

UNIVERSIDADE DO ALGARVE
FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

**Estudo da prevalência de resistências a antibióticos de
bactérias associadas a infeções urinárias no Algarve**

Dissertação

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Joana Moreira da Silva Magalhães

Trabalho efetuado sobre a orientação de

Dr. João Ataíde Ferreira

e

Mestre Isabel Maria Pires Sebastião Ramalhinho

2013

UNIVERSIDADE DO ALGARVE
FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

**Estudo da prevalência de resistências a antibióticos de
bactérias associadas a infeções urinárias no Algarve**

Dissertação

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Joana Moreira da Silva Magalhães

Trabalho efetuado sobre a orientação de

Dr. João Ataíde Ferreira

e

Mestre Isabel Maria Pires Sebastião Ramalhinho

2013

Declaração de autoria de trabalho

Declaro ser a autora deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.

«Copyright» Joana Moreira da Silva Magalhães

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

À minha filha Rita.

Agradecimentos

Em primeiro lugar, agradeço ao Dr. João Ataíde por todos os ensinamentos, apoio, disponibilidade e prontidão.

À Professora Isabel Ramalinho, pelo apoio, conselhos e compreensão.

À Dra Sandra Costa e a todos os membros da farmácia Baptista (os antigos e os recentes), por tudo o que me ensinaram, pela paciência, boa disposição e amizade. Foi uma experiência fantástica que vai deixar saudades.

À Dra Margarida Baptista R. Santos por todo o apoio, compreensão e amizade durante estes anos e por disponibilizar os dados do Laboratório (Cedilab-Laboratório de Análises Clínicas Dra. M. Margarida Baptista R. Santos).

À Dra Ana Cravo por todos os conselhos.

Aos meus pais e à Zé, por todo o apoio e incentivo. Um obrigado muito especial, do fundo do coração, por estarem sempre ao meu lado.

Ao Luís e à Rita pelo amor, carinho e paciência.

À Nu, por tudo, sem ti teria sido difícil.

À Pat por acreditar em mim desde o início. À Clo e à Xu por todo o apoio e por todos os bons momentos.

Às minhas colegas do Laboratório por todo o apoio, paciência e amizade.

A todos os meus amigos, desde aqueles mais próximos até aos mais distantes (à minha Nandinha, obrigada pela confiança), pelo apoio e incentivo.

Ao Eio por acreditar em mim.

Ao meu avô paterno, pelo orgulho.

Abreviaturas

AMC-Amicacina

AMO-Amoxicilina+ Ác. Clavulanico

AMP-Ampicilina

CFZ-Cefazolina

CFX- Cefuroxime

CIP-Ciprofloxacina

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute

CTR- Ceftriaxone

CTX- Cefotaxima

DGS – Direção Geral de Saúde

EARS-Net - European Antimicrobial Resistance Surveillance Network

EAU - European Association of Urology

ECDC - European Centre for Disease Prevention and Control

ESCMID - European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases

EUCAST - European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing

FOS-Fosfomicina

GEN-Gentamicina

HPF – High power field

IDSA - Infectious Diseases Society of America

ITU - Infecção trato urinário

ITUc - ITU complicadas

Leuc – Leucócitos

LEV-Levofloxacina

NIT-Nitrofurantoína

PNPRA - Programa Nacional de Prevenção das Resistências aos Antimicrobianos

SXT- Cotrimoxazol

TRL - Recetores “Toll-Like”

TOB-Tobramicina.

TSA – Teste de Suscetibilidade aos Antimicrobianos

UFC - Unidade Formadora de Colónias

Resumo

A infecção do trato urinário (ITU) encontra-se entre as infecções mais frequentes e o principal agente etiológico é a *Escherichia coli*. O tratamento estatístico das suscetibilidades a antimicrobianos poderá ser uma ferramenta importante da Medicina auxiliando na redução das resistências e numa prescrição empírica melhor fundamentada. O objetivo deste trabalho foi conhecer de forma o mais abrangente possível a prevalência dos agentes etiológicos responsáveis por ITU na região do Algarve, assim como o perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos. Foram estudadas 3109 uroculturas de um Laboratório de Análises Clínicas, provenientes de diferentes zonas do Algarve, durante o ano de 2012. Nas uroculturas positivas foram identificados 7 géneros diferentes, sendo a *Escherichia coli* a mais frequente (73,7%). Relativamente ao estudo de suscetibilidade aos antibióticos, verificou-se que, 43% das estirpes de *E. coli* eram suscetíveis à ampicilina, 68% à amoxicilina + ácido clavulânico, 78% à ciprofloxacina, 77% à levofloxacina e 66% ao cotrimoxazol. Dos antimicrobianos estudados os que apresentaram maiores % de suscetíveis foram a amicacina com 80%, a fosfomicina com 85% e a nitrofurantoína com 81%. A elevada suscetibilidade à fosfomicina e à nitrofurantoína permite que estes antibióticos sejam opções terapêuticas válidas no tratamento empírico das ITU. Tendo em conta os resultados obtidos para a região do Algarve, podemos concluir que os protocolos terapêuticos propostos pela Direção Geral da Saúde revelam-se adequados.

