

A Nossa
Universidade

Colégio dos Jesuítas
Rua dos Ferreiros - 9000-082, Funchal

Tel: +351 291 209400
Fax: +351 291 209410
Email: gabinetedareitoria@uma.pt

DM

Estudo de Resistência da Bactéria *Escherichia Coli* a Antibióticos
em Infecções Urinárias na População da Região Autónoma da Madeira

Maria João Chaves Pereira de Oliveira



Estudo de Resistência da Bactéria *Escherichia Coli* a Antibióticos
em Infecções Urinárias na População da Região Autónoma da Madeira
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Maria João Chaves Pereira de Oliveira
MESTRADO EM BIOQUÍMICA APLICADA


UNIVERSIDADE da MADEIRA
A Nossa Universidade
www.uma.pt

Dezembro | 2010

DIMENSÕES: 45 X 29,7 cm

PAPEL: COUCHÊ MATE 350 GRAMAS

IMPRESSÃO: 4 CORES (CMYK)

ACABAMENTO: LAMINAÇÃO MATE

NOTA*

Caso a lombada tenha um tamanho inferior a 2 cm de largura, o logótipo institucional da Uma terá de rodar 90°, para que não perca a sua legibilidade/identidade.

Caso a lombada tenha menos de 1,5 cm até 0,7 cm de largura o layout da mesma passa a ser aquele que consta no lado direito da folha.





Estudo de resistência da bactéria *Escherichia coli* a antibióticos em infecções urinárias na população da Região Autónoma da Madeira

DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM BIOQUÍMICA
APLICADA

Apresentada à
Universidade da Madeira

Maria João Chaves Pereira de Oliveira

Orientadora: Irene Gomes Câmara Camacho

Dezembro 2010

“There are no secrets to success. It is the result of preparation, hard work, and learning from failure.”

Colin Powell

AGRADECIMENTOS

À Doutora Irene Câmara Camacho, professora do Departamento do Centro de Competências das Ciências da Vida - Universidade da Madeira (UMa) por todo o apoio concebido na orientação do projecto de Mestrado, e pelas suas sugestões construtivas e pertinentes para a elaboração do trabalho.

À coordenadora do Mestrado, Doutora Helena Tomás, pela atenção, responsabilidade e celeridade demonstrada na resolução de enigmas.

À Dr.^a Susana Agostinho, Farmacêutica com especialização em Análises Clínicas, vice-directora do Laboratório de Análises Clínicas Castro Fernandes, por todo o apoio concebido na co-orientação deste estudo e pelo seu voto de confiança, interesse e colaboração através da disponibilização de bibliografia e informações técnicas essenciais para a planificação do trabalho, não esquecendo o constante esclarecimento de dúvidas e transmissão de conhecimentos.

À administração do Madeira Medical Center (MMC), em particular ao Dr. José Júlio Castro Fernandes, pela oportunidade concebida para a execução do trabalho.

À equipa do Laboratório de Análises Clínicas Castro Fernandes, nomeadamente à Dr.^a Cristina Castro e à Alzira Ribeiro, pela amizade e os bons momentos que me proporcionaram.

Ao Professor Gonçalo Amorim, pelo apoio cedido a nível do tratamento estatístico, pela extrema paciência diante todas as minhas dificuldades e limitações e que foi determinante para a análise dos resultados obtidos.

À minha colega de mestrado, Sara Pereira, pelo companheirismo e amizade.

Às pessoas mais importantes da minha vida: aos meus pais, irmão, avós e restante família e aos meus verdadeiros amigos.

RESUMO

As infecções do tracto urinário (ITU) são doenças infecciosas comuns e distinguem-se em dois grandes grupos: o das infecções do tracto urinário superior e o das infecções do tracto urinário inferior. O principal agente etiológico envolvido nas ITU é a bactéria *Escherichia coli* (*E. coli*), representando 80-95% dos invasores do tracto urinário na população em geral. É mais comum entre os adultos do sexo feminino, principalmente com actividade sexual, embora as crianças, mulheres grávidas e idosos também apresentam grande susceptibilidade. Paralelamente, a problemática da resistência aos antimicrobianos é um tema actual e muito debatido internacionalmente. Como tal, o presente estudo teve como principal objectivo contribuir para a identificação fiável da bactéria *E. coli* em infecções urinárias bem como a determinação do seu perfil de resistência a antibióticos.

Os dados apresentados referem-se a um estudo efectuado entre Outubro de 2008 e Junho de 2009 no Laboratório de Análises Clínicas Castro Fernandes – MMC. Foram analisadas 6522 amostras de urina, das quais 390 corresponderam a uroculturas positivas.

Verificou-se que o sexo feminino tem uma maior propensão para infecções urinárias, havendo uma tendência para o aumento das ITU com a idade.

Na interpretação da cultura revelou-se importante a informação dada pelo exame cultural acerca do número de leucócitos. Concluiu-se que nas uroculturas cujo número de colónias foi superior a 10^5 com menos de três espécies de colónias diferentes na cultura, o número de leucócitos foi superior a 30 milhares de células por μL , o que sugere a existência de infecção urinária.

No estudo do perfil de sensibilidade da bactéria *E. coli* isolada, para a família dos beta-lactâmicos (Ampicilina (AMP), Amoxicilina/Ácido Clavulânico (AMC), Piperacilina/Tazobactam (PIP/TZP)), família das cefalosporinas (Cefalotina (KF), Cefuroxima (CXM), Cefuroxima Acetil (CA), Cefotaxima (CTX), Ceftazidima (CAZ), Cefepima (FEP)), família dos aminoglicosídeos (Amicacina (AM), Gentamicina (GM), Tobramicina (TOB)) e para as nitrofurantoínas (F), verificou-se uma grande sensibilidade e pouca resistência em termos quantitativos, mas para a família das quinolonas (Ciprofloxacina (CIP), Levofloxacina (LEV), Norfloxacina (NOR)) e para os Trimetoprim/Sulfametoxazol (TMP/SMX) verificou-se resistências quantitativamente superiores aos das famílias anteriormente referidas, sugerindo valores convergentes aos da tendência europeia.

Foram identificados famílias de fenótipos tais como: os beta-lactâmicos, os aminoglicosídeos, quinolonas, tetraciclina, furanos e trimetoprim/sulfamidas.

E. coli é um microorganismo cujo fenótipo selvagem não tem resistências intrínsecas. Todas as resistências são adquiridas. Actualmente, a realização dos antibiogramas para *E. coli* tornou-se fundamental tendo em vista os factores ecológicos, genéticos, ambientais e pelo facto de que mais isolados são resistentes à maioria dos antibióticos.

Como conclusão, este estudo permitirá alertar para um problema sério que é uma grande ameaça à Saúde Pública.

ABSTRACT

Urinary tract infections (UTI) are common infectious diseases which are distinguished into two major groups: the upper urinary tract infections and the infections of the lower urinary tract.

The causative agent, the *Escherichia coli* (*E. coli*) bacterium, represents 80-95% of invasive urinary tract infection in general population. It is more common among adult females, especially with sexual activity, but children, pregnant women and elderly people also have great susceptibility.

Antimicrobial resistance is a current and highly internationally debated issue. As such, this study's main objective was to contribute to the reliable identification of the *E. coli* bacterium in urinary infections as well as determining the profile of antibiotic resistance.

The data presented refers to a study conducted between October 2008 and June 2009 in Clinical Laboratory Castro Fernandes - MMC. There were analyzed 6522 urocultures which 390 were positive.

It was observed that women really are more prone to urinary infections, with an upward trend of UTI with age.

In the interpretation of culture is important the information given by cultural examination of the number of leukocytes. It was concluded that urocultures in which the number of colonies was more than 10^5 under three different kinds of colonies in culture, the number of leukocytes was more than 30 thousands of cells per μL , suggesting the existence of urinary tract infection.

In the study of the sensitivity profile of the isolated *E. coli* bacterium the beta-lactam antibiotics family (ampicillin (AMP), amoxicillin / clavulanic acid (AMC), piperacillin / tazobactam (PIP / T'ZP)), the cephalosporins family (cephalothin (KF), cefuroxime (CXM), Cefuroxime Acetyl (CA), cefotaxime (CTX), ceftazidime (CAZ), Cefepime (FEP)), the aminoglycosides family (Amikacin (AM), gentamicin (GM), tobramycin (TOB)) and the nitrofurantoin family (F), there was a great little resistance and sensitivity, but for the quinolones (ciprofloxacin (CIP), levofloxacin (LEV), norfloxacin (NOR)) and trimethoprim / sulfamethoxazole (TMP / SMX) there was resistance quantitatively superior to the previously mentioned families, which suggests that is following the trend in Europe.

Phenotypes were identified in families such as: the beta-lactams, the aminoglycosides, the quinolones, the tetracyclines, the furans and the trimethoprim /sulphonamides.

E. coli is a microorganism whose wild phenotype has no intrinsic resistance. All resistances are acquired. Currently, the performance of antibiograms for *E. coli* has become essential in an ecological, genetic and environmental view, by the fact that most strains are resistant to most antibiotics.

In conclusion, this study will draw attention to a serious problem that is a major threat to Public Health.

ABREVIATURAS

| | |
|----------------|---|
| AM | - Amicacina |
| AMP | - Ampicilina |
| AMC | - Amoxicilina/Ácido Clavulânico |
| ATB | - Antibiograma |
| CA | - Cefuroxima Axetil |
| CAZ | - Ceftadizima |
| CIP | - Ciprofloxacina |
| CLED | - Cistina lactose deficiente em electrólitos |
| CMI | - Concentração mínima inibitória |
| CTX | - Cefotaxima |
| CXM | - Cefuroxima |
| EARSS | - Sistema de Vigilância Europeu de Resistência Antimicrobiana (<i>Ing. European Antimicrobial Resistance Surveillance System</i>) |
| E. COLI | - <i>Escherichia coli</i> |
| IASAÚDE | - Instituto da Administração da Saúde e Assuntos Sociais |
| ITU | - Infecção do tracto urinário |
| FEP | - Cefepima |
| GM | - Gentamicina |
| KF | - Cefalotina |
| LEV | - Levofloxacina |
| MMC | - Madeira Medical Center |
| NOR | - Norfloxacina |
| OMS | - Organização Mundial de Saúde (<i>Ing. World Health Organization</i>) |
| PIP/TAZ | - Piperacilina/Tazobactam |
| RAM | - Região Autónoma da Madeira |
| R | - Perfil Resistente |
| S | - Perfil Sensível |
| TOB | - Tobramicina |
| TMP/SMX | - Trimetoprim/Sulfametoxazol |
| TSA | - Testes de Sensibilidade a antibióticos |
| UFC | - Unidades formadoras de colónias |
| UMA | - Universidade da Madeira |

ÍNDICE GERAL

| | |
|--|-------|
| AGRADECIMENTOS | 3 |
| RESUMO | 4-5 |
| ABSTRACT | 6-7 |
| ABREVIATURAS | 8 |
| ÍNDICE GERAL | 9-10 |
| ÍNDICE DE FIGURAS | 12-13 |
| ÍNDICE DE TABELAS | 14 |
| INTRODUÇÃO | |
| 1. Enquadramento e Objectivos | 16-18 |
| 2. As Infecções do Tracto Urinário (ITU) | 18 |
| 2.1. Epidemiologia | 19 |
| 2.2. Incidência das ITU em relação ao sexo e à idade | 19-20 |
| 2.3. Patogénese | 20-21 |
| 2.4. Manifestações clínicas | 21-22 |
| 2.5. Factores de risco | 22 |
| 2.6. Diagnóstico clínico e laboratorial | 23 |
| 3. <i>Escherichia coli</i> urogénica | 23-24 |
| 3.1. Factores de virulência | 24 |
| 3.2. Perfil epidemiológico e etiológico | 24-25 |
| 3.3. Detecção do uropatógeno | 25 |
| 3.4. Susceptibilidade e Resistência a antibióticos | 25-26 |
| 3.5. Implicações da resistência a antibióticos | 26-27 |
| MATERIAIS E MÉTODOS | |
| 4. População de estudo | 29 |
| 5. Isolamento e Identificação de <i>E. coli</i> | 29-32 |
| 6. Avaliação do perfil de sensibilidade a antibióticos | 32-34 |
| 7. Análise estatística | 34 |
| RESULTADOS | |
| 8. Dados epidemiológicos | 36-40 |
| 9. Identificação dos Fenótipos | 41-45 |
| 10. Perfil de Resistência aos antibióticos testados | 45-50 |
| DISCUSSÃO | 52-56 |
| CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS | 58-59 |

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Análises Clínicas Castro Fernandes – MMC do Funchal, utilizando o sistema VITEK[®]2 da bioMérieux. A elaboração desta dissertação apresentada à Universidade da Madeira para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Bioquímica Aplicada, foi realizada sob orientação científica da Doutora Irene Câmara, Professora na Universidade da Madeira, UMa.

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1** - Campanha de sensibilização ao uso de antibióticos na RAM
- Figura 2** - Venda de antibióticos nos anos 2007, 2008 e 2009 na RAM
- Figura 3** - Cistite
- Figura 4** - Uretrite
- Figura 5** - Pielonefrite
- Figura 6** - Meio de cultura Cled com e sem fermentação da lactose respectivamente
- Figura 7** - Sistemas VITEK[®]2 da bioMérieux
- Figura 8** - Calibrador DENSICHEK VITEK[®] 2 da bioMérieux
- Figura 9** - Uroculturas efectuadas - positivas e negativas
- Figura 10** - Testes positivos por faixa etária
- Figura 11** - Testes positivos por idade
- Figura 12** - Testes positivos por sexo
- Figura 13** - Testes positivos por Concelho
- Figura 14** - Mapa da RAM / Testes positivos
- Figura 15** - Testes positivos em cada mês de estudo
- Figura 16** - Contagem de Leucócitos
- Figura 17** - Contagem de leucócitos *versus* idade
- Figura 18** - Antibióticos vendidos numa Farmácia do Concelho do Funchal
- Figura 19** - Distribuição da família dos Beta-Lactâmicos
- Figura 20** - Beta-Lactâmicos *versus* idade
- Figura 21** - Distribuição da família dos Aminoglicosídeos
- Figura 22** - Aminoglicosídeos *versus* idade
- Figura 23** - Distribuição da família das Quinolonas
- Figura 24** - Quinolonas *versus* idade
- Figura 25** - Distribuição da família Trimetoprim/Sulfamidas
- Figura 26** - Trimetoprim/Sulfamidas *versus* idade
- Figura 27** - Distribuição da família dos Furanos
- Figura 28** - Furanos *versus* idade
- Figura 29** - Distribuição da família das Tetraciclinas
- Figura 30** - Tetraciclinas *versus* idade
- Figura 31** - Perfil de resistência aos Beta-Lactâmicos
- Figura 32** - Perfil de resistência às Cefalosporinas

- Figura 33** -- Perfil de resistência aos Aminoglicosídeos
- Figura 34** Perfil de resistência às Quinolonas
- Figura 35** - Perfil de resistência Trimetoprim/Sulfametoaxol
- Figura 36** - Perfil de resistência da Nitrofurantoína
- Figura 37** - Perfil de resistência ao Meropenem
- Figura 38** - Perfil de resistência à Tetraciclina

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Famílias dos antimicrobianos utilizados no estudo



INTRODUÇÃO



1. ENQUADRAMENTO E OBJECTIVOS

A infecção urinária é uma patologia frequente que leva os utentes à procura de auxílio médico ^[1]. A terapia para essas infecções é muitas vezes realizada empiricamente, antes do resultado do antibiograma ser conhecido. O laboratório deve reportar ao clínico o estudo da sensibilidade aos antibióticos para a estirpe isolada, de forma a, se necessário, poder ser corrigida a terapêutica instituída ^[2].

