

DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO DAS INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO - UMA REVISÃO TÉCNICA

BACTERIOLOGICAL DIAGNOSTIC OF URINARY TRACT INFECTIONS - A TECHNICAL REVISION

Ilana L. Baratella da C. Camargo¹; Andresa Maschieto¹; Caio Salvino² & Ana Lúcia da Costa Darini³

¹ Pós-Graduandas – Curso de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto–USP. ²Bioquímico – Microbiologista – Laboratório Saldanha – Lages/SC. ³ Docente do Departamento de Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromatológicas. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto–USP

CORRESPONDÊNCIA: Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto–USP. Av. Café s/ n°-CEP 14.040-903-Ribeirão Preto-SP. aldarini@fcrfp.usp.br

CAMARGO ILBC; MASCHIETO A; SALVINO C & DARINI ALC. Diagnóstico bacteriológico das infecções do trato urinário - Uma revisão técnica. **Medicina, Ribeirão Preto**, 34: 70-78, jan./mar. 2001.

RESUMO: Entre as doenças mais comuns está a infecção do trato urinário, afetando mais de um sítio ou um único local como a uretra (uretrite), próstata (prostatite), bexiga (cistite) ou rins (pielonefrite).

A urina é considerada estéril e pode sofrer contaminação de bactérias da pele, da roupa ou da genitália. Por isso, se não colhida, armazenada e transportada adequadamente, pode-se obter falsos resultados em exames bacteriológicos.

Bactérias da família *Enterobacteriaceae* estão envolvidas em quase todas as uretricitites não gonocócicas, sendo a *Escherichia coli* o agente causal de aproximadamente 80% dos casos entre mulheres na idade fértil, sem lesões do trato urinário. Outros microrganismos, incluindo *Klebsiella* sp., *Enterobacter* sp., *Proteus* sp., *Pseudomonas* sp. e *Enterococcus* sp., são frequentemente encontrados em pacientes com lesões obstrutivas ou doenças paralíticas, afetando a função renal. *Staphylococcus saprophyticus* é um importante patógeno oportunista na infecção do trato urinário em humanos, especialmente em mulheres jovens, sexualmente ativas.

O paciente deve ser informado quanto aos procedimentos recomendados, relacionados com o horário da colheita, modo de obtenção e toda a assepsia necessária, assim como o profissional deve estar bem atualizado quanto às técnicas utilizadas para o isolamento, identificação e antibiograma.

Atualmente, existem métodos químicos automatizados e *kits* excelentes para o diagnóstico presuntivo de infecções urinárias, auxiliando e agilizando os processos de identificação e de tratamento eficaz ao paciente infectado.

UNITERMOS: Infecções Urinárias. Diagnóstico Laboratorial. Bacteriúria.

1. CONSIDERAÇÕES CLÍNICAS

A infecção do trato urinário (ITU) é uma das doenças bacterianas mais comuns; a conduta clínica adequada exige o conhecimento do número e tipos de bactérias envolvidas. Assim, quando métodos quanti-

tativos ou semiquantitativos são usados, o exame bacteriológico de urina pode ser uma ajuda valiosa no diagnóstico e no controle terapêutico.

A urina é um excelente meio de cultura para a maioria dos microrganismos que infectam o trato urinário e o crescimento bacteriano pode ocorrer na

urina “in natura”, resultando em contagens elevadas em infecções estabelecidas não tratadas, ou mesmo por contaminação da genitália externa⁽¹⁾. Mas, bacteriúria pode ocorrer em várias condições clínicas, envolvendo a invasão microbiana de qualquer tecido do trato urinário ou pode resultar de simples multiplicação na urina, sem invasão do tecido.

Como critérios de avaliação de bacteriúria considerável, utilizam-se, na prática, dois critérios: o de Kass^(2,3) e o de Stamm *et al.*^(4,5).

Segundo Kass, são consideradas amostras compatíveis com ITU aquelas com contagem de colônias igual ou maior a 100.000 UFC/mL (Unidades formadoras de colônia por mililitro de urina).

Já, segundo Stamm, são consideradas amostras compatíveis com ITU aquelas com contagem de colônias igual ou maior a 100 UFC/mL.

A utilização deste ou daquele critério é de competência do clínico a cada situação isolada, já que o de Kass é mais específico, enquanto o de Stamm é mais sensível.

Sendo a urina um elemento estéril, a simples presença de bactérias, independente de sua quantidade, deveria indicar ITU, o que, na prática, não se demonstra. Deve-se considerar a possível contaminação da amostra através da microbiota vaginal, o que aumentaria muito o número de resultados falso-positivos, se o critério utilizado for o de Stamm. Porém, como veremos adiante, este critério se adequa melhor à realidade pediátrica, na qual, muitas vezes, os critérios de Kass são pouco sensíveis a determinadas situações clínicas.

O critério de Stamm auxilia a diferenciar casos de contaminação dos casos de ITU, porém, o critério não é, atualmente, muito apreciado pelos microbiologistas devido ao elevado índice de resultados falso-negativos, demonstrando a alta especificidade, e, também, a baixa sensibilidade.

