

DIFERENÇAS NAS PROPRIEDADES ADESIVAS DE *STAPHYLOCOCCUS SAPROPHYTICUS* A CÉLULAS HEP-2 E ERITRÓCITOS.

Lucimar Gonçalves MILAGRES (1) & Carmo E.A. MELLEES (2)

RESUMO

S. saprophyticus é freqüentemente isolado de infecções do trato urinário de mulheres jovens e sexualmente ativas. Ao contrário de *S. aureus*, esta espécie não possui fatores de virulência bem definidos.

O objetivo deste estudo é analisar a aderência de *S. saprophyticus* a células HEP-2 e eritrócitos de carneiro.

As amostras foram isoladas a partir da urina de pacientes com infecção urinária. Foram realizados testes de hemaglutinação, aderência a células HEP-2 e a capacidade de carboidratos específicos inibirem as interações entre estes tipos celulares e *S. saprophyticus*.

A maioria das cepas se mostrou hemaglutinante e sensível a inibição da hemaglutinação pela manose (100mM). Foram verificados altos níveis de aderência às células HEP-2. As diferenças em especificidade e nível de aderência do microrganismo a células de HEP-2 e eritrócitos sugerem a participação de diferentes adesinas nos processos de interações celulares.

UNITERMOS: *Staphylococcus saprophyticus*; Aderência; Células HEP-2; Hemaglutinação.

INTRODUÇÃO

S. saprophyticus é uma espécie do gênero *Staphylococcus*, que se apresenta como coagulase negativa e novobiocina resistente, freqüentemente isolada de infecções do trato urinário de mulheres jovens e sexualmente ativas, sendo em alguns países a segunda em prevalência após *E. coli*^{11,16,19,21,25,28,37,38}. Existem relatos de septicemia e pielonefrite causadas por este microrganismo^{13,20}.

S. saprophyticus causa um quadro de pielonefrite aguda em rins de ratos que em tudo se assemelha aquele observado com as enterobactérias².

Ao contrário de *S. aureus*, a espécie patogênica clássica do gênero, *S. saprophyticus* não possui fatores de virulência bem definidos. No entanto, a maioria das cepas desta espécie possui a capacidade de aglutinar eritrócitos de

carneiro, diferentemente dos demais estafilococos¹⁵. Estudo experimental em macacos sugere ser a hemaglutinina um possível fator de virulência²⁴.

Em estudos de aderência a células epiteliais humanas de diferentes sítios, observou-se um marcado tropismo deste microrganismo por células da uretra e área periuretral, comparadas a células da boca e da pele. Verificou-se, ainda, que *S. saprophyticus* adere em número significativamente maior a células do trato urinário que outros patógenos, tais como *E. coli*^{5,23}.

O objetivo deste estudo é analisar a aderência de *S. saprophyticus* a uma linhagem celular derivada de carcinoma epitelial de laringe humana, denominada HEP-2 e a eritrócitos de carneiro.

(1) Biologista da Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil.

(2) Pesquisador Científico Nível VI da Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil.

Endereço para correspondência: Instituto Adolfo Lutz, Seção de Bacteriologia - 9º andar. Av. Dr. Arnaldo, 351, 01246-000 São Paulo, SP, Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

A - AMOSTRAS:

Foram estudadas 47 amostras isoladas e identificadas na Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz a partir da urina de pacientes com infecção urinária. As amostras foram caracterizadas bioquimicamente segundo esquema proposto por KLOOS & SCHLEIFER¹⁸ e mantidas a temperatura ambiente em meio sólido de conservação¹⁷.

B - TESTE DE HEMAGLUTINAÇÃO:

O crescimento bacteriano em "Tryptic Soy Broth" (T.S.B., Difco) por 18 a 20 horas a 37°C foi centrifugado à 2000 r.p.m. por 10 minutos e ressuspensão em solução salina tamponada com fosfato (S.S.T.F.), pH 7,2. A centrifugação e lavagem em S.S.T.F. foram repetidas uma vez. Uma suspensão bacteriana a 10% (v/v) em S.S.T.F. foi então preparada e 25 µl desta suspensão ($\approx 1 \times 10^9$ células/ml de S.S.T.F.) foram diluídos em série (razão 2) na mesma solução tampão. Posteriormente, 25 µl de uma suspensão de eritrócitos a 1% no mesmo tampão, foram adicionados a cada diluição. A leitura era realizada após incubação por 2 horas a temperatura ambiente¹⁵.

