

IDENTIFICAÇÃO DAS BACTÉRIAS RESPONSÁVEIS PELAS ITU E SEU PERFIL DE RESISTÊNCIA AOS PRINCIPAIS FÁRMACOS UTILIZADOS NO TRATAMENTO

Juliane Karen Silva Lima¹
Graduada em Ciências Biológicas

Wagner Amado Veiga²
Biólogo, Especialista em Análises Clínicas

Resumo

As Infecções do Trato Urinário (ITU) estão entre as mais comuns notificadas na população de forma geral e ocorrem principalmente em crianças e adultos do sexo feminino, sendo os principais patógenos as Enterobactérias e os Cocos Gram-Positivos. Estudos sobre a identificação são muito importantes em especial em localidades que possuem uma grande demanda de pacientes como é o caso de Itaperuna-RJ, que atende não só a sua própria população, como também as dos municípios vizinhos. Desta forma, o presente trabalho buscou identificar os patógenos mais frequentes nas ITU e seu perfil de sensibilidade aos antibióticos utilizados. Foram analisadas 20 uroculturas positivas nos meios MacConkey e Manitol 6,5% NaCl, e, de acordo com as características fisiológicas, as mesmas foram identificadas por provas bioquímicas direcionadas. A maior prevalência dos casos se deu na população feminina (70%). A *Escherichia coli* foi a bactéria predominante (70%), seguida de *Klebsiella pneumoniae* (15%) e *Enterobacter aerogenes* (15%). Quanto ao perfil de sensibilidade, as três espécies foram mais sensíveis as Ciprofloxacina e Norfloxacin. Sendo que, o *Enterobacter aerogenes*, também foi sensível ao Ácido Nalidíxico.

Palavras-chave: urine; bactéria identification; microbial resistance; antibiotics.

Abstract

Urinary Tract Infections (UTIs) are among the most common reported in the general population and occur mainly in children and adult females, with the main pathogens the Enterobacteria and Gram-Positive Coccus. Studies on identification are very important especially in places that have a great demand for patients such as Itaperuna-RJ, which serves not only its own population, but also those of neighboring municipalities. In this way,

¹ UniRedentor, Graduada em Ciências Biológicas, Itaperuna – RJ, juhkaren23@gmail.com

² UniRedentor, Professor e Coordenador de Laboratórios, Itaperuna – RJ, w.amado.v@gmail.com

the present studies looked for identify the most common pathogens in UTIs and their sensitivity profile to the antibiotics used. 20 positive urine culture were analyzed in MacConkey media and Mannitol 6.5% NaCl and, according to the physiological characteristics, they were identified by directed biochemical tests. The highest prevalence of cases occurred in the female population (70%). *Escherichia coli* was the predominant bacterium (70%), followed by *Klebsiella pneumoniae* (15%) and *Enterobacter aerogenes* (15%). Regarding the sensitivity profile, the three species were more sensitive to Ciprofloxacin and Norfloxacin. Since *Enterobacter aerogenes* was also sensitive to Nalidixic Acid.

Keywords: pneumonia acquired in the hospital; testing of antimicrobial susceptibility; bacterial resistance.

1. INTRODUÇÃO

As Infecções do Trato Urinário (ITU) estão entre as mais comuns notificadas na população de forma geral (RORIZ-FILHO *et al*, 2010) e ocorrem principalmente em crianças e adultos do sexo feminino². Dentre as Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS), as ITU representam cerca de 50% das infecções contraídas em hospitais gerais (ANVISA, 2013).

Em sua maioria, as ITU são causadas por bactérias Gram-negativas, como a *Escherichia coli*, *Klebsiella sp*, *Proteus sp*, *Pseudomonas sp.*, *Enterobacter sp*; e Grampositivas como *Enterococcus* e *Staphylococcus* (RORIZ-FILHO *et al*, 2010; KOCH *et al*, 2008; MULLER *et al*, 2008). Do percentual total de infecções bacterianas identificadas em um estudo, 76,6% se dão por *E.coli*, 10,3% por *Proteus mirabilis*, 4,1% por *Staphylococcus saprophiticus* e 9% se dão por outros patógenos, sendo que cerca de 72,6% dos casos ocorrem no sexo feminino (SWEI LO *et al*, 2013).