Utilizando somente os critérios de Kass, o número de mulheres com cistite aguda e microbiota inferior a 100.000 UFC/mL foi altíssimo; sendo assim, foram interpretados como “não infectadas”, segundo tais critérios. Já no caso de utilização dos critérios de Stamm, para estes mesmos casos, o número de culturas ditas positivas foi de 36%.

Demonstra-se, através desta discussão, que ambos os critérios deverão ser utilizados, sempre acompanhados de dados clínicos compatíveis para que se diagnostique ITU. Atualmente, os critérios de Stamm são utilizados para crianças e mulheres jovens.

Além dos casos citados, critérios de Stamm e o de Kass, outras preconizações são aceitas. Nos pacientes sem tratamento, sintomáticos ou assintomáticos, apresentando contagens maiores que 10^5 bactérias por mL, indicativas de infecção⁽⁶⁾ e contagens menores que 10^4 bactérias por mL, podendo ser indivíduos sadios, recomenda-se a identificação do microrganismo⁽⁷⁾.

O emprego de um único espécime, provavelmente, oferece uma precisão de 80%, entretanto, um único espécime obtido, por micção espontânea, de um paciente masculino adulto, deve ser considerado diagnóstico, desde que tenha havido preparo adequado do paciente e cuidado na colheita e transporte do espécime.

Em mulheres, segundo Kass^(2,3), se dois espécimes sucessivos de urina, colhidas por micção espontânea, contêm o mesmo microrganismo e uma concentração de, pelo menos, 10^5 bactérias por mL, a probabilidade de ter bacteriúria é de 95%.

Em crianças, casos de ITU podem vir acompanhados de bacteriúria ao redor de 10^3 UFC/mL, passando, muitas vezes, despercebida aos olhos dos bacteriologistas, que a consideram como contaminante dentro do contexto de bacteriúria considerável proposto por Kass^(2,3).

Coletas pediátricas podem ser problemáticas e devem contar com uma pequena série de cuidados, principalmente em casos de uso de coletores plásticos.

A infecção pode afetar um único local, tal como a uretra (uretrite), próstata (prostatite), bexiga (cistite) ou rins (pielonefrite), embora, freqüentemente, mais de um sítio esteja envolvido. Infecção restrita à urina pode apresentar-se como bacteriúria assintomática, mas pode, subseqüentemente, levar à infecção clínica. Todas as porções do trato urinário podem correr risco, desde que algum de seus sítios torne-se infectado⁽⁸⁾.

Há duas vias de infecção dos rins: infecção hematogênica, pela corrente sanguínea, e infecção ascendente, a partir da via urinária. A infecção ascendente é, claramente, a via mais comum pela qual as bactérias têm acesso ao rim. O primeiro passo para a patogenia da infecção ascendente parece ser a colonização da uretra distal e intróito por coliformes, pela capacidade de adesão às células vaginais ou da uretra⁽⁸⁾, sendo que a via sanguínea é um dos maiores focos, também, para bacteremias causadas por enterobactérias.

Os sítios mais comuns de infecção do trato urinário, na mulher, são a uretra e a bexiga. A mulher

possui a bexiga maior, podendo armazenar a urina por mais tempo, apresenta uretra mais curta e ausência de propriedades antimicrobianas, como as encontradas no líquido prostático. Por isso, as infecções agudas são mais comuns nas mulheres que nos homens, além do fato de que a proximidade anatômica entre vagina e ânus, associada ao alto grau de umidade local, cria uma verdadeira “ponte” líquida, proporcionando livre acesso dos microrganismos ao sistema urinário feminino.

Bacteriúria assintomática, em mulheres jovens, é comum, mas, raramente, persiste, o que é um forte indício de uma subsequente ITU sintomática⁽⁹⁾.

No sexo feminino, a frequência urinária e a disúria também podem ser provocadas por outras condições, além da ITU. Síndrome uretral aguda é um termo que tem sido aplicado, quando da presença de um ou mais sintomas típicos da cistite em mulheres com suspeita de piúria associada a baixo número de bactérias na cultura de urina (isto é, geralmente, < 10² UFC/mL). Entretanto, como a maior parte dos laboratórios não trabalha com culturas de urina de baixos números, essas mulheres, aparentemente, têm piúria “estéril” do ponto de vista clínico.

Stamm et al.^(4,5) determinaram que a uretrite aguda, a vaginite e as infecções por herpes genital são responsáveis por todos os casos de síndrome uretral aguda, não provocados pela cistite.

Amostras uretrais devem ser utilizadas para fazer culturas ou para conduzir testes de detecção desses patógenos, em mulheres que têm vida sexual ativa e piúria documentada com culturas de urina “persistentemente” negativas. As culturas de urina também podem apresentar resultados falso-negativos, no caso da *Candida albicans*, em mulheres portadoras de vulvovaginite provocada por contaminação urinária pela descarga vaginal.

