria assintomática, 5, 38, 39, 62, 91, 103, 107, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 119, 169, 171, 173, 174, 176, 192, 207, 209, 213, 214, 232, 233, 237, 339, 431, 585, 586, 597, 598, 603, 616, 622, 708, 712
Bacteriúria significativa, 119, 429, 435, 449, 579
Beta-2-microglobulina, 421
Bexiga, 15, 16, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 32, 38, 39, 55, 60, 61, 62, 64, 68, 69, 71, 73, 83, 86, 88, 90, 91, 92, 93, 95, 101, 104, 110, 113, 117, 118, 120, 122, 123, 126, 131, 135, 140, 147, 154, 155, 161, 169, 170, 172, 173, 192, 195, 196, 207, 208, 209, 227, 233, 234, 235, 236, 248, 249, 255, 288, 289, 299, 301, 316, 317, 318, 322, 323, 324, 325, 327, 328, 345, 347, 350, 353, 368, 372, 376, 419, 429, 431, 586, 589, 603, 604, 607, 608, 611, 614, 615, 616, 617, 618, 619, 620, 621, 623, 624, 647, 651, 652, 654, 655, 708, 717, 720, 736
Bexiga neurogênica, 154
Bile esculina, 673
Biofilme, 60, 61, 65, 72, 73, 74, 103, 111, 134, 208, 234, 235, 328, 611, 615, 616, 617, 618, 619, 620, 622, 623, 624, 720, 722
Biofilmes, 69, 257, 290, 328, 603, 604, 606, 607, 616, 617, 618, 619, 620, 621, 622, 651

Bioimpedância, 395
Biomarcadores Plasmáticos, 422
Biomarcadores Urinários, 419, 420
Blastomyces, 287, 363
Bombas de Efluxo, 527, 528, 531, 536
Bundle, 237, 238

C

Cálculo de custos diretos, 668
Cálculo de custos indiretos, 678
Cálculo renal, 169, 604
Cálculos, 23, 72, 73, 103, 127, 135, 140, 197, 218, 249, 255, 350, 352, 372, 413, 510, 511, 748
Cálice, 17, 19
Cálices renais, 19, 23, 28
Câmara de contagem, 372, 393, 394, 395, 396
Candida, 40, 41, 46, 48, 50, 54, 120, 133, 153, 164, 191, 223, 225, 233, 239, 287, 288, 289, 291, 292, 293, 294, 332, 363, 388, 430, 586, 621, 655, 661, 717, 718, 719, 721, 722
Carbapenêmico, 212, 590
Carbocianina, 395, 399
Casa de repouso, 212
Catalase, 47, 259, 260, 268, 428, 430, 451, 477, 478, 479, 480, 673, 702, 730, 734, 736, 737, 750
Catelicidinas, 85
Catéter, 37, 38, 40, 109, 110, 111, 112, 113, 115, 134, 153, 158, 208, 213, 223, 225, 231, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 245, 250, 260, 289, 323, 325, 326, 327, 328, 329, 333, 336, 347, 349, 350, 449, 450, 492, 585, 603, 604, 618, 619, 620, 621, 622, 623, 624, 625, 646, 651
Catéter vesical, 236, 237
Catéteres, 40, 41, 53, 71, 72, 127, 234, 237, 238, 249, 257, 272, 287, 288, 289, 326, 328, 329, 333, 493, 598, 603, 616, 618, 619, 620, 621, 622, 623, 624, 648, 649, 735
Cateterismo vesical, 107, 212, 231, 235, 238, 245, 321, 325, 326, 717
Cateterização vesical, 109, 111, 231, 234, 315, 319, 325, 328
Cd4, 192, 224, 225, 226
Cefaclor, 595, 596
Cefadroxil, 586, 589, 709
Cefalexina, 139, 162, 177, 178, 346, 430, 519, 586, 589, 595, 596, 597, 705, 706, 709, 710
Cefalosporinas, 37, 135, 160, 210, 212, 216, 217, 513, 514, 515, 516, 519, 520, 523, 538, 541, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 571, 585, 588, 709
Cefalotina, 178, 346, 430, 514, 519, 562, 564, 705, 747

Cefazolina, 178, 514, 563, 727, 751
Ceftriaxona, 177, 217, 499, 514, 519, 521, 523, 562, 563, 565, 566, 567, 568, 590, 706, 721, 747
Cefuroxima, 177, 514, 567, 586, 751
Células epiteliais, 22, 54, 62, 64, 69, 84, 87, 88, 90, 91, 171, 195, 196, 256, 257, 303, 328, 344, 354, 355, 360, 362, 367, 372, 376, 378, 379, 382, 383, 384, 397, 398, 423, 428, 451, 503, 604, 608, 611, 613, 651, 653, 705, 706, 713, 739, 746
Células epiteliais escamosas, 360, 376
Células escamosas superficiais, 344
Centrifugação, 121, 122, 136, 137, 140, 304, 344, 352, 371, 372, 373, 377, 394, 400, 448
Cetoacidose diabética, 190, 192
Chlamydia trachomatis, 120, 139, 169, 260, 353, 586, 591
Cilindros, 118, 121, 354, 355, 367, 371, 372, 376, 378, 379, 380, 381, 382, 383, 384, 385, 386, 387, 394, 397, 398, 399, 402, 404, 405, 406, 412, 414, 416, 705, 706, 713, 726, 739, 746
Cilindros leucocitários, 355
Cintigrafia renal, 156
Ciprofloxacino, 200, 211, 216, 260, 261, 521, 524, 526, 528, 529, 562, 563, 565, 588, 589, 590, 591
Cistatina c, 422
Cistite, 33, 34, 38, 40, 59, 62, 93, 101, 102, 117, 118, 125, 133, 137, 152, 153, 158, 160, 169, 173, 176, 177, 192, 193, 195, 196, 201, 216, 223, 226, 248, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 305, 308, 313, 315, 318, 349, 350, 351, 353, 375, 413, 416, 429, 435, 497, 580, 585, 586, 587, 588, 589, 604, 616, 708, 709, 712, 748
Cistite hemorrágica, 298, 302
Citocinas, 84, 87, 89, 92, 95, 102, 139, 173, 194, 222, 224, 421, 604
Citologia urinária, 228, 305, 367
Citomegalovírus, 139, 222, 223, 224, 225, 297, 298, 299, 302, 303, 305, 306, 308, 309, 311, 313, 383
Citometria de fluxo, 7, 393, 394, 395, 396, 397, 399, 400, 401, 404, 405, 407, 409, 613
Citomodulinas, 63
Citrobacter spp, 34, 437, 440, 455, 530
Clindamicina, 564
Cloranfenicol, 178, 276, 565
Coagulase, 45, 70, 164, 249, 257, 258, 263, 478, 481, 572, 573, 715, 717, 742
Coccidioides, 133, 287, 291, 363
Coccidioidomicose, 291
Coleta de urina, 120, 153, 158, 315, 316, 317, 318, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 328, 329, 336, 451, 621, 652, 735
Colonização, 5, 27, 32, 45, 46, 47, 48, 50, 53, 54, 55, 57, 60, 62, 63, 68, 71, 72, 73, 83, 92, 101, 103, 104, 126, 154, 156, 171, 173, 208, 209, 214, 217, 218, 225, 239, 249, 253, 254, 257, 287, 289, 327, 596, 604, 605, 609, 611, 616, 618, 619, 620, 621, 622, 623, 651, 654, 717, 718, 719, 722, 743, 744