Um aumento de estirpes resistentes a antibióticos tem sido relatado nos últimos anos, sendo uma das maiores preocupações das Instituições de Saúde ^[3]. A família de antibióticos de maior relevo e alvo preferencial do estudo são: os beta-lactâmicos, os aminoglicosídeos, as quinolonas, os furanos e os trimetoprim/sulfamidas. A família meropenem e as tetraciclina apresentam pouca relevância para o trabalho a desenvolver.

A exactidão dos resultados no estudo da infecção urinária depende de numerosas variáveis, que vão desde a colheita e transporte das amostras, aos diferentes procedimentos laboratoriais disponíveis para a identificação e perfil de sensibilidade. A idade e o sexo do utente também são variáveis importantes para a monitorização do estudo a que nos pretendemos ^[4].

No nosso país, um número não negligenciável de estudos são conduzidos no sentido de se conhecer a situação da resistência aos antibióticos. No entanto, considerando a medicina humana e a medicina veterinária, a situação global da resistência aos antibióticos em Portugal é, actualmente, ainda pouco conhecida, em particular no que diz respeito à sua dinâmica. Assim, a na Europa, através do Sistema de Vigilância Europeu de Resistência Antimicrobiana (*Ing. European Antimicrobial Resistance Surveillance System - EARSS*), ao qual Portugal não está alheio, devem ser empreendidos esforços a incidir sobre: a vigilância da resistência, educação dos prescritores, dos profissionais de saúde e do grande público, com regulamentação designadamente na promoção dos antibióticos pela indústria farmacêutica ^[5]. Na Região Autónoma da Madeira (RAM), o Instituto da Administração da Saúde e Assuntos Sociais (IASAÚDE), garante que uma das temáticas constantes das acções de educação para a saúde é a toma racional dos antibióticos (Figura 1).



Figura 1 – Campanha de sensibilização ao uso de antibióticos na RAM.

Não há conhecimento de um estudo recente a nível regional sobre o tema a que me proponho, mas admito que é muito provável que a Madeira siga a tendência nacional e internacional, até porque, há casos na Região em que as resistências aos antibióticos conduziram à morte de pessoas que, em circunstâncias ditas normais, não morreriam porque o medicamento seria eficaz.

De acordo com a IMS health, em 2007 foram vendidas na Região, 288.674 embalagens de antibióticos, sendo que em 2008, o valor total de vendas diminuiu para 273.782 embalagens daquele medicamento (Figura 2) [6].

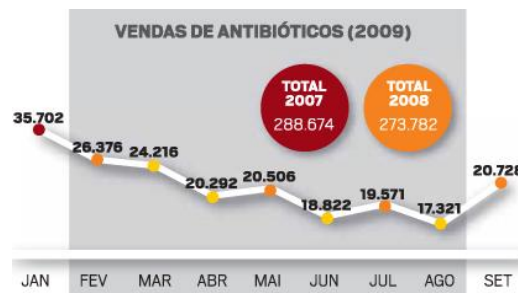


Figura 2 – Venda de antibióticos nos anos 2007, 2008 e 2009 na RAM.

Dada a necessidade de conter a propagação da resistência antimicrobiana através da utilização prudente de agentes antimicrobianos no homem e pelo homem, revelou-se de especial interesse desenvolver este estudo como meio de servir os interesses da RAM nesta problemática.

Como tal, o presente estudo teve como principal objectivo contribuir para a identificação fiável da bactéria *E. coli* em infecções urinárias bem como a determinação do seu perfil de



resistência a antibióticos. Pretendeu-se assim alertar para o aumento das resistências o que desafia a terapias mais eficazes. Tal permitirá igualmente alertar para um problema sério, diversificado e importante que é uma grande ameaça à Saúde Pública, área de trabalho, que como Bioquímica, descobri o quanto interessante é. Por isso, é com grande satisfação que decidi abraçar este trabalho dada a motivação pessoal de contribuir para um possível esclarecimento no que concerne a esta temática.

2. AS INFECÇÕES DO TRACTO URINÁRIO (ITU)

O tracto urinário humano é estéril, até à parte terminal da uretra, onde existe alguma microflora. A infecção urinária pode atingir todas as pessoas, independentemente da idade e do sexo, embora as mulheres tenham uma maior propensão para tal, devido a razões fisiológicas e estruturais. Qualquer condição que favoreça o desenvolvimento bacteriano no tracto urinário favorece a instalação de uma infecção urinária, sendo esta contraída principalmente pela via ascendente através da uretra. O principal mecanismo de defesa das vias urinárias é a micção porque ajuda a remover os microrganismos que ascendem pela uretra. A própria constituição da urina é também uma defesa contra as bactérias, pois esta possui uma elevada osmolaridade e um baixo pH que inibe o seu desenvolvimento. Normalmente, estes microrganismos são comensais que se encontram nas regiões periféricas, como a próstata, a vagina e o intestino ^[7].

A infecção do tracto urinário (ITU) é definida como colonização e multiplicação de microrganismos no tracto urinário. Pode ser assintomática, contudo, na maioria das vezes, principalmente em mulheres jovens o quadro é bastante sintomático. Distingue-se em dois grandes grupos: o grupo das infecções do tracto urinário superior e o grupo das infecções do tracto urinário inferior. A distinção entre ambos prende-se com razões de ordem fisiopatológica, bem como em termos de diagnóstico e terapêutico. As infecções do tracto urinário superior incluem infecções dos ureteres e do parênquima renal, uretrites e pielonefrites, respectivamente. São geralmente provocadas por situações de septicemia. As infecções do tracto urinário inferior abrangem cistites, uretrites e prostatites que são, infecções da bexiga, uretra e próstata, respectivamente. São provocadas por bactérias que ascendem através da uretra ^[8,9].



2.1 EPIDEMIOLOGIA

As infecções do tracto urinário (ITU) encontram-se entre as infecções mais frequentes no Homem, só ultrapassadas pelas infecções do aparelho respiratório, tendo, no entanto, um número limitado de agentes etiológicos ^[10].

A bactéria *E. coli*, representa 80-95% dos invasores do tracto urinário na população em geral. É mais comum entre os adultos do sexo feminino, principalmente com actividade sexual, mas as crianças, mulheres grávidas e idosos também apresentam grande susceptibilidade. Às vezes, o utente apresenta sintomas semelhantes aos da ITU, como dor, ardor, urgência e frequência para urinar, mas os exames culturais são negativos. Estes casos podem ser confundidos com ITU e são chamados de síndrome uretral aguda, que pode ter outras causas não infecciosas, mas de origem inflamatória, como tóxicas, químicas ou hormonais ^[4].

2.2 INCIDÊNCIA DAS ITU EM RELAÇÃO AO SEXO E À IDADE

Todas as pessoas são susceptíveis de contrair uma infecção urinária, apesar da maioria destas infecções serem agudas e de curta duração acarretam elevada morbidade e mortalidade. Certas infecções graves podem mesmo provocar uma perda de função renal e graves consequências a longo prazo ^[7].

O sexo e a idade são variáveis importantes a ter em conta na epidemiologia das ITU. Dentro destas variáveis, tem de se ter em conta as subpopulações específicas tais como: as crianças, mulheres grávidas, idosos, pacientes imunodeprimidos e pacientes hospitalizados. As infecções bacterianas das vias urinárias inferiores (a bexiga e a uretra) são muito frequentes. Nos recém-nascidos do sexo masculino são mais correntes do que no sexo feminino, mas tornam-se aproximadamente 10 vezes mais frequentes nas meninas do que nos meninos, a partir de um ano de idade. Cerca de 5% das mulheres adolescentes desenvolvem infecções das vias urinárias uma vez, mas os rapazes adolescentes raramente sofrem delas. Entre os 20 e os 50 anos, as infecções das vias urinárias são particularmente elevadas no sexo feminino, sendo que 20 a 30% das mulheres têm ITU recorrentes nalgum momento da sua vida. São assim, 50 vezes mais frequentes nas mulheres do que nos homens. Nos anos posteriores, as infecções tornam-se mais frequentes, surgindo tanto nos homens como nas mulheres, com menor diferença entre um e outro sexo ^[11]. No sexo



INTRODUÇÃO

masculino estas infecções são menos frequentes e ocorrem principalmente após os 50 anos de idade ^[12].

2.3 PATOGÉNESE

As ITU da comunidade surgem habitualmente por entrada e ascensão de microrganismos através da uretra até à bexiga – via ascendente. Estas infecções podem, ocasionalmente, ascender até ao rim e, em casos raros, provocar septicemia.

A vagina e uretra distal estão normalmente colonizadas por várias espécies de difteróides, estreptococos, lactobacilos e estafilococos, mas não pelas bactérias entéricas Gram negativas que provocam a maioria das ITU. No entanto em mulheres com predisposição para o desenvolvimento destas infecções estes bacilos (que habitualmente residem no tracto gastrointestinal) podem colonizar a vagina, a uretra distal e a região cutânea periuretral. Os factores que predis põem a esta colonização não estão totalmente esclarecidos mas pensa-se que a alteração da flora vaginal (provocada por terapêutica antibiótica, infecções ou contraceptivos) possa ter um papel importante. Mesmo um pequeno número de bactérias na região periuretral parece ser suficiente para a ascensão através da uretra até à bexiga, o que será facilitado pelas relações sexuais. A infecção vesical depende da interacção entre a patogenicidade da estirpe, o tamanho do inóculo e as defesas locais e sistémicas do hospedeiro.

Em condições normais as bactérias que atingem a bexiga são rapidamente eliminadas pelos efeitos de limpeza e diluição da urina, pelas propriedades antibacterianas da urina e da mucosa vesical e pela acção dos leucócitos que invadem o epitélio da bexiga logo após a infecção. No sexo masculino as secreções prostáticas também contribuem para a defesa local.

Outra via possível, mas menos frequente, é a disseminação hematogénea de bactérias até ao rim, sendo este a primeira porção do tracto urinário a ser infectada – via hematogénea ou descendente. Estão muito associadas a indivíduos debilitados por doenças crónicas ou terapêuticas imunossupressivas.

Pela sua importância e enorme prevalência torna-se importante abordar isoladamente a patogénese das ITU nos doentes algaliados. Neste caso o risco de infecção é de cerca de 5% por cada dia de algaliação e as bactérias associadas apresentam uma prevalência muito superior de resistência aos antimicrobianos. Alguns factores associados a um maior risco de ITU nos doentes algaliados são o sexo feminino, a presença concomitante de doenças



graves e alterações do sistema de algaliação. A infecção pode ocorrer por duas vias: via intraluminal – migração através do lúmen da algália e a via periuretral – entre a algália e a parede uretral. No primeiro caso os microrganismos atingem o sistema de algaliação através das mãos dos prestadores de cuidados de saúde ou de soluções ou instrumentos contaminados. Na segunda situação (mais frequente no sexo feminino) são os microrganismos da flora indígena que colonizam a superfície externa da algália na zona de contacto com a pele periuretral ^[7,13].

2.4 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

As infecções urinárias manifestam-se maioritariamente através das seguintes patologias: cistites (Figura 3), uretrites (Figura 4) e pielonefrites (Figura 5).



Figura 3 - Cistite

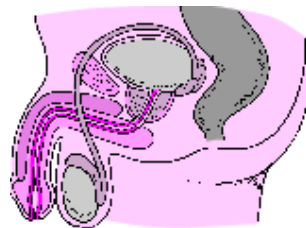


Figura 4 - Uretrite



Figura 5 - Pielonefrite

A cistite e a uretrite são infecções das vias urinárias inferiores, quase sempre difíceis de diferenciar da infecção renal. A cistite é uma infecção da bexiga urinária. As infecções da bexiga urinária são frequentes nas mulheres, particularmente durante o período fértil. Algumas mulheres desenvolvem infecções repetidas da bexiga urinária. A cistite necrosante pode causar hematúria. A uretrite é uma infecção da uretra, o canal que leva a urina desde a bexiga ao exterior do corpo. Nas mulheres, os microrganismos geralmente deslocam-se para a uretra desde a vagina. Nos homens, a uretrite em geral começa com uma secreção purulenta da uretra, quando a causa é o microrganismo gonococo, ou com um exsudado mucoso quando se trata de outros microrganismos.

A pielonefrite é uma infecção renal de um ou ambos os rins. Os sintomas de uma infecção do rim em geral começam repentinamente com calafrios, febre, dor na parte inferior das costas, em qualquer dos dois lados das costas (zonas lombares), náuseas e vômito.

A septicemia causada por bacilos Gram negativos, como *E. coli*, origina-se de infecções nas vias urinárias ou no tracto gastrointestinal. A septicemia é muito grave e o risco de morte é



INTRODUÇÃO

elevado. O médico deve começar de imediato o tratamento com antibióticos, antes mesmo de dispor dos resultados das culturas do laboratório que identifiquem o tipo de bactéria causadora da infecção ^[11].

A bactéria *E. coli*, com o *Streptococos* do grupo B, constitui a causa mais comum de meningite neonatal. Os recém-nascidos, quando infectados por *E. coli* podem desenvolver meningite bacteriana, uma doença caracterizada pela inflamação das meninges ou das membranas que rodeiam o cérebro ou espinal medula. Esta doença pode ser letal ou deixar consequências para toda a vida, tais como, surdez, cegueira e lesão cerebral ^[14].