A uretrite é uma causa importante de morbidade, mas é mais importante como fonte potencial para a disseminação da infecção com comprometimento dos rins.

Bactérias da família *Enterobacteriaceae* estão envolvidas em quase todas as uretrites não gonocócicas, sendo a *Escherichia coli* identificada como o agente causal de aproximadamente 80 % dos casos na comunidade, entre mulheres na idade fértil.

Staphylococcus saprophyticus, por não fazer parte da microbiota bacteriana vaginal de mulheres, em fase pré-sexual, é importante agente etiológico de ITU em mulheres jovens. Este dado, inclusive, está

sendo testado como indicador de abuso sexual em vítimas sem rompimento de hímen, mesmo quando há ausência da fosfatase ácida, prostática, na vagina. Alguns dados mostram que a simples presença deste grupo de bactérias seria um forte indício de contato peniano-vaginal, já que elas estão presentes na microbiota normal do pênis.

Outros microrganismos, incluindo *Klebsiella* sp., *Enterobacter* sp., *Proteus* sp., *Pseudomonas* sp. e *Enterococcus* sp., são, freqüentemente, encontrados em pacientes com lesões obstrutivas, doenças paralíticas, afetando a função renal, ou naqueles que foram manipulados no trato urinário. *Staphylococcus aureus*, ocasionalmente, causa cistite e raras infecções ocorrem com *S. epidermidis*. Espécies de *Candida* podem estar implicadas em infecções do trato urinário, particularmente em diabetes não controlada ou como um componente de candidíase sistêmica em pacientes imunodeficientes⁽⁶⁾.

Prostatite bacteriana, crônica é uma doença comum no homem. É de difícil cura e é, freqüentemente, responsável por infecções recidivas no trato urinário. A prostatite é, geralmente, causada por bacilos gram-negativos, com *E. coli* presente em 80% dos pacientes. A maioria dos casos restantes é causada por *Klebsiella* sp., *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas* sp. e *Enterobacter* sp. Entre as bactérias gram-positivas, o enterococo parece ser mais freqüente como causa de prostatite. Duas ou mais espécies de bactérias podem estar presentes na urina de 10% dos pacientes com prostatite bacteriana.

Pielonefrite é um processo inflamatório, envolvendo a pelve e parênquima renal, que pode tornar-se crônico e levar a uma extensa destruição renal. Acredita-se que a infecção ascendente seja a mais comum. Infecções hematogênicas podem causar abscessos únicos ou múltiplos. Embora a doença renal, inflamatória (nefrite) possa resultar de uma variedade de causas, admite-se, apenas, a infecção bacteriana como a causa de pielonefrite. Deve ser enfatizado que só a bacteriúria não é diagnóstico de pielonefrite, embora pacientes com pielonefrite ativa, não tratada, tenham bacteriúria. O diagnóstico exige evidências de inflamação renal e bacteriúria e estudos bacteriológicos, em espécimes de urina colhida no ureter, podem ser importantes para estabelecer o diagnóstico e determinar se a infecção ativa é uni ou bilateral.

Na pielonefrite aguda, até 90% dos pacientes têm *E. coli* como agente etiológico. Os demais pa-

cientes têm várias outras bactérias entéricas (por exemplo: *Klebsiella* sp., *Enterobacter* sp., *Proteus* sp. e *Enterococcus* sp.). *S. aureus* é raramente encontrado na pielonefrite aguda. A incidência de *E. coli*, como agente etiológico na pielonefrite crônica, vem diminuindo, mas permanece ainda como o agente mais comum. Infecções mistas podem ocorrer, quando há obstrução do trato urinário ou o uso de cateteres.

Embora ITU, geralmente, seja causada por apenas um agente etiológico, raros são casos de enterobactérias gram-negativas, associados às bactérias do gênero *Enterococcus*, sendo que, nesses casos, a bacterioscopia de gota pode confundir o microbiologista na análise prévia.

Assim, a bacterioscopia pela coloração de Gram deve servir apenas como guia de raciocínio e não como triagem, como recomendavam alguns autores.

2. COLHEITA DO ESPÉCIME

Espécimes matinais são recomendados, pois as contagens bacterianas são mais altas devido à incubação noturna na urina contida na bexiga. A urina de pacientes que estão recebendo líquidos diuréticos pode estar diluída, reduzindo a contagem de colônias.

Os cuidados na colheita, preservação e transporte dos espécimes de urina são da maior importância. As melhores técnicas de laboratório para contar e identificar bactérias são de pouco valor, se o espécime não é colhido adequadamente e levado ao laboratório, sem demora ou sob refrigeração adequada.

A urina a ser pesquisada bacteriologicamente não deve ser colhida em urinol ou “comadre”, deve ser coletada diretamente em frasco estéril, identificada e examinada ou refrigerada, o mais rapidamente possível, entre 4 – 6 °C, pois, sob refrigeração, as contagens bacterianas permanecem em ritmo lento de replicação por (pelo menos) 24 horas nessas condições⁽⁸⁾, embora não parem totalmente a replicação.

