

44^o Congresso Brasileiro de Análises Clínicas

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



UROCULTURA

Carlos A. Albini
Alessandro C. de O. Silveira

- O que estamos efetivamente fazendo?
- O que gostaríamos de realizar?
- Onde cometemos mais equívocos?
- Podemos melhorar o desempenho sem onerar o laboratório?



Equívoco: erro, engano, lapso, mal entendido...



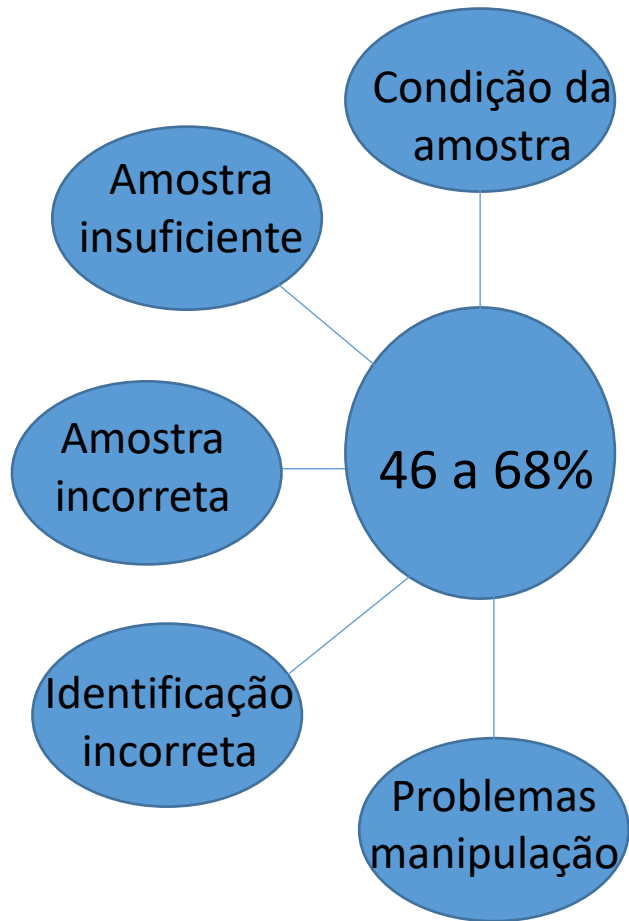
Para que serve esclarecer os equívocos se as causas persistem ?

(Sartre)

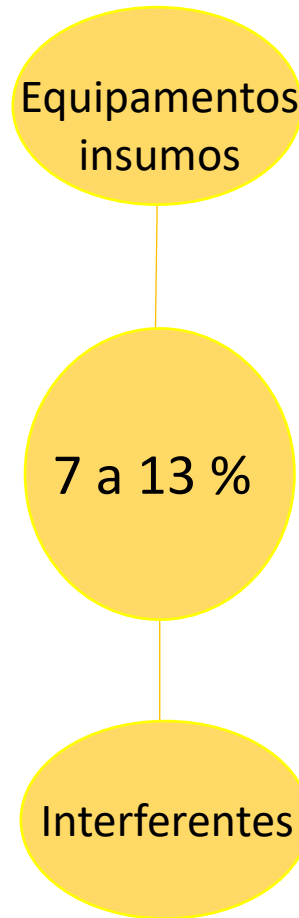


Erros Laboratoriais

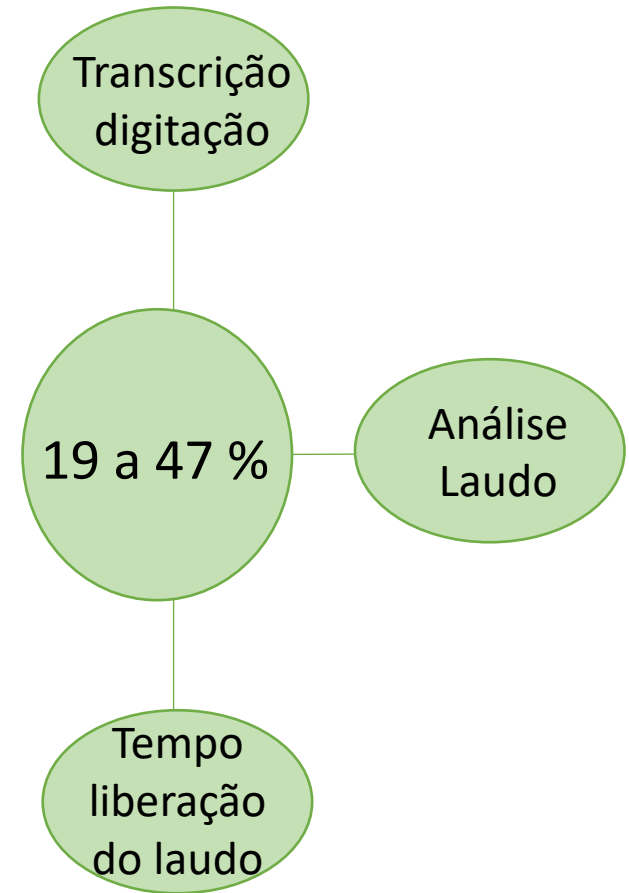
Erros Fase pré-analítica



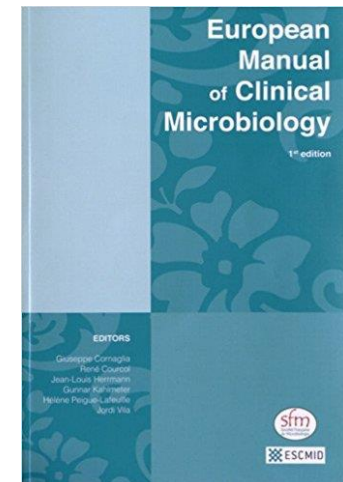
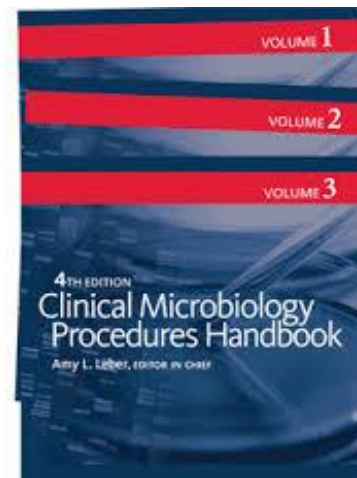
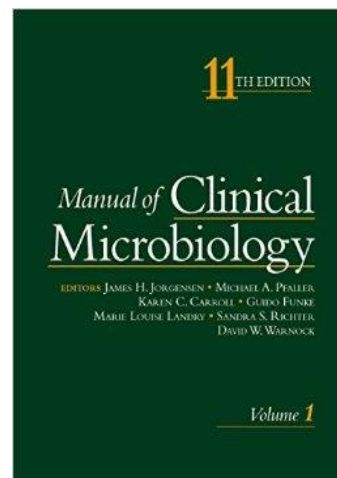
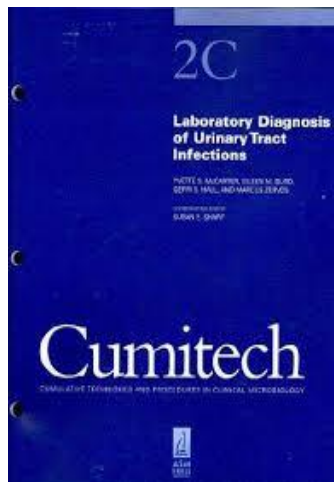
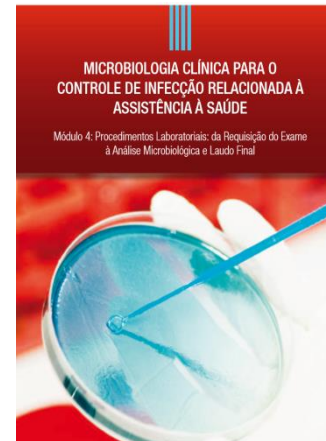
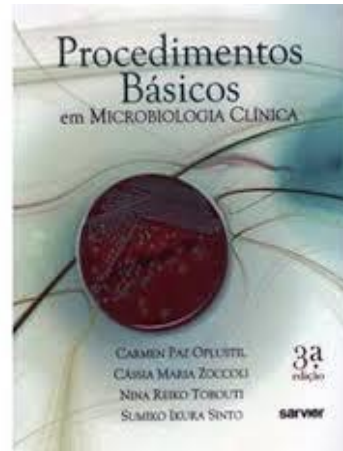
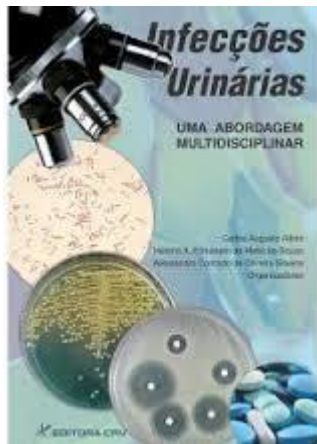
FASE ANALÍTICA



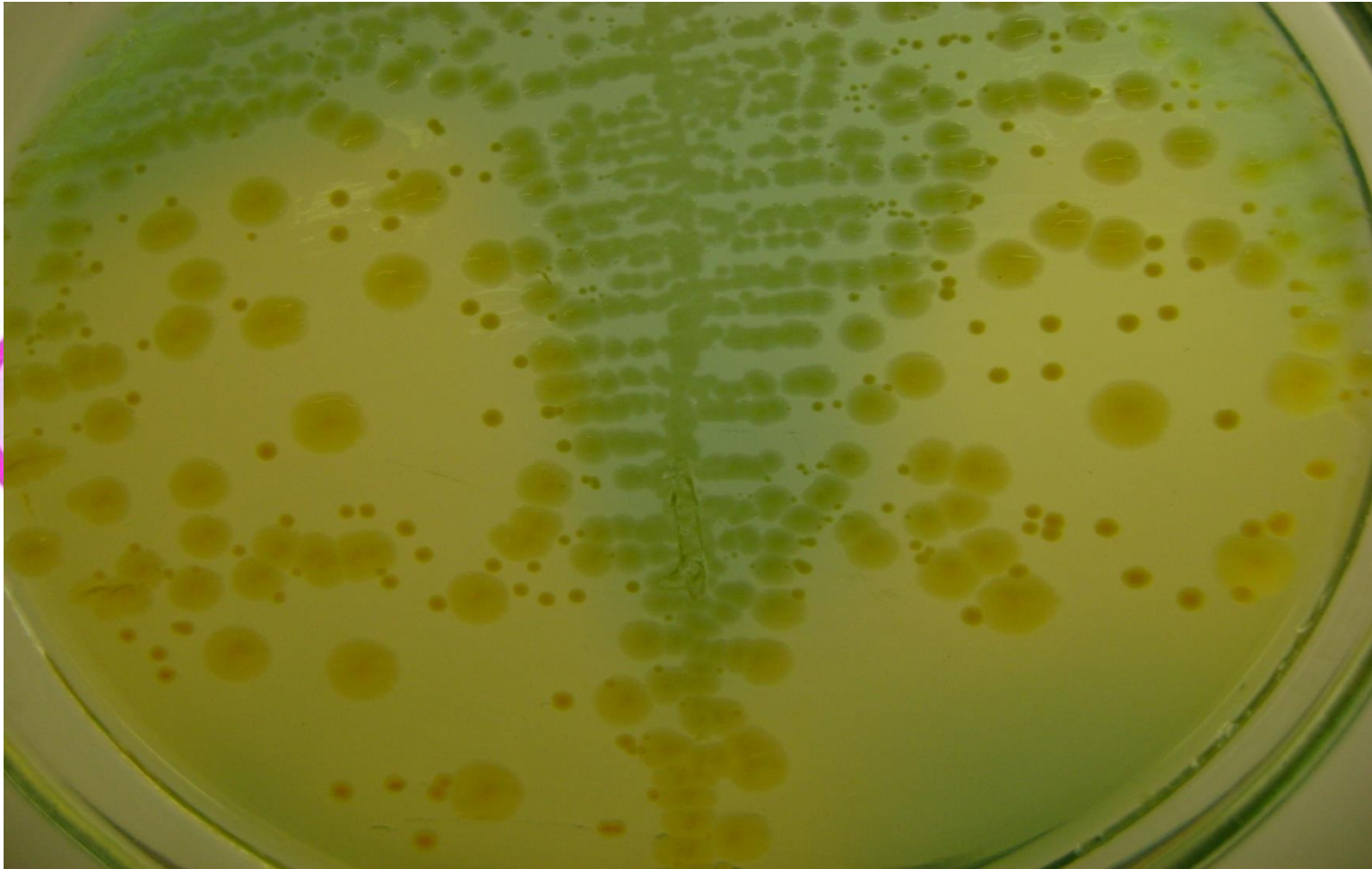
Erros Fase pós-analítica



O laboratório deve seguir um manual de procedimentos suportado pela literatura



Derrubando mitos



de

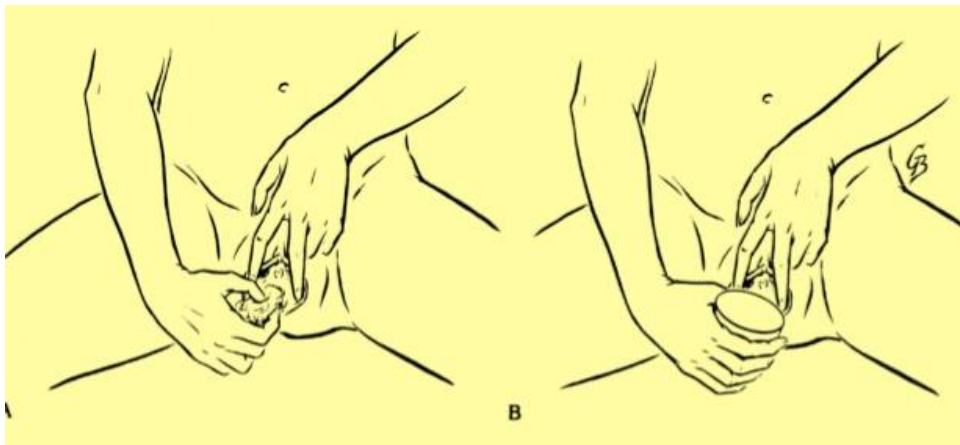
Urina é o material que mais se recebe no laboratório de Microbiologia!

É o segundo sítio mais comum de infecção!

(Cornaglia, EMCM 2012)



Coleta de amostra



Equívoco: pensar que a coleta não é problema da microbiologia



- Instrução de coleta
- Técnicos capacitados responsáveis pela coleta
- Equipe comprometida com o tempo/transporte amostra ao setor de microbiologia
- Especificações claras sobre amostras inadequadas

Qual a informação que o laboratório deve saber para fazer urocultura? O que eu acredito!

- ✓ Sexo do paciente
- ✓ Idade
- ✓ Uso ou não de antimicrobianos
- ✓ A hora da coleta da amostra
- ✓ A hora da semeadura do material
- ✓ Se existe cultura anterior
- ✓ Onde foi realizada
- ✓ Onde e como amostra foi obtida
- ✓ Se existem resultados de parcial de urina



Quais as informações clínicas que o laboratório tem que saber para fazer cultura de urina?

EMCM 2012

Idade, informações clínicas como gravidez, anomalias anatômicas ou funcionais, distúrbios neurológicos, doença crônica do T.U, operação ou hospitalização recente, terapia imunossupressora, diabetes com tratamento prévio com antimicrobianos, sinais clínicos de pielonefrite (dor lombar e/ou febre) e como a urina foi coletada



O QUE O LABORATÓRIO SABE A RESPEITO DAS URINAS RECEBIDAS?



Análise crítica de requisições de cultura de urina

Amostras:

- a. Sem constar sexo 59%
- b. Sem constar idade 57%
- c. Sem constar indicação clínica: 81%!!!



Questionário:

44 % dos pacientes não apresentavam
sintomatologia de ITU

É possível confiar numa única amostra de urina?

✓ **Mulheres**

Depende da maneira que se utiliza para coletar:

Uma amostra = 80%

Duas amostras = 90%

Três amostras = 100%

Coletar 2 amostras!!!

✓ **Homens**

Uma amostra = 100% (cond. esp)

✓ **Crianças**

Válidas se negativas



Como valorizar uma amostra de urina?

Supervisão direta: coleta no laboratório



Urina Coleta espontânea: jato médio

- Sempre que possível a primeira urina da manhã: mínimo 2h/Ideal 4h
- Não forçar a ingestão de líquido: dilui a urina
- Diminuindo a contagem de colônias bacterianas: resultados falso negativos



Papel mais importante para diminuir a contaminação em mulheres é **separar e segurar os grandes lábios** durante a coleta

(Baerheim A. 1991,1992)



Gaze embebida com
sabonete ou clorexidina
aquosa 0.2%

2 dedos de urina.

Método de coleta - Mulheres



Lave as mãos



Afaste os grandes lábios.



Lave a região vaginal
com água e sabão.
Enxágue em abundância.



Enxugue de frente
para trás
com papel toalha.



Comece a urinar
no vaso sanitário.



Sem interromper a micção,
coloque o copo descartável
na frente do jato urinário e
colete aproximadamente
2 dedos de urina.



Despreze o restante da
urina no vaso sanitário.



Feche o frasco.
Leve ao laboratório
imediatamente.