Palavras chave: Infecção trato urinário, antimicrobiano, resistência, *Escherichia coli*, suscetibilidade

Abstract

Urinary tract infection is among the most common infections, being *Escherichia coli* the main etiological agent. The statistical treatment of susceptibilities to antibiotics may represent an important tool in Medicine, assisting in reducing resistance and in a more well-grounded empirical prescription. The aim of this study was to evaluate the prevalence of etiological agents responsible for urinary tract infection in the Algarve, as well as the profile of antimicrobial susceptibility. 3109 Urine cultures from a Clinical Laboratory, from distinct Algarve regions, in the year 2012 were studied. Seven different genus were identified in positive urine cultures and *Escherichia coli* was the isolate most frequent (73,7%). Concerning to antibiotic susceptibility, it was found that, 43% of *Escherichia coli* strains were sensitive to ampicillin, 68% to amoxicillin+clavulanic acid, 78% to ciprofloxacin, 77% to levofloxacin and 66% to cotrimoxazole. Among the antibiotics studied with the highest % of susceptibility were amikacin, with 80%, fosfomicin, with 85% and nitrofurantoin, with 81%. The high susceptibility to fosfomicin and nitrofurantoin indicates that these antibiotics can be used as therapeutical options for empirical treatment of urinary tract infection. Taking into account the results obtained in this study, adapted for the Algarve region, we concluded that therapeutic protocols proposed by “Direção-Geral de Saúde” are adequated for the empirical therapy approach.

Keywords: Urinary tract infection, antibiotic, resistance, *Escherichia coli*, susceptibility

Índice

1. Introdução.....	1
1.1 Infecção do trato urinário (definição e classificação).....	1
1.2 Mecanismos de defesa do trato urinário.....	4
1.3 Fatores de risco.....	4
1.3.1. Fatores de risco do hospedeiro.....	5
1.3.2. Fatores de risco relativos ao microrganismo.....	6
1.4. Etiologia das ITU.....	7
1.5. Diagnóstico das ITU.....	8
1.5.1. Manifestações clínicas.....	8
1.5.2. Diagnóstico laboratorial.....	9
1.6. Tratamento das ITU.....	14
1.6.1. Práticas utilizadas no tratamento das ITU.....	14
1.6.2. Características dos antibióticos mais utilizados no tratamento da ITU.....	16
1.7. Resistências aos antimicrobianos.....	17
2. Material e Métodos.....	29
3. Resultados.....	31
4. Discussão.....	40
5. Conclusão.....	45
6. Bibliografia.....	46

Índice das figuras

Figura 1 – Fatores associados à ITU.....	3
Figura 2 – Mecanismos de resistência adquirida.....	19
Figura 3 – a) <i>Escherichia coli</i> : % Isolados resistentes às cefalosporinas de 3ª geração no estudo EARS-Net em 2009. b) <i>Escherichia coli</i> : % Isolados resistentes aos aminoglicosídeos no estudo EARS-Net em 2009. c) <i>Escherichia coli</i> : % Isolados resistentes às fluoroquinolonas no estudo EARS-Net em 2009.....	21
Figura 4 – a) <i>Klebsiella pneumoniae</i> : % Isolados resistentes às cefalosporinas de 3ª geração no estudo EARS-Net em 2009. b) <i>Klebsiella pneumoniae</i> : % Isolados resistentes aos aminoglicosídeos no estudo EARS-Net em 2009. c) <i>Klebsiella pneumoniae</i> : % Isolados resistentes às fluoroquinolonas no estudo EARS-Net em 2009.....	23
Figura 5 – a) Enterococos: % Isolados resistentes aos aminoglicosídeos no estudo EARS-Net em 2009. b) Enterococos: % Isolados resistentes à vancomicina no estudo EARS-Net em 2009.	25
Figura 6 – Resistência de antimicrobianos à <i>E. Coli</i> no estudo ECO-SENS.....	26
Figura 7 – Percentagens de estirpes de <i>Escherichia coli</i> resistentes aos antibióticos, isoladas em 2008 e 2010, provenientes de cistites não complicadas.....	27
Figura 8 – Amostras para urocultura por género.....	31
Figura 9 – Uroculturas positivas por género.....	31
Figura 10 – Distribuição ITU por género e faixa etária.....	32
Figura 11– Prevalência da infeção por <i>E.coli</i> por género e faixa etária.....	33
Figura 12. Prevalência da infeção por <i>Klebsiella</i> spp por género e faixa etária.....	34
Figura 13. Prevalência da infeção por <i>Enterococcus</i> spp por género e faixa etária.....	34
Figura 14. Infeção por outros microrganismos por género e faixa etária.....	35
Figura 15. % Isolados <i>E. coli</i> suscetíveis aos antimicrobianos utilizados no TSA.....	36
Figura 16. % Isolados <i>Klebsiella</i> spp suscetíveis aos antimicrobianos utilizados no TSA	37
Figura 17. % Isolados <i>Enterococcus</i> spp suscetíveis aos antimicrobianos utilizados no TSA.....	38

