

2013.2

MICROBIOLOGIA

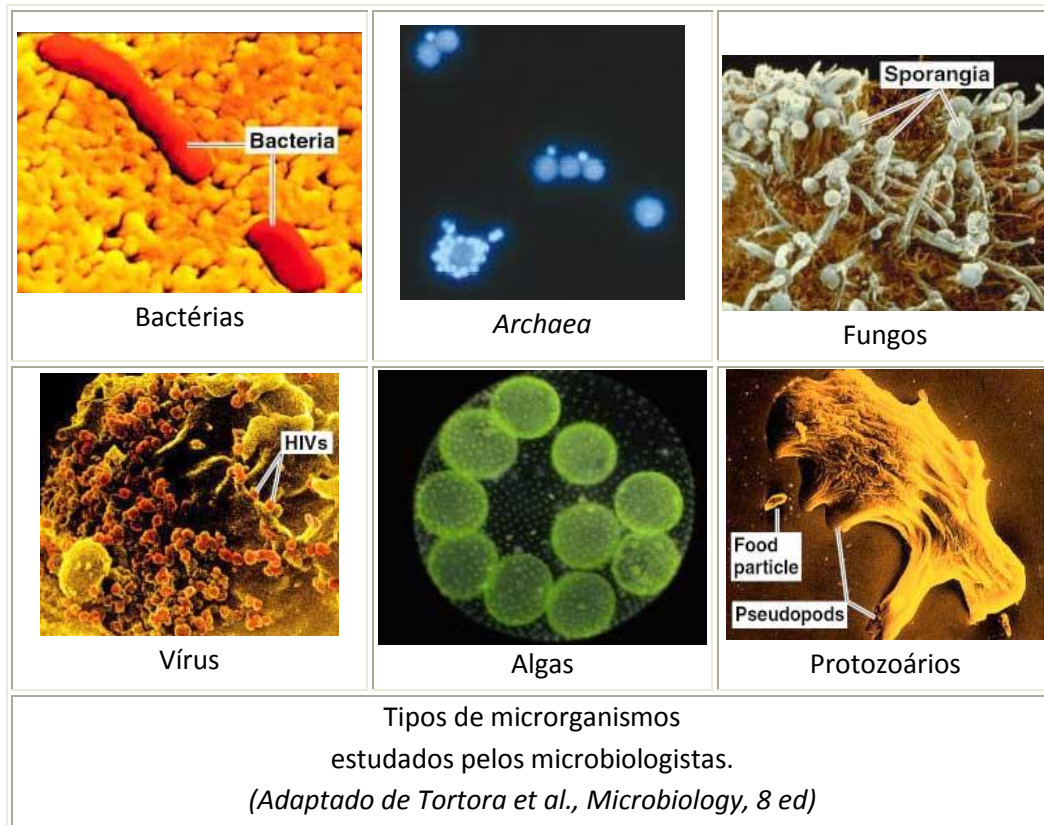


**INSTITUTO
FORMAÇÃO**
Cursos Técnicos Profissionalizantes

Prof^o Ueliton Silva

INTRODUÇÃO

Microbiologia: *Mikros* (= pequeno) + *Bio* (= vida) + *logos* (= ciência) A Microbiologia é classicamente definida como a área da ciência que dedica-se ao estudo de organismos que somente podem ser visualizados ao microscópio. Com base neste conceito, a microbiologia aborda um vasto e diverso grupo de organismos unicelulares de dimensões reduzidas, que podem ser encontrados como células isoladas ou agrupados em diferentes arranjos. Assim, a microbiologia envolve o estudo de organismos *procarióticos* (bactérias, archaeas), *eucarióticos* (algas, protozoários, fungos) e também seres acelulares (*vírus*).

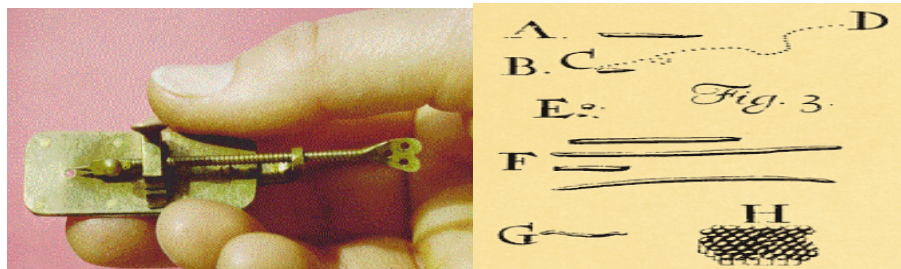


Esta área do conhecimento teve seu início com os relatos de Robert Hooke e Antony van Leeuwenhoek, que desenvolveram microscópios que possibilitaram as primeiras observações de bactérias e outros microrganismos a partir da análise de diversos espécimes biológicos. Embora van Leeuwenhoek seja considerado o "pai" da microbiologia, os relatos de Hooke, descrevendo a estrutura de um bolor, foram publicados anteriormente aos de Leeuwenhoek. Assim, embora Leeuwenhoek tenha fornecido importantes informações sobre a morfologia bacteriana, estes dois pesquisadores devem ser considerados como pioneiros nesta ciência. Recentemente foi publicado um artigo discutindo a importância de Robert Hooke para o desenvolvimento da Microbiologia.



- **Esquema do microscópio construído por Robert Hooke e um esquema de um fungo observado por este pesquisador.**

(Adaptado de Tortora et al., Microbiology - 8 ed)



- **Réplica do microscópio construído por Leeuwenhoek e de suas ilustrações, descrevendo os "animálculos" observados.**

(Adaptado do livro Brock Biology of Microorganisms, 10 Ed., 2003)

Nas últimas décadas, houve uma "revolução" na microbiologia, a qual passou e ainda vem passando por profundas modificações, especialmente no que se refere aos conhecimentos sobre ecologia e classificação dos microrganismos. Anteriormente, os microrganismos (principalmente os procarióticos) eram considerados seres unicelulares de comportamento independente, mesmo que fossem encontrados em agrupamentos contendo diversas células. Assim, a maior parte dos conhecimentos foram obtidos a partir de culturas puras. Isto é, o microrganismo era isolado da natureza e, após ser "separado" dos demais microrganismos, era cultivado em laboratório, gerando populações contendo um único tipo celular.