Com a finalidade de testar se a hemaglutinação podia ser inibida por carboidratos específicos, 25 µl de S.S.T.F. contendo 2 a 4 unidades hemaglutinantes (1 unidade hemaglutinante é a mais alta diluição da suspensão bacteriana que causou hemaglutinação) da suspensão bacteriana eram incubados a 4°C por 1 hora, juntamente com 50 µl da substância teste em S.S.T.F. nas concentrações de 5 mg/ml e 100 mM^{4,12,14}. O controle da hemaglutinação era realizado adicionando-se 50 µl de S.S.T.F. nas respectivas diluições. Após adição da suspensão de hemácias, a mistura era incubada a 4°C por 2 horas. Os carboidratos testados incluíram D(-)manitol, D(-)frutose, lactose, D(+)-manose, D(+)-galactose, N-acetil-galactosamina, N-acetil-lactosamina, ácido N-acetilneuramínico e ácido lipoteicoico (de procedências Sigma ou Merck). Todos os testes foram realizados em placas de microtitulação (Flow Laboratories), no mínimo 2 vezes.

Com o objetivo de enriquecer as possíveis estruturas responsáveis pela hemaglutinação presentes em amostras não hemaglutinantes,

partiu-se de cultivos de 24 horas a 37°C em T.S.B. (4,5 ml), aos quais foi adicionado 0,5 ml de uma suspensão de eritrócitos a 3% em S.S.T.F. e incubados a temperatura ambiente, por no mínimo 1 hora. Após este período, as hemácias eram separadas por centrifugação a 1000 r.p.m. por 10 minutos, lavadas 2 vezes em S.S.T.F.; uma alíquota do sedimento era semeada em T.S.B. e incubada a 37°C por 24 horas³⁴. Este procedimento foi repetido 2 vezes e o teste de hemaglutinação realizado novamente. As amostras reisoladas após este procedimento, sempre seguidas da letra E, para melhor entendimento, foram denominadas de amostras enriquecidas.

C - ADERÊNCIA A CÉLULAS HEp-2:

Para o ensaio de aderência, em tubos de Leighton contendo uma lamínula (11 x 24 mm) adicionou-se 1 ml de uma suspensão contendo cerca de 1×10^8 células/ml (HEp-2) em meio de Eagle acrescido de soro fetal bovino a 10%, seguido de incubação a 37°C por 48 horas. Estas células foram fornecidas pelo Laboratório de Cultura Celular do Instituto Adolfo Lutz. Antes do uso as células eram lavadas 2 vezes com S.S.T.F.

As cepas bacterianas (18 amostras), crescidas em T.S.B. por 18 a 20 horas a 37°C, foram centrifugadas a 2000 r.p.m. por 10 minutos, ressuspensas em S.S.T.F. e repetido o procedimento. O sedimento resultante foi ajustado na turbidez da escala 1 de McFarland, utilizando-se a solução tampão para a diluição. Adicionou-se então ao tubo de Leighton 1 ml desta suspensão e incubou-se a 37°C por 30 minutos. As bactérias não aderidas eram removidas por sucessivas lavagens com S.S.T.F.

As células eram fixadas com metanol e submetidas a coloração de May Grunwald e Giemsa. As lamínulas eram retiradas dos tubos, secas naturalmente e montadas em lâminas de vidro. O número total de bactérias associadas com 40 células epiteliais foi determinado por observação microscópica (1000 x)^{4,31,32}.

A inibição da aderência foi testada para algumas cepas. Para este fim, à suspensão bacteriana ajustada na escala 1 de McFarland foi adicionado o carboidrato teste na concentração de 500 µg/ml de S.S.T.F. A mistura foi incubada a 37°C por 30 minutos e o ensaio de aderência realizado como descrito anteriormente. No caso especial da inibição por ácido

lipoteicóico, este era adicionado às células epiteliais, seguindo-se o mesmo procedimento^{4,36}.

Todos os testes foram realizados em duplicata para cada amostra estudada.

