

44^o Congresso Brasileiro de Análises Clínicas

11 a 14 de Junho de 2017 no Centro de Convenções de João Pessoa (PB)



Coprocultura

Carlos A. Albini

Alessandro C. O. Silveira

CAUSAS DE DIARREIA

✓ **Infecciosas**

- ✓ vírus
- ✓ fungos
- ✓ protozoários
- ✓ helmintos
- ✓ bactérias

✓ **Não infecciosas**

- ✓ alergia
- ✓ intolerância
- ✓ hipersensibilidade
- ✓ neoplasias
- ✓ traumas
- ✓ medicamentos
- ✓ hepatopatias

PATOGENICIDADE

Toxigênicas	Invasivas	Aderentes
Aeromonas spp.	Campylobacter	EPEC
Bacillus cereus	Edwarsiella tarda	EAEC
Clostridium botulinum	EIEC	EHEC
Clostridium difficile	Salmonella	
ETEC	Shigella	
EHEC	Yersinia	
Staphylococcus aureus		
Vibrio cholerae		

SINTOMAS

Parâmetro	Produção de toxina	Invasão tecidual
Consistência das fezes	aquosa	pastosa
Evacuações	inúmeras	poucas
Vômitos	sim	não
Febre	não	sim
Desidratação	sim	pouca
Tempo para os sintomas	poucas horas	1 a 3 dias
Leucócitos	não	sim
Sangue	não	sim
Muco	não	sim

AMOSTRA

- ✓ **1 a 2 gramas de fezes**
- ✓ **Início do quadro diarreico**
- ✓ **Antes da antibioticoterapia**
- ✓ **A positividade diminui com o tempo devido à redução de bactérias eliminadas**

AMOSTRAS ACEITÁVEIS

- ✓ **Fezes sem conservante devem ser encaminhadas à TA em até 1 hora**
- ✓ **Com conservantes podem ser mantidas refrigeradas de 2 a 8°C por 24 horas**

AMOSTRAS INACEITÁVEIS

- ✓ **Amostras sem conservantes obtidas há mais de 3 horas**
- ✓ **Mistura de várias amostras colhidas no mesmo dia**
- ✓ **Fezes líquidas colhidas em fraldas**
- ✓ **Amostras de fezes contaminadas com urina**
- ✓ **Amostras coletadas há mais de 3 dias**

CONSERVANTES

- ✓ **Glicerina tamponada**
 - ✓ Recomendada para *Shigella* spp. e *Samonella* spp.
 - ✓ Não para *Campylobacter* spp ou *Vibrio* spp.
- ✓ **Cary-Blair**
 - ✓ Melhor meio de transporte
 - ✓ Inferior à glicerina no isolamento de *Shigella*
 - ✓ Não indicada para pesquisa de toxina do *Clostridium difficile*
- ✓ **As amostras para *C. difficile* devem ser refrigeradas até 12 horas**