Bactérias contaminantes, provenientes do períneo, podem multiplicar-se nos espécimes mantidos à temperatura ambiente e invalidar os resultados dos exames.

Espécimes de urina podem ser colhidos por cateterização, aspiração suprapúbica ou jato médio de micção espontânea.

A aspiração suprapúbica da bexiga pode ser necessária para diagnosticar uma infecção. Esse procedimento é realizado pelo médico e envolve a punção direta da bexiga através da parede abdominal, usando-se agulha e seringa. A técnica é utilizada quan-

do os resultados de culturas repetidas de urina, fornecem números conflitantes de microrganismos e microbiota bacteriana, mista. Também, quando na presença de bacteriúria e a cultura é negativa, existe a possibilidade de infecção por anaeróbios.

Espécimes colhidos durante cistoscopia ou por punção suprapúbica da bexiga têm menor probabilidade de estarem contaminados e, assim, mesmo um pequeno número de microrganismos pode ser representativo na amostra.

A cateterização uretral já foi considerada o melhor recurso de colheita de urina na bexiga, mas pode favorecer infecção, particularmente, em pacientes idosos, confinados ao leito, por ser extremamente invasiva.

Durante a cateterização, a urina não deve ser colhida do saco de drenagem, porque o crescimento das bactérias pode ter ocorrido fora do corpo. O cateter deve ser limpo com álcool 70°, diretamente perfurado, em local apropriado, com agulha e seringa para aspirar a urina. A prática de realizar a cultura da ponta do cateter, após sua remoção, não tem sentido, porque a ponta contamina-se, quando ele é removido da uretra⁽¹⁾. Nunca se deve coletar a urina do saco coletor devido à possibilidade de contaminação e ao fato de estar em temperatura ambiente, proporcionando resultados falso-positivos.

A cateterização foi amplamente substituída pela técnica de micção espontânea, coletando-se o jato médio que elimina o risco de causar infecção. Atualmente, é a técnica utilizada, pois, com o primeiro jato de urina, são eliminadas as bactérias encontradas na uretra, diminuindo a possibilidade de contaminação da amostra.

A obtenção de espécime de urina por micção espontânea varia muito, dependendo da idade, sexo e da capacidade de cooperação do paciente. As instruções adequadas para colher uma urina por micção espontânea devem ser passadas para todos os pacientes, de forma que as bactérias encontradas na urina possam ser consideradas como provenientes apenas da bexiga e uretra.

Nos adultos, a higiene genital deve ser feita com clorexidina. O homem deve retrair o prepúcio e limpar o meato uretral e a glândula. Na mulher, a assepsia deve ser da uretra para o ânus. Em ambos, desprezar o início da micção e coletar apenas o segundo jato. O frasco deve ser seguro de tal maneira que se evite o contato com as pernas, vulva ou roupa. Os dedos devem ser mantidos afastados da boca ou superfície externa do frasco.

Nas crianças, é necessário coletor infantil. Antes, coloca-se a criança em posição ginecológica e faz-se a assepsia com clorexidina. Na primeira hora, o coletor deve ser trocado a cada 30 minutos. Daí em diante, a cada 60, mas sempre após a higiene genital.

Observação: em estudos realizados com amostras de recém-nascidos, obtidas através de saco coletor e com o diagnóstico comprovado por aspiração suprapúbica, pode-se concluir que o saco coletor fornece resultados confiáveis somente quando utilizado em crianças com mais de sete dias de vida, visto que, em crianças mais novas, há maior probabilidade de ocorrência de resultados falso-positivos⁽¹⁰⁾ por contaminação fecal.

3. INFORMAÇÕES NECESSÁRIAS

Além da identificação usual do paciente, o laboratório precisa de informações sobre o diagnóstico clínico, o método e hora exata em que foi colhida, se o paciente estava sob tratamento com diuréticos, ou se foi administrado algum agente antimicrobiano específico.

4. CRITÉRIOS PARA REJEIÇÃO DA AMOSTRA

Os espécimes recebidos com mais de duas horas após a coleta, sem evidência de refrigeração, devem ser devolvidos e solicitada nova colheita. Se isso não for possível, o material deve ser refrigerado e nova requisição deve ser feita. Quando não houver informação, quanto à hora da colheita ou à técnica utilizada, o mesmo procedimento deve ser obedecido. Nenhum espécime deve ser descartado sem o contato prévio com o médico que fez a requisição, porque há possibilidade de ser inviável a obtenção de outro espécime.

5. EXAME BACTERIOLÓGICO

O procedimento básico deve permitir uma estimativa do número total de microrganismos viáveis por mililitro de urina (UFC/mL) e, ao mesmo tempo, permitir isolamento de colônias em meios nutritivos, enriquecidos e diferenciais, para possibilitar o reisolamento e identificação dos microrganismos predominantes.

