ARTIGO ORIGINAL / *ORIGINAL ARTICLE*

Infecções urinárias na comunidade: resistência aos antibióticos e factores de virulência em estirpes de *Escherichia coli*

Urinary community acquired infections: antimicrobial resistance and virulence factors among Escherichia coli strains

/ V. Rodrigues[1] / T. Hänscheid[2]
/ J. Melo Cristino[2] / A. Duarte[3]
/ Grupo de Estudo Português de Bactérias uropatogénicas da comunidade

[1] Mestre Vitoria Rodrigues, Laboratório Délio Morgado, Setúbal
[2] Prof. Doutor Thomas Hänscheid, Instituto de Medicina Molecular, Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa, Laboratório de Microbiologia, Hospital de Santa Maria
[3] Prof. Doutor José Melo Cristino, Instituto de Medicina Molecular, Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa, Laboratório de Microbiologia, Hospital de Santa Maria
[4] Prof. Doutora Aida Duarte, Laboratório de Controlo Microbiológico, i,Med – Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa

Instituição: Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa

Correspondência:
Aida Duarte
Laboratório de Controlo Microbiológico,
Faculdade de Farmácia de Lisboa.
1649-019 Lisboa, Portugal

Telefone: 217946440
Fax: 217934212
e-mail: aduarte@ff.ul.pt

Grupo de Estudo Português de Bactérias uropatogénicas da comunidade
Região Norte - **Aveiro**: Avelab; **Bragança**: Lab. Fátima Neves; **Braga**: Lab. S. Lázaro; **Chaves**: Lab. João Lamartine Dias; **Gaia**: Lab. Mª Graça Nunes; **Lamego**: Lab. Santos Monteiro; **Maia**: Lab. Isabel F. Gomes, Lab. Conceição Pinto Santos; **Paços de Ferreira**: Lab. Radelfe; **Ponte de Lima**: Lab. Manuel Pimenta; **Porto**: Lab. P. C. Ernesto Morais, Lab. Carlos Torres; **Póvoa do Varzim**: Lab. Joaquim J Nunes Oliveira; **Viana do Castelo**: Lab. José Manso; Santo Tirso: C. L. Edgar Botelho Moniz; **Vila Real**: Lab. P. C. do Pioledo; **Viseu**: Lab. Costa Monteiro, Lab. Soares Figueiredo. / Região Centro - **Abrantes**: Clenlab; **Caldas da Rainha**: Lab. Branco Lisboa, Lab. Artur Maldonado; **Castelo Branco**: Hemobiolab; **Fátima**: Lab. J Costa Correia; **Leiria**: Lab. Susana Rosas, Lab. Beatriz Godinho; **Marinha Grande**: Lab. Virgilio Morais Roldão; **Minde**: Mindanálise, **Monte Real**: Alcobia e Santos; **Santarém**: Lab. Noémia Igreja; **Torres Novas**: Clínova. / Região Sul - **Albufeira**: Aqualab; **Beja**: Laclibe; **Cacém**: Lab. Virico; **Elvas**: Centro de Diagnóstico de Elvas; **Estremoz**: Lab. Mª Conceição Tavares; **Évora**: Lab. Flaviano Gusmão; **Faro**: Gnóstica; **Lisboa**: Joaquim Chaves, Fernando Teixeira, Celab, Lab. Margarida Fanha, Lab. Reymão Pinto, Hormonofuncional; **Loulé**: Labchagas; **Montijo**: Morgado e Faria; **Portimão**: Lab. João Josino Costa; **Oeiras**: Labninuras, **Setúbal**: Délio Morgado, Anilab; **Sintra**: LaboMarques; / Ilhas: **Angra do Heroísmo**: Lab. Brum & Freitas; **Horta**: Lab. CJLM; **Ponta Delgada**: Atlantilab; **Funchal**: Lab. José Júlio C. Fernandes