MEIOS DE CULTURA

- ✓ **Diferenciais**

 - ✓ Mac Conkey

 - ✓ EMB

- ✓ **Seletivos**

 - ✓ SS

 - ✓ Hektoen

- ✓ **Altamente seletivos**

 - ✓ Verde brilhante

MAC CONKEY



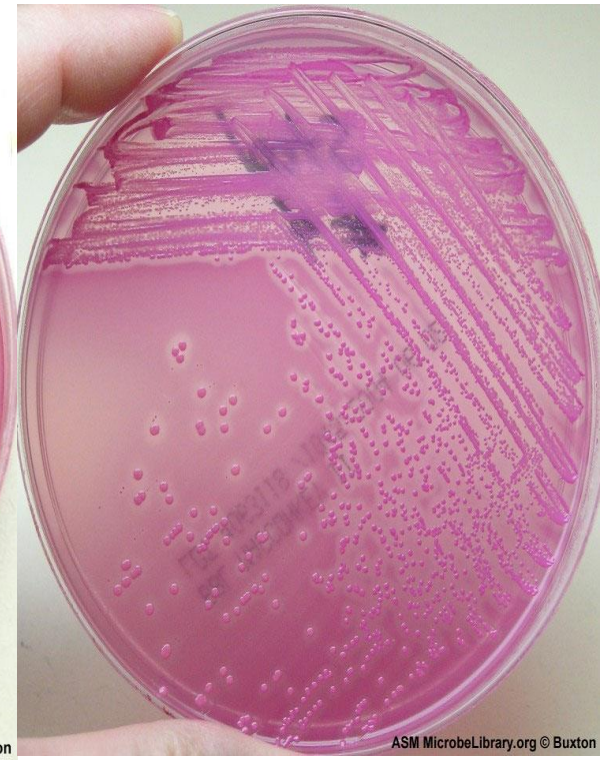
ASM MicrobeLibrary.org © Buxton

Salmonella



ASM MicrobeLibrary.org © Buxton

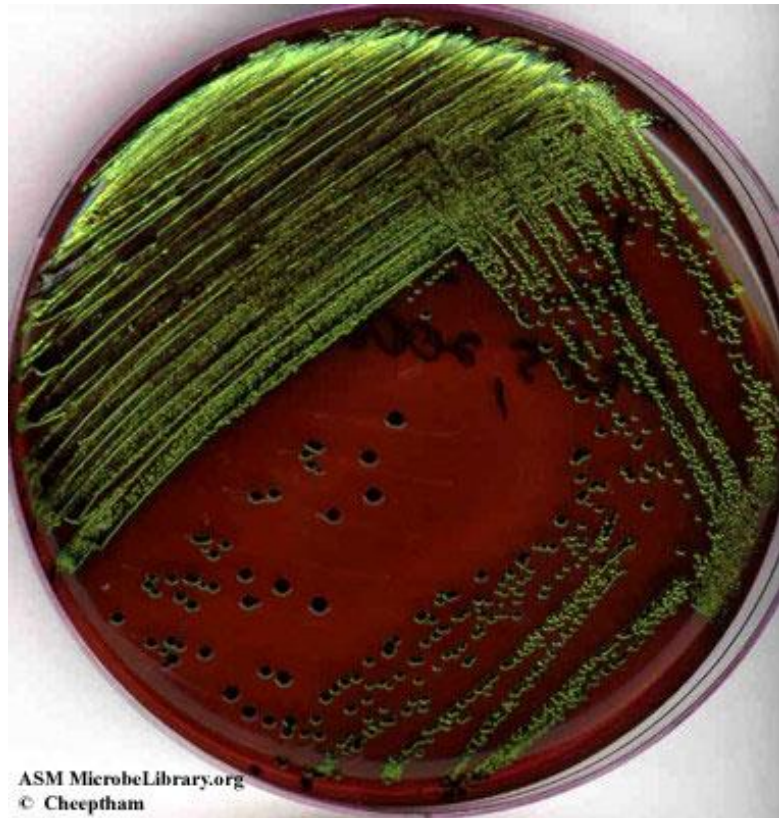
Shigella