Índice das tabelas

Tabela 1 – Classificação das ITU.....	2
Tabela 2 – Prevalência das espécies bacterianas isoladas com maior frequência.....	8
Tabela 3 – Critérios para o diagnóstico de ITU.....	9
Tabela 4 – Regimes terapêuticos aconselhados pela Direcção Geral da Saúde.....	15
Tabela 5 – Antibióticos utilizados no tratamento da ITU.	16
Tabela 6 – Frequência dos agentes causadores de ITU no Algarve.....	33
Tabela 7 - % Suscetíveis (% S) e intervalos de confiança (IC 95%) por microrganismo Gram negativo e antimicrobiano.....	39
Tabela 8 - % Suscetíveis (%S) e intervalos de confiança (IC 95%) por microrganismo Gram positivo e antimicrobiano.....	40
Tabela 9. Relatório cumulativo de suscetibilidades a antimicrobianos de isolados Gram negativos de uroculturas do ano de 2012 conforme o guia M39-A3.....	40
Tabela 10. Relatório cumulativo de suscetibilidades a antimicrobianos de isolados Gram positivos de uroculturas do ano de 2012 conforme o guia M39-A3.....	41

1. Introdução

A infeção do trato urinário (ITU) encontra-se entre as infeções mais frequentes no homem. As ITU podem ocorrer desde a infância à idade adulta, em pessoas saudáveis ou debilitadas. A prevalência da ITU varia com a idade, a raça e o género, e é mais elevada no género feminino.⁽¹⁾ Nos EUA são responsáveis por cerca de 7 milhões de consultas médicas e por 15% dos antimicrobianos prescritos na comunidade.⁽²⁾⁽³⁾ Em Portugal a incidência real da ITU adquirida na comunidade é difícil de determinar. Com o objetivo de atualizar dados sobre o impacto das ITU em Portugal, em 2008 foi realizado um questionário a 148 médicos de Medicina Geral e Familiar (86,3%) e urologistas (13,7%). Em média, cada médico consultava 115 doentes por semana, sendo que 7,1% dos casos correspondiam a consultas por infeções urinárias. Nestas consultas foram diagnosticadas cistites colicadas em 13,1% dos casos e infeções urinárias recorrentes em 22,6%.⁽⁴⁾

De acordo com o European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), Portugal é um dos países da Europa com taxas de resistência aos antibióticos mais elevadas.⁽⁵⁾ O Programa Nacional de Prevenção das Resistências aos Antimicrobianos (PNPRA), de Novembro de 2009, tem como objetivo diminuir a taxa de resistências a nível nacional.⁽⁶⁾

1.1. Definição e classificação

A ITU pode ser definida como uma invasão e multiplicação de microrganismos na urina e nos tecidos do trato urinário, desde a uretra até aos rins, entre outras estruturas tubulares e órgãos anexos.⁽⁷⁾

As ITU englobam as seguintes síndromes que se distinguem consoante o local e a extensão da inflamação no trato urinário e os sintomas do hospedeiro:

- Bacteriúria assintomática: presença de bactérias no trato urinário na ausência de sintomas. O seu significado clínico é controverso, sendo valorizável apenas nos casos de grávidas, devido ao risco de desenvolvimento de pielonefrite ou infeção grave para o feto, de doentes que vão efetuar procedimentos invasivos que envolvem o aparelho urinário, doentes submetidos a transplante renal e em crianças com refluxo vesico uretral⁽⁸⁾⁽⁹⁾

- Cistite: infecção do trato urinário inferior, caracterizada por sintomas que envolvem a bexiga, tais como, disúria, polaquiúria, ardor miccional, dor suprapúbica e urgência ou tenesmo miccional. ^{(1) (3) (4) (10)}

- Pielonefrite: infecção do trato urinário superior especificamente do parênquima renal e da pélvis renal. Está associada a sinais de infecção sistêmica, tais como a febre, dor lombar, mal-estar, cefaleias, náuseas, sinais e sintomas de bacteriemia. ^{(1) (3) (10) (11)}

A identificação do local da infecção é de extrema importância pois condiciona o tratamento antimicrobiano (fármaco, dose e duração do tratamento). As diretrizes publicadas pela Infectious Diseases Society of America (ISDA) e pela European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID), distinguem as ITU em: ⁽³⁾.

