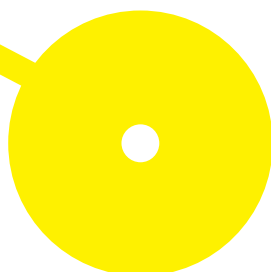




# Estudo de multirresistências aos antibióticos em infeções do trato urinário nos doentes de um Laboratório da Zona Norte de Portugal

Ana Rita Fernandes dos Santos

10/2022





**ESCOLA  
SUPERIOR  
DE SAÚDE**



**Estudo de multirresistências aos antibióticos em infeções do trato urinário nos doentes de um Laboratório da Zona Norte de Portugal**

**Autor**

Ana Rita Fernandes dos Santos

**Orientadores**

Professora Doutora/Maria Manuela Amorim Silva e Sousa/Centro de Investigação em Saúde e Ambiente/Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto

Professor Doutor/Jorge Manuel Condeço Ribeiro/ Instituto Português de Sangue e Transplantação-Porto/Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto

**Relatório de Estágio apresentado para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Análises Clínicas e Saúde Pública – Área de Especialização em Microbiologia e Saúde Pública pela Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto.**

## **Agradecimentos**

À minha orientadora e diretora do Mestrado em Análises Clínicas e Saúde Pública, Professora Doutora Maria Manuela Amorim Silva e Sousa, muito obrigada primeiro pela paciência e depois pela persistência; obrigada por ter sido um apoio incondicional desde o início, pelas oportunidades, e aprendizagens e por me mostrar que todos os obstáculos são ultrapassáveis. E obrigada pelo carinho que torna tudo mais leve e mais feliz.

Ao meu orientador, Professor Doutor Jorge Manuel Condeço Ribeiro, agradeço toda a disponibilidade e amabilidade com que me ajudou e forma como descomplica tudo, transformando o mais complexo no mais óbvio. Agradeço todo o rigor, profissionalismo e ensinamentos ao longo deste processo.

À Dra. Elsa Calado e ao Dr. Luís Resende Dias, muito obrigada pela forma amável como me receberam e me integraram no laboratório e pelas valiosas aprendizagens tanto a nível técnico, como a nível científico. Obrigada por me deixarem acompanhar de perto um trabalho feito de forma tão criteriosa e profissional e por toda a ajuda que me prestaram desde a obtenção dos dados até à análise crítica na área clínico-laboratorial.

Aos técnicos do laboratório de microbiologia, Antónia, Isabel e Miguel, obrigada por me receberem tão bem e por me ensinarem tanto, pelo trabalho de excelência que realizam e que me deixaram acompanhar. Muito obrigada, também pelas brincadeiras e pelas gargalhadas que me fizeram sentir em casa.

Ao Dr. José Fleming Torrinha e a toda a equipa do Centro de Medicina Laboratorial Germano de Sousa do Porto, agradeço pela oportunidade de realizar este estágio, por toda a disponibilidade e amabilidade com que me receberam e por toda aprendizagem que me proporcionaram.

À minha família, por estar sempre lá a cada passo que eu dou e por nunca deixar que nada me falte muito menos amor, encorajamento e compreensão.

Às minhas amigas, que são muito mais do que eu podia pedir, que nunca me falham e nunca deixam que me falem as forças, nem a ajuda, nem os abraços, nem os corações no *whatsapp*, nem as gargalhadas, nem os chocolates e muito menos o café.

Ao meu amigo João Faria, pela ajuda na análise dos dados e pelos conselhos e a amizade sempre e ao resto dos meus amigos que mesmo quando eu não sei que preciso, estão lá.

## Resumo

As infecções do trato urinário (ITU) consistem na invasão tecidual e proliferação de microrganismos, geralmente bactérias, nas estruturas do trato urinário. As ITU são consideradas uma das infecções mais prevalentes nos humanos e o último estudo estatístico publicado em 2019 revelou que, só nesse ano, foram registadas mundialmente mais de 400 milhões de infecções do trato urinário, tendo cerca de 235 mil resultado em morte. Estas são geralmente mais frequentes no sexo feminino e em faixas etárias mais elevadas.

A resistência aos antibióticos, fármacos geralmente usados para tratar as ITU, é considerada um dos mais graves problemas de saúde pública da atualidade.

Este trabalho tem como objetivo estudar e caracterizar a prevalência dos agentes etiológicos das ITU e o seu perfil de multirresistências adquiridas aos antibióticos. Os dados revelaram que as ITU atingem o pico no verão/início do outono, com os indivíduos do sexo feminino e os doentes mais velhos a serem os mais infetados, quer na população de positivos, quer na amostra de multirresistentes. A *E. coli* (62,2%) foi o microrganismo mais prevalente na população de positivos e a *K. pneumoniae* (21,0%) foi o mais prevalente na amostra de multirresistentes. Esta última foi também o microrganismo que apresentou doentes com maior número de resistências, tendo inclusive, registado casos sem qualquer sensibilidade aos antibióticos testados. A Ciprofloxacina e a combinação Amoxicilina/Ac. Clavulânico foram os antibióticos que apresentaram maior percentagem de resistências registadas, 18% e 16% respetivamente. Ainda segundo os resultados deste estudo, a Nitrofurantoína e Fosfomicina parecem as alternativas mais eficazes para o tratamento das ITU e mesmo estas já apresentam várias limitações.

As resistências aos antibióticos e o crescente esgotamento de alternativas terapêuticas constituem uma ameaça ao progresso da medicina conseguido nas últimas décadas. É fundamental que continuem a existir estudos neste âmbito, para tentar conter este problema que, está a colocar em causa a vida das populações.

**Palavras-chave:** Infecções; Infecções do Trato Urinário; Infecções Bacterianas; Antibióticos; Resistência aos Antibióticos

## **Abstract**

Urinary tract infections (UTI) are tissue invasion and proliferation of microorganisms, usually bacteria, in the structures of the urinary tract. UTI is one of the most prevalent infections in humans and the latest statistical study published in 2019 revealed that, only that year, more than 400 million urinary tract infections were recorded worldwide, of which about 235,000 resulted in death. These infections are generally more frequent in females and in older age groups.

Resistance to antibiotics, drugs commonly used to treat UTI, is considered one of the most serious public health problems nowadays.

This work aims to study and characterize the prevalence of the etiological agents of UTI and their profile of acquired multidrug resistance. The data revealed that UTI reach their incidence peak in summer/early autumn, with females and older patients being the most infected, both in the general positive population and in the multidrug-resistant sample. *E. coli* (62.2%) was the most prevalent microorganism in the positive population and *K. pneumoniae* (21.0%) was the most prevalent in the multidrug-resistant sample. *K. pneumoniae* was also the microorganism that presented patients with the highest number of resistances to the tested antibiotics, presenting patients with no sensitivity to the antibiotics tested at all. Ciprofloxacin and the combination of Amoxicillin and Clavulanic Acid were the antibiotics that showed the highest percentage of registered resistance, 18% and 16% respectively. Also, according to the results of this study, Nitrofurantoin and Phosphomycin seem to be the most effective alternatives for the treatment of UTI and even these already have several limitations.

The antibiotic resistance and the increasing exhaustion of therapeutic alternatives became a threat to the progress of medicine achieved in recent decades. There should continue to be more studies in this area to help to control the evolution of this problem that is harming the lives of populations.

**Keywords:** Infections; Urinary Tract Infections; Bacterial Infections; Anti-Bacterial Agents; Drug Resistance

## Índice

Lista de Abreviaturas .....	VII
Índice de Tabelas .....	IX
Índice de Figuras .....	X
Organização do Relatório.....	XI
<b>1. Capítulo I: Estágio .....</b>	<b>1</b>
1.1. Instituição e Contextualização do Estágio.....	2
1.2. Objetivo do Estágio .....	2
1.3. Atividades Desenvolvidas .....	2
1.3.1. O Laboratório de Microbiologia.....	2
1.3.2. Controlo de Qualidade .....	4
1.3.3. Análises Microbiológicas.....	4
1.3.3.1 Análise Macroscópica.....	4
1.3.3.2 Análise Microscópica.....	4
1.3.3.3 Exame Cultural .....	6
1.3.4. Principais Produtos Biológicos .....	7
1.3.5. Testes de Identificação de Microrganismos .....	13
1.3.6. Testes de Suscetibilidade aos Antibióticos.....	13
1.4. Conclusão .....	14
<b>2. Capítulo II: Estudo de Caso .....</b>	<b>15</b>
2.1. Introdução .....	15
2.1.1. Infecções do Trato Urinário.....	15
2.1.1.1 Epidemiologia .....	15
2.1.1.2 Classificação .....	16
2.1.1.3 Fatores de Risco.....	17
2.1.1.4 Agentes Etiológicos.....	18
2.1.1.5 Sinais e Sintomas .....	19
2.1.1.6 Diagnóstico.....	20
2.1.1.7 Terapêutica.....	21
2.1.2. Resistência aos Antibióticos.....	24

2.1.2.1 Resistência aos Antibióticos Beta-lactâmicos.....	26
2.2. Objetivos.....	28
2.3. Materiais e Métodos.....	29
2.3.1. População e Amostra.....	29
2.3.2. Aquisição de Resultados.....	29
2.3.3. Ética.....	30
2.3.4. Análise Estatística.....	30
2.4. Resultados.....	31
2.4.1. Caracterização Geral da População e da Amostra.....	31
2.4.2. Caracterização dos Agentes Etiológicos Mais Frequentes.....	35
2.4.3. Perfil de Multirresistências aos Antibióticos.....	39
2.5. Discussão.....	43
2.6. Conclusão.....	49
Referências Bibliográficas.....	50
Anexo 1.....	54
Anexo 2.....	57

## Lista de Abreviaturas

ADN	Ácido Desoxirribonucleico
AEQ	Avaliação Externa Da Qualidade
BAAR	Bactérias Álcool-Ácido Resistentes
BHI	Caldo Coração-Cérebro
CAM	Gelose Campyloset
CLED	<i>Cystine Lactose Eletrolyte Deficient</i>
CMI	Concentração Mínima Inibitória
CNF-1	Fator Necrotizante Citotóxico do Tipo 1
CO <sub>2</sub>	Dióxido de Carbono
COS	Gelose Sangue
CPSE	Gelose CHROMID® CPS® Elite
CQI	Controlo de Qualidade Interno
DGS	Direção-Geral da Saúde
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
ECDC	<i>European Centre for Disease Prevention and Control</i>
ERC	Enterobacteriáceas Resistentes aos Carbapenemos
ESBL	Beta-Lactamases de Espectro Alargado (do inglês, <i>Extended-Spectrum Beta-Lactamases</i> )
EUA	Estados Unidos da América
EUCAST	Comité Europeu de Testes de Suscetibilidade Antimicrobiana (do inglês, <i>European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing</i> )
GN	Caldo GN
GRAN	Gelose Granada
HEKT	Gelose Hektoen
IDSA	<i>Infectious Diseases Society of American</i>
ITU	Infeções do Trato Urinário
<i>K. pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae</i> Carbapenemase
LJ	Meio Löwenstein-Jensen
<i>M. morganii</i>	<i>Morganella morganii</i>
MCK	Gelose Macconkey
MHE/MHF	Gelose Mueller-Hinton

MRSA	<i>Staphylococcus Aureus</i> Meticilina Resistentes
MSA2	Gelose Chapman
O <sub>2</sub>	Oxigénio
OMS	Organização Mundial de Saúde
<i>P. mirabilis</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>P. stuartii</i>	<i>Providencia stuartii</i>
PBPs	Proteínas de Ligação à Penicilina
PPCIRA	Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistências aos Antimicrobianos
PVX	Gelose Chocolate
SGC2	Gelose Sabouraud
TODD H-T	Caldo Todd-Hewitt
TSA	Testes de Suscetibilidade aos Antibióticos
UFC	Unidade Formadora de Colónias
UK NEQAS	<i>United Kingdom National External Quality Assessment Service</i>
VCA3	Gelose Chocolate VCAT3
VIH	Vírus da Imunodeficiência Humana

## Índice de Tabelas

Tabela 1 – Meios de cultura utilizados no laboratório de microbiologia (1).....	6
Tabela 2 – Número de casos por sexo e por grupo etário na população de positivos para ITU.....	31
Tabela 3 – Número de casos por sexo e por grupo etário na amostra multirresistentes.....	31
Tabela 4 – Prevalência dos agentes etiológicos mais frequentes por sexo no total da população de uroculturas positivas.....	35
Tabela 5 – Prevalência dos agentes etiológicos mais frequentes por sexo na amostra de uroculturas positivas causadas por microrganismos multirresistentes e frequência relativa na população de positivos. ....	36
Tabela 6 – Prevalência dos agentes etiológicos mais frequentes por grupo etário na população de uroculturas positivas.....	37
Tabela 7 – Prevalência dos agentes etiológicos mais frequentes por grupo etário na amostra de uroculturas positivas causadas por microrganismos multirresistentes.....	38
Tabela 8 – Número de resistências dos agentes etiológicos mais frequentes.....	39
Tabela 9 – Distribuição de doentes sem sensibilidade a nenhum antibiótico. ....	40
Tabela 10 – Percentagem de resistência aos antibióticos mais representativos na amostra de microrganismos multirresistentes. ....	40
Tabela 11 – Perfil de resistências aos antibióticos dos agentes etiológicos mais frequentes na amostra de uroculturas positivas causadas por microrganismos multirresistentes.....	42

## Índice de Figuras

Figura 1 – Circuito dos produtos biológicos no laboratório de microbiologia.....	3
Figura 2 – Coloração de Gram (imagem adaptada) (2).....	5
Figura 3 – Coloração de Ziehl-Neelsen (imagem adaptada e modificada) (2).....	5
Figura 4 – Processamento de amostras de urina.....	8
Figura 5 – Processamento de exsudados vaginais/uretrais.....	9
Figura 6 – Processamento de exsudados vaginais/anais para pesquisa de <i>Streptococcus</i> do Grupo B. ..	9
Figura 7 – Processamento de fezes para coprocultura. ....	10
Figura 8 – Processamento de exsudados de ferida/pus e exsudados cutâneos.....	11
Figura 9 – Processamento de expetorações e secreções brônquicas.....	11
Figura 10 – Processamento de exsudados faríngeos e exsudados nasais.....	12
Figura 11 – Constituição básica do trato urinário feminino e masculino.....	16
Figura 12 – Mecanismos de ação dos antibióticos na célula bacteriana.....	23
Figura 13 – Mecanismos moleculares de resistência dos antibióticos na célula bacteriana.....	26
Figura 14 – Gráfico representativo dos dados da Tabela 2. ....	32
Figura 15 – Gráfico representativo dos dados da Tabela 3. ....	32
Figura 16 – Número de casos por mês e ano e linha de tendência de cada ano em estudo, relativo à população de uroculturas positivas.....	33
Figura 17 – Número de casos por mês e ano e linha de tendência de cada ano em estudo, relativo à amostra de uroculturas positivas causadas por microrganismos multirresistentes.....	34

## **Organização do Relatório**

Este relatório de estágio aborda o estágio curricular realizado para conclusão do Mestrado em Análises Clínicas e Saúde Pública e o projeto/estudo de caso desenvolvido, intitulado “Estudo de multirresistências aos antibióticos em infeções do trato urinário nos doentes de um Laboratório da Zona Norte de Portugal”.

De forma a compor duas componentes distintas neste relatório, foi organizado em dois capítulos:

- **Capítulo I**, contextualiza o estágio, objetivos e metodologias desenvolvidas no laboratório.
- **Capítulo II**, desenvolve-se o projeto com subdivisões de introdução com contextualização do tema, objetivos, metodologias, resultados, discussão dos mesmos e conclusão.

## 1. Capítulo I: Estágio

As análises clínicas são um dos mais importantes auxiliares de diagnóstico e monitorização de doenças da medicina moderna. Nos últimos anos, têm-se tornado cada vez mais específicas, diferenciando-se em diversas áreas como a Hematologia, a Bioquímica, a Imunologia, a Microbiologia, a Virologia e a Genética, sendo possível analisar-se diferentes tipos de produtos biológicos (sangue, urina, fezes, líquidos orgânicos, cateteres, fragmentos de tecido, entre outros). Esta diversidade e especificidade crescentes têm reduzido de forma substancial os custos e os erros na escolha dos tratamentos, assim como têm possibilitado intervenções precoces e a prevenção de futuras patologias. Para além disso, tornaram-se um dos mais importantes aliados da saúde pública, ao permitirem a monitorização da evolução da incidência de uma determinada doença, num local específico ou a nível global, o que possibilita a definição de estratégias de combate mais efetivas.

Os dados destas análises são tão mais valiosos quanto mais exatos, precisos e fidedignos forem. No sentido de se assegurar isto, têm sido desenvolvidos métodos cada vez mais sensíveis, específicos e rápidos, integrados em equipamentos automatizados que possibilitam a análise de um elevado número de amostras biológicas em pouco tempo, reduzindo a margem de erro humano e permitindo a obtenção dos resultados de forma mais rápida, o que é fulcral para travar a evolução clínica das patologias. Por outro lado, os laboratórios têm vindo a aperfeiçoar cada vez mais a sua forma de trabalhar, obtendo certificações e acreditação, que atestam a qualidade dos serviços prestados e a fidedignidade dos resultados. Assim, têm sido implementados programas de controlo de qualidade tanto internos como externos.

De facto, todos estes fatores permitem que os clínicos tomem decisões mais fundamentadas, assertivas e criteriosas, tratando os doentes, de forma o mais célere e eficaz possível ou impedindo que estes desenvolvam certas patologias no futuro.

O Mestrado em Análises Clínicas e Saúde Pública da ESS|PPorto (neste caso específico no ramo de Microbiologia e Saúde Pública), prevê no seu plano curricular do 2º ano, a realização de um estágio numa entidade pública ou privada. O estágio tem como finalidade permitir que os mestrandos contactem diretamente com o mercado de trabalho e com a rotina de um laboratório de análise clínicas, de forma a aperfeiçoar e consolidar competências e adquirir novas, que serão extremamente valiosas para o seu futuro profissional.

O meu estágio foi realizado no Laboratório do Porto do Centro de Medicina Laboratorial Germano de Sousa, de 10 de janeiro a 9 de junho de 2022. Neste estágio, acompanhei especificamente o dia a dia e o fluxo de trabalho, desde a receção das amostras biológicas até à interpretação dos resultados, do Laboratório de Microbiologia, Micobacteriologia e Parasitologia Clínica, sob a supervisão da médica patologista clínica Dra. Elsa Calado, responsável por esta unidade no laboratório do Porto.

## **1.1. Instituição e Contextualização do Estágio**

O Grupo Germano de Sousa, fundado em 1975, é um dos maiores grupos de laboratórios de análises clínicas de Portugal. Atualmente, para além dos Laboratórios de Patologia Clínica, detém ainda um Laboratório de Anatomia Patológica (CEDAP) e um Laboratório de Genética e Genómica e conta já com mais de 550 postos de colheita de amostras biológicas distribuídos por todo o país. Está presente também nos laboratórios dos Institutos/Hospitais CUF devido à parceria com o Grupo José de Melo Saúde, tem parcerias com empresas no âmbito da medicina do trabalho e com algumas residências seniores. O seu laboratório sede localiza-se em Lisboa, mas possui na cidade do Porto o seu segundo laboratório de maior dimensão que presta serviços a toda a zona norte de Portugal (até Viseu).

O Laboratório do Porto do Centro de Medicina Laboratorial Germano de Sousa, que tem como diretor técnico o médico patologista clínico Dr. José Fleming Torrinha, está dividido nas seguintes unidades: Biologia Molecular, Imunologia e Bioquímica, Hematologia e Hemóstase, Microbiologia, Diagnóstico Pré-Natal e Citometria de Fluxo. Nos laboratórios do grupo há uma preocupação constante com a formação e qualificação das equipas, com a investigação tecnológica e científica e com o controlo de qualidade de modo a garantir uma boa prestação de serviços e a manter a satisfação dos utentes.

## **1.2. Objetivo do Estágio**

O estágio teve como objetivo principal aprofundar conhecimentos, adquirir proficiência em metodologias e fomentar a análise crítica na área clínico-laboratorial da Microbiologia Clínica, bem como desenvolver competências interpessoais integrando a equipa multidisciplinar do Laboratório.

## **1.3. Atividades Desenvolvidas**

Neste relatório irei relatar todas as técnicas realizadas ou observadas e os conhecimentos/competências adquiridos, em todas as etapas do processo de análise das amostras biológicas tratadas no laboratório de microbiologia clínica, desde a receção das mesmas até à fase de interpretação, validação e emissão dos resultados, durante o meu período de estágio.

### **1.3.1. O Laboratório de Microbiologia**

O corpo humano é colonizado por diversos microrganismos que, em condições normais, não são patogénicos. No entanto, quando existe um desequilíbrio imunitário, esses microrganismos que existem nos diferentes microbiotas ou outros que existem no meio podem tornar-se agentes causadores de doenças (1). O papel do laboratório de microbiologia é detetar esses microrganismos, identificar o(s) agente(s) da doença e determinar a forma de tratamento mais eficaz, tendo em conta o seu perfil de sensibilidades aos fármacos (1).

A colheita das amostras biológicas nos postos e hospitais do Grupo Germano de Sousa é sempre feita utilizando procedimentos e materiais apropriados e após a confirmação de que o doente se encontra nas condições necessárias para a realização da mesma. A cada amostra biológica é lhe atribuída uma etiqueta com um número único identificador. Após a colheita, as amostras biológicas são encaminhadas para os laboratórios com a maior brevidade possível, garantindo sempre as condições de acondicionamento para que os materiais biológicos colhidos não se deterioreem. Já no laboratório as amostras biológicas são verificadas uma a uma, para averiguar qualquer não conformidade (meios de colheita incorretos, amostras biológicas vertidas, mal etiquetadas/não etiquetadas, volumes insuficientes, entre outros) e se não forem rejeitadas, são triadas para que fiquem registadas como colhidas no sistema informático do laboratório (o programa *apollo LIMS* da *Confidentia™*). As amostras biológicas aceites são depois distribuídas pelas diferentes unidades do laboratório para serem processadas.

O Laboratório de Microbiologia, Micobacteriologia e Parasitologia Clínica da Germano de Sousa Porto, dirigido pela Dra. Elsa Calado, recebe amostras biológicas de diversos tipos, provenientes quer dos postos de colheita do grupo, quer do Instituto/Hospital CUF Porto. Os principais microrganismos detetados são bactérias, mas também se detetam parasitas, fungos e vírus. Após a deteção dos agentes etiológicos, são realizados testes de identificação dos mesmos, que normalmente se iniciam pela observação do seu crescimento nos meios respetivos, passando depois para testes presuntivos e por fim para testes confirmatórios, utilizando um dos dois equipamentos automatizados disponíveis, o *MicroScan WalkAway 96 plus®* (*Beckman Coulter*) ou o *VITEK® 2 Compact* (*bioMérieux*). De seguida, são realizados testes de suscetibilidade aos antibióticos (TSA), também chamados antibiogramas, para se determinar a sensibilidade dos microrganismos aos fármacos e/ou identificar microrganismos multirresistentes. O diagnóstico termina com a análise dos resultados conjuntamente com a análise da ficha clínica do doente para se concluir qual a melhor terapêutica a aplicar tendo em conta o tipo de agente etiológico e o tipo de doente. O fluxograma seguinte demonstra os processos a que são sujeitas as amostras biológicas desde a sua receção até à saída do boletim de resultados validados (Figura 1).

