

SENSIBILIDADE DA COLORAÇÃO DE GRAM NO DIAGNÓSTICO PRÉVIO DAS INFECÇÕES EM SÍTIOS CORPORAIS ESTÉREIS

SENSITIVITY OF GRAM STAINING FOR EARLY DIAGNOSTIC OF INFECTIONS IN STERILE BODY SITES

Daur*, A.V.^{1,2}; Cogo, L.L.^{1,4,5}; Botão, G.D.^{1,3,4}; DALLA COSTA, L.M.^{3,4,6}; KLIMAK JR, F.^{1,2}; MONTEIRO, C.L.B.⁶

1. Especialista em Microbiologia.
2. Setor de Microbiologia do HGeC.
3. Setor de Microbiologia do HNSG.
4. Setor de Bacteriologia do HC da UFPR.
5. Doutoranda do curso de Processos Biotecnológicos da UFPR.
6. Prof.º Dr.º da Departamento de Patologia Básica da UFPR.

Recebido em: 06/2004 Aprovado em: 07/2004

RESUMO

O isolamento e identificação do agente etiológico causador de infecção a partir de líquidos biológicos podem ser um fator crítico para a recuperação da saúde do paciente, pois estas infecções geralmente são graves e deixam seqüelas. Neste trabalho foram analisadas 82 amostras de diferentes líquidos biológicos, comparando os resultados da coloração de Gram com os das culturas, além de verificar incidência dos microrganismos isolados. O Gram apresentou sensibilidade e especificidade de 62,5% e 93,9% respectivamente. *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* foram as bactérias mais isoladas. Concluiu-se que a Coloração de Gram pode ser uma ferramenta útil na análise dos líquidos biológicos, contribuindo no diagnóstico preliminar destas infecções.

PALAVRAS-CHAVE: Líquidos biológicos, agentes etiológicos, Gram.

ABSTRACT

Isolation and identification of an etiologic agent from biological fluids can be a critic factor for the clinical outcome of the patient, because this infection can generally be severe and cause sequels. Eighty-two different samples of biological fluids were analyzed through the Gram staining method. The results of Gram were compared with those obtained with culture, and the incidence of isolated microorganisms was also analyzed. The Gram staining presented 62.5% and 93.9% of sensitivity and specificity, respectively. Among all types of isolated and identified bacteria, *P. aeruginosa*, *E. coli* and *S. aureus* were the commonest ones. It was concluded that the Gram staining could be a useful tool on analysis of biological fluids, contributing for the previous diagnostic of these infections.

KEY WORDS: Biological fluids, etiologic agents, Gram.

1. INTRODUÇÃO

Os líquidos biológicos, tais como líquido pleural, sinovial, peritoneal e pericárdico são fluidos corporais normalmente estéreis, porém podem ser invadidos por diferentes microrganismos, como por exemplo, as bactérias e causar infecções (HENRY, 1999).

Estas infecções geralmente são graves e deixam seqüelas. O isolamento e identificação do agente etiológico podem ser um fator crítico para a recuperação da saúde do paciente (DIAZ et al., 2002).

O diagnóstico das infecções bacterianas pode ser feito por métodos presuntivos, através da microscopia, ou por métodos definitivos como o isolamento e a identificação da bactéria através da cultura em meios artificiais (BORBEAU et al., 1998).

A microscopia pela coloração de Gram é o método mais comumente utilizado para a observação direta de microrganismos nas amostras clínicas, podendo fornecer um resultado presuntivo e rápido do agente infeccioso.

Este trabalho tem como objetivo avaliar a sensibilidade da coloração de Gram no diagnóstico prévio das infecções em líquidos biológicos, além de verificar a incidência dos microrganismos isolados.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 82 amostras de diferentes líquidos biológicos (líquido pleural, sinovial, pericárdico, ascítico e peritoneal) recebidas no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Nossa Senhora das Graças, durante o período de novembro de 2002 a abril de 2004.

Cem microlitros de cada amostra foram semeadas nos seguintes meios de cultura: ágar sangue, ágar MacConkey e ágar chocolate, sendo que o último foi incubado em tensão de 5 a 10% de CO₂. Em seguida, as placas foram incubadas a 37°C, em estufa durante 24 a 48 horas (HUGHES et al., 2001).