6. EXAME DIRETO DO ESFREGAÇO

O exame de esfregaço de urina não centrifugada, corada pelo Gram, é recomendado como parte

do procedimento básico. Colocar 10µL de urina não centrifugada em uma lâmina, deixar secar sem espalhar, fixar e, então, corar pelo método de Gram. Em objetiva de imersão, uma ou mais células bacterianas observadas, por campo, é indicativo de infecção urinária. É sempre bom lembrar que este é um procedimento de triagem, e não diagnóstico. Deve servir apenas como guia para o microbiologista.

A presença de várias células epiteliais escamativas é típica de contaminação pelo conteúdo vaginal, sendo recomendável nova amostra (independente do número total de bactérias). O exame microscópico também serve como medida de controle de qualidade, pois, uma bacterioscopia positiva, com a cultura sem crescimento bacteriano, alerta o microbiologista para a possibilidade de uma troca de espécime, a presença de aeróbios de crescimento lento, bactérias exigentes nutricionalmente ou uso de antibiótico antes da colheita da amostra.

7. CULTURA PARA CONTAGEM DE COLÔNIAS

A contagem de colônias deve ser feita através da técnica de espalhamento em superfície. Ágar Mueller-Hinton suplementado com sangue de carneiro a 5% ou, preferencialmente, um meio rico diferencial (Cled ou Brolacin) é normalmente usado para a quantificação e isolamento.

Em todos os métodos, a urina deve ser bem homogeneizada antes de semeada.

7.1. Procedimento de semeadura em superfície. Técnica da alça calibrada

Uma alça calibrada de 1µL (0,001 mL)⁽¹⁾ é usada para inocular a urina nos meios de cultura em placas. A alça é mantida verticalmente e imersa logo abaixo da superfície da urina homogeneizada, devendo ser movimentada para cima e para baixo. Uma alçada de urina é, então, depositada e espalhada na superfície de cada meio. Este procedimento proporciona, invariavelmente, uma separação que permite a contagem de colônias na faixa de importância clínica e a seleção de colônias isoladas para estudos subsequentes.

O volume dispensado pela alça calibrada manualmente pode mudar com o uso repetido, devido à deformação, corrosão, ou acúmulo de material incinerado, portanto, a alça deve ser inspecionada, pelo menos, uma vez ao mês. A alça não deve ser usada para semeaduras de rotina ou para outros espécimes

a não ser que seja necessária uma quantificação. A alça calibrada pode ser substituída por micropipetas calibradas e ponteiros estéreis, obtendo-se os mesmos resultados.

7.2 Técnica de inoculação com pipeta

Uma alternativa para o método de espalhamento em superfície com alça calibrada consiste em inocular 0,1 mL de uma diluição de urina em água destilada a 1:1000, na superfície de uma placa de ágar, e distribuir esse inóculo, uniformemente, sobre a superfície total da placa com o auxílio de uma alça estéril ou bastão de vidro em “L”. Um dispositivo giratório pode ser usado para se obter uniformidade no espalhamento do inóculo. As colônias são contadas e os resultados são multiplicados por 1000 para dar a contagem de viáveis.

8. CULTURAS PARA IDENTIFICAÇÃO DO MICRORGANISMO ENVOLVIDO

Recomenda-se o uso de ágar Cled (Difco) ou Brolacin (Merck), que permitem o cultivo de microrganismos aeróbios ou microaerófilos, gram-positivos ou gram-negativos. Devido a uma ampla disponibilidade de substâncias nutritivas e por não possuírem substâncias inibidoras, são considerados meios de cultivo universal para urocultura.

Semeia-se a 35°-37°C e incuba-se por 24 horas. Uma incubação mais prolongada (mais 24h) somente é necessária, se houver uma discordância entre os resultados do exame bacterioscópico e da cultura, se estiver presente a esterase leucocitária, indicando piúria (leucócitos degenerados) e, com isso, uma possível infecção⁽¹¹⁾. Pode-se utilizar meio de Mac Conkey para isolamento de enterobactérias gram-negativas, por se tratar de um meio com inibidores para gram-positivos. É um excelente auxílio diagnóstico.

9. REGISTRO DOS TESTES QUANTITATIVOS E SELEÇÃO DE MICRORGANISMOS ISOLADOS PARA IDENTIFICAÇÃO

Urinoculturas quantitativas devem ter seus resultados relatados, e as colônias isoladas devem ser selecionadas para os testes de identificação e susceptibilidade de acordo com o roteiro indicado a seguir:

Se houver crescimento de 10 colônias ($\cong 10^4$ UFC / mL), a probabilidade de contaminação é gran-

de, o que deve levar o microbiologista a analisar, juntamente com o médico, dados clínicos que, se compatíveis com ITU, justifiquem a continuidade da cultura, principalmente, em pacientes pediátricos, idosos e imunodeprimidos, levando-se sempre em consideração a presença ou não de leucócitos na amostra.

