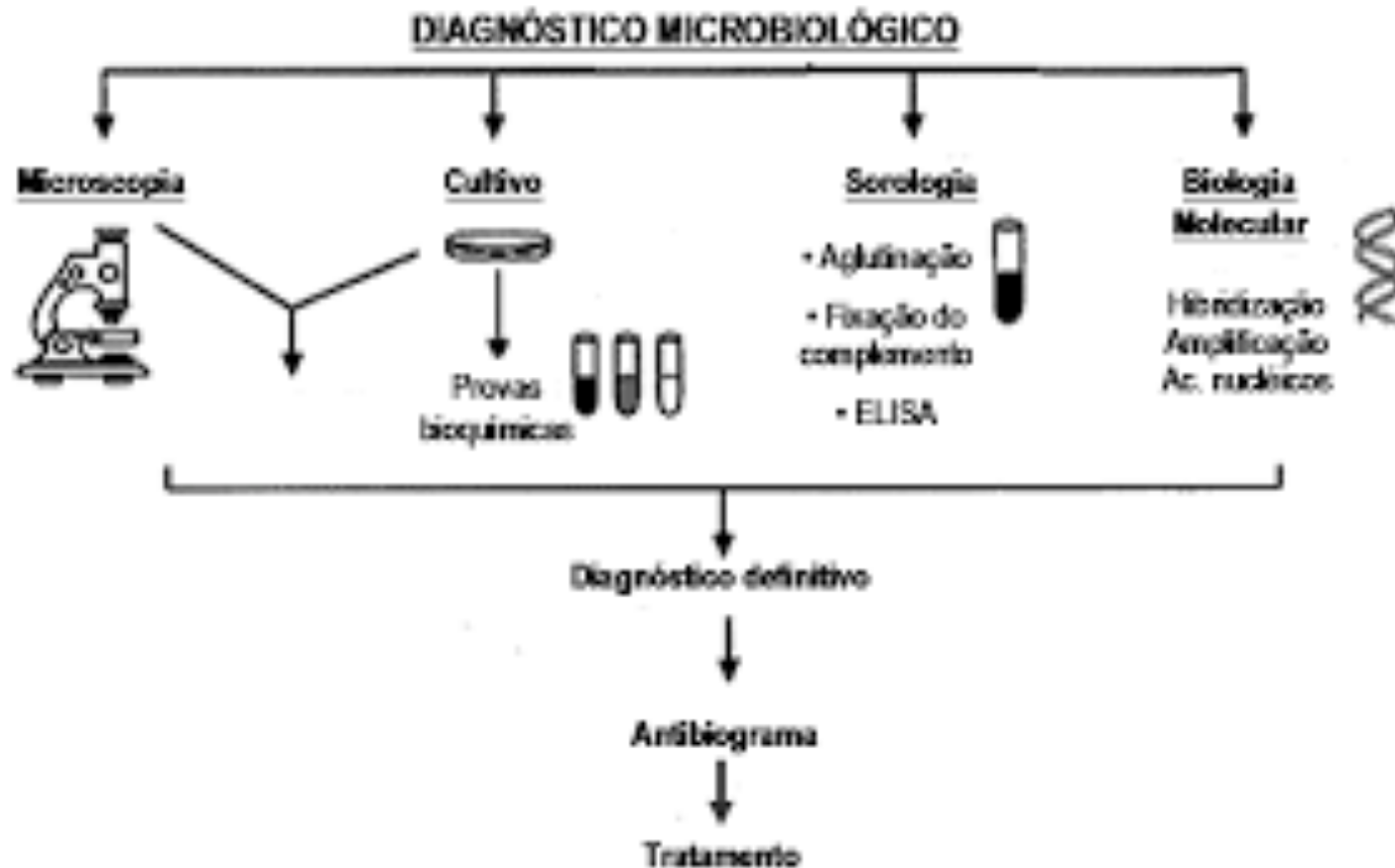


# Diagnóstico das infecções bacterianas



# Diagnóstico das infecções bacterianas

## Importância e Considerações Gerais:

O diagnóstico precoce de uma infecção bacteriana é fundamental para assegurar o seu tratamento imediato. Uma infecção bacteriana é por vezes difícil de distinguir de uma infecção viral. Contudo, regra geral, as infecções bacterianas têm tendência para provocar mais febre (por vezes atingem os 41 °C) e provocam um aumento maior do número de glóbulos brancos.

Para o isolamento e identificação de bactérias patogênicas podem ser coletadas amostras diretamente de: **sangue, expectoração, urina, fezes, muco, pus, secreções da parte anatômica afetada.**

Se uma **infecção pulmonar** é suspeita, o médico pode pedir um **raio-X** ou fazer uma **biopsia**, retirada de células de uma área infectada para ser examinada.

Se houver **suspeita de meningite**, pode ser feita **punção lombar**, utilizando uma agulha para obter uma amostra do **fluido espinhal** para teste.

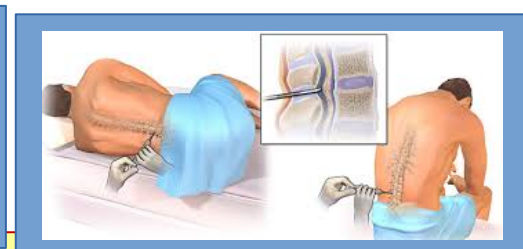
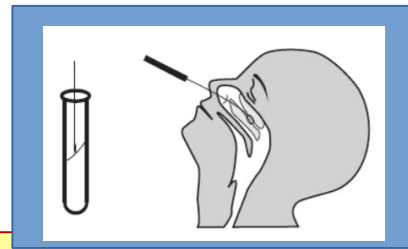
Se houver suspeita de **hanseníase (lepra)**, coletar material do **lóbulo da orelha**, realizar coloração Ziehl-Neelsen e submeter a **exame microscópico** (ver adiante).