Transfira a urina do copo
descartável para o tubo cônico
previamente identificado feche
a tampa e entregue ao
coletador

Jato Médio Feminino

- Higiene genital tradicional (sabão neutro, clorexidina aquosa 0.2%)
- Coleta do jato médio com higiene prévia não minimiza a contaminação quando comparada a coleta direta em **mulheres jovens sintomáticas (242 amostras)**
 - Jato médio sem higiene contaminação 29%
 - Jato médio com higiene 32%
 - Jato médio com higiene e tampão vaginal 31%

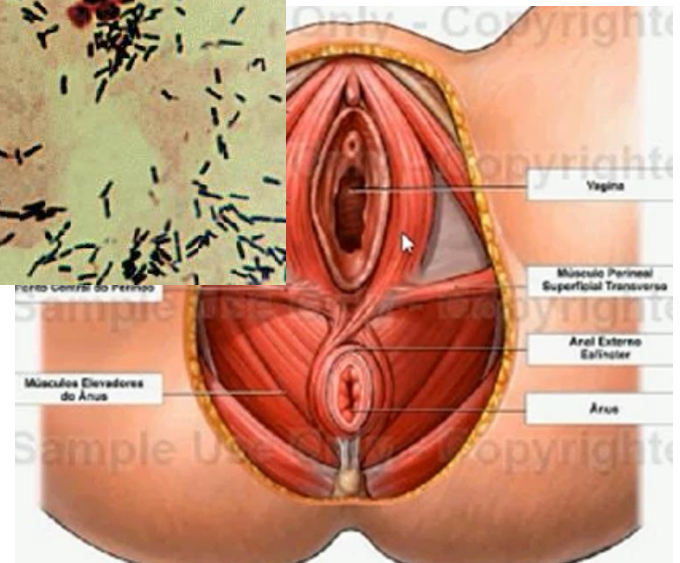
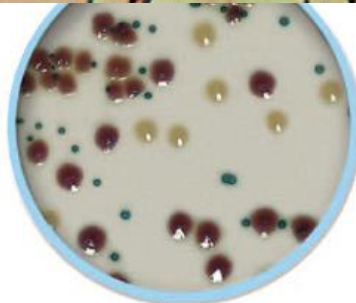
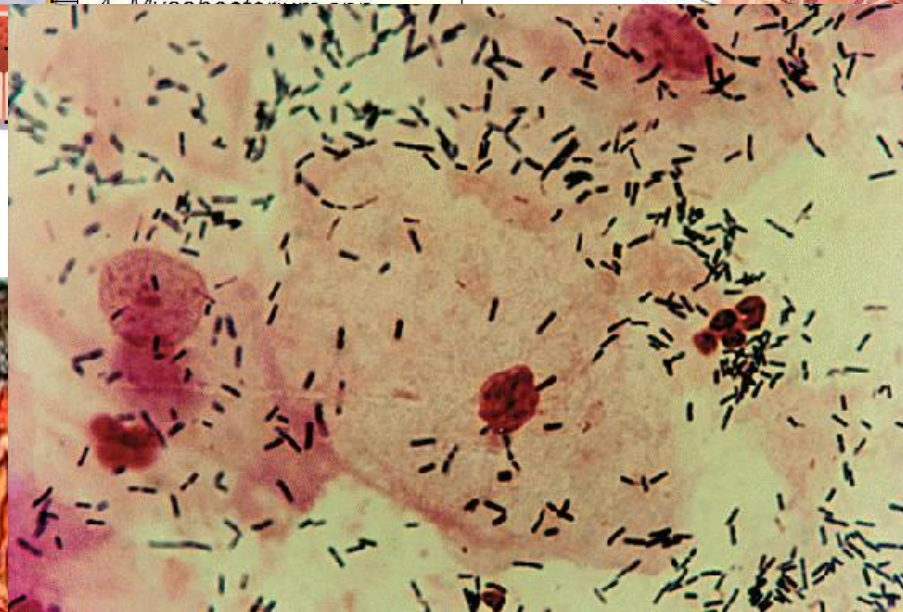
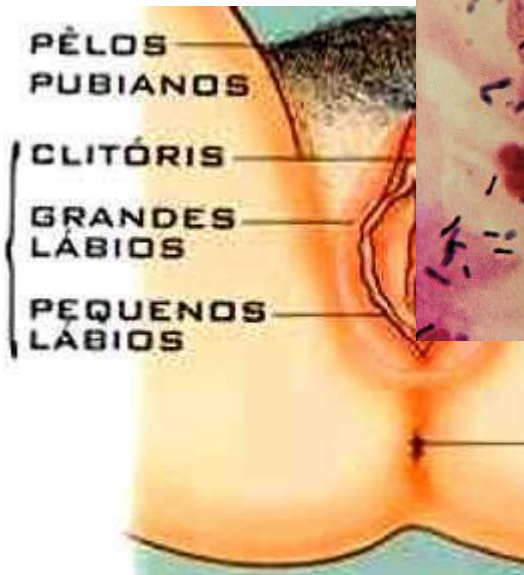
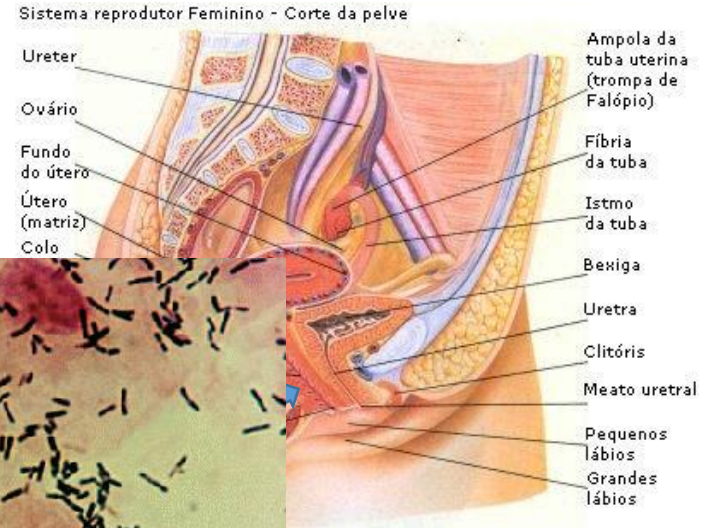
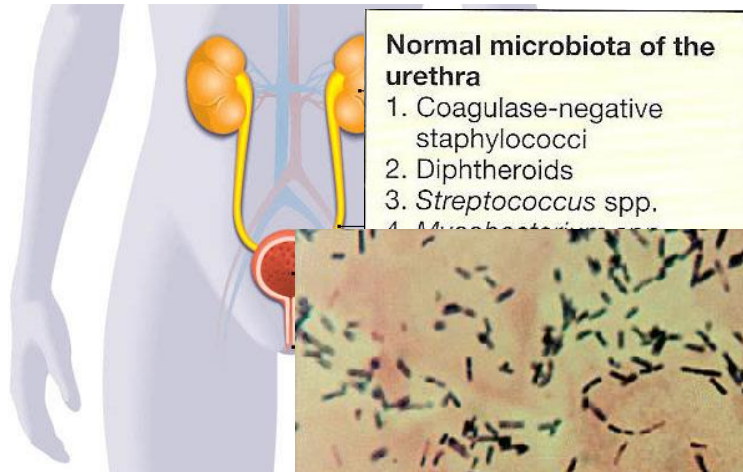
(Lifshitz E. 2000)

- Recomendação de higiene genital

(Baron. Clin Infect Dis, 2013; LaRocco. Clin Microbiol Rev, 2016)



Contaminação coleta feminina



Método de coleta - Homens



Gaze embebida com sabonete ou clorexidina aquosa 0.2%



Lave as mãos



Exponha a glânde (cabeça) e mantenha o prepúcio (pele) retraído.



Lave com água e sabão. Enxague com água em abundância.



Enxugue com o papel toalha.



Comece a urinar no vaso sanitário.



Sem interromper a micção, coloque o copo descartável na frente do jato urinário e colete aproximadamente 2 dedos de urina.



Despreze o restante da urina no vaso sanitário.



Feche o frasco. Leve ao laboratório imediatamente.

100 % confiabilidade



Transfira a urina do copo descartável para o tubo cônico previamente identificado feche a tampa e entregue ao coletador

Jato Médio Masculino

- Diferença entre coleta do jato médio e primeiro jato
- Não há diferença entre coleta com ou sem higiene prévia (amostragem pequena)
- Acurácia JM ~ Cateter alívio e punção suprapúbica



Normal microbiota of the urethra

1. Coagulase-negative staphylococci
2. Diphtheroids
3. *Streptococcus* spp.
4. *Mycobacterium* spp.
5. *Bacteroides* spp. and *Fusobacterium* spp.
6. *Peptostreptococcus* spp.

Coleta em gestantes...

- Coleta em maca ginecológica
- Dispositivo especial para coleta

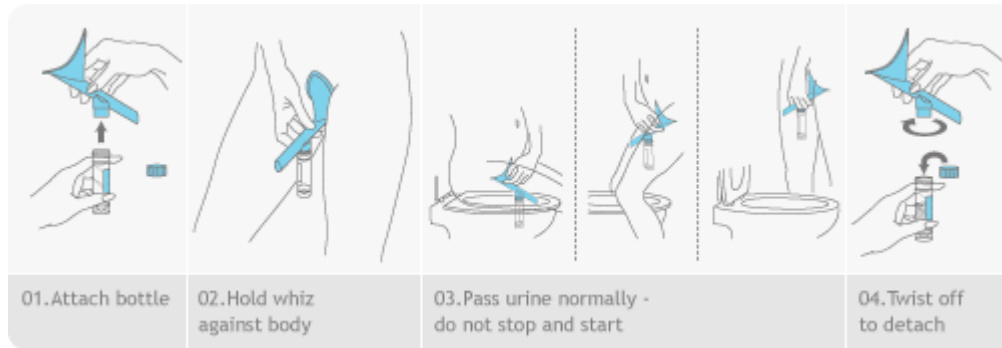
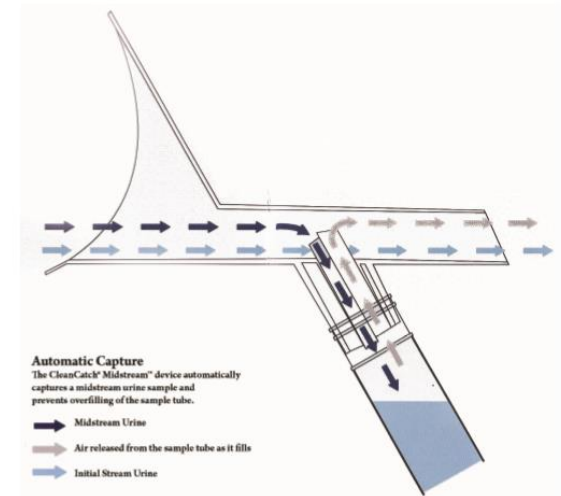


Figure 1: The CleanCatch[®] Midstream device

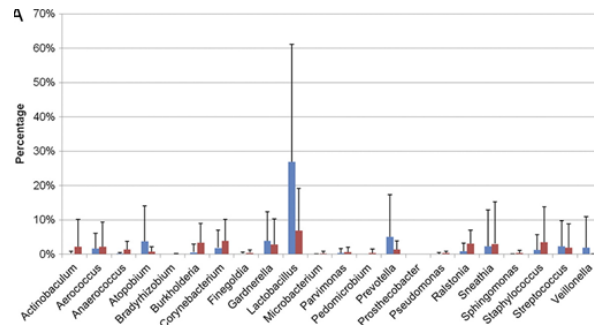


Evidence of uncultivated bacteria in the adult female bladder.

Wolfe AJ¹, Toh E, Shibata N, Rong R, Kenton K, Fitzgerald M, Mueller ER, Schreckenberger P, Dong Q, Nelson DE, Brubaker L.

Objetivo: testar se a bexiga (feminina/adulta) contém bactérias não identificadas nos procedimentos de rotina. Participantes declaravam estar sem sintomas de ITU.

Presença de bactérias nas amostras (jato médio, cateter e punção supra-púbica) foi detectada por cultura, microscopia e sequenciamento (16S rRNA).



Microbiota na bexiga coletada por cateter transuretral (azul) e por punção suprapúbica (vermelho) em mulheres

- Ausência de sintomas clínicos nas pacientes devido ao pequeno número de uropatógenos ?
- Micro-organismos fastidiosos, anaeróbios e de difícil cultivo como *Ureaplasma*, *Actinobaculum* spp e *Aerococcus* spp são agentes de alguns casos de síndromes do trato urinário

Coleta Infantil



- Higienizar região genital com gaze embebida em clorexidina aquosa 0,2% de frente para trás,
 - Menina, abrir e limpar bem os grandes lábios,
 - Meninos, retrair e limpar bem a região do prepúcio
- Utilizando nova gaze embebida em água repetir a operação para retirar o clorexidine
- Fixar o saco coletor
- Repetir a higienização e trocar o coletor a cada 30 a 45 minutos
- Examinar a cada 10 minutos
- Retirar cuidadosamente o coletor, fechar e levar na microbiologia
 - Contaminação fecal = desprezar a amostra

Coletor urinário



CLINICAL PRACTICE GUIDELINE

Urinary Tract Infection: Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Management of the Initial UTI in Febrile Infants and Children 2 to 24 Months

- Sociedade Americana de Pediatria não recomenda...

- Saco coletor tem alto valor PN (Pediatrics 2011)
 - Menina falso positivo 88% (positividade ITU 5%)
 - Menino febril falso positivo 95% a 99% (positividade 2%)



- **ITU + febre crianças pequenas**
- alta probabilidade de envolvimento renal, associada com complicações como pielonefrite grave e sepse, e a longo termo a sequelas como dano renal e hipertensão que pode evoluir para insuficiência renal e necessidade de transplante
- Método acurado e confiável de coleta
 - Punção suprapúbica
 - Sonda alívio
- Diagnóstico deve ser feito com base na presença de ambos: piúria e contagem de colônias em urinas coletadas por sonda ou punção (Pediatrics 2011)



Nova técnica rápida e segura para coleta de urina de recém nascido

- Criança não deve ter urinado por 30 minutos
- Deve ter recebido alimentação recentemente



– Frequência 100 batidinhas/min : 30 S

- Massagear a área lombar paravertebral

Hospital Universitário: Madrid

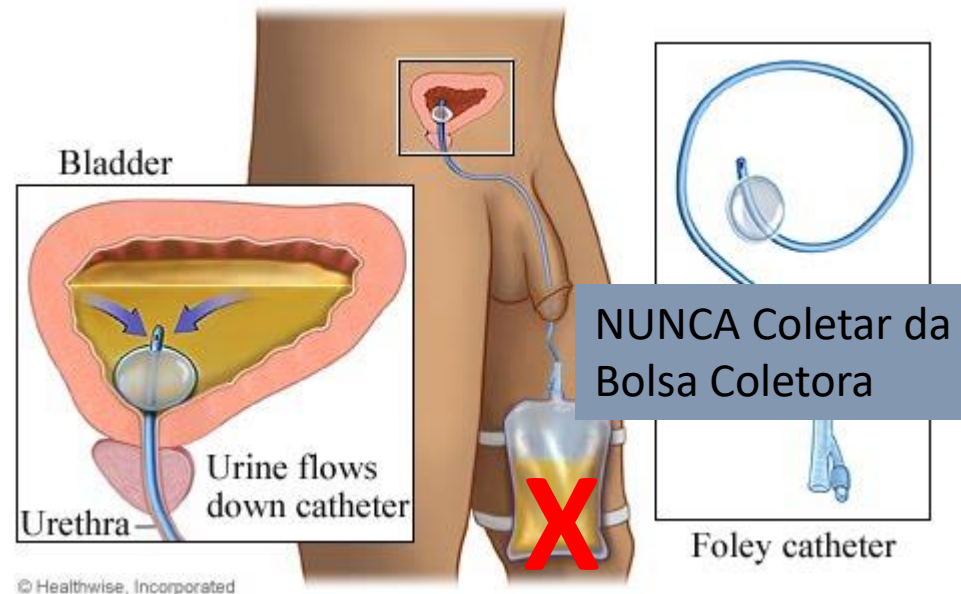
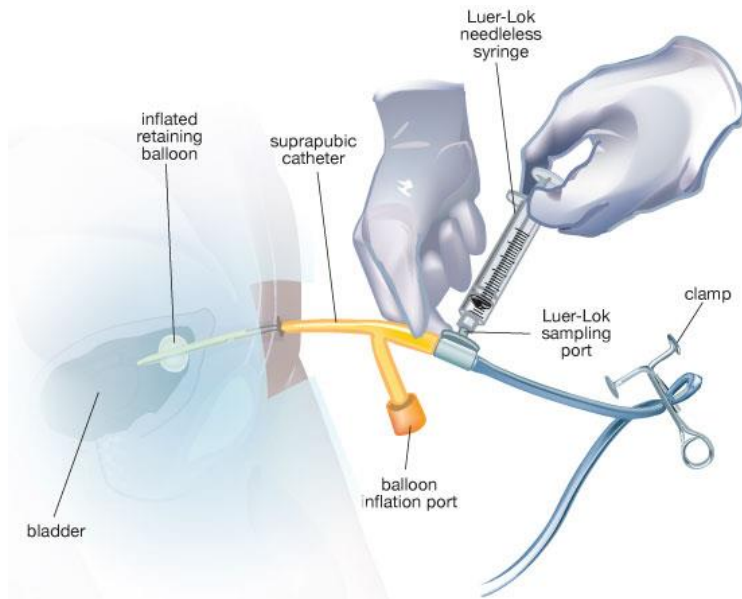
Sucesso obtenção JM dentro de 5 minutos

- R 86.3% dos recém nascidos (<30 dias)
- C Tempo médio 45 s

Técnica rápida e segura elimina o desconforto e o tempo associados à utilização de coletor, melhora a qualidade da amostra

Paciente com Cateter urinário

- Fechar a sonda 30 minutos
- Gaze embebida em álcool 70% -desinfetar a canula acima do bloqueio
- Agulha e seringa estéreis aspirar a urina



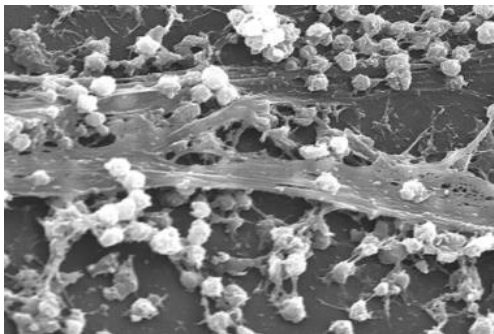
ITU associada ao cateter:

bacteriúria em paciente com sinais/sintomas atribuídos ao trato urinário e sem outra fonte alternativa

- Pacientes assintomáticos, não solicitar cultura... (gestantes/pacientes que serão submetidos a procedimentos urológicos)

Nicolle Infect Dis Clin North Am 2012

- Formação biofilme:
 - Dentro e fora do cateter logo após a inserção



Hooton et al. Clin Infect Dis, 2010

Turvação e/ou mal cheiro na urina NÃO tem correlação com infecção (em cateterizados.....!)