Se houver crescimento de 10 a 100 colônias, registra-se o número de bactérias por mililitro de urina (número de colônias vezes 1000). Se há predominância de um único tipo de microrganismo, ele deve ser identificado, mas se há uma mistura de dois ou mais tipos de bactérias relata-se “microbiota mista” e requisita-se uma nova amostra. Em geral, o número de espécimes que fornecem microbiota mista com contagens entre 10^4 e 10^5 por mL é um bom índice para avaliar o cuidado com que tais materiais estão sendo manipulados. Eles devem compreender uma pequena proporção, quando a coleta e o transporte são satisfatórios.

Se estiverem presentes mais do que 100 colônias, relata-se como mais de 10^5 bactérias por mL. Se as placas foram adequadamente semeadas, colônias bem isoladas devem estar presentes. Se mais de um tipo de colônia está presente em um número suficientemente elevado, cada tipo deve ser identificado e os testes de susceptibilidade aos antimicrobianos realizados, quando solicitados. Não se faz nenhuma tentativa para isolar e identificar aqueles microrganismos que estão presentes em pequena quantidade, e reconhecidos somente quando são usados meios seletivos diferenciais.

Se forem encontradas mais de duas espécies, deve-se suspeitar de contaminação grosseira, especialmente quando os leucócitos estão ausentes e células epiteliais, escamativas aparecem no exame direto pelo Gram. Embora, muitas vezes, tal microbiota mista indique uma colheita insatisfatória ou contaminação de espécimes, isto pode estar presente na urina da bexiga de pacientes com cateteres ou com lesões obstrutivas do trato urinário inferior. Em tais casos, o médico deve ser consultado para se discutir o que deve ser feito. Algumas vezes uma identificação completa será necessária, se a cultura repetida mostrar as mesmas espécies de microrganismos.

A compatibilidade entre cultura e clínica é importantíssima para diagnósticos de ITU, já que se observa, em muitos casos, a utilização de metodologias de triagem em laboratórios de bacteriologia. Essas metodologias deverão ser utilizadas apenas como guia do microbiologista, e avaliadas internamente.

10. IDENTIFICAÇÃO DOS ISOLAMENTOS E TESTE DE SUSCEPTIBILIDADE

Deve-se identificar, pelo menos, o gênero de patógenos potenciais, embora com o advento dos equipamentos de automação, a identificação em gênero e espécie tenha se transformado em prática diária. A identificação de espécies deve ser feita em todos os casos nos quais espécies do mesmo gênero diferem, em sua susceptibilidade, dos agentes antimicrobianos.

Procedimentos definidos para a identificação de bactérias estão descritos no Manual of Clinical Microbiology⁽¹⁾, mas a maioria dos patogênicos comuns, na urina, podem ser identificados pelo uso de testes de triagem de leitura rápida ou com poucos testes convencionais. As colônias repicadas para identificação devem ser testadas quanto à susceptibilidade antimicrobiana, quando isso for requisitado. A inoculação direta de placas com espécimes de urina para testes de susceptibilidade não é recomendada, e colônias individuais devem sempre ser testadas sob condições padronizadas. Recomendam-se os testes para avaliar a susceptibilidade antimicrobiana, descritos em manuais de referência^(1,12).

11. LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO BÁSICO

Ocasionalmente, como em infecções por *Candida sp*, infecções em desenvolvimento e em fase de resolução, pacientes pediátricos e imunodeprimidos, o agente etiológico pode estar presente em números menores. Nesses casos, culturas negativas devem ser registradas como contendo “< 10³ microrganismos/mL”, levando, muitas vezes, o clínico a entrar em contato com o microbiologista para discutir caso a caso.

A cultura para anaeróbios deve ser feita, somente quando houver evidência clínica ou radiológica de infecção anaeróbia, ou quando houver presença de bactéria no esfregaço corado pelo Gram e cultura negativa, sugerindo a presença de anaeróbios. A aspiração suprapúbica é indicada na coleta de espécimes para a cultura de anaeróbios.

12. PROCEDIMENTOS SUPLEMENTARES RECOMENDADOS EM SITUAÇÕES ESPECIAIS

O laboratório clínico microbiológico pode subsidiar o clínico, no acompanhamento do paciente com infecção recorrente do trato urinário, com informações

adicionais valiosas, ajudando no diagnóstico diferencial entre a recorrência devido à reinfeção com uma nova amostra ou recaída devida à supressão terapêutica inadequada do foco de infecção. Isso é melhor acompanhado pela determinação precisa das espécies envolvidas e, em casos necessários, por métodos de tipagem epidemiológica do microrganismo infectante e pode determinar seu exato relacionamento com a amostra da mesma espécie isolada anteriormente.

13. MÉTODOS QUÍMICOS E KITS BACTERIOLÓGICOS PARA O DIAGNÓSTICO PRESUNTIVO DE INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO

Há uma variedade de *kits* ou dispositivos disponíveis comercialmente para o diagnóstico presuntivo de infecções do trato urinário. Eles se baseiam em procedimentos bacteriológicos ou químicos.