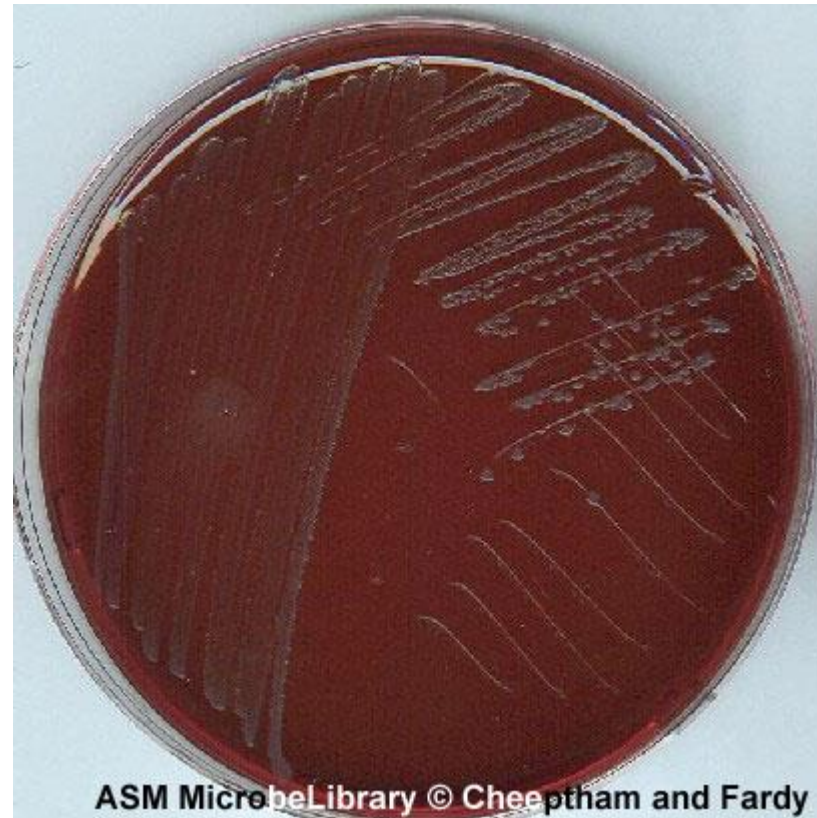
ASM MicrobeLibrary.org © Buxton

Vibrio

EMB



Escherichia coli



Salmonella enteritidis

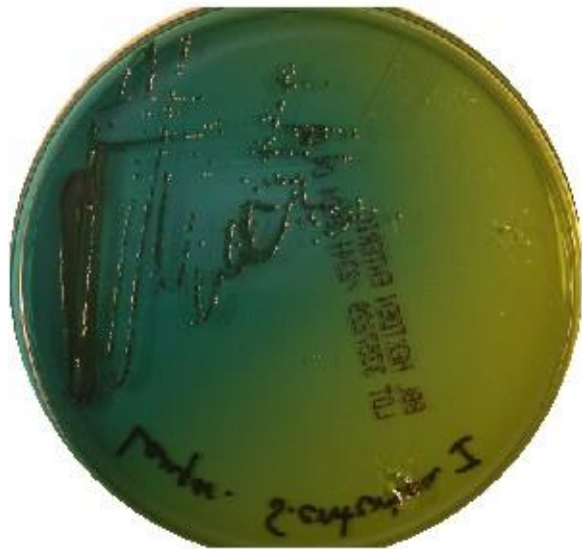
SS

- ✓ Selecciona *Salmonella*
- ✓ Pode ser inibitório para *Shigella*



HEKTOEN

- ✓ Recomendado para isolamento de *Salmonella* e *Shigella*
- ✓ Pode ser utilizado para isolar *Vibrio cholerae*