Contudo, para que ocorra a infecção no trato urinário, o microrganismo precisa se aderir às células vaginais e uroepiteliais; ou produzir hemolisina e fator citotóxico necrotizante do tipo I; ou ainda resistir à atividade bactericida do soro (ANVISA, 2013).

A alta percentagem de casos dessa patologia se deve a alta capacidade de adaptação dos microrganismos aos medicamentos utilizados, dando-lhes uma maior resistência aos mesmos. Outro fator que contribui para o aumento da resistência é o uso indiscriminado e incorreto dos antimicrobianos na comunidade e no ambiente hospitalar, e reconhecidamente um importante fator de risco para o aparecimento e a disseminação da resistência microbiana (ANVISA, 2013).

Dessa forma, os estudos sobre a identificação e o padrão de resistência de microrganismos responsáveis pelas ITU tornam-se relevantes, em especial nas localidades

que possuem uma grande demanda de pacientes como foi notificado por laboratórios de Análises Clínicas no município de Itaperuna-RJ, que atendem não só a sua própria população, como também as dos municípios vizinhos. Desta forma, o presente trabalho buscou identificar os patógenos mais frequentes nas ITU e analisar a sua resistência a antibióticos neste município.

2. METODOLOGIA

Para o presente trabalho utilizaram-se 20 amostras que apresentaram sinais clínicos de Infecção do Trato Urinário (ITU) de moradores de Itaperuna e regiões adjacentes de todas as faixas etárias, provenientes do Laboratório de Análises Clínicas CentroLab localizado no município de Itaperuna no interior do estado do Rio de Janeiro, sob assinatura de um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Baseando-se nos principais microrganismos identificados em um estudo (SWEI LO *et al*, 2013) foi elaborado um fluxograma para a identificação dos mesmos - *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella sp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* e *Enterobacter aerogenes*.

Primeiramente as amostras foram semeadas em ágar MacConkey, para isolamento seletivo de Enterobactérias, e em placas com ágar Manitol 6,5% NaCl para isolamento seletivo de Cocos Gram-positivos, pela técnica de estrias múltiplas e incubadas em temperatura de 35°C por 24h.

A seguir, somente as colônias que fermentaram o Manitol 6,5% NaCl foram selecionadas, submetidas à coloração de Gram e repicadas para o caldo Infusão de Cérebro e Coração (BHI), sendo posteriormente incubadas em 35°C por 24h para a obtenção das culturas puras. Após esse período, as amostras foram submetidas ao teste da catalase. Onde a positividade deste teste indicou *S. aureus*; e a catalase negativa, exigiu que as amostras fossem submetidas ao teste de resistência a Bacitracina. A resistência a Bacitracina indica infecção por *E. faecalis*.

Já as colônias que cresceram em ágar MacConkey, foram divididas em dois grupos: as fermentadoras de lactose e as não fermentadoras de lactose. As colônias que fermentaram lactose, após a coloração de Gram, foram repicadas no caldo BHI e submetidas ao teste de Vermelho de Metila (MR) – Voges Proskauer (VP). As colônias que manifestaram MR-positivo e VP-negativo foram repicadas para o ágar TSI (Ágar Tríplice Açúcar Ferro) e realizado teste de Urease, para confirmar a identificação de *E. coli*. No caso das colônias que apresentaram resultados diferentes no MR-VP, foi realizado o teste de Motilidade. As colônias móveis indicam *K. pneumoniae*; e as imóveis o gênero *Enterobacter*. Para diferenciação entre as espécies do gênero *Enterobacter*, foi realizado o

teste da descarboxilação da lisina em Ágar Lisina Ferro (LIA). A *E. aerogenes* produz reação positiva neste teste; enquanto a *E. cloacae* não descarboxila a lisina (ANVISA, 2013).