Hoje sabe-se que grande parte dos microrganismos vive em comunidades na natureza, compostas muitas vezes por inúmeros gêneros e espécies distintos, que cooperam entre si, como em uma cidade microbiana. Tais associações são denominadas **biofilmes** e exercem importantes atividades em nosso planeta. Outra área que sofreu intensas modificações nas últimas décadas foi a classificação dos microrganismos. Esta área ainda vem sendo muito debatida mas, para os microbiologistas, é fundamental destacar um novo grupo, o qual foi por muito tempo foi considerado o "ancestral" das bactérias. Tal grupo corresponde ao domínio **Archaea**, que consiste em um grupo bastante peculiar de células procarióticas. Assim, é importante que tal tema seja melhor discutido.

- **Um breve histórico da importância da microbiologia**

Efeitos das doenças nas civilizações: Talvez um dos aspectos mais negligenciados quando se estuda a microbiologia refere-se às profundas mudanças que ocorreram no curso das civilizações, decorrentes das doenças infecciosas. De forma geral, as doenças provocavam um abatimento físico e moral da população e das tropas, muitas vezes influenciando no desenrolar e no resultado de um conflito. A própria mobilização de tropas, resultando em uma aglomeração, muitas vezes longa, de soldados, em ambientes onde as

condições de higiene e de alimentação eram geralmente inadequadas, também colaborava na disseminação de doenças infecciosas, para as quais não existiam recursos terapêuticos. Paralelamente, em áreas urbanas em franca expansão, os problemas mencionados acima eram também de grande importância, pois rapidamente as cidades cresciam, sendo que as instalações sanitárias geralmente eram completamente precárias.

Com a prática do comércio entre as diferentes nações emergentes, passou a haver a disseminação dos organismos para outras populações, muitas vezes susceptíveis a aqueles agentes infecciosos. Abaixo listaremos, brevemente, um pequeno histórico com alguns exemplos dos efeitos das doenças microbianas no desenvolvimento de diferentes civilizações. O declínio do Império Romano, com Justiniano (565 DC), foi acelerado por epidemias de peste bubônica e varíola. Muitos habitantes de Roma foram mortos, deixando a cidade com menos poder para suportar os ataques dos bárbaros, que terminaram por destruir o Império. Durante a Idade Média várias novas epidemias se sucederam, sendo algumas amplamente disseminadas pelos diferentes continentes e outras mais localizadas.

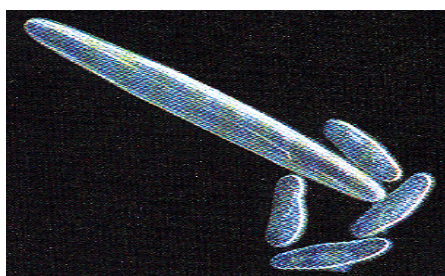
Dentre as principais moléstias pode-se citar: Tifo, varíola, sífilis, cólera e peste. Em 1346, a população da Europa, Norte da África e Oriente Médio era de cerca de 100 milhões de habitantes. Nesta época houve uma grande epidemia da peste, que disseminou-se através da “rota da seda” (a principal rota mercante para a China), provocando um grande número de mortes na Ásia e posteriormente espalhando-se pela Europa, onde resultou em um total de cerca de 25 milhões de pessoas, em poucos anos. Novas epidemias da peste ocorreram nos séculos XVI e XVII, sendo que no século XVIII (entre 1720 e 1722), uma última grande epidemia ocorreu na França, matando cerca de 60% da população de Marselha, de Toulon, 44% em Arles, 30% em Aix e Avignon. A epidemia mais recente de peste originou-se na China, em 1892, disseminando-se pela Índia, atingindo Bombaim em 1896, sendo responsável pela morte de cerca de 6 milhões de indivíduos, somente na Índia. Antes da II Guerra Mundial, o resultado das guerras era definido pelas armas, estratégias e “pestilência”, sendo esta última decisiva. Em 1566, Maximiliano II da Alemanha reuniu um exército de 80.000 homens para enfrentar o Sultão Soliman da Hungria.

Devido a uma epidemia de tifo, o exército alemão foi profundamente dizimado, sendo necessária a dispersão dos sobreviventes, impedindo assim a expulsão das hordas de tribos orientais da Europa nesta época. Na guerra dos 30 anos (1618-1648), onde protestantes se revoltaram contra a opressão dos católicos, além do desgaste decorrente da longa duração do confronto, as doenças foram determinantes no resultado final. Na época de Napoleão, em 1812, seu exército foi quase que completamente dizimado por tifo, disenteria e pneumonia, durante campanha de retirada de Moscou. No ano seguinte, Napoleão havia recrutado um exército de 500.000 jovens soldados, que foram reduzidos a 170.000, sendo cerca de 105.000 mortes decorrentes das batalhas e 220.000 decorrentes de doenças infecciosas. Em 1892, outra epidemia de peste bubônica, na China e Índia, foi responsável pela morte de 6 milhões de pessoas. Até a década de 30, este era quadro, quando Alexander Fleming, incidentalmente, descobriu um composto produzido por um fungo do gênero *Penicillium*, que eliminava bactérias do gênero *Staphylococcus*, um organismo que pode produzir uma vasta gama de doenças no homem. este composto - denominado penicilina - teve um papel fundamental na desfecho da II Guerra Mundial, uma vez que passou a ser administrado às tropas aliadas, enquanto o exército alemão continuava a sofrer pesadas baixas no campo de batalha.

Além destas epidemias, vale ressaltar a importância das diferentes epidemias de gripe que assolaram o mundo e que continuam a manifestar-se de forma bastante intensa até hoje. Temos ainda o problema mundial envolvendo a AIDS, o retorno da tuberculose (17 milhões de casos no Brasil) e do aumento progressivo dos níveis de resistência aos agentes antimicrobianos que vários grupos de bactérias vêm apresentando atualmente.