/ Resumo

Introdução: As infecções urinárias são uma das infecções mais frequentes na comunidade, nas quais a *Escherichia coli* é o principal agente etiológico e nos últimos anos têm-se verificado nestas estirpes um aumento da resistência às quinolonas.
Objectivo: identificar factores de risco inerentes às estirpes uropatogénicas resistentes às quinolonas.
Metodos: Este estudo decorreu de Janeiro a Novembro de 2007 e foram estudadas 1831 estirpes de *E. coli* resistentes às quinolonas, provenientes de 55 laboratórios de Análises Clínicas. Em 150 estirpes de *E. coli* foram pesquisados genes de virulência, que codificam adesinas fimbriais.
Resultados: Os principais factores de risco foram: o sexo feminino (76,2%), idade superior a 60 anos (74,5%), história de infecções recorrentes (25,5%) e internamento em unidades de cuidados de saúde continuados (4,4%). A taxa de prevalência destas estirpes, para Portugal foi de 16,1%, variando em função da região do país de 21,6% a 3,8% para Lisboa e Açores, respectivamente.
Associada à resistência às fluorquinolonas verificou-se uma elevada resistência ao trimetoprim/sulfametoxazol (55%). Para a fosfomicina e nitrofurantoina os valores foram mais baixos de 2% e 9,8%, respectivamente. Os genes *fimH* foram encontrados em maior percentagem que os genes *papC* e maioritariamente em estirpes sensíveis aos antibióticos isoladas de cistites não complicadas.
Conclusão: A elevada prevalência de estirpes *E. coli* resistentes às quinolonas indica a necessidade de reavaliação da terapêutica empírica utilizada no tratamento infecções urinárias na comunidade.

Palavras-chave: Infecções Urinárias da comunidade, *Escherichia coli*, resistência às quinolonas

/ *Abstract*

Introduction: Urinary Infections are among the most frequent community acquired infections and Escherichia coli isolates are the main etiological agent for these infections.
Aim: The purpose of this study was to identify the risk factors of community acquired urinary tract infections caused by this type of strains.

Method: A total of 1831 E. coli quinolone resistant isolates from community acquired urinary infections were obtained from 55 Clinical Analysis laboratories located in different regions of Portugal. The samples were collected from January to November 2007 and studied according patient's risk factor and antimicrobial susceptibility. A total of 150 strains were screened for genetic regions coding for fimbrial adhesions.
***Results:** The most frequent conditions associated to this resistance were: female sex (76.2%), 60 years old (74.5%), history of recurrent UTI (25.5%) and inpatients from community healthcare units (4.4%). The prevalence rate was 16.1%, with variation between regions ranging from 21.6% to 3.8% for Lisboa and Açores, respectively. The fluorquinolone resistance was associated to sulfamethoxazole/trimethoprim (55%). Fosfomycin and Nitrofurantoin resistance rates were lower, 2% and 9.8%, respectively. The adhesion coding gene fim H was the most prevalently detected followed by papC gene in susceptible strains isolated from noncomplicated cystitis.*
***Conclusion:** In order to optimise empirical UTI treatment it is necessary to know the patterns of antibiotic resistance in different geographic locations.*

***Key-words:** Urinary tract infection, community, Escherichia coli, quinolone resistance.*

/ Introdução

A definição de infecção urinária engloba todos os processos patológicos caracterizados pela presença de microrganismos no aparelho urinário. As infecções não complicadas do tracto urinário são uma das infecções mais comuns adquiridas na comunidade e, embora a maioria seja de natureza aguda e de curta duração, têm implicações quer na morbilidade quer nos elevados custos para a saúde pública. Das infecções urinárias do tracto urinário a cistite é a infecção urinária mais frequente, na maioria dos casos, é uma situação aguda geralmente sintomática e afecta apenas a camada superficial do epitélio vesical. Se a infecção for persistente ou crónica podem ser afectadas camadas mais profundas[1]. Cerca de 25% das mulheres adultas que têm um primeiro episódio de infecção urinária poderão sofrer infecções recorrentes. Estas infecções são comuns nas mulheres jovens e nas mulheres após a menopausa[2].