Coloração de Gram, 120, 158, 259, 262, 350, 357, 363, 428, 430, 431, 433, 435, 436, 441, 443, 453, 472, 579, 580, 581, 582, 670, 684, 702, 708, 718, 727, 728, 730, 733, 738, 745, 750, 752
Comensais, 45, 59, 60, 257
Concentração Inibitória Mínima (CIM), 553, 566, 573
Contagem de colônias, 53, 213, 250, 253, 289, 349, 429, 441, 442, 446, 447, 448, 449, 450, 451, 503, 585, 587, 589, 617, 705, 719, 722, 750
Contagem de leucócitos, 121, 122, 137, 354, 356, 362, 372, 373, 404
Contaminação microbiana, 344
Contaminantes de coleta, 247
Cor, 291, 306, 343, 344, 347, 413, 415, 437, 456, 457, 459, 460, 461, 462, 463, 464, 471, 472, 481, 484, 486, 587, 700, 701, 705, 706, 713, 725, 736, 739
Corioamniorrexe, 173
Corpúsculos renais, 22
Córtex renal, 19, 162
Corynebacterium spp, 45, 46, 153
Corynebacterium urealyticum, 258, 263, 350, 363, 365, 455, 497, 695
Cremes vaginais, 128
Crescimento polimicrobiano, 247, 715, 717
Criptococcus, 288
Criptococose, 225, 288
Cristais de uratos amorfos, 344
Critério de Kitasato, 404, 405
Critérios de diagnóstico, 107
Critérios de rejeição, 691, 693, 698
Cultura de Urina, 8, 13, 31, 122, 152, 158, 213, 227, 247, 250, 251, 316, 318, 337, 400, 401, 435, 452, 453, 579, 580, 582, 685, 689, 691, 692, 693, 695, 697, 699, 701, 703, 718, 728, 729, 733, 737, 745
Custo unitário, 666, 668, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 676, 677, 678, 681, 682

D

Defensinas, 84, 85, 96
Demência, 208, 212
Densidade urinária, 346, 349, 350
Depreciação, 674, 675, 676, 681, 682, 684, 686
Depuração de creatinina, 170
Descarboxilação da ornitina, 461
Detecção de Klebsiella Pneumoniae Carbapenemase, 571
Detecção de resistência a vancomicina em S. Aureus, 573
Detecção Fenotípica, 566
Detecção Molecular da Resistência, 574
Diabetes mellitus, 41, 42, 110, 115, 202, 203, 205, 249, 253, 254, 260, 288, 327, 376, 419, 422, 425, 521, 721, 722

Diagnóstico polimicrobiano, 247
Diagnóstico virológico, 302, 303, 307
Disco combinado (dc), 567, 570
Disco Difusão, 553, 567, 569, 570, 573
Disfunção miccional, 32, 194
Distúrbios cognitivos, 169
Distúrbios do trato urinário, 169
Disúria, 102, 107, 117, 118, 134, 136, 153, 158, 173, 192, 212, 214, 227, 232, 233, 253, 260, 289, 298, 353, 586, 587, 588, 591, 598, 713, 746, 748, 749
Dnase, 478, 480
Doença priônica, 231, 239, 240, 241, 242
Doenças hereditárias, 221
Doenças infecciosas, 40, 114, 207, 412, 413, 504, 770, 777, 778
Drogas imunossupressoras, 221
Ductos coletores, 17, 19, 20, 378

E

E.Coli, 64, 91, 101, 194, 198, 438, 440, 521, 528, 536, 610, 748
Eletrodos, 395
Elisa IgM, 271, 274
Endometriose pós-parto, 173
Endometrite, 173
Enterobacter, 34, 41, 106, 110, 133, 153, 209, 217, 239, 249, 437, 440, 455, 456, 467, 499, 517, 518, 519, 526, 528, 530, 532, 563, 564, 618, 735, 742
Enterobactérias, 45, 152, 199, 215, 216, 217, 253, 257, 346, 401, 455, 456, 457, 458, 459, 464, 465, 467, 468, 471, 472, 473, 474, 475, 482, 491, 515, 517, 521, 524, 529, 532, 533, 535, 536, 557, 562, 563, 564, 566, 568, 569, 571, 587, 590, 668, 673, 682
Enterobius vermicularis, 361, 388, 389
Enterococcus faecalis, 81, 82, 209, 477, 527, 534, 580, 655, 711, 766
Enzimas de restrição, 491
Enzimas Modificadoras de Aminoglicosídeos, 534
Enzimas Urinárias, 421
Epidemiologia, 5, 37, 38, 39, 41, 43, 108, 119, 125, 132, 153, 169, 192, 215, 227, 269, 313, 333, 520, 521, 522, 539, 692, 776, 781
Epididimite, 27, 134, 209
Epitélio de transição, 23, 25, 368
EPM, 458, 459, 460, 464, 475
Esbl, 110, 212, 216, 217, 519, 520, 521, 522, 529, 562, 563, 566, 567, 568, 569, 570, 575, 576, 590