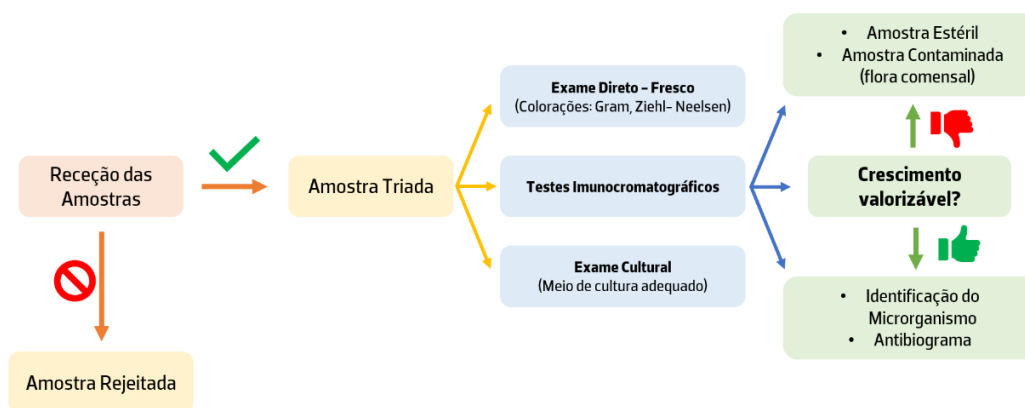


Figura 1 – Circuito dos produtos biológicos no laboratório de microbiologia.

### **1.3.2. Controlo de Qualidade**

Como qualquer laboratório certificado, os laboratórios do Grupo Germano de Sousa possuem dois sistemas de controlo da qualidade: o Controlo de Qualidade Interno (CQI) e a Avaliação Externa da Qualidade (AEQ). Embora exista uma certa uniformização, cada unidade tem as suas próprias estratégias no que diz respeito ao CQI.

O CQI faz-se maioritariamente utilizando preparações comerciais com parâmetros de análise conhecidos e faz-se tanto para níveis normais, quanto patológicos. Este é realizado diariamente ou semanalmente, dependendo dos parâmetros e das técnicas. Isto permite avaliar a precisão dos resultados bem como corrigir não conformidades. A AEQ é realizada para se aferir a exatidão dos resultados obtidos, uma vez que é realizada com preparações de conteúdo desconhecido e que os resultados são comparados com valores de referência. Estas preparações comerciais são enviadas pela entidade responsável pela avaliação e são processadas no laboratório como uma amostra biológica normal, usando as mesmas metodologias. O laboratório de microbiologia utiliza especificamente o programa *United Kingdom National External Quality Assessment Service (UK NEQAS)*.

### **1.3.3. Análises Microbiológicas**

#### **1.3.3.1 Análise Macroscópica**

Antes do início do processamento da amostra biológica deve verificar-se novamente, se está corretamente identificada, se corresponde à análise (requisição) correta, se foi colhida para o meio/recipiente correto e se existe volume suficiente para a realização de todos os procedimentos.

Em determinados produtos/situações é importante registar-se o aspeto visual, tal como consistência, volume, turvação, presença de sangue, entre outros.

#### **1.3.3.2 Análise Microscópica**

O exame microscópico direto do produto biológico permite verificar presença de células epiteliais, leucócitos, eritrócitos e microrganismos. Este exame realiza-se sempre em exsudados vaginais e uretrais. Por sua vez, o exame microscópico do produto biológico corado permite avaliar se este representa de facto uma infeção ou se está contaminado com flora comensal de zonas próximas. No laboratório de microbiologia são usados dois tipos de coloração: a coloração de *Gram* e a coloração de *Ziehl-Neelsen*.

A coloração de *Gram* (Figura 2) permite distinguir microrganismos Gram-positivos, cuja parede celular (com mais peptidoglicano, menos permeáveis) tem a capacidade de reter o corante violeta de cristal após descoloração (bactérias roxas), de microrganismos Gram-negativos, nos quais após descoloração, a

parede celular (com menos peptidoglicano, mais permeáveis) não é capaz de reter o corante violeta de cristal, ficando corados de vermelho pelo segundo corante (2). Esta coloração é utilizada em quase todos os tipos de produtos porque permite semiquantificar (raros, alguns, bastantes), diferenciar (cocos, bacilos, cocobacilos, estafilococos, estreptococos, leveduras) e analisar a morfologia dos leucócitos (mono e polimorfonucleares).

Por outro lado, a coloração de Ziehl-Neelsen (Figura 3) é utilizada na detecção de bactérias ácido-álcool resistentes (BAAR), como acontece com as micobactérias (ex.: *Mycobacterium tuberculosis*), cuja parede celular é resistente à coloração. Com a ajuda do calor, a parede celular torna-se capaz de absorver o corante fucsina fenicada, resistindo depois à descoloração por solventes orgânicos fortes como o álcool-ácido. Assim, as micobactérias ficam coradas de vermelho enquanto as restantes ficam coradas de azul (1). Esta coloração é utilizada em expetorações e secreções brônquicas.

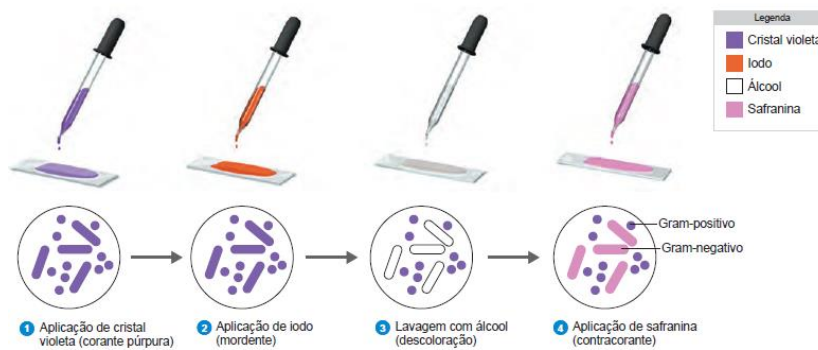


Figura 2 – Coloração de Gram (imagem adaptada) (2).

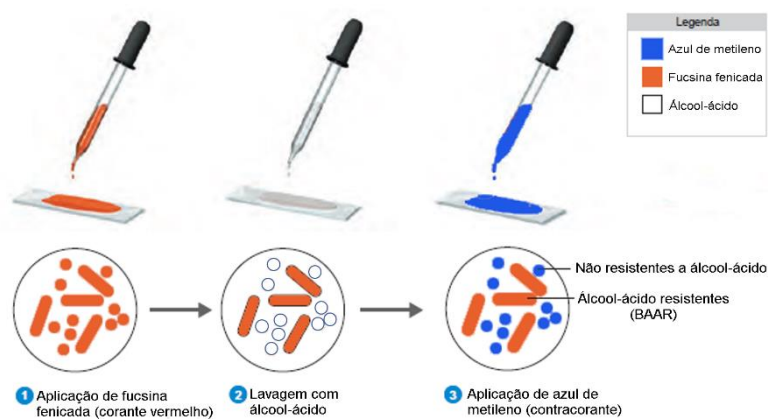


Figura 3 – Coloração de Ziehl-Neelsen (imagem adaptada e modificada) (2).

### 1.3.3.3 Exame Cultural

Relativamente ao exame cultural, os produtos devem ser inoculados, com a técnica de sementeira apropriada, nos meios corretos a fim de ser possível o isolamento dos microrganismos mais prováveis de serem encontrados na zona infetada, que serão posteriormente processados nos equipamentos. Para além disso, devem ser incubados em condições específicas (temperatura, nível de O<sub>2</sub> e nível de CO<sub>2</sub>). Os meios de cultura podem ser sólidos (colónias visíveis no meio) ou líquidos (turvação do meio indica crescimento) (1). Para além disso, podem ser não seletivos (permitem o crescimento da maioria dos microrganismos), meios de enriquecimento (permitem aumentar o número de microrganismos da amostra biológica), meios seletivos (favorecem o desenvolvimento de bactérias específicas e inibem o crescimento de outras) ou meios diferenciais (contêm compostos que permitem distinguir os diferentes tipos de bactérias) que também podem ser cromogénicos (contêm compostos que permitem identificar algumas bactérias) (1). A Tabela 1 mostra um resumo dos tipos de meios mais utilizados no laboratório de microbiologia, as suas características principais e tipos de utilização (1).

Tabela 1 – Meios de cultura utilizados no laboratório de microbiologia (1).

Meios de Cultura	Descrição
<b>Meios Sólidos</b>	
<b>Gelose Sangue (COS)</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Meio nutritivo, não seletivo;</li><li>• Isolamento de microrganismos fastidiosos e não fastidiosos;</li><li>• Contém sangue desfibrinado que permite ver a ação hemolítica (<math>\alpha</math>, <math>\beta</math> e <math>\gamma</math>) de alguns microrganismos, devido à presença do fator X (hemina).</li></ul>
<b>Gelose Chocolate (PVX)</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Meio altamente nutritivo, não seletivo;</li><li>• Isolamento de bactérias fastidiosas, como <i>Neisseria spp.</i> e <i>Haemophilus spp.</i>;</li><li>• Base nutritiva enriquecida com fator X (hemina) e V (NAD) provenientes da lise dos eritrócitos presentes no meio.</li></ul>
<b>Gelose Chocolate VCAT3 (VCA3)</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Meio seletivo para isolamento de <i>Neisseria gonorrhoeae</i> e <i>Neisseria meningitidis</i> em amostras biológicas polimicrobianas;</li><li>• Contém fatores V e X e um conjunto de antibióticos (Vancomicina, Colistina, Anfotericina B e Trimetoprim) que inibe o crescimento da maioria das bactérias.</li></ul>
<b>Gelose Sabouraud (SGC2)</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Meio seletivo para isolamento de fungos;</li><li>• Possui o pH ligeiramente ácido e dois antibióticos na composição (Gentamicina e Cloranfenicol) para inibir o crescimento bacteriano.</li></ul>
<b>Gelose MacConkey (MCK)</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Meio seletivo diferencial;</li><li>• Isolamento de bacilos Gram-negativos;</li><li>• Contém sais biliares e cristal violeta que inibem o crescimento de bactérias Gram-positivas;</li><li>• Permite distinguir as bactérias fermentadoras da lactose (colónias rosa/avermelhadas) das não fermentadoras (colónias incolores).</li></ul>
<b>Gelose Chapman (MSA2)</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Meio seletivo diferencial;</li><li>• Isolamento de <i>Staphylococcus spp.</i> devido à elevada concentração de NaCl;</li><li>• Permite distinguir as bactérias fermentadoras do manitol (colónias amarelas), como o <i>Staphylococcus aureus</i>, das não fermentadoras.</li></ul>

Tabela 1 – Meios de cultura utilizados no laboratório de microbiologia (1) (Cont.).

<b>Gelose Hektoen (HEKT)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Meio seletivo diferencial;</li> <li>• Isolamento de <i>Salmonella spp.</i> e <i>Shigella spp.</i> a partir de amostras de fezes;</li> <li>• Permite distinguir as bactérias produtoras de sulfato de hidrogénio (H<sub>2</sub>S), colónias negras.</li> </ul>
<b>Gelose Campyloset (CAM)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Meio seletivo;</li> <li>• Permite o isolamento de <i>Campylobacter spp.</i> em amostras de fezes.</li> </ul>
<b>Gelose Granada (GRAN)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Meio seletivo diferencial</li> <li>• Isolamento de <i>Streptococcus agalactiae</i> (forma colónias alaranjadas);</li> <li>• Contém antibióticos que inibem o crescimento de bactérias Gram-negativas e violeta cristal que inibe o crescimento de <i>Staphylococcus spp.</i></li> </ul>
<b>Gelose CHROMID® CPS® Elite (CPSE)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Meio seletivo, diferencial e de identificação (cromogénico);</li> <li>• Isolamento e identificação direta da <i>Escherichia coli</i> (colónias carmim) e identificação presuntiva de <i>Enterococcus faecalis</i>, <i>Klebsiella spp.</i>, <i>Enterobacter spp.</i>, <i>Serratia spp.</i>, <i>Citrobacter spp.</i>, <i>Proteus spp.</i>, <i>Providencia spp.</i> e <i>Morganella spp.</i>;</li> <li>• Contém substratos específicos de reações enzimáticas características de cada agente, evidenciadas por cores distintas;</li> <li>• Elevada concentração de agar que inibe o <i>swarming</i> (contaminação de toda a placa) do <i>Proteus spp.</i></li> </ul>
<b>Meio Löwenstein-Jensen (LJ)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Meio seletivo para cultura de micobactérias;</li> <li>• Glicerol usado como fonte de carbono para favorecer o crescimento do <i>Mycobacterium tuberculosis</i>.</li> </ul>
<b>Gelose Mueller-Hinton (MHE e MHF)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Meios não seletivos;</li> <li>• Permitem a realização de antibiogramas por difusão de bactérias não fastidiosas (MHE) e de bactérias fastidiosas (MHF);</li> <li>• O meio MHF tem sangue adicionado para permitir o crescimentos dos microrganismos mais exigentes (<i>Streptococcus spp.</i>, <i>Haemophilus spp.</i> e <i>Moraxella spp.</i>).</li> </ul>
<b>Meios Líquidos</b>	
<b>Caldo Todd-Hewitt (TODD H-T)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Caldo de enriquecimento seletivo para <i>Streptococcus</i> do Grupo B.</li> </ul>
<b>Caldo Coração-Cérebro (BHI)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Caldo extremamente nutritivo que permite o crescimento de microrganismos exigentes.</li> </ul>
<b>Caldo GN (GN)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Caldo de enriquecimento seletivo para microrganismos patogénicos entéricos.</li> </ul>

### 1.3.4. Principais Produtos Biológicos

Todos os procedimentos descritos neste ponto estão de acordo com os protocolos do laboratório de microbiologia do Centro Medicina Laboratorial Germano de Sousa Porto. As culturas positivas prosseguem para testes de identificação e TSA, com exceção das amostras biológicas já identificadas com *Escherichia coli*, que apenas realizam TSA.

#### ➤ Urina

- Uma das amostras biológicas mais frequentes no laboratório de microbiologia para deteção de infeções do trato urinário (ITU) (1).

- Colheita do jato médio de urina feita pelo doente para frasco estéril, ou pelos pais no caso dos bebés para saco coletor, ou por profissionais de saúde no caso dos indivíduos algaliados.
- Exame bacteriológico de urina (urocultura): exame sumário da urina/urina tipo II + exame cultural.
- Exame de urina tipo II: o equipamento AUTION MAX AX-4030 (*Beckman Coulter*), analisa as propriedades bioquímicas da urina (glicose, proteínas, pH, eritrócitos, leucócitos, etc.) e o SEDIMAX (com microscópico incorporado), analisa o sedimento urinário (leucócitos, eritrócitos, bactérias, células epiteliais, etc.). Estas informações são fundamentais no auxílio do diagnóstico.
- Exame cultural para crescimento e isolamento dos microrganismos em placa (Figura 4).

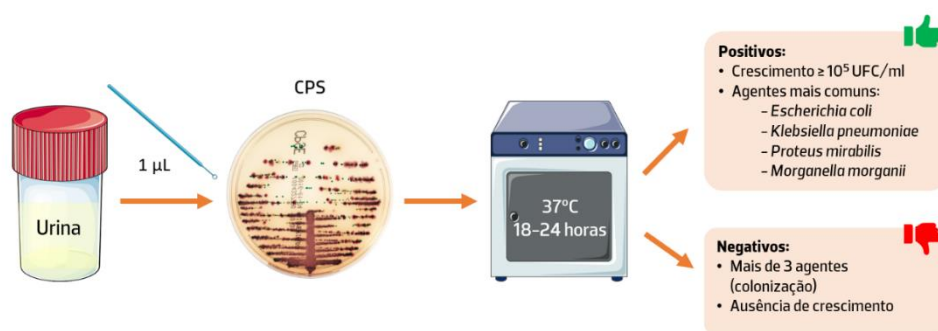


Figura 4 – Processamento de amostras de urina. (Nesta da figura foram usadas imagens da Servier Medical Art (3) e de <https://www.biomerieux-culturemedia.com>)

#### ➤ **Exsudados Urogenitais (Uretral e Vaginal)**

- Colheita realizada com zaragotas estéreis, em meio adequado para manter a viabilidade dos microrganismos.
- Exsudados vaginais/uretrais: diagnóstico de uretrites, vaginites e infeções sexualmente transmissíveis (IST) (Figura 5) (1).
- Exsudados vaginais/retais: pesquisa de *Streptococcus* do Grupo B em mulheres grávidas (Figura 6) (1).

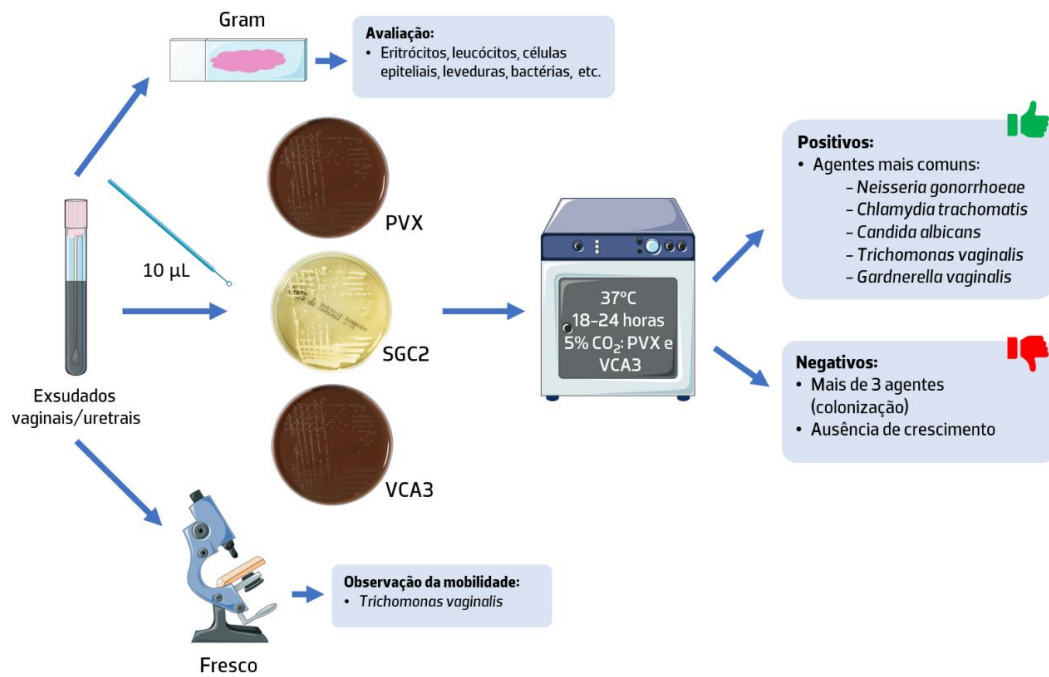


Figura 5 – Processamento de exsudados vaginais/uretrais. (Nesta da figura foram usadas imagens da Servier Medical Art (3) e de <https://www.biomerieux-culturemedia.com>)

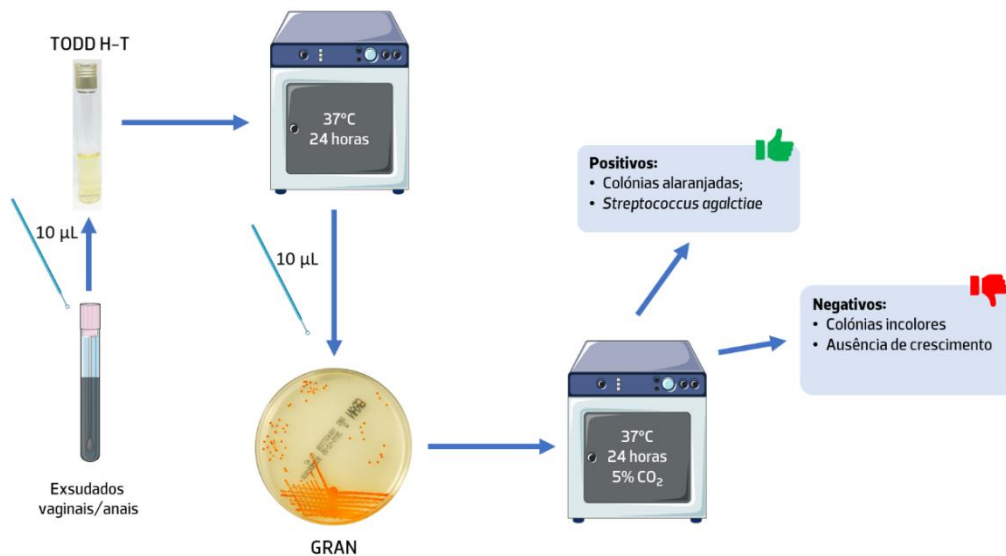


Figura 6 – Processamento de exsudados vaginais/anais para pesquisa de *Streptococcus* do Grupo B. (Nesta da figura foram usadas imagens da Servier Medical Art (3) e de <https://www.biomerieux-culturemedia.com>)

### ➤ Fezes

- Colheita realizada pelos doentes para recipientes estéreis.
- Exame cultural das fezes (coprocultura) que tem como finalidade a pesquisa de *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* e, se pedido, *Campylobacter spp.*, microrganismos causadores de distúrbios gastrointestinais (Figura 7) (1).

- Pesquisa por teste imunocromatográfico (kit comercial) de *Clostridium difficile* e das suas toxinas (A e B), agente causador de surtos de diarreia e colite pseudomembranosa (inflamação do cólon) principalmente em doentes hospitalizados (1).
- Pesquisa por teste imunocromatográfico (kit comercial) de sangue oculto nas fezes, para rastreio do cancro colorretal ou de outros problemas no trato gastrointestinal (4).
- Exame parasitológico de fezes (três amostras) por método de concentração (Método de Ritchie modificado) de forma a aumentar a probabilidade de encontrar quistos, ovos, larvas e trofozoítos (5). As amostras de fezes são processadas com um com um kit comercial (contém formaldeído a 10% como fixador e éter como solvente para extrair lípidos e detritos das fezes), filtradas, centrifugadas e analisadas ao microscópio (5).

