

VALIDAÇÃO DOS RESULTADOS DE UROCULTURAS APÓS TESTE DE SIMULAÇÃO DE TRANSPORTE A LABORATÓRIO DE APOIO

Maria Caroline Rodrigues Bezerra¹, Thays Thyara Mendes Cassiano², Isis Valeska Freire Lins³, Sonaly Lima Albino⁴; Josimar dos Santos Medeiros⁵

^{1, 2, 3, 4} Universidade Estadual da Paraíba – *carolinebezerra.mcrb@gmail.com; thaysthyaracg@hotmail.com*
isis.valeska.lins@gmail.com; sonaly.albino@hotmail.com;

⁵ Professor Doutor da Universidade Estadual da Paraíba - *josimarmedeiros19@gmail.com*

RESUMO: A urocultura é um dos exames laboratoriais mais sujeitos a interferências pré-analíticas e analíticas, devido às condições de coleta, transporte e manipulação da amostra. O objetivo deste estudo foi validar um sistema de transporte para o setor de Microbiologia. Foi desenvolvida uma pesquisa transversal, de caráter quantitativo, na cidade de Campina Grande-PB. A análise da urocultura foi realizada em duplicata: uma amostra padrão e uma amostra após transporte. Foram analisadas 97 amostras; em 65% (n=63) não houve crescimento bacteriano. Nos casos positivos, a prevalência foi de *Escherichia coli* (59%). A regressão linear mostrou um coeficiente de correlação insatisfatório. O teste t de Student indicou que houve diferenças no resultado final das uroculturas. O armazenamento e o transporte realizado nas condições avaliadas não foram satisfatórios, pois afetaram diretamente o resultado das análises, gerando um preocupante número de uroculturas positivas. É necessário um maior treinamento da equipe do laboratório para minimizar esta interferência causada pelo armazenamento e transporte inadequados.

PALAVRAS-CHAVE: urocultura, validação, controle de qualidade.

INTRODUÇÃO

As análises laboratoriais representam um grande avanço na história da medicina. Atualmente estão disponíveis milhares de exames complementares, que auxiliam o clínico a estabelecer um diagnóstico mais preciso e, muitas vezes, a orientar a terapêutica.

É o caso de alguns exames do setor de Microbiologia, em especial a cultura de urina que, além de demonstrar a existência de um ou outro patógeno, ainda possibilita a orientação farmacológica, por meio do teste de sensibilidade aos antimicrobianos^{1,2}.

Contudo, este é um dos exames laboratoriais mais sujeitos a interferências pré-analíticas e analíticas, devido às condições de coleta, transporte e manipulação da amostra³. Deste modo, para garantir resultados de qualidade, faz-se necessário observar uma série de cuidados essenciais.

Dentre os objetivos do setor de microbiologia, destaca-se principalmente a elucidação da etiologia do responsável por um determinado estado infeccioso, mas também, indicar, através do monitoramento de populações microbianas, qual o perfil dos microrganismos que estão interagindo com o paciente⁴.

Com essas informações, é possível definir quais microrganismos podem ser responsáveis pelo quadro clínico do paciente e assim, propor um tratamento mais adequado. Além da rapidez e precisão dos resultados, é necessário realizar o transporte rápido das amostras e manter uma educação contínua em relação a todos os processos que envolvem a Microbiologia⁵.

Para alcançar esses objetivos, os laboratórios de microbiologia devem possuir uma estrutura capaz de estabelecer informações sobre a melhor amostra biológica, reconhecer a flora normal, reconhecer os contaminantes e identificar microrganismos cujo tratamento beneficia o paciente. Deste modo, é possível auxiliar o diagnóstico e o tratamento, racionalizando o uso de antimicrobianos.

Este estudo foi idealizado a partir da necessidade de um laboratório de análises clínicas validar um sistema de transporte para o setor de Microbiologia, uma vez que recebe amostras dos mais variados locais do Estado da Paraíba. Apesar de cumprir os requisitos básicos de qualidade, há uma possibilidade de erro devido ao próprio transporte das amostras e do tempo de início da realização das análises, pois é sabido que o tempo de transporte das amostras biológicas influi negativamente no resultado final das uroculturas, em geral aumentando o número

de colônias bacterianas, podendo gerar resultados falso-positivos.

Deste modo, este estudo tem como objetivo principal a validação dos resultados de urocultura realizados antes e após transporte de aproximadamente 3 horas.

METODOLOGIA

Foi desenvolvida uma pesquisa transversal, de caráter quantitativo, durante o mês de janeiro de 2015, em um laboratório de análises clínicas da cidade de Campina Grande-PB. Foram incluídas nesta pesquisa todas as solicitações de cultura de urina encaminhadas ao laboratório no período citado.