A gastroenterite é um termo geral que se refere a um grupo de distúrbios cujas causas são as infecções e cujos sintomas incluem a perda de apetite, náuseas, vômitos, diarreias leves a intensas, a dor tipo cólica e o desconforto abdominal. Juntamente com a água, ocorre a perda de eletrólitos (sobretudo de sódio e potássio) do organismo. Para o adulto saudável, o desequilíbrio eletrolítico é apenas inconveniente. No entanto, ele pode causar uma desidratação potencialmente letal em indivíduos muito doentes, muito jovens ou idosos. Uma toxina produzida por uma bactéria comum, a *E. coli* pode causar a diarreia do viajante ^[11].

2.5 FACTORES DE RISCO

Em relação às ITU torna-se fundamental distinguir alguns conceitos. A bacteriúria assintomática é definida pela presença de bactérias no tracto urinário na ausência de sintomas. De uma forma geral o seu significado clínico é controverso, sendo valorizável apenas nos casos de crianças (em que a ausência de tratamento pode levar a lesão renal crónica), mulheres grávidas (devido ao risco de progressão para infecção grave do feto), doentes que vão efectuar procedimentos invasivos que envolvem o aparelho urinário (como resultado da instrumentação pode desenvolver-se uma septicemia) e doentes submetidos a transplante renal. A cistite é um termo aplicado a ITU confinada à bexiga. Os sintomas associados são disúria, polaquiúria e urgência ou tenesmo miccional. A pielonefrite corresponde a uma inflamação do rim sendo uma forma de infecção mais invasiva do que a associada a infecção da bexiga ^[2].



2.6 DIAGNÓSTICO CLÍNICO E LABORATORIAL

A solicitação de uroculturas e antibiogramas de amostras de urina, provenientes de utentes com suspeita de ITU e o seu estudo periódico, permitem dispor dos dados necessários para o conhecimento dos diferentes agentes etiológicos mais importantes numa determinada região e dispor de informação sobre os seus padrões de resistências, necessários para poder iniciar o tratamento empírico adequado e minimizar o aparecimento de resistências bacterianas. Assim, em todos os casos de suspeita de infecção das vias urinárias deve-se obter uma amostra de urina para cultura, a fim de isolar o microrganismo responsável e determinar a sensibilidade aos antibióticos ^[15].

Normalmente a identificação de estirpes é feita segundo critérios bioquímicos, por métodos convencionais (meios de cultura em placa) ou por métodos automáticos (sistemas VITEK[®] 2) ^[16].

Com este trabalho pretendeu-se, quantificar a prevalência de *E.coli* em ambulatório e verificar o perfil de resistência dos isolados de *E.coli* recorrendo sistema VITEK[®] 2.

3. *ESCHERICHIA COLI* UROGÉNICA

A família das enterobacteriaceae é numerosa, constituída por bacilos Gram negativos, aeróbios e anaeróbios facultativos, fermentadores da glucose, produtores de catalase e citocromo oxidase negativa. Alguns membros desta família integram a flora indígena do Homem e de outros animais, por exemplo, a *E. coli*, que também ocasiona doenças nos mamíferos.

E. coli, vulgarmente designada por colibacilo, é a espécie de maior importância clínica. É um habitante indígena do tracto intestinal dos mamíferos e, por essa razão, a sua presença em águas de consumo é indicadora de poluição fecal ^[17].

E. coli representa a causa mais comum de infecção das vias urinárias adquirida na comunidade (cerca de 70%) e hospitalar (cerca de 50%). *E. coli* também constitui a causa mais comum de bacteriemia ou septicemia por Gram negativos. O local primário de infecção que resulta na entrada do microrganismo na corrente sanguínea é a mais frequente do tracto urinário, conforme observado com a maioria dos bacilos Gram negativos. Esta situação é a mais frequente na presença da obstrução das vias urinárias. *E. coli* constitui uma das causas mais comuns de infecção grave no recém-nascido, sobretudo meningite. Provoca surtos periódicos de diarreia em recém-nascidos e lactentes. *E. coli* é um habitante



normal do cólon, de modo que as culturas de fezes positivas para *E. coli* não provam ser o microrganismo o agente causador da diarreia.

3.1 FACTORES DE VIRULÊNCIA

O género *Escherichia* contém 5 espécies sendo *E. coli* a mais comum e clinicamente mais importante. É um microrganismo muito virulento, provocando uma grande variedade de doenças devido à grande variedade de factores de virulência que apresenta. Possui vários antígenos O, H e K que são utilizados para classificar as estirpes para fins epidemiológicos. Embora a *E. coli* seja um habitante indígena do tracto intestinal, algumas estirpes de *E. coli* podem ocasionar perturbações entéricas, sendo designadas internacionalmente pelos acrónimos EPEC, ETEC, EHEC, EIEC e EAEC.

As estirpes ETEC (*E. coli* enterotoxígenas) são produtoras de dois tipos de toxinas: termolábil (LT) ou termoestável (ST), as quais são responsáveis pela patogénese da infecção entérica. As estirpes ETEC são responsáveis pela chamada diarreia do viajante. As estirpes EIEC (*E. coli* enteoinvasivas) invadem e destroem o epitélio do cólon, ocasionando uma diarreia aguda com sangue e leucócitos nas fezes. As estirpes EPEC (*E. coli* enteropatogénicas), classicamente associadas à diarreia do recém-nascido, aderem à membrana citoplasmática do enterócito, ocasionando a fusão das vilosidades da bordadura em escova ocorrendo uma aderência íntima entre a bactéria e a membrana do enterócito. Abaixo da bactéria aderente forma-se um pedestal de filamentos de actina polimerizada, o que é específico para as estirpes EPEC. As estirpes EHEC (*E. coli* enterohemorrágicas) produzem uma verotoxina (com efeitos citopáticos em células Vero). O principal serótipo associado com a colite hemorrágica é o O₁₅₇:H₇. Manifesta-se na forma de diarreia intensa com dor abdominal e fezes sanguinolentas. A maior parte destas infecções está associada ao consumo de alimentos de origem bovina, sobretudo carne de vaca picada e mal cozinhada ^[17].

3.2 PERFIL EPIDEMIOLÓGICO E ETIOLÓGICO

O agente etiológico mais frequente nas ITU é a *E. coli*, sendo que outras bactérias são frequentemente isoladas. A bactéria *E. coli* está presente em grande quantidade no tracto gastrointestinal, sendo a maioria das infecções endógenas, ou seja, são as bactérias do indivíduo que estabelecem infecção quando as defesas deste estão comprometidas ou



quando acedem a um local onde a sua presença é agressiva (ex: tracto urinário). As principais doenças associadas são: septicemia, UTI, meningite neo-natal, gastroenterite, infecções abdomino-pélvicas, pneumonia, celulite e osteomielite ^[9].

3.3 DETECÇÃO DO UROPATÓGENO

Neste trabalho usamos o sistema VITEK[®] 2. O software do sistema é usado em testes de diagnóstico in vitro, nomeadamente na realização de testes de identificação (ID) e de testes de sensibilidade aos antibióticos (ISA) de microrganismos.

3.4 SUSCEPTIBILIDADE E RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS

O objectivo da terapia antimicrobiana é destruir ou inibir o crescimento de um patogénico infeccioso sem causar dano ao hospedeiro, sendo o último objectivo nunca alcançado.

Os agentes antimicrobianos diferem em suas propriedades físicas, químicas, farmacológicas, mecanismo de acção e espectro antimicrobiano.

São bacteriostáticos os agentes antimicrobianos que inibem o crescimento dos microrganismos, dependendo da erradicação do agente infeccioso das defesas do hospedeiro e bactericidas aqueles que matam os microrganismos. Esta classificação pode variar, dependendo do tipo de microrganismo, ou seja, um fármaco pode ser bactericida para determinados agentes e bacteriostático para outros, dependendo em grande parte da dosagem, mas não totalmente.

Apresentam amplo espectro de acção os fármacos que afectam vários grupos de agentes infecciosos e pequeno espectro de acção aqueles que atingem pequenos grupos.

O agente microbiano ideal deve apresentar actividade selectiva e eficaz, ser mais bactericida que bacteriostático, possuir amplo espectro de acção, não induzir resistência bacteriana e não lesar os tecidos do hospedeiro.

O desenvolvimento da resistência microbiana envolve uma mutação genética, estável e transmitida a gerações sucessivas. Com o uso indiscriminado, indevido e abusivo dos antimicrobianos, a resistência microbiana tem-se tornado um problema mundial, pois a formação de estirpes bacterianas resistentes provoca superinfecções, muito incontroláveis pelo uso de fármacos habitualmente usados ^[18].

A determinação da susceptibilidade antimicrobiana é crucial para a terapia dos utentes com infecções. Os microrganismos resistentes apresentam um fenótipo de resistência definido



por uma concentração mínima inibitória (CMI) para esse antimicrobiano. Podemos distinguir a resistência natural, em que a bactéria é sempre resistente ao antimicrobiano porque não possui a estrutura sobre a qual este exerce a sua actividade, a resistência intrínseca, em que as bactérias possuem uma CMI para um determinado antimicrobiano, superior à que inibe, normalmente, outras bactérias de características semelhantes, e resistência fenotípica, termo que alguns autores usam para expressar o aumento que ocorre na CMI quando se estuda a sensibilidade de um microrganismo sob condições não habituais que modificam a actividade do antimicrobiano. A resistência adquirida implica o desenvolvimento ou aquisição de um mecanismo de resistência. Este tipo de resistência pode adquirir-se por mutação de genes já existentes, aquisição de material exógeno (por transformação, transdução e conjugação) e por mutação do material genético adquirido ^[20].

3.5 IMPLICAÇÕES DA RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS

A utilização dos antibióticos, em conjunto com melhorias na sanidade, nutrição e habitação, e em paralelo com o desenvolvimento dos programas de vacinação, levou, por um lado à redução da mortalidade por doenças infecciosas, mas por outro, os antimicrobianos não reduziram a prevalência dessas doenças, e o seu uso, por vezes indiscriminado, promoveu a uma evolução das bactérias no sentido de aumentarem a sua resistência, podendo levar à falência terapêutica.

O aparecimento, evolução e disseminação de resistências pode ser devido a factores como: mau diagnóstico da doença infecciosa, utilização de antibióticos de largo espectro em detrimento de antibióticos de espectro mais reduzido, pressões dos pacientes (sentem-se no direito de receber um “remédio” que produza cura imediata). Falta de programas educativos e de informação adequada, utilização inadequada dos antibióticos em ambiente hospitalar, uso empírico dos antimicrobianos, utilização de antimicrobianos em alimentos e em produtos domésticos (desinfectantes e anti-sépticos), factores económicos, não cumprimento da terapêutica do paciente ou automedicação.

Como principais consequências da resistência microbiana, podemos destacar: mortalidade (infecções resistentes tornam-se fatais), doenças prolongadas, com necessidade frequente de hospitalização e uma maior probabilidade de disseminação de microrganismos resistentes, maiores custos financeiros com o tratamento, uma vez que se utilizam fármacos novos e mais caros, prolongamento do internamento hospitalar e soluções limitadas dado que há menor número de fármacos novos em concepção e desenvolvimento.



INTRODUÇÃO

O problema dramático da resistência aos antibióticos faz com que possamos enfrentar um problema de Saúde Pública, uma vez que patologias anteriormente com fácil solução a nível de tratamento, estão rapidamente a tornar-se complicadas sob o ponto de vista terapêutico [21].



MATERIAIS E MÉTODOS



4. POPULAÇÃO DE ESTUDO

Os dados apresentados referem-se a um estudo efectuado entre Outubro de 2008 e Junho de 2009 no Laboratório de Análises Clínicas Castro Fernandes – Madeira Medical Center. As amostras enviadas para este laboratório são oriundas de utentes de diversas localidades da RAM.

Foram analisadas 6522 amostras de urina, das quais 390 foram uroculturas positivas. Para todos os casos analisados registou-se a informação relativa à idade, ao sexo, localidade do utente, resultado do exame cultural, identificação da estirpe bacteriana e o padrão de susceptibilidade aos antimicrobianos.

5. ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DA *ESCHERICHIA COLI*

Para proceder à colheita de urina, o doente deverá lavar os órgãos genitais com água e sabão, evitando o uso de desinfectantes que podem interferir nos resultados. A urina deve ser a primeira da manhã, pois possui uma concentração microbiana maior. A fim de evitar a contaminação, com bactérias presentes na uretra terminal, a urina colhida deverá corresponder ao jacto médio. Além disso, deve ser recolhida para um contentor estéril. O método de colheita ideal seria a punção suprapúbica, em que a urina é colhida directamente da bexiga e onde todas as bactérias nela presentes seriam relevantes, independentemente do seu número. No entanto, este método é invasivo e doloroso e pode trazer riscos para o utente, pelo que só em casos excepcionais é que é utilizado. Nas crianças, existe uma dificuldade acrescida na colheita, pois além da altura em que vão urinar ser imprevisível, a contaminação fecal é frequente.

Logo que a amostra devidamente identificada chega ao laboratório de microbiologia, procede-se à sua sementeira em meio apropriado. Isto porque se ela não for semeada num curto espaço de tempo, haverá algumas bactérias mais sensíveis que poderão morrer, enquanto outras, que se encontram em baixo número poderão desenvolver-se, no meio rico que é a urina, falseando os resultados. Assim o processamento deve ser feito o mais rápido possível, duas horas no máximo após a colheita. Se tal não for possível, deve-se proceder à refrigeração da amostra ^[7].

O processo de sementeira consiste no seguinte procedimento: homogeneização da urina, agitando o contentor, identificação dos meios a inocular, com o nº do paciente, data de sementeira e produto semeado (procedimento em qualquer sementeira). Utilizando uma



ansa estéril e calibrada, retira-se 10 µl da urina e semeia-se em meio próprio, neste caso, o meio cistina lactose deficiente em electrólitos (C.L.E.D.). Os meios de cultura utilizados são escolhidos de modo a permitir o crescimento dos principais agentes etiológicos das infecções urinárias, neste caso o agente de interesse é a *Escherichia coli*.