Tabela 1. Classificação das ITU. ⁽³⁾

A. Cistite aguda, não complicada
B. Pielonefrite, não complicada
C. ITU complicada, com ou sem pielonefrite
D. Bacteriúria assintomática
E. ITU recorrente

As ITU complicadas (ITUc), são infecções que, estão associadas a alterações estruturais ou funcionais do trato geniturinário que impedem o fluxo normal da urina, à existência de cateteres ou à existência de uma doença associada, como diabetes, insuficiência renal ou imunodeficiências. A ITU no homem, no idoso, na grávida, na criança, as infecções nosocomiais, as infecções após intervenções urinárias recentes ou a identificação de microrganismos multi-resistentes, deverão ser consideradas como potenciais ITUc. Nestes casos, o risco de adquirir uma infecção ou de falha terapêutica é acrescido. A distinção entre ITUc e ITU é importante porque quando se trata de uma ITUc é frequente a resistência aos antimicrobianos, a dificuldade na obtenção do diagnóstico e a falência terapêutica, mesmo quando se utilizam os antimicrobianos indicados. ^{(1) (3) (12) (13) (14)}

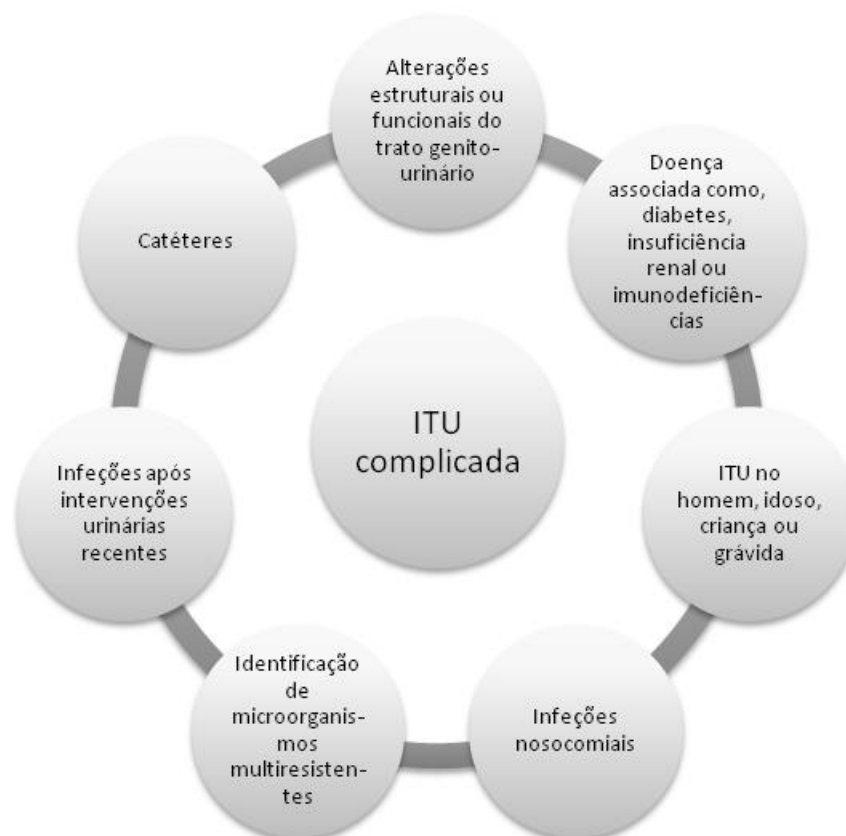


Figura 1. Fatores associados à ITUc. ⁽¹⁾ ⁽³⁾ ⁽¹²⁾ ⁽¹³⁾ ⁽¹⁴⁾

As ITU recorrentes, são comuns nas mulheres jovens sem alterações nas vias urinárias e nas mulheres após a menopausa. As ITU recorrentes são definidas pela ocorrência de 3 episódios num ano ou 2 episódios em 6 meses. ⁽¹⁵⁾ ⁽¹⁶⁾ ⁽¹⁷⁾ De acordo com a sua patogénese classificam-se em recidivas e reinfeções. As reinfeções ocorrem quando surgem infeções por novos organismos. Nas recidivas, a bacteriúria muitas vezes persiste durante a terapêutica ou reaparece duas semanas após a sua conclusão. O uso de doses sub-terapêuticas de antimicrobianos, a deficiente adesão à terapêutica, a presença de microorganismos resistentes à terapêutica instituída, fatores de risco genéticos e a existência de biofilmes, são apontados como causas das recidivas e reinfeções. ⁽³⁾

Clinicamente, as ITU não complicadas, complicadas ou recorrentes deverão ser diferenciadas, pois a severidade e o enquadramento dos sintomas, das causas e das consequências definem o grau de urgência e o tipo de tratamento.