A invasão do aparelho urinário saudável está condicionada a um grupo restrito de microrganismos que possuem a capacidade, mediante a expressão de factores de virulência, de ultrapassar os mecanismos de defesa do hospedeiro. As estirpes patogénicas de *Escherichia coli* utilizam estratégias de patogenicidade comuns a outros microrganismos, que consistem na aderência aos tecidos do hospedeiro, na colonização das células da mucosa, na evasão das defesas do hospedeiro, na multiplicação e lesão celular, aumentando desta forma o seu tempo de sobrevivência no hospedeiro[3]. A aderência dos microrganismos às células uroepiteliais é um factor importante no estabelecimento da infecção urinária. A capacidade de aderir às células uroepiteliais é determinante na patogenicidade e é conferida por fímbrias, estruturas que se projectam para fora da célula bacteriana. As principais fímbrias implicadas no processo de aderência são as fímbrias do tipo-1 e do tipo P, diferem no tipo de adesinas que produzem as quais reconhecem especificamente receptores celulares do epitélio da bexiga ou do parênquima renal, respectivamente. As fímbrias do tipo-1 são também importantes como factores de internalização das bactérias, por ligação às uroplaquinas e ou a outras proteínas da matriz extracelular, o que lhes confere a capacidade de permanecer no uroepitélio e estar na origem de infecções recorrentes. As infecções urinárias são o resultado da interacção entre a virulência das bactérias e uma série de factores específicos e inespecíficos das defesas do hospedeiro.
A interacção destes factores determina a susceptibilidade individual à infecção urinária[4].
A contaminação bacteriana das vias urinárias por via ascendente, a partir da área periuretral,

explica a elevada frequência das infecções urinárias no sexo feminino e o aumento do risco de infecção após cateterização ou instrumentação urológica[1]. Na infecção adquirida na comunidade, os agentes etiológicos mais frequentemente encontrados em indivíduos sem factores de risco específicos são, por ordem de frequência: *E. coli*, *Proteus* spp, *Klebsiella* spp, *Enterococcus faecalis* e *Staphylococcus saprophyticus*. A *E. coli* é responsável por cerca de 70% a 85% das infecções urinárias adquiridas na comunidade e por cerca de 50% a 60% em pacientes idosos institucionalizados[5,6].

Relativamente ao tratamento, a tendência actual, em doentes sintomáticos, consiste na iniciação da terapêutica antes do resultado dos testes microbiológicos ou até na utilização de uma terapêutica empírica sem auxílio de exames microbiológicos[7]. No entanto, diversos estudos têm chamado à atenção para o aumento de estirpes de *E. coli* resistentes às fluorquinolonas (ciprofloxacina, norfloxacina e a outras). Situação que, em parte, pode estar relacionada com o uso frequente destes antimicrobianos na profilaxia e tratamento de muitas infecções, em particular das urinárias, o que pode explicar a elevada prevalência destas bactérias multiresistentes em infecções na comunidade[8].

Em 2003, entre os 25 países europeus, Portugal encontrava-se no 3º lugar em relação ao consumo global de antibióticos e no 1º lugar no consumo de quinolonas, segundo a ESAC (European Surveillance of Antimicrobial Consumption). Embora em 2005, Portugal se situasse no 6º lugar entre os 28 países europeus, em relação ao consumo global de antibióticos, o consumo de quinolonas manteve-se na mesma ordem de grandeza de 2003 (http://www.esac.ua.ac.be). Dados disponibilizados em 2007 pelo INFARMED indicam que em Portugal, entre 2002 e 2005, o consumo anual de quinolonas em ambulatório foi de 13,5% em relação ao consumo total de antibióticos. O facto do aumento da resistência às quinolonas ser um problema global, levou a IDSA (*Infectious Diseases Society of America*) a desaconselhar o uso generalizado das fluorquinolonas, como terapêutica de primeira linha, no tratamento das infecções urinários agudas[9].