RESULTADOS

Conforme mostrado na tabela 1 a maioria das cepas estudadas aglutinou hemácias de carneiro.

A tabela 2 demonstra que o processo de enriquecimento conferiu propriedade hemaglutinante a duas das amostras analisadas.

Conforme indicado na tabela 3, entre os carboidratos complexos empregados para inibição da hemaglutinação o n-acetil lactosamina demonstrou maior atividade, inibindo 44% das cepas quando utilizado na concentração de 100mM. O ácido lipoteicóico apresentou uma ação limitada sobre as cepas enriquecidas. Em relação aos carboidratos simples,

a hemaglutinação da maioria das cepas foi inibida por lactose, manose e manitol.

Através da tabela 4 podemos verificar que a maioria das cepas analisadas apresentou nível alto de aderência a células HEp-2, sendo que após o processo de enriquecimento, apenas uma cepa (S.69E) demonstrou baixo nível de aderência.

No que se refere à inibição da aderência a células HEp-2, indicado na tabela 5, somente uma cepa (S.20) mostrou alguma inibição pelos carboidratos testados.

DISCUSSÃO

A patogênese de infecções nas superfícies das mucosas é conseqüência de vários eventos, incluindo adesão da bactéria ao epitélio, seguida por colonização, dano ao tecido e, em alguns casos, invasão e disseminação^{1,3,22,29}. A aderência bacteriana pode ser mediada por componentes superficiais, tais como fímbrias^{1,35}, proteínas da membrana externa^{10,30} e estruturas semelhantes a cápsula^{9,27}.

Propriedades superficiais tais como, carga e interação hidrofóbica, não explicam completamente o fenômeno de interação bacteriana-célula já que estas propriedades diferem em pequena extensão entre cepas de *S. saprophyticus* com e sem capacidade hemaglutinante^{5,6}.

Estudos morfológicos de adesão a células do trato urinário, demonstraram a presença de uma estrutura semelhante ao glicocálise envolvendo as células epiteliais, os vários constituintes da flora e patógenos urinários, incluindo *S. saprophyticus*^{7,26}. Há relatos de maior adesividade nas células epiteliais com menor concentração deste material^{7,8}.

Posteriormente, estudos de microscopia eletrônica demonstraram a presença de estruturas semelhantes a fímbria na superfície de *S. saprophyticus*, sendo descritos três tipos morfológicos de apêndices. Observou-se uma relação inversa entre tamanho de cápsula e adesividade a células HEp-2³³.

Recentemente SCHMIDT³² descreveu a capacidade de estafilococos aderirem e invadirem células HEp-2. Ambas adesão e invasão, foram mais acentuadas para cepas de *S. saprophyticus* em relação às outras espécies.

Alguns estudos tem focalizado a base molecular para aderência de *S. saprophyticus* às células do trato urinário e às hemácias de

TABELA 1

Agglutinação de eritrócitos de carneiro pelas amostras de *S. saprophyticus*

Título hemaglutinante (a)	Amostras
32	S.5,19,42,72,79,87,164
16	S.3,7,11,12,15,18,22,24,41,71,206,249
8	S.9,10,30,33,49,50B,55,58,76,81,247
4	S.1,4,8,64,78,82,224
2	S.13,16,17
1	S.51
Negativo	S.6,14,20,50A,56,69
Total de amostras	47
% de amostras hemaglutinantes	87

(a) Corresponde à mais alta diluição da suspensão bacteriana que causou hemaglutinação.

TABELA 2

Agglutinação de eritrócitos de carneiro pelas amostras de *S. saprophyticus* enriquecidas

Amostras	Título hemaglutinante
S.6E	-
S.14E	-
S.20E	4
S.50AE	-
S.56E	16
S.69E	-

TABELA 3

Efeito da adição de carboidratos em diferentes concentrações na inibição da hemaglutinação de *S. saprophyticus*

Carboi- drato	LA		GL		MT		FR		MN		GA		NAG		NAL		NANA		LTA	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
Cepas																				
S.11	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	n
S.12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n
S.18	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	n	-	-	n
S.20 E	n	+	n	-	n	+	n	-	n	+	n	+	n	-	n	-	n	-	+	n
S.33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	n
S.50 B	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n
S.56 E	n	+	n	-	n	+	n	-	n	+	n	+	n	+	n	-	n	-	+	n
S.81	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	n	-	n
S.224	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	n