- No paciente cateterizado, a presença ou ausência de odor ou turvação não devem ser usadas para diferenciar CA-ASB (bacteriúria assintomática relacionada a cateter) de CA-UTI (infecção do trato urinário relacionada a cateter) ou como indicação para urocultura ou terapia antimicrobiana

(Hooton et al. Clin Infect Dis, 2010)



Bacteriúria associada ao cateter

- Risco:
 - Incidência diária 3 a 8%
 - Após 1 mês = risco 100%



- Risco de ITU
 - 10 a 25% no paciente com bacteriúria

Coleta

- **Cenário Ideal**

Remover o cateter e coletar o Jato Médio

- **Cenário Bom**

Substituir o cateter e coletar a urina do novo cateter

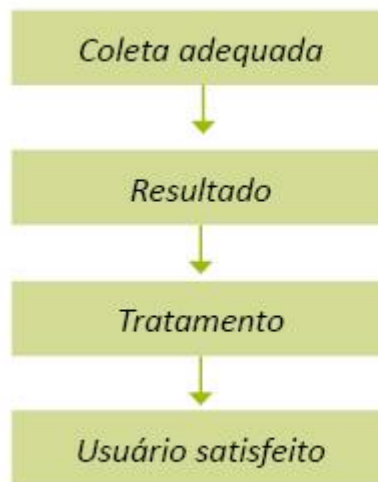
- **Pior cenário (e muito comum)**

Coletar a urina do cateter de demora (velho)





Instruções de Coleta



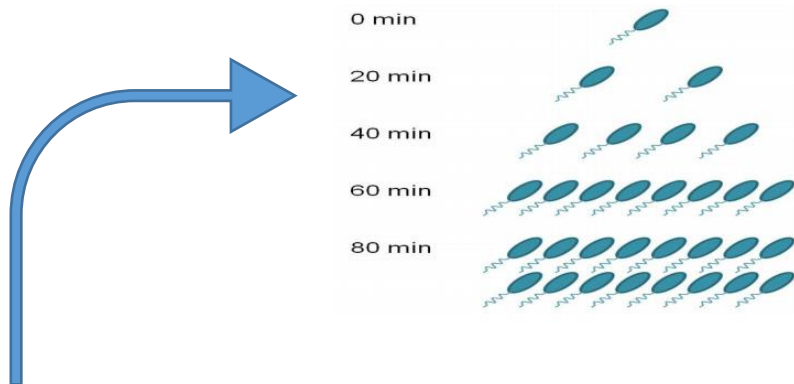
Transporte da amostra



Quanto tempo tenho antes de processar a amostra ?

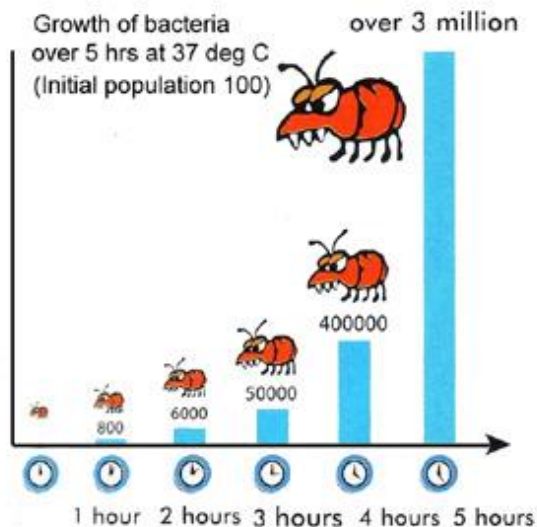
Transporte

- Recomendações
 - Até 2 horas em temperatura ambiente



Urina não deve ficar a temperatura ambiente mais que 30 minutos

Equívoco: não monitorar o tempo entre a coleta a e a sementeadura



- 2 horas?
- 30 minutos?
- Mas eu não registro o horário da coleta!

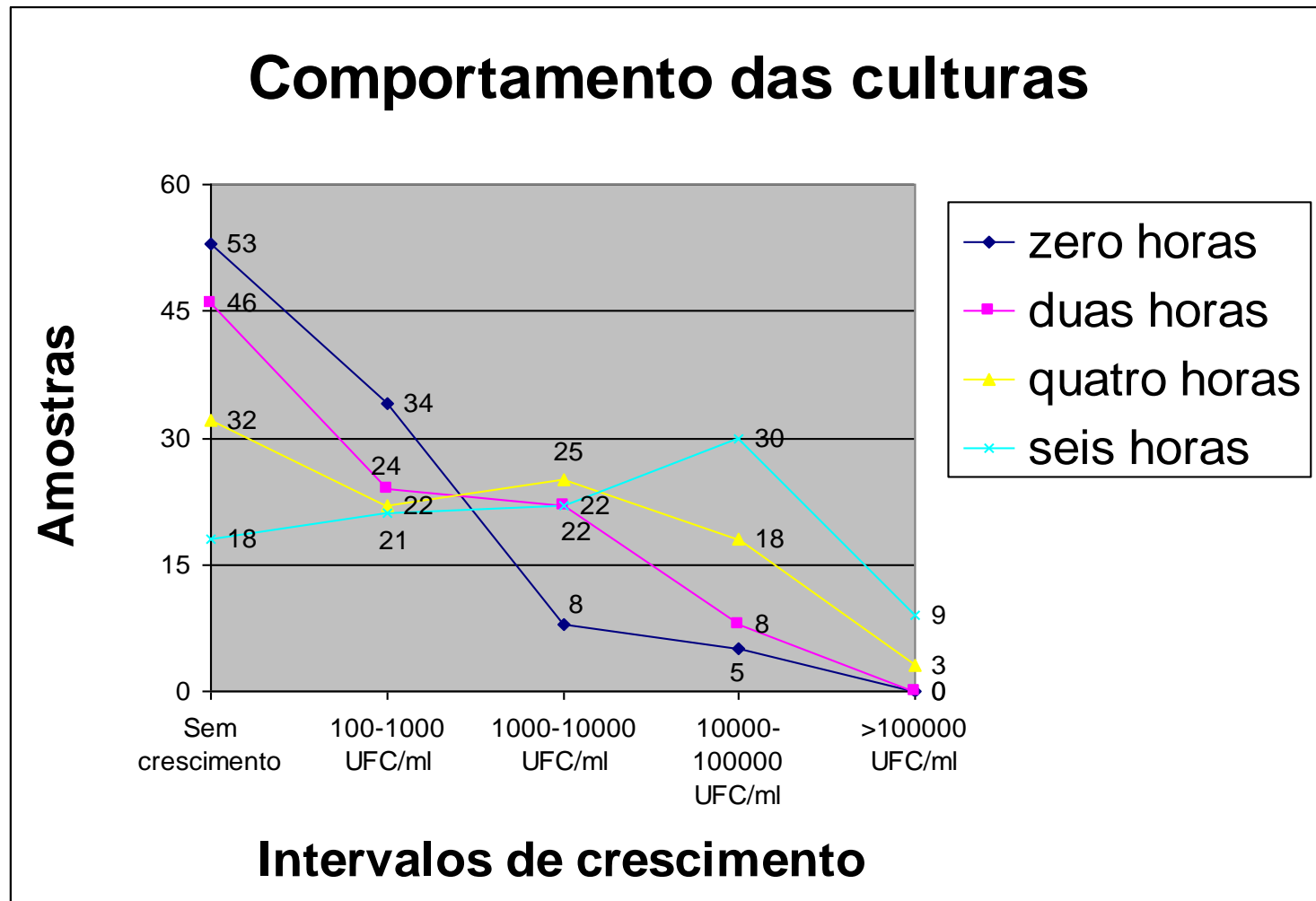


Se faz coleta domiciliar, deveria utilizar conservante bacteriostático...

Melhorar o VPP : verdadeiros positivos



Efeito do armazenamento das urinas destinadas a cultura



Processamento da amostra



FUNÇÃO DO LABORATÓRIO NAS ITU

- Depende do grupo de pacientes
- Mulher jovem saudável: é necessário somente triagem para piúria.
- Outros pacientes: cultura e TSA após
- terapia inicial empírica



Infec. Urin.:Uma abord.multid, 2012

Quando é indicada a cultura e a pesquisa de leucócitos?

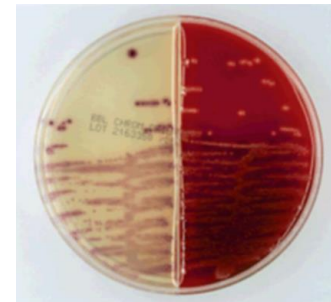
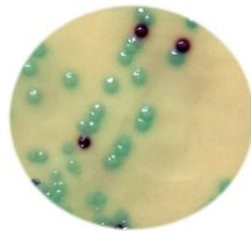
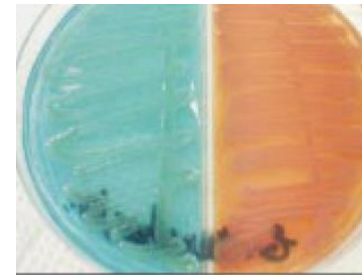
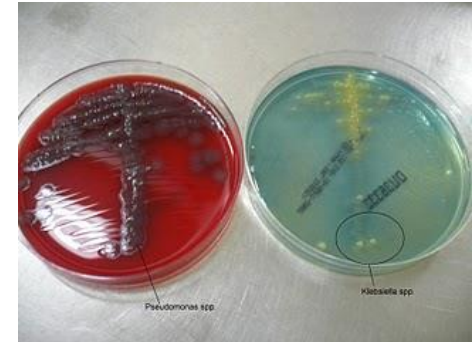
È indicada em crianças, em adultos jovens, em ambos os sexos de pacientes com diabetes ou outra doença crônica, imunossuprimidos, grávidas, ITU recorrente, pacientes com anomalias conhecidas do T.U., para descartar pielonefrite e nas falhas terapêuticas.

Cornaglia, 2012



Processamento da amostra: Seleção do meio de cultura

- CLED
- MacConkey
- Agar sangue
- Agar cromogênico





TIENAM

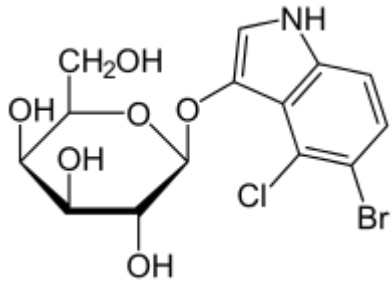
115441

CARACTERÍSTICAS DO MEIO DE CLED

- ✓ Os uropatógenos se desenvolvem
- ✓ De fácil execução
- ✓ Baixo custo
- ✓ Inibe swarming de *Proteus* spp
- ✓ Estabilidade adequada
- ✓ Fornece leitura de lactose
- ✓ Pode ser suplementado para indol

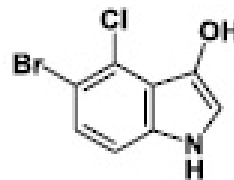


Princípio meio cromogênico:

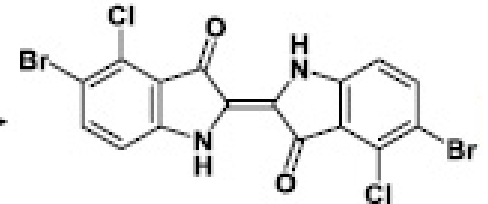


galactosidase

corante azul 5,5'-dibromo-4,4'-dicloro-índigo

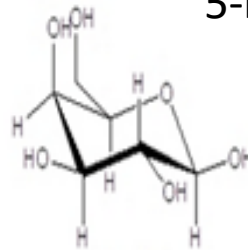


O₂

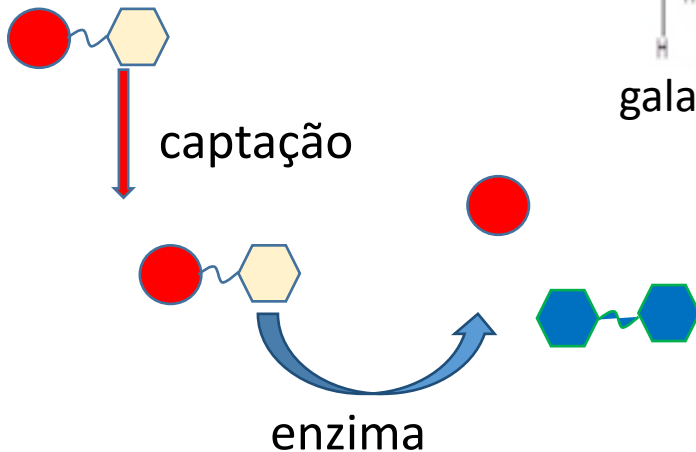


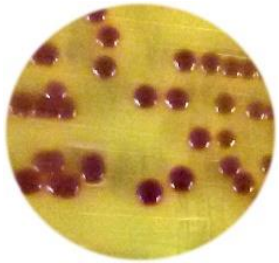
5-bromo-4-cloro-3-indoxil

5-bromo-4-cloro-3-indoxil- β -
D-galactopiranosídeo (X-Gal)

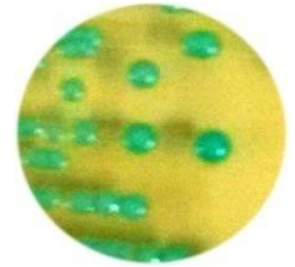


galactose





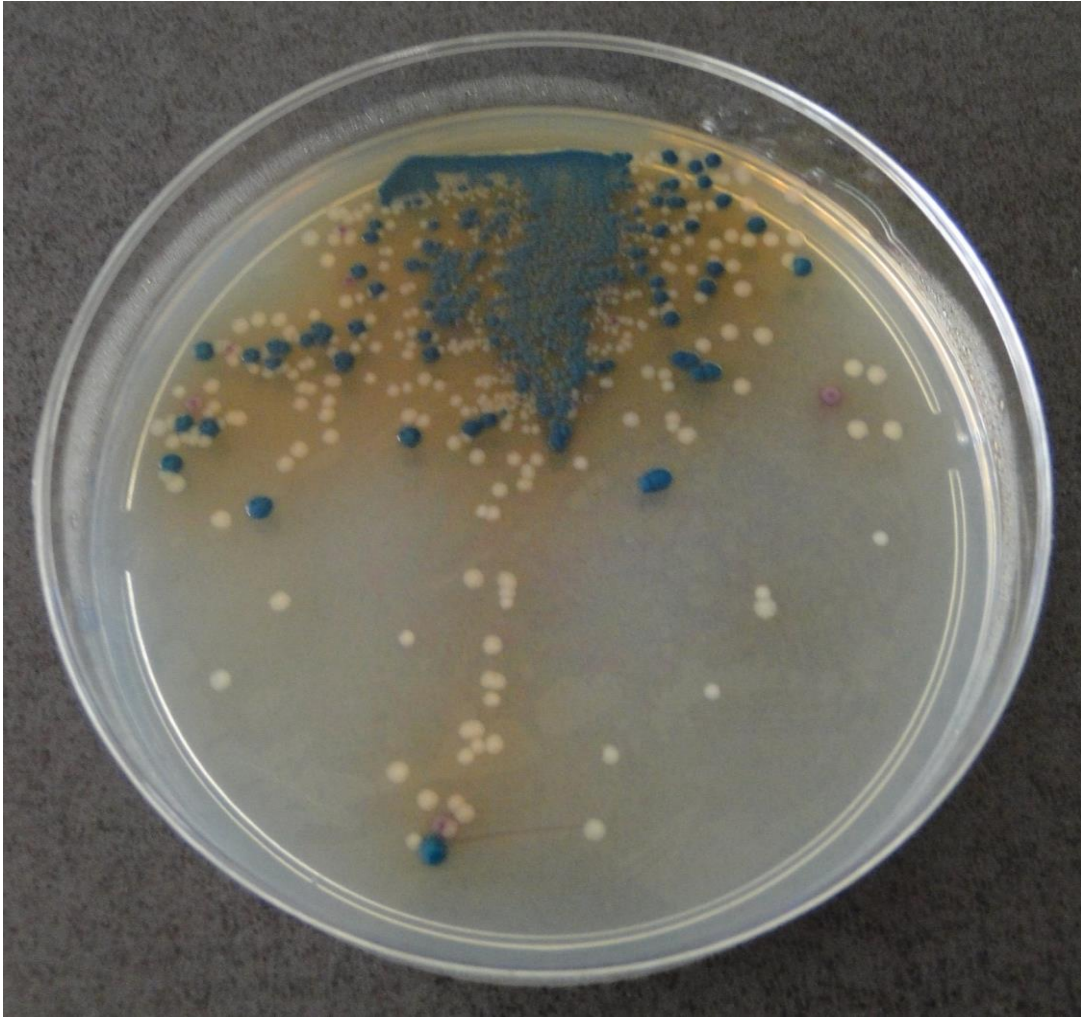
Meio Cromogênico urina



- Numero limitado de espécies são normalmente envolvidas em ITU
 - ***Escherichia coli***
 - 94% expressa β -glucuronidase, muito rara em outros Gram negativos presentes em urina Kilian; Bulow, 1979
 - 99% expressa β -galactosidase
 - especificidade devido a alguns isolados de *Citrobacter freundii* expressarem β -glucuronidase e não expressarem a β -glucosidase Fallon *et al*, 2002. Perry *et al*, 2007
 - ***Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Citrobacter* e enterococos**
 - Produzem β -glucosidase
 - ***Proteeae*** (*Proteus, Morganella* e *Providencia*)
 - Atividade da triptofano deaminase Mazoyer *et al*, 1995

Identificação presuntiva – fique atento!