/ Material e Métodos

Estirpes bacterianas

Um total de 1831 estirpes de *Escherichia coli* resistentes às quinolonas (ciprofloxacina e norfloxacina), foram isoladas de urinas provenientes de 55 Laboratórios de Análises Clínicas de prestação de serviços à comunidade entre Janeiro e Novembro de 2007. As bactérias foram isoladas e identificadas em cada laboratório de origem, durante um período de 6 meses e para cada estirpe bacteriana foram reunidos dados tais como: sexo, idade e situação clínica do doente.

Estudo de prevalência

Em 13 dos laboratórios participantes foi efectuado o estudo da prevalência das estirpes *E. coli* resistentes às quinolonas, para tal foi pedido aos laboratórios participantes que facilitassem os dados possíveis ao cálculo da resistência local, nomeadamente: número

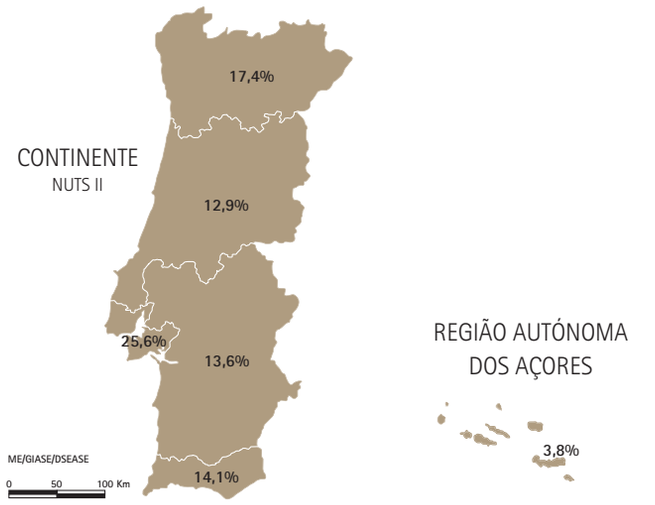


Figura 1 — Prevalência de estirpes *E. coli* resistentes às quinolonas, responsáveis por Infecções Urinárias adquiridas na comunidade, em Portugal

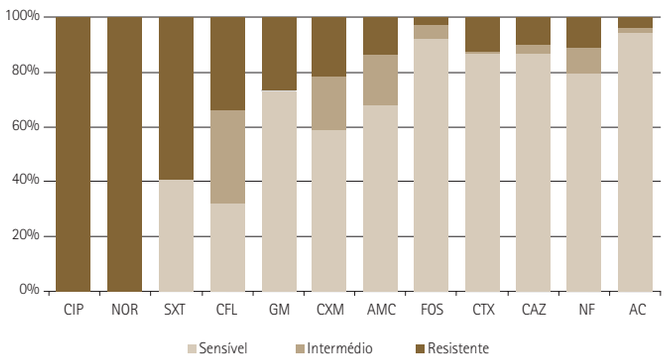
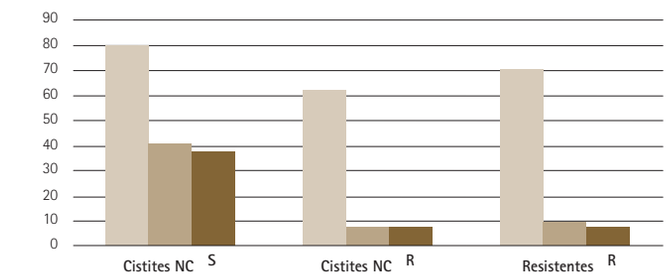


Figura 2 — Susceptibilidade aos antibióticos das 1831 estirpes de *Escherichia coli*
CIP: ciprofloxacina; NOR: norfloxacina; SXT: trimetoprim/sulfametoxazol; CFL: cefalotina; GM: gentamicina; CXM: cefuroxima; AMC: amoxicilina+ácido clavulânico; FOS: fosfomicina; CTX: cefotaxima; CAZ: ceftazidima; NF: nitrofurantoina; AC: amicacina.