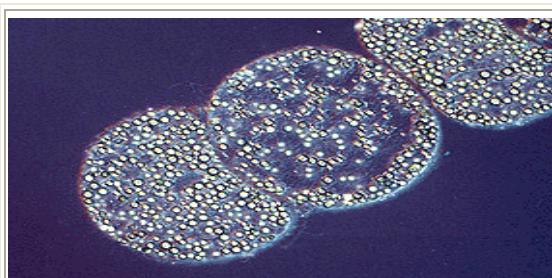
A MICROBIOLOGIA NA ATUALIDADE

A definição clássica de "microbiologia" mostra-se bastante imprecisa, e até mesmo inadequada, frente aos dados da literatura publicados nestas últimas décadas. Como exemplo pode-se citar duas premissas que já não podem mais ser consideradas como verdade absoluta na conceituação desta área de conhecimento: as dimensões dos microrganismos e a natureza independente destes seres. Em 1985 foi descoberto um organismo, denominado *Epulopiscium fischelsoni* que, a partir de 1991, foi definido como sendo o maior procarionto já descrito, exibindo cerca de 500 µm de comprimento. Esta bactéria foi isolada do intestino de um peixe marinho (*Surgeonfish*, peixe barbeiro ou cirurgião), encontrado nas águas da Austrália e do Mar Vermelho. Além de apresentar dimensões nunca vistas, tal bactéria mostra-se totalmente diferente das demais quanto ao processo de divisão celular, que ao invés de ser por fissão binária, envolve um provável tipo de reprodução vivípara, levando à formação de pequenos "glóbulos", que correspondem às células filhas.



Comparação entre o tamanho de uma célula de *Epulopiscium* e 4 paramécios
(Adaptado do livro *Brock Biology of Microorganisms, 10 Ed., 2003*)

Mais recentemente, em 1999, outro relato descreve o isolamento de uma bactéria ainda maior, isolada na costa da Namíbia. Esta, denominada *Thiomargarita namibiensis*, pode ser visualizada a olho nú, atingindo até cerca de 0,8 mm de comprimento e 0,1 a 0,3 mm de largura.



Microscopia de luz polarizada, revelando os grânulos de enxôfre no interior da bactéria *Thiomargarita namibiensis*.

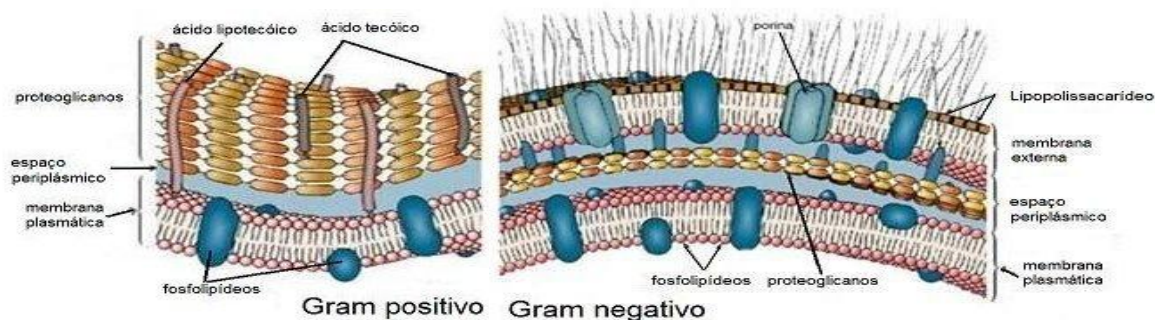
MORFOLOGIA BACTERIANA

- Vide slides de morfologia Bacteriana

- **Bactérias Gram-Positivas e Gram-Negativas**

Hans Christian Gram, um bacteriologista dinamarquês, estudou e definiu a técnica para corar bactérias, a coloração Gram, em 1884. Nesta ocasião, experimentalmente, corou lâminas com esfregaços (uma espécie de "raspa", grosseiramente falando, de um determinado lugar do corpo ou de uma cultura que se queira fazer a pesquisa) com violeta de genciana e percebeu que se as bactérias existentes nestes

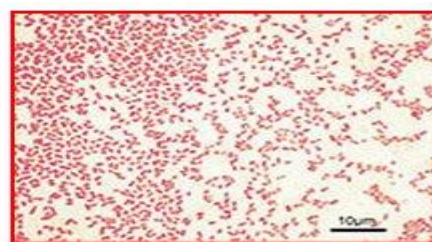
esfregaços uma vez coradas não desbotavam com álcool, se previamente fossem tratadas com iodo. Avançando e aprimorando o método, adicionou ainda outros corantes denominados “contra-corantes”, tais como **safranina** e **fucsina básica**. As bactérias contidas no esfregaço podem ser classificadas como **Gram-positivas** (aproximadamente de cor roxa) ou **Gram-negativas** (aproximadamente de cor vermelha), isto dependerá da parede celular da bactéria. Se for estruturalmente simples a coloração será positiva, se for estruturalmente complexa a coloração será então negativa. Observe melhor na figura abaixo:



Existe um protocolo que se segue para fazer a coração de um esfregaço, com etapas bem definidas e com misturas de substâncias (solução de cristal violeta; solução de lugol (iodeto de potássio – IK); solução de safranina e solução de álcool) que resultarão na coloração positiva ou negativa, como nas figuras abaixo:



Staphylococcus aureus (Gram-positivos)



Pseudomonas aeruginosa (Gram-negativos)

Esta coloração permite distinguir os mais variados tipos de bactérias e que tipo de parede celular elas tem (se mais simples ou mais complexas, com mais ou menos peptidoglicanos – principal componente da parede celular bacteriana). As bactérias que descorrem quando submetidas à um solvente orgânico são Gram-negativas, e as que permanecerem coradas mesmo quando em contato com o solvente são denominadas Gram-positivas.

Estas bactérias de diferentes colorações têm também graus diferentes de virulência. As Gram-negativas, por exemplo, são constituídas por uma endotoxina denominada **LPS** (lipopolissacarídeo), que é causadora da patogenicidade. Já as Gram-positivas possuem a exotoxina rica em ácido lipoprotéico que confere aderência à bactéria.

- **Bactérias Gram-negativas**

Enterobacteriaceae:

- *Pseudomonas*
- *Moraxella*
- *Helicobacter*
- *Stenotrophomonas*
- *Bdellovibrio*

- *Legionella*

As proteobactérias compõem a maior parte das bactérias gram negativas. As principais são:

- *Escherichia coli*
- *Salmonella*
- *Shigella*
- *Neisserias*

Entre outras, como Chlorobi, Chloroflexi, Cianobactérias, Espiroquetas, etc.

- **Enterobactérias**

É a maior e mais heterogênea família de bactérias Gram negativas de importância médica. São considerados atualmente: 27 gêneros / 102 espécies / 08 grupos indefinidos. Independente da complexidade, mais de 95% das amostras implicadas em caso clínicos são colocadas em 25 espécies, sendo possível o isolamento de enterobactérias de qualquer amostra clínica.