Escherichia coli, 37, 39, 40, 41, 42, 46, 48, 49, 50, 59, 75, 76, 77, 78, 79, 83, 97, 98, 99, 105, 106, 110, 115, 118, 119, 129, 133, 143, 152, 171, 182, 183, 184, 204, 209, 211, 239, 249, 440, 448, 450, 455, 477, 491, 499, 500, 501, 503, 530, 543, 545, 546, 547, 548, 549, 550, 566, 575, 580, 593, 595, 599, 601, 603, 604, 606, 623, 628, 629, 630, 631, 632, 633, 634, 635, 636, 637, 638, 639, 641, 648, 655, 659, 660, 661, 662, 705, 711, 712, 715, 728, 733, 738, 742, 745, 746, 757, 765
Especificidade, 60, 111, 174, 272, 273, 274, 304, 305, 307, 346, 347, 348, 349, 350, 351, 352, 356, 358, 382, 419, 420, 422, 427, 429, 431, 432, 450, 465, 494, 506, 509, 510, 511, 566, 582, 589, 608, 609, 684, 693, 696
Estafilococos, 32, 45, 233, 239, 257, 258, 437, 491, 513, 514, 533, 535, 572, 573, 715, 717
Estase urinária, 25, 26, 27, 39, 108, 154, 170, 172, 347, 752
Estenose de junção ureteropélvica, 27
Esterase Leucocitária, 53, 54, 345, 346, 347, 348, 349, 356, 362, 400, 712
Estreptococos, 45, 152, 153, 255, 257, 362, 437, 441, 477, 478, 516, 530, 535, 558, 565, 736
Estreptococos do grupo viridans, 558
Estrogênio, 46, 110, 170, 598, 599
Estrogênios, 218, 599
Etiologia, 5, 37, 39, 40, 41, 43, 101, 121, 131, 139, 172, 223, 233, 260, 299, 301, 309, 413, 420, 427, 449, 497, 499, 591, 605, 719, 723
Exame parcial de urina, 119, 174, 343, 350, 362, 363, 706, 748

F

Fagocitose, 68, 91, 190, 191, 192, 194, 221, 288, 415, 627
Farmacocinética, 176, 625
Farmacodinâmica, 207, 625, 626
Fáscia renal, 18
Fase analítica, 692
Fase pós-analítica, 692
Fase pré-analítica, 53, 343, 350, 690, 691, 715
Fator de necrose tumoral, 92, 139, 223
Fenantridina, 395, 399
Filtração glomerular, 170, 171, 172, 215, 419, 420, 422, 423, 625
Fimbrial, 72, 75, 76, 77, 79, 185, 609, 610, 611, 630, 631, 633, 634, 635, 636, 660, 662
Fímbricas, 32, 34, 60, 62, 71, 72, 84, 85, 86, 89, 156, 171, 172, 179, 194, 605, 607, 608, 609, 610, 611, 648
Fisiopatologia, 31, 32, 171
Fita reagente, 345, 346, 347, 348, 351, 429, 587
Flagelo, 63, 72, 73, 84, 89, 92, 617
Flagelos, 63, 72, 89, 268, 461, 609, 615, 616, 617
Fluorescência, 272, 306, 308, 395, 396, 398, 399, 406, 497

Fluoroquinolonas, 37, 178, 201, 276, 580, 588, 589, 590
Fluxo plasmático renal, 170, 171, 172
Forward scatter light, 396, 398
Fosfomicina, 37, 216, 258, 565, 588, 709
Fraldas geriátricas, 249

G

Garantia da qualidade, 689, 690, 694, 695, 697, 773
Gardnerella vaginalis, 45, 48, 49, 50, 55, 256, 257, 263, 358, 362, 363, 376, 717
Genes de virulência, 59, 72, 494, 495, 605
Genotipagem, 194, 489, 490
Gentamicina, 160, 178, 218, 499, 530, 531, 533, 534, 535, 562, 563, 564, 706, 721, 727, 731, 732, 744, 747
Gestão da qualidade, 8, 689, 690, 691, 693, 695, 697, 699, 701, 703
Glicopeptídeos, 538, 564, 565
Glicoproteína de Tamm-Horsfall, 172, 379
Glicose, 39, 54, 108, 110, 170, 172, 178, 179, 187, 191, 193, 197, 346, 411, 430, 456, 458, 459, 460, 464, 465, 468, 469, 472, 474, 475, 705, 706, 713, 725, 734, 739, 746, 749
Glicosúria, 110, 171, 193, 415, 742
Glomerulonefrite, 298, 352, 353, 375, 376, 379, 381, 384, 387, 412, 422, 712, 737
Glomérulos, 19, 20, 21, 368, 404, 420, 422
Gota de urina não centrifugada, 55, 253, 358, 435, 443, 446, 579, 580, 730
Gram, 7, 32, 34, 41, 45, 47, 48, 49, 51, 52, 53, 54, 55, 64, 71, 74, 82, 83, 89, 90, 92, 98, 119, 132, 133, 139, 159, 195, 198, 199, 209, 216, 218, 222, 223, 225, 231, 232, 233, 249, 253, 255, 256, 258, 259, 260, 267, 272, 357, 358, 359, 428, 429, 431, 435, 436, 437, 440, 441, 442, 451, 455, 457, 459, 461, 463, 468, 469, 471, 472, 473, 474, 475, 477, 478, 479, 481, 483, 485, 487, 499, 513, 514, 515, 516, 517, 518, 524, 525, 526, 527, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 537, 538, 540, 541, 543, 546, 548, 550, 565, 569, 576, 577, 579, 580, 582, 587, 591, 604, 629, 635, 638, 647, 655, 668, 669, 670, 671, 672, 682, 692, 706, 713, 715, 717, 726, 730, 734, 735, 736, 739, 750, 752
Gravidez, 33, 38, 39, 41, 43, 46, 47, 104, 108, 114, 171, 172, 176, 178, 208, 315, 316, 419, 510, 705, 708, 709, 742, 749, 752
Grupos populacionais, 107, 108, 112, 212