1.2. Mecanismo de defesa do trato urinário

Os microrganismos podem alcançar o trato urinário por via hematogénea, linfática ou ascendente através da uretra. A via hematogénea é característica de microrganismos como *Staphylococcus aureus*, *Candida* spp, *Salmonella* spp. e *Mycobacterium tuberculosis*.⁽¹⁾⁽³⁾⁽¹⁸⁾

As ITU são maioritariamente causadas por bactérias da flora intestinal do paciente que entram no trato urinário por via ascendente, através da uretra⁽¹⁾.

A vagina e a uretra estão normalmente colonizadas por várias espécies de microrganismos (estreptococos, lactobacilos e estafilococos) que formam uma barreira protetora para outros agentes patogénicos. A alteração do pH, a alteração dos níveis de estrogénios ou a utilização de antimicrobianos pode provocar a alteração da flora e aumentar a possibilidade de invasão por outros agentes patogénicos. Em resultado da proximidade entre o meato uretral e a zona perianal a contaminação ocorrerá com maior frequência nas mulheres. A consequente infeção vesical depende da patogenicidade da estirpe, do tamanho do inóculo e das defesas locais e sistémicas do hospedeiro. Em condições normais, as bactérias que atingem a bexiga são rapidamente eliminadas pelos efeitos de limpeza e diluição da urina que levam ao arrastamento dos microrganismos através do fluxo da urina durante a micção; pelas propriedades antibacterianas da urina, como a elevada osmolaridade, a elevada concentração de ureia e ácidos orgânicos, de lisozima, de imunoglobulina A e baixa concentração de glucose e pela ação dos leucócitos que invadem o epitélio da bexiga logo após a infeção. A proteína Tamm-Horsfall, produzida no rim, é a proteína que existe em maior concentração na urina. Esta proteína desempenha um papel importante na defesa do trato urinário, facilitando a eliminação de bactérias uropatogénicas, ligando-se às fimbrias do tipo-1 da *E. coli*, impedindo, assim, a ligação aos recetores da mucosa.⁽⁴⁾⁽¹²⁾⁽¹⁹⁾⁽²⁰⁾⁽²¹⁾

1.3. Fatores de risco

A ITU é uma patologia extremamente frequente que ocorre em todas as idades. As características do hospedeiro e as características bacterianas contribuem para a ocorrência das ITU. Nas ITU não complicadas os agentes etiológicos são os principais responsáveis, nas ITU complicadas as características do hospedeiro são os principais determinantes da infeção. As variáveis mais importantes a ter em conta na epidemiologia das ITU são: o género, a idade, a ausência ou presença de alterações do trato geniturinário, a utilização de cateteres e o fato da infeção ser sintomática ou assintomática⁽¹⁾⁽³⁾⁽²²⁾

1.3.1. Fatores de risco do hospedeiro ^{(1) (3) (23)}

Os principais fatores de risco do hospedeiro são o género e a idade. A maior suscetibilidade à infeção no género feminino, deve-se às condições anatómicas e fisiológicas: uretra mais curta que a do homem e proximidade da vagina e ânus, ausência de secreções prostáticas, alterações hormonais, gravidez e menopausa devido à redução dos níveis de estrogénios e à alteração da flora vaginal. Outros fatores como, história de ITU recente, o grau de atividade sexual, que facilita a entrada e subida de microrganismos na uretra e o atraso na micção pós-coito também contribuem para uma maior suscetibilidade feminina à ITU.

No adulto do género masculino, fatores como instrumentação das vias urinárias, doenças prostáticas que traduzem situações de obstrução do fluxo urinário, contactos sexuais homossexuais e indivíduos com prepúcio intacto, favorecem as ITU.

Durante o primeiro ano de vida as ITU são mais comuns no género masculino devido a malformações congénitas, como o refluxo vesico uretral.

- Obstruções primárias e cateterização ⁽²⁴⁾

A obstrução da passagem da urina a qualquer nível do trato urinário, devido a tumores, cálculos, estenose, gravidez, anomalias do trato urinário, é um fator importante para o aumento do risco de ITU. A estase urinária facilita a proliferação bacteriana e a sua aderência às células epiteliais e provoca a distensão vesical, reduzindo assim a capacidade antibacteriana vesical.

Os cateteres permitem a entrada de microrganismos no momento da inserção ou durante a manutenção do mesmo. Aproximadamente 40% das infeções nosocomiais, com origem no trato urinário, são causadas por cateteres.

- Falência dos mecanismos de defesa ^{(3) (25)}

A Diabetes mellitus torna o hospedeiro mais suscetível a ITUc devido a vários fatores tais como a presença de glicose na urina, disfunção dos neutrófilos, aumento da aderência das bactérias ao epitélio, alterações no controlo metabólico, nefropatias diabéticas e complicações vasculares. Complicações clínicas como pielonefrite enfisematosa, abscesso perinéfrico e necrose papilar são muito comuns em doentes diabéticos com ITU.