Simultaneamente as amostras foram inoculadas (5 a 10 ml) em frascos de hemocultura do sistema automatizado Bact/Alertâ (Organon Teknika Corporation, Durham, N.C) contendo TSB (Tryptic Soy Broth) como meio de crescimento, e SPS (Polianetol Sulfonato de Sódio) como anticoagulante, e incubados em estufa automatizada por até 7 dias (FORBES et al., 1998).

Evidenciado crescimento bacteriano, tanto nas placas de cultura como nos frascos, as bactérias foram isoladas e identificadas por testes bioquímicos e de sensibilidade aos antimicrobianos já descritos (KONEMAN et al., 2001; OPLUSTIL et al., 2004).

Para a realização da microscopia os líquidos biológicos foram centrifugados a uma rotação de 3000 rpm por 5 minutos, e do sedimento foram feitos esfregaços, que após secos e fixados, foram corados pelo método de Gram e observados em objetiva de imersão, aumento final de 1000 vezes (DIAZ et al., 2002).

3. RESULTADOS

Das 82 amostras estudadas, 19 (23,1%) apresentaram crescimento bacteriano.

As análises microscópicas realizadas pelo método de Gram relacionadas com o resultado das culturas encontram-se inseridas na Tabela 1.

TABELA 1 – correlação entre a coloração de gram e o resultado da cultura nas amostras estudadas.

Número de amostras	Presença de bactérias (Gram)	Cultura
10	+	+
4	+	-
6	-	+
62	-	-

Com os dados fornecidos na tabela acima, foi possível calcular os valores de sensibilidade e especificidade entre a coloração de Gram e as culturas dos líquidos biológicos estudados, os quais foram respectivamente 62,5% e 93,9%.

A Figura 1 relata os principais microrganismos isolados nas culturas de fluidos biológicos.

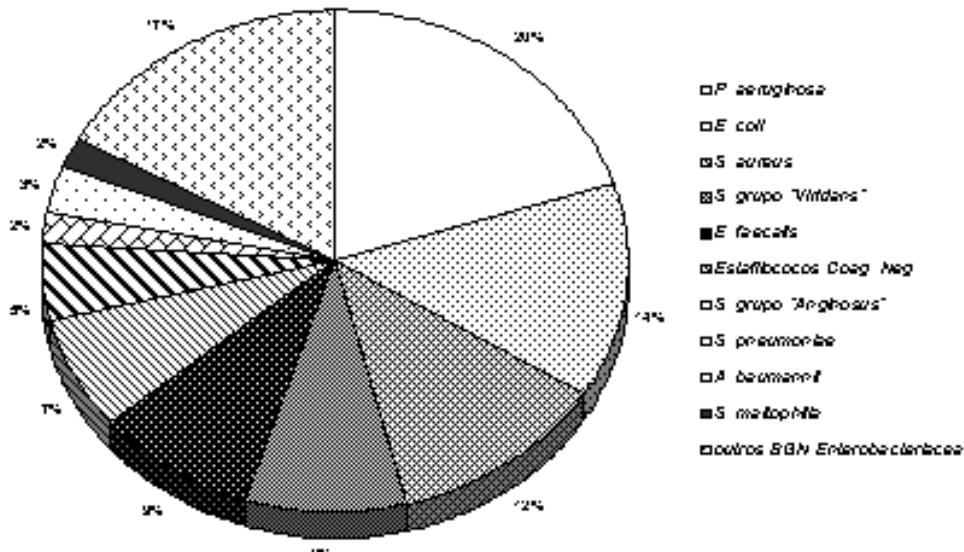


FIGURA 2 - Porcentagem de bactérias isoladas nos líquidos biológicos estudados

4. DISCUSSÃO

A concentração de microrganismos nos líquidos biológicos é um fator crítico para a obtenção de culturas positivas, bem como de bacterioscopias (VETTER et al., 2001). Neste trabalho foi encontrada uma positividade nas culturas de 23,1%. Valores semelhantes foram observados por Simor et al. (19,8%).

P. aeruginosa, *E. coli* e *S. aureus* foram os microrganismos mais isolados nos líquidos biológicos analisados. Estes achados foram confirmados em estudos realizados por Diaz et al.