O meio de C.L.E.D. é o meio utilizado para a identificação, isolamento e quantificação de bactérias do tracto urinário. Por esta razão é o meio de eleição para análises bacteriológicas à urina. Trata-se de um meio de cultura não selectivo, mas electivo pois favorece o crescimento de todos os microrganismos, existentes na urina. Possui uma elevada carga nutricional (extractos de carne, levedura e peptona) e ausência de inibidores. Além disso, é um meio pobre em electrólitos, com o objectivo de evitar que as colónias da bactéria *Proteus*, que se encontram muitas vezes na urina, invadam todo o meio, cobrindo as outras colónias e impossibilitando o seu isolamento. Possui também o indicador azul de bromotimol com o intuito de diferenciar as colónias bacterianas, quanto à fermentação da lactose. Caso estas fermentem a lactose, presente no meio, vão acidificar o meio e provocar uma mudança na cor do indicador, de azul a amarelo ^[19].

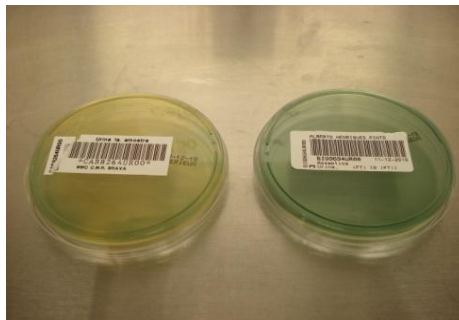


Figura 6 – Meio de cultura Cled com e sem fermentação da lactose respectivamente.

Depois de semeados, os meios de cultura são incubados a 37°C durante 18 a 24 horas, sendo posteriormente observados macroscopicamente. Nesta análise conta-se o número de colónias de tipos diferentes. Se for superior a três, significa que a cultura está contaminada, pelo que deverá ser rejeitada e solicitada uma nova amostra. Deve-se também observar a morfologia e cor das colónias, dado que nos podem dar uma ideia do tipo de microrganismos presentes na cultura.

Uma cultura é considerada positiva quando o número de unidades formadoras de colónias (U.f.c.) for superior a 10⁵ por mL ^[7]. Como ao semear a urina no meio de cultura é usada



uma ansa calibrada de 10 μL , se as U.f.c. forem superiores a 1000, a cultura é positiva (o aspecto da cultura pode ser comparado com um padrão).

Na interpretação da cultura é também importante a informação dada pelo exame cultural acerca do número de leucócitos. Se estes forem normais e o número de colónias for inferior a 10^5 conclui-se que não existe uma infecção urinária, mas caso o número de colónias for superior a 10^5 e existirem menos de três espécies de colónias diferentes na cultura, tal sugere a existência de infecção urinária. Nestes casos, deve ser repetida a cultura da amostra, em meios apropriados, mesmo em anaerobiose se necessário.

Após a cultura ser considerada positiva parte-se para a identificação dos microrganismos, sendo necessário ter uma ideia do tipo possível de microrganismos causadores de infecção urinária (informação dada pelo Gram): coccus, bacilos Gram negativos ou leveduras, de modo a ser possível escolher o teste de identificação e o antibiograma apropriado para cada caso. Geralmente, escolhe-se o tipo colónia predominante, pois esta conterà, com grande probabilidade, a bactéria responsável pela infecção.

Os sistemas VITEK[®]2 da bioMérieux (Figura 7) identificam um microrganismo com uma metodologia baseada nas características dos dados e no conhecimento sobre o microrganismo e as reacções analisadas. Foram recolhidos dados suficientes de estirpes conhecidas para se estimarem as reacções típicas das espécies em questão num conjunto de compostos bioquímicos de diferenciação. Se não for reconhecido um padrão único de identificação, é fornecida uma lista de possíveis microrganismos ou a estirpe é determinada como estando fora da capacidade da base de dados.



Figura 7 – Sistemas VITEK[®]2 da bioMérieux.

Como parte do processo de identificação, o software compara o conjunto de reacções do teste com o conjunto de reacções esperadas para cada microrganismo, ou grupo de microrganismos, que possam ser identificados pelo produto. Um valor quantitativo,



percentagem de probabilidade, é calculado e refere-se a como as reacções observadas se comparam com as reacções típicas de cada microrganismo.

A carta de Identificação de Gram negativos (GN) é usada para a identificação automática dos bacilos Gram negativos fermentadores e não fermentadores mais significativos. A carta GN é da bioMérieux e baseia-se em métodos bioquímicos estabelecidos e em substratos recentemente desenvolvidos, que medem a utilização da fonte de carbono, actividade e resistência. Uma correspondência perfeita entre o padrão de reacção do teste e o padrão de reacção característico de um determinado microrganismo ou grupo de microrganismos, daria uma percentagem de probabilidade de 99 ^[16].

Transferiu-se um número suficiente de colónias morfológicamente idênticas para um tubo de ensaio de plástico (poliestireno) transparente (12 mm x 75 mm) com 3,0 mL de solução salina estéril (NaCL aquoso de 0,45% a 0,50%, pH 4,5 a 7,0). O tempo de espera da suspensão não deve exceder os 30 minutos antes da inoculação da carta. A suspensão de microrganismo homogénea deve ter uma densidade equivalente a um padrão McFarland N°. 0,50 a 0,63, usando o calibrador do DENSICHEK VITEK[®] 2 (Figura 8). Colocou-se o tubo da suspensão e a carta GN na cassette.



Figura 8 – Calibrador DENSICHEK VITEK[®] 2 da bioMérieux.

6. AVALIAÇÃO DO PERFIL DE SENSIBILIDADE A ANTIBIÓTICOS

A carta de teste de sensibilidade aos antibióticos (TSA) é usada nos testes automatizados, quantitativos ou qualitativos, da sensibilidade de colónias isoladas da maior parte dos bacilos aeróbios Gram negativos de relevância clínica. Cada carta TSA contém antibióticos seleccionados, em concentrações variadas, desidratados e com meios de cultura. Cada carta apresenta 64 micropoços. Em todas as cartas existe um poço de controlo, que contém apenas meio de cultura microbiológico.



Os testes de sensibilidade são indicados para qualquer microrganismo que contribua para um processo infeccioso que justifique uma terapia antimicrobiana. As colónias isoladas de cada tipo de microrganismo que possa desempenhar um papel patogénico são seleccionadas da placa de gelose e testadas quanto à sensibilidade. Estes testes são então examinados e a concentração mínima inibitória (CMI) é determinada. A CMI obtida com um teste de diluição pode indicar ao médico assistente a concentração de um agente antibiótico necessária no local de infecção para inibir o microrganismo infeccioso. A CMI é determinada a partir da diluição mais baixa em que ocorre inibição do crescimento. Um critério de interpretação (sensível ou resistente) pode ser atribuído a um resultado da CMI, para ajudar na orientação da terapêutica.

O aparelho monitoriza o crescimento em cada um dos poços da carta durante um período de tempo definido até 18 horas para a bactéria. No final do ciclo de incubação, os valores de CMI são determinados para cada antibiótico contido na carta.

Preparou-se novo tubo com uma suspensão nos mesmos moldes da etapa da identificação da bactéria e colocou-se, tal como a carta GN, na cassete. Para a identificação do perfil de sensibilidade usou-se a carta AST060 (para *Enterobacteriaceae* spp) da bioMérieux. O aparelho irá assim diluir automaticamente a suspensão bacteriana para preparar um inóculo adequado para a carta de sensibilidade.

Estudou-se a susceptibilidade da *E. coli* isolada aos seguintes antimicrobianos: família dos beta-lactâmicos (Ampicilina, Amoxicilina/Ácido Clavulânico, Piperacilina/Tazobactam), família das cefalosporinas (Cefalotina, Cefuroxima, Cefuroxima Acetil, Cefotaxima, Ceftazidima, Cefepima), família das quinolonas (Ciprofloxacina, Levofloxacina, Norfloxacina), família dos aminoglicosídeos (Amicacina, Gentamicina, Tobramicina), as Nitrofurantoínas, os Trimetoprim/Sulfametoxazol, o Meropenem e as Tetraciclínas (Tabela 1).

Tabela 1 – Famílias dos antimicrobianos usados no estudo

| FAMÍLIA DOS ANTIMICROBIANOS | ANTIMICROBIANOS |
|-----------------------------|--------------------------------|
| Beta-Lactâmicos | Ampicilina |
| | Amoxicilina/Ácido Clavulânico |
| | Piperacilina/Tazobactam |
| Cefalosporinas | Cefalotina (1ª geração) |
| | Cefuroxima (2ª geração) |
| | Cefuroxima Acetil (2ª geração) |



| | |
|----------------------------|----------------------------|
| | Cefotaxima (3ª geração) |
| | Ceftazidima (3ª geração) |
| | Cefepima (4ª geração) |
| Quinolonas | Ciprofloxacina |
| | Levofloxacina |
| | Norfloxacina |
| Aminoglicosídeos | Amicacina |
| | Gentamicina |
| | Tobramicina |
| Nitrofurantoínas | Nitrofurantoína |
| Trimetoprim/Sulfametoxazol | Trimetoprim/Sulfametoxazol |
| Meropenem | Meropenem |
| Tetraciclina | Tetraciclina |

Para monitorização da eficácia do aparelho, são utilizadas estirpes de controlo específicas para o efeito. Os microrganismos de Controlo de Qualidade (CQ) e os resultados previstos para os mesmos são enumerados no quadro de controlo de qualidade do VITEK®2 consoante a carta utilizada. A prática comum é a de realizar CQ ao receber as embalagens de teste. As reacções devem estar de acordo com os resultados da Informação de Produtos [16].

7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados estatisticamente através dos programas Microsoft Excel 2007® e SPSS 2007® (*Statistical Package for the Social Sciences*®), versão 17.0.



RESULTADOS



RESULTADOS

Os resultados obtidos referem-se ao estudo retrospectivo de resistência da bactéria *E. coli* a antibióticos isolada de infecções urinárias na população da RAM.

O produto biológico escolhido foi a urina de utentes com suspeita de infecção urinária. Os isolados foram obtidos de amostras de urina com exame bacteriológico positivo para *E. coli*.

8. DADOS EPIDEMIOLÓGICOS

8.1 DISTRIBUIÇÃO DAS AMOSTRAS PROCESSADAS

Durante o período de Outubro 2008 até Junho de 2009 foram recebidas 6522 amostras de urinas assépticas no Laboratório de Análises Clínicas Castro Fernandes.

Após processamento, 390 foram consideradas como culturas positivas para a bactéria *E. coli* e as restantes 6132 como culturas negativas. Da contagem das amostras analisadas resultou a seguinte distribuição percentual (Figura 9). Assim, verificou-se que cerca de 94% das uroculturas efectuadas foram negativas e cerca de 6% foram consideradas positivas.

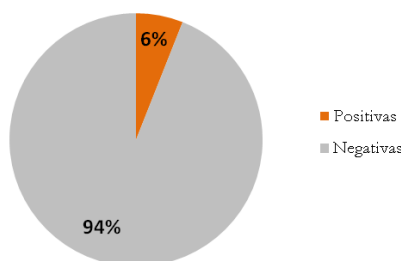


Figura 9 – Uroculturas efectuadas - positivas e negativas.

8.2 DISTRIBUIÇÃO DOS TESTES POSITIVOS POR FAIXA ETÁRIA

Das 390 amostras consideradas como culturas positivas por ordem crescente temos que, 2% correspondem a adolescentes, 6% a crianças, 24% a adultos jovens, 30% a idosos e 38% a adultos (Figura 10).

A maioria dos utentes com uroculturas positivas tem idade superior a 50 anos, registando-se apenas 2 casos na faixa etária dos 90 aos 100 anos. Com 56 casos, parte da população



RESULTADOS

estudada situa-se na faixa etária dos 30 aos 40 anos. Dos 0 aos 10 anos registaram-se 15 casos e dos 10 aos 20 registaram-se 17 casos (Figura 11).

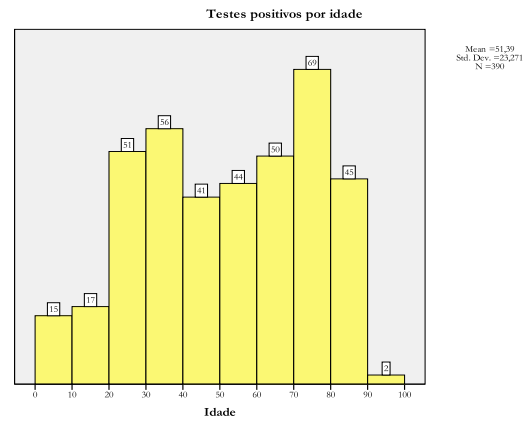
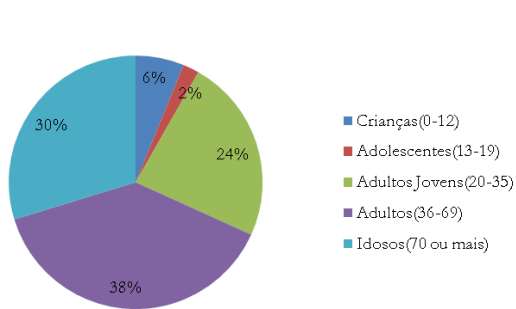


Figura 10 – Testes positivos por faixa etária.

Figura 11 – Testes positivos por idade.

8.3 DISTRIBUIÇÃO DOS TESTES POSITIVOS POR SEXO

Na totalidade das uroculturas positivas, verificou-se um grande desequilíbrio entre as proporções dos dois géneros, com 82% casos em utentes do sexo feminino e 18% do sexo masculino (Figura 12).

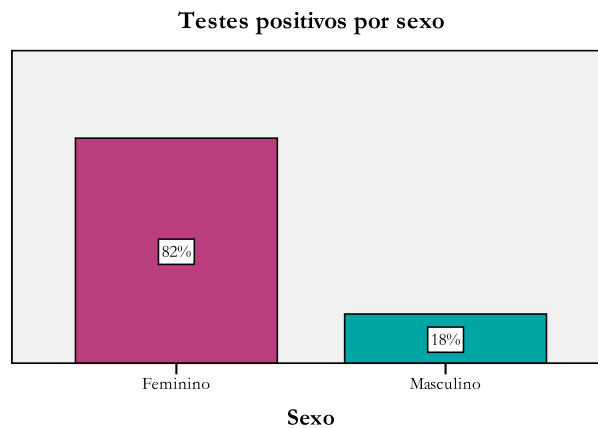


Figura 12 – Testes positivos por sexo.