- **Caracterização da família Enterobactérias**

São bacilos Gram negativos, não esporulados, com motilidade variável, oxidase negativos, e que crescem em meios básicos (caldo peptona), meios ricos (ágar sangue, ágar chocolate e CLED), meios seletivos (Mac Conkey, EMB). São anaeróbios facultativos (crescem em aerobiose e anaerobiose), fermentam a glicose com ou sem produção de gás, são catalase positivos, e reduzem nitrato a nitrito. São divididos através de diferentes provas em 11 principais gêneros, tendo sido descritos nos últimos anos outros 16 gêneros e algumas espécies, mas ainda consideradas de pouca ou nenhuma importância clínica.

- **Importância Clínica**

- A maioria das enterobactérias é encontrada no trato gastrointestinal de humanos, no reino animal, na água, solo e vegetais.
- Alguns também são considerados enteropatógenos por causarem preferencialmente infecções gastrointestinais como a *Salmonella typhi*, outras salmonellas, *Shigella* spp., *Yersinia enterocolitica* e vários sorotipos de *Escherichia coli*, embora possam também causar infecção em outros locais.
- As enterobactérias representam 80% ou mais de todos os Gram negativos de importância clínica isolados na rotina microbiológica
- São responsáveis por de cerca de 70% das infecções urinárias e 50% das septicemias.

- **Infecções Hospitalares e na Comunidade**

- **Nas infecções hospitalares:**

- As enterobactérias que atualmente predominam são: *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp.
- Principais gêneros das enterobactérias (cerca de 99% dos isolamentos de enterobactérias de importância clínica): *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., *Providencia* spp., *Morganella* spp., *Citrobacter* spp., *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Serratia* spp.
- As enterobactérias menos isoladas são: *Edwardsiella* spp., *Hafnia* spp., *Yersinia* spp.

- Baseado em dados de prevalência e importância clínica, considera-se necessário que os laboratórios de microbiologia utilizem metodologia que permita discriminar com $\geq 80\%$ de acerto os gêneros e espécies considerados abaixo:

- *Escherichia coli*
- *Shigella* spp.
- *Salmonella typhi*
- *Salmonella* spp.
- *Citrobacter freundii*
- *Proteus mirabilis*
- *Citrobacter koseri*
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Klebsiella oxytoca*
- *Providencia* spp.
- *Serratia* spp.
- *Proteus vulgaris*
- *Enterobacter aerogenes*
- *Enterobacter cloacae*
- *Enterobacter cloacae*
- *Enterobacter agglomerans*
- *Yersinia enterocolitica*
- *Morganella morganii*
- *Pseudomonas aeruginosa*

- **Nas infecções da comunidade:**

1. Destacam-se: *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Salmonella* spp., *Shigella* spp.

- **Neisserias:** As espécies de *Neisseria* têm como característica morfológica serem diplococos Gram negativos mais achatadas nas laterais, dando a forma de rins ou dois grãos de feijão unidos por uma ponte. Apenas a espécie *N. elongata* difere desta morfologia, sendo diplobacilos ou diplococo-bacilo. Todas neisserias são oxidase positivas e catalase positivas, exceto *Neisseria elongata* e *Kingella denitrificans*. Todas utilizam carboidratos por via oxidativa e não fermentativa, sendo baixa a acidez, de modo que podem acontecer reações duvidosas com o meio CTA (Cistyne Trypticase Agar) com indicador vermelho de fenol, que sempre foi muito utilizado em rotina.

As diferentes espécies de neisseria, incluindo *N. meningitidis* e *N. gonorrhoeae*, são analisadas junto com a *Moraxella catarrhalis*, *Moraxella* spp., *Acinetobacter* spp., *Kingella* spp e *Alcaligenes* spp. Pelas características morfológicas de serem cocos ou cocóides ao Gram e pela possibilidade de haver confusão na sua identificação. Quanto a sua importância clínica, a maioria das neisserias é comensal vivendo em mucosas de humanos e animais.

CARACTERÍSTICAS DE ALGUMAS ESPÉCIES DE IMPORTÂNCIA CLÍNICA

- ***Neisseria gonorrhoeae*:** É sempre considerada patogênica, de transmissão sexual ou pelo parto e indicativa de tratamento. No homem causa uretrite, sendo até 50% assintomática e está relacionada a

complicações como epididimite, prostatite e estenose uretral. Na mulher causa corrimento vaginal, endocervicite, uretrite, abscesso vestibular, salpingoneooforite e doença inflamatória pélvica. Pode ser isolada também na mucosa oral e anal, e em recém-nascidos pode causar uma conjuntivite denominada Oftalmia neonatorum. A doença sistêmica disseminada pode ocorrer em 1 a 3% dos pacientes infectados, principalmente em assintomáticos e caracterizada por febre, tremores, lesões cutâneas, artrite de extremidades. As lesões cutâneas são do tipo máculo-pustulares ou hemorrágicas, com centro de necrose. Raramente ocorre artrite séptica com 50% de positividade de isolamento. Pode ocorrer meningite e endocardite.

- **Neisseria meningitidis:** Pode causar meningite, infecção sistêmica grave com coagulação intravascular disseminada (CIVD) e elevada mortalidade, podendo causar em associação outras infecções (conjuntivite, artrite, sinusite e pneumonia). Em mucosas pode ser isolada em portadores sãos em 5 a 15 % dos indivíduos e por períodos de semanas a meses. A transmissão se faz por vias aéreas.
- **Moraxella (Branhamella) catarrhalis:** Potencial patógeno de vias aéreas, principalmente em crianças e adultos jovens. Causa com maior frequência otite, sinusite e pneumonia. Mais raramente pode causar endocardite e meningite. Em idosos, após o *Haemophilus influenzae* e o *Pneumococo*, constitui a terceira causa de pneumonia em pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica. Em adultos raramente é isolada em pacientes assintomáticos. Cerca de 80% das cepas são produtoras de beta-lactamase, e são detectadas através do teste do Nitrocefina (cefalosporina cromogênica). Outras espécies de *Neisseria* raramente são isoladas em casos de endocardite.

- **Bactérias Gram-positivas:**

Filo Firmicutes (*Bacilos*, *Estreptococos*, *Estafilococos*, *Enterococos*, *Actinobacteria*, *Listeria*, etc).