Após a identificação dos microrganismos, foi realizado o Teste de Suscetibilidade Antimicrobiana (TSA) através do Método de Difusão com Discos (Bauer e Kirby) descrito no livro Técnicas de Laboratório (Moura, 2008) com 9 antibióticos: Ampicilina, Tetraciclina, Estreptomicina, Ciprofloxacina, Gentamicina, Oxaciclina, Norfloxacin, Nitrofurantoína e Ácido Nalidíxico. A interpretação dos halos foi seguindo as normas do Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS (NCCLS, 2005).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre as 20 amostras analisadas, o agente etiológico mais frequente identificado foi a *E. coli* (70%) (Tabela. 1), corroborando com a literatura, onde consta que ela é a causa de 70%-95% dos casos de Infecção no Trato Urinário (ITU) (PIRES *et al*, 2007). O segundo agente etiológico mais frequente foi a *K. pneumoniae* (15%), ao contrário do trabalho de Swei Lo *et al* (2013), onde ela ocupa o quarto lugar com 2,4% dos casos. O microrganismo de menor frequência identificado foi o *E. aerogenes* (15%), que ocupou o quinto lugar no trabalho de Pires *et al* (2007) com 2,5% dos casos.

A alta porcentagem de casos de ITU causadas por *E. coli*, se deve ao fato dela já estar presente, em grande quantidade, no cólon e nas fezes. Sendo a principal fonte de infecções por esse patógeno consistir na própria microbiota do paciente, que coloniza a região urogenital (LEVINSON, 2010).

O principal sorotipo, que preferencialmente, causa esse tipo de infecção é a *E. coli* sorotipo O (antígeno de parede celular), que é caracterizado pela presença de *pili* com proteínas adesinas que se ligam a receptores específicos do epitélio urinário (LEVINSON, 2010).

No que tange a porcentagem de casos por sexo, 70% dos casos se deu no sexo feminino e 30% no sexo masculino, o que já era esperado de acordo com a literatura, visto que, anatomicamente falando, as mulheres possuem a uretra mais curta, o que facilita a invasão de patógenos; a vagina e o ânus serem próximos e a ausência de características antimicrobianas, como encontradas no líquido prostático (LOPES *et al*, 2010).

Quanto ao perfil de sensibilidade (Tabela. 2), todos os três microrganismos identificados foram resistentes à Ampicilina corroborando com a literatura (KOCH *et al*, 2008; SWEI LO *et al*, 2013; BERALDO-MASSOLI *et al*, 2012; ANVISA, 2016). Essa maior resistência pode ser atribuída ao seu baixo custo (com ICMS 20%: R\$10,33 500mcg) e por fazer parte de uma das famílias mais antigas de antibióticos, as Penicilinas (ANVISA, 2016).

Já os antibióticos mais eficazes contra esses patógenos foram as Fluoroquinolonas (Quinolonas de segunda geração): Ciprofloxacina e Norfloxacina (antibióticos de amplo espectro), sendo que, no controle de *E.aerogenes*, além desses dois fármacos, o Ácido Nalidíxico (Quinolona de pequeno espectro) também se mostrou muito eficaz. Essa classe de antibióticos inibe a topoisomerase II, que é uma DNA-girase bacteriana, impedindo o seu envelhecimento. Por ser de administração oral, essa classe é bem absorvida, mas se acumula em vários tecidos, principalmente nos rins, próstata e pulmão (RANG & DALE, 2011).

Tabela 1: Frequência dos microrganismos que causam ITU

Microorganismo	Número total de casos	Frequência (%)
<i>Escherichia coli</i>	12	60
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5	25
<i>Enterobacter aerogenes</i>	3	15

Tabela 2: Halos de inibição (mm) formados pelos antibióticos testados

Antibióticos	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>
Acido Nalidíxico	17	21	31
Ampicilina	11	6	0
Ciprofloxacina	28	33	31
Estreptomicina	23	18	16
Gentamicina	23	20	18
Nitrofurantoína	22	19	16
Norfloxacina	24	35	31
Tetraciclina	17	28	23

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Das bactérias isoladas, a E.coli foi o patógeno mais frequente, como já descrito na literatura. Quanto aos antibióticos mais eficazes frente a esse micro-organismo, temos a Ciprofloxacina e a Norfloxacina, que são antibióticos de amplo espectro.