A redução dos níveis de estrogénios induz alterações na flora que tornam a eliminação bacteriana deficiente, aumentando a predisposição a infeções bacterianas.

- Alterações genéticas^{(3) (12) (26) (27) (28) (29)}

As mulheres portadoras de fenótipos de grupos sanguíneos não secretores, ou seja, que não secretam os antigénios característicos do seu grupo sanguíneo para os fluidos corporais ou secreções como a saliva, têm maior predisposição para ITU recorrentes.

Vários estudos indicam que alguns genes estão relacionados com a suscetibilidade a ITU recorrentes, associados a alterações na resposta do hospedeiro a ITU, tais como, CXCR1 e 2, TLR2 e TLR4. Após a colonização, as bactérias ligam-se a recetores de glicoproteínas do hospedeiro, como os recetores “Toll-Like” (TLR). Após ativação, estes TLR medeiam as vias de sinalização que ativam a secreção de interleucinas (CXCL-8), que se ligam ao seus recetores respetivos CXCR1 e 2. Em resposta a esta ligação, migram neutrófilos para a bexiga eliminando bactérias por fagocitose. Doentes com deficiências nestes recetores são mais suscetíveis a ITU.

A predisposição genética para aderência aumentada das bactérias ao uroepitélio também está relacionada com o genótipo HLA-A3.

1.3.2. Fatores de risco relativos ao microrganismo

Os fatores de virulência das bactérias têm um papel importante ao determinar se um organismo pode ou não invadir o trato urinário e o nível de infeção atingida.

A *E.coli* uropatogénica expressa fatores de virulência específicos que permitem a aderência e a colonização do trato urinário, entre os quais se destacam:^{(30) (31) (32) (33) (34)}:

- Flagelo ou antigénio H: responsável pela motilidade;
- Cápsula ou antigénio K: camada protetora resistente à fagocitose;
- Polissacarídeos ou antigénio O: protegem contra a lise pelo complemento;
- Adesinas não fimbriais, à superfície da membrana, ou fimbrias (estruturas filamentosas, que se projetam da superfície da membrana) que são responsáveis pela aderência da bactéria ao urotélio. Existem dois tipos de fimbrias: tipo I (manose-sensível) cujos recetores são a manose ou a proteína de Tamm-Horsfall e tipo 2 (manose-resistente) cujo recetor é parte de um glicosfingolípido (Gal-Gal);
- Hemolisina: toxina polipeptídica, que provoca lise de hemácias assim como células do uroepitélio;

- Aerobactina: quelante do ferro, devido à importância deste no crescimento e divisão bacteriana;
- Fator necrosante citotóxico tipo1 (CNF-1): toxina que promove a degradação do uroepitélio e inibe a ação dos neutrófilos;
- Capacidade de se estruturar em biofilmes: as bactérias uropatogénicas invadem as células superficiais da bexiga e criam biofilmes ou colónias. Estas estruturas contêm as bactérias envoltas numa matriz rica em polissacarídeos e constituem um depósito para os microrganismos causadores das ITU recorrentes, além de as protegerem da ação de alguns antimicrobianos.

1.4. Etiologia das ITU

A invasão do aparelho urinário saudável está limitada a um grupo restrito de microrganismos (uropatogéneos), que possuem a capacidade, mediante a expressão de fatores de virulência, de iludir e ultrapassar os mecanismos de defesa do hospedeiro.

Os agentes etiológicos mais frequentemente encontrados em indivíduos sem fatores de risco específicos são os bacilos Gram negativos, nomeadamente, a *Escherichia coli*, o *Proteus mirabilis*, a *Klebsiella pneumoniae* e a *Pseudomonas aeruginosa*, e os cocos Gram positivos, como o *Enterococcus faecalis* e o *Staphylococcus saprophyticus*.⁽¹⁾⁽³⁾⁽³⁵⁾

Os agentes patogénicos associados a ITU não complicadas têm permanecido constantes, com a *E. coli* identificada como o agente etiológico em 75 a 90% das infeções e com *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Enterococcus* spp., *Pseudomonas* spp. e *S. saprophyticus* em percentagens menores, sendo a *Klebsiella* spp., o segundo agente mais comum. Nas ITU complicadas destacam-se a *Pseudomonas* spp., o *Enterococcus* spp., o *Proteus* spp. e a *Escherichia coli* multiresistente.⁽¹⁾⁽²³⁾⁽³⁶⁾

Na tabela 2 apresentam-se as prevalências bacterianas encontradas em diversos estudos realizados na Europa.

Tabela 2. Prevalência das espécies bacterianas isoladas com maior frequência.