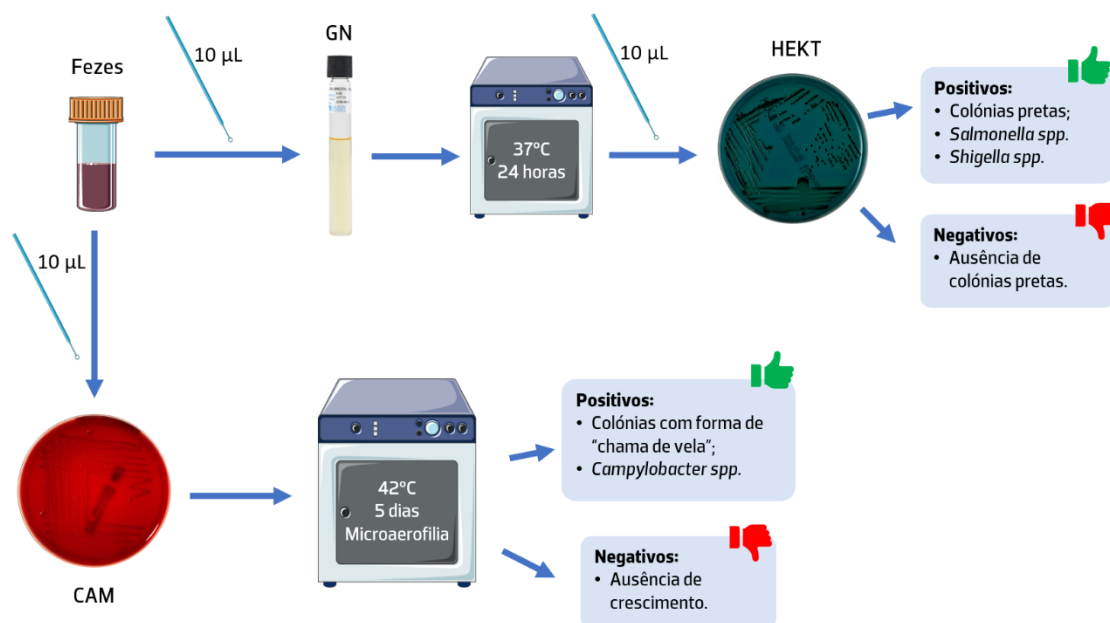


Figura 7 – Processamento de fezes para coprocultura. (Nesta da figura foram usadas imagens da Servier Medical Art (3) e de <https://www.biomerieux-culturemedia.com>)

#### ➤ Exsudados de Feridas/Pus e Cutâneos

- Colhidos por profissionais de saúde em zaragatoa.
- Diagnóstico de infeções em locais geralmente colonizados por microrganismos oportunistas (1) (Figura 8).
- Fundamental conhecer o local de colheita para diagnóstico correto.

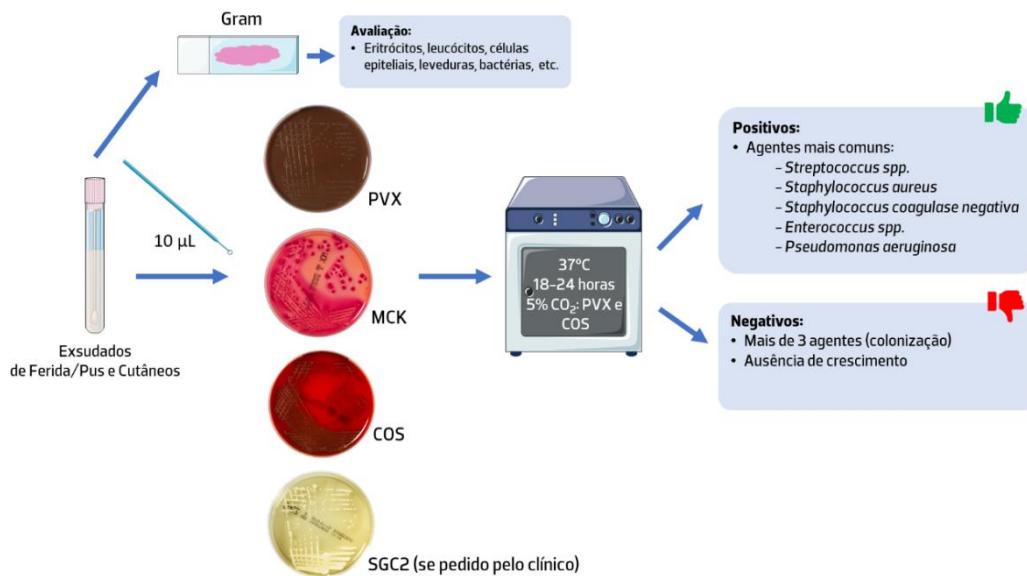


Figura 8 – Processamento de exsudados de ferida/pus e exsudados cutâneos. (Nesta da figura foram usadas imagens da Servier Medical Art (3) e de <https://www.biomerieux-culturemedia.com>)

### ➤ Secreções do Trato Respiratório Inferior

- Colhidas pelo doente (expetoração) ou pelo clínico (secreções brônquicas).
- Diagnóstico de bronquite ou pneumonia (Figura 9), infecções preocupantes que são por vezes causas de morte (1).

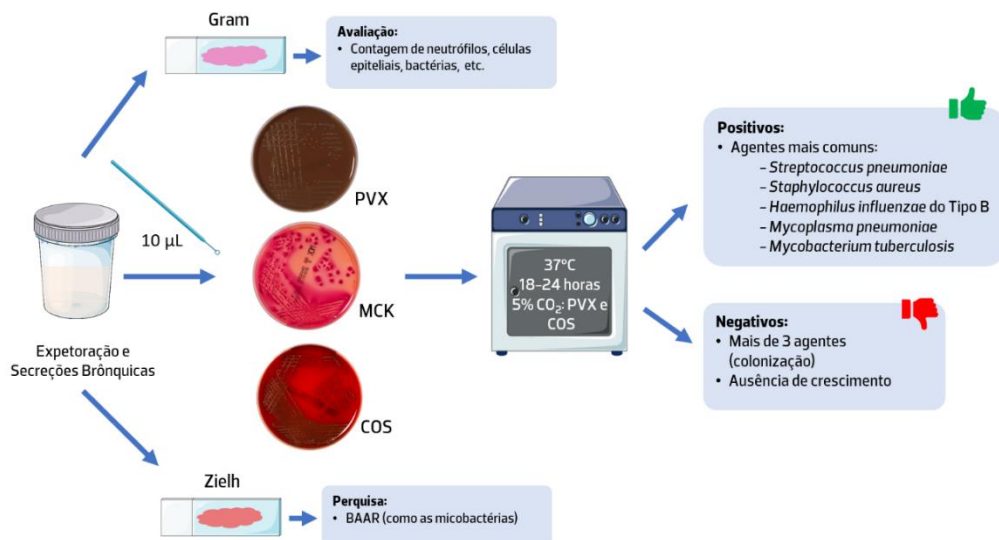


Figura 9 – Processamento de expetorações e secreções brônquicas. (Nesta da figura foram usadas imagens da Servier Medical Art (3) e de <https://www.biomerieux-culturemedia.com>)

➤ **Secreções do Trato Respiratório Superior**

- Colhidas pelos clínicos.
- Diagnóstico de faringite e sinusite que normalmente são infecções pouco graves, mas que podem evoluir para patologias mais sérias (1).
- Exsudados nasais: pesquisa de *Staphylococcus aureus* metilicina resistentes (MRSA). Formação de colônias amarelas na placa de gelose Chapman (Figura 10).
- Exsudados faríngeos: pesquisa de *Streptococcus pyogenes* ou de outros *Streptococcus* do Grupo A. Estes são beta-hemolíticos (visível em gelose sangue) e sensíveis à Bacitracina (Figura 10).

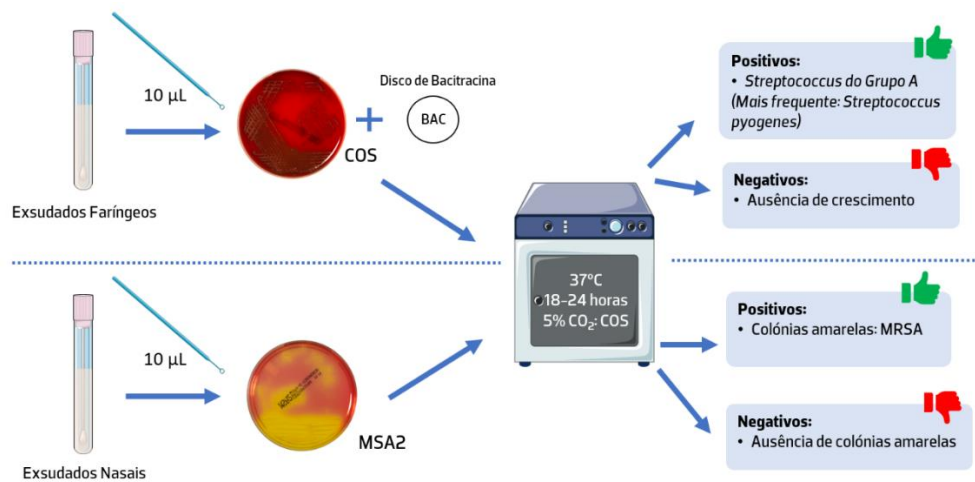


Figura 10 – Processamento de exsudados faríngeos e exsudados nasais. (Nesta da figura foram usadas imagens da Servier Medical Art (3) e de <https://www.biomerieux-culturemedia.com>)

➤ **Outros Produtos Biológicos**

- Exsudados auriculares e oculares
- Cateteres
- Líquidos purulentos e outros fluidos corporais (pleural, sinovial, cefalorraquidiano, entre outros)
- Esperma
- Fragmentos de biópsia
- Hemoculturas
- Aspirados do trato respiratório para pesquisa/cultura de micobactérias (*Mycobacterium tuberculosis*)

### 1.3.5. Testes de Identificação de Microrganismos

Após o isolamento dos microrganismos potencialmente causadores das diferentes infeções é feita a sua identificação.

No laboratório dispomos de dois tipos de equipamentos automatizados capazes de identificar microrganismos. O MicroScan WalkAway 96 plus® (Beckman Coulter), maioritariamente utilizado para identificação de microrganismos em amostras de urina, e o VITEK® 2 Compact (bioMérieux).

O MicroScan WalkAway 96 plus® utiliza painéis de microtitulação impregnados com substratos e antibióticos desidratados, fazendo uma identificação com base em provas bioquímicas. O equipamento lê os painéis e compara com a sua base de dados, de forma a identificar o microrganismo presente (6). Este equipamento possui painéis que fazem identificação e TSA, painéis que só fazem a identificação e painéis que só fazem o TSA. O VITEK® 2 Compact utiliza cartas que contêm substratos que determinam diferentes atividades metabólicas bacterianas (acidificação, alcalinização, atividade enzimática) para as identificar. Tal como no equipamento anterior, a leitura dos resultados dessas cartas é comparada pelo equipamento com a sua base de dados para obter a identificação do microrganismo (7). Este equipamento, ao contrário do anterior, possui cartas só para a identificação e cartas só para o TSA.

Para se determinar que tipo de carta/painel usar, são realizadas manualmente algumas provas bioquímicas (prova presuntivas) (1) de identificação de microrganismos tais como:

- Catalase – deteção da ação da enzima catalase por libertação de gás (formação de bolhas quando em contacto com o peróxido de hidrogénio). Ex.: *Staphylococcus spp.* (catalase +); *Streptococcus spp.* (catalase -).
- Oxidase – deteção da atividade da enzima citocromo oxidase (aparecimento da cor roxa quando em contacto com o reagente tetramil-pfenilenodiamina). Ex.: *Pseudomonas aeruginosa* (oxidase +); *Enterobacteriaceae* (oxidase -).
- Coagulase – deteção da enzima coagulase (formação coágulos quando em contacto com o plasma). Ex.: *Staphylococcus aureus* (coagulase +); outros *Staphylococcus* (coagulase -).

### 1.3.6. Testes de Suscetibilidade aos Antibióticos

O teste de suscetibilidade aos antibióticos serve para determinar se um microrganismo é resistente ou sensível à ação dos antibióticos testados que podem ser potenciais escolhas terapêuticas.

Os equipamentos automatizados como o MicroScan WalkAway 96 plus® e o VITEK® 2 Compact permitem a realização de TSA automáticos onde é determinada a concentração mínima inibitória (CMI) de cada antibiótico e os resultados obtidos são posteriormente interpretados com base nas normas do Comité Europeu de Testes de Suscetibilidade Antimicrobiana (EUCAST, do inglês *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) (6-9). Estes equipamentos permitem ainda a deteção de padrões de resistência bacteriana como bactérias produtoras de beta-lactamases de espectro alargado (ESBL, do inglês *Extended-Spectrum Beta-Lactamases*) ou bactérias produtoras de carbapenemases.

Por vezes os equipamentos não realizam os TSA corretamente ou há a necessidade de se fazerem provas confirmatórias de suscetibilidade. Para isso recorre-se a métodos manuais como método de difusão em disco (*Método de Kirby-Bauer*) onde se utilizam discos impregnados com concentrações conhecidas de certos antibióticos que são colocados num meio de cultura sólido, MHE ou MHF, previamente inoculado com o microrganismo em estudo. Após a incubação das placas (18–24h, a 37°C), formam-se halos de inibição à volta dos discos, que são medidos e interpretados, para determinação da suscetibilidade ou resistência do microrganismo aos antibióticos testados (1). Por outro lado, quando se pretende determinar ou confirmar a CMI de um fármaco utilizam-se tiras ETEST®, num processo similar ao dos discos, só que em vez da formação de um halo temos a formação de uma elipse inibitória. Essas tiras possuem uma escala, a elipse interceta a escala no valor da CMI (1).

#### **1.4. Conclusão**

A realização deste estágio permitiu-me compreender o funcionamento de um laboratório de análises clínicas de grande escala e vivenciar o dia-a-dia do trabalho nesta área. Considero que este foi de extrema importância para consolidar os conhecimentos adquiridos durante o 1º ano do Mestrado em Análises Clínicas e Saúde Pública e aprender e adquirir proficiência em novas técnicas e conceitos.

Na minha opinião a componente prática de um ciclo de estudo constitui sempre uma mais-valia para o futuro profissional dos estudantes, na medida em que lhes permite contactar pela primeira vez com o mercado de trabalho na sua área de formação.

No meu caso específico, tive a sorte de, não só poder participar e realizar todos os procedimentos técnicos inerentes ao trabalho de um laboratório de microbiologia, como também de participar e aprender com a discussão de resultados e determinação de terapêuticas com base na ficha clínica dos doentes. Isto permitiu-me desenvolver o meu espírito crítico e ter uma visão muito mais abrangente e consistente da forma como deve ser feito o diagnóstico das infeções e do critério e rigor da escolha dos tratamentos.

Este estágio foi uma experiência tão enriquecedora a nível profissional quanto pessoal porque tive a oportunidade de conviver com técnicos e clínicos de excelência que me demonstraram sempre a importância do trabalho de equipa.

Termino este estágio com uma convicção ainda maior do meu gosto pela área das análises clínicas, mais especificamente pela área da microbiologia e de que pretendo construir um futuro profissional nesta área.

## **2. Capítulo II: Estudo de Caso**

### **2.1. Introdução**

#### **2.1.1. Infecções do Trato Urinário**

As infecções do trato urinário (ITU) consistem na invasão tecidual e proliferação de microrganismos, geralmente bactérias, em alguma estrutura do trato urinário (rins, uretra, ureteres ou bexiga) (10, 11). Estas são consideradas das infecções bacterianas mais prevalentes, tanto em ambiente hospitalar quanto na comunidade e estima-se que sejam o segundo maior processo infeccioso logo após as infecções respiratórias (12, 13). Em indivíduos saudáveis a bexiga é estéril. No entanto, a presença transitória de microrganismos provenientes da microbiota intestinal na parte terminal da uretra, pode conduzir à sua multiplicação e invasão dos tecidos causando uma ITU. Em alguns doentes há o aparecimento de sintomas clínicos e de sinais de inflamação podendo até haver presença de leucócitos e de sangue (hematúria) na urina (10, 11).

##### **2.1.1.1 Epidemiologia**

As ITU são consideradas um dos tipos de infecção mais prevalentes nos humanos. O último estudo estatístico publicado em 2019 revelou que, só nesse ano, foram registadas mundialmente mais de 400 milhões de infecções do trato urinário, tendo cerca de 235 mil resultado em morte (14). Os dados demonstram que cerca de 15% das prescrições de antibióticos em ambulatório se destinam ao tratamento de ITU, na Europa e nos Estados Unidos da América (EUA) e também que, aproximadamente 8,3 milhões de visitas ao médico anualmente se devam a estas infecções (13, 15, 16).

Estudos anteriores demonstraram que a prevalência de ITU é mais elevada em indivíduos do sexo feminino devido à anatomia dos seus sistemas urinário e reprodutor e que, ao longo da sua vida, uma em cada cinco mulheres apresenta pelo menos um episódio de ITU (15-18). O sexo feminino quando comparado com o masculino apresenta uma prevalência de ITU cerca de 50 vezes superior, isto porque a via ascendente é a principal via de contaminação e na mulher, o canal da uretra é menor e existe uma maior proximidade entre a uretra e o ânus (Figura 11) (17, 18). Para além disso, o ambiente que rodeia a uretra masculina é mais seco e o fluido prostático tem atividade antibacteriana (19, 20).

A máxima frequência de casos de ITU no sexo feminino é entre os 18 e os 39 anos o que, teoricamente coincide com o grupo etário de maior atividade sexual, que por si só constitui um fator de risco (13, 15, 16). A menopausa e a gravidez também tornam as mulheres mais suscetíveis, sendo as ITU responsáveis por 20% das complicações durante a gestação e por cerca de 10% dos internamentos em grávidas (21, 22).

O risco de ITU também tende a aumentar com a idade em ambos os sexos já que, indivíduos de grupos etários mais elevadas, normalmente, apresentam outras patologias associadas (comorbilidades) (17, 18).

Para além das comorbilidades, os mais idosos também apresentam um sistema imunitário mais débil e, em alguns casos, vários internamentos sistemáticos ou permanência em lares/casas de repouso que aumentam a predisposição para infeções (13, 23). Por outro lado, a partir dos 50 anos, no sexo masculino, a prevalência pode aumentar, para valores próximos da prevalência no sexo feminino, devido à ocorrência de doenças prostáticas como a hiperplasia benigna da próstata que provoca obstrução do canal urinário (20).

Alguns trabalhos revelaram que existe um risco aumentado de recorrência de ITU nos meses seguintes à primeira infeção, podendo voltar a ocorrer mais do que uma vez nesse período (15, 24).

Outro estudo realizado em doentes com cistite aguda não complicada demonstrou que, em aproximadamente metade dos participantes, os sintomas eram impeditivos de realizar as atividades diárias normais, como ir para o trabalho ou para a escola (25). Isto mostra que o dia-a-dia dos doentes é muito afetado durante a ITU, pelo que é fundamental que estas infeções continuem a ser estudadas de modo a assegurar a melhoria da sua qualidade de vida.

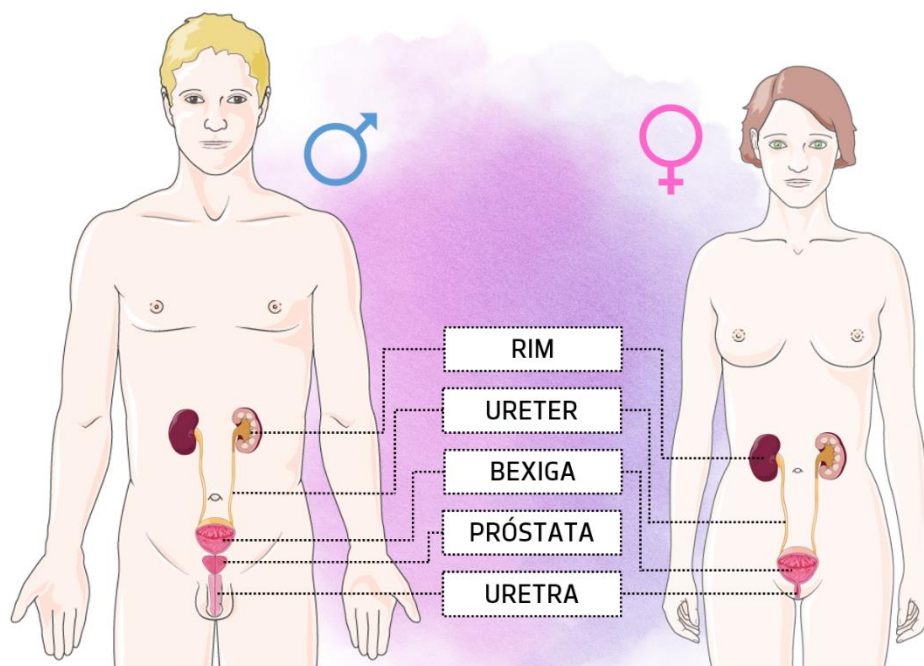


Figura 11 – Constituição básica do trato urinário feminino e masculino. (Nesta da figura foram usadas imagens da Servier Medical Art. (3))

### 2.1.1.2 Classificação

As infeções urinárias que podem ou não (bacteriúria assintomática) causar sintomas, apresentam três formas de classificação quanto: à anatomia, ao grau de severidade e à evolução clínica.

Segundo a sua localização anatómica (Figura 11) as ITU dividem-se face ao segmento afetado em: infeções do trato urinário superior e infeções do trato urinário inferior. As infeções do trato urinário

inferior envolvem a uretra (uretrite), a bexiga (cistite) e nos homens a próstata (prostatite); enquanto as infecções do trato urinário superior envolvem os ureteres (ureterite) e os rins (pielonefrite) (10-12, 26, 27). Mesmo estando situadas apenas num segmento as ITU pode estender-se a outros órgãos do sistema urinário provocando uma infecção mais grave que pode até levar a uma infecção generalizada (sépsis) (28, 29).

As ITU podem ser consideradas, segundo o grau de severidade da infecção, complicadas ou não complicadas. Estas são não complicadas quando afetam indivíduos saudáveis, geralmente jovens e principalmente mulheres não grávidas, que não apresentam anomalias quer estruturais, quer funcionais do trato urinário (12). Por outro lado, são consideradas complicadas quando se encontram associadas a fatores que comprometem as defesas do doente (idade, imunossupressão); quando existem anomalias do trato urinário (anomalias congénitas, bexiga neurogénica, obstrução do trato urinário, instrumentação médica); ou quando estão associadas a outras condições clínicas que possam aumentar o risco de insucesso do tratamento (gravidez, diabetes, infecção por vírus da imunodeficiência humana (VIH), insuficiência renal, transplante renal) (10-12, 26, 27).

Quanto à sua evolução clínica as ITU podem ser classificadas como isoladas ou recorrentes que por sua vez podem ser reinfeções ou recidivas (30). Uma infecção recorrente define-se pela ocorrência de pelo menos duas infecções não complicadas no espaço de seis meses, ou três ou mais infecções no intervalo de doze meses, após uma infecção inicial que aparentemente havia sido erradicada. Assim, considera-se reinfeção quando o doente apresenta uma nova infecção causada por um microrganismo distinto do da infecção inicial que geralmente é sensível ao tratamento. Já uma recidiva resulta do insucesso terapêutico da primeira infecção e é causada pelo mesmo microrganismo da infecção anterior que normalmente apresenta resistências aos fármacos (31).

### **2.1.1.3 Fatores de Risco**

Os indivíduos do sexo feminino, como já referido, estão mais propensos a desenvolver infecções urinárias e apresentam mais fatores de risco, tais como a:

- Anatomia do trato génito-urinário – uretra mais curta e mais próxima do ânus do que no sexo masculino (Figura 11) (17, 18);
- Atividade sexual/uso de espermicidas – provocam uma redução dos microrganismos protetores do microbiota vaginal contribuindo para a proliferação de bactérias patogénicas (32, 33);
- Menopausa – diminui a produção de estrogénio que leva ao aumento do pH e da secreção vaginal, diminuindo o crescimento dos microrganismos protetores e permitindo que microrganismos patogénicos cresçam (32, 33);

- Gravidez – a dilatação da pelve renal e dos ureteres, a redução do tónus vesical e o aumento do pH da urina da grávida, favorecem o refluxo de urina da bexiga para os rins conduzindo a um aumento do crescimento bacteriano no trato urinário (34);
- Diabetes mellitus – quando não controlada aumenta a prevalência de ITU (16).