# Diagnóstico das infecções bacterianas

## Comunicação entre Médico e Laboratório:

- O diagnóstico pode levar dias ou até semanas.  
Assim, o médico deve notificar O LABORATORIO o diagnóstico presuntivo (tipo de infecção ou agente infeccioso suspeito)
  
- As amostras devem ser **ADEQUADAMENTE ROTULADAS**:
  - dados clínicos,
  - nome paciente,
  - nome do medico,
  - outras informações relevantes ao caso

# Diagnóstico



## 1. Cuidados com a Coleta de Amostra:

- Utilizar apenas equipamentos esterilizados e procedimentos que evitem contaminação
- Quantidade deve ser adequada
- Deve ser realizada ANTES do início de antibiótico-terapia
- Amostra deve ser representativa do processo infeccioso, Exs:
  - **Escarro** – e não saliva
  - **pus da lesão** – e não do trato fistuloso
  - **swab da porção profunda da ferida** – e não da superfície
- A amostra deve ser levada o mais rápido possível para o lab análises, podendo ser utilizado meios especiais de transporte
- O tipo de amostra deve corresponder ao quadro clínico. Na ausência de sinais ou sintomas que indiquem a localização, deve ser coletados: **Sangue e Urina** para cultura.
- Deve ser considerado:
  - Coleta de sitio normalmente estéril (sangue, liquido cefalorraquidiano, liquido articular, cavidade pleural): Qualquer achado é significativo
  - Coleta de sitio com Microbiota normal do corpo humano: Considerar alterações

# Diagnóstico

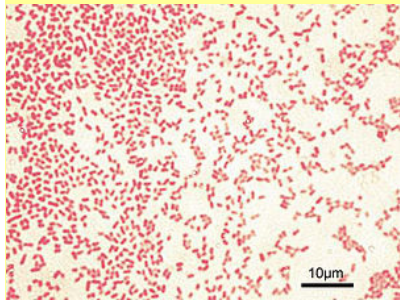


## 2. Coloração e Microscopia

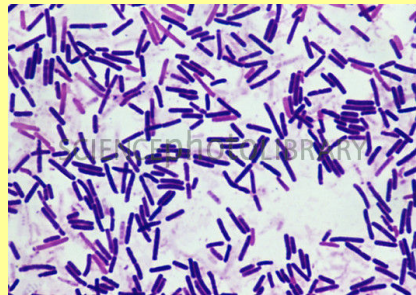
Pode permitir o diagnóstico presuntivo de alguns GÊNEROS bacterianos

### Principais técnicas:

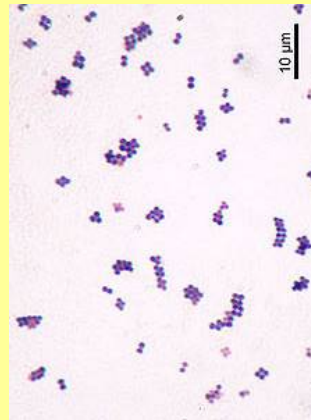
- Coloração de Gram (Exemplos):



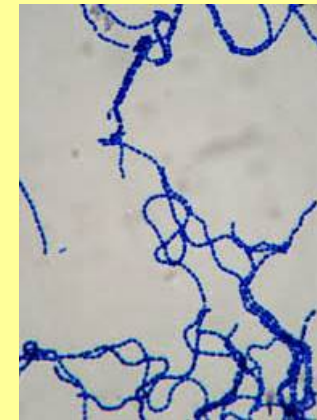
*Escherichia coli*  
(bacilo Gram-negativo)



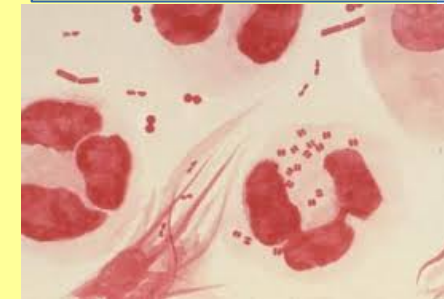
*Clostridium tetani*  
(bacilo Gram-positivo)



*Staphylococcus aureus*  
(coco Gram-positivo)



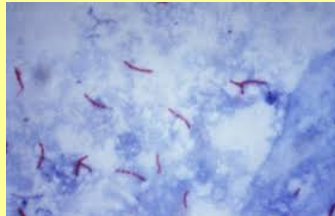
*Streptococcus pyogenes*  
(coco Gram-positivo)



*Neisseria gonorrhoeae*  
(coco Gram negativo)

**Gonorreia:** O diagnóstico é basicamente clínico, não havendo necessidade de exames laboratoriais específicos.

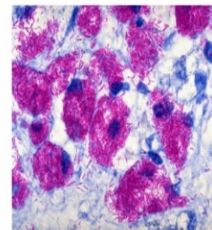
- Coloração de Ziehl-Neelsen



*Mycobacterium tuberculosis* (coletado de escarro)

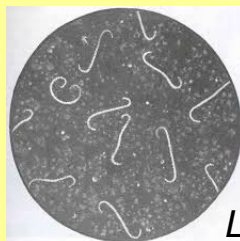
*Mycobacterium leprae*  
- Laboratory diagnosis -

- Collection of specimens:
  - skin lesion biopsy, skin scraping
  - Nasal exudate
- Microscopy:
  - Ziehl-Neelsen stained smear: acid fast bacilli, accumulated in intracellular, encapsulated globular masses - "leprosy globi" - in lepromatous leprosy
- (Cultivation - not applicable)

Micrograph showing acid-fast Mycobacterium leprae bacteria, appearing as red, rod-shaped bacilli.