	Cistites NC S	Cistites NC R	Resistentes R
FimH	79.6	61.5	69.8
PapC	40.7	7.7	9.4
F+P	37	7.7	7.5

Figura 3 — Percentagem de genes *fimH* e *papC*, responsáveis pela codificação das fímbrias do tipo-1 (FimH) e as do tipo P (PapC) em estirpes de *Escherichia coli* sensiveis aos antibióticos isoladas de cistites não complicadas (NCS) e em estirpes resistentes às fluorquinolonas, identificadas de cistites não complicadas (NCR) e de infecções recorrentes.



total de uroculturas efectuadas, o número total de uroculturas positivas, o número de uroculturas positivas com *E. coli* e o número de estirpes *E. coli*, resistentes às quinolonas, durante o período de estudo.

Identificação e estudo da susceptibilidade aos antibióticos

A identificação e o estudo da susceptibilidade aos antibióticos foram efectuados em equipamento VITEK bioMerieux (VITEK, VITEK 2 e VITEK 2 compact) utilizando-se as cartas GNS-516, GNS-513 e AST-N020 e processados de acordo com a metodologia recomendada pelo fabricante. Os antibióticos estudados foram: amoxicilina/ácido clavulânico, cefalotina, cefuroxima-axetil, ceftazidima, cefotaxima, amicacina, gentamicina, nitrofurantoina, fosfomicina e trimetroprim/sulfametoxazol.

Pesquisa de adesinas

Para a pesquisa de adesinas foram seleccionadas 150 estirpes de *E. coli* das quais 100 eram multirresistentes, em que 50 foram identificadas de cistites não complicadas e 50 de infecções recorrentes. As restantes 50 estirpes uropatogénicas eram sensíveis aos antibióticos e isoladas de cistites não complicadas. As estirpes tinham em comum o facto de serem provenientes de mulheres com idades compreendidas entre os 1 e 50 anos. A pesquisa dos genes *fimH* e *papC*, responsáveis pela codificação das fímbrias do tipo-1 (que aderem ao epitélio vesical) e as do tipo P (que aderem ao parênquima renal), foi efectuado com a utilização de "*primers*" específicos para cada gene os quais foram amplificados pela reacção de PCR (Polymerase Chain Reaction) e posteriormente sequenciados para confirmação.

/ Resultados e Discussão

Prevalência de *E. coli* na comunidade e distribuição por área geográfica

Das 1831 estirpes de *E. coli* resistentes às quinolonas isoladas de urinas provenientes de 55 laboratórios, distribuídos por todos os distritos, verificou-se que o número de isolados variava de acordo com a área geográfica. Do estudo de prevalência efectuado a partir dos dados obtidos em 13 dos laboratórios, verificou-se para a *E. coli* resistente às fluorquinolonas um valor médio de 16,1% e de acordo com a Figura 1, os valores mais elevados foram obtidos na região de Lisboa e Setúbal (25,6%) e na região Norte (17,4%), enquanto o valor mais baixo foi encontrado nos Açores (3,8%).

Factores de risco e resistência aos antibióticos

A maior incidência das infecções urinárias verificou-se no sexo feminino (76,2%); no grupo etário com mais de 60 anos (74,5%). Entre os factores de risco e de acordo com a Tabela 1, as infecções de repetição (25,5%) foram maioritárias no sexo feminino e nos doentes com internamento em instituições de cuidados continuados de saúde 86,9%, enquanto a situação de acamado e a presença de algalia foram os principais factores de risco encontrados nos doentes do sexo masculino com valores de 51,9% e 62,5%, respectivamente. As características anatómicas femininas favorecem as infecções urinárias e as instituições de acolhimento, como lares de 3ª idade, podem ser locais privilegiados de doentes colonizados / infectados com estirpes resistentes.