- *E. coli* (β -glucuronidase / β -galactosidase: indol -> reativo Kovacs)
Alguns isolados de *Salmonella*, *Citrobacter freundii* e *Shigella sonnei* podem se assemelhar à *E. coli*
- Proteus : fazer indol - se negativo *P. mirabilis* ou *P. penneri*
P. penneri : H₂S negativo e CLO-R
- O metabolito da triptofanase espalha no meio de cultura
- Culturas mistas: *E. coli* / *Proteus mirabilis*



Avaliação meios cromogênicos para detecção de patógenos do trato urinário

- Sensibilidade: 97.1%, 99.3%, 99.6% e 99.6%
- Especificidade: *E. coli* 99.1% (*Hafnia alvei*)

Rigail *et al.* JCM, 2015



Processamento da amostra

APPLIED MICROBIOLOGY, July 1969, p. 57-63
Copyright © 1969 American Society for Microbiology

Vol. 18, No. 1
Printed in U.S.A.

Quantitative Urine Culture by Surface Drop Method

JOHANNA C. LORRIER AND HANS A. VALKENBURG

Department of Microbial Diseases, University Hospital, Leiden, The Netherlands

Received for publication 18 April 1969

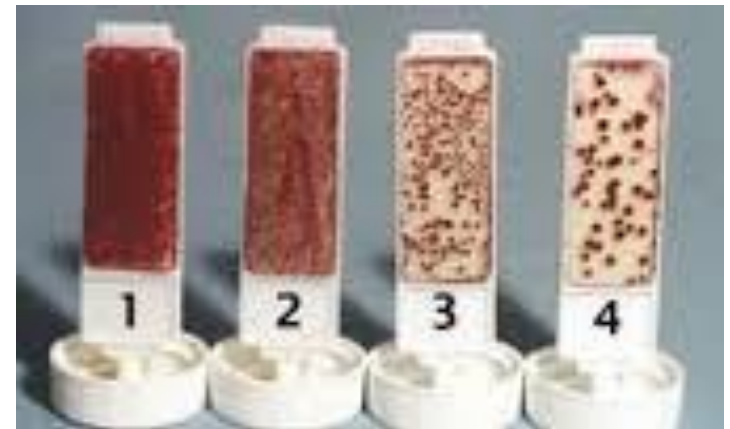
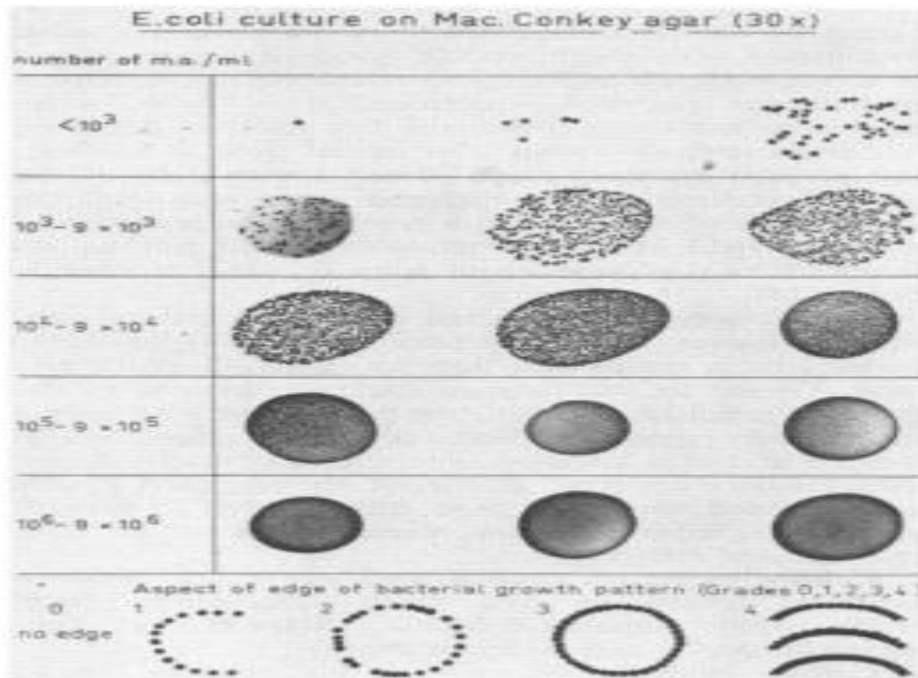


FIG. 1. Aspect of bacterial growth on MacConkey Agar for various counts.

Processamento da amostra

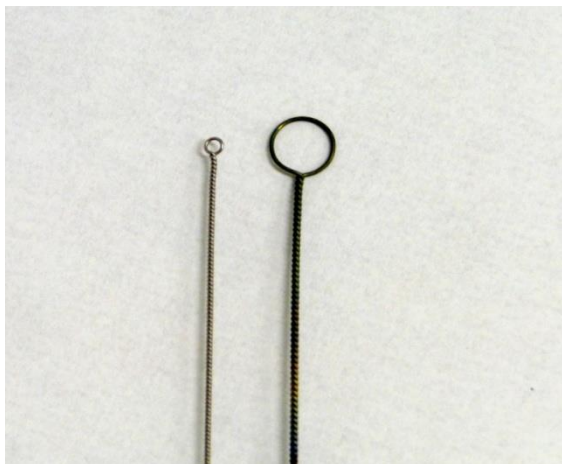
- Rotina
 - Alça de 1 μ l
 - Coleta invasiva : 10 μ l Sonda de alívio, punção suprapúbica CMPH, 2010/Cumitec 2C, 2009
 - Cateter (alívio ou demora) 1 μ l, paciente transplantado 10 μ l SBPC, 2015
 - Suspeita de síndrome uretral aguda 10 μ l Oplustil, 2010
 - Uso de antimicrobiano 10 μ l
 - Alça 10 μ l ANVISA, 2013
 - Suspeita de contagem elevada ou infecção mista 1 μ l



Urocultura

- ✓ Processamento das amostras:
- ✓ Bacterioscopia de gota de urina não-centrifugada
- ✓ Escolha do tamanho da alça calibrada (1:100 ou 1:1.000)
- ✓ Semeadura em Ágar CLED para contagem de colônias ou biplaca Ágar-sangue/Ágar MacConkey ou Cromogênico

Infec. Urin.:Uma abord. multid, 2012)



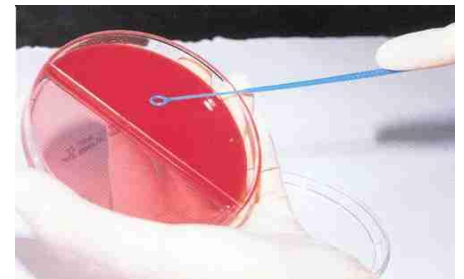
Escolha da alça calibrada pela coloração de Gram

✓ Quando não se observam micro-organismos, nos pacientes assintomáticos e no uso de antimicrobianos

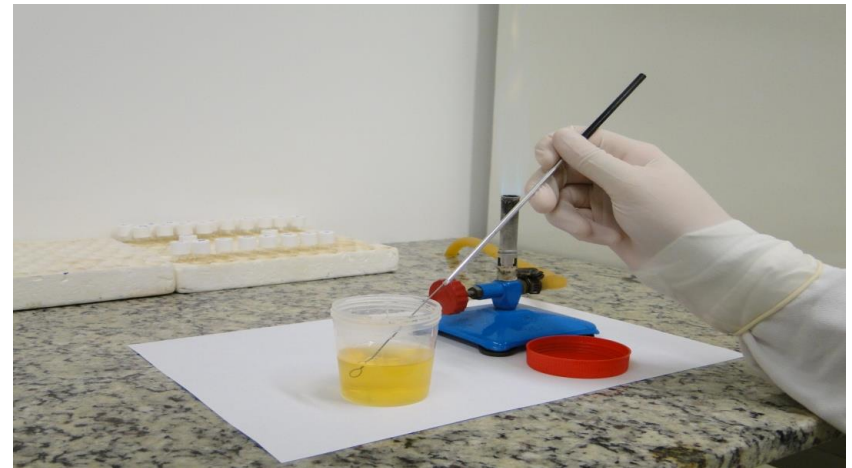
Alça 1:100

✓ Quando são observados micro-organismos

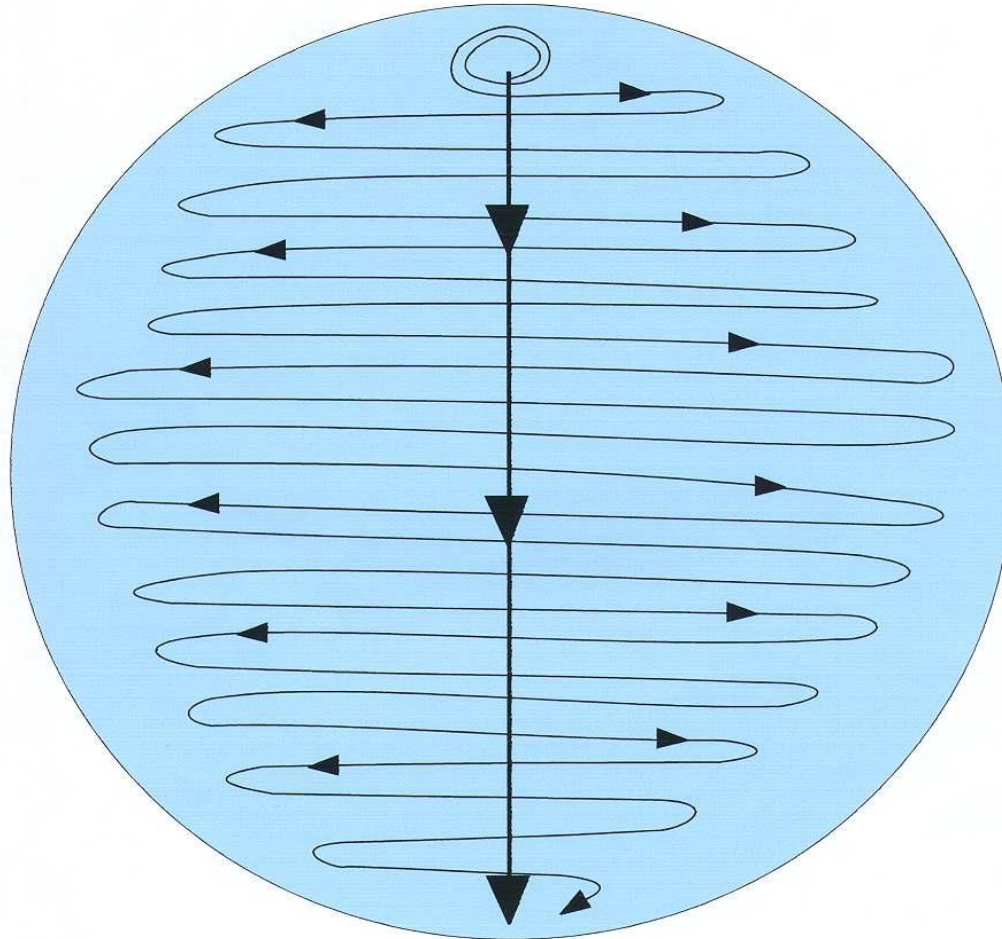
Alça 1:1.000



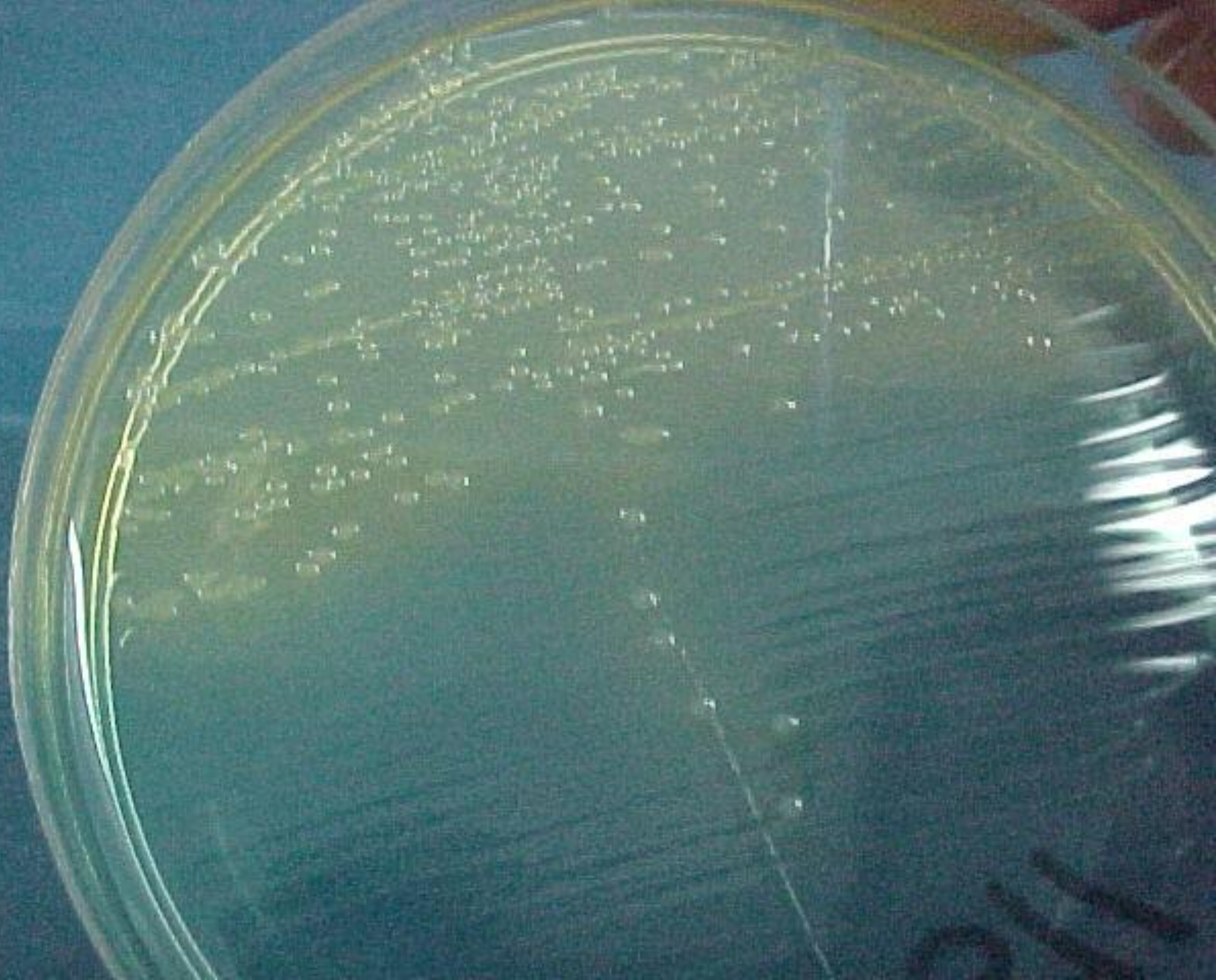
Técnica de sementeira

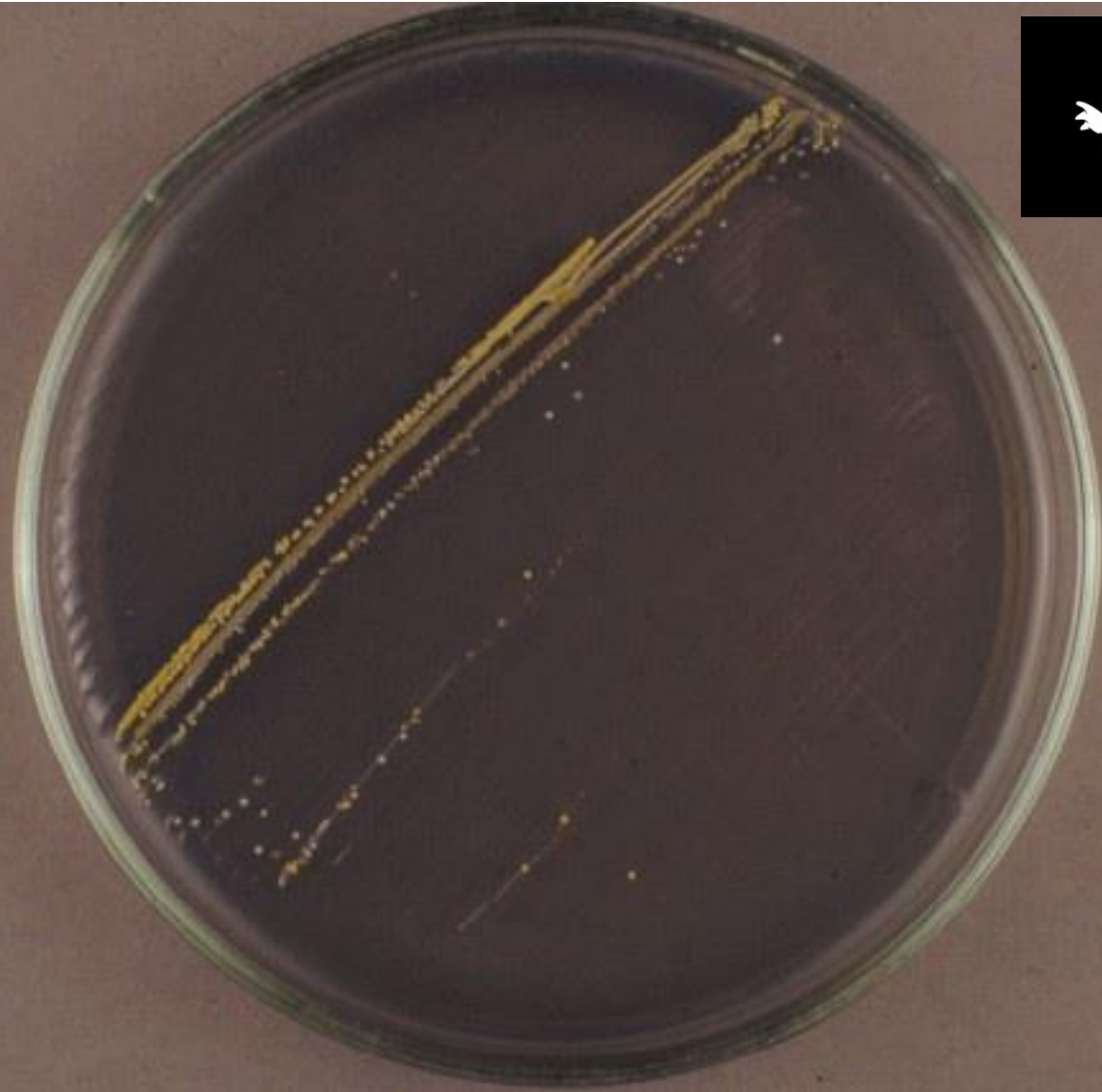


Processamento Inicial das Culturas Métodos Utilizados



**Técnica de Inoculação de
Urina com Alça Calibrada**





813

The Clinical Urine Culture: Enhanced Techniques Improve Detection of Clinically Relevant Microorganisms