As amostras de urina foram coletadas em frascos estéreis de 100 ml de capacidade. Os pacientes foram orientados a coletar a primeira urina da manhã, após higienização das mãos e dos órgãos genitais. Também foram orientados a entregar de imediato a amostra ao laboratório para análise. A amostra foi dividida em duas, para realização em duplicata. Para comparação entre as duas amostras, foi realizada a cultura na amostra entregue no laboratório, doravante chamada amostra *padrão*, e em uma alíquota desta amostra denominada *após transporte*, enviada sob refrigeração para uma das unidades de coleta do laboratório, cujo retorno se deu após aproximadamente três horas, simulando o

tempo de trajeto entre as principais cidades circunvizinhas.

As amostras foram então semeadas em meio EMB, Ágar-sangue e CLED, e incubadas a 37°C por 24 horas. Em caso de ausência de crescimento bacteriano, foram deixadas por mais 24 horas. Naquelas amostras em que foi verificado o crescimento bacteriano, realizou-se a contagem de colônias. Um resultado negativo foi verificado quando não havia a presença de mais de 10.000 Unidades Formadoras de Colônias/mL (UFC/mL). Caso contrário, procedeu-se à identificação bacteriana por meio do método de Rugai modificado.

Resultados superiores 10.000 UFC/mL e inferiores a 100.000 UFC/mL foram considerados como suspeita de infecção. Resultados iguais ou maiores que 100.000 UFC/mL (10^5 UFC/mL) indicam infecção e resultaram na realização do teste de sensibilidade aos antimicrobianos ou antibiograma. Além da vidraria adequada a um laboratório de Microbiologia, utilizou-se uma estufa bacteriológica (37°C – 56°C), bicos de Bunsen, autoclave vertical e refrigerador.

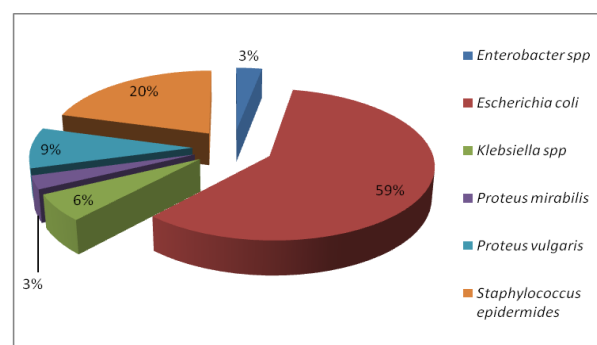
Os resultados dos experimentos foram submetidos à análise estatística descritiva e inferencial. As técnicas de estatística descritiva compreenderam a obtenção de

distribuições absolutas e percentuais das variáveis nominais. Para calcular as medidas estatísticas referentes às análises descritivas e de significância foram utilizados os softwares EPI INFO versão 3.4 e Microsoft Excel Enterprise 2007® com o suplemento da ferramenta de análise de dados VBA.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 97 indivíduos que realizaram exame de urocultura, 83,5% (n=81) eram do sexo feminino e 16,5% (n=16) do sexo masculino. Em 65% (n=63) das amostras não houve crescimento bacteriano. Nas amostras positivas (crescimento maior ou igual a 10^5 UFC/mL) foram encontradas 6 espécies diferentes de bactérias, que estão apresentadas na figura 1.

Fig. 1 – Espécies bacterianas encontradas no estudo



Conforme já registrado por outros autores, *Escherichia coli* foi o patógeno mais

prevalente na amostra examinada, com 59% dos casos positivos. Em um trabalho realizado no Paraná, *Escherichia coli* foi o patógeno mais isolado das infecções urinárias, com uma prevalência de 79,9%⁶. Em Santa Catarina, um estudo com gestantes encontrou esta bactéria em 45,45% das que apresentaram urocultura positiva⁷. Em outro estudo realizado no Paraná, Muller e cols. encontraram uma prevalência de 36,55%.⁸ Entretanto, em estudo realizado em ambiente hospitalar, Menezes e cols. encontraram uma maior prevalência de *Klebsiella pneumoniae*⁹. Os dados referentes à análise estatística estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – resultados iniciais do estudo comparativo

Tipo de amostra	Padrão	Após transporte
Número de amostras	107	107
Intervalo de concentrações (UFC*/mL)	0-750.000	0-800.000
Coefficiente de correlação de Pearson	0,906921	

*Unidades Formadoras de Colônias

O intervalo de concentrações foi amplo, desde ausência de crescimento bacteriano até concentrações máximas de 800.000 UFC/mL. A regressão linear mostrou um coeficiente de correlação de Pearson de 0,906921. Este teste é importante porque verifica a relação ou grau de correlação ou associação linear entre dois métodos; de acordo com Marconi e Lakatos¹⁰,

deve ser maior que 0,975, significando que 95% dos resultados do método teste são proporcionais aos resultados do outro método. Assim, permite decidir se a equação da regressão pode ser utilizada para estimar os erros sistemáticos do método teste; no entanto, preferencialmente o r deve ser maior que 0,990. Na presente pesquisa, verifica-se que a correlação entre as amostras não foi satisfatória.