Espécies bacterianas isoladas com maior frequência (%)					
	Kahlmeter, G. ⁽³⁷⁾ 2003	André Mendonça <i>et al</i> ⁽³⁸⁾ 2008	Carlos Correia <i>et al</i> ⁽⁷⁾ 2007	Alexandra Silva <i>et al</i> ⁽³⁹⁾ 2008	Ana Narciso <i>et al</i> ⁽⁴⁰⁾ 2010
	16 Países Europeus	Estudo Laboratório Análises Clínicas da comunidade – Lisboa	Hospital Bragança	13 Laboratórios Análises Clínicas da Comunidade	10 Laboratórios Análises Clínicas da Comunidade
Gram -					
<i>Escherichia coli</i>	76,5	75,9	68,4	73,3	75,9
<i>Proteus spp.</i>	7,2	4,2	5,2	8,3	8,7
<i>Klebsiella spp.</i>	3,4	8,7	7,9	5,2	4,9
Gram +					
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2,9	2,6	3,5	2,7	1,7
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	2,7	3,5	1,4	1,3

Conclui-se que os padrões portugueses das prevalências de espécies bacterianas são semelhantes aos padrões internacionais. ^{(7) (39) (39) (37) (38)}

1.5. Diagnóstico das ITU

1.5.1. Manifestações clínicas

Na avaliação clínica deverão ser considerados: ^{(1) (3) (18) (41)}

- Sintomas (a uretrite e a vaginite devem ser consideradas no diagnóstico diferencial);
- Hábitos gerais: ingestão diária de líquidos, periodicidade das micções, técnica da limpeza após micção e micção pós coito;
- Relações sexuais;
- Outras suspeitas: infeções em criança, problemas com o fluxo e o esvaziamento da bexiga e outras doenças.

As diretrizes publicadas pela IDSA e pela ESCMID, definem os seguintes critérios para o diagnóstico de ITU: ⁽³⁾

Tabela 3. Critérios para o diagnóstico de ITU. Adaptado de Grabe *et al* ⁽³⁾

ITU	Manifestações clínicas	Achados laboratoriais
Cistite aguda, não complicada	Disúria, urgência, frequência ou tenesmo miccional, dor suprapúbica. Ausência de sintomatologia nas 4 semanas anteriores ao episódio.	> 10 Leuc/HPF > 10 ⁴ UFC/mL
Pielonefrite, não complicada	Febre, arrepios, dor lombar, cefaleias, náuseas e mal-estar. Exclusão de outros diagnósticos. Ausência de alterações urológicas.	> 10 Leuc/HPF > 10 ⁴ UFC/mL Elevação de parâmetros de fase aguda
ITU complicada	Combinação de sintomas das situações clínicas 1 e 2 em um ou mais fatores associados a ITUc.	> 10 Leuc/HPF > 10 ⁵ UFC/mL mulheres > 10 ⁴ UFC/mL homens
Bacteriúria assintomática	Sem sintomatologia.	> 10 Leuc/HPF (por vezes) > 10 ⁵ UFC/mL em 2 culturas-com + 24 horas
ITU recorrente	Pelo menos três episódios de ITU não complicada confirmada por urocultura, nos últimos 12 meses (na mulher). Ausência de alterações urológicas.	< 10 ³ UFC/mL

Leuc – Leucócitos; UFC - Unidade Formadoras de Colónias

1.5.2. Diagnóstico laboratorial

A ITU é uma das doenças infecciosas mais comuns e as culturas de urinas constituem os exames mais frequentes da área de Microbiologia Médica. No entanto, é necessário seguir protocolos definidos e rigorosos, relativamente à recolha, à conservação e transporte das amostras, à interpretação dos resultados das culturas, à identificação dos microrganismos e à realização e reporte dos testes de suscetibilidade aos antimicrobianos (TSA). ⁽¹⁾

Experiências clínicas sugerem que as ITU não complicadas podem ser diagnosticadas clinicamente e sem recorrer a culturas de urinas. Pacientes que apresentem sintomas consistentes

com ITU devem ser sujeitos a um exame físico, história clínica e realizar um exame sumário de urina. O exame sumário da urina é suficiente para diagnosticar ITU não complicadas. No entanto, as culturas de urinas são importantes para diagnosticar ITU recorrentes ou nos casos de falha terapêutica, principalmente devido ao aumento da resistência microbiana a uropatógenos e à necessidade de realizar TSA. As culturas urinárias, segundo as Normas Clínicas da DGS devem ser prescritas na grávida, no homem, na idade pediátrica, nas infecções complicadas ou recidivantes da mulher adulta e em casos de pielonefrite. ^{(42) (43) (44)}

O exame básico de urina inclui, entre outros, a deteção de leucócitos, eritrócitos e nitritos, importantes para o diagnóstico de piúria, hematúria e presença de bactérias. ^{(1) (3)}