Travis K. Price,^a Tanaka Dune,^b Evann E. Hilt,^a Krystal J. Thomas-White,^a Stephanie Kliethermes,^c Cynthia Brincat,^{b,d} Linda Brubaker,^{b,d} Alan J. Wolfe,^a Elizabeth R. Mueller,^{b,d} Paul C. Schreckenberger^a

- Em pacientes sintomáticas, alguns uropatógenos só foram isolados em volumes maiores de amostra 100µl
- *Aerococcus urinae*, *Alloscardovia omnicolens*, *Enterococcus faecalis* e *Streptococcus anginosus*

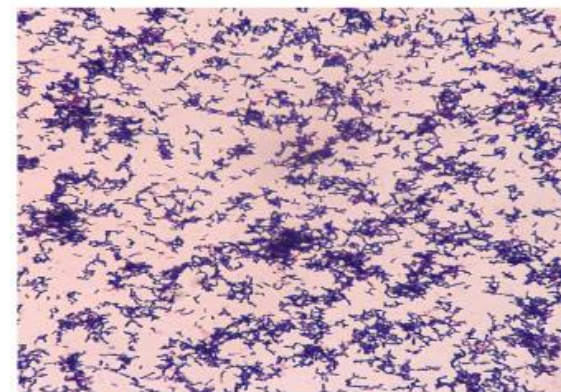
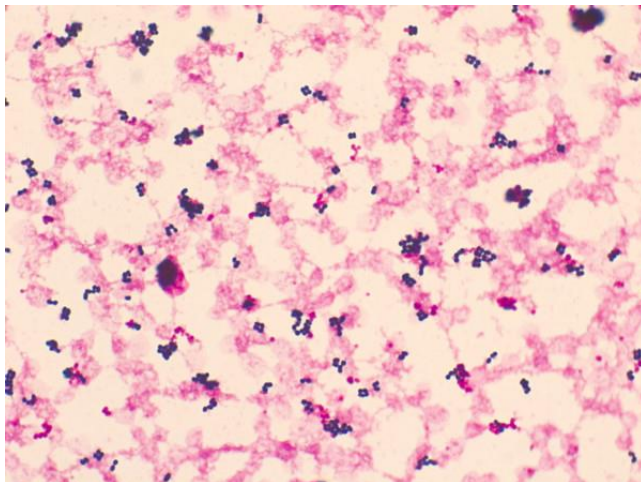


Fig.1: Gram staining of *A. omnicolens*

The Clinical Urine Culture: Enhanced Techniques Improve Detection of Clinically Relevant Microorganisms

Travis K. Price,^a Tanaka Dune,^b Evann E. Hilt,^a Krystal J. Thomas-White,^a Stephanie Kliethermes,^c Cynthia Brincat,^{b,d} Linda Brubaker,^{b,d} Alan J. Wolfe,^a Elizabeth R. Mueller,^{b,d} Paul C. Schreckenberger^a

TABLE 1 Summary of urine cultivation protocols for catheterized urine specimens

Protocol	Vol (μl) of urine	Medium or media	Conditions	Incubation microbiology	
Standard urine culture	1	BAP, MacConkey agar	Aerobic, 35°C	24	33% recuperação de uropatógenos
Modified urine culture	1	BAP, MacConkey agar	5% CO ₂ , 35°C	24, 48	
Expanded-spectrum EQUIC	1, 10, and 100	BAP, MacConkey agar	Aerobic, 35°C	24, 48	
		BAP, chocolate agar, CNA agar	5% CO ₂ , 35°C	24, 48	84% recuperação de uropatógenos
		CDC anaerobic BAP	Anaerobic, 35°C	48	
		CDC anaerobic BAP ^b	Microaerophilic gas mixture (5% O ₂ , 10% CO ₂ , 85% N), 35°C	48	
Streamlined EQUIC	100	BAP, MacConkey agar, ^c CNA agar	5% CO ₂ , 35°C	48	1–150 ^d

^a Refers to the patient samples on which the corresponding protocol assessed the urinary microbiota. For diagnosis, the standard urine culture protocol was used on patient samples 1 to 107; the modified standard urine culture was used on patient samples 108 to 150. For research, all patient samples were assessed by expanded-spectrum EQUIC.

^b The CDC anaerobic BAP microaerophilic gas mixture condition was used only for samples 10 to 150.

^c The MacConkey 5% CO₂ condition was not part of the expanded-spectrum EQUIC protocol.

^d The streamlined EQUIC protocol was performed using a subgroup of agars/conditions from the expanded-spectrum EQUIC protocol; therefore, it was used on all patient samples.

- Protocolo “racionalizado” melhorou a detecção de uropatógenos provavelmente relevantes em mulheres sintomáticas
- Sugerem protocolo expandido como teste complementar quando mulheres sintomáticas tem urocultura “sem crescimento” e em mulheres com ITU recorrente (coleta por cateter transuretral)

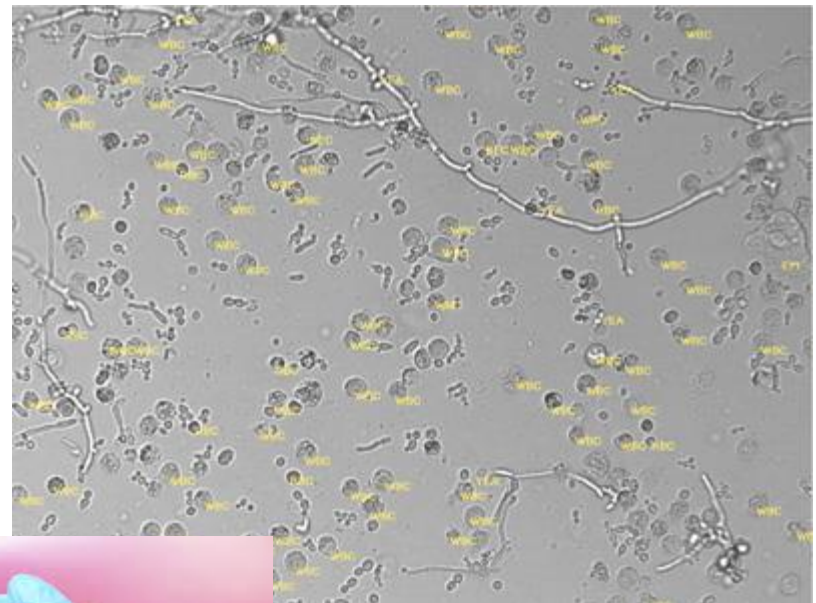
Análise do crescimento bacteriano

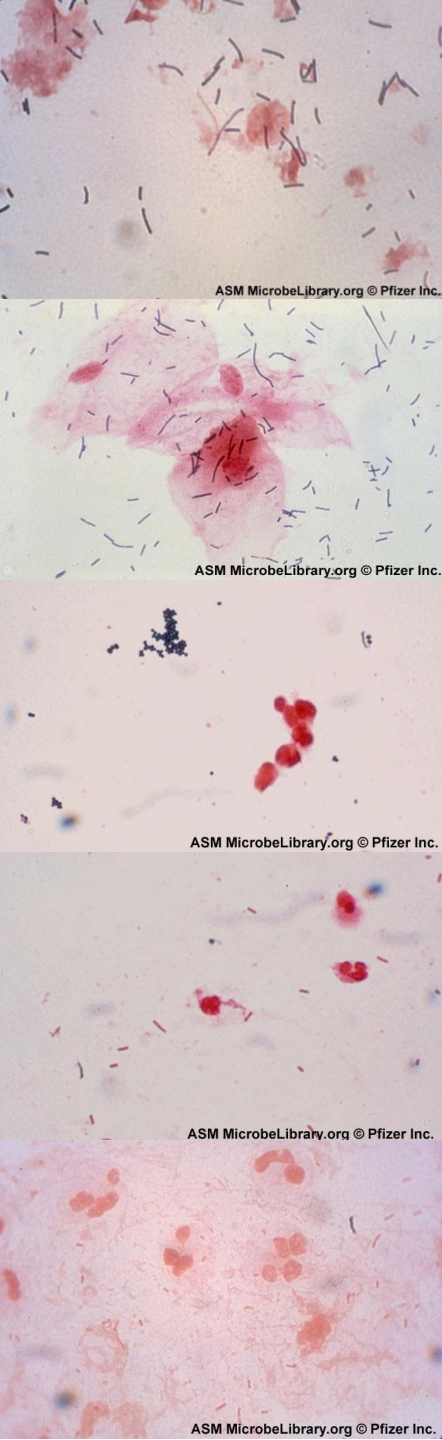
Equívoco: analisar somente o crescimento em placa



- Como foi coletada?
- Quem é esse paciente?
- Tem sintoma de ITU ou leucocitúria?
- Exames anteriores?

Urina: análise do sedimento urinário





- Gram urina
 - 10 μ L urina bem homogeneizada, não centrifugada, secar ao ar, sem espalhar.

Equívoco: Não realizar Gram da urina quando há controvérsia entre a urinálise e a urocultura (se a amostra estiver estocada!)

Refrigerar uma alíquota da amostra de urina

Bacteriúria moderada X Sem desenvolvimento bacteriano



- Solicitar nova amostra

TODA AMOSTRA DE URINA DEVE
FICAR ESTOCADA A + 4° C ATÉ A
LIBERAÇÃO DO RESULTADO



TRIAGEM DE BACTERIÚRIA

Gram de urina não-centrifugada:

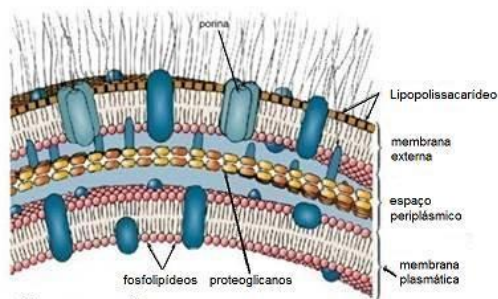
1 gota (50 μ l) fixada e corada

- presença de ≥ 1 bactéria p/ campo de imersão (1000 X) =
contagem de 100.000 UFC/ml

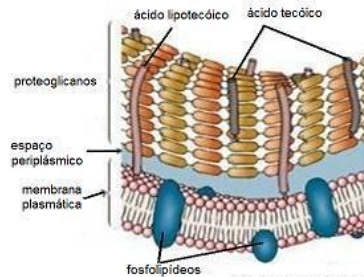
- Especificidade e Sensibilidade $\geq 90\%$
- Insensível para contagens baixas



Como o Gram pode auxiliar no descarte de amostras contaminadas?



Gram negativo



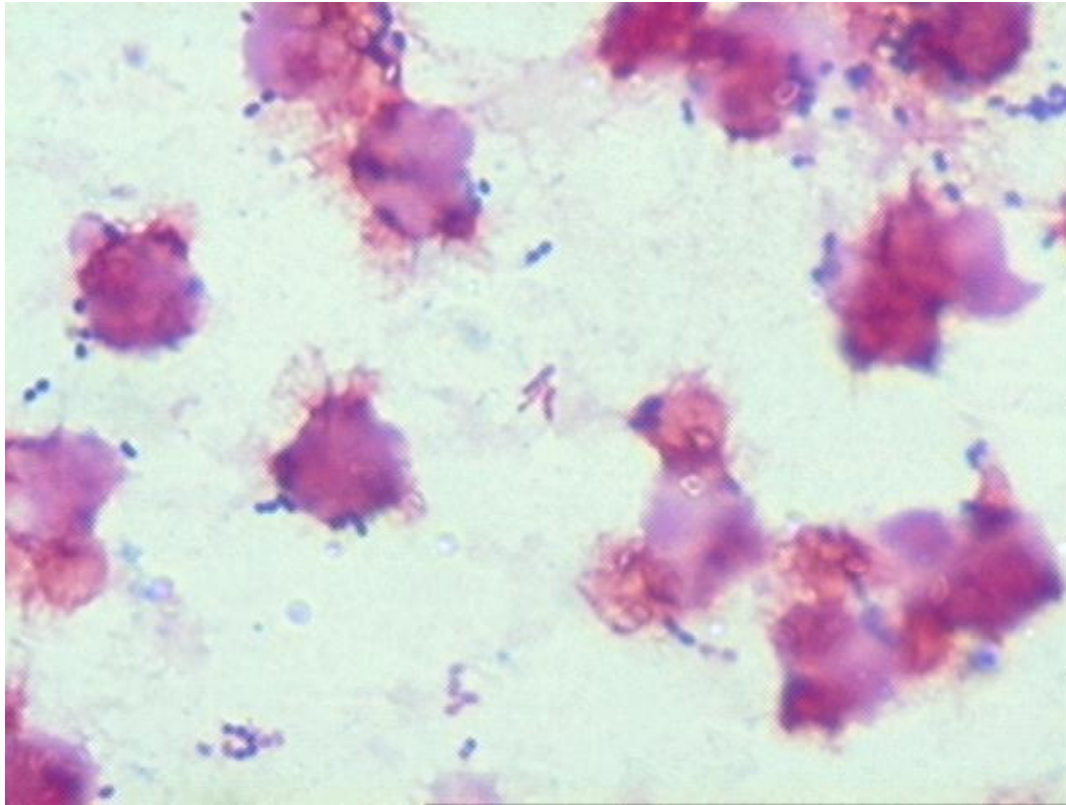
Gram positivo

A UTILIZAÇÃO DA COLORAÇÃO DE GRAM NA GOTA DE URINA COMO FATOR DE REDUÇÃO DE CUSTOS NA CULTURA

TTC-PUC-PR

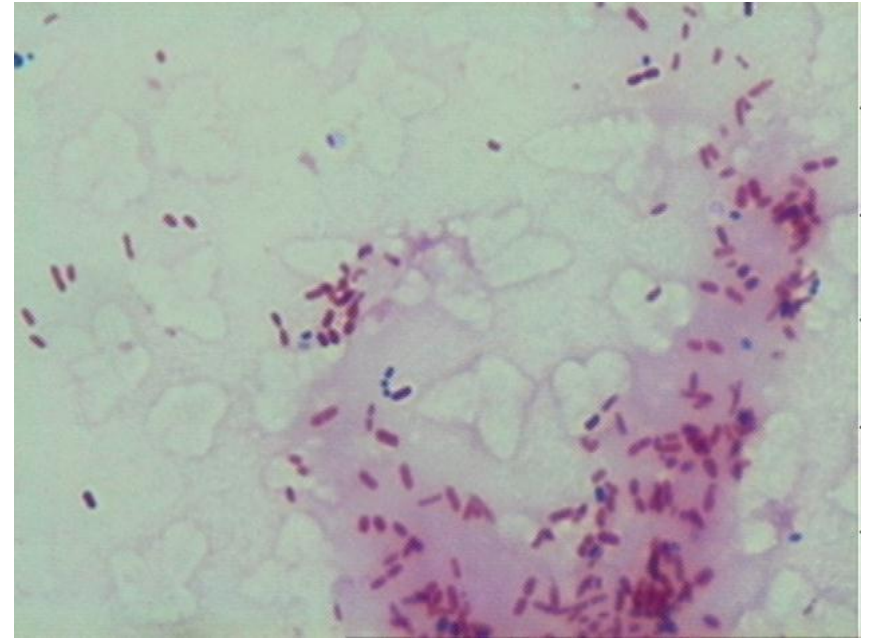
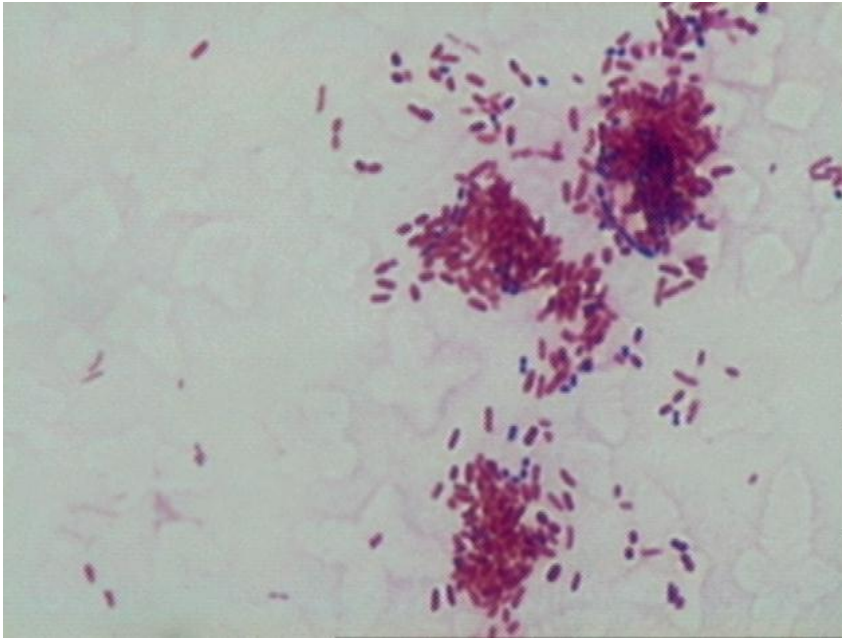