Alguns testes referentes à comparação entre a precisão intra-ensaio da análise da urocultura nas duas amostras podem ser vistas na tabela 2. Foram avaliadas as médias e medianas das concentrações, o coeficiente de variação e o desvio-padrão.

Tabela 2 – Comparação dos testes de precisão intra-ensaio

Tipo de amostra	Padrão	Após transporte
Número de repetições	107	107
Média das concentrações	82.000	165.000
Mediana	0	20.000
Coefficiente de variação	16.000	27.000
Desvio-padrão	162.000	266.000

O ensaio realizado na amostra após transporte apresentou valores de média, mediana, coeficiente de variação e desvio-padrão superiores àqueles obtidos na amostra padrão, o que indica que o transporte

interferiu de alguma maneira nos resultados. A média das concentrações obtida na amostra após transporte (165.000) foi 101,3% superior àquela encontrada na amostra padrão (82.000). O transporte pode interferir negativamente nos resultados de uroculturas.^{11,12}

Na tabela 3 podem ser observados os resultados referentes à análise estatística inferencial. Foi utilizado o teste *t* de *Student* para comparação entre os resultados obtidos nos dois equipamentos. Esta ferramenta estatística é útil quando se deseja uma comparação entre médias.

Tabela 3 – Resultados do estudo comparativo – teste *t* de *Student*

Tipo de amostra	Padrão	Após transporte
Número de amostras	97	97
Intervalo de concentrações (UFC*/mL)	0-750.000	0-800.000
Nível de Significância (<i>p</i>)	1,66	

*Unidades Formadoras de Colônias

O nível de significância obtido está acima do ponto de corte estabelecido ($p < 0,05$); deste modo, pode-se inferir que os resultados da análise nas duas amostras apresentaram alteração estatisticamente significativa entre si, o que indica que o transporte interferiu no resultado final das uroculturas.

A diferença na proporção homens/mulheres ocorre porque na fase adulta até os 65 anos a prevalência de Infecções do trato urinário em homens é extremamente baixa (menos de 0,1%), e está frequentemente associada com anormalidades anatômicas ou doença da próstata.¹³

Neste estudo, houve 8 casos em que a análise realizada nas amostras após transporte revelou crescimento bacteriano igual ou superior a 10^5 UFC/mL, enquanto na amostra padrão estes casos foram relatados como ausência de crescimento bacteriano. É necessário um minucioso protocolo de coleta, armazenamento e transporte, para ser possível, inclusive, ter elementos para valorizar as culturas polimicrobianas.¹⁴

Em um estudo realizado no Espírito Santo, os autores avaliaram a orientação ao paciente quanto à higienização, a coleta, conservação e transporte de amostra de urina, assim como todos os requisitos exigidos para transporte e conservação da amostra biológica. Após analisar as uroculturas de um grupo de 64 indivíduos, verificaram que 18 apresentaram resultado positivo. Ao realizar o exame novamente após duas horas, na mesma amostra, o número de culturas positivas aumentou para 25, ou seja, 7 indivíduos cuja urocultura era negativa teriam o resultado positivo caso a amostra demorasse a ser

analisada, por exemplo, por problemas no transporte.¹⁵

Conclusões

A análise dos resultados demonstrou que o armazenamento e o transporte realizados nas condições avaliadas não foram satisfatórios, pois afetaram diretamente o resultado das uroculturas, gerando um preocupante número de exames positivos.

Estes resultados poderiam gerar, além do diagnóstico incorreto, uma terapia antimicrobiana desnecessária que, além do custo e efeitos adversos envolvidos, pode contribuir para aumentar a resistência aos antimicrobianos; este é um dos maiores problemas de saúde pública e uma das causas de morbidade e mortalidade em pacientes hospitalizados.

Deste modo, é necessário um maior treinamento da equipe envolvida no laboratório de apoio e nos laboratórios conveniados, para minimizar esta interferência causada pelo armazenamento e transporte inadequados.