*Mycobacterium leprae*  
(coletado do lóbulo da orelha)

- Campo escuro



*Leptospira interrogans*

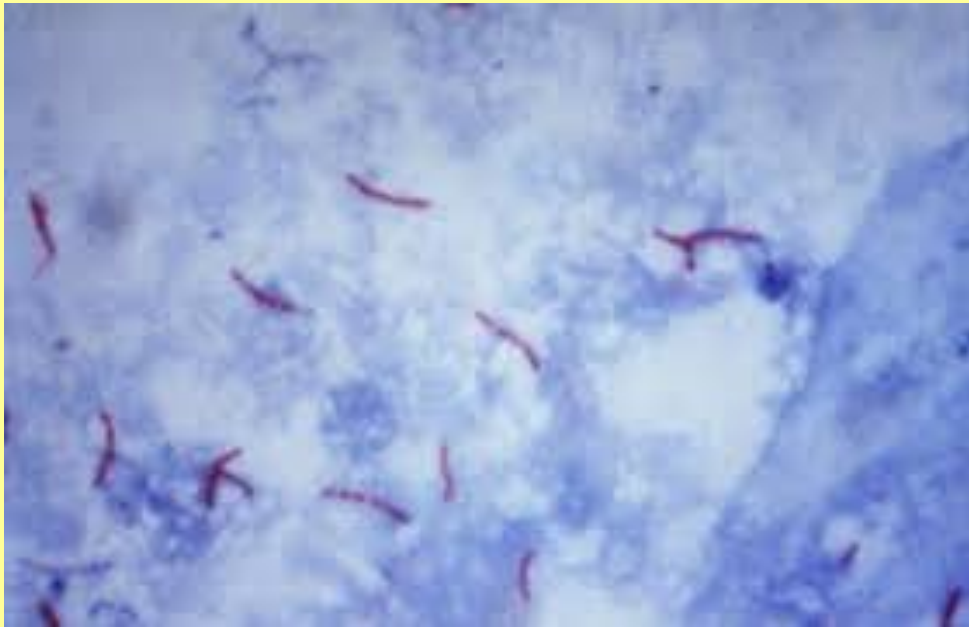


*Treponema pallidum*

# A coloração de Ziehl-Neelsen

Permite o **Diagnóstico presuntivo** de **Tuberculose (TB)** e de **Hanseníase**:

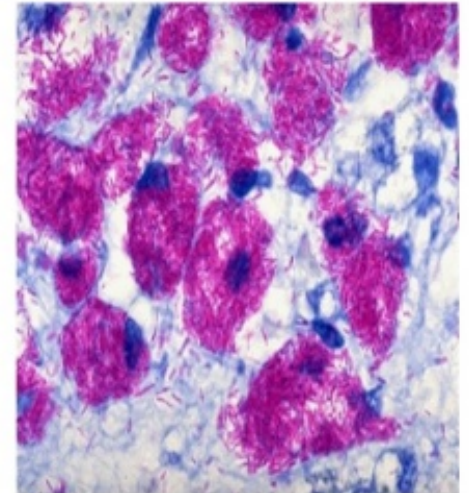
A coloração de Ziehl-Neelsen é um método usado para pesquisa de micobactérias em diferentes matérias clínicos, sendo grande o seu valor diagnóstico.



- **Diagnóstico: Tuberculose (TB):**  
A presença de **bacilos álcool-ácido-resistente** no escarro é fortemente sugestiva de tuberculose pulmonar.

## *Mycobacterium leprae* - Laboratory diagnosis -

- **Collection of specimens:**
  - skin lesion biopsy, skin scraping
  - Nasal exudate
- **Microscopy:**
  - Ziehl-Neelsen stained smear: acid fast bacilli, accumulated in intracellular, encapsulated globular masses - "leprosy globi" - in lepromatous leprosy
- (Cultivation – not applicable)



- **Diagnóstico: Hanseníase (Lepra):**
  - encontro de bactérias deste gênero nas secreções nasais ou no sangue colhido no lóbulo da orelha praticamente confirmam o diagnóstico clínico da lepra.