LA = Lactose NAG = n-acetil galactosamina

GL = Glicose NAL = n-acetil lactosamina

MT = Manitol NANA = n-acetil neuramínico

FR = Frutose LTA = ácido lipoteicóico

MN = Manose + = inibição - = não inibição

GA = Galactose n = não determinado

a = 5mg/ml (0.014mM LA, 0.025mM GL, 0.027mM MT, 0.028mM FR, MN e GA, 0.023mM NAG, 0.013mM NAL, 0.016mM NANA).

b = 100mM.

TABELA 4

Aderência das cepas de *S. saprophyticus* a células HEp-2

Cepas	Número médio de estafilococos aderidos por célula		
	x	s	
S.6	7.1	±	3.83
6.E	21.4	±	6.25
S.8	19.5	±	7.63
S.11	19.6	±	6.30
S.12	19.4	±	11.12
S.14	14.5	±	6.52
S.14E	21.8	±	7.22
S.18	21.0	±	7.74
S.20	17.2	±	10.12
S.20E	13.4	±	6.20
S.33	14.5	±	10.34
S.50A	10.4	±	7.70
S.50AE	19.4	±	7.01
S.50B	24.1	±	10.60
S.56	1.4	±	2.10
S.56E	35.5	±	3.73
S.69	3.1	±	2.81
S.69E	2.4	±	2.12
S.81	21.8	±	4.83

x = Média aritmética

s = Desvio padrão

carneiro^{4,14,15,36}. Eles sugerem a participação do ácido lipoteicóico, por um mecanismo de interação não específico^{4,36} e de lectinas com especificidade para n-acetil-lactosamina¹⁴ ou

para n-acetil-galactosamina e ácido n-acetil-neuramínico⁴.

No presente estudo, 87% das cepas aglutinaram hemácias de carneiro (tabela 1), não havendo correlação entre aderência às células HEp-2 e hemaglutinação em 6 das 19 amostras estudadas (S.6E, S.14, S.14E, S.20, S.50A e S.50AE tabelas 1,2 e 4). Os resultados de aderência às células HEp-2 e de hemaglutinação após o processo de enriquecimento sugerem que houve desenvolvimento de diferentes adesinas, conferindo capacidade hemaglutinante às cepas S.20 e S.56 e de aderência, às cepas S.6, S.14, S.50A e S.56 (tabelas 2 e 4). A cepa S.69 permaneceu inalterada. Provavelmente, as adesinas e receptores diferem nos dois tipos de interações, o que pode ser corroborado pelos diferentes padrões de inibição por carboidratos específicos, quando analisamos algumas amostras com capacidade de interagir com ambos os tipos celulares (S.18, S.33, S.20 e S.20E tabelas 3 e 5).

Através da tabela 3 podemos observar que a hemaglutinação de todas as cepas foi inibida pela manose na concentração de 100mM, sendo algumas também inibidas por n-acetil-lactosamina conforme descrito por GUNNARSSON et al¹⁴. Hemaglutinação manose resistente foi descrita por HOVELIUS et al¹⁵ ao estudarem quatro cepas de *S. saprophyticus* utili-

TABELA 5
Efeito de diferentes carboidratos na inibição da aderência de *S. saprophyticus* às células HEp-2

Carboidrato	Nº médio de estafilococos por célula								
	S.18			S.33			S.56E		
	x	s	% de aderência	x	s	% de aderência	x	s	% de aderência
Manose	20.0 ±	8.74	95.2	19.0 ±	6.23	92.7	30.0 ±	4.10	84.5
Lactosamina	18.2 ±	6.47	85.7	18.9 ±	6.23	92.2	31.7 ±	5.02	89.3
Galactosamina	19.5 ±	6.85	92.8	17.7 ±	5.39	86.3	32.5 ±	3.93	91.6
Lipoteicóico	19.2 ±	4.75	91.4	20.0 ±	7.91	97.6	34.3 ±	3.60	96.6
Controle	21.0 ±	7.74	100.0	20.5 ±	6.62	100.00	35.5 ±	3.73	100.0
		S.20			S.20E				
Manose	10.4 ±	4.82	64.2*	13.4 ±	3.28	100.0			
Lactosamina	13.0 ±	4.73	80.2*	12.1 ±	3.27	90.3			
Galactosamina	6.6 ±	4.40	40.7*	12.1 ±	4.84	90.3			
Lipoteicóico	7.9 ±	4.51	48.8*	13.1 ±	3.87	97.8			
Controle	16.2 ±	7.60	100.0	13.4 ±	6.20	100.0			

x = Média aritmética

s = Desvio padrão

* = P < 0.05 Teste de Student.