H

Haemophilus spp, 164, 255
HBV, 297, 298
HCV, 297, 298
Hemácias, 16, 54, 70, 192, 343, 344, 346, 354, 355, 362, 367, 371, 372, 374, 375, 378, 399, 406, 411, 412, 413, 414, 713, 726, 746

Hematopoese, 411
Hematúria, 102, 118, 121, 127, 153, 212, 225, 226, 227, 259, 289, 298, 299, 301, 302, 323, 352, 374, 375, 382, 390, 402, 404, 408, 429, 586, 587, 588, 619, 695, 725, 746, 748
Hemocitómetro, 429
Hemoglobina, 193, 194, 349, 352, 374, 375, 412, 413, 414, 705, 706, 713, 726, 729, 738, 739, 746
Hemoglobinopatias, 169, 414
Hemólise, 177, 250, 255, 260, 374, 411, 413, 414, 441, 486, 612, 700, 701, 717, 736, 737, 744, 750, 751
Hemolisinas, 34, 70
Hialuronidase, 74
Hidronefrose, 28, 160, 161, 171
Hidroureter, 171, 742
Hiperglicemia, 110, 187, 190
Hipertensão arterial, 31, 33, 169, 718
Hipótese, 54, 62, 72, 156, 308, 504, 587, 624
Hipurato, 479, 486
Histoplasma, 133, 287, 290
HIV, 47, 209, 221, 223, 224, 225, 226, 227, 229, 230, 281, 288, 297, 298, 300, 310, 313, 314, 590, 753

I

Identificação de levedura, 291
Iga secretória, 33, 86
Imunidade, 48, 49, 56, 86, 88, 91, 93, 94, 95, 98, 209, 224, 226, 234
Imunidade inata, 86, 88, 91, 93, 94
Imunodeficiências, 96, 125
Imunoestimulantes, 595, 598
Imunossupressão, 31, 33, 34, 46, 134, 208, 221, 223, 226, 227, 228, 258, 299, 300, 302, 303, 305, 309
Incontinência urinária, 102, 123, 235, 327
Infecção hospitalar, 39, 238, 240, 333, 556, 563, 686, 692, 776
Infecção urinária, 27, 28, 38, 39, 40, 43, 73, 84, 101, 102, 104, 108, 113, 114, 115, 116, 117, 126, 133, 151, 171, 173, 174, 185, 192, 218, 223, 225, 233, 234, 255, 256, 257, 309, 329, 330, 335, 373, 416, 492, 505, 507, 579, 585, 587, 588, 589, 646, 649, 652, 659, 718, 719, 721, 723, 725, 729, 742, 748
Infecções do trato urinário, 6, 7, 8, 16, 34, 37, 40, 45, 59, 83, 96, 103, 114, 117, 118, 119, 121, 122, 125, 139, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 232, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 248, 249, 251, 253, 254, 287, 288, 315, 330, 372, 373, 381, 399, 400, 401, 407, 477, 489, 491, 493, 495, 497, 499, 501, 521, 538, 579, 585, 587, 589, 591, 593, 595, 597, 599, 601, 603, 619, 645, 686, 731, 735, 742

Infecções oportunistas, 222, 223, 720
Infecções sintomáticas, 41, 742
Infecções urinárias complicadas, 125
Infecções urinárias virais, 297, 303
Insuficiência renal crônica, 31, 419, 423
Insulina, 187, 190, 191, 652
Interleucina, 87, 102, 194, 222, 415
Invasão, 53, 54, 60, 61, 62, 69, 84, 90, 91, 95, 112, 126, 172, 201, 253, 287, 297, 327, 328, 604, 606, 608, 609, 611, 612, 614, 618, 650, 652
Isolados polimicrobianos, 449
ITU nosocomial, 38, 450
ITU polimicrobianas, 249
ITU recorrente, 126, 127, 163, 196, 209, 597
ITUs não complicadas, 32, 69, 125, 603

J

Junção ureterovesical, 24, 25

K

Kcell, 354
Kirby-Bauer, 556, 572, 621
Klebsiella spp, 34, 40, 41, 110, 249, 343, 437, 439, 440, 448, 477, 528, 530, 532, 564, 569, 570, 575, 576, 742

L

Lactência, 156
Lactentes febris, 153, 154
Lactobacilos, 32, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 101, 354, 357, 358, 359, 360, 362, 363, 440
Lactoferrina, 84, 85, 96
Laminocultivo, 137, 336, 443, 446, 447
LAP, 478, 483, 730
Laser de argônio, 395
Lean, 699
Leptospira, 260, 265, 266, 274, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 711
Leptospirose, 6, 260, 265, 267, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 279, 281, 283, 284, 285
Leucócito-esterase, 111, 318, 429, 430, 431

Leucócitos, 53, 54, 55, 87, 111, 120, 121, 122, 133, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 189, 190, 191, 194, 214, 223, 306, 308, 318, 339, 344, 345, 346, 349, 352, 353, 354, 355, 356, 357, 362, 363, 367, 371, 372, 373, 374, 378, 379, 380, 382, 384, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 404, 405, 406, 411, 415, 416, 427, 428, 429, 430, 450, 451, 503, 580, 581, 587, 591, 705, 706, 713, 725, 726, 729, 734, 736, 737, 738, 739, 744, 746, 749
Leucocitúria, 54, 55, 87, 118, 119, 120, 122, 225, 227, 345, 352, 353, 354, 356, 357, 358, 360, 362, 363, 364, 372, 373, 380, 388, 580, 587, 591, 598, 650
Leucocitúria estéril, 353
Levantamento de custos, 668
Leveduras, 45, 46, 231, 249, 257, 288, 289, 291, 294, 358, 359, 360, 394, 397, 398, 404, 405, 406, 429, 437, 477, 610, 710, 718, 719, 720, 721, 722, 723
Levofloxacino, 216, 588, 589, 590
Linfócitos, 88, 192, 222, 224, 226, 303, 346, 414, 415, 654, 726, 729
Lipocalina, 66, 69, 84, 85, 86, 91, 96, 423
Lipocalina Associada à Gelatinase dos Neutrófilos, 423
Líquido prostático, 131, 134, 135, 136, 137, 139, 140, 141, 288
LTD, 280, 458, 459, 464, 465, 467