# Diagnóstico

## 3. Cultivo e Isolamento de colônias isoladas de bactérias - Meios:

- **Agar Sangue**, para:  
A maioria das bactérias

Ágar sangue de carneiro a 5,0%

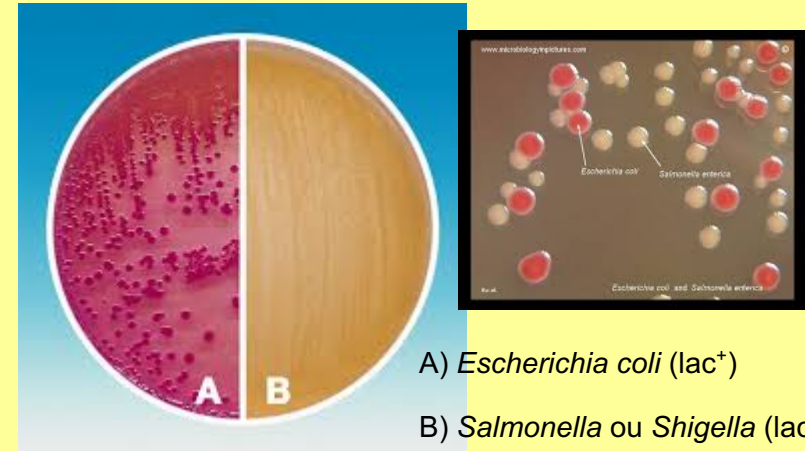
Tipos de hemólise (alfa, beta e gama)



- **Agar Chocolate**, para:  
- *Neisseria*  
- *Haemophilus*



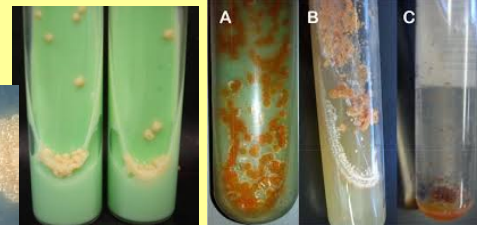
- **Agar MacConkey**, para:  
Bacilos Gram-negativos (BGN)



A) *Escherichia coli* (lac<sup>+</sup>)

B) *Salmonella* ou *Shigella* (lac<sup>-</sup>)

- **Lowestain-Jenssen**, para cultivo de:  
*Mycobacterium tuberculosis*



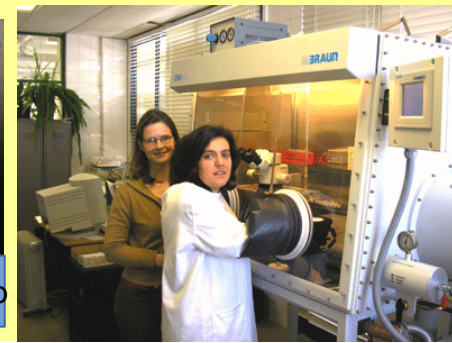
- Meios especiais, para:  
cultivo de Anaeróbios



Jarra de Anaerobiose



Meio líquido Tioglicolato



Câmara de Anaerobiose (com CO<sub>2</sub>)

# Diagnóstico

## - Meios Diferenciais:

- **Agar Sangue**, para:  
A maioria das bactérias

Ágar sangue de carneiro a 5,0%

Tipos de hemólise (alfa, beta e gama)

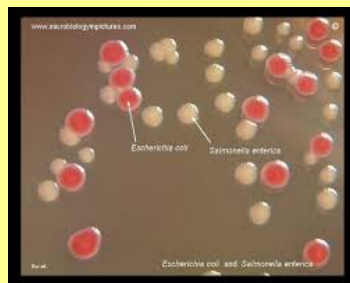
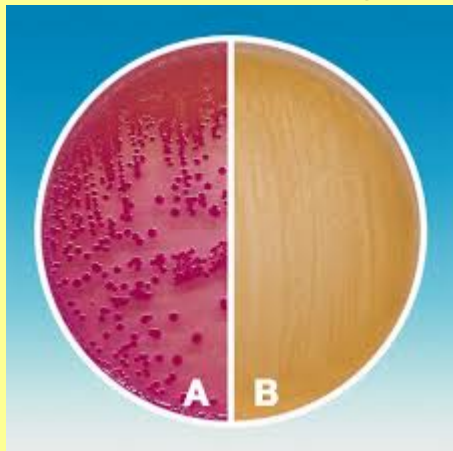


- **Agar Chocolate**, para:
  - *Neisseria*
  - *Haemophilus*



## - Meios Seletivos:

- **Agar MacConkey**, para:  
Bacilos Gram-negativos (BGN)



A) *Escherichia coli* ( $lac^+$ )

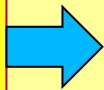
B) *Salmonella* ou *Shigella* ( $lac^-$ )



# Diagnóstico

## 4. Provas Bioquímicas para: Identificação do Gênero e da Espécie bacteriana

Ex1 1.: Bacilos Gram-negativos (BGN)



**TABELA DE INTERPRETAÇÃO DO MEIO IAL / RUGAI - Biomedicina Brasil**

**LEGENDA**

- GLICOSE (+) / GÁS (+)
- GLICOSE (+) / H<sub>2</sub>S (+)
- INDOL (-)
- INDOL (+)
- SACAROSE (-)
- SACAROSE (+)
- UREASE (-)
- UREASE (+) / H<sub>2</sub>S (+)
- LTD (+)
- LTD (-) / SACAROSE (+)
- LISINA (+) / MOTILIDADE (+)
- LISINA (-) / MOTILIDADE (-)
- MEIO INALTERADO
- GLICOSE (-)