É também no grupo etário, com idade compreendida entre os 60 e os 79 anos, que existe maior susceptibilidade às infecções e que o consumo de antibióticos é mais elevado, Tabela 2, com predomínio das quinolonas (38,7%), na sua maioria utilizadas no tratamento de infecção urinária (24,1%). A elevada expressão das infecções de repetição acontece, certamente, devido ao aumento e frequência do consumo de quinolonas e de outros antimicrobianos. Associada à resistência às quinolonas verificou-se que, de acordo com a Figura 2, as taxas de resistência mais elevadas foram obtidas para a associação trimetoprim/sulfametoxazol (55,3%) e cefalotina (32,1%) e as mais baixas foram para a fosfomicina (2%); amicacina (2,9%),

seguida da nitrofurantoina (9,8%), da ceftazidima (10,2%) e da associação amoxicilina+ácido clavulânico (13,3%). Os valores de susceptibilidade encontrados para a fosfomicina e nitrofurantoina são indicadores de opções terapêuticas a considerar, no tratamento empírico das infecções urinárias não complicadas.

O aumento da resistência ao trimetoprim/sulfametoxazol tem sido detectado também noutros países e pode estar relacionado com a utilização em larga escala, dado que tem sido o agente terapêutico de primeira linha no tratamento empírico das infecções urinárias. As fluorquinolonas têm sido a alternativa terapêutica em locais onde a taxa de resistência à associação trimetoprim/sulfametoxazol é superior a 20%. No questionário efectuado a 5 farmácias comunitárias, de acordo com a Tabela 2, 59,2% das fluorquinolonas dispensadas no ambulatório foram utilizadas no tratamento de infecções urinárias e 40,8% no tratamento de outras infecções. Neste grupo de antibióticos, a ciprofloxacina foi o antibiótico mais frequentemente prescrito 67,3% seguido da norfloxacina 21,2%.

TABELA 1 - DISTRIBUIÇÃO DOS DOENTES, DE ACORDO COM SEXO E A SITUAÇÃO CLÍNICA OU/E FACTOR DE RISCO

Situação clínica/ Factor de Risco	Sexo				Total (%)	
	feminino		masculino			
Infecções de repetição	350	(74.9)	117	(25.1)	467	(25.5)
Em lar	106	(86.9)	16	(13.1)	122	(6.7)
Acamado	39	(48.1)	42	(51.9)	81	(4.4)
Algaliado	9	(37.5)	15	(62.5)	24	(1.3)
Hemodializado	7	(58.3)	5	(41.7)	12	(0.7)
Hospitalização anterior	5	(50.0)	5	(50.0)	10	(0.5)

TABELA 2 - FLUORQUINOLONAS DISPENSADAS PARA TRATAMENTO DE INFECÇÕES URINÁRIAS COMPARATIVAMENTE A OUTRO TIPO DE INFECÇÃO, POR GRUPO ETÁRIO

Escalão etário	Fluorquinolonas dispensadas				Total N.º (%)	
	Infecções urinárias		Outras infecções			
10-19	7	(3,7)	3	(1,6)	10	(5,2)
20 - 39	25	(13,1)	19	(9,9)	44	(23,0)
40 - 59	28	(14,7)	25	(13,1)	53	(27,7)
60 - 79	46	(24,1)	28	(14,7)	74	(38,7)
>=80	7	(3,7)	3	(1,6)	10	(5,2)
Total	113	(59,2)	78	(40,8)	191	(100)

Pesquisa de adesinas

Relativamente à pesquisa dos genes fimbriais *fimH* e *papC* verificou-se que nas 150 estirpes estudadas 105 (70,3%) possuíam as fímbrias do tipo 1, enquanto 86 (57,8%) apresentaram fímbrias do tipo P. Em 26 (17,4%) estirpes foram encontradas os dois tipos de fímbrias. Na Figura 3 estão representados os valores encontrados para cada grupo de estirpes em estudo. Contrariamente ao que se poderia pensar tanto as fimbrias do tipo 1 como as do tipo P foram encontradas em maior percentagem nas estirpes de *E. coli* isoladas de cistites não complicadas (NCS) e sensíveis aos antibióticos. Nas estirpes resistentes às fluorquinolonas os valores foram equivalentes, embora ligeiramenre superiores nas infecções recorrentes. A maior diferença foi nos valores obtidos para as fimbrias do tipo P de 40,7% nas estirpes sensíveis e com valores de 7,7% e 9,4% nas estirpes resistentes às fluorquinolonas.