8.4 DISTRIBUIÇÃO DOS TESTES POSITIVOS POR CONCELHO

A maioria das amostras classificadas como ITU teve origem na Ponta do Sol com 10,4% dos casos, seguida da Ribeira Brava com 7,1% e a Calheta com 6,3%. O Funchal teve menos casos positivos, apresentando uma taxa de 4,8% (Figuras 13 e 14).

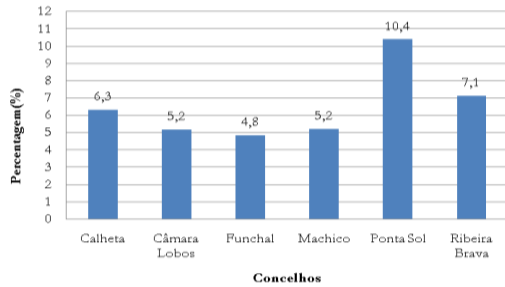


Figura 13 – Testes positivos por Concelho.

Figura 14 – Mapa da RAM / Testes positivos.

8.5 DISTRIBUIÇÃO DOS TESTES POSITIVOS EM CADA MÊS DE ESTUDO

A maioria das amostras classificadas como ITU, apareceram no mês de Março com 15,4%. Houve um equilíbrio de testes positivos nos meses de Outubro e Novembro de 2008, bem como nos meses de Janeiro, Abril e Maio de 2009. O mês com menor incidência de testes positivos foi Dezembro de 2009 (Figura 15).

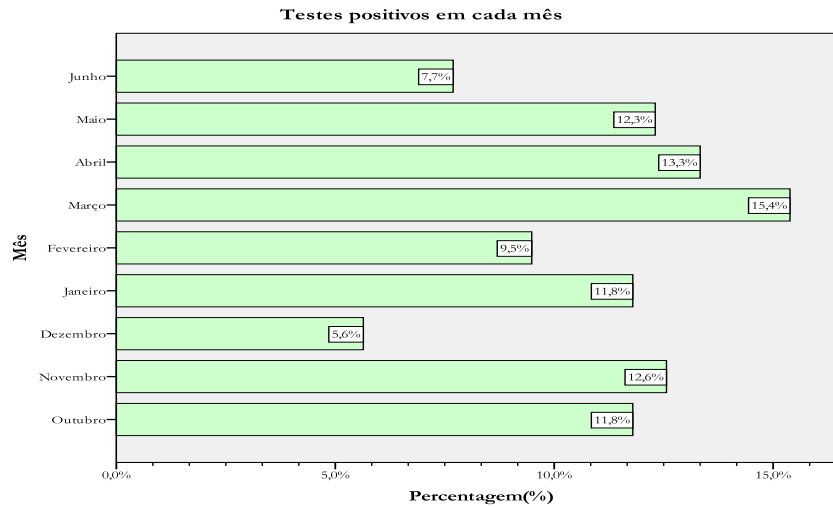


Figura 15 – Testes positivos em cada mês de estudo.

8.6 CONTAGEM DO NÚMERO DE LEUCÓCITOS POR TESTES POSITIVOS E IDADES

Das 390 amostras consideradas como culturas positivas, relativamente ao exame cultural, 78% contabilizaram leucócitos acima de 30 milhares de células/ μL , 12% foram inferiores a 10 milhares de células/ μL e 10% situaram-se entre 10 e 30 milhares de células/ μL (borderline) (Figura 16).

O número de leucócitos é significativo entre os 20 e os 40 anos. Na faixa etária dos 60 aos 90 anos o número de leucócitos acima de 30 milhares de células/ μL é igualmente significativo (Figura 17).



RESULTADOS

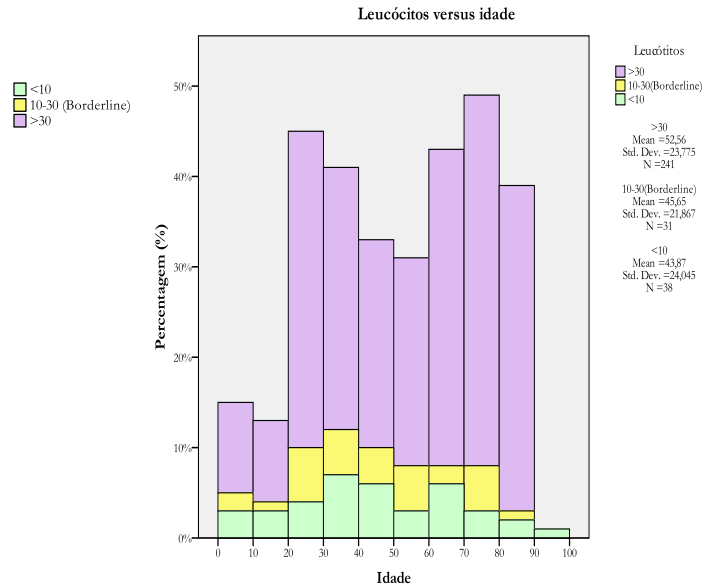
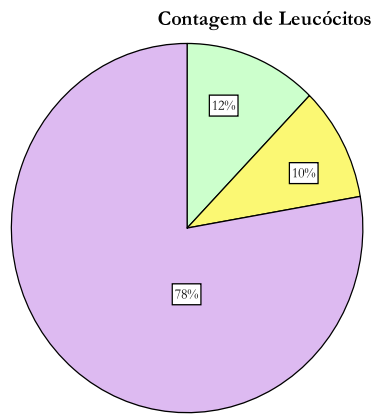


Figura 16 – Contagem de Leucócitos.

Figura 17 – Contagem de leucócitos *versus* idade.

8.7 DISTRIBUIÇÃO DE ANTIBIÓTICOS VENDIDOS NUMA FARMÁCIA DO FUNCHAL

Durante o período de Outubro 2008 até Maio de 2009 foram vendidos 2575 antibióticos numa Farmácia do Concelho do Funchal. Observou-se neste caso específico, que os antibióticos mais vendidos foram os beta-lactâmicos seguido dos trimetoprim/sulfametoxazol e das quinolonas (Figura 18).

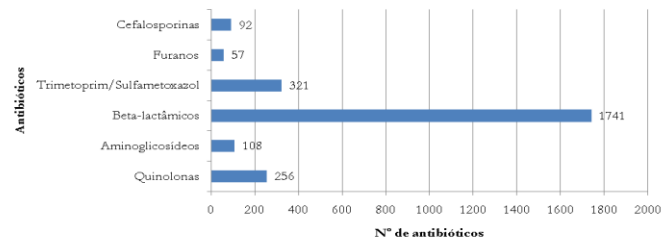


Figura 18 – Antibióticos vendidos numa Farmácia do Concelho do Funchal.



9. IDENTIFICAÇÃO DOS FENÓTIPOS

9.1 DISTRIBUIÇÃO DA FAMÍLIA DOS BETA-LACTÂMICOS

Os inibidores das β -lactamases, neste caso em particular, o ácido clavulânico e o tazobactam antigem estirpes que produzem penicilinase [22]. Para a estirpe selvagem dos beta-lactâmicos identificou-se 53,2% e para a penicilinase adquirida 46,8% (Figura 19).

Através do histograma é possível observar que com o aumento da idade aumenta a percentagem de identificação da estirpe penicilinase adquirida (Figura 20).

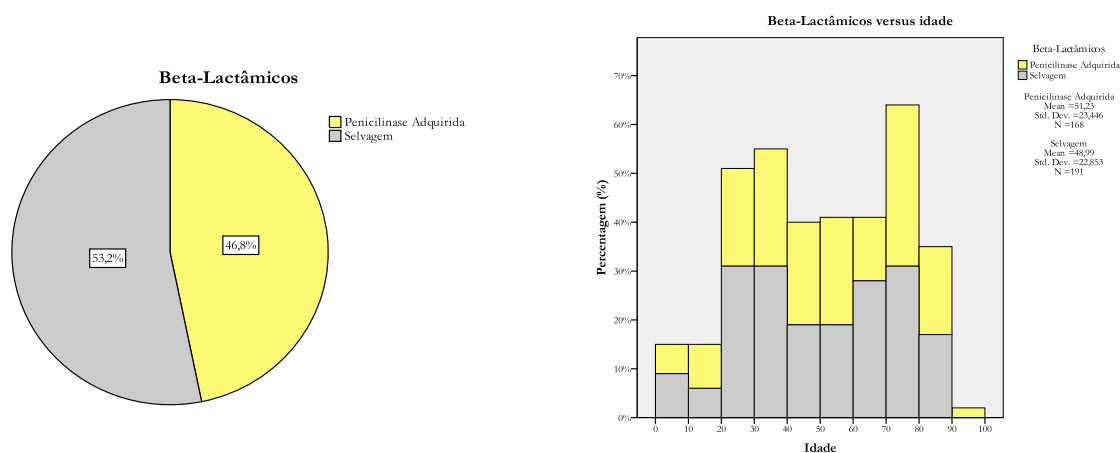


Figura 19 – Distribuição da família dos Beta-Lactâmicos. **Figura 20** – Beta-Lactâmicos *versus* idade.

9.2 DISTRIBUIÇÃO DA FAMÍLIA DOS AMINOGLICOSÍDEOS

Para a família dos aminoglicosídeos identificou-se 93,3% de estirpe selvagem e 6,7% de estirpe resistente. Este antibiótico é injectável e com alguns efeitos secundários, pelo que as percentagens apresentadas são perfeitamente normais dentro do esperado [22] (Figura 21).

Através do histograma também verificamos, embora numa proporção inferior ao histograma anterior, que com o aumento da idade aumenta a percentagem de identificação da estirpe resistente (Figura 22).

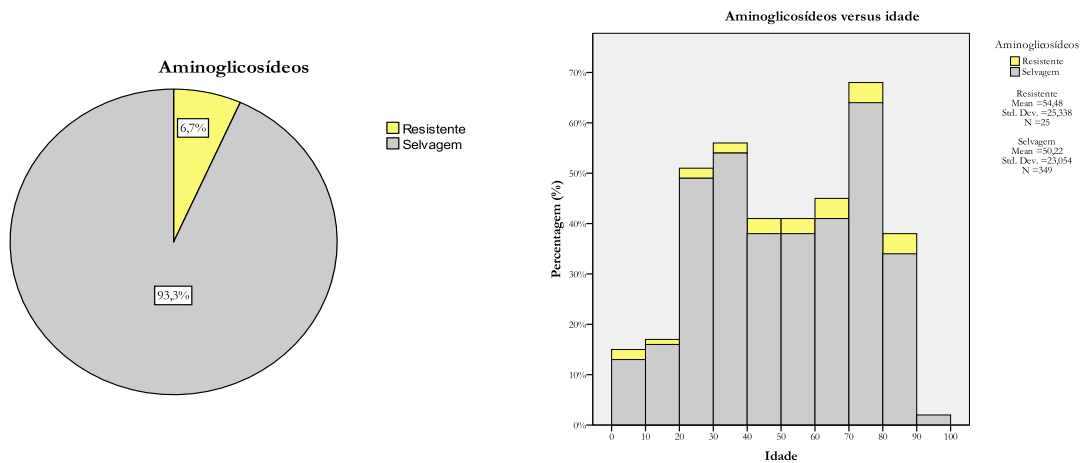


Figura 21 – Distribuição da família dos Aminoglicosídeos. **Figura 22** – Aminoglicosídeos *versus* idade.

9.3 DISTRIBUIÇÃO DA FAMÍLIA DAS QUINOLONAS

As quinolonas são fármacos activos contra a maioria dos uropatógenos. Têm uma excelente biodisponibilidade que permite que sejam usadas por via oral. É um antibiótico de grande comercialização muito prescrito pela comunidade médica [22]. Foram identificados 74,7% de fenótipos de estirpe selvagem, 20,0% da estirpe resistente e 5,3% da estirpe parcialmente resistente (Figura 23).

Mais uma vez foi observado que com a idade a estirpe resistente aumenta. Actualmente, há um aumento importante na resistência a estes antibióticos, com implicações na prática clínica. Estes resultados podem dever-se ao seu elevado consumo desde a sua introdução no mercado (Figura 24).



RESULTADOS

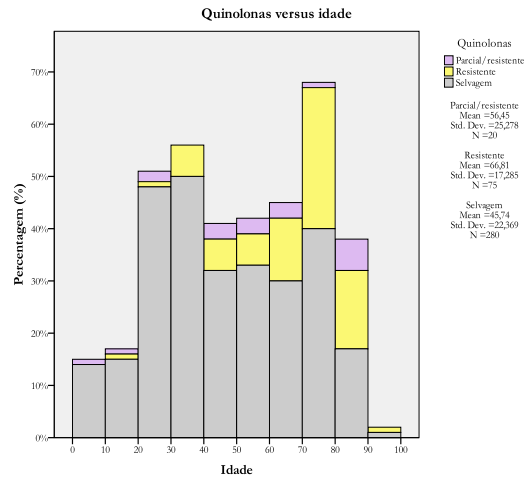
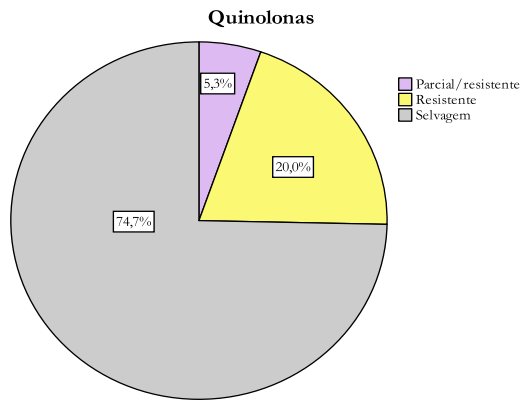


Figura 23– Distribuição da família das Quinolonas.

Figura 24 – Quinolonas *versus* idade.

9.4 DISTRIBUIÇÃO DA FAMÍLIA DOS TRIMETOPRIM/SULFAMIDAS

Para esta família de fenótipos foi observada 76,5% de estirpe selvagem e 23,5% de estirpe resistente. É um fármaco que actua muito bem em vários tipos de infecções, nomeadamente nas ITU, sendo como tal prescrito frequentemente ^[22]. A percentagem de resistências é alarmante e leva a pensar noutras alternativas terapêuticas (Figura 25).

Analisando o histograma verificou-se que com a idade há um aumento do perfil resistente. Sendo este antibiótico sintético e usado tanto na clínica como na veterinária era de esperar que isto fosse um factor à partida sem objecções aos números obtidos ^[22] (Figura 26).