- **Estafilococos:** Os **Estafilococos** são as bactérias não esporuladas que mais resistem no meio ambiente. Podem sobreviver por meses em amostras clínicas secas, são relativamente resistentes ao calor e podem tolerar uma concentração aumentada de sal. No entanto, apesar dos antimicrobianos existentes, da melhora das condições sanitárias e das medidas de controle de infecção hospitalar, este microrganismo continua a ser um dos mais importantes patógenos para o homem. Indivíduos sadios são colonizados intermitentemente por *Staphylococcus aureus* desde a amamentação, e podem albergar o microrganismo na nasofaringe, ocasionalmente na pele e raramente na vagina. A partir destes sítios, o *S. aureus* pode contaminar a pele e membranas mucosas do paciente, objetos inanimados ou outros pacientes por contato direto ou por aerossol, ocasionando infecções letais por conta dos fatores de virulência ou através de resistência aos antimicrobianos atualmente utilizados.

Já foram descritos no Brasil casos de infecções causadas por *Staphylococcus aureus* parcialmente resistentes aos antibióticos mais potentes como a Vancomicina, e relatos da capacidade que os *Staphylococcus* coagulase negativa tem de desenvolver resistência. Assim há necessidade de uma identificação rápida e eficiente de todos os casos em que estes microrganismos se apresentam.

- **Estreptococos:** Os estreptococos foram os maiores causadores de infecção hospitalar na era pré-antibiótica, causando surtos de infecção e morte de puérperas. Apesar de não serem atualmente uma importante causa de infecção hospitalar, provocam, no entanto, doenças muito graves e muitas vezes letais, mesmo em pacientes imunocompetentes, sendo importante o rápido diagnóstico deste agente.
- **Enterococos:** Os enterococos apresentam importância crescente como causadores de infecção hospitalar, pelo aparecimento de resistência quase total aos antibióticos tradicionalmente utilizados para tratamento destas infecções. Os Enterococos mais comumente isolados são: *Enterococcus*

faecalis (90% dos casos) e *Enterococcus faecium*, com grande capacidade de colonização de pacientes e de contaminarem superfícies ou equipamentos utilizados em hospitais. Possuem sensibilidade ou resistência variável aos antibióticos chamados glicopeptídios como a vancomicina e teicoplanina. Existem, atualmente, cepas comensais naturalmente resistentes a vancomicina e que podem ser isoladas de pacientes internados, porém não sendo ainda capazes de causarem surtos, mas que devem ser corretamente identificadas.

ESTUDO DE INFECÇÕES RELEVANTES

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

Quanto à topografia, as ITUs são divididas em:

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

Significado de bacteriúria: A investigação microbiológica de suspeita da infecção urinária pela urocultura, permitiu identificar dois grupos de pacientes com bacteriúria ≥ 100.000 bactérias por ml de urina:

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

A importância em diferenciar estes dois grupos é importante tanto do ponto de vista de conduta como prognóstico. Para o primeiro grupo há a necessidade de tratamento imediato, para o segundo grupo de pacientes, comumente constituído de meninas em idade escolar (1 a 2%) e de mulheres jovens com vida sexual ativa (5%), existe um risco maior de desenvolver ITU no futuro. Não implicando necessariamente em tratamento, pois cerca de 25% delas passam espontaneamente a ter uroculturas negativas no prazo de um ano. Um grupo importante identificado com bacteriúria assintomática que merece seguimento pelo elevado risco de ITU são as gestantes, idosos e pacientes cateterizados.

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

- Episódio único ou isolado: ocorre uma única vez e resolve habitualmente pelo uso de antibioticoterapia. Um segundo episódio isolado, pode ocorrer sem relação temporal com o anterior. Entre 10 a 20% das mulheres irão apresentar no decorrer da vida pelo menos um episódio de infecção urinária.
- Recidiva ou recaída de ITU – em conseqüência a falha no tratamento o mesmo microrganismo isolado previamente persiste no trato urinário, causando infecção ou bacteriúria assintomática. A persistência do mesmo microrganismo por meses ou anos, leva a infecção urinária crônica.

- Reinfecção - é a ocorrência de um novo episódio de ITU, sem relação com o evento anterior, causado por outro microrganismo, exceto que pela origem e frequência do agente etiológico que coloniza a região perineal, pode ser atribuída à mesma espécie bacteriana (ex: E.coli). Episódios repetidos de reinfecção não devem ser confundidos com infecção urinária crônica.
- ITU crônica representa a persistência do mesmo microrganismo por meses ou anos com recidivas após tratamento, no caso de pielonefrite crônica, há associação com comprometimento da pelve e parênquima renal.
- ITU recorrente: ocasionalmente a recorrência é pela persistência do mesmo agente (recidiva), mas em cerca de 90% dos episódios ocorre por reinfecção, com meses de intervalo entre eles. Cerca de 20% das jovens após o episódio inicial de cistite tem infecções recorrentes, que caracterizam bem este grupo. Dois ou mais episódios no período de 6 meses ou três ou mais no período de um ano definem as infecções recorrentes na mulher. Nos homens, a ITU recorrente é definida quando ocorrem dois ou mais episódios de ITU em um período de até 3 anos, lembrando a frequente associação com prostatite bacteriana crônica, nos pacientes sem fatores predisponentes.

Quanto á presença de fatores predisponentes ou agravantes as ITUs são classificadas em dois grupos:

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

PATOGÊNESES

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

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

Via hematogênica: ocorre devido a intensa vascularização do rim podendo o mesmo ser comprometido em qualquer infecção sistêmica; é a via de eleição para ITU(s) por alguns microrganismos como *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Histoplasma spp.*, sendo também a principal via das ITU(s) em neonatos.

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

SINAIS E SINTOMAS CLÍNICOS

Neonatos e crianças até dois anos de idade com ITU(s) podem ser totalmente assintomáticos ou apresentarem sintomas inespecíficos como: irritabilidade; diminuição da amamentação; menor desenvolvimento pondero-estatural; diarréia e vômitos; febre e apatia, etc. Cerca de 7% dos casos podem estar acompanhados de icterícia e de hepato-esplenomegalia. Crianças maiores já podem relatar sintomas como: disúria, freqüência e dor abdominal. No diagnóstico de ITU em crianças menores de dois anos, pode

ser feita apenas uma triagem com a urina obtida por coletor, se negativa tem valor diagnóstico de exclusão, mas se positiva, com ou sem leucocitúria, o diagnóstico final depende de coleta por punção supra-púbica ou de urina obtida por sondagem vesical. Em crianças maiores de dois anos com controle esfinteriano, pode-se utilizar a urina de jato médio. Adultos com ITU baixa, limitada a uretra e bexiga, geralmente apresentam disúria freqüente, urgência miccional e ocasionalmente dor na região particularmente pielonefrite, são freqüentemente acompanhadas pelos mesmos sintomas das infecções baixas, além supra-púbica. As ITUs altas, particularmente pielonefrite, são freqüentemente acompanhadas pelos mesmos sintomas das infecções baixas, além de dor nos flancos e febre. Bacteremia quando presente poderá confirmar um diagnóstico de pielonefrite ou prostatite.