zando uma concentração do carboidrato muito superior a deste estudo. A maioria das cepas de *E. coli* causando infecção do trato urinário possui fimbria tipo 1, a qual se liga a manose. Este tipo de fimbria é considerado crucial para a colonização das células epiteliais do trato genito-urinário, ricos em receptores contendo manose³.

No que se refere às células HEp-2, não houve inibição da adesão por quaisquer dos carboidratos testados, exceto para a cepa S.20 que foi inibida por N-acetil-galactosamina, N-acetil lactosamina, ácido lipoteicóico e manose (tabela 5). A ausência de inibição pelo ácido lipoteicóico apresentada pela maioria das cepas sugere diferenças entre os receptores das células HEp-2 e aquelas do trato urinário, uma vez que TETI et al.³⁶ relataram inibição da aderência às últimas pelo glicolípido. É interessante o fato que as cepas enriquecidas que se tornaram hemaglutinantes (S.20E e S.56E) apresentaram o mesmo perfil das cepas naturalmente hemaglutinantes.

Vários modelos teóricos poderiam ser postulados a partir destes resultados, tais como maior ou menor concentração de material capsular e presença de diferentes tipos de fímbricas, tanto em termos morfológicos quanto em especificidade de ligação. Porém, acreditamos ser necessário um estudo citomorfológico,

através de microscopia eletrônica para elucidação e confirmação dos nossos resultados.

SUMMARY

Differences on the adhesive property of *Staphylococcus saprophyticus* to HEp-2 cells and erythrocytes.

S. saprophyticus has been frequently isolated from urinary tract infections in young women.

In contrast with *S. aureus*, no defined virulence factors have been recognized for the coagulase negative *Staphylococcus* species.

The objective this study was to analyze the adherence of *S. saprophyticus* to HEp-2 cells and sheep erythrocytes.

The sample were isolated from urine of patients with urinary infection. Hemagglutination, adherence to HEp-2 cells tests and inhibition by specific carbohydrates of the interactions between these cells were analyzed.

Most of the strains were hemagglutinating whose properties was inhibited by manose (100mM). There was a high adherence level to HEp-2 cells. The differences in specificity and attachment level noted in this study suggest that multiple adhesins are involved in the mechanism of cellular interaction.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho recebeu auxílio financeiro do CNPq. Processo nº 412516/88.

Agradecemos ao Sr. Murilo Gomes de Oliveira pela orientação recebida na elaboração deste trabalho e às Seções de Bacteriologia e Cultura Celular do Instituto Adolfo Lutz pelos serviços prestados.