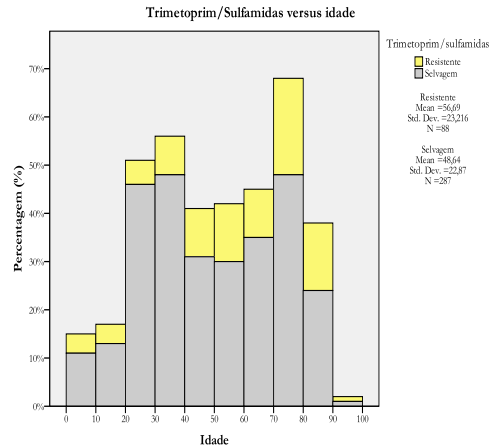
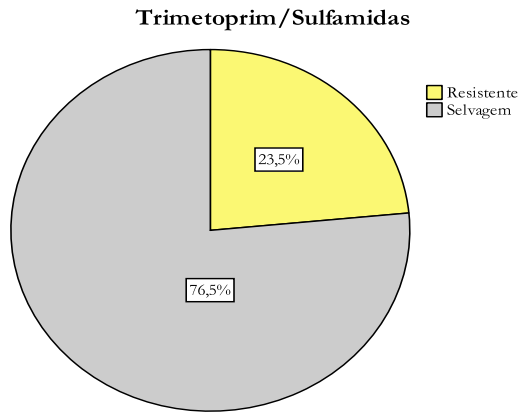


Figura 25 – Distribuição da família Trimetoprim/Sulfamidas. **Figura 26** – Trimetoprim/Sulfamidas *versus* idade.

9.5 DISTRIBUIÇÃO DA FAMÍLIA DOS FURANOS

A família de fenótipos dos furanos apresenta 96,8% para a estirpe selvagem e 3,2% para a estirpe resistente. Este fármaco é dos antibióticos mais antigos utilizado nas ITU, mas caiu em desuso ao longo dos tempos, daí os valores para as resistências ser tão baixo. O seu uso dever ser revitalizado como forma de fugir a estas discrepâncias de prescrição que têm efeitos a longo prazo [22] (Figura 27).

Apesar da sua pouca utilização verificou-se que o aumento exponencial da idade também influencia o aumento das resistências. A acção bacteriostática e os efeitos secundários constituem uma limitação à sua utilização [22] (Figura 28).

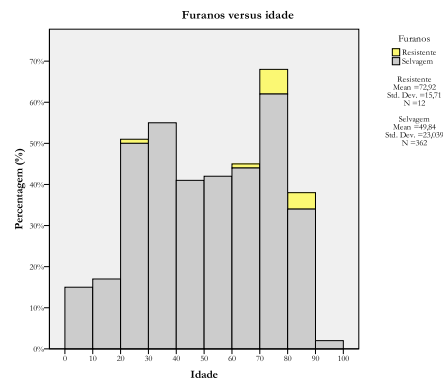
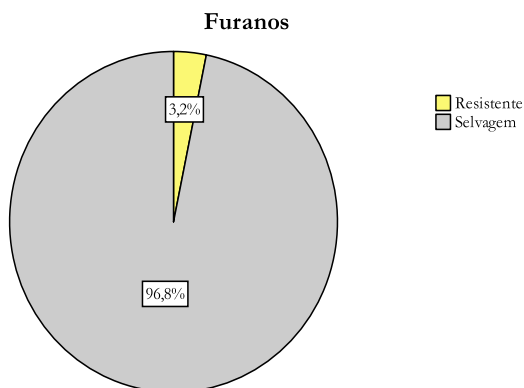


Figura 27 – Distribuição da família dos Furanos.

Figura 28 – Furanos *versus* idade.



9.6 DISTRIBUIÇÃO DA FAMÍLIA DAS TETRACICLINAS

As tetraciclina não são utilizadas em infecções urinárias. Na identificação efectuada foram obtidos 69,9% da estirpe selvagem e 30,1% da estirpe resistente. As tetraciclina são também antibióticos de largo espectro cuja utilidade terapêutica tem vindo a diminuir como consequência do desenvolvimento de resistências ^[22] (Figura 29).

É novamente notório que com a idade, aumenta o número de resistências. O tratamento, a longo prazo, pode provocar danos no esmalte e manchas nos dentes. Não é aconselhável o uso em gestantes e pacientes em fase de crescimento, pois podem levar a deformações ósseas no feto e nos jovens ^[22] (Figura 30).

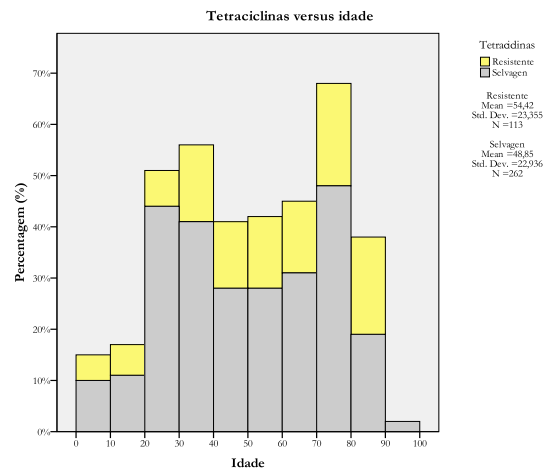
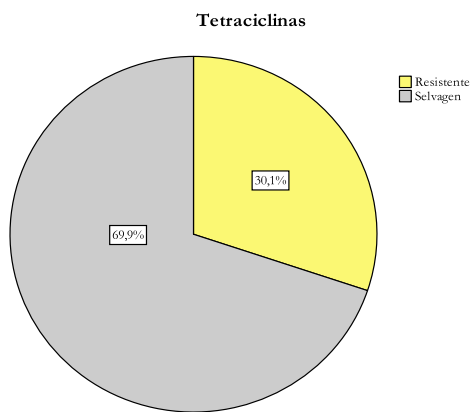


Figura 29 – Distribuição da família das Tetraciclina.

Figura 30 – Tetraciclina versus idade.

10. PERFIL DE RESISTÊNCIA AOS ANTIBIÓTICOS TESTADOS

10.1 PERFIL DE RESISTÊNCIA AOS BETA-LACTÂMICOS

Na Figura 31 estão representadas as resistências e sensibilidades de isolados de *E. coli* aos antibióticos Beta-lactâmicos. Observou-se uma grande resistência à ampicilina e uma grande sensibilidade à piperacilina/tazobactam. O baixo número de acção da amoxicilina em estirpes de *E. coli* pode relacionar-se com a presença de enzimas β -lactamases, que hidrolisam o anel β -lactâmico, conferindo resistência ^[3 e 22]. A administração destes



RESULTADOS

antibióticos só se torna eficaz quando combinada com um inibidor destas enzimas, como por exemplo o ácido clavulânico ou o tazobactam. Em geral, estes antimicrobianos apresentam um perfil de sensibilidade superior relativamente ao resistente [22].

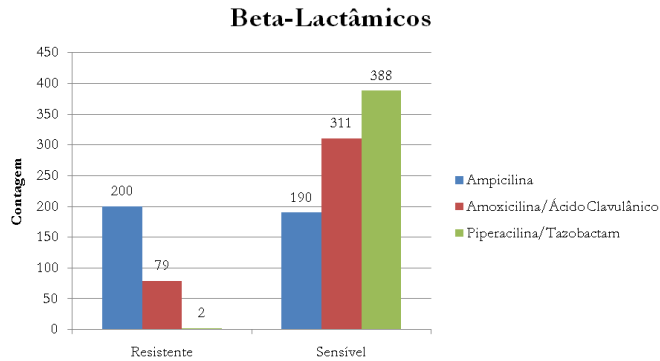


Figura 31 – Perfil de resistência aos Beta-Lactâmicos.

10.2 PERFIL DE RESISTÊNCIA ÀS CEFALOSPORINAS

No grupo das cefalosporinas foram testadas cefalosporinas de 1^a geração (cefalotina), 2^a geração (cefuroxina e cefuroxima axetil), 3^a geração (cefotaxima, ceftazidima) e de 4^a geração (cefepima). O gráfico seguinte representa as resistências e sensibilidades de isolados de *E. coli* às cefalosporinas [22]. Observou-se uma resistência superior à cefalotina. Quanto maior a geração, menor a resistência aos antimicrobianos. Estes antimicrobianos também apresentam uma sensibilidade relativamente superior ao perfil resistente (Figura 32).

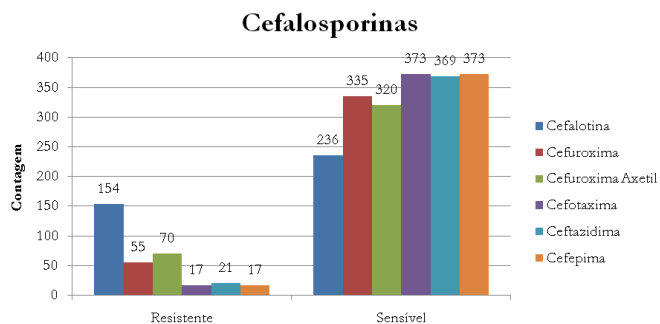


Figura 32 – Perfil de resistência às Cefalosporinas.



10.3 PERFIL DE RESISTÊNCIA AOS AMINOGLICOSÍDEOS

Os aminoglicosídeos são antibióticos injectáveis com efeitos secundários ototóxicos e nefrotóxicos ^[22]. Este antibiótico testado correspondeu ao grupo com contagens de resistências mais baixas. A tobramicina foi o antibiótico que apresentou contagens de resistência mais elevadas, logo seguido da gentamicina (Figura 33).

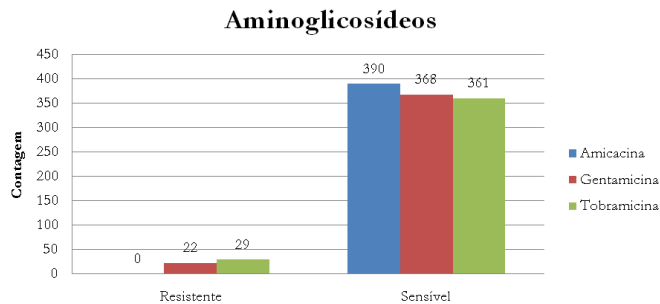


Figura 33 – Perfil de resistência aos Aminoglicosídeos.

10.4 PERFIL DE RESISTÊNCIA ÀS QUINOLONAS

As taxas de resistência das quinolonas de 1ª geração (ácido pipemídico e ácido nalidíxico), actualmente, são demasiado elevadas (>30%) ^[3]. Tendo em conta o perfil de resistência às quinolonas de 3ª geração (fluoroquinolonas), notou-se que são um dos grupos de antibióticos para qual as estirpes de *E. coli* apresentam mais resistências. As fluoroquinolonas testadas foram a ciprofloxacina, a levofloxacina e a norfloxacina, e todos apresentam contagens muito semelhantes. As quinolonas têm um amplo espectro de acção e devido à sua extensa utilização no mercado são antibióticos que devem ser monitorizados ^[22] (Figura 34).

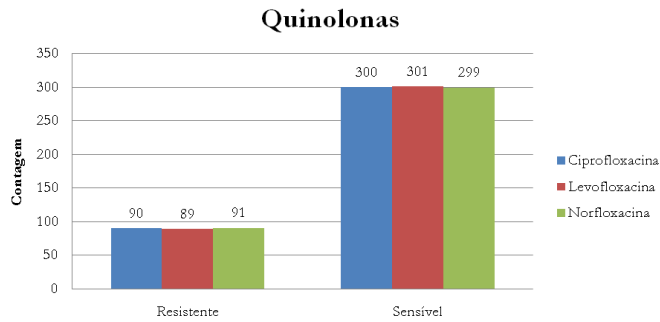


Figura 34 – Perfil de resistência às Quinolonas.

10.5 PERFIL DE RESISTÊNCIA AOS TRIMETOPRIM/SULFAMETOXAZOL

O trimetoprim/sulfametoxazol é prescrito frequentemente no tratamento das ITU. Tem um amplo espectro de acção e é comparado com as cefalosporinas entre a 2ª e a 3ª geração. O sulfametoxazol tem um efeito sinérgico, sendo que a junção dos dois tem um efeito “bomba” [22]. Obviamente que apesar do fraco perfil resistente é de ter em conta os números apresentados (Figura 35).

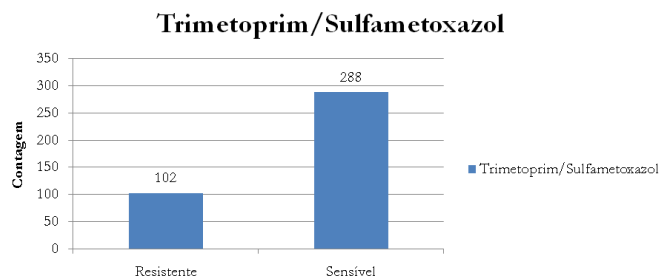


Figura 35 – Perfil de resistência Trimetoprim/Sulfametoxazol.



10.6 PERFIL DE RESISTÊNCIA ÀS NITROFURANTOÍNAS

A nitrofurantoína é amplamente utilizada na profilaxia e na supressão de longa duração. Pode antagonizar o efeito antimicrobiano da norfloxacina nas vias urinárias ^[22]. O perfil de resistência apresentado é baixo (Figura 36).

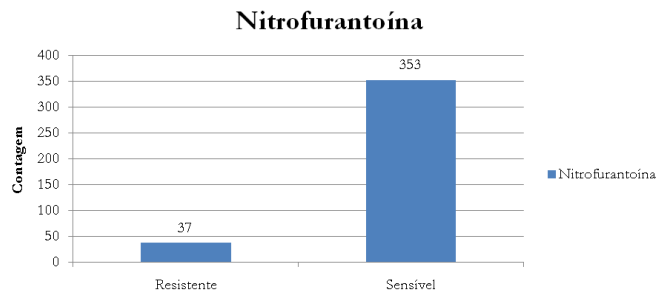


Figura 36 – Perfil de resistência da Nitrofurantoína.

10.7 PERFIL DE RESISTÊNCIA AO MEROPENEM

O meropenem pertence à família dos carbapenemos. É um antibiótico de última escolha dado que é poucas vezes prescrito no tratamento das ITU. As estirpes de *E. coli*, apresentam por isso, contagens mais baixas e até mesmo nulas de resistência. É do protocolo que cada amostra com meropenem resistente tenha de ser enviada para estudo genético a um laboratório de referência, como é o caso do Instituto Ricardo Jorge ^[22] (Figura 37).