MICROSCOPIA DA GUNC



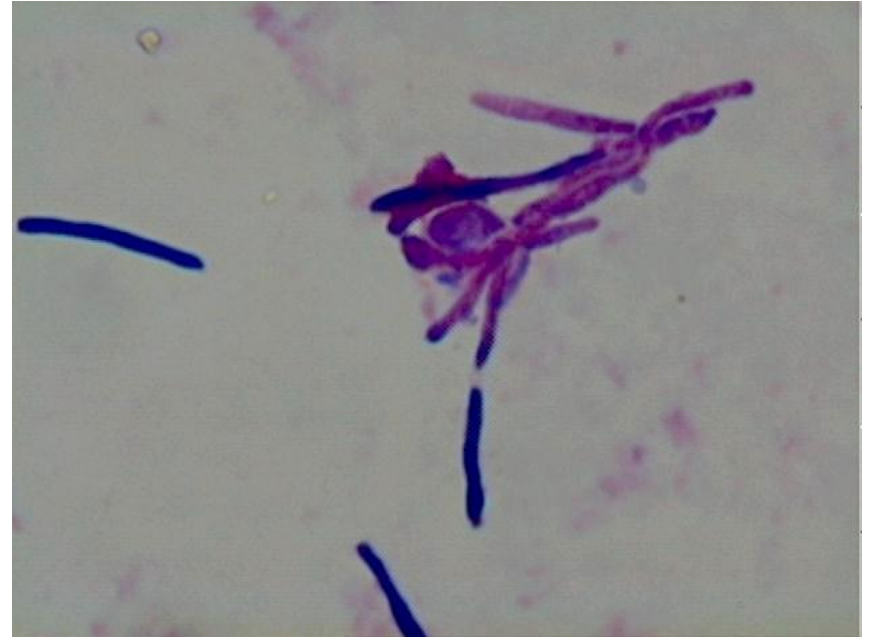
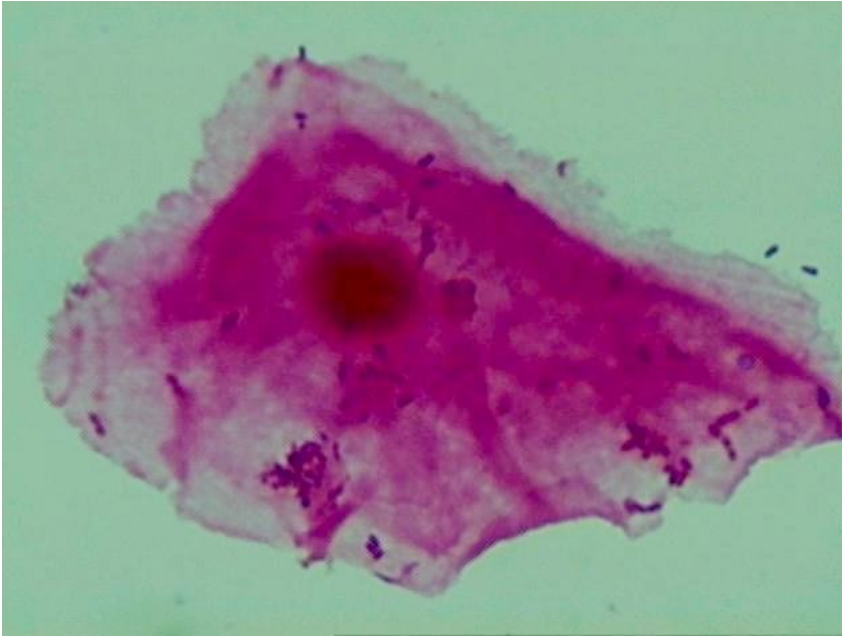
Amostra 413 - contaminação

MICROSCOPIA DA GUNC



Amostra 34 – solicitada nova amostra

MICROSCOPIA DA GUNC



Material obtido dentre as 500 urinas aliqotadas

CONCLUSÃO

- ✓ Implantação de uma técnica de triagem das amostras para que, somente as que não estiverem contaminadas, sejam cultivadas.
- ✓ Redução dos custos em 20,8 % se as amostras contaminadas fossem descartadas.

(Marcon; Souza; Albini, 2007)



Coloração de Gram para urina como triagem

- Objetivo da triagem é eliminar a cultura das amostras negativas
 - Inabilidade de detectar cultura de baixo nível
- Permite visualização de piúria
- Rápido
- Verificação da contaminação
- Observação da morfologia microbiana



**A MAIOR VANTAGEM DO GRAM
É O INÍCIO DA TERAPIA**

Utilidade do Gram em pediatria

- 312 pacientes
- Cultura padrão ouro: 12% (37/312) positivas.
- Urinalise: S. 97,3 % E. 85%
- Gram: S.97,5 % E. 74%
- Urinálise: o VPN foi maior que a coloração de Gram
- A utilização do atb. baseado na urinálise não variou conforme o Gram.
- A utilidade do Gram não justifica o tempo e custo.

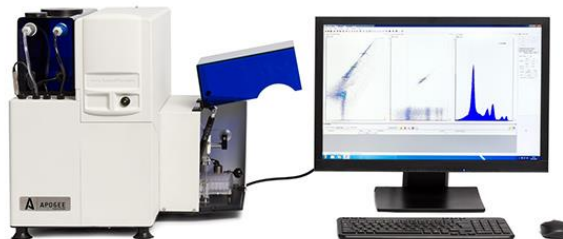
Cantey *et. al.* J.Clin.Microbiol, 2015



A alternativa da citometria de fluxo como triagem em urina

- Vantagem pela rapidez e eliminação de amostras negativas.
- As amostras com contagens baixas e intermediárias não apresentam diferenças entre leuc,erit,cel epit e contag. bacteriana.
- Urinas com altas contagens (sup.100.000) apresentam significativas diferenças entre as células acima quando comparadas com cult. com baixa contagem.

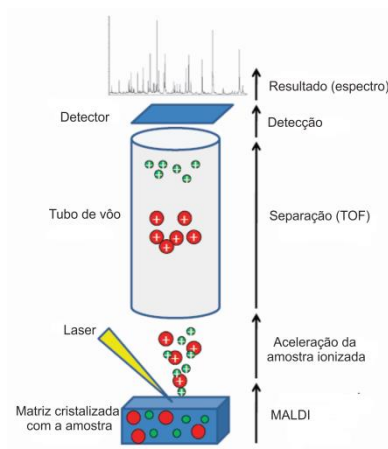
Khane *et al.* 27th ECCMID, 2017



SC-Maldi-TOF-MS em urinas.

- 64 pacientes com ITU
- 89 % das amostras deram resultados +.
- 1 hora preparação da amostra
- A identificação direta bacteriana a partir da amostra reduz tempo para identificação.
- Questão de custos
- Futuro.....

Schaik, *et al.* 27th ECCMID, 2017



QUANDO É POSSÍVEL DISPENSAR A CULTURA?

Paciente masculino assintomático

Gram sem leucócitos e bactérias

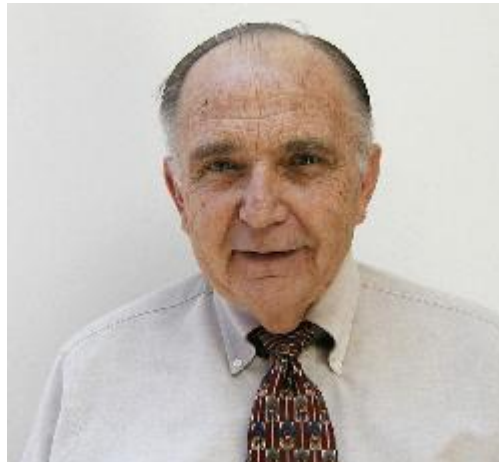
Cultura dispensada

(Johnson, 1987)



**“A COLORAÇÃO DE GRAM É UM MÉTODO NÃO DISPENDIOSO
PARA ESTIMAR BACTERIÚRIA; MAS A MAIORIA DOS
LABORATÓRIOS NÃO UTILIZA COMO TRIAGEM”**

Koneman, 2006



Interpretação dos resultados



Uropatógenos

Table 3. Incidence of urinary tract pathogens

Pathogen	Incidence ^a (%)	
	Uncomplicated UTI	Complicated UTI
Gram negative		
<i>Escherichia coli</i>	70-90	40-50
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2-6	10-17
<i>Proteus mirabilis</i>	2-4	5-10
<i>Enterobacter</i> spp.	0-1	5-10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0-1	2-10
Gram positive		
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	5-20	0-4
<i>Enterococcus</i> spp.	1-2	1-20
<i>Streptococcus agalactiae</i> (GBS)	0-1	1-4
<i>Staphylococcus aureus</i>	0-1	1-2
<i>Candida</i> spp.	0-1	2-5



Equívoco: ponto de corte único para todas as uroculturas

- 10 UFC/ml
- 100 UFC/ml
- 1000UFC/ml
- 10.000 UFC/ml
- 100.000 UFC/ml

Contagens > 100.000 UFC/ml (sensibilidade ~50%)
1.000 e 100.000 UFC/ml : sintomatologia

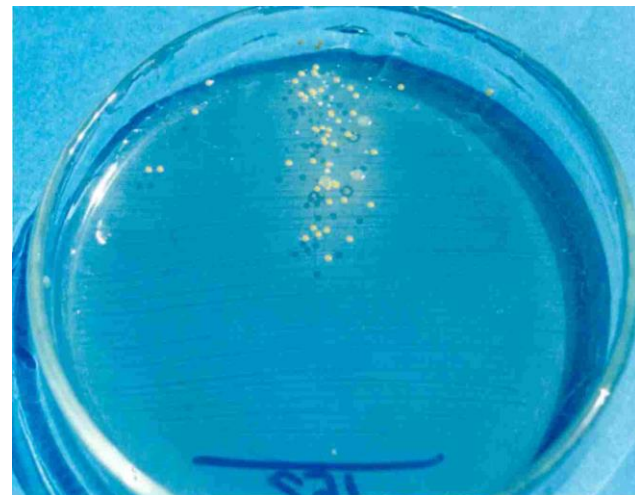
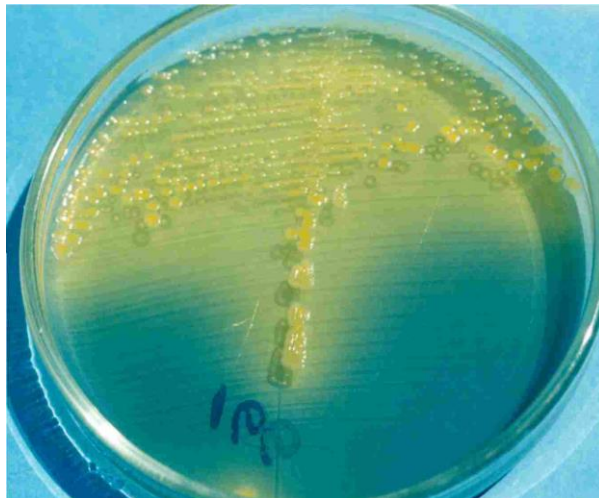


**NO PASSADO A CONTAGEM DE COLÔNIAS ERA UTILIZADA PARA
DESCARTAR CONTAMINAÇÃO!**

Acreditava-se que somente as contagens altas tinham valor !

Atualmente sabe-se que qualquer contagem pode ser significativa!

TEM QUE SE ACREDITAR NA COLETA DO MATERIAL !



Ponto de Corte



1950
>100.000 UFC/ml



2016
???

Ponto de corte

1.000 10.000 100.000?



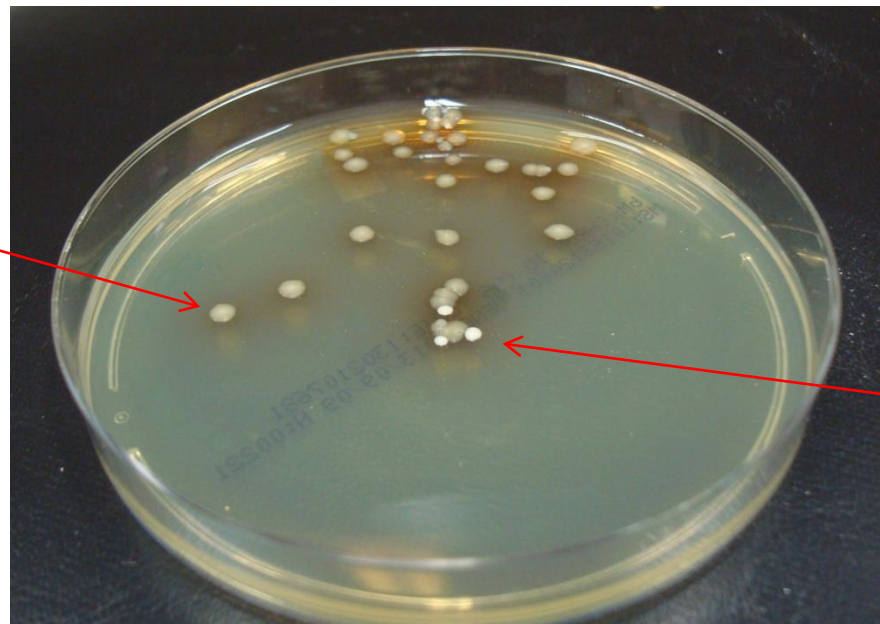
- Método de coleta de urina
 - Não invasiva – jato médio, coletor
 - Invasiva – Cateter, punção suprapúbica, cistoscopia, nefrostomia
Cumitech 2C
- Método de coleta + características do paciente
 - Jato médio, pacientes ambulatoriais e < 65 anos
 - Gestantes
 - Pacientes cateterizados, internados ou ≥ 65 anos
 - Punção suprabúbica, cistoscopia, nefrostomia, cateter de alívio

Coleta não invasiva/invasiva...

- Quem é o paciente?
 - ✓ Idoso/emergência
 - ✓ Criança/coletor
 - ✓ Gestante...



36.000 UFC/ml



5.000 UFC/ml

Table 1. Workup of voided urine specimens

No. of isolates	Colony Count (CFU/ml)	Definitive identification
1	$\geq 10^4$ $< 10^4$	Yes, if PU ^a No (descriptive ID only)
2	Both $\geq 10^4$ Both $< 10^4$ $1 \geq 10^4$ and $1 < 10^4$	Yes, if PU 10^5 (SBPC) only) ^a if PU
≥ 3	$1 \geq 10^5$ Any other combination	Yes, if PU No (descriptive ID only)

^aPossible uropathogen.

Table 2. Workup of urine specimens collected by invasive methods^a

No. of isolates	Colony Count (CFU/ml)	Definitive identification
1	$\geq 1,000 (10^3)$ $< 10^3$	10^2 (SBPC) : ID only)
2	Both $\geq 10^3$ Both $< 10^3$ $1 \geq 10^3$ and $1 < 10^3$	Yes, if PU 10^4 (SBPC) : ID only) $\geq 10^3$ if PU
≥ 3	$1 \geq 10^4$ Any other combination	Yes, if PU No (descriptive ID only)

^aIndwelling and non-indwelling catheters and nephrostomy.
^bpossible uropathogen.