Exclusivamente nos homens, algumas anomalias anatómicas do trato urinário como a hiperplasia benigna da próstata ou o carcinoma da próstata geralmente provocam obstrução do fluxo urinário e consequente esvaziamento vesical incompleto levando à presença de urina residual, que contribui para o aumento de infeções urinárias (35).

Alguns dos restantes fatores de risco de ITU são: o histórico familiar (fatores genéticos) (36), a obstrução do trato urinário (37), o refluxo vesico-uretral (37), a bexiga neurogénica (36) e a cateterização (36, 37).

#### **2.1.1.4 Agentes Etiológicos**

Embora as ITU possam ser causadas por outros agentes, os principais microrganismos patogénicos responsáveis por elas são as bactérias. De entre os agentes mais prevalentes podemos destacar a família de bactérias Gram-negativas, *Enterobacteriaceae*. Pertencente a esta família de bactérias temos o agente etiológico causador de infeções urinárias mais comum, tanto a nível comunitário quanto hospitalar, a *Escherichia coli* (*E. coli*), que é detetada entre 65%–90% dos casos (18, 38, 39). O facto da *E. coli* ser um microrganismo da flora do trato intestinal, que está anatomicamente próximo da uretra e os seus muitos fatores de virulência, explica os seus elevados valores de prevalência (36). Outros agentes da mesma família que também merecessem destaque em termos de maior prevalência são *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*), *Proteus mirabilis* (*P. mirabilis*) e *Enterobacter spp.* (10–12, 26, 27). Destes agentes importa salientar a *K. pneumoniae* que tem vindo a aumentar a sua frequência nos últimos anos, especialmente por ser um dos microrganismos com maior acúmulo de resistências aos antibióticos (40).

Inúmeros fatores como a idade e estado de saúde dos doentes, a sua localização geográfica, o local de onde provém o agente infeccioso (comunidade ou hospital/lar) e o contacto prévio e/ou recorrente com certos antibióticos, ajudam a determinar a etiologia das ITU e, consequentemente, as resistências que esses microrganismos vão adquirindo (41, 42).

Podemos ainda destacar a alta prevalência (cerca de 80%) de *E. coli* e *Staphylococcus saprophyticus*, em mulheres em idade reprodutiva (<50 anos) e de *Pseudomonas aeruginosa* e *Proteus spp.* em doentes mais velhos devido ao contacto excessivo com antibióticos (16, 42).

Sendo a *E. coli*, destacadamente, a estirpe mais frequente em ITU é fundamental conhecer os seus fatores de virulência, que promovem a sua capacidade de adesão, invasão e persistência no trato urinário, provocando danos tecidulares. Em primeiro lugar temos as adesinas, denominadas fímbrias ou pili (tipo I ou P) que são estruturas filamentosas que conferem à bactéria a capacidade de aderir às células

do trato urinário, evitando a sua eliminação (28). Depois temos a libertação de toxinas, como a  $\alpha$ -hemolisina, o fator necrotizante citotóxico do tipo 1 (CNF-1) e a toxina de secreção autotransportadora (Sat), que interferem nos processos de sinalização celular para modelar a resposta inflamatória e causar danos nas células do trato urinário (43). Outro mecanismo de virulência importante é a capacidade de formação de Biofilmes, que são agregados de microorganismos, normalmente bactérias, anexados a uma superfície, revestidos por uma camada de compostos extracelulares (a matriz) que favorecem o crescimento microbiano exponencial. Estes comprometem a ação do sistema imunitário do doente e os mecanismos de ação dos antibióticos, permitindo que as bactérias permaneçam durante meses no trato urinário, aumentando a probabilidade de infecções recorrentes (44). Por fim, temos conjuntos de genes, designados ilhas de patogenicidade, que potenciam a capacidade patogénica dos microorganismos, codificando muitos dos fatores de virulência abordados previamente e lhes conferem resistência aos antibióticos (13, 43).

Verifica-se assim que os fatores de virulência conseguem interferir nos mecanismos de defesa inata e adaptativa do hospedeiro, provocando uma resposta inflamatória no organismo. Podemos concluir que, um maior número de fatores de virulência confere uma maior patogenicidade às bactérias, tornando-se altamente prejudicial para o organismo afetado (13, 43).

### **2.1.1.5 Sinais e Sintomas**

As ITU são normalmente diagnosticadas com base nas manifestações clínicas dos doentes, na maioria das vezes nem se chegando a realizar exames laboratoriais (exame bacteriológico de urina). No caso destas infecções serem não complicadas e sintomáticas, como a cistite, são frequentes os sintomas seguintes: disúria (dor na micção), urgência miccional, ardor acompanhado de desconforto logo após a micção, polaquiúria (maior frequência de micções com menor volume de urina), dor suprapúbica e nictúria (maior número de micções durante a noite do que durante o dia). Muitos doentes relatam uma sensação de esvaziamento incompleto da bexiga, mesmo após terem terminado de urinar e urina com mau cheiro, que é característico de ITU. A urina pode ainda ter uma aparência turva pela presença leucócitos degenerados ou pus (piúria) ou aparecer avermelhada pela presença de sangue (hematúria). Nestes casos poderá tratar-se de uma infecção mais grave pelo que o doente deverá recorrer aos serviços de saúde (13, 19, 20, 36, 45).

Por sua vez, as infecções complicadas, como a pielonefrite, ou infecções recorrentes podem inicialmente apresentar um quadro clínico idêntico ao de uma ITU não complicada, mas depois evoluem para sintomas mais graves como: febre, geralmente superior a 38°C, náuseas, vômitos, calafrios e dor lombar unilateral ou bilateral que pode difundir para o abdómen, flancos ou virilha (20, 36, 45, 46).

O diagnóstico clínico das ITU assintomáticas é bem mais complicado devido à ausência de manifestações clínicas, sendo os idosos o grupo etário mais afetado por infecções urinárias assintomáticas, cuja incidência tende a ir aumentando com a idade (42).

### 2.1.1.6 Diagnóstico

Na grande maioria dos casos o diagnóstico de ITU é realizado através do exame físico do doente, onde se avaliam os sintomas mencionados no ponto anterior e é aplicada a terapêutica empírica. No entanto, existem situações que podem estar relacionadas com características do doente (sexo, idade) ou com características da infecção (complicada, recorrente) onde são necessários exames laboratoriais à urina para se determinar o tratamento mais indicado (47).

Esses exames laboratoriais compreendem duas fases: a pré-analítica e a analítica. A fase pré-analítica implica a colheita de uma amostra de urina não contaminada. Para isso, o doente deve rejeitar o primeiro jato de urina e recolher o restante para um recipiente estéril, transportando a amostra de urina para o laboratório com a maior brevidade possível.

A fase analítica engloba vários testes à urina: análise química (tira-teste), análise microscópica (sedimento urinário), análise bacteriológica (urocultura) e teste de suscetibilidade aos antibióticos (TSA), se a urocultura for positiva (29). A análise química da urina avalia diversos indicadores da presença de ITU, tais como: a esterase leucocitária (presença de leucócitos na urina – piúria – indicador de inflamação); a presença de nitritos (indicam presença de bactérias porque as enterobactérias têm a capacidade de converter nitratos urinários em nitritos) e a presença de eritrócitos (hematúria) (19, 37, 46). Após a avaliação destes indicadores, que podem ser encontrados em maior ou menor quantidade, passa-se para a análise do sedimento urinário por microscopia, onde se verifica novamente a presença de leucócitos, de eritrócitos e também de bactérias e outros contaminantes (29). Atualmente estas duas análises são realizadas em aparelhos integrados que reportam os dados diretamente para o sistema informático do laboratório, devido à automatização e redução de *timings*.

Já com o conhecimento dos resultados das análises anteriores, é realizada uma urocultura onde a urina é diretamente inoculada (semeada com uma ansa), pela técnica de esgotamento por estria central, numa gelose adequada (meio não seletivo), sendo posteriormente incubada por um período de 18 a 48 horas a 37°C. O meio mais utilizado era o CLED (do inglês, *Cystine Lactose Eletrolyte Deficient*), um meio diferencial que permite distinguir os microrganismos fermentadores da lactose dos não fermentadores e impede o crescimento invasivo do *Proteus spp.* devido ao défice de eletrólitos (29). Atualmente já se utilizam meios de nova geração, diferenciais e colorimétricos que contêm substratos que vão conferir diferentes cores às colónias como é o caso do meio CPS® CHROMID® da bioMérieux (48). Considera-se uma urocultura positiva, uma cultura pura com crescimento superior a 10<sup>5</sup>UFC/ml (UFC, Unidade

Formadora de Colónias). Quando as uroculturas estão contaminadas com flora comensal vaginal, uretral ou da pele, designada colonização, são descartadas (29, 38, 49).

A última etapa são os testes de suscetibilidade aos antibióticos, realizados a todas as uroculturas positivas, que avaliam a sensibilidade das bactérias aos diferentes antibióticos (29). Os métodos automatizados, em equipamentos como o VITEK® 2 (bioMérieux), são hoje os mais usados. Estes utilizam cartas com um painel de antibióticos e medem a concentração mínima inibitória (CMI) de cada fármaco, melhorando a eficiência do laboratório devido ao seu tempo de processamento reduzido (28). No entanto, por vezes, é necessário realizarem-se testes de validação de resultados como por exemplo, para validar se uma estirpe é produtora de beta-lactamases de espectro alargado (ESBL, do inglês *Extended-Spectrum Beta-Lactamases*) (50). Para isso utiliza-se uma técnica de sinergismo com discos de difusão (*Método de Kirby-Bauer*) que consiste na difusão do antibiótico na superfície da gelose onde a bactéria foi inoculada, a partir de discos impregnados com o mesmo. À volta do disco deverá aparecer um halo de inibição, maior ou menor consoante a sensibilidade da estirpe bacteriana aos fármacos em teste (51). Quando há necessidade de confirmar a CMI de um antibiótico, utilizam-se as tiras ETEST® que possuem uma escala de diluições do fármaco e após crescimento em placa de um microrganismo e formação de uma elipse inibitória, permitem determinar esse valor (29).

### **2.1.1.7 Terapêutica**

A terapêutica das infeções do trato urinário deve ter como foco o controlo e alívio dos sintomas, evitar que a infeção adquira maior gravidade (afete o trato urinário superior) e erradicar o agente patológico do aparelho urinário (43). É extremamente importante que se inicie o mais precocemente possível de forma empírica (após colheita de urina para urocultura), para diminuir a morbilidade e a mortalidade (17).

No tratamento das infeções urinárias recorre-se frequentemente ao uso de antibióticos. Os antibióticos são fármacos naturais ou sintéticos que têm efeito bacteriostático (inibem o crescimento das bactérias) ou efeito bactericida (matam as bactérias). Quanto ao seu espectro de ação, os antibióticos podem ser de largo espectro, quando são capazes de atuar em muitas estirpes bacterianas, ou de espectro estreito quando só atuam em grupos específicos de bactérias (28, 29).

Um antibiótico escolhido empiricamente para tratar uma infeção deveria, idealmente, ter as seguintes características (28, 29):

- Apresentar um espectro de ação estreito e que não afete a flora comensal;
- Ter ação bactericida rápida;
- Ter um baixo nível de toxicidade e um elevado nível terapêutico;
- Apresentar o mínimo possível de reações adversas;
- Possuir várias vias de administração;
- Apresentar uma boa distribuição no local da infeção;

- Não ir contra as defesas do hospedeiro;
- Não induzir o aparecimento de resistências;
- Ter uma boa relação custo/eficácia.

Apesar de tudo, é altamente improvável que um único fármaco tenha todas estas características. Assim, os clínicos devem fazer uma avaliação de vários fatores e escolher criteriosamente o antibiótico a usar no tratamento de uma infecção específica. Os principais fatores a ter em consideração são fatores relacionados com: o hospedeiro (idade, gravidade da situação clínica, comorbilidades); o agente infeccioso (agentes patogénicos mais comuns, perfis de sensibilidade aos antibióticos) e o antibiótico (características farmacocinéticas, efeitos adversos) (43, 52). Após a seleção empírica do tratamento, aquando da obtenção do resultado do TSA este poderá ser ajustado (37).

O médico escocês Alexander Fleming descobriu, em 1929, o primeiro composto antimicrobiano, a Penicilina, que hoje é um antibiótico da classe dos beta-lactâmicos (53). Atualmente, os antibióticos estão divididos por várias classes, consoante o seu mecanismo de ação. Os diferentes antibióticos apresentam locais de ação específicos, ou seja, tem um alvo específico de atuação na célula bacteriana (toxicidade seletiva), que não deve existir nas células do hospedeiro. Portanto, a atividade antibacteriana destes fármacos prende-se com a inibição de mecanismos essenciais (Figura 12) para a sobrevivência da bactéria, que podem ser (28, 29):

- Inibição da síntese da parede celular;
- Inibição da síntese proteica;
- Inibição da síntese dos ácidos nucleicos;
- Danos na membrana plasmática;
- Inibição de processos metabólicos.

São exemplos de agentes bactericidas que interferem com a síntese da parede celular bacteriana, as penicilinas, as cefalosporinas, os carbapenemos e a Fosfomicina. Estes antibióticos ligam-se às proteínas responsáveis pelo crescimento da cadeia de peptidoglicano (principal constituinte da parede celular), diminuindo a síntese do mesmo, aumentando a quantidade de autolisinas e provocando a lise celular e consequente destruição da bactéria (28, 29, 54).

Os antibióticos da classe dos aminoglicosídeos (Gentamicina e Amicacina) e dos nitrofuranos (Nitrofurantoína) impedem a síntese proteica bloqueando a subunidade ribossomal 30S, o que provoca a leitura incorreta do código genético e a sintetização de proteínas aberrantes no ribossoma. Essas proteínas que serão depois incorporadas na parede celular da bactéria, promovem um aumento da absorção dos antibióticos e a saída de moléculas e iões vitais, conduzindo à sua morte (29, 39).

As quinolonas, por sua vez, atuam sobre a replicação dos ácidos nucleicos alterando os mecanismos da DNA girase, uma enzima que intervêm no enrolamento do ácido desoxirribonucleico (ADN), impedindo a separação das cadeias e inibindo a transcrição e a síntese proteica (28, 29, 39).

Também o Cotrimoxazol que pertence ao grupo das sulfonamidas, substâncias bacteriostáticas que inibem a síntese bacteriana do ácido tetraidrofólico (forma fisiologicamente ativa do ácido fólico), é um cofator necessário na síntese de purinas e timidinas e do ADN bacteriano, impedindo a sua proliferação. A combinação de fármacos Trimetoprim/Sulfametoxazol também interferem na síntese do ácido fólico (28, 29).

No caso específico das ITU, os fármacos mais usados no seu tratamento são: a Nitrofurantoína, a Fosfomicina, a combinação Trimetoprim/Sulfametoxazol, as fluoroquinolonas e os beta-lactâmicos, sendo que apenas alguns deste estão recomendados na Norma nº15/2011 da Direção-Geral da Saúde (DGS) como antibióticos de primeira linha no tratamento de cistite não complicada (13, 37, 45, 46, 52). No entanto, são vários os motivos para um doente não estar a responder à antibioterapia, a principal delas está relacionada com a resistência aos antibióticos, que está a pôr em risco a efetividade dos mesmos. São vários os fatores que contribuem para o aparecimento de resistências, de entre eles temos: o consumo excessivo de antibióticos, a terapêutica empírica prescrita erradamente e os internamentos prolongados (17, 18). Deste modo, torna-se imperativo que se conheçam os mecanismos pelos quais os microrganismos patogénicos adquirem resistência a estes fármacos, de forma a otimizar o tratamento das ITU, impedindo o aparecimento de novas resistências (43).

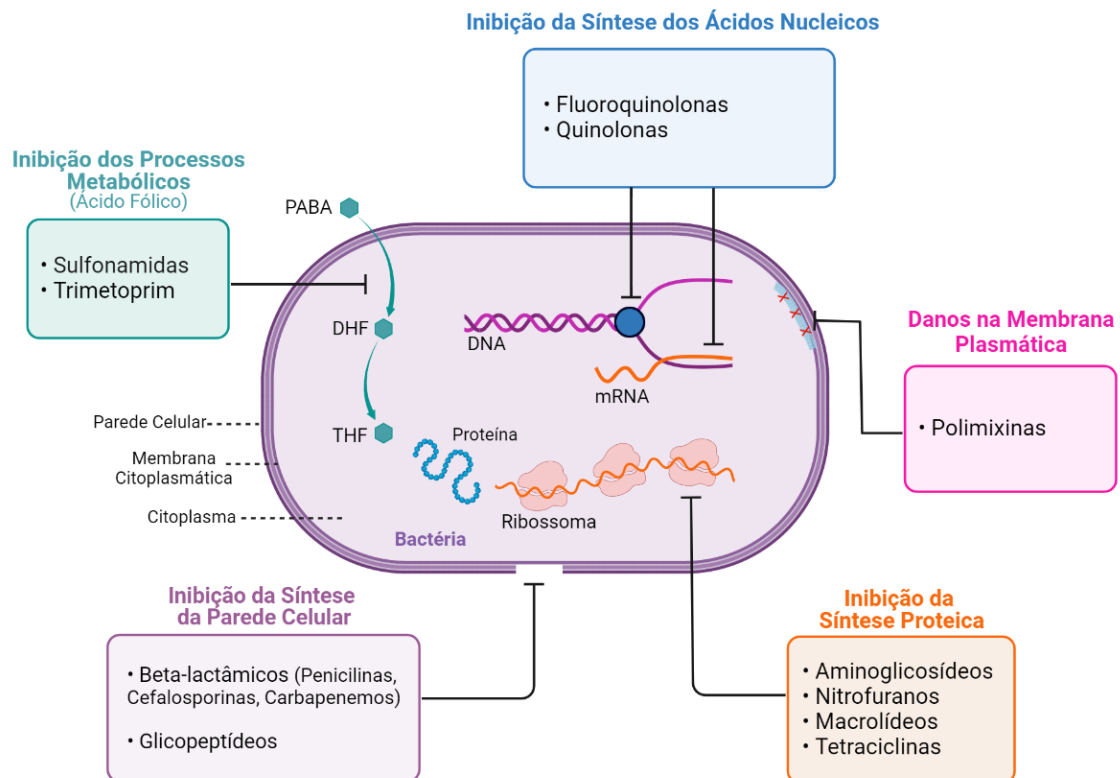


Figura 12 – Mecanismos de ação dos antibióticos na célula bacteriana. (Imagem criada no BioRender.com (55))

### **2.1.2. Resistência aos Antibióticos**

Em Portugal o consumo de antibióticos e a frequência de resistência das bactérias aos mesmos, são bastante elevados comparativamente aos países do norte da Europa (56, 57). Embora o relatório anual de 2021 do Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistências aos Antimicrobianos (PPCIRA) da DGS tenha demonstrado que o consumo de antibióticos tem vindo a diminuir nos últimos anos, também demonstrou que o consumo de antibióticos de largo espectro continua a aumentar, o que pode explicar o aparecimento de algumas resistências (58).

A resistência aos antibióticos é considerada um dos mais graves problemas de saúde pública no mundo. Para além de promover o aumento da morbilidade e da mortalidade, e conseqüente diminuição da qualidade de vida das populações, também tem trazido aumentos significativos nos custos com os serviços de saúde (28).

Existem dois tipos de resistência aos antibióticos: a natural e a adquirida. A resistência natural é uma característica intrínseca da própria bactéria, que ocorre mesmo sem uma exposição prévia ao antibiótico. Existem três possíveis razões que levam a essa resistência específica a determinados antibióticos: ausência de um processo metabólico influenciável pelo antibiótico; existência de enzimas que inativam o antibiótico ou presença de particularidades inerentes à morfologia bacteriana (por exemplo, ausência do local de ação) (28, 29).

A resistência verdadeiramente problemática é a resistência adquirida que se configura por alterações genéticas nos microrganismos. Estas alterações genéticas podem surgir por mutação espontânea num loci do cromossoma ou por transferência horizontal, isto é, aquisição de genes de resistência pertencentes a outros microrganismos, através de estruturas de ADN móveis como plasmídeos, integroes e transposões. A resistência adquirida aos antibióticos é um processo de acumulação de mutações, ou seja, um microrganismo pode ir-se tornando cada vez mais resistente ao longo do tempo (28, 29).

As bactérias apresentam os seguintes mecanismos moleculares de resistência adquirida aos antibióticos (Figura 13) (28, 29):

- Bombas de efluxo – exportam o antibiótico para o exterior da célula bacteriana impedindo a sua ação farmacológica;
- Alteração da permeabilidade da parede celular – impede o acesso do antibiótico ao meio intracelular, impedindo que atinja os locais alvo;
- Produção enzimática – modifica ou degrada o antibiótico inativando-o;
- Alteração genética do alvo – impede que o antibiótico se ligue ao seu local de ação.

As bactérias têm vindo a demonstrar uma notável habilidade em acumular resistências aos agentes antimicrobianos, tornando-se multirresistentes. Uma bactéria é multirresistente quando não é

suscetível a pelo menos um agente em três classes diferentes de antibióticos (40) e, regra geral, esses microrganismos com múltiplas resistências são mais comuns em infecções associadas aos cuidados de saúde (nosocomiais) do que as presentes na comunidade (26). Atualmente, estima-se que, por ano, existam cerca de 25 000 mortes na Europa e 700 000 no Mundo, relacionadas com infecções causadas por microrganismos multirresistentes (59). A resistência aos antibióticos foi assim considerada um problema prioritário pela Organização Mundial de Saúde (OMS), tendo esta instituído uma medida global para a contenção das resistências bacterianas a antibióticos através de programas de vigilância da suscetibilidade antimicrobiana (11, 60).

Nas ITU, os microrganismos que apresentam mais resistências aos antibióticos são a *E. coli*, a *Klebsiella spp.* e o *Proteus spp.*, muitas vezes sendo detetadas estirpes multirresistentes (61). Efetivamente, a família das Enterobacteriaceas tem particular importância pelo aumento exponencial de resistência adquirida aos antibióticos beta-lactâmicos, através da produção de beta-lactamases de espectro alargado, e aos carbapenemos, com produção de carbapenemases (62, 63). Uma bactéria torna-se resistente aos antibióticos beta-lactâmicos através da produção de beta-lactamases, específicas para um agente ou para vários (espectro alargado), que provocam a hidrólise do fármaco (26). As beta-lactamases de espectro alargado apresentam atividade contra todas as penicilinas e cefalosporinas e são sintetizadas geralmente por *Acinetobacter spp.*, *E. coli* e *K. pneumoniae* (12, 26). Deste modo, são utilizados carbapenemos, um grupo de antibióticos beta-lactâmicos de espectro muito alargado, no tratamento de infecções provocadas por bactérias produtoras de ESBL (59).