Um exemplo de *kit* para cultura bacteriológica, quantitativa é o laminocultivo que consiste numa lâmina coberta de meio sobre cada lado, sendo um seletivo e outro não seletivo. A lâmina é mergulhada na urina, removida, recolocada na embalagem estéril, e incubada. Os laminocultivos são destinados ao isolamento e à identificação presuntiva de determinadas bactérias, freqüentes na urocultura, reduzindo a mão-de-obra, custos e tempo de semeadura e identificação. Os laminocultivos substituem, com segurança e qualidade, os métodos tradicionais de isolamento, mas nunca os de identificação de gênero e espécie, embora a urocultura quantitativa seja prejudicada pela falta de padronização do inóculo. Recomendamos o uso de laminocultivos apenas para laboratórios de pequeno porte (desde que usados criteriosamente), plantões (já que normalmente o plantonista não é microbiologista), tornando-se mais fácil a padronização da técnica.

Não são recomendados os *kits* bacteriológicos que visam, também, à diferenciação de microrganismos em relação a gêneros ou grupos, pelo emprego de múltiplos meios diferenciais e seletivos para a cultura direta de urina.

Os *kits* químicos detectam a redução de nitrato a nitrito, a redução de corantes derivados do tetrazólio resultante do metabolismo bacteriano, a medida da redução dos níveis de glicose na urina, a presença de esterase leucocitária, indicando piúria⁽¹⁾.

A pesquisa de nitritos deve ser realizada com a primeira urina da manhã e não em espécimes colhidos em qualquer tempo. Ele pode também fornecer resultados falso - negativos em pacientes com dieta pobre

em nitrato, pode sofrer o bloqueio ou interferência pelo cloreto de fenzapiridina ou qualquer droga que seja ativa sobre bactérias e requer grandes populações bacterianas para dar resultados positivos. Portanto, deve-se ressaltar que uma urina sem refrigeração permite a multiplicação de bactérias, aumentando consideravelmente sua quantidade, resultando em resultado falso-positivo na pesquisa de nitritos⁽⁶⁾. Adicionalmente, o teste não detecta microrganismos incapazes de reduzir nitrato a nitrito. A fidelidade do teste da glicose é questionada devido à elevada porcentagem de resultados falso-positivos. A medida de piúria pela padronização microscópica pode atrasar todo o processo de isolamento, por isso uma alternativa aceitável é a medida de esterase leucocitária, uma enzima presente nos leucócitos. Um teste rápido (dois minutos) e fácil, disponível em fitas.

Os *kits* podem ser apropriados como métodos de triagem. Somente quando as infecções exigem tratamento de urgência, é que o diagnóstico deve ser baseado apenas em um dos testes, mas, mesmo nessas circunstâncias, a cultura quantitativa de urina deve ser realizada para confirmação e identificação precisa do agente causal, além da realização dos testes de susceptibilidade antimicrobiana, quando indicados.

14. PROCEDIMENTOS INADEQUADOS

Algumas vezes são empregados certos procedimentos inaceitáveis ou parte de procedimentos considerados inadequados.

- Semeadura de rotina da urina em qualquer caldo.
- Obtenção de várias amostras, por centrifugação, como triagem para uroculturas.
- Cultura dos sedimentos (após centrifugação das urinas obtidas por micção espontânea).
- Cultura de rotina para anaeróbios.
- Testes de susceptibilidade antimicrobiana não padronizados ou diretos.
- Inoculação direta da urina em meios diferenciais múltiplos.
- Cultura de espécimes que tenham sido enviadas ao laboratório e que, de alguma forma, permaneceram por mais de duas horas sem refrigeração apropriada.
- Cultura a partir de urina coletada em ponta de cateter.
- Uso de métodos simplificados de cultura ou inoculação de placa, de modo a não proporcionar colônias isoladas a partir de espécimes contendo um número elevado de espécimes.
- Cultura de urina de pacientes sob uso de agentes

antimicrobianos, exceto em suspeita de falhas terapêuticas.

- Desprezo de amostras com microbiota abaixo de 10^5 UFC/mL, triadas pelo Gram.
- Utilização da observação da flora bacteriana do Exame Comum de Urina como método de triagem para Urocultura.

14.1 Conseqüências da não refrigeração da amostra

- Aumento do pH pela degradação da uréia em amônia por bactérias produtoras de urease.
- Diminuição da glicose pela glicólise e pela utilização desta por bactérias.
- Diminuição de corpos cetônicos pela volatilização.
- Diminuição de urobilinogênio por sua oxidação em urobilina.
- Diminuição da bilirrubina decorrente da exposição à luz.
- Aumento do nitrito pela redução do nitrato pelas bactérias.
- Aumento do número de bactérias.
- Aumento da turbidez pela proliferação de bactérias.
- Desintegração de hemácias e cilindros, particularmente em urinas alcalinas.
- Alteração na coloração pela oxidação ou redução de metabólitos.

15. AUTOMAÇÃO

Atualmente, são utilizados muitos instrumentos para identificação microbiana e realização de testes de susceptibilidade, além de sistemas que permitem a detecção de antígenos e produtos do metabolismo microbiano diretamente em espécimes clínicos humanos, entre eles, a urina⁽¹³⁾.