Importa realçar a elevada percentagem de isolados com fímbrias do tipo 1 as quais contribuem para a colonização do epitélio vesical, estando também associadas a mecanismos de invasão e patogenicidade[10]. O facto de estirpes resistentes apresentarem menos factores de virulência nada infere ao seu potencial de virulência "in vivo". A baixa virulência e a elevada resistência poderá conferir uma vantagem competitiva face a isolados com maior número de factores de virulência mais facilmente eliminados pelo sistema imunitário, enquanto no hospedeiro imunocomprometido a infecção é persistente com isolados menos virulentos mas mais resistentes, observação confirmada por outros autores[11].

A elevada prevalência, em Portugal, de estirpes *E. coli* resistentes às quinolonas indica a necessidade de reavaliação das terapêuticas empíricas de primeira e segunda linha, utilizadas no tratamento infecções urinárias na comunidade. As fluorquinolonas, graça às suas excelentes características microbiológicas e farmacológicas, devem ser reservadas para o tratamento de infecções graves e/ou em populações especiais de doentes, enquanto antibióticos como a fosfomicina e nitrofurantoina deverão ser recomendados para o tratamento empírico das infecções urinárias não complicadas.

/ Bibliografia

1. Franco A. "Recurrent urinary tract infections". *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology* 2005; 19 (6):861-873.

2. Jacobsen SM, Stickler DJ, Mobley HLT, Shirtliff ME. "Complicated Catheter-Associated Urinary Tract Infections Due to Escherichia coli and Proteus mirabilis". *Clinical Microbiology Reviews* 2008; 21:26–59.

3. Johnson DE, Lockatell CV, Russell RG, Hebel JR, Island MD, Stapleton A, Stamm WE, Warren JW. "Comparison of Escherichia coli strains recovered from human cystitis and pyelonephritis infections in transurethrally challenged mice". *Infect Immun* 1998; 66 (7):3059-65

4. Ronald A. "The etiology of urinary tract infection: traditional and emerging pathogens". *The American Journal of Medicine* 2002; 113: 14-19.

5. Johnson JR. "Microbial virulence determinants and the pathogenesis of urinary tract infection". *Infectious Disease Clinics of North America* 2003; 17:261-278.

6. Nicolle LE. "Urinary tract infection in long-term care facilities". *Infect. Control and Hospital Epidemiol* 2001; 22 (3):167-175.

7. Gupta K, Hooton TM, Stamm WE. "Increasing Antimicrobial Resistance and the management of uncomplicated community-acquired urinary tract Infections". *Annals of Internal Medicine* 2001; 135(1):41-50.

8. Lautenbach E, Fishman N, Bilker W, Castiglioni A, Metlay J, Edelstein P, Strom B. "Risck factors of fluorquinolones resistence in nosocomial *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* infections". *Archives of Internal Medicine* 2002; 162:2469-2477.

9. Hooton TM, Levy SB. "Antimicrobial Resistance: a plan of action for community practice". *American Family Physician* 2001; 63(6):1087-1096.

10. Mulvey MA. "Adhesion and entry of uropathogenic Escherichia coli". *Cell Microbiol* 2002; 4:257-271.

11. Piatti G, Mannini A, Balistreri M, Schito AM. "Virulence facors in urinary Escherichia coli strains: phylogenetic background and quinolone and fluoroquinolone resistance". *J Clin Microbiol* 2008; 46: 480-487.