Por outro lado, tem-se registado nos últimos anos um elevado aumento de Enterobacteriaceas Resistentes aos Carbapenemos (ERC) principalmente nas unidades de cuidados de saúde, as quais apresentam resistências aos antibióticos do grupo dos carbapenemos. A aquisição destas resistências deve-se à ocorrência de determinadas mutações em bactérias ESBL, tornando-as impermeáveis à entrada dos carbapenemos ou à produção de carbapenemases que inativam o antibiótico. O principal microrganismo produtor de carbapenemases é a *Klebsiella pneumoniae*, sendo a Carbapenemase de *Klebsiella pneumoniae* (KPC), a bactéria multirresistente mais preocupante atualmente (58, 59). Segundo relatório da DGS, esta bactéria multirresistente viu a sua taxa de prevalência aumentar de 2,0% para 11,6%, entre 2013 e 2020 (58). Estas bactérias multirresistentes são particularmente problemáticas porque as suas resistências estão codificadas em plasmídeos, que podem ser transferidos para outras bactérias, facilitando o aparecimento de estirpes resistentes noutros microrganismos (26, 62).

A prescrição de antibióticos pelos clínicos deve ser feita com parcimónia e de forma o mais criteriosa possível pois é fundamental para o combate ao aumento de resistências dos microrganismos. Assim, considera-se fundamental a implementação de medidas que não só reduzam, como também tornem mais efetivo o consumo de antibióticos. A DGS sugere no “Plano Nacional de Combate à Resistência aos Antimicrobianos 2019–2023”: controlar a automedicação com medidas de restrição de venda de fármacos; reduzir a prescrição desnecessária ou inapropriada de antibióticos; documentar

detalhadamente a terapêutica prescrita no processo clínico do doente; reforçar as medidas de higiene para evitar a transferências de bactérias multirresistentes do ambiente hospitalar para a comunidade; implementar programas de apoio à prescrição de antibióticos e fomentar a investigação científica para o desenvolvimento de novos fármacos com diferentes mecanismos de ação (64).

A implementação célere destas medidas será uma importante arma no combate ao aparecimento de novas resistências.

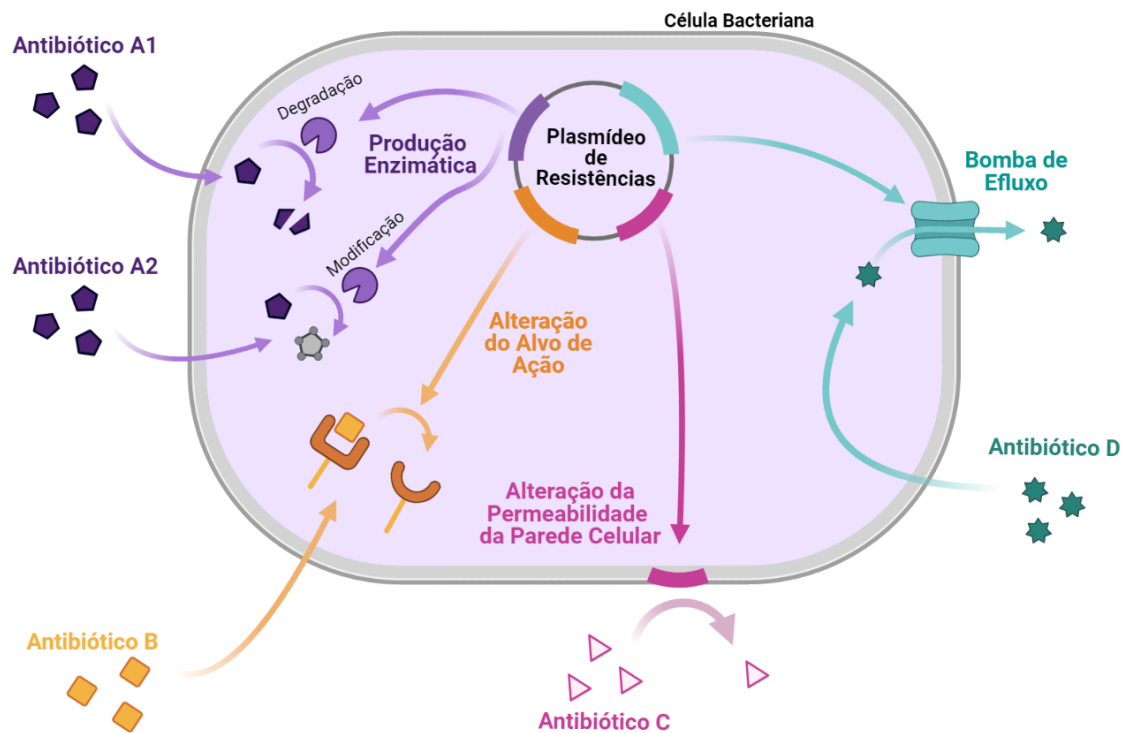


Figura 13 – Mecanismos moleculares de resistência dos antibióticos na célula bacteriana. (Imagem criada no BioRender.com (65))

### 2.1.2.1 Resistência aos Antibióticos Beta-lactâmicos

Os antibióticos da classe dos beta-lactâmicos possuem um anel designado, anel beta-lactâmico na sua estrutura molecular. Esta classe inclui: penicilinas e derivados, cefalosporinas, carbapenemos, monobactams e inibidores de beta-lactamases (66).

As cefalosporinas são agrupadas em gerações (1ª a 5ª) de acordo com o seu espectro de ação. Estas e os carbapenemos são considerados antibióticos de largo espectro. Por sua vez, os inibidores de beta-lactamases, como o Ácido Clavulânico, são administrados em combinação com os antibióticos beta-lactâmicos para ultrapassar a resistência das bactérias que produzem beta-lactamases e inativam a atividade destes fármacos (66).

A ação dos antibióticos beta-lactâmicos processa-se através da interferência ou inibição da síntese da parede celular por ligação às proteínas de ligação à penicilina (PBPs) nas bactérias. A parede celular bacteriana fica enfraquecida o que provoca a destruição da bactéria devido à pressão osmótica (66).

Existem vários mecanismos de resistência antimicrobiana aos antibióticos beta-lactâmicos. O mecanismo mais comum e mais importante é a expressão de beta-lactamases, por exemplo beta-lactamases de espectro alargado, enzimas AmpC plasmídicas e beta-lactamases que hidrolisam os carbapenemos (carbapenemases) (66).

A primeira enzima bacteriana descrita que conferia resistência à penicilina foi a beta-lactamase AmpC de *E.coli*. Nos dias de hoje, são conhecidas mais de 1500 beta-lactamases localizadas no cromossoma, em plasmídeos ou em transposões. As ESBL são capazes de fornecer resistência às penicilinas e às cefalosporinas e não são inativadas por inibidores, como o ácido clavulânico ou tazobactam (66).

Algumas estirpes de *E. coli* adquirem resistência aos beta-lactâmicos através da produção de ESBL do tipo TEM ou do tipo SHV, também designadas ceftazidimases que estão codificadas em plasmídeos. Estas enzimas conferem resistência a penicilinas e cefalosporinas, mas principalmente à Ceftazidima (entre as cefalosporinas de largo espectro) (67).

As beta-lactamases do tipo SHV são sintetizadas na maioria das estirpes de *K. pneumoniae*. O gene cromossómico blaSHV-1, que codifica a resistência à Amoxicilina, quando é associado a outras beta-lactamases transmitidas por plasmídeos, aumenta a possibilidade de desenvolvimento de um fenótipo ESBL (68).

As enzimas do tipo CTX-M, ao contrário das SHV e TEM, são consideradas cefotaximases porque conferem uma resistência muito maior à cefotaxima do que à ceftazidima. No entanto, têm surgido novas variantes que conferem resistência a ambos os antibióticos, como por exemplo a CTX-M-15 (67). As enzimas CTX-M tornaram-se as ESBL mais prevalentes e a elevada mobilidade dos genes que as codificam, por ser mediada por plasmídeos, conjugada com a antibioterapia ineficaz tem conduzido ao aparecimento de infeções por estirpes multirresistentes tanto a nível hospitalar como na comunidade (66, 67).

## **2.2. Objetivos**

Este trabalho tem como objetivo principal estudar e caracterizar a prevalência dos agentes etiológicos das infeções do trato urinário e o seu perfil de multirresistências adquiridas aos antibióticos através do registo dos utentes que recorreram a um laboratório de análises clínicas da zona norte de Portugal continental no período de 1 de janeiro de 2020 a 31 de dezembro de 2021. Pretende-se ainda:

- Estudar a prevalência de ITU na população total de doentes;
- Caracterizar a população de doentes com ITU e a amostra de doentes com ITU causadas por microrganismos multirresistente quanto ao sexo, ao grupo etário, à data de realização do exame e ao tipo de agente etiológico;
- Caracterizar as multirresistências aos antibióticos quanto ao agente etiológico e ao tipo de fármaco;
- Estabelecer comparações entre as diferentes variáveis em estudo.

A compreensão da dinâmica das multirresistências aos antibióticos, presentes nesta amostra, poderá ser um auxílio na prescrição empírica destes fármacos pelos clínicos.

## **2.3. Materiais e Métodos**

### **2.3.1. População e Amostra**

Realizou-se um estudo observacional descritivo transversal, no qual foram consultados os registos de resultados dos exames bacteriológicos de urina (uroculturas) com resultado positivo e respetivos testes de suscetibilidade aos antimicrobianos para multirresistências dos utentes adultos ( $\geq 18$  anos) de um laboratório de análises clínicas da zona norte de Portugal Continental, que foram realizados entre 1 de janeiro de 2020 e 31 de dezembro de 2021 (dois anos).

A população foi constituída por um total de registos de 15964 uroculturas positivas. Para cada registo de urocultura positiva, consultaram-se também a idade e o sexo dos indivíduos, bem como a data da realização dos exames (mês e ano). Desta população foram selecionadas as unidades amostrais que apresentaram multirresistência, entendendo-se como tal, apresentar resistência a pelo menos um agente em três ou mais classes de antimicrobianos, de acordo com os critérios do *European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC)* (69). Assim, foram excluídos os dados de todos os doentes que não obedeciam a este critério, obtendo-se amostra constituída por 2211 doentes que se encontravam infetados por um microrganismo causador de ITU multirresistente.

### **2.3.2. Aquisição de Resultados**

Os procedimentos de recolha, conservação, transporte e análise laboratorial das amostras de urina mantiveram-se inalterados durante todo o período em estudo de acordo com o Manual Interno da Qualidade do Laboratório, elaborado segundo as normas do Comité Europeu de Testes de Suscetibilidade Antimicrobiana (EUCAST, do inglês *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) (8, 9).

As variáveis estudadas neste trabalho foram: idade agrupada em 5 grupos etários (18-29; 30-49; 50-69; 70-89;  $\geq 90$  anos); sexo (feminino ou masculino); resultado de urocultura positiva; mês e ano da realização dos exames; agentes etiológicos mais frequentes; resultado do TSA (categorização clínica em Sensível, Intermédio e Resistente, de acordo com documento do EUCAST 2014 a 2017) (8, 9). Segundo o EUCAST, as amostras com resultado "intermédio" foram recodificadas como resistentes (8, 9).

Definimos urocultura positiva por cultura pura com crescimento superior a  $10^5$  UFC/ml, após colheita de uma amostra de urina por jato médio em frasco estéril e realização de uma sementeira em placa de meio sólido, diferencial e cromogénico (CHROMID® CPS® ELITE – *bioMérieux*) (48). No caso das uroculturas classificadas como positivas foi realizado um painel com identificação e respetivo TSA num dos sistemas automatizados MicroScan WalkAway 96 plus® (*Beckman Coulter*) ou VITEK® 2 Compact (*bioMérieux*).

Da análise dos dados, determinou-se quer na população, quer na amostra a frequência de uroculturas por sexo (feminino ou masculino) e por grupo etário (18-29; 30-49; 50-69; ≥70 anos); por mês e por ano da realização da análise e a prevalência das estirpes bacterianas no total da população/amostra, por sexo e por grupo etário. Apenas se selecionaram as estirpes mais frequentes, cada uma responsável por pelo menos 5% das uroculturas em estudo, o que correspondeu a 82% da população total e a 94% da amostra.

Determinou-se ainda o número de resistências das estirpes mais prevalentes anteriormente selecionadas, a frequência total de multirresistentes de cada estirpe e a sua representatividade percentual relativamente à população e à amostra.

No que diz respeito ao estudo dos antibióticos, definiram-se as percentagens de resistência dos antibióticos mais representativos na amostra de multirresistentes bem como a percentagem de resistência das estirpes mais prevalentes a cada antibiótico previamente selecionado. A seleção dos antibióticos mais representativos baseou-se em que cada um representasse pelo menos 5% das resistências aos antibióticos de todas as estirpes multirresistentes, o que correspondeu a um total de 97% das resistências encontradas.

Os dados tratados neste estudo foram obtidos através do sistema informático do laboratório recorrendo ao programa *appolo* LIMS (*Confidentia*<sup>TM</sup>).

### **2.3.3. Ética**

O acesso aos dados utilizados nesta dissertação foi autorizado pelo Conselho de Administração da empresa, sendo que os dados fornecidos estavam anonimizados e foi garantida a confidencialidade em todo o processo em estudo.

### **2.3.4. Análise Estatística**

Foi realizada uma análise estatística descritiva dos dados recorrendo ao programa Microsoft Office 365 Excel®, apresentando os resultados em gráficos e tabelas com os valores absolutos e percentagens das uroculturas e dos testes de suscetibilidade aos antibióticos.

## 2.4. Resultados

### 2.4.1. Caracterização Geral da População e da Amostra

A população é constituída por 15964 exames bacteriológicos de urina positivos. Destes, 13002 (81,4%) pertencem a indivíduos do sexo feminino e 2962 (18,6%) a indivíduos do sexo masculino (Tabela 2, Figura 14). Das 15964 uroculturas positivas, 2211 (14%) foram causadas por microrganismos multirresistentes. Dentro da amostra de uroculturas positivas causadas por microrganismos multirresistentes, 1455 (65,8%) são de indivíduos do sexo feminino e 756 (34,2%) são de indivíduos do sexo masculino (Tabela 3, Figura 15).

Quanto à distribuição das ITU por grupo etário podemos verificar que em ambas, população e amostra, o grupo etário  $\geq 70$  anos é a que revela maior expressividade, 50,0% e 76,5%, respetivamente (Tabela 2, Tabela 3). De igual forma, o grupo etário menos expressiva é a dos 18-29 anos, 7,1% e 0,7%, respetivamente (Tabela 2, Tabela 3). Também é igual o segundo grupo etário mais prevalente para ambas, 50-69 anos, correspondendo a 22,6% do total de uroculturas positivas e a 17,1% das uroculturas positivas por multirresistentes. Por fim, temos o grupo etário dos 30-49 anos a ser o terceiro mais prevalente, tanto na população com 20,3%, como na amostra de multirresistentes com 5,7% (Tabela 2, Tabela 3).

Tabela 2 – Número de casos por sexo e por grupo etário na população de positivos para ITU.

Grupo Etário (anos)	Feminino	Masculino	Total	
	n	n	n	%
18 - 29	1072	55	1127	7,1
30 - 49	2984	261	3245	20,3
50 - 69	2794	812	3606	22,6
$\geq 70$	6152	1834	7986	50,0
Total	n	13002	2962	15964
	%	81,4	18,6	

Legenda: n = frequência absoluta; % = frequência relativa

Tabela 3 – Número de casos por sexo e por grupo etário na amostra multirresistentes.

Grupo Etário (anos)	Feminino	Masculino	Total	
	n	n	n	%
18 - 29	12	4	16	0,7
30 - 49	83	42	125	5,7
50 - 69	193	185	378	17,1
$\geq 70$	1167	525	1692	76,5
Total	n	1455	756	2211
	%	65,8	34,2	

Legenda: n = frequência absoluta; % = frequência relativa

Ao analisarmos os gráficos da Figura 14 e da Figura 15 observamos, que na população de positivos, quer na amostra de multirresistentes, a clara prevalência de infecções no sexo feminino relativamente ao sexo masculino. Também é possível verificarmos que, apenas no grupo etário dos 50-69 anos, na amostra de uroculturas positivas por multirresistentes, a diferença na frequência de casos entre ambos os sexos é ligeira (Figura 15).

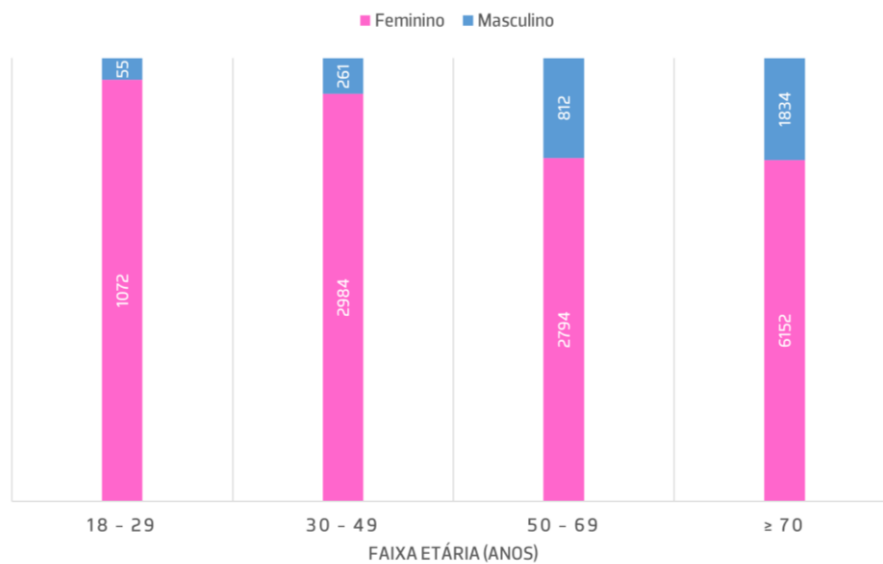


Figura 14 – Gráfico representativo dos dados da Tabela 2.

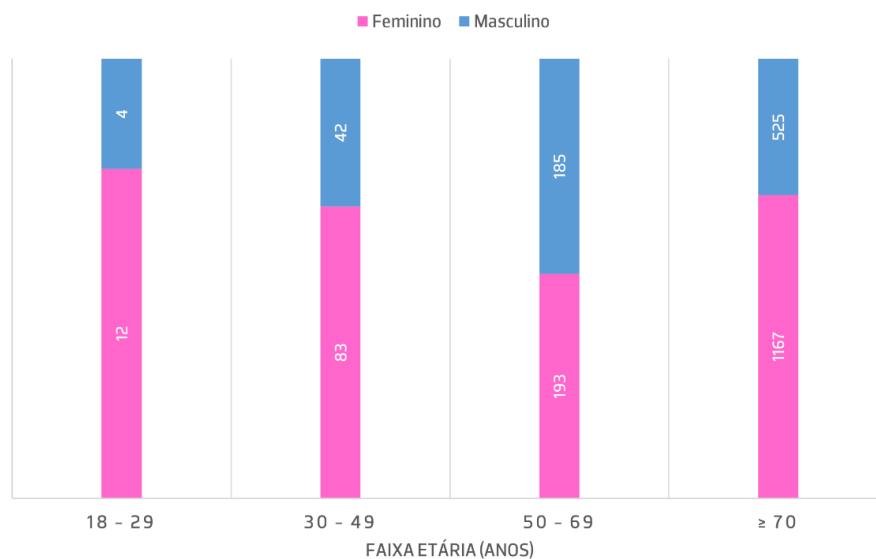


Figura 15 – Gráfico representativo dos dados da Tabela 3.

Este estudo compreendeu um período dois anos completos, os anos de 2020 e 2021. Como já foi referido anteriormente, durante estes dois anos foram reportados 15964 exames bacteriológicos de urina positivos, surgindo em maior número no ano de 2021 (n=8928) relativamente ao ano de 2020 (n=7036).

Em relação à distribuição das frequências na população de ITU ao longo dos meses do ano 2021, podemos observar pela linha de tendência do gráfico da Figura 16 que estas se mantiveram praticamente constantes ao longo de todo o ano. Os meses que registaram maior número de casos foram setembro com 839 e julho com 824 casos e os meses que registaram menor número de casos foram dezembro com 623 e janeiro com 628 casos (Figura 16). Relativamente ao ano 2020, pela análise da linha de tendência verifica-se que existe uma subida de casos no decorrer do ano (Figura 16). Podemos salientar um ligeiro pico de casos nos meses de verão (julho-setembro), sendo precisamente os meses de julho e de setembro os que registaram valores mais elevados, com 784 e 775 casos, respetivamente. Em contraste, os meses de abril com 376 e de janeiro com 408 casos foram os meses que apresentaram menor número de casos (Figura 16).

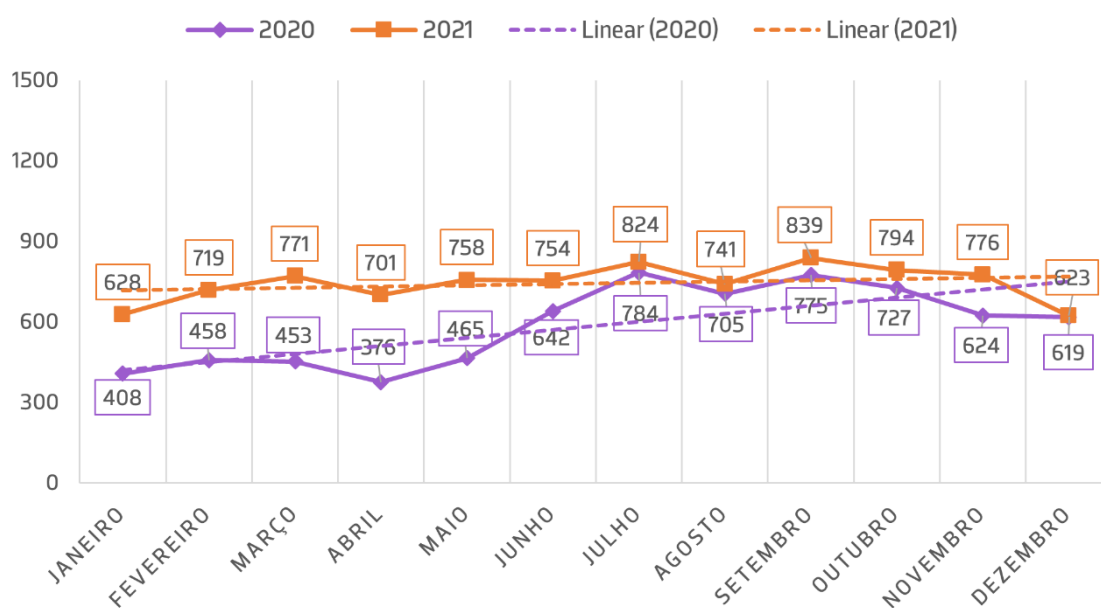


Figura 16 – Número de casos por mês e ano e linha de tendência de cada ano em estudo, relativo à população de uroculturas positivas.