M

Malformação do trato urinário, 169
Malformações congênitas, 27, 151, 255
Manitol, 464, 478, 479, 481, 482, 485, 731
Manutenção, 22, 85, 177, 218, 236, 237, 238, 270, 274, 315, 647, 650, 651, 676, 677, 681, 682, 684, 692, 693, 694, 712, 746
Materiais de consumo, 666, 672, 673, 684
Medula renal, 21, 650, 653
Megaureter, 27, 30
Meio cromogênico, 440, 441, 453
Meio de tolerância ao sal, 673
Meio hipertônico, 293
Metallo- β -Lactamase, 576
Metaloproteinases, 173
Metodologia da diluição, 448
Metodologia do laminocultivo, 336, 446
Métodos Automatizados, 213, 400, 428, 478, 496, 561, 569
Métodos microscópicos e não microscópicos, 428
Micção espontânea, 107, 235, 243, 272, 319, 323, 326
Micção pós-coito, 127
Microbactérias, 259, 299, 496
Microbiota anaeróbia, 580
Microbiota do trato intestinal, 233
Microbiota gastrointestinal, 126, 171

Microbiota residente, 45
Microbiota vaginal, 32, 45, 47, 48, 49, 110, 742
Microcultivo, 292
Microscopia da urina, 354, 428
Mieloma múltiplo, 414, 417
Modelos animais, 68, 195, 221, 604, 605, 627, 645, 646, 647, 651, 655, 658
Monócitos, 49, 191, 192, 221, 224, 346, 415, 598, 726, 729
Morbidade, 37, 38, 125, 189, 207, 208, 260, 289, 300, 316, 322, 603, 712
Morganella morganii, 209, 455, 518, 532, 564, 569
Motilidade, 63, 72, 73, 104, 272, 458, 461, 462, 464, 465, 467, 470, 475, 477, 478, 485, 612, 616, 617, 727, 736, 747
Muco endocervical, 353
Multirresistência bacteriana, 110
Músculo detrussor, 25, 26
Mutações enzimáticas, 525
Mycobacterium spp, 45, 501
Mycoplasma spp, 45, 256

N

NaCl, 265, 477, 478, 479, 481, 484, 750
Não fermentador, 673, 682
Nefrolitíase, 209, 587
Néfron, 20, 21, 22, 172, 368, 421
Neisseria spp, 45
Neonato, 151, 603
Neoplasia, 208, 209, 213, 222, 223, 249, 587
Nítrito, 53, 54, 111, 232, 318, 345, 346, 347, 348, 349, 400, 430, 431, 456, 471, 505, 506, 507, 587, 588, 712, 713, 746
Nitrofurantoína, 137, 159, 160, 162, 178, 179, 215, 218, 346, 562, 564, 588, 589, 595, 596, 597, 706, 709, 727, 747
Norfloxacin, 588, 595, 596, 706, 731
Novobiocina, 478, 485, 565, 702

O

Odor, 343, 345, 472, 586, 748
Osmolaridade, 70, 579
Oxacilinas, 520, 522
Oxicoco, 218, 598
Oxidase, 54, 258, 260, 268, 440, 451, 456, 468, 472, 477, 673, 702

P

- Pacientes cateterizados, 38, 41, 109, 110, 327, 328, 492, 619
- Pacientes internados, 39, 113, 240, 245, 287, 290, 326, 604, 692, 723
- Pacientes pediátricos, 38, 112, 301, 308, 321
- Padrões moleculares associados à patógenos, 88
- Papilas renais, 19
- Paracoccidioides, 287
- Parasitas, 223, 388
- Parcial de urina, 118, 119, 120, 174, 253, 343, 350, 362, 363, 451, 504, 579, 705, 706, 712, 713, 738, 739, 746, 748
- Parênquima renal, 17, 18, 19, 28, 101, 153, 154, 156, 196, 197, 289, 319, 423, 647, 650, 652
- Parto prematuro, 38, 108, 173
- Pasteurella multocida, 258, 263, 711
- Pelve renal, 17, 19, 24, 157, 196, 197, 289, 376, 589, 650
- Penicilina G, 513, 516, 565
- Penicilinas semissintéticas, 218
- Períneo, 27, 134, 136, 147, 156, 171, 233, 290, 315, 320, 321, 325, 327, 615
- Pesquisa de antígenos virais, 305, 309
- pH, 16, 33, 46, 48, 49, 70, 72, 73, 131, 135, 138, 172, 219, 260, 268, 272, 273, 345, 347, 349, 350, 351, 362, 411, 422, 456, 459, 460, 461, 463, 468, 471, 472, 484, 485, 550, 554, 557, 579, 620, 630, 633, 634, 635, 640, 694, 695, 700, 705, 706, 710, 711, 713, 725, 739, 746
- Pielonefrite, 33, 37, 38, 40, 59, 62, 101, 102, 103, 108, 112, 125, 127, 134, 137, 151, 152, 153, 156, 158, 160, 162, 169, 170, 172, 173, 176, 177, 178, 179, 189, 192, 196, 197, 198, 200, 201, 208, 209, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 222, 223, 235, 247, 248, 250, 256, 258, 287, 289, 315, 316, 349, 350, 351, 353, 355, 376, 379, 381, 382, 383, 384, 387, 416, 419, 421, 423, 430, 435, 585, 589, 590, 604, 648, 650, 651, 653, 654, 742
- Pielonefrite aguda, 102, 156, 160, 162, 178, 208, 349, 355, 416, 421, 423, 430, 585, 589, 590, 604, 650, 653, 742
- Pielonefrite aguda não obstrutiva, 102
- Pielonefrite enfisematosa, 103, 189, 196, 197, 201
- Pielonefrites, 39, 54, 96, 125, 133, 287, 372, 373, 375, 496, 651
- Pigmento urinário, 413
- Pili, 60, 61, 62, 69, 76, 80, 84, 195, 607, 608, 609, 610, 612, 633, 634, 635, 636, 638, 639
- Pirâmides renais, 17
- Piúria, 111, 117, 153, 172, 212, 213, 214, 232, 253, 259, 260, 289, 299, 348, 352, 353, 373, 416, 428, 429, 430, 497, 507, 748
- Polaciúria, 107, 117, 118, 120, 134, 158, 173, 192, 232, 586, 587, 588, 713, 746
- Polimixinas, 540, 564, 565