Punção suprapúbica qualquer contagem (SBPC)

Tipo urina	Volume inoculado	1 uropatogeno	2 uropatogenos	≥ 3 uropatogenos	Tempo de incubação
Jato médio, paciente ambulatorial < 65 anos	1 μ L (0,001mL)	<10.000 UFC/mL= ID mínima; ≥ 10.000 UFC/mL = ID +TSA ≥ 1.000 UFC/mL mulheres entre 14 e 30 anos = ID + TSA	Para cada patógeno <100.000 UFC/mL ID mínima; ≥ 100.000 UFC/mL ID + TSA	Reportar contagem de colônias + “presença de múltiplos morfotipos bacterianos, sugere-se nova coleta se clinicamente indicado”	Mínimo 18h
Pacientes com cateter, jato médio de pacientes >65 anos ou internados	1 μ L (0,001mL)	<10.000 UFC/mL= ID mínima; ≥ 10.000 UFC/mL = ID +TSA	Para cada patógeno <100.000 UFC/mL ID mínima; ≥ 100.000 UFC/mL ID + TSA	Se jato médio ou cateter sem leucócitos reportar como acima, ou entrar em contato para determinar se paciente sintomático; ou coleta por sonda vesical, se sim, proceder igual 2 uropatógenos; ou ID mínima de cada uropatógeno com a nota “contactar o laboratório se identificação definitiva for clinicamente indicada	Mínimo 36 h
Sonda de alívio, punção suprapubica, cistoscopia, nefroscopia	10 μ L (0,01mL)	100 a 1000 com presença de biota urogenital ou de pele = ID mínima; ≥ 1.000 UFC/mL ou qualquer contagem para cultura pura de uropatogeno = ID + TSA	Para cada patógeno <1.000 UFC/mL ID mínima; ≥ 1.000 UFC/mL ID + TSA	Para cada patógeno <10.000 UFC/mL ID mínima; ≥ 10.000 UFC/mL ID + TSA ou contactar o clínico para determinar o fluxo de trabalho	Mínimo 48h

- Sugestão (Paul Schreckenberger)

- Coorte entre mulheres sintomáticas/assintomáticas
- Cada uropatógeno tenha seu próprio ponto de corte
 - ✓ *Aerococcus urinae* $\geq 10^2$ UFC/ml
 - ✓ *Streptococcus agalactiae* $\geq 10^3$ UFC/ml
 - ✓ *Klebsiella pneumoniae* $\geq 10^4$ UFC/ml

Price J. Clin Microbiol, 2016



Utilização de analisador de imagem digital para interpretação de culturas de urina

Objetivos:

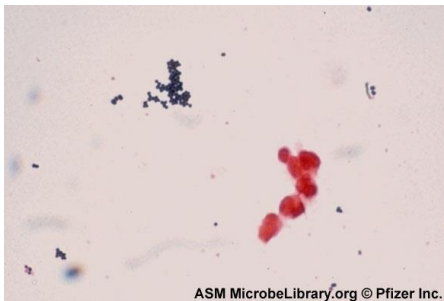
- Diferenciar as amostras positivas das negativas
- Diminuir o trabalho de interpretação de cultivos mistos.
- Padronizar melhor os resultados.
- Diferenciação de morfologia colonial
- Atualização do software possível



Faron *et al.* 27th ECCMID, 2017

Prováveis contaminantes...

- *Streptococcus* grupo *viridans*, lactobacilos, estafilococos coagulase negativa (não *saprophyticus*)
 - ✓ Cultura pura
 - ✓ PU/Gram



ASM MicrobeLibrary.org © Pfizer Inc.



ASM MicrobeLibrary.org © Pfizer Inc.

Table 3.12-1 Urinary microbiota*

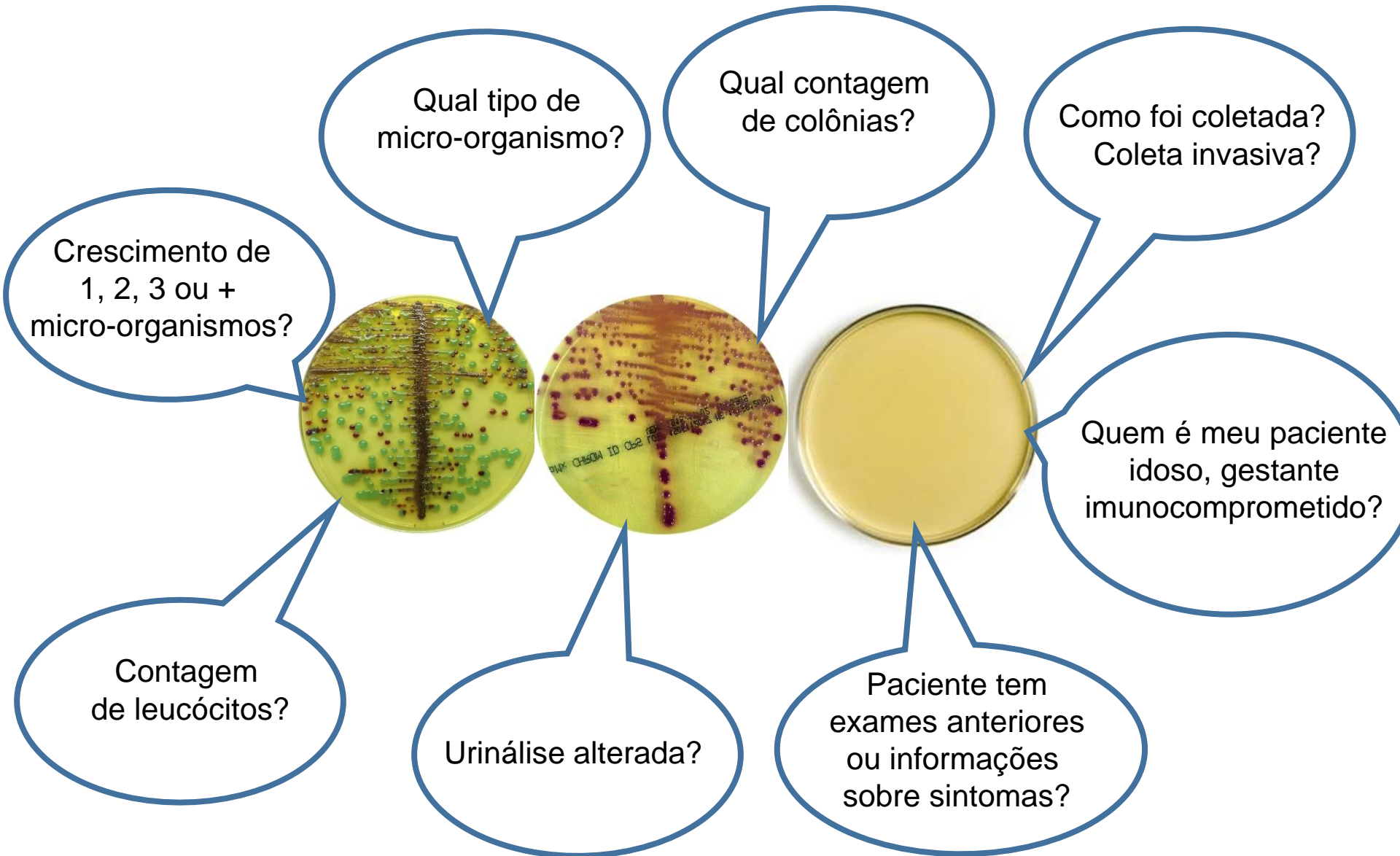
Microbiota	Organism	Extent of workup if count is appropriate per Table 3.12-4
Urogenital	Viridans group streptococci, <i>Neisseria</i> spp., diphtheroids, <i>Lactobacillus</i> spp., anaerobes	Report as urogenital microbiota.
Skin	Diphtheroids, <i>Staphylococcus</i> spp.	Report as skin or with urogenital microbiota unless present in amounts >10-fold more than other microbiota. Then treat as uropathogen.

- Sintomas e leucocitúria



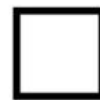
- Confirmação com nova coleta

Pense nisso:



Garantindo a qualidade da urocultura

- Verificação de erros requisição
- Indicadores erros
- Contaminação de coleta/número total de coletas
- Correlação com a urinálise
- Correlação com coloração de Gram
- Testes de proficiência
- Segundo revisor dos laudos



Importância revisão dos laudos

Tipos de erro	%
Falta comentário	40%
Falta tipo amostra	18%
Sem resultado (pendente)	13%
Não faturado/falta de cobrança de testes adicionais	10%
Comentário Gram não apropriado	6%
Falta contagem de colônias	5%
Tempo de incubação insuficiente	4%
Erro de protocolo	4%
Falta microrganismo	1%

92% erros de escrita
8% **erros técnicos**

ACURÁCIA 
PRECISÃO 



ACURÁCIA 
PRECISÃO 



ACURÁCIA 
PRECISÃO 



ACURÁCIA 
PRECISÃO 



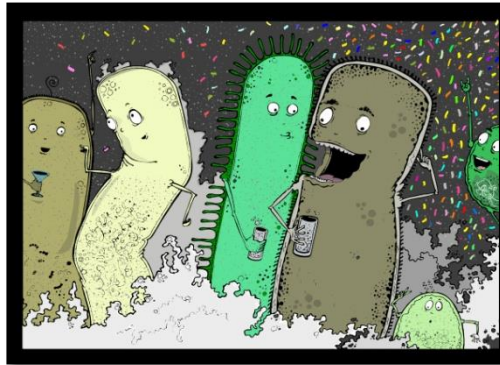
Procedimentos inaceitáveis em urocultura



- Pontas de cateter de Foley
- Amostras em meio líquido
- Sedimento urinário
- Jato de urina ou cateter para anaeróbios
- Cultura para anaeróbios de rotina
- Amostras de urina após 2 horas sem refrigerar!
- Não realizar TSA: < 100.000 UFC, se não for interpretada por um microbiologista! **Contextualizada!**

Urocultura – Fase pós analítica

- ITUs polimicrobianas
 - Não são muito comuns mas também não são raras
 - Situações específicas: pielonefrite, prostatite, cateterismo urinário
 - Coleta de duas amostras, pelo menos
 - Fatores de risco: diabetes, neoplasia prostática, sonda de Foley por tempo prolongado, retenção urinária, longos períodos em UTI



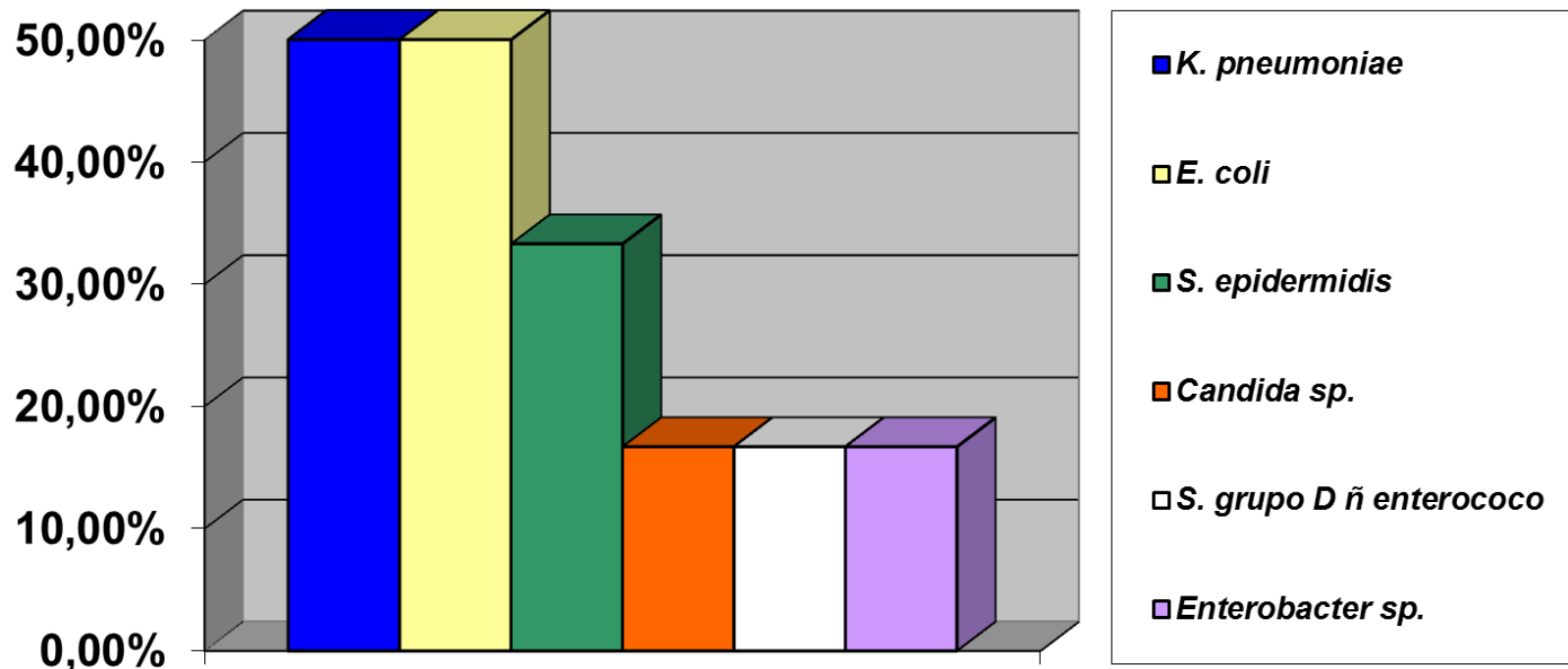


Gráfico 2 - Prevalencia dos microorganismos isolados nas culturas polimicrobianas.

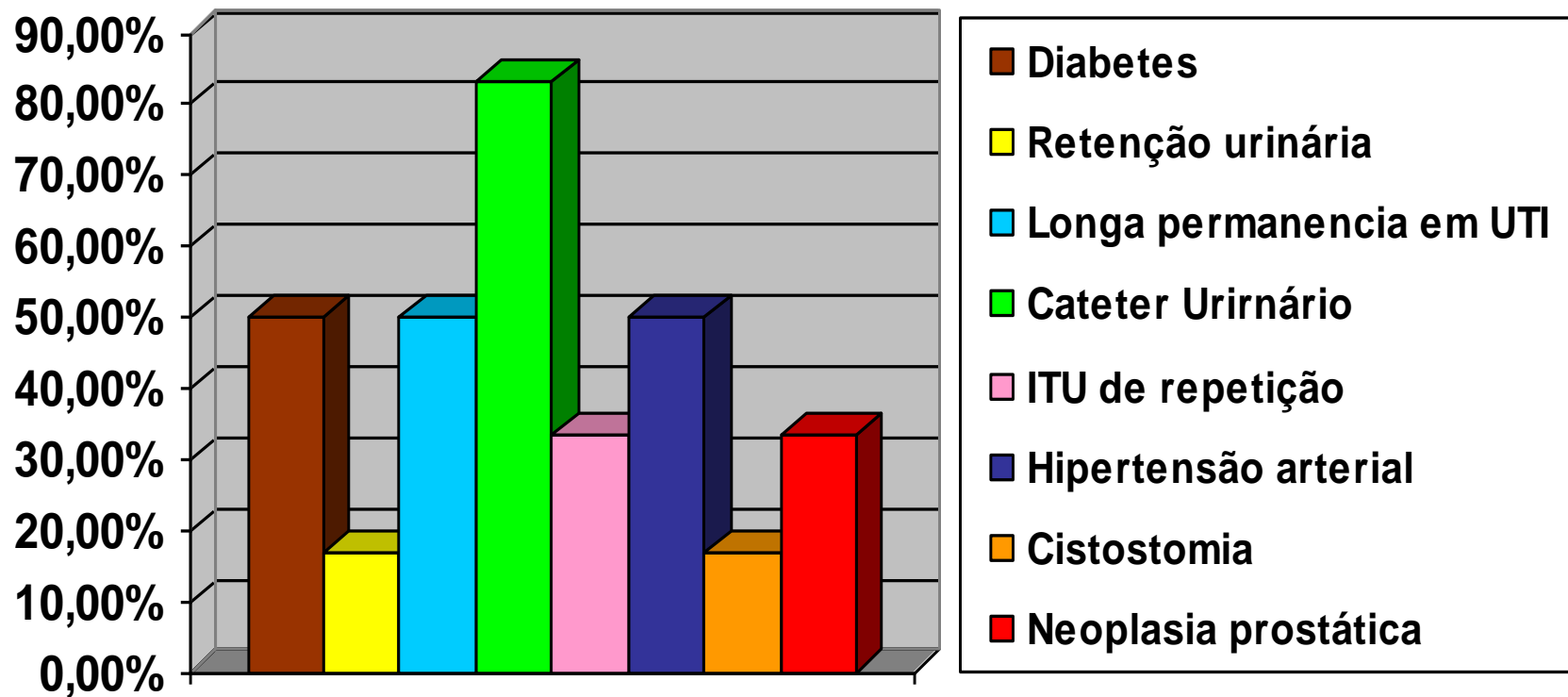


Gráfico 3 - Fatores de risco para ITU encontradas nos pacientes com infecções polimicrobianas.

RESULTADOS

- ✓ Na análise das 117 amostras de urina, foram observadas 47 amostras (47/117, 40.2%) com crescimento bacteriano.
- ✓ Nove amostras (9/47, 19,5%) apresentaram crescimento misto.
- ✓ Em 3 amostras (3/47, 6.4%) o desenvolvimento teve origem de contaminação, pois a confrontação do resultado das culturas não foi satisfatória, havendo discrepância no crescimento bacteriano das amostras coletadas.(não isolado o mesmo patogeno em 2 amostras)
- ✓ Em 6 amostras (6/47, 12,8%) (6/117, 5,2%) foi confirmada a presença de microbiota mista bacteriana.

CASO CLÍNICO Nº 01

- M.F.R., sexo feminino, 45 anos, Emergência, suspeita de ITU

pH 5.5

D= 1.015

Prot , glic, Hb, nit= neg

Leuc= 63.000

Eritr= 100.000

Cel. epit +

**QUAL O RESULTADO DA
CULTURA?**



CASO CLÍNICO Nº 01

N.H.D.B.