O gráfico da Figura 17 apresenta o número de casos de ITU causados por microrganismos multirresistente nos dois anos anteriormente referidos. Também aqui, o ano de 2021 apresentou mais casos ( $n=1166$ ) do que o ano de 2020 ( $n=1045$ ). Quanto ao ano 2021, podemos constatar novamente que a linha de tendência se mantém praticamente constante ao longo dos meses (Figura 17). No entanto, para este conjunto de dados verificamos que os meses com mais registos casos são fevereiro com 116 e março com 110 casos. Os meses com menos registos casos foram novamente dezembro com 84 e também agosto com 87 casos (Figura 17). Por sua vez, o ano 2020 apresenta igualmente aqui uma tendência de subida no decurso do ano. Uma vez mais, verifica-se um pico nos meses de verão (julho-setembro), sendo desta vez o mês com maior número de casos agosto com 112 e novamente julho com 108 casos. Maio e abril (como na população de positivos) foram os meses que registarem os valores mais baixos, 67 casos e 70 casos, respetivamente.

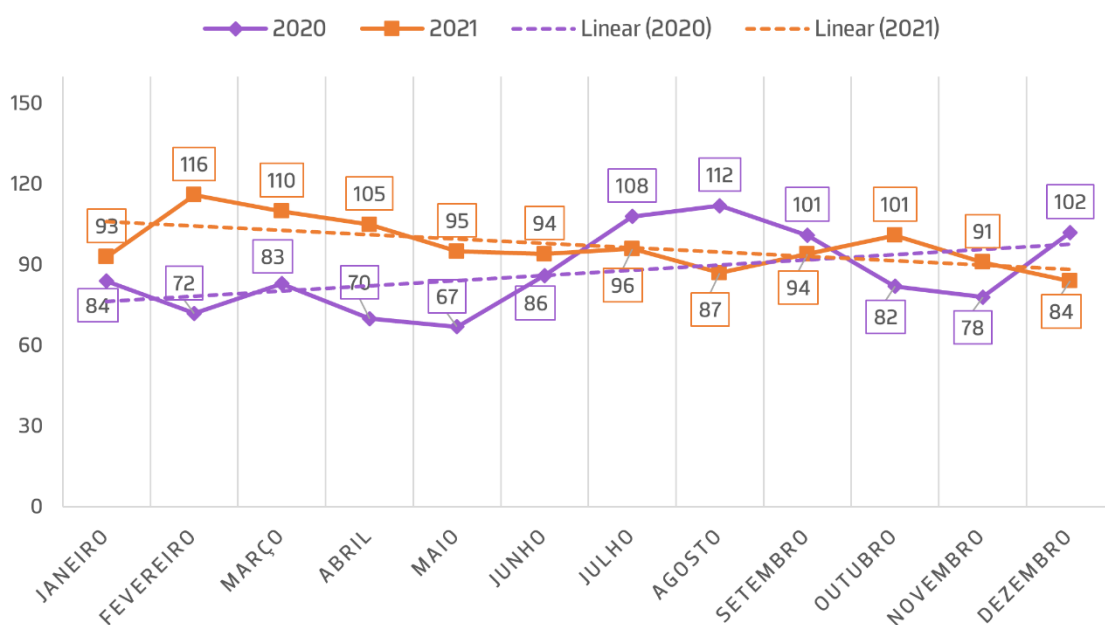


Figura 17 – Número de casos por mês e ano e linha de tendência de cada ano em estudo, relativo à amostra de uroculturas positivas causadas por microrganismos multirresistentes.

## 2.4.2. Caracterização dos Agentes Etiológicos Mais Frequentes

Nos dados em estudo encontrou-se uma enorme diversidade de microrganismos causadores de infeção. Para tornar o estudo mais conciso, seleccionaram-se as estirpes mais prevalentes, onde cada uma representasse pelo menos 5% das uroculturas em estudo. No caso da população de uroculturas positivas estas estirpes representam 82% do total e no caso da amostra de uroculturas positivas causadas por microrganismos multirresistentes representam 94%. No Anexo 1, encontram-se as tabelas completas com a frequência de todos os microrganismos para ambas, população e amostra.

Os microrganismos predominantes encontrados na população de ITU (Tabela 4) foram, por ordem decrescente: a *E. coli* (62,2%), a *K. pneumoniae* (13,4%) e o *P. mirabilis* (6,6%). A *E. coli* foi igualmente a estirpe mais encontrada nos doentes do sexo feminino (66,0%) e do sexo masculino (45,1%); seguida pela *K. pneumoniae*, 13,3% no sexo feminino e 13,8% no sexo masculino e por último o *P. mirabilis*, 5,9% no sexo feminino e 9,4% no sexo masculino (Tabela 4).

Tabela 4 – Prevalência dos agentes etiológicos mais frequentes por sexo no total da população de uroculturas positivas.

Microrganismos	Feminino		Masculino		Total	
	n	%	n	%	n	%
<i>Escherichia coli</i>	8586	66,0	1337	45,1	9923	62,2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1729	13,3	409	13,8	2138	13,4
<i>Proteus mirabilis</i>	769	5,9	279	9,4	1048	6,6

Legenda: n = frequência absoluta; % = frequência relativa

Em relação à amostra de ITU causadas por microrganismos multirresistentes são sete as estirpes que obedeceram aos critérios de seleção das estirpes mais prevalentes. Importa referir que não foi possível distinguir as KPC das restantes *Klebsiella pneumoniae* porque o sistema informático não permitia recolher essa informação. Portanto, muito provavelmente, os dados destas estirpes KPC, estão incluídos nas *Klebsiella pneumoniae* da amostra de multirresistentes. Apenas as estirpes produtoras de ESBL foram classificadas como tal pois o próprio equipamento já as identificava.

Neste caso, foi a *K. pneumoniae* a estirpe mais vezes encontrada (21,0%), seguindo-se a *E. coli* com 20,9%, a *E. coli* ESBL com 16,8%, a *K. pneumoniae* ESBL com 14,1%, o *P. mirabilis* com 8,5%, a *Providencia stuartii* (*P. stuartii*) com 7,4% e por fim a *Morganella morganii* (*M. morganii*) com 5,3% (Tabela 5). Em contraste, se formos analisar a prevalência destas estirpes em relação a cada sexo, a ordem de prevalência altera-se. Assim, nos indivíduos do sexo feminino a ordem de prevalência decrescente é: *E. coli* (22,1%), *K. pneumoniae* (19,8%), *E. coli* ESBL (18,8%), a *K. pneumoniae* ESBL (14,0%), *P. stuartii* (7,7%), *P. mirabilis* (7,5%) e *M. morganii* (5,3%). Já nos indivíduos do sexo masculino, onde existe apenas uma alteração em relação às prevalências para o total da amostra, temos: *K.*

*pneumoniae* (23,3%), *E. coli* (18,5%), *K. pneumoniae* ESBL (14,2%), *E. coli* ESBL (12,8%), *P. mirabilis* (10,6%), *P. stuartii* (6,9%) e *M. morganii* (5,3%) (Tabela 5).

Adicionalmente, verificou-se a prevalência destas estirpes multirresistentes em relação à população de positivos e constatou-se que a *K. pneumoniae* e a *E. coli* são novamente as estirpes multirresistentes com maior representatividade no total de positivos, ambas com 2,9%. A representatividade das restantes estirpes da maior para a menor prevalência é a seguinte: *E. coli* ESBL com 2,3%, *K. pneumoniae* ESBL com 1,9%, *P. mirabilis* com 1,2%, *P. stuartii* com 1,0% e *M. morganii* com 0,7% (Tabela 5).

Tabela 5 – Prevalência dos agentes etiológicos mais frequentes por sexo na amostra de uroculturas positivas causadas por microrganismos multirresistentes e frequência relativa na população de positivos.

Microrganismos	Feminino		Masculino		Total		% / Total Positivos
	n	%	n	%	n	%	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	288	19,8	176	23,3	464	21,0	2,9
<i>Escherichia coli</i>	321	22,1	140	18,5	461	20,9	2,9
<i>Escherichia coli</i> ESBL	274	18,8	97	12,8	371	16,8	2,3
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ESBL	204	14,0	107	14,2	311	14,1	1,9
<i>Proteus mirabilis</i>	109	7,5	80	10,6	189	8,5	1,2
<i>Providencia stuartii</i>	112	7,7	52	6,9	164	7,4	1,0
<i>Morganella morganii</i>	77	5,3	40	5,3	117	5,3	0,7

Legenda: n = frequência absoluta; % = frequência relativa

Também se foi analisar a prevalência de microrganismos quer na população, quer na amostra para cada grupo etário. Na população, considerando a distribuição das três estirpes mais prevalentes, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Proteus mirabilis*, verificou-se que a sua prevalência varia segundo o grupo etário (Tabela 6).

A *E. coli* continua a ser a estirpe mais prevalente em todos os grupos etários, apresentando a sua máxima prevalência nos grupos etários mais jovens. Assim, representa 75,5% das estirpes do grupo etário dos 30-49 anos e 72,1% do grupo etário dos 18-29 anos. Segue-se o grupo etário dos 50-69 anos, onde representa 68,1% das estirpes. O grupo etário onde apresenta menos expressividade é a dos ≥70 anos com 52,6% (Tabela 6).

A segunda estirpe mais encontrada em todos os grupos etários é, tal como acontece na população de positivos, a *K. pneumoniae*. Ao contrário da *E. coli*, esta aparece com maior representatividade nos grupos etários mais velhos. É no grupo etário dos ≥70 anos que apresenta maior expressividade, 16,4%. Em contraponto, o grupo etário dos 18-29 anos com 8,6% foi o grupo onde se registou a menor prevalência. Restando apenas os grupos etários dos 50-69 anos com 11,5% e dos 30-49 anos com 9,7% (Tabela 6).

Seguindo a tendência das prevalências na população de positivos temos por último o *P. mirabilis* que, tal como a *K. pneumoniae* também apresenta maior prevalência nos grupos etários mais altos. Deste modo,

por ordem decrescente de prevalência em cada grupo etário temos: ≥70 anos com 7,7%; 50-69 anos com 6,0%; 18-29 anos com 5,9%; e 30-49 anos com 4,7% (Tabela 6).

Tabela 6 – Prevalência dos agentes etiológicos mais frequentes por grupo etário na população de uroculturas positivas.

Microrganismos	Grupos Etários (anos)							
	18 - 29		30 - 49		50 - 69		≥ 70	
	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>Escherichia coli</i>	813	72,1	2449	75,5	2457	68,1	4204	52,6
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	97	8,6	316	9,7	414	11,5	1311	16,4
<i>Proteus mirabilis</i>	67	5,9	152	4,7	217	6,0	612	7,7

Legenda: n = frequência absoluta; % = frequência relativa

Quando se analisou a amostra de multirresistentes verificou-se que a prevalência das estirpes quanto ao grupo etário é ainda mais diferente do que na população de positivos. As prevalências dos microrganismos mais frequentes já não obedecem à ordem de prevalências encontrada para o total da amostra em nenhum grupo etário, exceto um. Em primeiro lugar na ordem de microrganismos mais prevalentes encontramos agora a *E. coli* nos grupos etários mais baixas e a *K. pneumoniae* no grupo etário mais alto.

Começando pela *E. coli* temos a sua maior prevalência registada no grupo etário dos 18-29 anos (37,5%) e a sua menor prevalência registada no grupo etário dos ≥70 anos (19,0%). Em seguida temos uma prevalência de 36,0% para o grupo etário dos 30-49 anos; e de 23,5% para o grupo etário dos 50-69 anos (Tabela 7).

Depois observamos a *K. pneumoniae* a apresentar maior expressividade nos grupos etários dos 18-29 anos e dos 50-69 anos, com 25,0% e 22,8%, respetivamente. Apresenta menor expressividade nos grupos etários dos 30-49 anos onde representa 15,2% das estirpes e dos ≥70 anos onde representa 21,0% das estirpes deste grupo etário (Tabela 7).

Ao contrário das estirpes anteriores, a *M. morgani* segue a ordem de prevalências da amostra total sendo a estirpe menos encontrada em todos os grupos etários. Aliás, esta estirpe nem sequer foi encontrada no grupo etário dos 18-29 anos. No grupo etário dos ≥70 anos surge com uma prevalência de 6,1%, sendo o grupo etário onde apresentou maior frequência. Segue-se o grupo etário dos 30-49 anos com 3,2% e, por fim, o dos 50-69 anos com 2,4% (Tabela 7).

A *E. coli* ESBL é a terceira estirpe mais prevalente em todas os grupos etários, também à semelhança do que acontece no total da amostra. Aparece com maior frequência 19,2%, no grupo etário dos 30-49 anos. O grupo etário onde a sua prevalência é menor é ≥70 anos com 16,1%. Os grupos etários 18-29 anos e 50-69 anos surgem com a mesma frequência, 18,8% (Tabela 7).

De seguida temos a *K. pneumoniae* ESBL a representar 16,1% das estirpes do grupo etário dos 50-69 anos e 14,2% das estirpes do grupo etário dos ≥70 anos. Como esta estirpe também não foi encontrada no grupo etário dos 18-29 anos, o grupo etário onde é encontrada em menor percentagem é a dos 30-49 anos com 8,0% (Tabela 7).

Continuamos com o *P. mirabilis* que apresenta as seguintes prevalências de maior para menor: 18-29 anos com 12,5%; 30-49 anos com 9,6%; ≥70 anos com 8,8% e 50-69 anos com 6,9% (Tabela 7).

Para finalizar temos a *P. stuartii* que surge com a seguinte ordem decrescente de prevalência: ≥70 anos com 8,6%; 18-29 anos com 6,3%; 30-49 anos com 4,0% e 50-69 anos com 3,2% (Tabela 7).

Tabela 7 – Prevalência dos agentes etiológicos mais frequentes por grupo etário na amostra de uroculturas positivas causadas por microrganismos multirresistentes.

Microrganismos	Grupos Etários (anos)							
	18 - 29		30 - 49		50 - 69		≥ 70	
	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4	25,0	19	15,2	86	22,8	355	21,0
<i>Escherichia coli</i>	6	37,5	45	36,0	89	23,5	321	19,0
<i>Escherichia coli</i> ESBL	3	18,8	24	19,2	71	18,8	273	16,1
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ESBL			10	8,0	61	16,1	240	14,2
<i>Proteus mirabilis</i>	2	12,5	12	9,6	26	6,9	149	8,8
<i>Providencia stuartii</i>	1	6,3	5	4,0	12	3,2	146	8,6
<i>Morganella morganii</i>			4	3,2	9	2,4	104	6,1

Legenda: n = frequência absoluta; % = frequência relativa

### 2.4.3. Perfil de Multirresistências aos Antibióticos

Deste ponto em diante, para a análise do perfil de multirresistências aos antibióticos, este estudo focou-se apenas na amostra de uroculturas positivas causadas por microrganismos multirresistentes. Para além disso, continuou a centrar-se apenas nas estirpes bacterianas mais frequentes nesta amostra, anteriormente selecionadas.

Para se tentar compreender o volume de multirresistências de cada estirpe, começou-se por calcular o número de resistências que cada doente apresentava e agrupou-se numa tabela, sendo o menor valor três resistências encontradas num só doente, e o maior valor dez resistências encontradas num só doente. Assim, desta análise resulta que a *K. pneumoniae* é o microrganismo que apresenta doentes com maior número de resistências, seguida da *K. pneumoniae* ESBL e das *E. coli* ESBL e *P. stuartii*, ambas em terceiro lugar (Tabela 8). Dos doentes infetados com *K. pneumoniae*, um apresentou resistência a 10 antibióticos, um a 9 antibióticos e dezasseis a 8 antibióticos (Tabela 8). Já nos doentes onde foi detetada a *K. pneumoniae* ESBL, dois apresentaram resistência a 9 e dezoito a 8 antibióticos. Os doentes com infeções causadas por *E. coli* ESBL e *P. stuartii* mostraram três doentes com resistência a 8 antibióticos e um doente também com resistência a 8 antibióticos, respetivamente (Tabela 8). Os restantes microrganismos apresentaram doentes com resistência a 7, ou menos, antibióticos (Tabela 8).

É muito importante salientar que dos doentes infetados com *K. pneumoniae*, os que apresentaram maior número de resistências, 22 desses doentes (cerca de 4,7%) não apresentaram sensibilidade a nenhum antibiótico testado. O mesmo aconteceu com 2 (0,6%) doentes infetados com *K. pneumoniae* ESBL e com 1 (0,6%) doente infetado com *P. stuartii* (Tabela 9). Estes doentes não possuíam assim, segundo o resultado do seu TSA, qualquer forma de tratamento.

Tabela 8 – Número de resistências dos agentes etiológicos mais frequentes.

Microrganismos	Nº de Resistências a Antibióticos								Total
	3	4	5	6	7	8	9	10	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	56	114	134	104	38	16	1	1	464
<i>Escherichia coli</i>	128	188	115	24	6				461
<i>Escherichia coli</i> ESBL	48	94	124	96	6	3			371
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ESBL	19	23	56	112	81	18	2		311
<i>Proteus mirabilis</i>	42	91	37	16	3				189
<i>Providencia stuartii</i>	62	25	44	29	3	1			164
<i>Morganella morganii</i>	56	29	23	7	2				117

Tabela 9 – Distribuição de doentes sem sensibilidade a nenhum antibiótico.

Microrganismos	Doentes sem Antibióticos	
	n	%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	22	4,7
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ESBL	2	0,6
<i>Providencia stuartii</i>	1	0,6

Legenda: n = frequência absoluta; % = frequência relativa

Em seguida, num painel de 22 antibióticos, determinou-se quais os mais representativos das multirresistências da amostra. Para isso, mais uma vez, seguiu-se a regra de que cada um deles tinha que ser responsável por pelo menos 5% do total das resistências encontradas. Chegou-se, então a uma lista de 8 antibióticos que representam 97% do total de resistências (Tabela 10). A tabela completa com as resistências encontradas para todos os antibióticos encontra-se no Anexo 2.

O antibiótico de maior expressividade no total de resistências é a Ciprofloxacina com 18% e o de menor expressividade é a Nitrofurantoína com 5%. Temos por ordem decrescente de representatividade: a Amoxicilina/Ac. Clavulânico com 16%; o Trimetoprim/Sulfametoxazo com 14%; a Cefuroxima com 14%; a Cefotaxima com 12%; a Norfloxacina com 10% e a Fosfomicina com 7% (Tabela 10).

Tabela 10 – Percentagem de resistência aos antibióticos mais representativos na amostra de microrganismos multirresistentes.

Antibióticos	(n/total) resistências x 100 (%)
Ciprofloxacina	18
Amoxicilina/Ac. Clavulânico	16
Trimetoprim/Sulfametoxazol	14
Cefuroxima	14
Cefotaxima	12
Norfloxacina	10
Fosfomicina	7
Nitrofurantoína	5

Legenda: % = frequência relativa

Finalmente, o perfil de resistências aos antibióticos foi avaliado para as sete estirpes mais prevalentes, de acordo com os critérios estabelecidos. As estirpes de *K. pneumoniae* foram resistentes em 84% à Ciprofloxacina, 83% à Amoxicilina/Ac. Clavulânico, 77% à Cefuroxima, 72% ao Trimetoprim/Sulfametoxazol, 64% à Cefotaxima, 43% à Fosfomicina, 22% à Norfloxacina e 16% à Nitrofurantoína (Tabela 11). A *E. coli* apresentou uma percentagem de resistência elevada à Amoxicilina/Ac. Clavulânico (89%). Apresentou resistência de 82% a ambos

Trimetoprim/Sulfametoxazol e Ciprofloxacina; de 64% à Cefuroxima, de 36% à Cefotaxima, de 30% à Norfloxacina, de 15% à Fosfomicina e de 10% à Nitrofurantoína (Tabela 11).

A *E. coli* ESBL e a *K. pneumoniae* ESBL, as únicas estirpes produtoras de beta-lactamases espectro alargado em estudo, mostraram ser altamente resistentes à Cefuroxima e à Cefotaxima, dois antibióticos da classe dos beta-lactâmicos mais especificamente das cefalosporinas de 2ª e 3ª geração, respetivamente. Assim, *E. coli* ESBL e a *K. pneumoniae* ESBL apresentaram uma taxa de resistência à Cefuroxima de 99% e à Cefotaxima de 97% e 95%, respetivamente. A *E. coli* ESBL apresentou ainda resistência de 84% à Ciprofloxacina e à Norfloxacina, de 57% ao Trimetoprim/Sulfametoxazole de 50% à Amoxicilina/Ac. Clavulânico mas apenas de 6% à Fosfomicina e de 2% à Nitrofurantoína. Por sua vez, a *K. pneumoniae* ESBL apresentou uma percentagem de resistência elevada ao Trimetoprim/Sulfametoxazol (88%), à Ciprofloxacina (84%), à Norfloxacina (81%) e à Amoxicilina/Ac. Clavulânico (80%). Apresentou ainda resistência à Fosfomicina (30%) e à Nitrofurantoína (24%), embora em percentagens um pouco menores (Tabela 11).

O *P. mirabilis* apresentou 93% de resistência à Ciprofloxacina, 77% ao Trimetoprim/Sulfametoxazol, 68% à Nitrofurantoína, 59% à Norfloxacina, 56% à Fosfomicina, 31% à Amoxicilina/Ac. Clavulânico, 20% à Cefuroxima e 15% à Cefotaxima. A *P. stuartii* demonstrou 100% de resistência à Amoxicilina/Ac. Clavulânico, sendo a única a registar este valor de todos os microrganismos e de todos antibióticos. Para os restantes antibióticos demonstrou 95% de resistência à Ciprofloxacina, 85% à Fosfomicina, 47% à Nitrofurantoína, 44% à Norfloxacina, 24% à Cefuroxima, 18% ao Trimetoprim/Sulfametoxazol e 16% à Cefotaxima (Tabela 11).

Em relação a *M. morgani*, registou uma percentagem de resistência de 99% à Amoxicilina/Ac. Clavulânico, de 77% à Fosfomicina, 61% à Ciprofloxacina, 54% à Nitrofurantoína, 51% ao Trimetoprim/Sulfametoxazol, 26% à Norfloxacina, 15% à Cefotaxima, e 4% à Cefuroxima (Tabela 11).

Tabela 11 – Perfil de resistências aos antibióticos dos agentes etiológicos mais frequentes na amostra de uroculturas positivas causadas por microrganismos multirresistentes.

Microrganismos	Ciprofloxacina (%)	Amoxicilina/Ac. Clavulânico (%)	Trimetoprim/Sulfametoxazol (%)	Cefuroxima (%)	Cefotaxima (%)	Norfloxacina (%)	Fosfomicina (%)	Nitrofurantoína (%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	84	83	72	77	64	22	43	16
<i>Escherichia coli</i>	82	89	82	64	36	30	15	10
<i>Escherichia coli</i> ESBL	84	50	57	99	97	84	6	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ESBL	84	80	88	99	95	81	30	24
<i>Proteus mirabilis</i>	93	31	77	20	15	59	56	68
<i>Providencia stuartii</i>	95	100	18	24	16	44	85	47
<i>Morganella morganii</i>	61	99	51	4	15	26	77	54

Legenda: % = frequência relativa

## 2.5. Discussão

Neste estudo, os exames bacteriológicos de urina classificados como positivos pertencem, na sua maioria, a indivíduos do sexo feminino (81%) o que está de acordo com vários estudos nacionais e internacionais (10, 18). Para além disso, também na amostra de uroculturas positivas causadas por microrganismos multirresistentes foi mais prevalente no sexo feminino (66%). Isto pode dever-se simplesmente ao facto de termos mais mulheres a serem infetadas, mas também se pode dever ao facto de estas terem infeções urinárias de forma mais recorrente do que os homens, o que faz com que tenham de consumir antibióticos com mais frequência, tornando-as mais suscetíveis aos microrganismos multirresistentes (70). Efetivamente, os indivíduos do sexo feminino apresentam uma suscetibilidade aumentada ao aparecimento de ITU devido à estrutura anatómica do trato génito-urinário da mulher. A proximidade entre o ânus e a uretra e o fato da uretra feminina ser mais curta do que a masculina constitui um fator de maior risco de os microrganismos patogénicos ascenderem ao trato urinário inferior (71). A vida sexual ativa, a gravidez e a menopausa também são fatores de risco aumentado de aparecimento de ITU (21, 72, 73).