Polimorfismo por amplificação randômica de DNA (RADP), 490, 493
Polimorfonucleares, 189, 214
Predisposição, 38, 91, 154, 171, 189, 193, 261, 317, 748
Pré-eclâmpsia, 169, 173, 256
Pré-natal, 27, 39, 108, 114, 169, 174, 302, 308, 509, 510, 738
Preparo do sedimento, 371
Primoinfecção, 151, 226, 300, 306
Probabilidade pós-teste, 505, 506, 507, 511
Probabilidade pré-teste, 153, 154, 505, 506, 511
Probióticos, 49, 50, 128
Procalcitonina, 423
Produção de Betalactamases, 495, 562, 732
Profilaxia, 8, 11, 31, 113, 128, 152, 159, 160, 162, 179, 218, 225, 227, 228, 589, 595, 596, 597, 598, 599, 600, 601, 744
Profilaxia antimicrobiana, 162
Progesterona, 39, 104, 170, 708, 742
Propriedades físicas, 343, 352
Próstata, 27, 112, 119, 121, 131, 132, 133, 135, 136, 139, 140, 141, 142, 195, 209, 255, 290, 419, 652, 734
Prostatite, 122, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 147, 209, 250, 256, 259, 353, 416, 497, 652
Prostatite bacteriana, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 140, 652
Prostatite bacteriana aguda, 132, 133, 134, 135, 137, 138
Prostatite bacteriana crônica, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 652
Prostatite inflamatória assintomática, 133, 138, 141, 142
Prostatite não bacteriana, 132, 133, 138, 140
Prostatite não bacteriana crônica, 133, 138
Prostatites, 6, 131, 132, 133, 134, 135, 137, 138, 139, 141, 143, 145, 717
Proteína, 33, 60, 61, 62, 63, 66, 67, 68, 70, 71, 73, 84, 85, 86, 88, 89, 92, 214, 234, 240, 244, 267, 306, 346, 349, 351, 378, 411, 412, 413, 414, 420, 422, 423, 431, 517, 527, 529, 531, 608, 610, 611, 618, 619, 627, 736
Proteína de bence jones, 414
Proteína de Ligação do Retinol, 422
Proteína de Tamm-Horsfall, 60, 84, 85, 86, 378
Proteínas, 21, 49, 60, 61, 62, 64, 66, 70, 71, 73, 74, 85, 88, 89, 91, 93, 96, 121, 170, 171, 179, 240, 242, 267, 274, 301, 345, 349, 350, 351, 352, 378, 413, 420, 421, 514, 515, 516, 518, 526, 529, 530, 532, 609, 610, 614, 615, 618, 627, 705, 706, 713, 725, 732, 739, 746
Proteus mirabilis, 40, 71, 75, 79, 80, 81, 94, 100, 101, 152, 209, 234, 492, 499, 500, 529, 536, 540, 564, 569, 576, 606, 616, 630, 633, 636, 639, 640, 641, 655, 659, 662, 711, 727, 763, 764
Prova da oxidase, 456
Providencia, 343, 350, 455, 459, 467, 526, 534, 540, 547, 563, 564, 569

Pseudomonas, 41, 110, 111, 133, 152, 189, 210, 212, 216, 217, 239, 249, 257, 328, 343, 346, 429, 440, 448, 470, 473, 499, 514, 515, 518, 522, 527, 530, 531, 533, 534, 540, 544, 545, 546, 548, 555, 569, 570, 571, 576, 577, 639, 644, 655, 660, 661, 663, 711, 735, 761, 762

Pseudomonas aeruginosa, 110, 189, 210, 217, 239, 249, 448, 518, 522, 531, 533, 540, 544, 545, 546, 548, 555, 569, 576, 577, 639, 644, 655, 660, 661, 711, 761, 762

Punção suprapúbica, 107, 247, 256, 257, 259, 315, 317, 321, 322, 323, 336, 431, 450, 691, 736

PYR, 255, 258, 260, 478, 479, 483, 730, 750

Pyridium, 346

Q

Qualidade da amostra, 350, 363, 435, 582, 684, 691

Quimiocinas, 31, 85, 89, 90, 93, 95

Quimiotaxia, 73, 85, 189, 191, 192, 194, 617

Quinolonas, 135, 210, 212, 214, 215, 216, 226, 495, 521, 524, 525, 526, 527, 529, 544, 558, 580, 585, 586, 588, 590, 596, 597, 709

R

Razão de verossimilhança, 505, 506, 511

Reabsorção tubular, 170

Reação em cadeia da polimerase, 274, 307, 313, 490, 494, 574, 624

Reagentes, 111, 305, 457, 557, 582, 666, 672, 673, 677, 681, 682, 684, 693, 694, 696