Referências Bibliográficas

1. ARP, L.H. -- Bacterial infection of mucosal surfaces: an overview of cellular and molecular mechanisms. In: ROTH, S.A., ed. *Virulence Mechanisms of bacterial pathogens*. Washington, American Society of Microbiology. 1989. p. 3-19.
2. BASTOS, M.G.; MILAGRES, L.G.; OLIVEIRA, M.G. & PIMENTEL A.L. -- Infecção urinária por *S. saprophyticus*. I. Estudo da fase aguda. In: *Congresso Brasileiro de Nefrologia*, 13, Belo Horizonte, 1987. RESUMOS. p. 34.
3. BEACHEY, E.H. -- Bacterial adherence: adhesin-receptor interactions mediating the attachment of bacteria to mucosal surfaces. *J. infect. Dis.*, 143:325-345, 1981.
4. BEUTH, J.; KO, H.L.; OHSHIMA, Y.; YASSIN, A.; UHLENBRUCK, G. & PULVERER, G. -- The role of lectins and lipoteichoic acid in adherence of *S. saprophyticus*. *Zbl. Bakt. Mikrobiol. Hyg.*, 268A: 357-361, 1988.
5. COLLEEN, S.; HOVELIUS, B.; WISLANDER, A. & MARDH, P.A. -- Surface properties of *S. saprophyticus* and *S. epidermidis* as studied by adherence tests and two-polymer, aqueous phase systems. *Acta path. microbiol. immunol. scand.*, 87B: 321-328, 1979.
6. COLLEEN, S.; HERRSTROM, P.; WIESLANDER, A. & MARDH, P.A. -- Physico-chemical properties of *S. epidermidis* and *S. saprophyticus* as studied by aqueous polymer two-phase systems. *Scand. J. infect. Dis.*, 24 (suppl.): 165-172, 1980.
7. COLLEEN, S. -- Cell surface charge of human urethral mucosa in relation to bacterial attachment. *Scand. J. Urol. Nephrol.*, 68(suppl.): 1-8, 1982.
8. COLLEEN, S.; MYHRBERG, H. & MARDH, P.A. -- Bacterial colonization of human urethral mucosa. II -- adherence tests using tissue organ cultures. *Scand. J. Urol. Nephrol.*, 15: 181-187, 1981.
9. COSTERTON, J.W. & IRVIN, R.T. -- The bacterial glycocalyx in nature and disease. *Ann. Rev. Microbiol.*, 35:299-324, 1981.
10. DARFEUILLE-MICHAUD, A.; FORESTIER, C.; JOLY, B. & CLUZEL, R. -- Identification of a nonfimbrial adhesive factor of an enterotoxigenic *E. coli* strain. *Infect. Immun.*, 52: 468-475, 1986.
11. GILLESPIE, W.A.; SELLIN, M.A.; GILL, P.; STEPHENS, M.; TUCKWELL, L.A. & HILTON, A.L. -- Urinary tract infection in young women, with special reference to *S. saprophyticus*. *J. clin. Path.*, 31: 348-350, 1978.
12. GILSDORF, J.R.; JUDD, W.J. & CINAT, M. -- Relationship of *H. influenzae* type b pilus structure and adherence to human erythrocytes. *Infect. Immun.*, 57: 3259-3260, 1989.
13. GOLLEDGE, C.L. -- *S. saprophyticus* bacteremia. *J. infect. Dis.*, 157:215, 1989.
14. GUNNARSSON, A.; MARDH, P.A.; LUNDBLAD, A. & SVENSON, S. -- Oligosaccharide structures mediating agglutination of sheep erythrocytes by *S. saprophyticus*. *Infect. Immun.*, 45:41-46, 1984.
15. HOVELIUS, B. & MARDH, P.A. -- Haemagglutination by *S. saprophyticus* and other Staphylococcal species. *Acta path. microbiol. immunol. scand.*, 87B:45-50, 1979.
16. HOVELIUS, B. & MARDH, P.A. -- *S. saprophyticus* as a common cause of urinary tract infections. *Rev. infect. Dis.*, 6:328-337, 1984.
17. INSTITUT PASTEUR. -- Milieu et réactifs de laboratoire Pasteur. Paris, Institut Pasteur, 1978. p. 120, 141, 186.
18. KLOOS, W.E. & SHLEIFER, K.H. -- Simplified scheme for routine identification of human *Staphylococcus* species. *J. clin. Microbiol.*, 1:82-88, 1975.
19. LATHAM, R.H.; RUNNING, K. & STAMM, W.E. -- Urinary tract infections in young adult women caused by *S. saprophyticus*. *J. Amer. med. Ass.*, 250:3063-3066, 1983.
20. LEE, W.; CARPENTER, R.J.; PHILLIPS, L.E. & FARO, S. -- Pyelonephritis and sepsis due to *S. saprophyticus*. *J. infect. Dis.*, 155:1079, 1987.
21. LEFFLER, H.; LOMBERG, H.; GOTSCCKICH, E.; HAGBERG, L.; JODAL, U.; KORHONEN T.; SAMUELSON, B.F.; SCHOOLNICK, G. & SVANBORG-EDÉN, C. -- Chemical and clinical urinary tract infection. *Scand. J. infect. Dis.*, 33(suppl.):46-51, 1982.
22. MAGNUSSON, K.E. -- Hidrofobic interaction -- a mechanism of bacterial binding. *Scand. J. infect. Dis.*, 33(suppl.):32-36, 1982.
23. MARDH, P.A.; COLLEEN, S. & HOVELIUS, B. -- Attachment of bacteria to exfoliated cells from the urogenital tract. *Invest. Urol.*, 16:322-326, 1979.
24. MARDH, P.A.; HOVELIUS, B.; MELSEN, F. & MOLLER, B.R. -- Experimental acute pyelonephritis in grivet monkeys, provoked by *S. saprophyticus*. *Acta path. microbiol. immunol. scand.*, 88B:225-230, 1980.
25. MARRIE, T.J.; KWAN, C.; NOBLE, M.A.; WEST, A. & DUFFIELD, C. -- *S. saprophyticus* as a cause of urinary tract infections. *J. clin. Microbiol.*, 16:427-431, 1982.