A automação, que também é utilizada no diagnóstico das ITU, é de grande importância oferecendo benefícios e facilidades tanto para o paciente quanto para o laboratório. Alguns exemplos podem ser citados pela redução do tempo de internação e de riscos de contrair infecção hospitalar, rapidez nos resultados, identificação de espécies raras e de difícil identificação; monitorização das infecções nosocomiais e de cepas multirresistentes e a facilidade de obtenção de estatísticas.

Os princípios básicos para a detecção e identificação de microrganismos viáveis podem ser através da turbidez, análise do metabolismo microbiano, medição de metabólitos e detecção colorimétrica de partículas.

CAMARGO ILBC; MASCHIETO A; SALVINO C & DARINI ALC. Bacteriological diagnostic of urinary tract infections. A technical revision. **Medicina, Ribeirão Preto**, 34: 70-78, jan./march 2001.

ABSTRACT: Urinary tract infection is one of the most common diseases and it can affect more than one site or one single place like urethra (urethritis), prostate (prostatitis), urinary bladder (cystitis) or kidney (pielonephritis).

Urine is considered sterile and may suffer bacterial contamination from skin, clothes or external genitals, so it should be collected, kept and transported appropriately, to avoid false results in laboratory analysis.

Urethritis and cystitis non gonococcal are commonly caused by members of *Enterobacteriaceae* family but *Escherichia coli* is the casual agent of approximately 80% of the cases between fertile age women without urinary tract leison. Other microorganisms including *Klebsiella* sp., *Enterobacter* sp., *Proteus* sp., *Pseudomonas* sp and the *Enterococcus* sp are frequently found in patients with obstructive leisons or paralytical diseases affecting the renal function.

Staphylococcus saprophyticus is an important opportunistic pathogenin human urinary tract infections, especially in young, sexually active females.

The patient must be informed about the recommended procedures related to the collect time, way of obyaining and all the necessary asepsis, such as the professional must be up to date about the techniques utilized for the isolation, identification and susceptibility test of the microorganism.

Currently, there are chemical and authomatical methods and excelent kits for laboratorial diagnosis of urinary infections, helping and accelerating the process of identification and efficient treatment to the infected patient.

UNITERMS: Urinary Tract Infections. Diagnosis, Laboratory. Bacteriuria.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - MURRAY PR; BARON EJ; PFALLER MA; TENOVER FC & YOLKEN RH. **Manual of clinical microbiology**, 7th ed. ASM PRESS, Washington, D.C., 1999.
- 2 - KASS EH. Assymptomatic infections of the urinary tract. **Trans Assoc Am Phys** 69: 56-64, 1956.
- 3 - KASS EH. Bacteriuria and the diagnosis of infections of the urinary tract. **Arch Intern Med** 100: 709-714, 1957.
- 4 - STAMM WE. Measurement of pyuria and its relation to bacteriuria. **Am J Med** 75: 53-58, 1983.
- 5 - STAMM WE; COUNTS GW; RUNNING KR; FIHN S; TURCK M & HOLMES KK. Diagnosis of coliform infection in acutely dysuric women. **N Engl J Med** 307: 463-468, 1982.
- 6 - SILVA CHPM. **Bacteriologia um texto ilustrado**, Eventos, Teresópolis, cap.30, p.457-470, 1999: Infecções urinárias.
- 7 - CLARRIDGE JE; PEZZLO MT & VOSTI KL. Laboratory diagnosis of urinary tract infections. **Cumitech 2A**, ASM PRESS, Washington D.C., 1987.
- 8 - MURRAY PR; ROSENTHAL KS; KOBAYASHI GS & PFALLER MA. **Microbiologia médica**, Trad. de Patrícia Josephine Voeux. 3^a ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1998.
- 9 - HOOTON TM; SCHOLDS D; STAPLETON AE; ROBERTS PL; WINTER, C; GUPTA K; SAMADPOUR M & STAMM WE. A prospective study of assymptomatic bacteriúria in sexually active young women. **N Engl J Med** 343: 992-997, 2000.
- 10 - FALCÃO MC; LEONE CR; D'ANDREA RAP; ONO NA & VAZ FAC. Urinary tract infection in full-term newborn infants: value of urine culture by bag specimen collection. **Rev Hosp Clín Fac Med São Paulo** 54: 91-96, 1999.
- 11 - SORIANO F & PONTE C. Processing urine specimens: Overnight versus two-day incubation. **J Clín Microbiol** 30: 3033-3034, 1992.
- 12 - NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS NCCLS. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing**, 9th ed. informational supplement M100-S9. Villanova, Pa., 1999.
- 13 - SILVA CHPM. **Bacteriologia um texto ilustrado**, Eventos, Teresópolis, cap.8, p.91-99, 1999: Automação.

Recebido para publicação em 28/04/2000

Aprovado para publicação em 12/02/2001