A utilização dos antibióticos deve ser feita com cautela, visto que pode aumentar a resistência das bactérias aos mesmos, fazendo assim a necessidade da criação de mais fármacos sintéticos. É necessário ainda se ter um cuidado na prescrição e na decisão do tempo do tratamento, não utilizando mais antimicrobianos do que o necessário e procurando instruir da melhor forma possível os pacientes a obedecerem ao tempo de tratamento.

REFERÊNCIAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Manual de microbiologia clínica para o controle de infecção relacionada à assistência a saúde** – Módulo 3: principais síndromes infecciosas. Brasília, 2013.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Preços máximos de medicamentos por princípio ativo**. Brasília, 2016.

BERALDO-MASSOLI, M.; NARDI, C.; MAKINO, L.; SCHOCKEN-ITURRINO, R. Prevalência de infecções urinárias em pacientes atendidos pelo sistema único de saúde e sua suscetibilidade aos antimicrobianos. **Medicina (Ribeirão Preto. Online)**, v. 45, n. 3, p. 318-321, 30 set. 2012.

KOCH, Camila Ribeiro *et al.* Resistência antimicrobiana dos uropatógenos em pacientes ambulatoriais, 2000-2004. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba , v. 41, n. 3, p. 277-281, June 2008 .

LEVINSON, Warren. Capítulo 18: Bacilos Gram-Negativos Relacionados ao Trato Intestinal. In: _____. **Microbiologia Médica e Imunologia**. 10.Ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

LOPES, Priscila Martins; QUEIROZ, Talitha Flor Fialho; RODRIGUES, Fabiana Carvalho; CASTRO, Adriano Simões Barbosa. Análise da frequência e do perfil de sensibilidade da *Escherichia coli* como agente causador de infecções do trato urinário na microrregião de viçosa, MG. Viçosa-MG. **Anais II SIMPAC**. Volume 2, n.1, p. 21-28, jan. - dez. 2010.

MULLER, E. V.; SANTOS, D. F.; CORRÊA, N. A. B. Prevalência de microrganismos em infecções do trato urinário de pacientes atendidos no laboratório de análises clínicas da Universidade Paranaense – Umuarama – PR. **Revista Brasileira de Análises Clínicas - RBAC**, vol. 40(1): 35-37, 2008.

NCCLS – Clinical and Laboratory Standards Institute. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fifteenth Informational Supplement**. CLSI/NCCLS document M100-S15 [ISBN 1-56238-556-9]. Clinical and Laboratory Standards Institute, Pennsylvania, USA, 2005.

PIRES, Marcelle Cristina da Silva *et al.* Prevalência e suscetibilidades bacterianas das infecções comunitárias do trato urinário, em Hospital Universitário de Brasília, no período de

2001 a 2005. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 40(6): 643-647, novdez, 2007.

POLETTTO, Karine Queiroz e REIS, Cleomenes. Suscetibilidade antimicrobiana de uropatógenos em pacientes ambulatoriais na Cidade de Goiânia, GO. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 38(5): 416-420, set-out, 2005.

RANG, H. P. & DALE, M. M. Seção 5 – Capítulo 50: Fármacos antibacterianos. In: _____. **Farmacologia**. 7.Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.

RORIZ-FILHO, J.; VILAR, F.; MOTA, L.; LEAL, C.; PISI, P. Infecção do trato urinário. **Medicina (Ribeirao Preto. Online)**, v. 43, n. 2, p. 118-125, 30 jun. 2010. *Medicina (Ribeirão Preto)* 2010; 43(2): 118-25.

SWEI LO, Denise *et al.* Infecção urinária comunitária: etiologia segundo idade e sexo. **Jornal Brasileiro de nefrologia**, São Paulo , v. 35, n. 2, p. 93-98, jun. 2013.

Sobre os Autores

Autor 1: Graduada em Ciências Biológicas pelo Centro Universitário Redentor – UniRedentor. Atua na área de Análises Clínicas Veterinárias. E-mail: juhkaren23@gmail.com

Autor 2: Biólogo. Professor e Gestor de Laboratórios do Centro Universitário Redentor - UniRedentor. Especialista em Análises Clínicas pelo Centro Universitário Redentor - UniRedentor. E-mail: w.amado.v@gmail.com