Relativamente à distribuição da frequência de casos de infeções por grupo etário, vemos mais uma vez os resultados deste estudo estarem em concordância com a literatura que demonstra que grupos etários com mais idade têm maior percentagem de infeções comparativamente a grupos etários mais jovens (18, 74). Assim, para o total de resultados positivos para ITU verificamos que o grupo etário de  $\geq 70$  anos apresenta uma frequência de casos de 50,0%. A prevalência aumentada de ITU em pessoas mais velhas pode ser justificada por múltiplos fatores, tais como, o envelhecimento da população, alterações génito-urinárias e imunitárias que surgem com a idade e outras comorbilidades (75). Outro fator que também é importante equacionar é o uso de fraldas geriátricas que criam um ambiente quente, húmido e de contacto da pele com urina e até mesmo fezes, ideal para o crescimento dos microrganismos causadores de ITU (76). Além disso, normalmente, os hábitos de higiene das pessoas mais idosas são menos frequentes e menos cuidados, o que também contribui para o surgimento de infeções (77). Todos estes fatores, aliados ao facto da terceira idade recorrer aos serviços de saúde mais vezes (internamentos), também ajudam a explicar o motivo deste grupo etário apresentar uma frequência de casos ainda mais alta (76,5%) quando analisamos as uroculturas positivas causadas por microrganismos multirresistentes.

Para melhor compreender a dinâmica das ITU analisou-se como variava a sua frequência de casos em cada mês dos dois anos em estudo, 2020 e 2021. No ano de 2020 foram registados 7036 casos de ITU, menos do que os registados em 2021 (n=8928). Este aumento pode dever-se ao facto ter sido no ano 2020 o pico da pandemia da COVID-19, onde existiram vários condicionamentos à circulação da população incluindo *lockdowns* e, obviamente, vários constrangimentos nos serviços de saúde públicos e privados (58). Por este motivo, diminuiu drasticamente a realização de exames não relacionados com a infeção por SARS-CoV-2 (78). Outro dado deste estudo que corrobora esta hipótese é o facto de o mês de abril de 2020 ter sido o mês onde foram registados menos casos de ITU, uma vez que este foi o mês que precedeu o início da pandemia em

Portugal, onde ocorreu o primeiro estado de emergência nacional e o primeiro grande lockdown (79). Adicionalmente, pela análise das linhas de tendência vemos que esta tem uma inclinação ascendente ao longo do ano 2020, enquanto no ano 2021 se mantém praticamente constante, apresentando apenas alguns picos pontuais. Importa salientar o pico máximo de casos, que ocorreu nos meses de verão/início do outono, que vai de encontro ao reportado em outros estudos que afirmam que, estas são as épocas do ano de maior prevalência de ITU (80–82). Nos meses de maior calor, a temperatura elevada provoca mais transpiração, pelo que a produção de urina se torna menor, concentrando-a, o que proporciona a oportunidade das bactérias se multiplicarem mais (80–82).

No que diz respeito à amostra de uroculturas positivas causadas por microrganismos multirresistentes não parecem existir outros motivos aparentes para as oscilações de prevalência ao longo dos meses dos anos em estudo, a não ser os já elencados anteriormente. De facto, tirando os picos pontuais, já explicados, o número de casos parece andar sempre próximo da linha de tendência o que demonstra uma certa previsibilidade. Assim, pode dizer-se que não parece existir uma relação entre a probabilidade de infeção por um microrganismo multirresistente e uma época do ano específica.

Ao estudarmos a prevalência dos diferentes agentes etiológicos na população de uroculturas positivas verificamos que, à semelhança de outros estudos (10, 11, 17, 18, 83), a *E. coli* foi o agente mais prevalente (62,2%), seguido pela *K. pneumoniae* (13,4%) e o *P. mirabilis* (6,6%). Em relação às prevalências destes microrganismos quanto ao sexo observou-se que a *E. coli* tem uma prevalência francamente superior no sexo feminino (66,0%), enquanto para os outros dois microrganismos estudados (*K. pneumoniae* e *P. mirabilis*) a prevalência é maior no sexo masculino, o que também foi constatado noutro estudo nacional (38). Os fatores de virulência já conhecidos da *E. coli* (38, 84), o facto de esta ser uma espécie colonizadora do intestino humano e a proximidade entre a uretra e o ânus nas mulheres (38, 71), podem explicar estes resultados. Quanto às prevalências nos homens, podem estar relacionadas com o facto de nos homens as ITU serem geralmente complicadas devido a fatores como obstrução do trato urinário e cirurgias urológicas (18, 38).

Em relação aos microrganismos mais frequentes na amostra de uroculturas positivas causadas por agentes multirresistentes (sete obedeceram aos critérios de seleção pré-estabelecidos), em vez da *E. coli* encontramos a *K. pneumoniae* como agente mais prevalente (21,0%). Isto pode dever-se ao facto de, nos últimos anos, se ter verificado um aumento de prevalência das formas multirresistentes desta bactéria. uma vez que o tratamento para as infeções que esta causa ainda não está bem estabelecido (85). O Relatório Epidemiológico Anual de 2020 de controlo da Resistência Antimicrobiana na UE/EEE (EARS-Net) do *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC) reportou que mais de um terço dos isolados de *K. pneumoniae* e mais de metade dos isolados de *E. coli* relatados à EARS-Net eram resistentes a pelo menos um grupo de antibióticos sob vigilância, e que a resistência combinada a vários grupos de antibióticos ocorreu frequentemente (56). Entre os grupos de antibióticos monitorizados para ambas as estirpes, as percentagens de resistência foram geralmente maiores em *K. pneumoniae* do que em *E. coli* (56). Adicionalmente, segundo o relatório de Infeções e Resistências aos Antimicrobianos: Relatório Anual do Programa Prioritário (PPCIRA) – 2021 da Direção-Geral

da Saúde (DGS) a *K. pneumoniae* resistente aos carbapenemos aumentou a sua taxa de resistência de 2,0% para 11,6% entre 2013 e 2020, tornando-a ainda mais problemática em termos de saúde pública (58). As prevalências das restantes estirpes encontradas nesta amostra parecem estar em concordância com as prevalências reportadas em outros trabalhos (10, 11, 17, 18, 83) e com os dados de estudos com microrganismos multirresistentes que afirmam que os microrganismos da família *Enterobacteriaceae* expressam enzimas que os tornam particularmente multirresistentes (86). Importa referir que os microrganismos mais prevalentes encontrados em ambas população e amostra pertencem todos a esta família de bactérias gram-negativas. De facto, toda a Europa é atualmente considerada 'endémica' para *Enterobacteriaceae* produtoras de carbapenemases e está constantemente a enfrentar casos graves de infeção (85). As diferenças quanto ao sexo nesta amostra estão de acordo com o que se verificou na população de positivos. Estirpes que estão associadas com formas complicadas de ITU são mais prevalentes em indivíduos do sexo masculino, como acontece com a *K. pneumoniae* (87).

No que diz respeito às prevalências por grupos etários, na população de ITU, foi registada a prevalência mais baixa de *E. coli* no grupo etário  $\geq 70$  anos (52,6%) e também as prevalências mais altas de *K. pneumoniae* (16,4%) e de *P. mirabilis* (7,7%). Estes dados estão congruentes com os dados de outros trabalhos que demonstraram que os doentes mais velhos apresentam uma frequência maior de ITU complicadas e de institucionalizações (em hospitais e lares) potenciando infeções por agentes menos comuns na comunidade (74, 75). Relativamente à amostra de ITU causadas por microrganismos multirresistentes, os dados deste estudo não estão todos de acordo com o descrito na literatura onde as infeções por microrganismos multirresistentes são, geralmente, mais elevadas em doentes mais velhos, principalmente acima dos 60 anos, para as diferentes estirpes (86). Embora a idade e os fatores referidos relacionados com a idade, aumentem o risco de infeção por estirpes multirresistentes (74, 75), os doentes em idade sexual ativa, nomeadamente os mais jovens que geralmente trocam mais vezes de parceiro sexual, também apresentam um risco aumentado de infeção (88). Isto pode ajudar a explicar alguns dados deste estudo, sobretudo os relacionados com a *E. coli* e *K. pneumoniae*.

O estudo das resistências aos antibióticos neste trabalho focou-se unicamente na amostra de ITU causadas por estirpes multirresistentes. Verificou-se que a *K. pneumoniae* e também a sua forma ESBL foram as estirpes que apresentaram maior número de resistências. Encontraram-se doentes com 10 e com 9 resistências a antibióticos diferentes e vários com 8 resistências. De facto, um dos dados mais preocupantes deste estudo é que, cerca de 4,7% dos doentes infetados com *Klebsiella pneumoniae*, na amostra de multirresistentes, não demonstraram sensibilidade a nenhum antibiótico testado, deixando-os assim praticamente sem qualquer terapêutica. Estes dados alarmantes estão totalmente de acordo com o aumento exponencial de resistências da *K. pneumoniae* nos últimos anos, reportado no relatório de 2021 do Programa Prioritário PPCIRA da DGS (58) e com os estudos que mostram um aumento da virulência e da prevalência desta estirpe (85), tornando-a num dos maiores desafios dos programas de prevenção e controlo de infeções (58).

São inúmeros os antibióticos que podem ser usados para o tratamento de ITU, mas nos últimos anos vários deles têm perdido o seu potencial terapêutico devido ao acúmulo de resistências nos microrganismos que causam estas infeções (86). A Ciprofloxacina (quinolonas) e a combinação Amoxicilina/Ac. Clavulânico (beta-lactâmicos) foram os antibióticos que apresentaram maior percentagem de resistências registadas, 18% e 16% respetivamente. Isto poderá ser explicado pelo uso excessivo destes antibióticos o que potencia o acúmulo dessas resistências e pelo maior número de dias de tratamento, que promove o aparecimento de efeitos secundários e maior frequência de recidivas (10, 89–91). Efetivamente, os microrganismos mais prevalentes neste estudo apresentam taxas de resistência muito elevadas a estes dois fármacos, principalmente *P. mirabilis* e *P. stuartii*, mas também *K. pneumoniae* e *E. coli*. As quinolonas como a Ciprofloxacina apresentam elevados níveis de utilização nas últimas décadas, sendo que Portugal era dos países com maior taxa de prescrição de fármacos desta classe (10, 45, 83). No entanto, segundo o relatório de 2021 do Programa Prioritário PPCIRA da DGS tem-se verificado uma redução, para menos de metade, no consumo de quinolonas em Portugal, que está agora na média europeia (58). Estes dados podem ajudar a explicar porque os valores de resistência da Norfloxacina não são tao elevados como os da Ciprofloxacina. Apesar de tudo, pelos motivos mencionados inicialmente, as quinolonas, não devem ser recomendadas como antibioterapia empírica de primeira linha no tratamento de ITU, tendo até sido desaconselhado o seu uso pela *Infectious Diseases Society of American* (IDSA) (83). Por sua vez, a combinação Amoxicilina/Ac. Clavulânico que na Norma nº15/2011 da DGS tem o seu uso aconselhado, no caso de indisponibilidade ou contra-indicação do uso de Fosfomicina ou Nitrofurantoína (45), apresenta neste estudo valores muito elevados de resistência. Estes resultados podem ser explicados por estudos que afirmam que, o aumento da resistência à Amoxicilina/Ac. Clavulânico coincidiu com o aumento do seu consumo na comunidade, que favorecem o desenvolvimento dos mecanismos de resistência de alguns microrganismos como a *E. coli* e a *K. pneumoniae* (10, 91). Adicionalmente, nas infeções urinárias, o tratamento prévio com Amoxicilina/Ac. Clavulânico é um fator de risco para o desenvolvimento de resistência a este fármaco (91). É de salientar a elevada resistência a esta combinação de fármacos registada em *P. stuartii* (100%) e *M. morgani* (99%), o que pode ser explicado por estas serem estirpes oportunistas, normalmente encontradas em ambiente hospitalar (92, 93).

Os antibióticos que apresentaram menor percentagem de resistências registadas foram a Nitrofurantoína (5%) e a Fosfomicina (7%). Estes resultados validam as diretrizes da Norma nº15/2011 da DGS que recomenda a Fosfomicina e a Nitrofurantoína como antibióticos de primeira linha no tratamento de cistites não complicadas (45). A Fosfomicina tem a capacidade de eliminar o agente patogénico com uma única toma, reduzindo o risco de seleção de microrganismos multirresistentes, devido às suas boas propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas (18). Noutra perspetiva, o tratamento com Nitrofurantoína é prolongado e com várias administrações diárias o que pode aumentar a sua toxicidade e diminuir eficácia perante a diminuição da função renal, por isso o seu uso é visto com alguma apreensão na prática clínica (18). O facto de não ser muito utilizada poderá justificar a sensibilidade aumentada por parte da *E. coli* encontrada noutros trabalhos (18) e os valores de resistência mais baixos reportados neste trabalho, nomeadamente na *E. coli*/*E. coli* ESBL e *K. pneumoniae*.

Com efeito, a Nitrofurantoína, foi o antibiótico que demonstrou resistências mais baixas e por isso o que tem maior potencial terapêutico.

A associação Trimetoprim/Sulfametoxazol, também apresentou taxas de resistência particularmente elevadas, exceto para o *P. stuartii*. Apesar de esta combinação de fármacos estar indicada no tratamento de infeções urinárias crónicas ou recorrentes, as crescentes taxas de resistência deve minimizar o seu uso empírico generalizado, a menos que a suscetibilidade bacteriana seja conhecida (94).

As Enterobacteriaceas produtoras de ESBL têm vindo a ser isoladas tanto em contexto hospitalar como na comunidade (95). Dados da vigilância epidemiológica a nível europeu indicam que Portugal apresenta elevadas taxas de Enterobacteriaceas resistentes a cefalosporinas de 3<sup>o</sup> geração, normalmente produtoras de ESBL (59). Como era expectável, neste estudo as *E. coli* e *K. pneumoniae*, produtoras de ESBL registaram valores de resistência às cefalosporinas extremamente altos, especificamente à Cefuroxima (2<sup>a</sup> geração) e à Cefotaxima (3<sup>a</sup> geração). O relatório anual de 2018 do Prioritário PPCIRA da DGS, reportou um aumento no consumo de cefalosporinas tanto em ambulatório como a nível hospitalar, entre 2013 e 2017 (63). Já o relatório de anual de 2021 reporta que Portugal continua bem acima da média europeia do consumo de fármacos desta classe (58), o que de certa forma poderá ter contribuído para o aumento do número de microrganismos produtores de ESBL em Portugal.

A literatura também refere uma elevada sensibilidade das bactérias produtoras de ESBL à Fosfomicina e à Nitrofurantoína (62, 96). Neste estudo, a *E. coli* ESBL e a *K. pneumoniae* ESBL apresentam de facto as suas menores taxas de resistência nestes dois antibióticos. Assim, pode considerar-se a utilização de Fosfomicina e de Nitrofurantoína como alternativa no tratamento de ITU causadas por estirpes produtora de ESBL.

Este estudo evidenciou que se observam casos de resistência em todos os antibióticos avaliados, sendo este um dado extremamente preocupante, principalmente porque a amostra de doentes estudados é pequena, está circunscrita a uma área geográfica pouco alargada e provém da comunidade. As justificações para estas descobertas encontradas na literatura são a transmissão de estirpes bacterianas entre o ambiente hospitalar e a comunidade, e as condições clínicas dos doentes como diabetes e outras comorbilidades, cateterização urinária, ou o uso prévio de certos antibióticos (18, 38).

A Norma de orientação clínica nº15/2011 da DGS (45) recomenda, no tratamento da cistite aguda não complicada, a Nitrofurantoína, Fosfomicina ou a combinação Amoxicilina/Ac. Clavulânico. Os resultados do presente estudo reforçam estas orientações terapêuticas no que respeita à Nitrofurantoína e à Fosfomicina, ambas com baixos nível de resistência registados na maioria das estirpes mais prevalentes. Todavia, as orientações dessa Norma deveriam ser revistas para alguns agentes etiológicos, sobretudo *P. mirabilis*, *P. stuartii* e *M. morgani*, que apresentam taxas de resistência elevadas para esses fármacos. Segundo os resultados deste estudo, nestes casos concretos poderia ser considerado o uso de cefalosporinas de 2<sup>a</sup> geração como a Cefuroxima ou de 3<sup>a</sup> geração como a Cefotaxima, onde apresentaram as taxas de resistência mais baixas.

Por outro lado, as orientações de utilização da combinação Amoxicilina/Ac. Clavulânico não estão de acordo com os dados apresentados neste trabalho, onde particularmente todas as estirpes apresentaram altíssimos níveis de resistência aos mesmos.

Assim, podemos considerar que este estudo foi uma pequena contribuição no auxílio do diagnóstico e de prescrição empírica de antibióticos. No entanto, devido ao facto de os dados analisados serem apenas referentes a doentes da zona norte de Portugal Continental, os resultados obtidos deverão ser interpretados com alguma prudência pois poderão não ser representativos da população portuguesa em geral. Para além disso, foram analisados os resultados positivos de apenas dois anos (2020 e 2021), o que não permite uma avaliação realmente consistente em termos temporais. Outras limitações do estudo são a dificuldade no controlo das condições da colheita da amostra de urina uma vez que esta é realizada pelo doente, muitas vezes sem conhecimento quanto à necessidade de higienização prévia e desprezo do primeiro jato de urina, e o facto de se basear apenas no resultado de uroculturas, sem ter em conta o tipo de ITU, o motivo clínico do pedido e a patologia do doente.

## 2.6. Conclusão

Concluimos que apesar das limitações já mencionadas, os objetivos deste estudo propostos inicialmente foram cumpridos.

Este estudo permitiu avaliar os principais microrganismos patogénicos causadores de ITU, avaliando prevalências relativamente a sexo, idade e ano de realização do exame, bem como, os perfis de resistência aos antibióticos numa amostra de microrganismos multirresistentes.

O microrganismo mais prevalente na população de positivos foi a *E. coli*. Verificou-se também que, as infeções do trato urinário atingem o seu pico de prevalência no verão/início do outono, com os indivíduos do sexo feminino e os doentes mais velhos a serem os mais infetados. Este dados estão de acordo com vários estudos quer a nível nacional, quer internacional.

As orientações terapêuticas recomendadas pela DGS (uso de Nitrofurantoína ou Fosfomicina) parecem estar, na generalidade, em concordância com os dados apresentados neste trabalho. No entanto, estes mesmos dados também sugerem que, deveriam existir ajustes de modo a evitar a utilização destes fármacos em alguns microrganismos como *P. mirabilis*, *P. stuartii* e *M. morgani*. Os resultados também sugerem a combinação Amoxicilina/Ac. Clavulânico já não é uma opção eficaz no tratamento de ITU. Esta combinação de fármacos e a Ciprofloxacina foram os antibióticos que apresentaram maior percentagem de resistências registadas, o que também já foi verificado noutros estudos.

Já na amostra de ITU causadas por microrganismos multirresistentes foi a *K. pneumoniae* o agente mais prevalente. Além disso, todos os microrganismos apresentaram alguma percentagem de resistência, mesmo que baixa, a todos os antibióticos estudados. Isto, aliado ao facto de existirem doentes que não apresentaram qualquer sensibilidade a nenhum dos antibióticos testados, são indicadores relevantes deste estudo sobre a realidade da dimensão do problema. De facto, vários relatórios nacionais e europeus demonstraram que a resistência a antimicrobianos tem apresentado uma tendência globalmente decrescente em termos dos microrganismos que são habitualmente monitorizados. No entanto a *K. pneumoniae* é uma exceção, o que também se verifica neste estudo.

As resistências aos antibióticos e o crescente esgotamento de alternativas terapêuticas é um dos maiores desafios atuais de saúde pública e constituem uma ameaça ao progresso conseguido na medicina nas últimas décadas. Reforça-se assim a importância de compreender cada vez melhor os padrões de infeção e resistência dos microrganismos causadores de ITU e transmiti-los de forma eficaz aos clínicos para que possam proceder da forma mais acertada na prescrição empírica da terapêutica. Recomenda-se a continuação da realização de estudos semelhantes a este, com amostras mais alargadas e representativas população geral, bem como a continuação da implementação de medidas de apoio à prescrição de antibióticos e de promoção da literacia em saúde, particularmente do uso adequado destes fármacos.