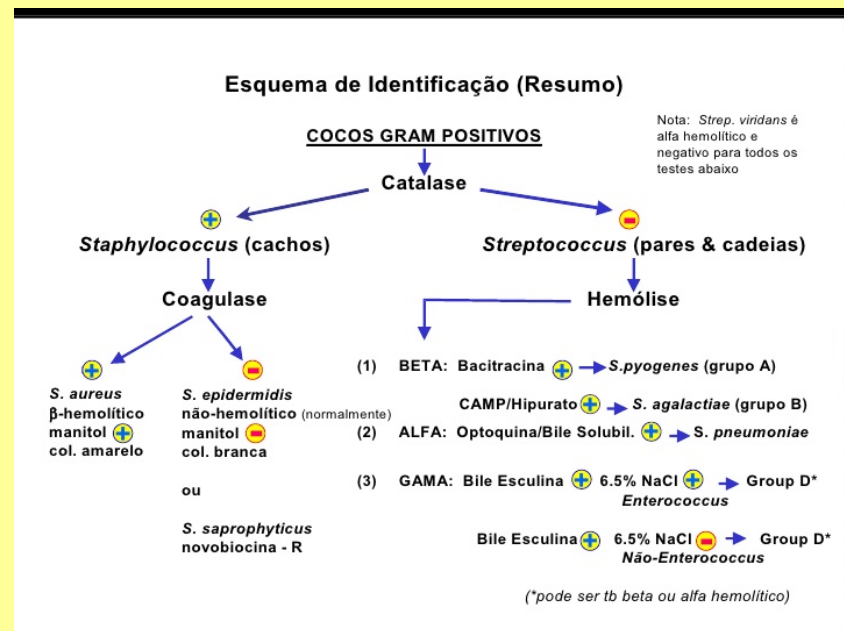
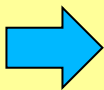
### DIFERENCIAÇÃO BIOQUÍMICA DE ENTEROBACTÉRIAS

TESTES ESPECÍFICOS	Escherichia coli	Salmonella	Shigella flexneri	Shigella sonnei	Klebsiella pneumoniae	Klebsiella rhinoscleromatis	Enterobacter cloacae	Enterobacter aerogenes	Haemophilus spp.	Serratia marcescens	Proteus vulgaris	Proteus mirabilis
GLICOSE GAS	+	+	-	-	+	+	+	+	+	d	+	+
ARABINOSE	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-
LACTOSE	++	D	-	(+)	+	-	+	+	+	-	-	-
MALTOSE	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
MANITOL	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
SORBITOL	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-
SACAROSE	d	-	-	(+)	+	+	+	+	+	-x	+	(+)
TREALOSE	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	(+)
CITRATO	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
MALONATO	-	D	-	-	+	+	d	+	+	+	+	+
VERMELHO DE METILA	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+
TIOSSULFATO	-	+	-	-	+	-	+	+	+	D	d	d
PRODIGAUR	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NITRATO	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HIDROLISE DE GELATINA	-	D	-	-	(d)	(d)	(+)	(+)	-	+	+	+
PRODUÇÃO H <sub>2</sub> S	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
INDOL	+	-	d	-	d	d	-	-	-	-	+	+
LISINA	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	d	d
UREASE	-	-	-	-	-	-	(d)	(d)	-	-	+	+
FENILALANINA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
MOTILIDADE	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+

D... = diferentes reações em diferentes espécies de um gênero  
d... = diferentes reações em diferentes isolados  
(d)... = diferentes reações em diferentes isolados tardamente  
S... = reações tardias e irregularmente positivas (mutantes)  
(+)... = reações tardias, mas sempre positivas  
(++) = liquefação muito lenta

(Fonte: Manual BERGEY 8ª edição)

Ex. 2: Cocos Gram-positivos



# 4. Provas Bioquímicas para: Identificação do Gênero e da Espécie bacteriana

## Esquema de Identificação de Cocos Gram Positivos



**COCOS GRAM POSITIVOS**

Nota: *Strep. viridans* é alfa hemolítico e negativo para todos os testes abaixo

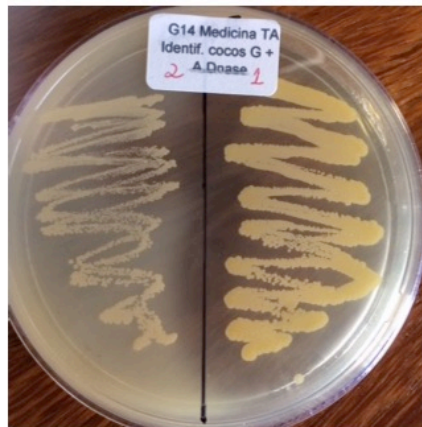
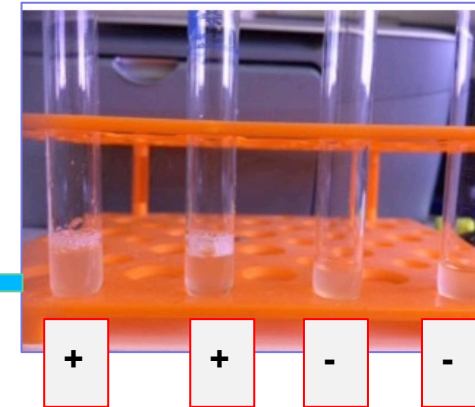
**Catalase**



**Staphylococcus (cachos)**



**Streptococcus (pares & cadeias)**



**DNase<sup>-</sup>**

**DNase<sup>+</sup>**

**DNase**



*S. aureus*  
β-hemolítico  
manitol (+)  
col. amarelo



*S. epidermidis*  
não-hemolítico (normalmente)  
manitol (-)  
col. branca

ou

*S. saprophyticus*  
novobiocina - R

**Padrão de Hemólise**

(1) BETA: Bacitracina (+) → *S. pyogenes* (grupo A)