Salmonella



Shigella

VERDE BRILHANTE

- ✓ Usado para isolar *Salmonella*
- ✓ Exceto *S. typhi* e *S. paratyphi*



MEIOS PARA CAMPYLOBACTER

✓ **Skyrrow**



✓ **AS Campy**



✓ **Karmali**



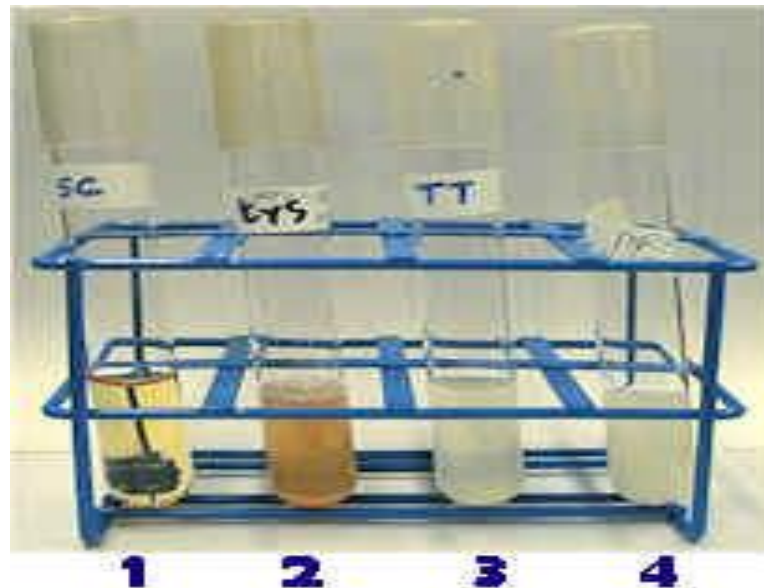
CALDOS DE ENRIQUECIMENTO

- ✓ **Selenito**

- ✓ Melhor para *Salmonella*

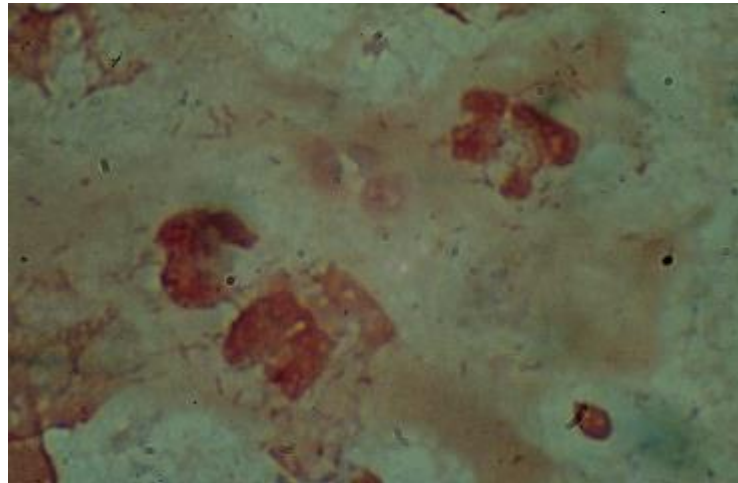
- ✓ **Tetracionato**

- ✓ Melhor para *Salmonella*, exceto *S. typhi* e *S. paratyphi*

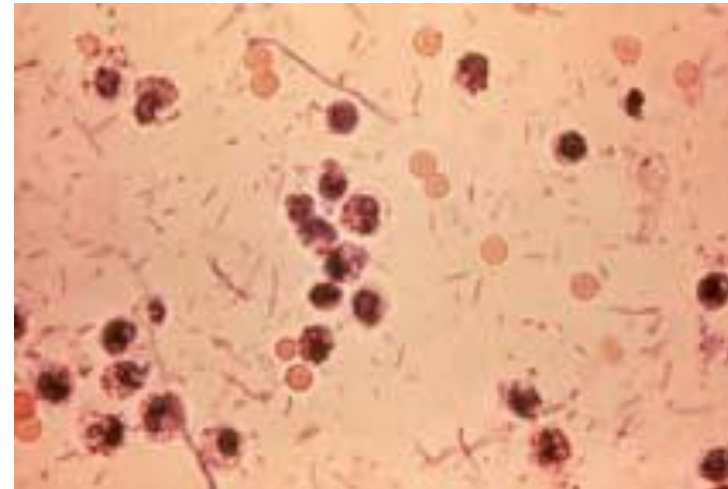