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

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

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

- **Infecções de pele e tecido subcutâneo:** A pele é o órgão mais acessível do corpo, um dos mais facilmente traumatizável e sujeito à infecção, sendo composta de duas camadas. Uma superficial denominada epiderme e a outra mais profunda denominada derme. Os folículos pilosos, as glândulas sebáceas e as glândulas sudoríparas abrem-se para a superfície cutânea. Abaixo da derme está a camada subcutânea adiposa, sob a qual localiza-se a fina membrana fascial que recobre os músculos, ligamentos e outros tecidos conjuntivos. O plano fascial cria espaço em várias partes do corpo, incluindo a cabeça, o pescoço, dedos, mãos e pés. A fascia é uma barreira que determina a extensão por onde a infecção pode se disseminar, mas pode também criar desafios terapêuticos devido à sua impermeabilidade, tendo de ser tratada cirurgicamente.
- **Impetigo:** É uma infecção cutânea intra-epidérmica superficial que produz lesões eritematosas, podendo ser acompanhados de lesões pustulares ou bolhosas. O impetigo não bolhoso é normalmente causado por *Streptococcus pyogenes*, beta hemolítico do grupo A, enquanto que *Staphylococcus aureus* tem sido associado com a doença na forma bolhosa.
- **Erisipela e Celulite:** A erisipela é uma infecção cutânea geralmente causada por estreptococo do grupo A, tendo sido descritos raros casos devidos a estreptococos C e G. A infecção envolve principalmente a derme e as partes mais superficiais do tecido subcutâneo com envolvimento proeminente dos linfáticos superficiais. A erisipela apresenta uma área cutânea endurecida, edematosa, avermelhada e dolorida, eventualmente com pequenas vesículas ou bolhas na superfície cutânea. O quadro clínico típico é caracterizado pelo aparecimento de alterações cutâneas com bordas elevadas e nitidamente demarcadas com pele adjacente normal ou não envolvida. O ataque agudo de febre e calafrio é notório com invariável presença de linfadenopatia. Ao contrário da erisipela, a margem da área de celulite é pouco definida sem elevação central. O estreptococo do grupo A e o *S. aureus* são considerados os agentes etiológicos mais comuns. Algumas espécies de *Vibrio* e *Aeromonas* podem causar celulite após introdução do microrganismo através da ferida ou laceração ocorrida durante a natação em água doce ou água do mar. A celulite causada por *H. influenzae* é relativamente rara, mas

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

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

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

- **Foliculite:** É uma infecção e inflamação dos folículos pilosos geralmente iniciada pelo bloqueio do folículo ou por pequenos traumas. A infecção é caracterizada por pápulas ou pústulas côncavas, perfuradas por pelo circundado por um halo eritematoso. A infecção é em geral causada pelo *S. aureus*. Embora a etiologia da foliculite possa ser confirmada por cultura do pús ou exsudato da lesão, esta prática geralmente não é necessária. Outras causas menos comuns de foliculite incluem membros da família *Enterobacteriaceae* (especialmente *Proteus* sp). Esta pode ocorrer em pacientes com *Acne vulgaris* que recebem antibióticos orais por um período prolongado de tempo. Recentemente foram verificados surtos de foliculite através do uso de banheiras de hidromassagem e piscinas contaminadas com *Pseudomonas aeruginosa*. A erupção cutânea consiste de coceira, pápulas eritematosas ou pápulo-pustulosas. A erupção não é única em aparência, mas tem distribuição característica envolvendo principalmente as nádegas, quadris, coxas e axilas. Estas são áreas onde se localizam as glândulas sudoríparas apócrinas as quais tendem a ser ocluídas quando se usam roupas apertadas. Além da erupção, muitos pacientes manifestam febre baixa, cefaléia, indisposição, dor de ouvido (devido à otite externa concomitante) e dor no peito (devido à mastite). A doença pode levar várias semanas, mas é geralmente autolimitada, de cura espontânea, não necessitando de terapia específica.
- **Furunculose:** O furúnculo é um abscesso que se inicia no folículo piloso como um nódulo avermelhado, tornando-se doloroso e amolecido. O carbúnculo é mais profundo e extenso, apresentando-se freqüentemente como abscessos subcutâneos múltiplos envolvendo vários folículos e glândulas sebáceas, drenados através dos folículos pilosos.
- **Feridas Cirúrgicas:** A infecção em ferida cirúrgica ocorre quando a mesma é contaminada com microrganismos, geralmente em período intra-operatório ou imediatamente no peri-operatório. A fonte de bactérias pode incluir sítios colonizados do corpo dos pacientes, tais como, as narinas, cavidade oral, trato genital feminino, trato alimentar e a pele. A equipe médica e de enfermagem representam fonte potencial de infecção assim como o ambiente do hospital. Os principais patógenos são: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Pseudomonas* spp., *Enterococcus* spp., *Bacteroides* spp., etc. Algumas feridas que parecem infectadas podem não apresentar patógeno em cultura, enquanto outras apresentarão crescimento de múltiplas espécies.
- **Infecções intestinais/abdominais:** A doença diarréica continua a figurar como o maior problema da saúde humana. Foi estimada uma ocorrência de um bilhão de episódios de diarréia no mundo por ano em crianças abaixo de cinco anos de idade, resultando em 5 milhões de óbitos. A diarréia é particularmente devastadora em crianças que sofrem concomitantemente de doenças infecciosas,

como sarampo, imunodeficiência e subnutrição protéica, fatores muito freqüentes nos países em desenvolvimento. Em tais países, estima-se que a criança apresenta três a quatro vezes mais episódios de diarreia por ano do que as que vivem em países de elevado nível de saneamento básico e com sistemas adequados de suprimento de água.