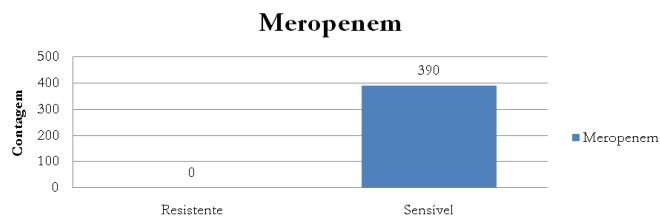


Figura 37 – Perfil de resistência ao Meropenem.



10.8 PERFIL DE RESISTÊNCIA ÀS TETRACICLINAS

As tetraciclina não têm interesse em infecções urinárias. Os valores são meramente estatísticos dado que foram compilados pelo aparelho durante o estudo em causa. Tratam-se de antibióticos que estão a cair em desuso, porque como se acumulam intracelularmente, por exemplo, na pele e tecidos moles, causam infecções intra-abdominais. Apareceu em 2005 a Tigeciclina, chamada empiricamente uma tetraciclina de 2ª geração. No âmbito geral o perfil resistente é mais baixo que o perfil sensível ^[22] (Figura 38).

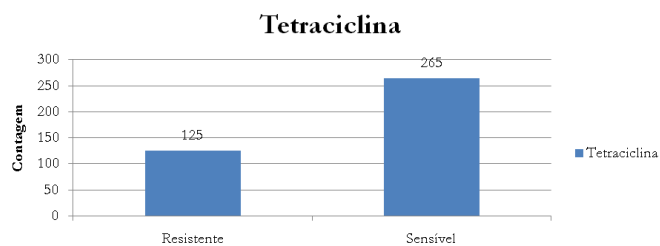


Figura 38 – Perfil de resistência à Tetraciclina



DISCUSSÃO



DISCUSSÃO

Entre as espécies de bactérias responsáveis pela ITU, a *E. coli* é a bactéria mais isolada no laboratório. Um aumento de resistências desta bactéria a numerosos antibióticos tem sido observado nos últimos anos e descrito por diversos autores [15, 23, 24 e 25].

Neste estudo, em 6522 amostras de urina, 6% foram positivas para *E. coli*, sendo que 94% foi dado o resultado de “cultura negativa”. Em comparação com outros estudos [14 e 26] os dados apresentados apontam que, em laboratório, o número de uroculturas negativas é superior ao número de uroculturas positivas.

Embora qualquer indivíduo seja susceptível a ter uma ITU, existem grupos da população que apresentam maior risco, incluindo crianças, mulheres grávidas e as pessoas de idade avançada [27]. Das 390 amostras consideradas como uroculturas positivas por ordem crescente temos que, 2% correspondem a adolescentes, 6% a crianças, 24% a adultos jovens, 30% a idosos e 38% a adultos. Estes resultados obtidos vão ao encontro do estudo da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa [28]. Os dois extremos de idade entre 20 e 40 anos e acima dos 60 anos podem estar associados a uma maior actividade sexual no primeiro intervalo e a uma saúde mais débil no segundo intervalo [10].

A ITU é uma patologia que afecta principalmente as mulheres [29], o que não variou no presente estudo, onde 82% dos casos foram positivos para o sexo feminino e cerca de 18% positivos para o sexo masculino. As mulheres são mais susceptíveis a este tipo de infecção por diversos factores, entre eles, podemos incluir a presença de alterações anatómicas/funcionais da bexiga relacionadas ou não à multiparidade, menopausa e infecções recorrentes que acabam aumentando a incidência da ITU [10 e 30]. Outros dois factores importantes estariam associadas ao comprimento da uretra e sua localização próxima da abertura anal, facilitando dessa forma, a contaminação por enterobactérias [10, 30, 31 e 32]. No sexo masculino as infecções urinárias são menos comuns, isso deve-se principalmente ao tamanho da uretra, que é bem maior que a do sexo feminino [10, 30, 32 e 33].

A maioria das amostras classificadas como ITU teve origem na Ponta do Sol com 10,4% dos casos, seguida da Ribeira Brava com 7,1% e a Calheta com 6,3%. O Funchal teve menos casos positivos, apresentando uma taxa de 4,8%. Estes valores poderão ser explicados com base num estudo em que se faz referência que muitas das infecções têm um incremento em comunidades onde os padrões de saneamento básico são baixos ou inexistentes. Nestes locais, normalmente, além da carência de urbanização, encontram-se também problemas socioeconómicos, e, com isso, observa-se uma grande falta de informação e de acesso a conhecimentos básicos de educação em saúde que, muitas vezes, ajudariam a melhorar a qualidade de vida [1].

As ITU no mês de Março rondaram os 15,4%, sendo que Abril e Maio tiveram 13,3% e 12,3%, respectivamente. Em relação aos 7,7% do mês de Junho, o estudo em causa só abordou metade deste mês, caso contrário a tendência rondaria o mesmo valor dos meses anteriormente referidos. Sabe-se que a *E. coli* tem uma temperatura óptima de crescimento de 37°C [2]. É provável que estes



DISCUSSÃO

valores sejam mais altos em relação aos outros meses do estudo devido à temperatura ambiente, isto porque são por norma meses mais quentes em relação aos anteriores.

Do número total de uroculturas positivas para a *E. coli*, 78% contabilizaram leucócitos acima de 30 milhares de células por μL , 12 % foram inferiores a 10 milhares de células por μL e 10 % situaram-se entre 10 e 30 milhares de células por μL (borderline). A leucocitúria é um importante sintoma de doença inflamatória nos rins ou das vias urinárias inferiores. Um elevado número de leucócitos da urina pode indicar uma infecção bacteriana ou não bacteriana (fungos, vírus e parasitas) mas também pode ser devido a uma contaminação de fluido vaginal, no caso de se tratar de uma paciente. Esta situação de contaminação poderá ser confirmada se no sedimento da urina se observarem um grande número de células epiteliais escamosas e bactérias [2]. O número de leucócitos foi significativo entre os 20 e os 40 anos e na faixa etária dos 60 aos 90 anos o que vai de encontro às faixas etárias que neste estudo apresentaram maior percentagem de ITU.

Durante o período de Outubro 2008 até Maio de 2009 foram vendidos 2575 antibióticos numa Farmácia do Concelho do Funchal. Observou-se neste caso específico, que os antibióticos mais vendidos foram os beta-lactâmicos, seguido dos trimetoprim/sulfametoxazol e das quinolonas. Estes dados vão ao encontro do que se tem observado a nível mundial e que leva a um aumento da resistência aos antimicrobianos beta-lactâmicos e às quinolonas. A resistência aos trimetoprim/sulfametoxazol também tem aumentado em todo o mundo [34].

A *E. coli* é um microrganismo cujo fenótipo selvagem não tem resistências intrínsecas. Todas as resistências são adquiridas. Actualmente, a realização dos antibiogramas para *E. coli* tornou-se fundamental tendo em vista os factores ecológicos, genéticos, ambientais e pelo facto de que mais isolados são resistentes à maioria dos antibióticos [18 e 20].

Neste trabalho, foram identificados os diferentes fenótipos, selvagem e resistente, para a bactéria *E. coli*.

Os inibidores das β -lactamases, neste caso em particular, o ácido clavulânico e o tazobactam, atingem estirpes que produzem penicilinase [3 e 22]. Para a estirpe selvagem dos beta-lactâmicos identificou-se 53,2% e para a penicilinase adquirida 46,8%. Para a família dos aminoglicosídeos identificou-se 93,3% de estirpe selvagem e 6,7% de estirpe resistente. Este antibiótico é injectável e com alguns efeitos secundários pelo que as percentagens apresentadas estão de acordo com a literatura [22]. As quinolonas são fármacos activos contra a maioria dos uropatógenos e têm uma excelente biodisponibilidade permitindo que sejam usadas por via oral, daí serem antibióticos muito prescritos pela comunidade médica [22]. Foram identificados 74,7% de fenótipos de estirpe selvagem 20,0% da estirpe resistente e 5,3% da estirpe parcialmente resistente. Para família de fenótipos do trimetoprim/sulfametoxazol foi observada 76,5% de estirpe selvagem e 23,5% de estirpe resistente. É um fármaco que actua muito bem em vários tipos de infecções nomeadamente nas ITU e por isso é frequentemente prescrito. A percentagem de resistências é alarmante e leva a pensar noutras alternativas de terapêutica [22]. A família de fenótipos dos furanos apresenta 96,8% para a estirpe



DISCUSSÃO

selvagem e 3,2% para a estirpe resistente. Este fármaco é um dos antibióticos mais antigos utilizado nas ITU, mas caiu em desuso ao longo dos tempos, daí os valores para as resistências serem tão baixos. O seu uso deverá ser revitalizado como forma de fugir a estas discrepâncias de prescrição que têm efeitos a longo prazo. As tetraciclinas não são utilizadas em infecções urinárias [22]. Na identificação efectuada foram obtidos 69,9% da estirpe selvagem e 30,1% da estirpe resistente. As tetraciclinas são também antibióticos de largo espectro cuja utilidade terapêutica tem vindo a diminuir como consequência do desenvolvimento de resistências [22]. É notório neste estudo, que todos os fenótipos identificados aumentam o perfil resistente com a idade.

O perfil de susceptibilidade da bactéria *E. coli*, foi testado em relação aos seguintes antimicrobianos: família dos beta-lactâmicos (Ampicilina, Amoxicilina/Ácido Clavulânico, Piperacilina/Tazobactam), família das cefalosporinas (Cefalotina, Cefuroxima, Cefuroxima Acetil, Cefotaxima, Ceftazidima, Cefepima), família das quinolonas (Ciprofloxacina, Levofloxacina, Norfloxacina), família dos aminoglicosídeos (Amicacina, Gentamicina, Tobramicina), as Nitrofurantoínas, os Trimetoprim/Sulfametoxazol, o Meropenem e as Tetraciclinas.

Em relação às resistências e sensibilidades de isolados de *E. coli* aos antimicrobianos beta-lactâmicos, observou-se uma grande resistência à ampicilina e uma grande sensibilidade à piperacilina/tazobactam. O baixo número de acção da amoxicilina em estirpes de *E. coli* pode relacionar-se com a presença de enzimas β -lactamases, que hidrolisam o anel β -lactâmico, conferindo resistência. A administração destes antibióticos só se torna eficaz quando combinada com um inibidor destas enzimas, como por exemplo o ácido clavulânico ou o tazobactam. Em geral, estes antimicrobianos apresentam um perfil de sensibilidade superior relativamente ao resistente [22]. Os resultados obtidos assemelham-se ao estudo da Universidade de Aveiro, onde verificamos que as taxas de resistência da *E. coli* à ampicilina e amoxicilina são superiores a 40% e a sua associação com inibidores de β -lactamases reduz e muito as suas resistências (rondam os 10%), pelo que se considera uma opção válida para o tratamento empírico das ITU [20]. A frequência de resistência à ampicilina (74,2%) é maior do que a de outros antibióticos beta-lactâmicos, sendo que o uso de ampicilina como um único agente para o tratamento empírico de uma suspeita de infecção urinária não seria eficiente [25 e 35].

No grupo das cefalosporinas foram testadas cefalosporinas de 1ª geração (cefalotina), 2ª geração (cefuroxina e cefuroxima axetil), 3ª geração (cefotaxima, ceftazidima) e de 4ª geração (cefepima). Observou-se uma resistência superior à cefalotina. Quanto maior a geração menor a resistência aos antimicrobianos. Estes antimicrobianos também apresentam uma sensibilidade relativamente superior ao perfil resistente [22]. As cefalosporinas de 1ª geração apresentam taxas de resistências elevadas pelo que o seu uso não deve ser considerado no tratamento empírico. A *E. coli* mantém taxas de resistência baixas contra estes antibióticos, pelo que podem ser uma alternativa válida para o tratamento empírico [25]. Tendo em conta as três gerações de cefalosporinas o facto de existir uma maior percentagem de resistências nas cefalosporinas de 1ª geração pode estar relacionado com o



DISCUSSÃO

facto deste grupo de cefalosporinas ser menos resistente à hidrólise pelas β -lactamases. As cefalosporinas de 3ª geração apresentam o espectro de acção mais alargado em relação às bactérias Gram-negativas porque são mais resistentes à hidrólise pelas β -lactamases. As cefalosporinas de 4ª geração serão as menos prescritas em casos de ITU e ainda não existem percentagens de resistência significativas [14].

Os aminoglicosídeos são antibióticos injectáveis com efeitos secundários ototóxicos e nefrotóxicos [22]. Este antibiótico testado foi o grupo com contagens de resistências mais baixas. A tobramicina foi o antibiótico que apresentou contagens de resistência mais elevadas logo seguido da gentamicina. Este grupo de antibióticos foi o que apresentou percentagens de resistência mais baixas em todo o estudo pelo que pode se utilizado em tratamentos empíricos de ITU dado que nestas condições deve-se administrar ao paciente antibióticos em que a percentagem de sensibilidade é, no mínimo 80 a 90% [14]. Os aminoglicosídeos são considerados seguros para o tratamento das ITU em crianças, porque não têm um impacto negativo sobre o flora intestinal e a taxa de resistência tem permanecido muito baixa nas últimas décadas, sendo cerca de 1 a 2% [36].

Tendo em conta o perfil de resistência às quinolonas de 3ª geração (fluoroquinolonas), notou-se que são o segundo grupo de antibióticos para qual as estirpes de *E. coli* apresentam mais resistências. Os antibióticos testados foram a ciprofloxacina, a levofloxacina e a norfloxacina e todos apresentam números muito semelhantes. As quinolonas têm um amplo espectro de acção e devido à sua extensa utilização no mercado são antibióticos que devem ser monitorizados [22]. As taxas de resistência às quinolonas de 1ª geração (ácido pipemídico e ácido nalidíxico), actualmente, são demasiado elevadas (>30%) para estes poderem ser utilizados no tratamento empírico das ITU. Demonstrou-se que o aumento da resistência às fluoroquinolonas está relacionado com o aumento da utilização destas, razão pela qual vários autores desaconselham a sua utilização, em primeira linha [20]. Devido à gestão da resistência aos antimicrobianos, nos Estados Unidos, somente a levofloxacina e a ciprofloxacina são comumente usados [37]. As fluoroquinolonas começaram a ser prescritas mais frequentemente o que levou a um aumento das infecções urinárias causadas por *E. coli* resistente às fluoroquinolonas [34].