GRAM

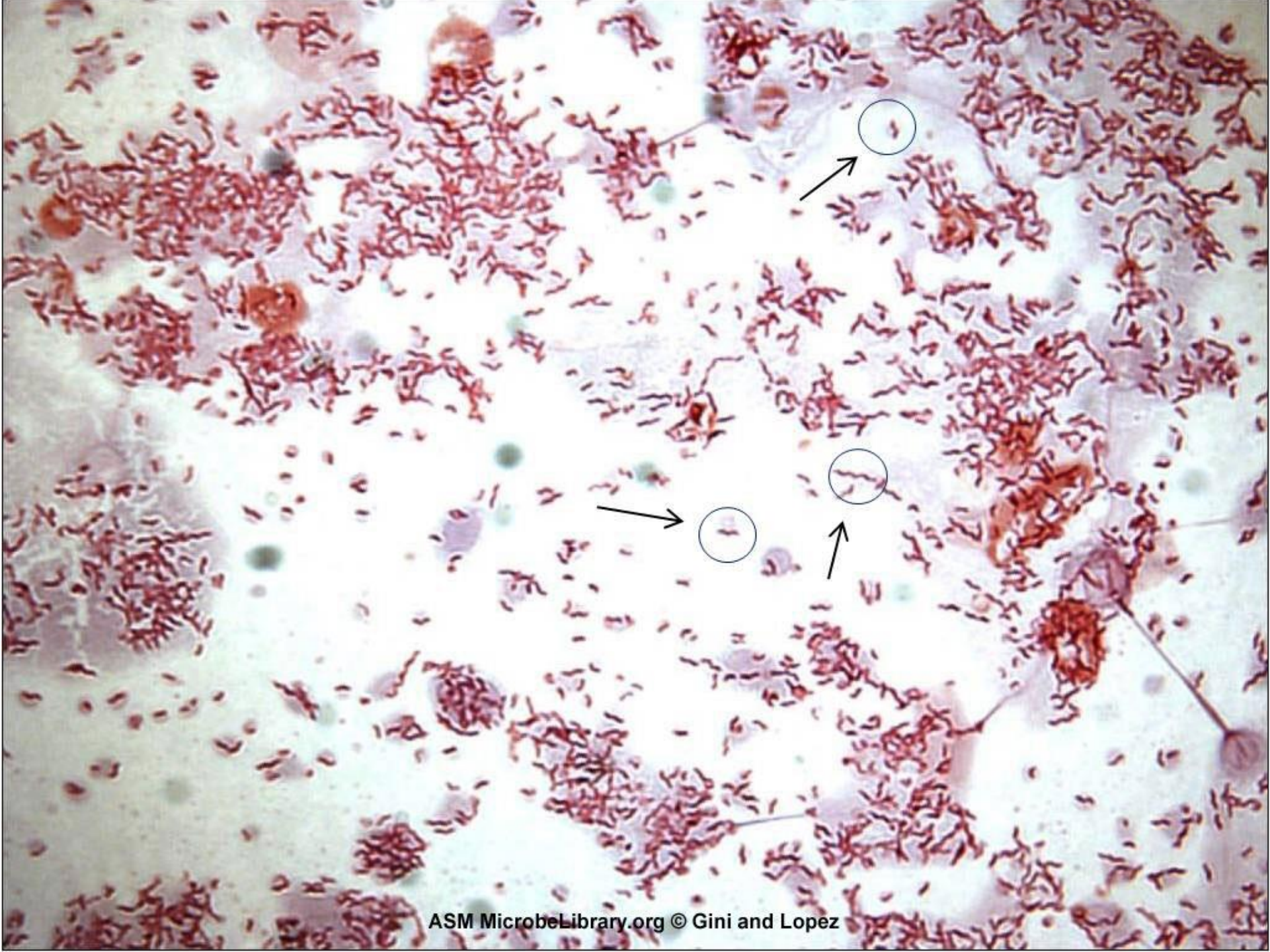
- ✓ Avaliar a flora bacteriana
- ✓ Verificar a presença de PMN
- ✓ Pesquisar leveduras



Campylobacter



Shigella



PROCEDIMENTO

- ✓ **Semear uma alçada no meio diferencial, seletivo e caldo de enriquecimento**
- ✓ **Fazer uma lâmina de Gram**
- ✓ **Incubar a placas a $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 18-24 horas**
- ✓ **Incubar os caldos de enriquecimento por 12-18 horas.**
Repicar