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

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

- **Infeciosas**, causadas por bactérias, fungos (menos freqüentes), vírus, parasitas e protozoários.
- **Não infecciosas**, alérgicas, causadas por erro alimentar, envenenamento, etc.
- **Principais Causas Infecciosas de Disenteria**

Com Evacuação acompanhada de, sangue, muco e dor:

- - Disenteria bacilar: *Shigella* spp., *E. coli* (EIEC)
- - *Campylobacter jejuni*
- - Disenteria amebiana: *Entamoeba histolytica*
- - Outros protozoários: *Balantidium coli*, *Giardia lamblia*
- - Parasitas: *Schistosoma mansoni*, *Strongyloides stercoralis*, *Trichinella spiralis*,
- *Cyclospora* spp., *Microsporidium* spp.
- - *Vibrio cholerae* e *Vibrio parahaemolyticus*
- - Febre tifóide: *Salmonella typhi* e outras Salmoneloses
- - Yersiniose - *Yersinia enterocolitica*
- - Proctite gonorréica, sífilítica, por Chlamydia e herpética

Com Diarreia:

- - *Intoxicação alimentar por Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Clostridium perfringens, Clostridium botulinum*
- - *E. coli* enterotoxigenica (ETEC)
- - *E. coli* enterohemorrágica (EHEC)
- - *E. coli* enteropatogênica (EPEC)
- - *E. coli* entero-agregativa (EaggEC)
- - *E. coli* difusamente aderente (DAEC)
- - Enterocolite necrotizante do recém-nascido, enterocolite pseudomembranosa (*Clostridium difficile*), diverticulite, *tiflite ou enterocolite do neutropênico/imunossuprimido*
- - *Helicobacter pylori*
- - Rotavírus
- - Norwalk vírus

- **Infecções do sistema nervoso central**

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

- **Principais processos infecciosos que comprometem o SNC**
- Meningite aguda
- Meningite crônica
- Encefalite, mielite e neurite
- Abscesso cerebral
- Empiema subdural, abscesso epidural e flebite intracraniana supurativa
- Infecções associadas a procedimentos invasivos e dispositivos implantados no SNC
- **Principais causas de meningite aguda infecciosa**
- **Bacteriana:** bacterioscopia positiva (Gram), cultura e/ou pesquisa de antígenos positiva. *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *N. meningitidis*, Enterobactérias, *Streptococcus agalactiae* (grupo B), *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus* spp., *M. tuberculosis*.
- **Meningite** por outros agentes ou não determinada.
- **Foco supurativo para-meningeo** (abscesso cerebral, sinusite paranasal, empiema subdural, abscesso epidural, etc.)
- **Espiroquetas:** *T. pallidum*, *Borrelia burgdorferi* (doença de Lyme, *Leptospira* spp.)
- Rickettsias.
- **Protozoários:** *Naegleria fowleri*, *Strongiloides stercoralis*.
- **Vírus:** Echovirus e Coxsackievirus, Sarampo, Arbovírus, Herpesvírus, Coriomeningite linfocítica, HIV, Adenovírus, Poliovírus.
- **Fungos:** *Cryptococcus* spp., *Candida* spp., *Histoplasma capsulatum*, *Aspergillus* spp. e outros fungos filamentosos oportunistas.
- ***Pneumocistis carinii* e *Paracoccidioides brasiliensis*.**

DIAGNÓTICO LABOARTORIAL

- Gram do sedimento pode revelar a etiologia: bacteriana, fúngica (fungos leveduriformes ou filamentosos), tendo uma sensibilidade de 60 a 90% e especificidade próxima de 100% quando realizada por profissionais bem treinados.
- A positividade depende da concentração bacteriana, variando de 25% quando a concentração de UFC (unidades formadoras de colônias) for 10³ ou menos, até 97% quando a concentração for igual ou superior a 10⁵ UFC.
- A positividade do Gram também varia conforme o agente etiológico, sendo de 90% para o pneumococo, 86% para o hemófilos, 75% para o meningococo, menos de 50% para *Listeria monocytogenes* e 50% para outros Gram negativos. A coloração de Gram não cora bactérias como os micoplasmas e, evidentemente, não detecta os vírus.
- Chances de se obter informações sobre a etiologia pelo Gram ou pela cultura se reduzem a menos de 50% quando há uso prévio de antimicrobianos, podendo o LCR ficar estéril em 90-100% dos casos após 24 a 36 horas de antibioticoterapia adequada.
- Tinta da china e calcofluor: detecta *Cryptococcus* ou presença de movimentos ameboides (amebas)
- Coloração de Ziehl Neelsen e auramina: micobactérias

- Aglutinação com partículas de látex (sensibilidade de 70 a 90%): existem testes disponíveis para detectar meningococo (A e C), hemófilos tipo B, pneumococo (polivalente), *Streptococcus* do grupo B, *E. coli* K1 e *Cryptococcus* spp. Alguns kits não incluem o meningococo B ou podem ter uma sensibilidade inferior para este antígeno. Existem também testes baseados em coaglutinação de *Staphylococcus*, que tem uma sensibilidade um pouco inferior à aglutinação pelo látex. Estes testes vem sendo cada vez menos utilizados pelo elevado custo.
- Teste do Limulus pode ser utilizado para detectar endotoxina de bactérias Gram negativas, tendo alta sensibilidade e especificidade para concentrações $\geq 10^3$ UFC/ml.
- Cultura em Ágar chocolate pode confirmar a etiologia bacteriana e permitir o estudo das sensibilidades aos antimicrobianos.
- Os vírus podem ser pesquisados por métodos diretos ou cultura para vírus com tipagem. A pesquisa monoclonal e o PCR representam os métodos de maior praticidade, especificidade e sensibilidade que se dispõe na atualidade.
- **Infecções do trato respiratório inferior/superior:** A maioria das infecções de vias aéreas superiores são autolimitadas, de etiologia viral, porém outras são provocadas por bactérias e exigem tratamento antimicrobiano. Serão consideradas IVAS (infecções de vias aéreas superiores) infecções da laringe, nasofaringe, orofaringe, nariz, seios paranasais e ouvido médio. Como muitas vezes são indistinguíveis clinicamente, o diagnóstico laboratorial é fundamental. A identificação de uma bactéria patogênica ou potencialmente patogênica não necessariamente indica seu envolvimento na infecção, pois estes microrganismos podem também ser detectados em portadores como é o exemplo do *Haemophilus influenzae*. Desse modo, o conhecimento da flora normal do trato respiratório superior é essencial para a interpretação dos resultados da cultura.