Recém-nascido de baixo peso, 169

Redução de nitratos, 456, 457, 471, 736

Refluxo vesicoureteral, 39, 151, 170, 171, 353, 419, 597

Refluxo vesico-ureteral, 24, 25, 27, 28, 29, 31

Refluxo vesico-ureteral, 155

Refluxo vesico-ureteral, 725

Refrigeração, 158, 337, 345, 371, 373, 448, 554, 691, 698

Relaxina, 170

Reprodutibilidade, 47, 247, 307, 371, 493, 494, 554, 695, 696

Resistência, 8, 32, 34, 37, 41, 68, 70, 73, 74, 91, 93, 95, 96, 102, 112, 128, 160, 163, 172, 176, 178, 179, 187, 201, 209, 210, 211, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 225, 227, 239, 240, 244, 290, 307, 362, 448, 475, 490, 494, 495, 496, 513, 515, 516, 517, 518, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 526, 527, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539, 540, 541, 543, 545, 547, 549, 550, 551, 553, 558, 561, 562, 563, 564, 566, 568, 569, 570, 571, 572, 573, 574, 585, 588, 589, 590, 591, 596, 597, 598, 604, 621, 627, 694, 710, 732, 743, 747, 751

Resistência às Quinolonas, 216, 524, 525, 527, 529
Retenção urinária, 109, 121, 122, 193, 194, 209, 249, 327
RFLP, 51, 275, 285, 490, 491
Rhamnose, 458, 463, 464, 465, 747
Rim, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 28, 29, 32, 39, 60, 64, 88, 92, 152, 157, 161, 196, 197, 198, 199, 222, 288, 290, 303, 352, 368, 376, 379, 411, 413, 414, 415, 419, 589, 617, 647, 648, 650, 653, 654
RNA ribossomal, 495
Rugai com lisina, 465, 727
Rugai modificado, 465, 475
Ruptura prematura de membranas fetais, 173

S

Salmonella spp, 133, 253, 520, 530, 563, 576
Sangue, 15, 19, 20, 21, 46, 122, 136, 152, 179, 224, 240, 247, 248, 254, 257, 258, 259, 260, 261, 271, 274, 289, 301, 302, 306, 307, 308, 309, 337, 352, 374, 411, 415, 423, 431, 435, 441, 485, 554, 610, 673, 699, 700, 702, 713, 714, 718, 721, 734, 735, 736, 737, 741, 750, 751, 758, 759, 761, 763, 764, 765, 766
Secreção prostática, 133, 288
Sedimento urinário, 71, 121, 134, 135, 354, 355, 356, 358, 361, 362, 371, 372, 374, 376, 378, 384, 388, 394, 396, 400, 404, 412, 698, 736
Sedimento urinário corado, 362
Sedimentoscopia, 352, 375, 708, 709
Sensibilidade, 39, 111, 115, 128, 137, 138, 174, 176, 210, 216, 217, 234, 255, 271, 272, 273, 274, 290, 304, 305, 306, 307, 308, 309, 346, 347, 348, 349, 351, 352, 356, 358, 399, 400, 401, 402, 406, 419, 420, 422, 427, 429, 431, 472, 474, 475, 493, 496, 498, 506, 509, 510, 511, 517, 518, 519, 524, 525, 527, 529, 531, 536, 553, 554, 557, 558, 561, 563, 566, 567, 569, 572, 573, 582, 587, 589, 607, 613, 657, 684, 693, 694, 695, 701, 715
Septicemia, 37, 85, 173, 221, 255, 498
Serratia, 41, 133, 209, 217, 249, 350, 440, 455, 456, 467, 518, 519, 520, 526, 530, 532, 533, 540, 563, 564, 569, 711, 735
Shigella spp, 254, 518, 530
Sideróforos, 66, 67, 69, 70, 84, 86
Síndrome cinzenta, 178
Síndrome da dor pélvica crônica, 132, 133
Sistema imune, 66, 84, 93, 95, 171, 189, 413, 414, 421, 598, 604, 615, 626
Sistema nervoso simpático, 170
Sistema urinário, 5, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 53, 55, 57, 112, 169, 170, 171, 176, 289, 318, 352, 711
Sistemas automatizados, 393, 478, 562, 568, 569
Sistemas renina-angiotensina-aldosterona, 170

Six Sigma, 699
Sobrenadante, 121, 308, 344, 372
Sociedade Americana de Microbiologia, 250, 449
Sonda de alívio, 347
Sondas de nefrostomia, 249
Sorbitol, 464, 478, 479, 485
Sorbose, 478, 479, 485, 731
Staphylococcus Aureus, 40, 133, 164, 210, 258, 401, 455, 477, 478, 480, 486, 514, 530, 539, 541, 547, 548, 550, 573, 577, 641, 643, 644, 648, 711, 736, 759, 760
Streptococcus agalactiae, 41, 48, 50, 178, 179, 253, 435, 736, 743, 744, 762
Streptococcus pneumoniae, 254, 262, 363, 549, 558
Streptococcus spp, 46, 255, 437, 565
Suco de cranberrie, 598
Sulfametoxazol, 37, 41, 135, 159, 162, 200, 210, 215, 225, 227, 261, 499, 521, 536, 548, 557, 565, 586, 588, 589, 595, 596, 597, 709, 747
Sulfametoxazol-trimetoprim, 565
Sulfas, 178, 179, 215
Swarming, 72, 73, 80, 435, 557, 639
Sysmex UF-100, 397, 398, 408