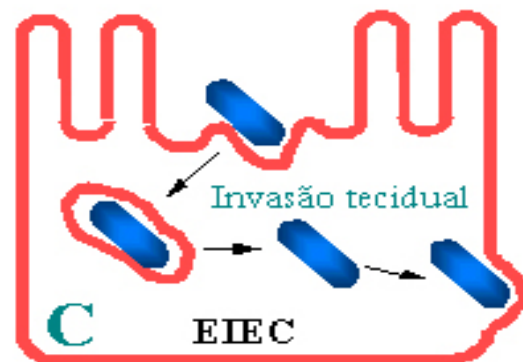
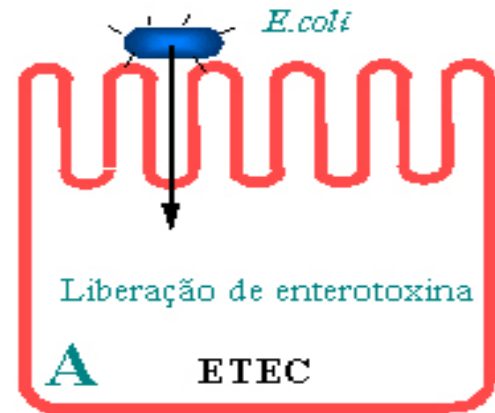
IDENTIFICAÇÃO

- ✓ **As colônias suspeitas de *Salmonella* e/ou *Shigella* devem ser identificadas bioquimicamente e, se necessário, realizar provas sorológicas**
- ✓ **As colônias de *E. coli* devem ser sorotipadas**

ESCHERICHIA COLI

	ETEC	EIEC	EHEC	EPEC
Patogenicidade	toxina	invasão	citotoxina	aderência
Sítio primário	ID	IG	IG	ID
Dano à mucosa	ausente	necrose	morte celular	destruição de microvilosidades
Epidemiologia	diarréia de viajantes	esporádica	colite hemorrágica	diarréia infantil
Febre	ausente	comum	ausente	comum
Consistência	aquosa	purulenta	sanguinolenta	aquosa
Sangue	ausente	comum	proeminente	ausente
PMN	ausente	presente	ausente	ausente

PATOGENICIDADE



TIPOS

✓ EPEC

- ✓ Destroem as microvilosidades intestinais
- ✓ Diarréia infantil
- ✓ Sorologia até os 2 anos de idade

✓ EIEC

- ✓ Diarréia semelhante à *Shigella*
- ✓ Lisina negativo e imóveis
- ✓ Contaminação de carnes e leites não-pasteurizados

TIPOS

✓ ETEC

- ✓ Diarréia semelhante à cólera

- ✓ Enterotoxinas:

 - ✓ LT → termolábil

 - ✓ ST → termoestável

✓ EHEC

- ✓ O 157

- ✓ Produz uma Shiga toxina

YERSINIA

- ✓ *Yersinia enterocolitica*
- ✓ Semear em ágar CIN, incubar por 24-48 horas, a 25-30°C
- ✓ Realizar um Rugai sem sacarose e observar a reação da uréia fortemente positiva