A orofaringe contém uma microbiota mista com grande densidade de bactérias aeróbias, anaeróbias facultativas e anaeróbias estritas, incluindo *Streptococcus* alfa hemolíticos e não hemolíticos, *Streptococcus* beta hemolíticos não pertencentes ao grupo A, *Neisserias* não patogênicas, *Haemophilus* spp., difteróides, *Staphylococcus* sp, *Micrococcus* spp., Anaeróbios (*Bacteroides* spp, *Fusobacterium* spp., *Veillonella* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Actinomyces* spp.). Alguns patógenos como *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, enterobactérias e leveduras como *Candida albicans* podem ser componentes transitórios da flora de orofaringe em indivíduos saudáveis, sem desenvolvimento de doença. O trato respiratório abaixo da laringe não possui flora residente normal. A mucosa nasal anterior é freqüentemente colonizada por *Staphylococcus epidermidis* e difteróides, e alguns indivíduos são portadores intermitentes ou definitivos de *Staphylococcus aureus*. Por outro lado, os seios paranasais e o ouvido médio não possuem flora microbiana.

- **Pneumonia da Comunidade:** Apesar dos progressos diagnóstico-terapêuticos, as pneumonias ainda representam a causa mais importante de morte atribuída à doença infecciosa nos países desenvolvidos, em parte pela dificuldade de se estabelecer o agente etiológico e dirigir a terapêutica específica, pela grande diversidade de agentes possíveis. Cerca de 30 a 60% das pneumonias adquiridas na comunidade não revelam nenhum agente entre os mais freqüentemente pesquisados e isoladas, ficando apenas com diagnóstico clínico ou de imagem.
- **Pneumonia Hospitalar:** Considerando-se as diferentes topografias associadas às infecções hospitalares, as localizadas no trato respiratório inferior, têm grande importância pela freqüência em que ocorrem e pela

morbidade associada. Estas infecções são classificadas basicamente em quadros de traqueobronquite e pneumonia.

A pneumonia de origem hospitalar é definida como aquela que aparece após um período maior ou igual a 48 horas de admissão e não está incubada no momento da hospitalização. Segundo dados da literatura, ocorre entre 6 a 10 casos a cada 1000 admissões hospitalares. Entre as pneumonias, aquelas associadas com ventilação mecânica através de entubação orotraqueal ou traqueostomia, são as mais frequentes. São definidas para pacientes sob ventilação mecânica em um período igual ou superior a 48 horas. Nesta situação a incidência de infecção é de 7 a 21 vezes maior à que ocorre em pacientes que não necessitam de respirador.

Dentre as infecções hospitalares, a infecção pulmonar é a que leva a morte com maior frequência, com um risco maior na Unidade de Terapia Intensiva. A prevalência de pneumonias varia entre 10 e 65%, com 13 a 55% de casos fatais. Neste mesmo tipo de Unidade, dados do National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) mostram a taxa de infecção respiratória associada à ventilação mecânica por 1000 procedimentos-dia, variando de 5 casos em UTI pediátrica a 13 casos em UTI cirúrgica. De uma maneira geral os microrganismos podem alcançar o trato respiratório pela aspiração de secreções da orofaringe, pela inalação de aerossóis contendo bactérias, pela translocação de microrganismos do trato gastrointestinal ou pela disseminação hematogênica de um foco a distância. Ainda, para que a infecção respiratória ocorra é necessário existir a perda das defesas do hospedeiro, um inóculo suficiente para alcançar o trato respiratório ou a presença de um microrganismo altamente virulento

• **Os agentes mais frequentemente isolados são:**

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

BIOSSEGURANÇA EM MICROBIOLOGIA

- **Descontaminação de pequenas áreas :** Segue as orientações necessárias para a descontaminação de pequenas áreas como salas, quartos, recepção, etc.

1. Colocar os EPIs necessários.
2. Identificar a área que necessita de descontaminação.
3. Preparar os sacos para descarte de material contaminado
4. Mover-se lenta e cuidadosamente durante o tratamento da área com o descontaminante próprio (álcool iodado, hipoclorito, glutaraldeído, álcool 70%, germekil, etc.) evitando a formação de novos aerossóis.
5. Cobrir a área inteira com uma toalha absorvente e deixar o germicida agir por 30 minutos antes de recolher com os fragmentos grosseiros.

6. Colocar o material absorvente nos sacos para descarte e os perfuro cortantes nas caixas rígidas.
7. Remover as luvas cuidadosamente e descarta-las juntamente com o material contaminado.
8. Lavar as mãos com água e sabão e solução anti-séptica.

- **Esterilização e descontaminação:** Estes procedimentos devem ser seguidos para o descarte de rejeitos:

1. Todo material infeccioso ou equipamento utilizados na rotina do laboratório devem ser desinfetados antes da lavagem ou de ser jogados no lixo. A **autoclavação** deve ser o método de escolha, exceto para todo e qualquer material reaproveitável termolábil ou produtos oxidantes ou que liberem subprodutos tóxicos quando aquecidos.
2. O material a ser autoclavado deve ser estocado em sacos brancos fechados, com indicação de **MATERIAL CONTAMINADO PARA SER AUTOCLAVADO**, dentro de baldes fechados caso não sejam autoclavados no mesmo dia.
3. Material oxidante como hipoclorito ou outro oxidante forte não deve ser autoclavado com material orgânico como papel ou óleo. A combinação destes compostos pode produzir uma explosão.
4. O material para ser lavado após a autoclavação deve ser estocado em baldes com tampa com a indicação **MATERIAL NÃO INFECCIOSO (PARA SER LAVADO)**.

AUTOCLAVAÇÃO:

O termo esterilização refere-se à completa eliminação de patógenos, agente biológico com capacidade de reprodução ou potencial infeccioso. A esterilização é o melhor método de eliminação do risco biológico. O uso da autoclave é o método mais utilizado nas instituições de saúde e pesquisa, assegurando a completa destruição de microrganismos. Este processo geralmente envolve aquecimento da água em uma câmara sob pressão gerando vapor sob uma pressão de 15 psi, o que ocorre em temperatura de cerca de 121° C por no mínimo 15 minutos. O tempo é medido após a temperatura de o material envolvido atingir 121° C. O fator crítico nesta fase é a garantia que não fique ar preso no interior do autoclave, o que pode impedir que a temperatura no interior do aparelho atinja os 121° C. Para isto deve haver um monitoramento da temperatura com um termômetro-manômetro, bem como controle do processo com uso de um indicador químico ou biológico.