T

Taxa de filtração glomerular, 170, 171, 172, 419, 422, 423
Temperatura ambiente, 72, 269, 272, 337, 339, 345, 354, 373, 555, 557, 691, 699, 725
Teste de microaglutinação, 273
Teste de Triagem, 427, 431, 569, 573
Teste do nitrito, 429
Teste enzimático em tubo, 428
Testes Confirmatórios, 567
Tetraciclina, 139, 178, 346, 430, 555, 564, 565, 731, 747
Tira reativa, 352, 394, 428, 506
Toll-like receptors, 84, 87, 89, 98, 99, 100
Toxinas, 59, 63, 64, 65, 69, 172, 612, 613, 614
Trabalho de parto prematuro, 112, 169, 170, 173, 597
Transplante renal, 223, 225, 227, 298, 308, 312
Tratamento, 8, 11, 13, 31, 33, 37, 39, 41, 48, 55, 84, 94, 95, 102, 103, 109, 111, 112, 116, 119, 122, 123, 125, 127, 128, 131, 134, 135, 138, 141, 142, 145, 158, 159, 160, 169, 174, 176, 177, 178, 189, 190, 191, 200, 201, 207, 208, 209, 210, 212, 214, 215, 216, 217, 218, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 235, 243, 244, 245, 253, 254, 259, 260, 261, 288, 313, 316, 330, 351, 407, 419, 424, 435, 443, 452, 489, 492, 493, 495, 497, 499, 504, 513, 514, 515, 517, 518, 530, 536, 538, 540, 553, 563, 565, 569, 582, 585, 586, 587, 588, 589, 590, 591, 593, 595, 597, 604, 605, 608, 627, 645, 647, 651, 656, 659, 686, 695, 705, 709, 712, 720, 721, 722, 732, 738, 741, 743, 744, 748, 751

Trato genital feminino, 45, 48, 118, 121, 256
Trato urinário inferior, 136, 169, 173, 381, 413, 612, 746, 748, 749
Triagem, 7, 112, 134, 174, 248, 297, 305, 308, 345, 349, 350, 400, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 458, 563, 567, 569, 570, 571, 572, 573, 579, 583, 597, 678, 680, 684, 686, 717, 728, 733, 738, 745
Trichomonas vaginalis, 54, 139, 346, 360, 363, 388, 389
Trimetoprim, 37, 41, 139, 159, 160, 162, 179, 210, 215, 225, 227, 261, 521, 536, 537, 548, 554, 555, 557, 565, 586, 588, 589, 595, 596, 597, 727, 747
Tuberculose renal, 226, 227, 737
Tubo germinativo, 294
Túbulo contorcido distal, 21, 22, 368
Túbulos renais, 21, 22, 376, 378, 415, 608, 613

U

Ultrassonografia abdominal, 161, 162
Urease, 70, 72, 73, 80, 209, 234, 258, 259, 260, 350, 458, 475, 482, 612, 640, 662, 697
Ureia, 15, 33, 70, 72, 170, 214, 258, 350, 362, 419, 465, 470, 471, 478, 482, 579, 727, 736, 749
Uréter, 17, 18, 23, 24, 25, 28, 29, 30, 104, 108, 154, 157, 161, 198, 289, 370, 372, 615, 648, 650, 708
Uretra, 15, 16, 23, 25, 27, 28, 30, 32, 40, 45, 83, 110, 117, 127, 133, 134, 136, 137, 151, 154, 155, 156, 162, 172, 173, 208, 213, 233, 234, 253, 256, 259, 288, 315, 319, 323, 325, 327, 328, 329, 335, 339, 368, 376, 589, 590, 603, 615, 621, 623, 651, 652, 699, 717, 734
Uretrite, 133, 140, 173, 176, 177, 256, 260, 353, 416, 429, 509, 510, 585, 586, 587, 590, 591, 604
Uretrocistografia miccional, 162
Urina centrifugada, 137, 354, 431
Urina de catéter, 450
Urina de jato médio, 257, 429, 735
Urina diluída ou hipotônica, 354
Urina não centrifugada, 31, 55, 232, 253, 357, 358, 373, 435, 443, 446, 448, 579, 580, 713, 717, 730, 734
Urocultura, 7, 32, 39, 53, 119, 120, 122, 128, 154, 159, 174, 176, 195, 201, 212, 213, 214, 231, 232, 233, 253, 254, 315, 318, 319, 325, 332, 335, 339, 350, 363, 365, 373, 419, 423, 431, 435, 437, 439, 440, 441, 443, 445, 447, 449, 451, 453, 455, 456, 467, 468, 472, 473, 497, 503, 504, 505, 583, 585, 586, 587, 588, 589, 590, 595, 666, 667, 668, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 681, 682, 683, 685, 698, 705, 708, 711, 712, 713, 717, 719, 724, 726, 727, 735, 736, 738, 739, 741, 746, 748
Urocultura negativa, 120, 214, 595, 670, 671, 672, 681
Uromodulina, 172
Uropatias obstrutivas, 234
Uropatógeno, 37, 39, 119, 171, 172, 178, 179, 208, 231, 232, 255, 492, 585, 587, 589, 648, 651, 652

Uropatógenos, 5, 6, 7, 8, 31, 32, 37, 38, 41, 49, 50, 59, 60, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 85, 92, 93, 126, 195, 210, 212, 216, 217, 218, 247, 248, 249, 250, 253, 318, 435, 437, 439, 440, 446, 450, 451, 452, 455, 457, 459, 461, 463, 469, 471, 473, 475, 477, 479, 481, 483, 485, 487, 491, 494, 495, 496, 498, 499, 513, 515, 517, 519, 521, 523, 525, 527, 528, 529, 531, 533, 535, 536, 537, 539, 541, 543, 545, 547, 549, 551, 553, 555, 557, 559, 561, 563, 565, 567, 569, 571, 573, 575, 577, 587, 589, 590, 607, 616, 646, 648, 651, 652, 715

V

Vacinas, 93, 94, 128, 179, 180, 276, 599, 694
Vaginites, 352, 353, 363, 712
Vaginose bacteriana, 45, 47, 48, 49, 50, 256
Valor preditivo negativo, 320, 335, 347, 348, 349, 356, 506, 509, 510
Valor preditivo positivo, 102, 118, 304, 335, 347, 348, 349, 362, 401, 506, 509, 510, 693
Vancomicina, 41, 74, 530, 535, 538, 539, 540, 550, 557, 561, 562, 564, 565, 569, 572, 573, 721, 731, 732, 743, 751
Via ascendente, 27, 254, 289, 589, 648
Via hematogênica, 32, 40, 301, 647, 650
Vias de inoculação, 650
Vinculina, 60, 61
Vírus BK, 225, 226, 228, 300
Vitek, 474, 496, 568, 569, 575

W

Walkaway, 473

Z

Zinco, 74, 132, 133, 136, 457, 471, 518, 520, 522, 555