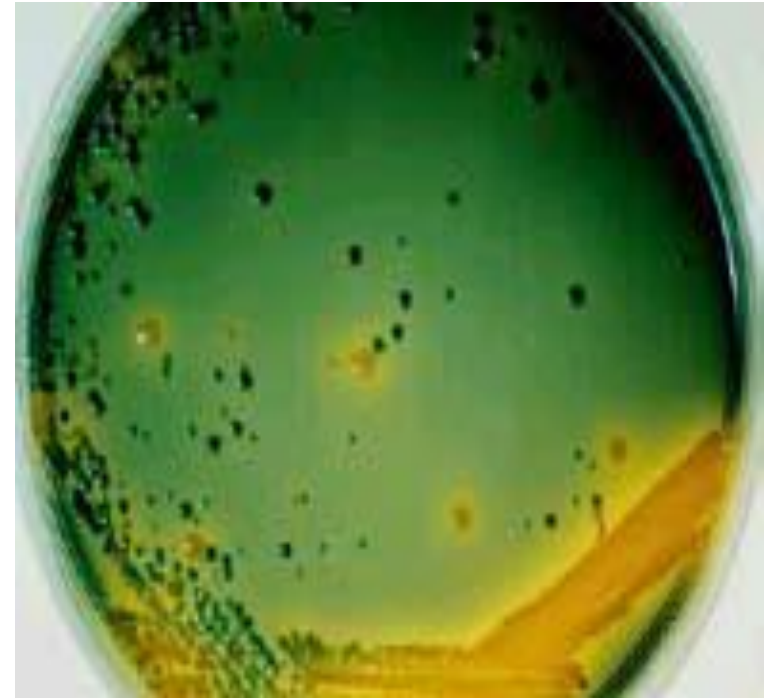
AEROMONAS E PLESIOMONAS

- ✓ **Bacilos Gram negativos oxidase positivos**
- ✓ **Aeromonas**
 - ✓ Pode ser utilizado um AS com ampicilina
 - ✓ DNase positivo
- ✓ **Plesiomonas**
 - ✓ Fermentação tardia da lactose
 - ✓ H₂S positivo



VIBRIO

- ✓ *Vibrio cholerae*
- ✓ Bacilo Gram negativo curvo
- ✓ Semear em TCBS e água peptonada alcalina
- ✓ Oxidase positivo
- ✓ Catalase positivo
- ✓ Indol positivo
- ✓ Reduz nitrato a nitrito
- ✓ Cresce em NaCl a 6,5%



CAMPYLOBACTER

- ✓ *Campylobacter jejuni*
- ✓ Bacilos Gram negativos curvos, móveis e microaerófilos
- ✓ Fazer o Gram
- ✓ Semear em AS Campy, incubar a 42°C em microaerofilia
- ✓ Corar as colônias suspeitas com safranina ou fucsina de Ziehl por 1 minuto
- ✓ Bacilos corados em rosa, em forma de vírgula ou “asa de gaivota”
- ✓ A suscetibilidade à cefalotina e ácido nalidixico podem ser utilizados na identificação

CLOSTRIDIUM DIFFICILE

- ✓ **A cultura geralmente é inconclusiva**
- ✓ **Causadora da colite pseudomembranosa**
- ✓ **Geralmente associada ao uso de antibióticos**
- ✓ **Comum em ambiente hospitalar**
- ✓ **Pesquisa de toxinas:**
 - ✓ **A (enterotoxina)**
 - ✓ **B (citotoxina)**

DISBACTERIOSES

- ✓ Alteração da microbiota normal
- ✓ Há desenvolvimento acentuado de uma espécie bacteriana
- ✓ Crescimento de bactérias não usualmente envolvidas em enterites
- ✓ *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii*, *Pseudomonas aeruginosa*

Microrganismos	Fonte de contaminação ou condição predisponente	Nº de UFC que levam à infecção	Período de incubação
<i>Aeromonas</i> spp.	Água	Desconhecido	Desconhecido
<i>Bacillus cereus</i>	Carnes, vegetais	Toxina	6-24 horas
<i>Campylobacter jejuni</i>	Água, leite, carnes	Desconhecido	3-11 dias
<i>Clostridium difficile</i>	Terapia antimicrobiana	Desconhecido	4-9 dias
<i>Clostridium perfringens</i>	Carnes	10^9-10^{10}	8-16 horas
ETEC	Alimentos, água	10^6-10^8	4-24 horas
EIEC	Alimentos	10^6-10^8	8-24 horas
EHEC	Carnes, leite	Desconhecido	3-5 dias
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	Água, pescados	Desconhecido	1-2 dias
<i>Salmonella</i> spp.	Alimentos em geral	10^2-10^8	8-72 horas
<i>Shigella dysenteriae</i>	Água	10-200	3-5 dias
Outras <i>Shigella</i>	Água, alimentos	10-200	8-72 horas
<i>Staphylococcus aureus</i>	Carnes, laticínios	Toxina	1-6 horas
<i>Vibrio cholerae</i>	Água, pescados	10^8	1-5 dias
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Pescados	10^6-10^8	15-24 horas
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Água, alimentos	Desconhecido	16-48 horas