O valor da sensibilidade da coloração de Gram comparado ao resultado das culturas foi de 62,5%. Yagupsky e Diaz et al. encontraram 56,0% e 61,5% respectivamente. A especificidade observada foi de 93,9%.

O baixo número de microrganismos existentes nos líquidos biológicos (ANGELONI et al., 2003) explicaria os casos em que não foram visualizadas bactérias, porém houve crescimento microbiano.

A discrepância entre as culturas negativas e presença de bactérias ao Gram pode ser devido à presença de microrganismos exigentes, como bactérias anaeróbias, as quais não foram pesquisadas neste trabalho, ou devido ao uso de antimicrobianos, que apresentam atividade bactericida “*in vitro*” (KONEMAN, 2001).

Assim, pode-se concluir que a coloração de Gram, mesmo apresentando uma sensibilidade relativamente baixa, pode ser considerada uma ferramenta útil na análise dos líquidos biológicos, contribuindo no diagnóstico prévio destas infecções.

AGRADECIMENTOS

À equipe do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Nossa Senhora das Graças, por ter permitido a realização desta pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. ANGELONI S; NICOLINI G; MERLI M; NICOLAO F; PINTO G; ARONNE T; ATTILI AF; RIGGIO O. Validation of automated blood cell counter for the determination of polymorphonuclear cell count in the ascitic fluid of cirrhotic patients with or without spontaneous bacterial peritonitis. **Am J Gastroenterol**; 98(8): 1844-8, 2003.
2. BOURBEAU P; RILEY J; HEITER BJ; MASTER R; YOUNG C; PIERSON C. Use of the Bact/Alert blood culture system for culture of sterile body fluids other than blood. **J Clin Microbiol**. 36(11): 3273-7, 1998.
3. DIAZ P, JUAN, GARCIA C., PATRICIA, DE LA BARRA D., RICARDO ET AL. Utility Of Cytocentrifugation In The Microscopic Bacterial Diagnosis Of Body Fluids. **Rev. Chil. Infectol.**, Vol.19, No.3, P.167-173. ISSN 0716-1018, 2002.
4. FORBES A B., SAHM D., WEISSIFELD A. **Bailey e Scott's Diagnostic Microbiology**. 10ed. Minouri : Morby, 1998, p.413.
5. HENRY, J B. **Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais**. 19 ed. São Paulo: Manole, 1999, p. 467, 475, 1203, 1309.
6. HUGHES JG; VETTER EA; PATEL R; SCHLECK CD; HARMSEN S; TURGEANT LT; COCKERILL FR. Culture with BACTEC Peds Plus/F bottle compared with conventional methods for detection of bacteria in synovial fluid. **J Clin Microbiol**; 39(12): 4468-71, 2001.
7. KONEMAN, E W, et al. **Diagnóstico microbiológico**. 5 ed. Rio de Janeiro : Medsi, 2001, p. 494, 919-920.
8. OPLUSTIL, C P; et al. **Procedimentos básicos em microbiologia clínica**. São Paulo: Sarvier, 2000, p.17, 95-99.
9. SIMOR AE; SCYTHES K; MEANEY H; LOUIE M. Evaluation of the Bact/Alert microbial detection system with FAN aerobic and FAN anaerobic bottles for culturing normally sterile body fluids other than blood. **Diagn Microbiol Infect Dis**; 37(1):5-9, 2000.
10. VETTER E, TORGERSON C, FEUKER A, HUGHES J, HARMSEN S, SCHLECK C, HORSTMEIER C, ROBERTS G, COCKERILL F III. Comparison of the BACTEC MYCO/F Lytic Bottle to the Isolator Tube, BACTEC Plus Aerobic F/Bottle, and BACTEC Anaerobic Lytic/10 Bottle and Comparison of the BACTEC Plus Aerobic F/Bottle to the Isolator Tube for Recovery of Bacteria, Mycobacteria, and Fungi from Blood. **Mayo Clinic and Foundation**, Rochester. 55905, 2001.
11. YAGUPSKY P; PRESS J. Use of the isolator 1.5 microbial tube for culture of synovial fluid from patients with septic arthritis. **J Clin Microbiol**; 35(9): 2410-2, 1997.