CAMP/Hipurato (+) → *S. agalactiae* (grupo B)

(2) ALFA: Optoquina/Bile Solubil. (+) → *S. pneumoniae*

(3) GAMA: Bile Esculina (+) 6.5% NaCl (+) → Group D<sup>+</sup>  
*Enterococcus*

Bile Esculina (+) 6.5% NaCl (-) → Group D<sup>+</sup>  
*Não-Enterococcus*



**β (Total)**

**α (Parcial)**

(\*pode ser tb beta ou alfa hemolítico)

# Diagnóstico

## 5. Sorológicas empregadas no diagnóstico microbiológico (Embasamento)

### • Aglutinação e Precipitação

**AGLUTINAÇÃO DIRETA**

5) Leitura do resultado:

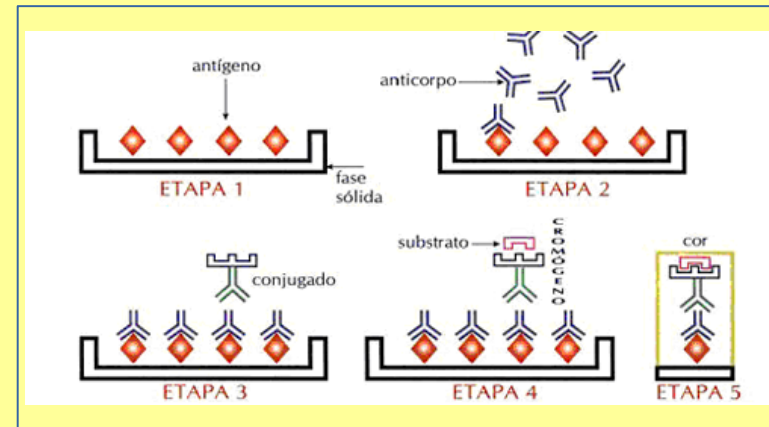


→ Um resultado positivo é indicado por uma aglutinação visível (aglomeração dos eritrócitos na placa teste), como ilustrado acima.

17

### • ELISA ("Enzyme-linked Immunosorbent Assay")

Ensaio Imunoenzimático: uma enzima é covalentemente ligada a um anticorpo específico que reconhece um antígeno alvo. Caso ocorra esse reconhecimento, a enzima irá reagir com um substrato incolor para produzir um produto colorido



### • Pesquisa de hipersensibilidade tardia



# ELISA

(“Enzyme-linked Immunosorbent Assay”)

O **ELISA** é uma técnica imuno-enzimática (também considerada sorológica) de grande valor diagnóstico, muito empregada nos dias atuais, que pode ser usada para dosagem de Anticorpos no soro do paciente, particularmente importante quando

• **Pesquisa de bactérias não cultiváveis in vitro**, como:

- Riquetsias,
- Algumas bactérias que causam DST

Para esta finalidade, é necessário que o nível de anticorpos específicos seja dosada no início e, após duas semanas da doença, para se verificar a ocorrência de aumento nos títulos séricos.

• **Exotoxinas microbianas** circulantes no sangue e soro do paciente.

# Diagnóstico

## 5. Provas Sorológicas (detecção de antígenos bacterianos)

• Pesquisa de anticorpos circulantes no corpo humano

• Pesquisa de Exotoxinas

Enfermedades producidas por bacterias productoras de exotoxinas:

- Difteria
- Tétanos
- Botulismo
- Escarlatina
- Gangrena gaseosa
- Carbunco ó antrax



<http://beltyjarrauricursodetoxicologia.blogspot.com/2010/09/toxicos-de-origen-biologico.html>

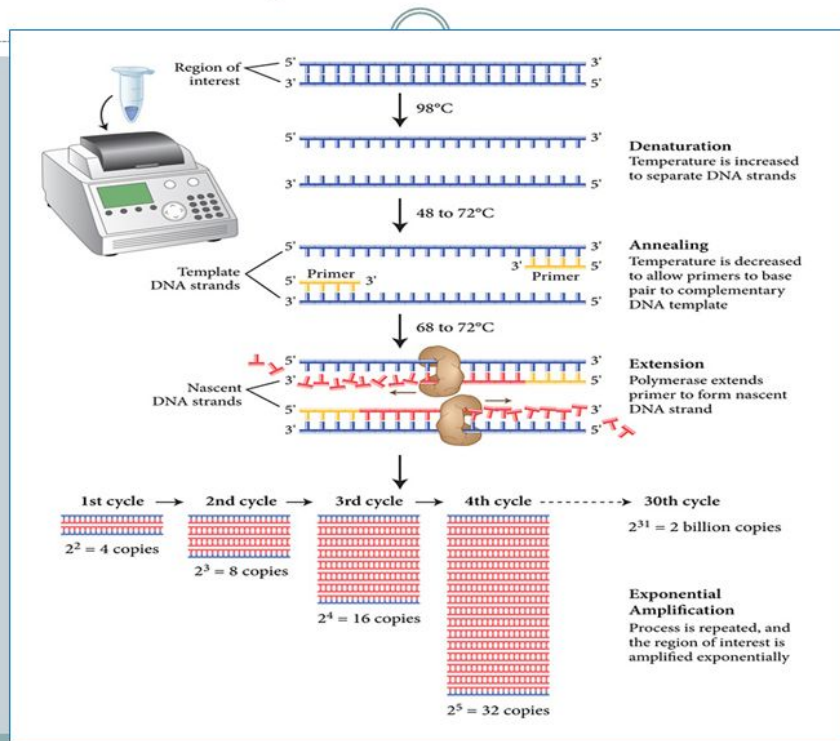
• Pesquisa de hipersensibilidade tardia

# Diagnóstico

## 6. Testes com Biologia Molecular:

### • PCR

#### IDENTIFICAÇÃO BACTERIANA - PCR



Quando é importante:

Permite o diagnóstico bacteriano de pequenas quantidades de amostras (DNA), como:

- Biópsias,
- Mycobacterium tuberculosis* (TB),
- esperma, pele, folículos pilosos

# Reação Polimerase em Cadeia (PCR)

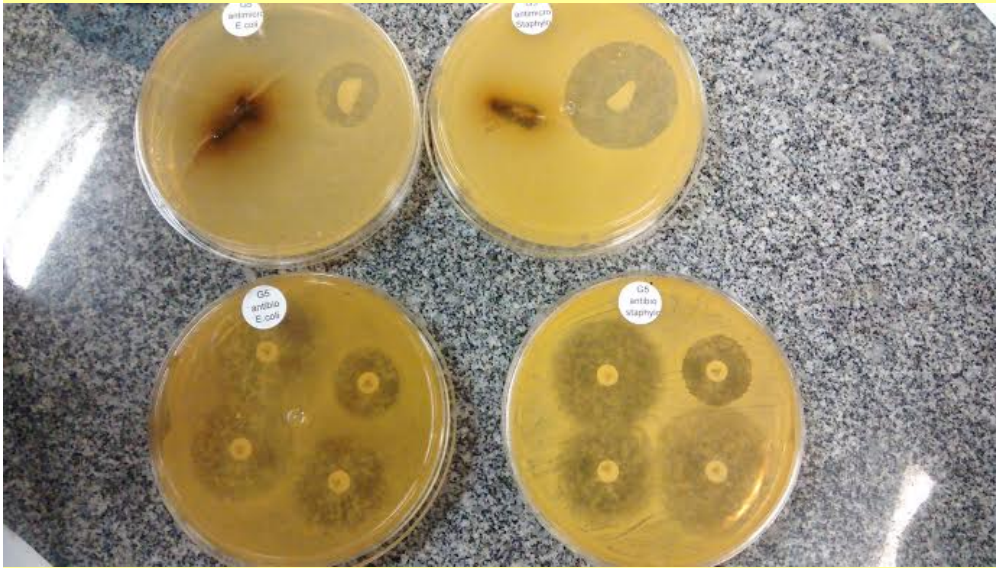
## Considerações:

A técnica PCR permite a detecção de:

- **Patógenos isolados ou diretamente em material clínico**, mesmo se presente em **pequenas quantidades**, através da amplificação de sequências nucleotídicas,
  - Bactérias obtidas **de biopsia**, de pequenas amostras.
  - **Específicas (segmento alvo)** contidas no patógeno.
- 
- Podem ser identificados bactérias (e outros patógenos) como:
    - ***Escherichia coli* enterotoxigênica**
    - ***Shigella***
    - ***Mycobacterium tuberculosis*** (para casos duvidosos após tentativa de observação de lamina coradas e do cultivo)

# Diagnóstico

## 7. Antibiograma:



Nathalia Oliveira (F. Efermagem 2016)

O que é !

Para que serve !

Como é realizado!

Quando é importante ser realizado!

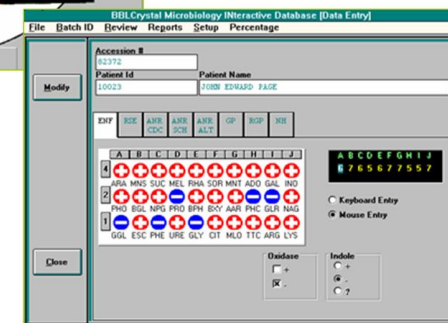


# Diagnóstico automático

## 1. De Bactérias

### - Ex.1: Sistema BACTEC da Empresa BD

Cada kit contém 20 painéis e 20 tubos com fluido para preparação da suspensão bacteriana a ser inoculada nos painéis de maneira rápida e segura. Os substratos são degradados pelos microrganismos submetidos ao teste, o que resulta em **alteração do pH** do meio e **mudança da coloração dos substratos**. A leitura dos resultados é visual e a identificação é realizada utilizando-se o software Crystal Mind.



# Diagnóstico automático

## 1. De Bactérias

### Ex.2: MALDI-TOF (Fácil execução) – Fabricante bioMérieux

(Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight)

(Matrix Assistida de Tempo-de-vôo de dessorção de Ionização a Laser)

#### 1 – Preparação da Amostra

- Depositar o microrganismo na lâmina
- Adicionar a lista para usar a solução de matriz

#### 2 – Inserir a Amostra

Inserir a lâmina no sistema VITEK e os resultados surgem em minutos



#### Fundamentação da Técnica:

Emprega **Espectrometria de massa (MS)** - técnica analítica usada para determinar a composição elementar de uma amostra.

O princípio é o MS por ionização química dos compostos **para gerar moléculas carregadas** e determinar a proporção em massa /carga.

O equipamento examina e compara o **padrão de proteínas diretamente a partir de bactérias intactas**, e vem com uma extensa **base de dados** de padrões de inúmeras bactérias e fungos de importância clínica.