26. MARRIE, T.J.; LAM, J. & COSTERTON, J.W. - Bacterial adhesion to uroepithelial cells: a morphological study. **J. infect. Dis.**, 142:239-246, 1980.
27. ORSKOV, I.; BIRCH-ANDERSON, A.; DUGUID, J.P.; STENDERUP, J. & ORSKOV, F. - An adhesive protein capsule of *E. coli*. **Infect. Immun.**, 47:191-200, 1985.
28. PEAD, L.; MASKELL, R. & MORRIS, J. - *S. saprophyticus* a urinary pathogen: a six year prospective survey. **Brit. med. J.**, 219:1157-1159, 1985.
29. REID, G. & SOBEL, J.D. - Bacterial adherence in the pathogenesis of urinary tract infection: a review. **Rev. infect. Dis.**, 9:470-486, 1987.
30. SANSONETTI, P.J.; HALE, T.L.; DAMMIN, G.J.; KAPFER, C.; COLLINS, H.H.Jr & FORMAL, S.B. - Alterations in the pathogenicity of *E. coli* k-12 after transfer of plasmid and chromosomal genes from *Shigella flexneri*. **Infect. Immun.**, 39:1392-1402, 1983.
31. SCALETSKY, I.C.A.; SILVA, M.L.M. & TRABULSI, L.R. - Distinctive pattern of adherence of enteropathogenic *E. coli* to HeLa cells. **Infect. Immun.**, 45:534-536, 1984.
32. SCHIMIDT, H.; BUKHOLM, G. & HOLBERG-PETERSEN, M.H. - Adhesiveness and invasiveness of Staphylococcal species in a cell culture model. **Acta path. microbiol. immunol.**, 97:655-660, 1986.
33. SCHIMIDT, H.; NAUMANN, G. & PUTZKE, H.P. - Detection of different fimbriae-like structures on the surface of *Staphylococcus saprophyticus*. **Zbl. Bakt. Mikrobiol. Hyg.**, 268A:228-237, 1988.
34. STULL, T.L.; MENDELMAN, J.E.H.; HAAS, J.E.; SCHOENBORN, M.A.; MACK, K.D. & SMITH, A.L. - Characterization of *Haemophilus influenzae* type b fimbriae. **Infect. Immun.**, 46:787-796, 1984.
35. SVANBORG-EDÉN, C. & HANSON, L.A. - *E. coli* pili as possible mediators of attachment to urinary tract epithelial cells. **Infect. Immun.**, 21:229-237, 1978.
36. TETI, G.; CHIOFALO, M.S.; TOMASELLO, F.; FAVA, C. & MASTROENI, P. - Mediation of *S. saprophyticus* adherence to uroepithelial cells by lipoteichoic acid. **Infect. Immun.**, 55:839-842, 1987.
37. WALLMARK, C.; ARREMARK, I. & TELANDER, B. - *S. saprophyticus* a frequent cause of acute urinary tract infection among female outpatients. **J. infect. Dis.**, 138:791-797, 1978.
38. WATHNE, B.; HOVELIUS, B. & MARDH, P.A. - Causes of frequency and dysuria in women. **Scand. J. infect. Dis.**, 19:223-229, 1987.

Recebido para publicação em 06/06/1991
Aceito para publicação em 22/05/1992