INVESTIGAR UROLITÍASE

CASO CLÍNICO Nº 02

- W.J.M.S., sexo masculino, 27 anos, Amb. Endocrino

pH 6,0

D= 1.025

Prot , glic, Hb, nit= neg

Leuc= 100.000

Eritr= 100.000

Bacteriúria



QUAL O RESULTADO DA CULTURA?

CASO CLÍNICO N° 02

E. faecalis

Sup. 100.000 UFC/ml

CASO CLÍNICO N° 03

- P.C.L., sexo masculino, 62 anos, Amb. Uro-retornos (pós-cirurgia)

pH 5,5

D= 1.025

Prot , glic, Hb= neg

Nit +

Leuc= 100.000

Eritr= 100.000

Bacteriúria

QUAL O RESULTADO DA CULTURA?



CASO CLÍNICO N° 03

K. pneumoniae

Sup. 100.000 UFC/ml

CASO CLÍNICO N° 04

- J.J.P.S., sexo feminino, 34 anos, Amb. Urolitíase

pH 8,5

D= 1.010

Prot ++

glic, Hb, nit= neg

Leuc= 100.000

Eritr= 100.000

Bacteriúria acentuada

Creatinina= 1.7



QUAL O RESULTADO DA CULTURA?

CASO CLÍNICO Nº 04

N. H. D. B.

VERIFICAR FUNÇÃO RENAL E USO DE ANTIMICROBIANOS

CASO CLÍNICO N° 05

- J.S.G., sexo feminino, 40 anos, gineco-emergência

pH 5,5

D= 1.010

Prot, glic, Hb, nit= neg

Leuc= 27.000 (N= 12.000)

Eritr= 100.000 (N= 6.000)

Bacteriúria acentuada

Cel. epit. ++

Anemia

Leucocitose

Neutrofilia

QUAL O RESULTADO DA CULTURA?



CASO CLÍNICO N° 05

E. coli

Sup. 100.000 UFC/ml

O QUE FAZER?
OUTRA CULTURA

CASO CLÍNICO N° 06

C.V.V, 43 anos, sexo feminino, sintomas de ITU. Faz ITUs recidivantes. Usa levofloxacin há 5 dias, não melhora.

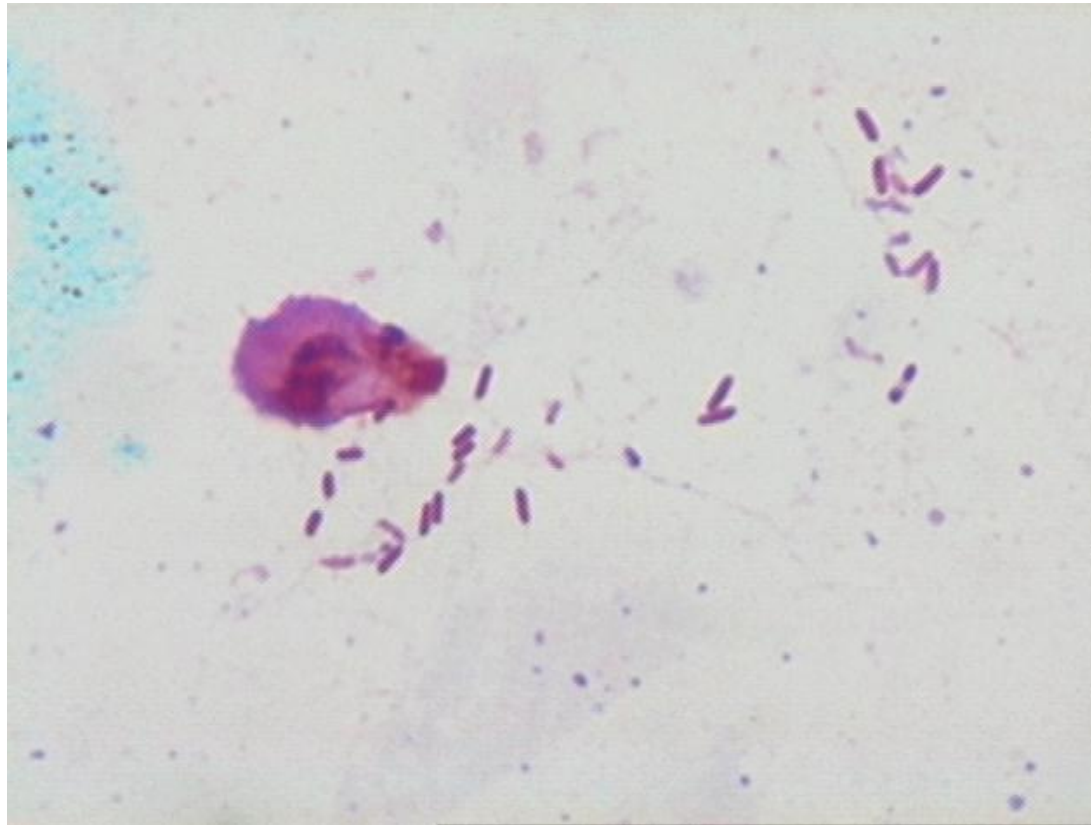
Gram: 1 BGN/campo imersão.

Cultura: desenv.abundante BGN

T.S.A. : resistente as quinolonas.

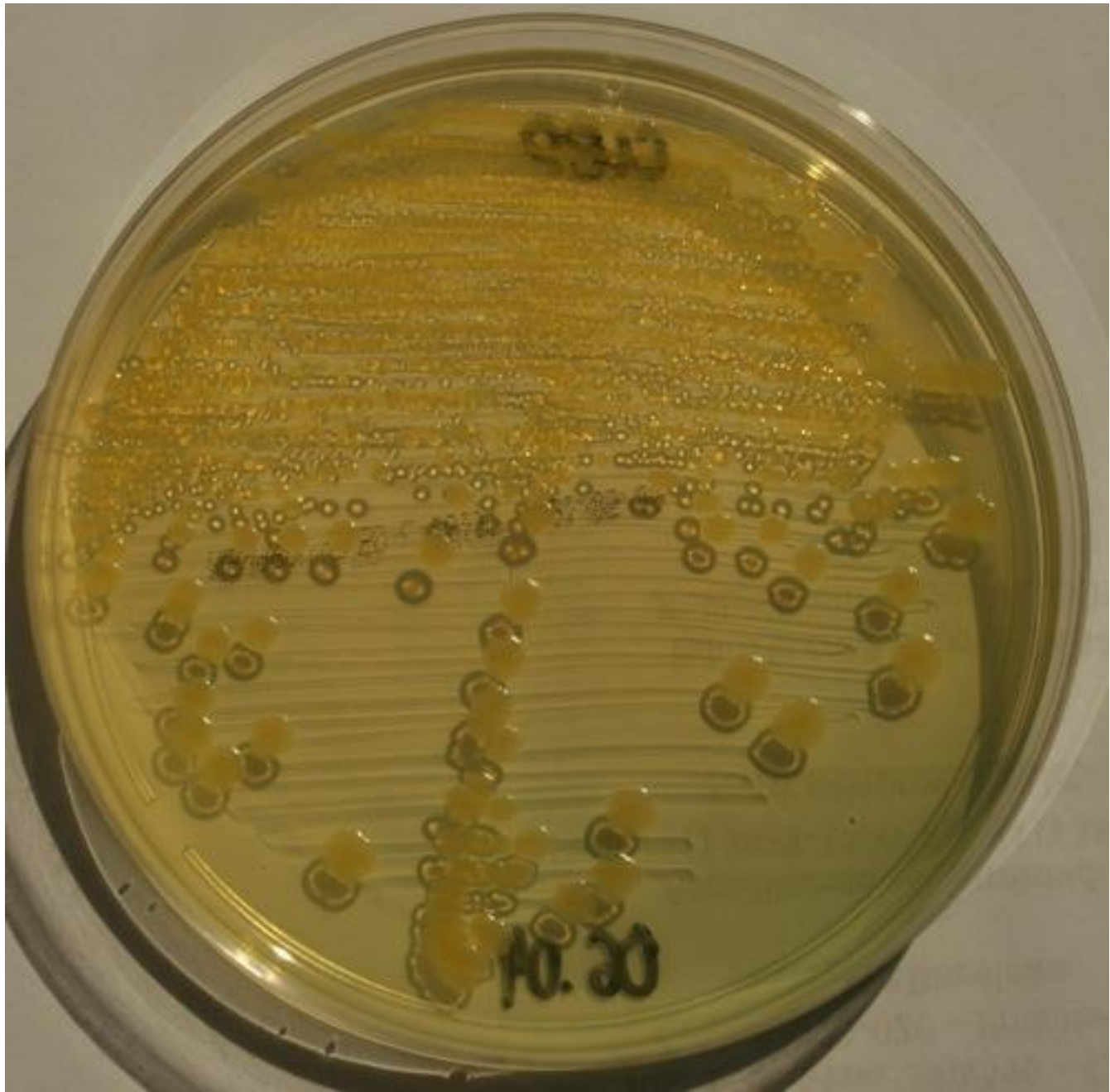


MICROSCOPIA DA GUNC



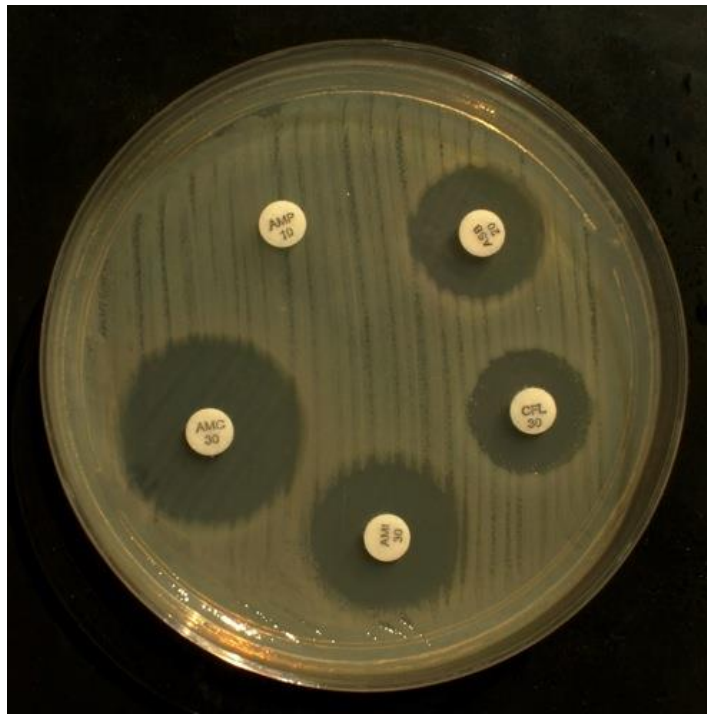
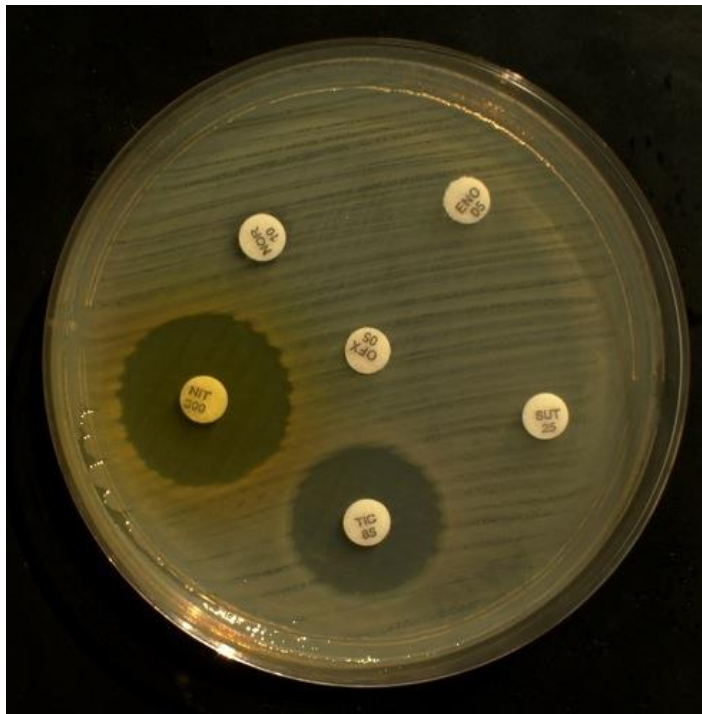
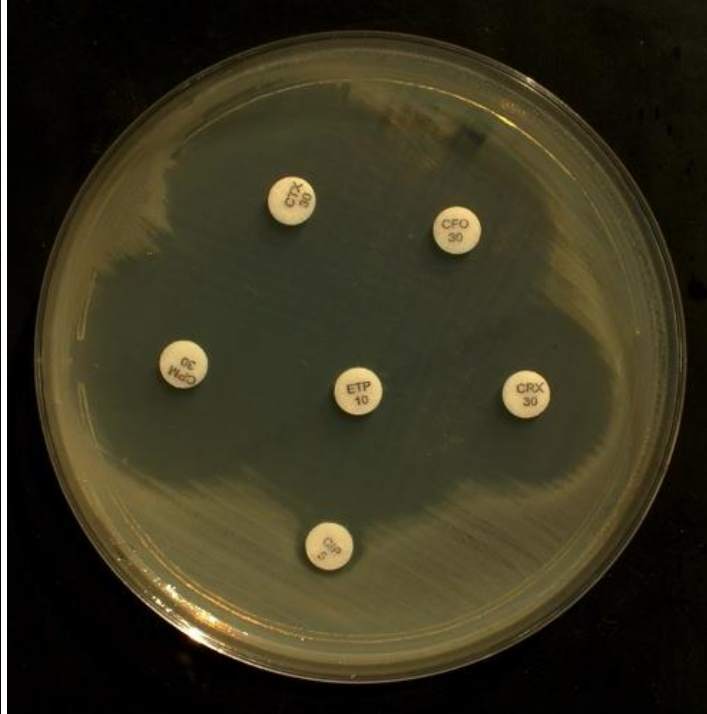
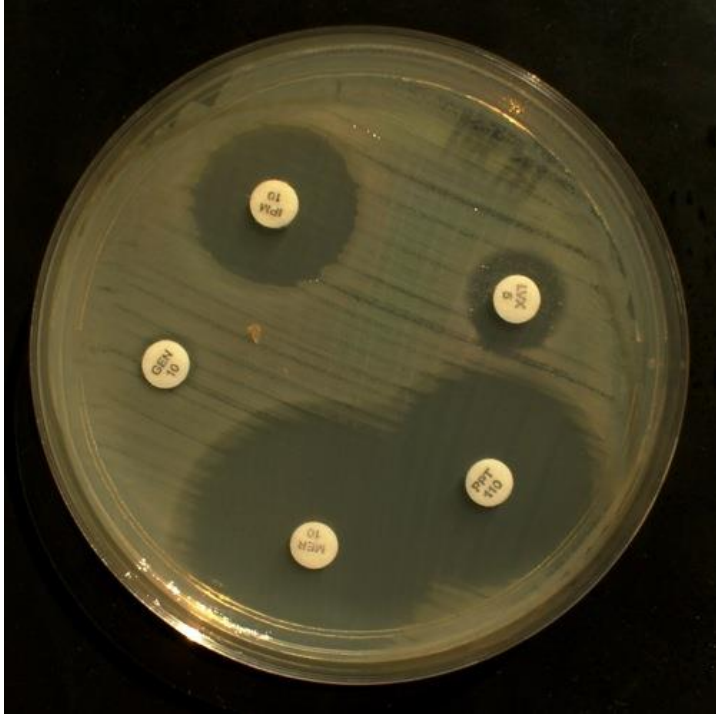
Amostra 56 – *K. pneumoniae* - 6×10^4

CVN 43 anos









Resultado do T.S.A

Resistencia: levofloxacin, norfloxacin, ciprofloxacina, gentamicina, SXT, cefazolina

Sensibilidade: amicacina, cefepime, ceftriaxona, imipenem e nitrofurantoina

0 médico receitou gentamicina!



O que gostaríamos de realizar?

- Situações especiais
- Amostras “limpas” : 0,1 ; 0,01 e 0,001 ml de urina
- CUQM (EQUC) : AS, MC, CNA em 10% CO₂. 48 h.
- 2 grupos controles (A : tenho ITU e B : não tenho)
- Grupo A : 100 UFC tratadas com melhora!
- Grupo B : 100 UFC uropatógenos (ex: *E.aerogenes*)
- **Infecção verdadeira ?**
- **Colonização assintomática?!**



Brecher; Price. Journal of Clin Microol., 2016

O que gostaríamos de realizar ?

Perguntas:

1. Qual o ponto de corte /ml para determinar infecções verdadeiras que necessitam tratamento?
2. Qual o ponto de corte adequado para diferentes uropatógenos?

Conclusões:

Urina de cateter necessita protocolo mais sensível!

Urina na bexiga passa a não ser mais considerada estéril!

Brecher; Price. Journal of Clin. Microbiol., 2016



SE PRATICA UMA MEDICINA MELHOR E COM MENOS GASTOS SE
APÓS 48 A 72 HORAS DE INICIADA A TERAPIA SE REPITA A CULTURA
DE URINA DO QUE FICAR ADMINISTRANDO UM ANTIMICROBIANO
INEFICAZ AO PACIENTE DURANTE 10 DIAS



Stamey, 1965

Consequências dos equívocos

- Impacto saúde do paciente
- Erro ou demora na decisão clínica
- Aumento no fluxo de trabalho intra-laboratorial
- Tempo e inconveniências para o paciente
- Responsabilidade do laboratório
- Reputação do laboratório