O padrão da amostra é comparado pelo software e o equipamento emite o resultado com o nome (mais provável) da bactéria analisada.

# Diagnóstico automático

## 2. De Antígenos bacterianos

### BD Directigen™ Meningitis Combo Test Kit

Catalog # 252360

O kit **BD Directigen™ Meningitis Combo Test** é um teste presuntivo de aglutinação em látex para detecção direta e qualitativa de antígenos de *H. Influenzae* tipo b, *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* grupos A, B, C, Y ou W135 e *Escherichia coli* K1 em fluido cefalorraquidiano (CSF), soro ou urina.



O teste também pode ser realizado para detecção direta e qualitativa dos antígenos de ***Streptococcus* grupo B** em fluido cefalorraquidiano e soro, além da confirmação e agrupamento sorológico a partir de colônias suspeitas de *H. influenzae* tipo b, *S. pneumoniae*, ***Streptococcus* grupo B** e ***N. Meningitidis* grupos A/Y, B ou C/W135**.

A aglutinação visível positiva ocorre quando uma amostra contendo qualquer um desses antígenos bacterianos reage com as partículas de látex recobertas com os respectivos anticorpos. Testes de aglutinação em látex não se destinam a substituir a cultura bacteriana. O diagnóstico de confirmação de uma meningite bacteriana só é possível com os procedimentos de cultura apropriados.

# Tratamento

## Antibióticos:

- A maioria das infecções bacterianas pode ser curada com antibióticos. Trata-se de uma classe de fármacos **com pouca utilidade nas infecções virais**, mas muito eficazes no tratamento das infecções bacterianas.
  
- Como qualquer medicamento, deve ser utilizado com muito cuidado, e apenas por indicação do seu médico. Cada tipo de bactéria reage de forma diferente aos diferentes antibióticos. Por isso, o médico escolhe o medicamento em função da bactéria que pretende tratar, de forma a diminuir a resistência a estes fármacos. Este é atualmente um dos grandes problemas da utilização dos antibióticos.

# Prevenção

## 1) VACINAÇÃO

A vacinação é um dos métodos mais eficazes na prevenção das infecções bacterianas. Existem atualmente no **Programa Nacional de Vacinação** várias vacinas administradas na infância que previnem, por exemplo, o **tétano**, a **tosse convulsa**, **difteria**. Existem outras, fora do plano de vacinação obrigatório, que imunizam contra a cólera, a meningite, infecções pneumocócicas ou a febre tifóide ([Veja prox.](#))

## 2) CUIDADOS COM HIGIENE:

Por outro lado, existem cuidados de higiene diários que devem ser tido em conta para evitar estas infecções. Por exemplo:

- **Lavar as mãos** antes de preparar os alimentos, antes de comer, depois de usar o WC, tocar em animais ou de ter tido contato com pessoas infectadas,
- Armazenar e cozinhar alimentos adequadamente para evitar intoxicações alimentares,
- Evitar o consumo de carne crua ou mal cozida,
- Lavar frutas e verduras antes de as consumir,
- Abster-se do contato sexual sem o uso de preservativo.

# Idades para Vacinas e respectivas doenças

- 0 nascimento BCG (Tuberculose); VHB - 1.<sup>a</sup> dose (Hepatite B)
- 2 meses VHB - 2.<sup>a</sup> dose (Hepatite B);
- Hib - 1.<sup>a</sup> dose (doenças causadas por Haemophilus influenzae tipo b);
- DTPa - 1.<sup>a</sup> dose (Difteria, Tétano, Tosse Convulsa);
- VIP - 1.<sup>a</sup> dose (Poliomielite)
- 4 meses Hib - 2.<sup>a</sup> dose (doenças causadas por Haemophilus influenzae tipo b);
- DTPa - 2.<sup>a</sup> dose (Difteria, Tétano, Tosse Convulsa);
- VIP - 2.<sup>a</sup> dose (Poliomielite)
- 6 meses VHB - 3.<sup>a</sup> dose (Hepatite B);
- Hib - 3.<sup>a</sup> dose (doenças causadas por Haemophilus influenzae tipo b);
- DTPa - 3.<sup>a</sup> dose (Difteria, Tétano, Tosse Convulsa);
- VIP - 3.<sup>a</sup> dose (Poliomielite)
- 12 meses MenC - 1.<sup>a</sup> dose (meningites e septicemias causadas pela bactéria meningococo);
- VASPR - 1.<sup>a</sup> dose (Sarampo, Parotidite, Rubéola)
- 18 meses Hib - 4.<sup>a</sup> dose (doenças causadas por Haemophilus influenzae tipo b);
- DTPa - 4.<sup>a</sup> dose (Difteria, Tétano, Tosse Convulsa)
- 5-6 anos DTPa - 5.<sup>a</sup> dose (Difteria, Tétano, Tosse Convulsa);
- VIP - 4.<sup>a</sup> dose (Poliomielite);
- VASPR - 2.<sup>a</sup> dose (Sarampo, Parotidite, Rubéola)
- 10-13 anos Td - Tétano e Difteria;
- HPV - 1.<sup>a</sup>, 2.<sup>a</sup> e 3.<sup>a</sup> doses (Infecções por Vírus do Papiloma Humano) - só para raparigas
- Toda a vida 10/10 anos Td - Tétano e Difteria



**Muito grata pela atenção!**

Elisabete Vicente  
bevicent@usp.br

**MUITO  
SUCESSO !**