## Referências Bibliográficas

1. Miller S, Riedel S, Mietzner T, Morse S. Jawetz Melnick & Adelbergs Medical Microbiology. 28th ed. 880 p.
2. Tortora GJ, Case CL, Funke BR. Microbiologia. 12ª ed: Artmed Editora; 2016.
3. Figura criada com imagens da Servier Medical Art. A Servier Medical Art da Servier está licenciada através de: "Creative Commons Attribution 3.0 Unported License".
4. Lee MW, Pourmorady JS, Laine L. Use of Fecal Occult Blood Testing as a Diagnostic Tool for Clinical Indications: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Am J Gastroenterol*. 2020;115(5):662-70.
5. Manser MM, Saez ACS, Chiodini PL. Faecal parasitology: concentration methodology needs to be better standardised. *Plos neglected tropical diseases*. 2016;10(4):e0004579.
6. McGregor A, Schio F, Beaton S, Boulton V, Perman M, Gilbert G. The MicroScan WalkAway diagnostic microbiology system—an evaluation. *Pathology*. 1995;27(2):172-6.
7. Pincus DH. Microbial identification using the bioMérieux Vitek® 2 system. *Encyclopedia of Rapid Microbiological Methods* Bethesda, MD: Parenteral Drug Association. 2006:1-32.
8. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Antimicrobial susceptibility testing EUCAST: disk diffusion method [Internet]. Version 5. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. 2015.
9. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Antimicrobial susceptibility testing: EUCAST disk diffusion method [Internet]. Version 4. Eucast. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. 2014.
10. Correia CM, Costa E, Peres AM, Alves M, Pombo G, Estevinho LM. Etiologia das infecções do tracto urinário e sua susceptibilidade aos antimicrobianos. *Acta Med Port*. 2007;20:543-9.
11. Costa MdC, Pereira PM, Bolotinha C, Ferreira A, Cardoso R, Monteiro C, et al. Frequência e susceptibilidade bacteriana em infecções urinárias: dados de um laboratório de Lisboa. Parte II. *Rev Lusófona Ciências e Tecnol da Saúde*. 2009;6(1):87-103.
12. Flores-Mireles AL, Walker JN, Caparon M, Hultgren SJ. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nature Reviews Microbiology*. 2015;13(5):269-84.
13. Rolo F, Parada B, Moreira P. Cistite não complicada na mulher. *Guia de prática clínica reconhecida pela Associação Portuguesa de Urologia*. 2008:13-29.
14. Zeng Z, Zhan J, Zhang K, Chen H, Cheng S. Global, regional, and national burden of urinary tract infections from 1990 to 2019: an analysis of the global burden of disease study 2019. *World Journal of Urology*. 2022;40(3):755-63.
15. Pereira S. Prevenção das infeções urinárias recorrentes. *Associação Portuguesa de Urologia*. 2012:1-7.
16. Bonkat G, Bartoletti R, Bruyère F, Cai T, Geerlings SE, Köves B, et al. European Association of Urology. *EAU Guidelines on Urological Infections*. 2022.
17. Tavares IV-B, de Sá AB. Perfil de prescrição de antimicrobianos para as infeções do tracto urinário nos cuidados de saúde primários. *Revista Portuguesa de Medicina Geral e Familiar*. 2014;30(2):85-100.
18. Passadouro R, Fonseca R, Figueiredo F, Lopes A, Fernandes C. Avaliação do perfil de sensibilidade aos antibióticos na infeção urinária da comunidade. *Acta Med Port*. 2014;27(6):737-42.
19. Chu CM, Lowder JL. Diagnosis and treatment of urinary tract infections across age groups. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2018;219(1):40-51.
20. Roriz-Filho JS, Vilar FC, Mota LM, Leal CL, Pisi PC. Infecção do trato urinário. *Medicina (Ribeirão Preto)*. 2010;43(2):118-25.
21. Minardi D, d'Anzeo G, Cantoro D, Conti A, Muzzonigro G. Urinary tract infections in women: etiology and treatment options. *International journal of general medicine*. 2011;2011(4):333-43.
22. Seitz M, Stief C, Waidelich R. Local epidemiology and resistance profiles in acute uncomplicated cystitis (AUC) in women: a prospective cohort study in an urban urological ambulatory setting. *BMC Infectious Diseases*. 2017;17(1):1-5.
23. Head KA. Natural approaches to prevention and treatment of infections of the lower urinary tract. *Alternative Medicine Review*. 2008;13(3):227-44.
24. Foxman B, Gillespie B, Koopman J, Zhang L, Palin K, Tallman P, et al. Risk factors for second urinary tract infection among college women. *American journal of epidemiology*. 2000;151(12):1194-205.
25. Colgan R, Williams M. Diagnosis and treatment of acute uncomplicated cystitis. *American family physician*. 2011;84(7):771-6.
26. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Microbiologia Médica*. 5th Ed. Mosby Elsevier ed: Elsevier Health Sciences; 2006.
27. Barber AE, Norton JP, Wiles TJ, Mulvey MA. Strengths and limitations of model systems for the study of urinary tract infections and related pathologies. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2016;80(2):351-67.

28. Barroso H, Silvestre AM, Taveira N. *Microbiologia Médica*. LIDEL, editor. Lisboa 2014.
29. Silva C, Neufeld P. *Bacteriologia e micologia para o laboratório clínico*. Rio de Janeiro: : Editora Revinter; 2006.
30. Najar M, Saldanha C, Banday K. Approach to urinary tract infections. *Indian journal of nephrology*. 2009;19(4):129–39.
31. Amalaradjou MAR, Venkitanarayanan K. Natural approaches for controlling urinary tract infections. *Urinary tract infections*. 132011. p. 227–44.
32. Zhou X, Bent SJ, Schneider MG, Davis CC, Islam MR, Forney LJ. Characterization of vaginal microbial communities in adult healthy women using cultivation-independent methods. *Microbiology*. 2004;150(8):2565–73.
33. Linhares IM, Giraldo PC, Baracat EC. Novos conhecimentos sobre a flora bacteriana vaginal. *Revista da Associação Médica Brasileira*. 2010;56(3):370–4.
34. Baumgarten MCdS, Silva VGd, Mastalir FP, Klaus F, d'Azevedo PA. Infecção urinária na gestação: uma revisão da literatura. *UNOPAR Cient, Ciênc biol saude*. 2011;13(Esp): 333–42.
35. Jacobsen Sá, Stickler D, Mobley H, Shirliff M. Complicated catheter-associated urinary tract infections due to *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis*. *Clinical microbiology reviews*. 2008;21(1):26–59.
36. Walsh C, Collins T. The pathophysiology of urinary tract infections. *Surgery (Oxford)*. 2017;35(6):293–8.
37. Solh T, Thomas R, Roman C. Current diagnosis and management of urinary tract infections. *Physician Assistant Clinics*. 2017;2(2):191–205.
38. Curto C, Rosendo I, Santiago L. Antimicrobial susceptibility patterns in outpatient urinary tract infection in the district of Coimbra, Portugal: A cross-sectional study. *Acta Médica Portuguesa*. 2019;32(9):568–75.
39. Tabibian JH, Gornbein J, Heidari A, Dien SL, Lau VH, Chahal P, et al. Uropathogens and host characteristics. *Journal of clinical microbiology*. 2008;46(12):3980–6.
40. Sanches B, Guerreiro R, Diogo J, Cabral M, Gomes A. The age of multidrug resistance: ten year Incidence in a neonatal intensive care unit. *Acta Médica Portuguesa*. 2020;33(3):183–90.
41. Carrondo MC, Moita JJ. Potentially preventable urinary tract infection in patients with type 2 diabetes—A hospital-based study. *Obesity Medicine*. 2020;17(100190).
42. Melo LdS, Ercole FF, Oliveira DUd, Pinto TS, Victoriano MA, Alcoforado CLGC. Urinary tract infection: a cohort of older people with urinary incontinence. *Revista Brasileira de Enfermagem*. 2017;70(4):838–44.
43. Moura A, Nicolau A, Hooton T, Azeredo J. Antibiotherapy and pathogenesis of uncomplicated UTI: difficult relationships. *Journal of applied microbiology*. 2009;106(6):1779–91.
44. Tiba MR, Nogueira GP, da Silva Leite D. Study on virulence factors associated with biofilm formation and phylogenetic groupings in *Escherichia coli* strains isolated from patients with cystitis. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2009;42(1):58–62.
45. Direção-Geral da Saúde. Norma nº 015/2011 de 30/08/2011 – Terapêutica de infeções do aparelho urinário (comunidade). Ministério da Saúde; 2011.
46. Lane DR, Takhar SS. Diagnosis and management of urinary tract infection and pyelonephritis. *Emergency medicine clinics*. 2011;29(3):539–52.
47. Grabe M, Bishop MC, Bjerklund-Johansen TE, Botto H, Çek B, Lobel B, et al. Orientações sobre infeções urológicas. *Associação Europeia de Urologia*. 2009:152–68.
48. bioMérieux, Inc. CHROMID® CPS@ ELITE, Chromogenic medium for the immediate identification of *E. coli*, *Proteaeae* and *Enterococcus* 2018 [Available from: [https://www.biomerieux-usa.com/sites/subsidiary\\_us/files/18\\_chromid\\_cpse\\_flyer.pdf](https://www.biomerieux-usa.com/sites/subsidiary_us/files/18_chromid_cpse_flyer.pdf)].
49. Costa T, Linhares I, Ferreira R, Neves J, Almeida A. Frequency and antibiotic resistance of bacteria implicated in community urinary tract infections in North Aveiro between 2011 and 2014. *Microbial Drug Resistance*. 2018;24(4):493–504.
50. Bertão MV, Machado A, Reis E. Estirpes produtoras de beta-lactamases de espectro alargado: A realidade num hospital central. *Medicina Interna*. 2018;25(3):179–85.
51. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Antimicrobial susceptibility testing EUCAST: disk diffusion method [Internet], Version 8. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing; 2020.
52. Gupta K, Hooton TM, Naber KG, Wullt B, Colgan R, Miller LG, et al. International clinical practice guidelines for the treatment of acute uncomplicated cystitis and pyelonephritis in women: a 2010 update by the Infectious Diseases Society of America and the European Society for Microbiology and Infectious Diseases. *Clinical infectious diseases*. 2010;52(5):e103–e20.
53. Hugh TB. Howard Florey, Alexander Fleming and the fairy tale of penicillin. *Med J Aust*. 2002;177(1):52–3.
54. Simões A, Lima M, Brett A, Queiroz C, Chaves C, Oliveira H, et al. Infeções urinárias causadas por *Enterobacteriaceae* produtoras de  $\beta$ -Lactamases de espectro expandido adquiridas na comunidade num hospital de nível III: Um estudo retrospectivo. *Acta Medica Portuguesa*. 2020;33(7/8):466–74.

55. Figura adaptada do template "Antimicrobial Therapy Strategies" em BioRender.com (2022). Disponível em <https://app.biorender.com/biorender-templates>
56. European Centre for Disease Prevention and Control. Resistência antimicrobiana na UE/EEE (EARS-Net) – Relatório Epidemiológico Anual 2020. Estocolmo: ECDC2020.
57. European Centre for Disease Prevention and Control. Consumo de antimicrobianos na UE/EEE (ESAC-Net) – Relatório Epidemiológico Anual 2020. Estocolmo: ECDC2020.
58. Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistências aos Antimicrobianos. INFEÇÕES E RESISTÊNCIAS AOS ANTIMICROBIANOS: Relatório Anual PPCIRA, 2021. Portugal: Ministério da Saúde . Direção-Geral da Saúde; 2021.
59. Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistências aos Antimicrobianos. Recomendação: Prevenção Da Transmissão De Enterobacteriáceas Resistentes Aos Carbapenemos Em Hospitais De Cuidados De Agudos. Direção-Geral da Saúde; 2017.
60. World Health Organisation (WHO). WHO Global Strategy for Containment of Antimicrobial Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance. 2001.
61. Oliveira ALD, Soares MM, Santos TCD, dos Santos A. Mecanismos de resistência bacteriana a antibióticos na infecção urinária. Uningá Review. 2014;20(3):65–71.
62. Lee DS, Lee S-J, Choe H-S. Community-acquired urinary tract infection by Escherichia coli in the era of antibiotic resistance. BioMed Research International. 2018;2018.
63. Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistências aos Antimicrobianos. INFEÇÕES E RESISTÊNCIAS AOS ANTIMICROBIANOS: Relatório Anual do Programa Prioritário, 2018. Portugal: Ministério da Saúde . Direção-Geral da Saúde; 2018.
64. Direção-Geral da Saúde. PLANO NACIONAL DE COMBATE À RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS 2019–2023. ÂMBITO DO CONCEITO “UMA SÓ SAÚDE”. Ministério da Saúde. Ministério Agricultura, Florestas e Desenvolvimento Rural, Ministério do Ambiente e Transição Energética. ; 2019.
65. Figura adaptada do template "Antibiotic Resistance Mechanisms" em BioRender.com (2022). Disponível em <https://app.biorender.com/biorender-templates>
66. van Hoek A, Mevius D, Guerra B, Mullany P, Roberts A, Aarts H. Acquired antibiotic resistance genes: an overview. Frontiers in Microbiology. 2011;2(203).
67. Narciso A, Lito L, Cristino JM, Duarte A, Norte CHL, Duarte A. Escherichia coli uropatogénica: resistência aos antibióticos versus factores de virulência. Acta Urol. 2010;27(2):11–20.
68. Mendonça N, Ferreira E, Louro D, Caniça M. Molecular epidemiology and antimicrobial susceptibility of extended- and broad-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Klebsiella pneumoniae isolated in Portugal. International Journal of Antimicrobial Agents. 2009;34(1):29–37.
69. Magiorakos A-P, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas M, Giske C, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clinical microbiology and infection. 2012;18(3):268–81.
70. Kodner C, Gupton EKT. Recurrent urinary tract infections in women: diagnosis and management. American family physician. 2010;82(6):638–43.
71. Yamamoto S, Tsukamoto T, Terai A, Kurazono H, Takeda Y, Yoshida O. Genetic evidence supporting the fecal-perineal-urethral hypothesis in cystitis caused by Escherichia coli. The Journal of urology. 1997;157(3):1127–9.
72. Hill JB, Sheffield JS, McIntire DD, Wendel Jr GD. Acute pyelonephritis in pregnancy. Obstetrics & Gynecology. 2005;105(1):18–23.
73. Badran YA, El-Kashef TA, Abdelaziz AS, Ali MM. Impact of genital hygiene and sexual activity on urinary tract infection during pregnancy. Urology annals. 2015;7(4):478–81.
74. Linhares I, Raposo T, Rodrigues A, Almeida A. Frequency and antimicrobial resistance patterns of bacteria implicated in community urinary tract infections: a ten-year surveillance study (2000–2009). BMC infectious diseases. 2013;13(1):1–14.
75. Narciso A, Fonseca F, Cerqueira SA, Duarte A, Duarte A. Susceptibilidade aos antibióticos de bactérias responsáveis por cistites não complicadas: estudo comparativo dos isolados de 2008 e 2010. Acta Urol. 2011;1:16–21.
76. Silva JLAd, Fonseca CDd, Stumm EMF, Rocha RM, Silva MRd, Barbosa DA. Fatores associados à infecção de trato urinário em Instituição de Longa Permanência para idosos. Revista Brasileira de Enfermagem. 2021;74(Suppl 2).
77. Iali Patricia Beloto M, Luiz Eduardo Bersani A, Ana Laura Figueiredo B, Ciomar Aparecida B-A, Silvana Martins C-A. Principais aspectos do tratamento das infecções no idoso. Ciência, Cuidado e Saúde. 2008;6(Suplem. 2):488–95.
78. GFK Metris. Acesso a cuidados de saúde em tempos de pandemia. Movimento Saúde em Dia – Não Mascare a Sua Saúde. Associação Portuguesa dos Administradores Hospitalares (APAH), Ordem dos Médicos e Roche. 2020.

79. Decreto do Presidente da República n.º 14-A/2020 de 18 de março. Diário da República: 1ª série, N.º552020.
80. Simmering JE, Tang F, Cavanaugh JE, Polgreen LA, Polgreen PM. The Increase in hospitalizations for urinary tract infections and the associated costs in the United States, 1998–2011. *Open Forum Infectious Diseases*. 2017;4(1).
81. Simmering JE, Polgreen LA, Cavanaugh JE, Erickson BA, Suneja M, Polgreen PM. Warmer weather and the risk of urinary tract infections in Women. *The Journal of urology*. 2021;205(2):500–6.
82. Raz R, Colodner R, Kunin CM. Who are you—*Staphylococcus saprophyticus*? *Clinical Infectious Diseases*. 2005;40(6):896–8.
83. Silva A, Machado P, Rodrigues V, Duarte A. Bactérias uropatógenicas identificadas de cistites não complicadas de mulheres na comunidade. *Acta Urol*. 2008;25(3):9–14.
84. Yılmaz N, Ağuş N, Bayram A, Şamlıoğlu P, Şirin MC, Derici YK, et al. Antimicrobial susceptibilities of *Escherichia coli* isolates as agents of community-acquired urinary tract infection (2008–2014). *Turkish Journal of Urology*. 2016;42(1):32–6.
85. Bassetti M, Righi E, Carnelutti A, Graziano E, Russo A. Multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*: challenges for treatment, prevention and infection control. *Expert review of anti-infective therapy*. 2018;16(10):749–61.
86. Gupta K, Bhadelia N. Management of urinary tract infections from multidrug-resistant organisms. *Infectious Disease Clinics*. 2014;28(1):49–59.
87. Wang A, Nizran P, Malone MA, Riley T. Urinary tract infections. *Prim Care*. 2013;40(3):687–706.
88. Paula MLAd, Negri MM, Paula CLAd, Xavier AR, Kanaan S, Weide LdCC. Infecção do trato urinário em mulheres com vida sexual ativa. *J bras med*. 2016;103(N.º2/2015):37–41.
89. Kahlmeter G, Poulsen HO. Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* from community-acquired urinary tract infections in Europe: the ECO·SENS study revisited. *International journal of antimicrobial agents*. 2012;39(1):45–51.
90. Goossens H, Ferech M, Vander Stichele R, Elseviers M, Group EP. Outpatient antibiotic use in Europe and association with resistance: a cross-national database study. *The Lancet*. 2005;365(9459):579–87.
91. Oteo J, Campos J, Lázaro E, Cuevas O, García-Cobos S, Pérez-Vázquez M, et al. Increased amoxicillin-clavulanic acid resistance in *Escherichia coli* blood isolates, Spain. *Emerg Infect Dis*. 2008;14(8):1259–62.
92. Warren JW. *Providencia stuartii*: a common cause of antibiotic-resistant bacteriuria in patients with long-term indwelling catheters. *Rev Infect Dis*. 1986;8(1):61–7.
93. Liu H, Zhu J, Hu Q, Rao X. *Morganella morganii*, a non-negligent opportunistic pathogen. *Int J Infect Dis*. 2016;50:10–7.
94. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases 7th edition. 7th ed2010.
95. Brito T, Portugal C, Sancho L, Carvalho C, Grima B, Alves JD. Sensibilidade das enterobactérias produtoras de beta-lactamases de espectro alargado à fosfomicina. *Medicina Interna*. 2015;22(3):131–5.
96. Kang C-I, Kim J, Park DW, Kim B-N, Ha U-S, Lee S-J, et al. Clinical practice guidelines for the antibiotic treatment of community-acquired urinary tract infections. *Infection & chemotherapy*. 2018;50(1):67–100.

## Anexo 1

Tabela A - Prevalência dos agentes etiológicos na população de uroculturas positivas.

Microrganismo	Total	
	n	%
<i>Escherichia coli</i>	9923	62,16
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2138	13,39
<i>Proteus mirabilis</i>	1048	6,56
<i>Escherichia coli</i> ESBL	414	2,59
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ESBL	315	1,97
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	291	1,82
<i>Enterococcus faecalis</i>	236	1,48
<i>Providencia stuartii</i>	211	1,32
<i>Morganella morganii</i>	198	1,24
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	162	1,01
<i>Enterobacter aerogenes</i>	162	1,01
<i>Citrobacter koseri</i>	158	0,99
<i>Klebsiella oxytoca</i>	137	0,86
<i>Enterobacter cloacae</i>	104	0,65
<i>Citrobacter freundii</i>	79	0,49
<i>Streptococcus agalactiae</i>	61	0,38
<i>Serratia marcescens</i>	46	0,29
<i>Staphylococcus aureus</i> meticilina resistente	45	0,28
<i>Enterobacter cloacae</i> complex	37	0,23
<i>Staphylococcus aureus</i> meticilina sensível	36	0,23
<i>Streptococcus agalactiae</i> (Grupo B)	20	0,13
<i>Acinetobacter baumannii</i>	15	0,09
<i>Providencia rettgeri</i>	13	0,08
<i>Enterococcus faecium</i>	12	0,08
<i>Proteus vulgaris</i>	12	0,08
<i>Raoultella planticola</i>	8	0,05
<i>Klebsiella oxytoca</i> ESBL	6	0,04
<i>Proteus mirabilis</i> ESBL	6	0,04
<i>Salmonella</i> group	5	0,03
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	4	0,03
<i>Citrobacter youngae</i>	4	0,03
<i>Proteus</i> spp.	3	0,02
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	3	0,02
<i>Serratia rubidaea</i>	3	0,02
<i>Leclercia adecarboxylata</i>	3	0,02
<i>Klebsiella ozaenae</i>	3	0,02
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	3	0,02
<i>Citrobacter braakii</i>	3	0,02
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	2	0,01

Tabela A – Prevalência dos agentes etiológicos na população de uroculturas positivas (Cont.).

<i>Citrobacter farmeri</i>	2	0,01
<i>Myroides spp.</i>	2	0,01
<i>Serratia fonticola</i>	2	0,01
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2	0,01
<i>Serratia liquefaciens</i>	2	0,01
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	2	0,01
<i>Serratia plymuthica</i>	2	0,01
<i>Enterobacter agglomerans</i>	2	0,01
<i>Pseudomonas luteola</i>	2	0,01
<i>Enterococcus gallinarum</i>	1	0,01
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	1	0,01
<i>Corynebacterium striatum</i>	1	0,01
<i>Enterobacter gergoviae</i>	1	0,01
<i>Cronobacter sakazakii</i>	1	0,01
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	1	0,01
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1	0,01
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1	0,01
<i>Citrobacter spp.</i>	1	0,01
<i>Serratia odorifera</i>	1	0,01
<i>Proteus Penneri</i>	1	0,01
<i>Pantoea spp.</i>	1	0,01
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	0,01
<i>Kluyvera intermedia</i>	1	0,01
<i>Kluyvera ascorbata</i>	1	0,01
<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	1	0,01
<i>Pseudomonas putida</i>	1	0,01
Total	15964	

n = frequência absoluta; % = frequência relativa

Tabela B – Prevalência dos agentes etiológicos na amostra de uroculturas positivas causadas por microrganismos multirresistentes.

Microrganismo	Total	
	n	%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	464	20,99
<i>Escherichia coli</i>	461	20,85
<i>Escherichia coli ESBL</i>	371	16,78
<i>Klebsiella pneumoniae ESBL</i>	311	14,07
<i>Proteus mirabilis</i>	189	8,55
<i>Providencia stuartii</i>	164	7,42
<i>Morganella morganii</i>	117	5,29
<i>Enterobacter cloacae</i>	26	1,18
<i>Enterobacter aerogenes</i>	22	1,00
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	17	0,77

Tabela B - Prevalência dos agentes etiológicos na amostra de uroculturas positivas causadas por microrganismos multirresistentes.

<i>Enterobacter cloacae</i> complex	10	0,45
<i>Klebsiella oxytoca</i>	9	0,41
<i>Serratia marcescens</i>	8	0,36
<i>Staphylococcus aureus</i> metilicina resistente	8	0,36
<i>Citrobacter freundii</i>	7	0,32
<i>Klebsiella oxytoca</i> ESBL	6	0,27
<i>Proteus mirabilis</i> ESBL	5	0,23
<i>Providencia rettgeri</i>	4	0,18
<i>Enterococcus faecalis</i>	2	0,09
<i>Citrobacter koseri</i>	2	0,09
<i>Acinetobacter baumannii</i>	2	0,09
<i>Enterococcus faecium</i>	2	0,09
<i>Citrobacter youngae</i>	1	0,05
<i>Proteus Penneri</i>	1	0,05
<i>Pantoea spp</i>	1	0,05
<i>Proteus vulgaris</i>	1	0,05
Total	2211	

n = frequência absoluta; % = frequência relativa

## Anexo 2

Tabela C – Resistências aos antibióticos mais na amostra de microrganismos multirresistentes.

Antibiótico	Resistências	
	n	%
Ciprofloxacina	1822	17,65
Amoxicilina/Ac. Clavulânico	1666	16,14
Trimetoprim/Sulfametoxazol	1496	14,49
Cefuroxima	1453	14,07
Cefotaxima	1251	12,12
Norfloxacina	1058	10,25
Fosfomicina	753	7,29
Nitrofurantoína	508	4,92
Ertapenem	132	1,28
Piperacilina/Tazobactam	78	0,76
Gentamicina	40	0,39
Meropenem	20	0,19
Ceftazidima	15	0,15
Levofloxacina	11	0,11
Oxacilina	8	0,08
Ampicilina	5	0,05
Amicacina	4	0,04
Penicilina	1	0,01
Cefepima	1	0,01
Cefoxitina	1	0,01
Imipenem	1	0,01
Moxifloxacina	1	0,01
Total de Resistências	10325	

n = frequência absoluta; % = frequência relativa