REFERÊNCIAS

- 1 - GABRIEL JÚNIOR, A.; SILVA, A. A. B.; DE MARTINO, M. C.; RAZVICKAS, W. J.; SILVA, R. C.; VIANA, A. M.; MAURÍCIO, R. C.; SANTOS, S. A. L.; TUFIK, S. **Validação do sistema de transporte e das dosagens de amostras biológicas enviadas para a central de um laboratório de grande porte.** J. Bras. Patol. Med. Lab; 43(4):235-240, ago. 2007.
- 2 - TORRES, J. C. N.; MENEZES, E. A.; ÂNGELO, M. R. F.; OLIVEIRA, I. R. N.; SALVIANO, M. N. C.; XAVIER, D. E.; SANTOS FILHO, L. **Cepas de *Pseudomonas* spp. produtoras de metalobetalactamase isoladas no Hospital Geral de Fortaleza.** J Bras Patol Med Lab, v. 42, n. 5, p. 313-319, outubro 2006.
- 3 - MACHADO, B.M.; PAHL, M.M.C.; BETTA, S.L.; EJZENBERG, B.; BALDACCI, E.; OKAY, Y. **Análise dos Métodos Diagnósticos para Infecção Urinária.** Pediatria, São Paulo, 17(1): 42-26, 1995.
- 4 - RAMOS, T. Z.; PIZZOLITTO, E. L.; PIZZOLITTO, A. C. **Uso do teste com cloridrato de trifetil tetrazólio (CTT) para detecção de bacteriúria sintomática e assintomática.** RBAC, vol. 38(3): 197-199, 2006.
- 5 - SOUZA NETO, J. L.; OLIVEIRA, F. V.; KOBASZ, A. K.; SILVA, M. N. P.; LIMA, A. R.; MACIEL, L. C. **Infecção do trato urinário relacionada com a utilização do catéter vesical de demora: resultados da bacteriúria e da microbiota estudadas.** Rev. Col. Bras. Cir., Vol. 35 - Nº 1, Jan. / Fev. 2008.
- 6 - OLIVEIRA, F. A.; NOGUEIRA, K. S. **Resistência a Fluoroquinolonas em *Escherichia coli* isoladas em cultura de urina.** RBAC, vol. 43 (2):152-154, 2011.
- 7- COELHO, F.; SAKAE, T. M.; ROJAS, P. F. B. **Prevalência de infecção do trato urinário e bacteriúria em gestantes da clínica ginecológica do Ambulatório**

Materno Infantil de Tubarão-SC no ano de 2005. Arquivos Catarinenses de Medicina Vol. 37, no. 3, de 2008.

- 8 – MULLER, E. V.; SANTOS, D. F.; CORRÊA, N. A. B. **Prevalência de microrganismos em infecções do trato urinário de pacientes atendidos no laboratório de análises clínicas da Universidade Paranaense – Umuarama – PR.** RBAC, vol. 40(1): 35-37, 2008.
- 9- MENEZES, E. A.; SÁ, K. M.; CUNHA, F. A.; ÂNGELO, M. R. F.; OLIVEIRA, I. R. N., SALVIANO, M. N. C. **Frequência e percentual de suscetibilidade de bactérias isoladas em pacientes atendidos na Unidade de Terapia Intensiva do Hospital Geral de Fortaleza.** J Bras Patol Med Lab. v. 43. n. 3, p. 149-155, junho 2007.
- 10 - MARCONI, M .A.; LAKATOS, E. M. **Técnicas de pesquisa.** 3. Ed. São Paulo: Atlas, 1996.
- 11 - VILELA, M. A. **Padrão de resistência antimicrobiana de casos de infecções nosocomiais no Recife, Pernambuco, Brasil, 2002-2003.** 2004. 91 p. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública). Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Departamento de Saúde Coletiva, Recife - Pernambuco.
- 12 - MAGALHÃES, V.; FARIAS, R. B.; AGRA, G.; LIMA, A. L. M. A. **Etiologia e perfil de resistência das bactérias isoladas a partir de uroculturas oriundas de mulheres acima dos 18 anos.** Rev Bras Med; 66(supl.2): 11-16, abr. 2009. tab.
- 13 – LEVY, C. A. **Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde. Edição Comemorativa para o IX Congresso Brasileiro de Controle de Infecção e Epidemiologia Hospitalar Salvador, 30 de agosto a 3 de setembro de 2004.** Brasília – DF: Editora Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2004.
- 14 – SILVEIRA, A. C. O.; SOUZA, H. A. P. H. M.; FURTADO, F. D.; ALBINI, B. P.; ALBINI, C. A. **Quando e como valorizar culturas de urina polimicrobianas no laboratório de microbiologia clínica.** J Bras Patol Med Lab, v. 46, n. 4, p. 289-294, agosto 2010.
- 15 – GRIPPA, A. A.; CALVI, P. E. **Avaliação do impacto da conservação e transporte de amostra de urina para cultura.** 2009. 47 p. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso). Graduação em Farmácia Generalista. Faculdade Brasileira – UNIVIX. Vitória – Espírito Santo