O trimetropim/sulfametoaxol é prescrito frequentemente no tratamento das ITU. Tem um amplo espectro de acção e é comparado com as cefalosporinas entre a 2ª e a 3ª geração. O sulfametoxazol tem um efeito sinérgico, sendo que a junção dos dois tem um efeito “bomba” [22]. Obviamente que apesar do fraco perfil resistente é de ter em conta os números apresentados. É o antibiótico mais prescrito em tratamentos antimicrobianos empíricos, mesmo quando a sua prevalência de resistência é 10 a 20% nos Estados Unidos. Comparando com as percentagens de resistências em Portugal pode-se concluir que o número de resistências é muito semelhante [14]. Estão, no entanto, já descritas, em Portugal, taxas de resistência a este antimicrobiano acima dos 20%, o que poderá inviabilizar a sua utilização [34, 38 e 39]. Esta taxa de resistências pode ser devida à grande prescrição clínica em caso de infecções urinárias e também ao grande uso na veterinária [14]. No ano 2000, a



DISCUSSÃO

Organização Mundial da Saúde (OMS) abordou a questão dos antimicrobianos em relação ao consumo de antibióticos por animais e na agricultura de modo a que houvesse contenção no excesso de antimicrobianos nos alimentos para animais [40].

A nitrofurantoína é amplamente utilizada na profilaxia e na supressão de longa duração, podendo antagonizar o efeito antimicrobiano da norfloxacin nas vias urinárias [22]. O perfil de resistência apresentado é baixo, isto talvez porque é um antibiótico esquecido que tem de ser reaccionado [22]. A nitrofurantoína não é tão amplamente utilizado como trimetoprim/sulfametoxazol. No entanto, esta classe de antimicrobianos é excretada na urina e falha em atingir concentrações terapêuticas na corrente sanguínea, sendo que o perfil farmacocinético não é recomendado para o tratamento de crianças [36]. É apropriado ao tratamento e profilaxia das cistites, uma vez que é de excreção renal. A acção bacteriostática constitui uma limitação à sua utilização [20].

O meropenem pertence à família dos carbapenemos. É um antibiótico de última escolha dado que é poucas vezes prescrito no tratamento das ITU [22]. As estirpes de *E. coli*, apresentam por isso, percentagens mais baixas e até mesmo nulas de resistência, o que se verificou neste trabalho com contagens nulas e que foi também verificado num trabalho desenvolvido na Universidade de Aveiro [14]. Aliás é do protocolo que cada amostra com meropenem resistente, tem de ser enviada para estudo genético em laboratório de referência, cujo em Portugal é o Instituto Ricardo Jorge [22].

As tetraciclina não têm interesse em infecções urinárias. Os valores são meramente estatísticos dado que foram compilados pelo aparelho durante o estudo em causa. Aliás estes antibióticos estão a cair em desuso, porque como se acumulam intracelularmente, por exemplo, na pele e tecidos moles, causam infecções intra-abdominais. Apareceu em 2005 a Tigeciclina, chamada empiricamente uma tetraciclina de 2ª geração [22]. No âmbito geral o perfil resistente é mais baixo que o perfil sensível.



CONCLUSÕES E
PERSPECTIVAS
FUTURAS



CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

Do presente estudo foi possível retirar as seguintes conclusões:

1. *E. coli* é o principal microrganismo responsável pela maioria das infecções urinárias. Estas infecções apresentam uma elevada taxa de incidência a nível da comunidade e são mais frequentes em doentes do sexo feminino com idades compreendidas entre 20 e 90 anos;
2. Os isolados de *E. coli* apresentaram mais resistências à ampicilina, cefalotina, ciprofloxacina, levofloxacina, norfloxacina e trimetoprim/sulfametoxazol. Estes resultados sugerem o aumento das resistências a determinados antibióticos na comunidade. O resultado é preocupante porque o tratamento começa a ser cada vez mais difícil de implementar;
3. O antimicrobiano nitrofurantoína devido às baixas resistências deve ser usado como terapia empírica em ITU, excepto em pacientes com insuficiência renal;
4. Antes da instituição da terapêutica o clínico deverá ser conhecedor da etiologia e da frequência de resistência aos principais antimicrobianos recomendados para o tratamento das ITU na região;
5. Nas infecções do tracto urinário associadas aos cuidados de saúde e/ou complicadas o tratamento deve ser ponderado tendo em conta a história clínica do doente;
6. Por causa da resistência crescente entre as taxas de *E. coli*, muitos dos antibióticos comumente prescritos para ITU observados em todo o mundo, têm necessidade urgente de novas moléculas activas;
7. Os estudos de prevalência da resistência podem ser uma ferramenta útil para orientar a terapêutica antimicrobiana, ajudando a reduzir a resistência devido à pressão selectiva em infecções comunitárias, especialmente em ITU.

Tendo em conta os resultados obtidos, sugere-se, para trabalho futuro:

1. Monitorização e registo de dados relativamente às ITU na RAM, promovendo o adequado e necessário fornecimento de informação clínica ao laboratório;
2. Prosseguimento da monitorização de todos os agentes etiológicos responsáveis pelas ITU nesta Região, bem como da sua susceptibilidade aos antimicrobianos utilizados;
3. Verificação sistemática da adequação dos antimicrobianos prescritos relativamente aos antimicrobianos recomendados tendo em conta as taxas regionais de resistência;
4. Observação e detecção de taxas de resistência que inviabilizem a utilização de determinado antimicrobiano;
5. Detecção, monitorização e investigação de estirpes multirresistentes, evitando a criação de um potencial reservatório de estirpes multirresistentes no contexto de infecções da comunidade;
6. Comparação dos mesmos resultados ao longo do tempo, permitindo a análise das alterações que poderão ocorrer tanto em ambulatório como a nível hospitalar;



CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

7. Congressos, simpósios, cursos e material informativo para educação continuada do uso indiscriminado dos antimicrobianos.



BIBLIOGRAFIA



BIBLIOGRAFIA

- [1] Soares, L.A.; Nishi, C.Y.M. e; Wagner, H.L. Isolation of bacteria causing urinary tract infection and their antibiotic resistance profile. RBMFC, Rio de Janeiro, v.2, n° 6, jul/set 2006, p. 084.
- [2] Xavier, R.M.; Albuquerque, G.C. e; Barros, E. Laboratório na Prática Clínica – Consulta Rápida. ARTMED, 2005, p. 21.
- [3] Sousa, J.C. Manual de Antibióticos Antibacterianos. Fundação Fernando Pessoa – 2005 Porto, p. 108.
- [4] Lopes, H.V. e; Tavares, W. Infecções do Trato Urinário: Diagnóstico. Projecto Diretrizes - Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina, Junho 2004, p.3.
- [5][http://www.insa.pt/sites/INSA/Portugues/AreasCientificas/DoencasInfecciosas/Area sTrabalho/ResistencAnti/Paginas/inicial.aspx](http://www.insa.pt/sites/INSA/Portugues/AreasCientificas/DoencasInfecciosas/Area%20Trabalho/ResistencAnti/Paginas/inicial.aspx).
- [6]http://sras.govmadeira.pt/index.php?option=com_content&view=article&id=1062:madeirenses-tomam-antibioticos-a-mais-&catid=21:noticias&Itemid=45.
- [7] Ravel, R. Laboratório Clínico – Aplicações Clínicas dos Dados Laboratoriais, Sexta Edição, p.185-187.
- [8] Xavier, R.M.; Albuquerque, G.C. e; Barros E. Laboratório na Prática Clínica – Consulta Rápida. ARTMED, 2005, p. 423-425.
- [9] Ronald, A. The etiology of urinary tract infection: traditional and emerging pathogens. Vol.49 (2) (2003), p. 71-82.
- [10] Mora, J.F.; Menezes, I.; Requia, M.K. e; Sardiglia, C.U. Perfil dos Pacientes com Infecções do trato Urinário diagnosticados no Município de Flor do Sertão, RBAC, vol.40 (4): 321-323, 2008.
- [11] <http://www.manualmerck.net/?id=153>.
- [12] Lee, JBL e; Neild, GH. Urinary tract infection. Elsevier 2007. Medicine 35:8, p.423.
- [13] Ferreira, C. Aula prática nº4, ano lectivo 2006/2007 – Faculdade de Medicina de Lisboa.
- [14] Diaz, R.C. Universidade de Aveiro – Departamento de Biologia 2009. Prevalência e resistência de *Escherichia coli* em ambulatório.
- [15] Das, R.N.; Chandrashekhar, T.S.; Joshi, H.S.; Gurung, M.; Shrestha, N. e; Shivananda, PG. Frequency and susceptibility profile of pathogens causing urinary tract infections at a tertiary care hospital in western Nepal. Singapore Med J 2006, 47 (4): 281.
- [16] BIOMÉRIEUX - Manual do Utilizador do Aparelho Vitek 2, 2007.
- [17] Sousa, J.C. e; Ferreira, W.F.C. Microbiologia Volume II. Lidel, 2000, p.99-103.



BIBLIOGRAFIA

- [18] Tavares, J.C. Microbiologia e Farmacologia Simplificada, 2002 by Livraria e Editora Revinter Ltda, Rio de Janeiro.
- [19] BIOMÉRIEUX - Manual dos Meios de Cultura, 2006.
- [20] Correia, C.E. Universidade de Aveiro – Departamento de Biologia 2009. Infecções urinárias e susceptibilidade de uropatógenos aos antimicrobianos.
- [21] <http://www.who.int/whr/2000/en/>.
- [22] Prontuário Terapêutico 1. Janeiro 2000. Infarmed – Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento.
- [23] Perrin, M.; Donnio, P.Y.; Heurtin-Lecorre, C.; Travert, M. F. e; Avril, J.L. Comparative antimicrobial resistance and genomic diversity of *Escherichia coli* isolated from urinary tract infections in the community and in hospitals. *Journal of Hospital Infection* (1999) 41: 273 – 279.
- [24] Randrianirina, F.; Soares, J.L.; Carod, J.F.; Ratsima, E.; Thonnier, V.; Combe, P.; Grosjean, P. e; Talarmin, A. Antimicrobial resistance among uropathogens that cause community-acquired urinary tract infections in Antananarivo, Madagascar. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (2007) 59, 309-312.
- [25] Yüksel, S.; Öztürk, B.; Kavaz, A.; Özçakar, Z. B.; Acar, B.; Güriz, H.; Aysev, D.; Ekim, M. e; Yalçinkaya, F. Antibiotic resistance of urinary tract pathogens and evaluation of empirical treatment in Turkish children with urinary tract infections. *International Journal of Antimicrobial Agents* 28 (2006) 413-416.
- [26] Londero, M. Perfil de suscetibilidade antimicrobiana em cepas de *Escherichia coli* isoladas de infecções urinárias em um laboratório privado de Getúlio Vargas. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das missões. URI – Campus de Erechim 2008. Departamento de Ciências da Saúde – Curso de Farmácia Bioquímica Clínica.
- [27] Forman, B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. *Am. J. Med.*, July 8, 2002, 5s-13s vol. 113 (1A).
- [28] Teixeira, S. Infecções do tracto urinário no litoral Alentejano – Etiologia e susceptibilidade aos antimicrobianos. Universidade de Lisboa - Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa 2010.
- [29] Farajnia, S.; Alikhani, M. Y.; Ghotaslou, R.; Naghili, B. e; Nakhband, A. Causative agents and antimicrobial susceptibilities of urinary tract infections in the northwest of Iran. *International Journal of Infectious Diseases* (2009) 13, 140 – 144.
- [30] Heiberg, I. P. e; Schor, N. Abordagem diagnóstica e terapêutica na Infecção do Trato Urinário (ITU). *Ver. Assoc. Bras. Méd.* vol 49 (1): 109-116, 2003.



BIBLIOGRAFIA

- [31] Netto, M. R. e; Claro, J. A. Infecções urinárias no homem. Ver. Bras. Méd., vol. 54: 178-183, 1999.
- [32] Orenstein, R. D. O. e; Wong, E. M. D. Urinary tract infections in adults. American Farm. Physician. Vol. 1, 1999.
- [33] Garcia, P. C.; Camponovo, R. C. e; Triantafilo, V. Encuesta sobre los métodos de diagnóstico microbiológico de al infección urinaruaia . Ver. Chil. infectol. Vol. 18 (1): 35-40, 2001.
- [34] Bail, L.; Sanches, C. A. e; Esmerino, L. A. Urinary tract infection: comparison between susceptibility profile and empirical therapy with antimicrobials. RBAC, vol. 38(1): 51-56, 2006 51.
- [35] Farajnia, S.; Alikhani, M. Y.; Ghotaslou, R.; Naghili, B. e; Nakhband, A. Causative agents and antimicrobial susceptibilities of urinary tract infections in the northwest of Iran. International Journal of Infectious Diseases (2009) 13, 140—144
- [36] Kiffer, C. R.; Mendes, C.; Oplustil, C. P. e; Sampaio, J. L. Antibiotic Resistance and Trend of Urinary Pathogens in General Outpatients from a Major Urban City. International Braz J Urol Vol. 33 (1): 42-49, January - February, 2007
- [37] Schaeffer, A. J. The Expanding Role of Fluoroquinolones. July 8, 2002 THE AMERICAN JOURNAL OF MEDICINE_ Volume 113 (1A)
- [38] Costa, M.C., Pereira, P.M., Bolotinha, C., Ferreira, A., Cardoso, R., Monteiro, C., Gomes, C.F., Gomes, J.F. 2009. Frequência e susceptibilidade bacteriana em infecções urinária – dados de um laboratório de Lisboa, parte II. Revista Lusófona de Ciências e Tecnologias da Saúde 6: 87-103.
- [39] McIsaac, W.J., Mazzulli, T., Permaul, J., Moineddin, R., Low, D.E. 2006. Community-acquired antibiotic resistance in urinary isolates from adult women in Canada. The Canadian Journal of Infectious Diseases & Medical Microbiology 17: 337-340.
- [40] Baum, H. V. e; Marre, R. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and therapeutic implications. Department of Medical Microbiology and Hygiene, University of Ulm, Robert-Koch-Str. 8, D-89081 Ulm, Germany International Journal of Medical Microbiology 295 (2005) 503–511.