A presença de mais de 5-10 leucócitos por campo (HPF 100 x) é um critério importante para o diagnóstico de ITU. No entanto, nos casos dos doentes com cateteres urinários a presença de piúria não é indicativo de ITU. ^{(1) (11) (43) (45)}

A deteção de nitritos sugere a presença de infeção e a presença de bactérias. Esta deteção tem associadas as limitações de que, nem todos os uropatógenos reduzem nitratos a nitritos, como *S. saprophyticus*, *Pseudomonas* spp. ou *Enterococos* spp e nos casos de elevada diurese em que as bactérias têm um tempo de permanência na bexiga reduzido ^{(1) (43) (45) (46)}

Uroculturas

Para diagnóstico das ITU, por vezes, é necessária a realização de uma cultura da urina, de forma a identificar o agente etiológico e a testar a sua suscetibilidade aos antimicrobianos. A avaliação quantitativa de bactérias é importante para o diagnóstico de ITU, juntamente com as manifestações clínicas (ver tabela 3). Em alguns casos concentrações entre 10^2 e 10^4 UFC (unidades formadoras de colónias/ml) podem levar ao diagnóstico de ITU. A avaliação quantitativa é feita recorrendo a ansas calibradas ou pipetas e a volumes de 1 a 10 μ l consoante o método de colheita da amostra. ^{(1) (35)} Os laboratórios deverão ter um algoritmo para a valorização das culturas que considere o número de agentes isolados, o seu número, o tipo de amostra e, se disponível, a informação clínica. ^{(1) (35) (43) (47)}

Colheita de amostras para uroculturas

A colheita e a conservação de amostras de urinas para análises microbiológicas tem um papel determinante na qualidade dos resultados. Existem vários métodos, invasivos e não invasivos.⁽³⁵⁾

As técnicas mais utilizadas são:^{(1) (35) (48) (49) (50) (51)}

◦ **Método do jato médio**

O método do jato médio é o mais utilizado e o mais recomendado, uma vez que é não invasivo, é simples de executar, evita os riscos da cateterização e é menos dispendioso. Mesmo com todos os cuidados estas amostras são as mais propícias a contaminações devidas à flora perineal, vaginal e uretral.

A colheita exige limpeza da zona periuretral com toalhete ou água e sabão, com o movimento da frente para trás. Afastar os grandes lábios e/ou prepúcio com uma das mãos e desperdiçar o primeiro terço do jato urinário, de forma a eliminar as bactérias da uretra. Sem parar o fluxo, recolher o jato médio para um recipiente esterilizado e desperdiçar a restante quantidade de urina.

Este método em doentes não colaborantes, caso dos idosos, pacientes com algum comprometimento físico e crianças muito novas, é muitas vezes problemático devido a problemas de coordenação, incontinência e higiene deficiente e conseqüente contaminação das amostras.

As amostras preferenciais são a primeira urina da manhã ou urina recolhida após quatro horas sem urinar.

◦ **Punção de algalias**

É necessário clampar a algália por um breve período, desinfetar a área (ponto de colheita, caso exista, ou porção proximal do tubo) com uma solução alcoólica, puncionar a borracha do tubo coletor e aspirar, com uma seringa esterilizada, 5 a 20 mL de urina. Colocar o seu conteúdo num recipiente esterilizado. As amostras nunca devem ser recolhidas do saco coletor. As pontas de algália não são amostras aceitáveis para exame bacteriológico.

◦ **Saco coletor**

Os sacos adesivos pediátricos são frequentemente utilizados em crianças sem controlo dos esfíncteres. Lavar com água e sabão a área genital, limpar com água esterilizada e secar com uma compressa esterilizada. Aplicar um saco autocolante estéril. Após a criança urinar, transferir a urina para um recipiente esterilizado. As amostras obtidas através deste método apresentam muitos falsos positivos (baixa especificidade). A contaminação é mais frequente em amostras de meninas e meninos não circuncidados devido à flora periuretral que não é eliminada com o primeiro jato, ao contrário dos pacientes que utilizam a técnica do jato médio. A contaminação pode ser minimizada com a limpeza e lavagem do períneo antes da colocação do saco e a sua remoção logo após a recolha. As culturas de urinas negativas obtidas por este método podem descartar a hipótese de uma ITU. No entanto, as culturas positivas devem ser confirmadas pelo método da punção suprapúbica ou por colheita por algáliação. A punção suprapúbica é considerada o método de escolha para o diagnóstico de ITU em crianças.

Conservação e transporte das amostras^{(1) (35)}

As amostras devem ser processadas até duas horas após a colheita, de forma a minimizar a proliferação bacteriana. Caso não seja possível, devem ser refrigeradas, situação em que podem ser semeadas até 24 horas após a recolha. É ainda possível utilizar um bacteriostático como o ácido bórico que permite conservar a amostra até 24 horas à temperatura ambiente. O volume do bacteriostático vs volume de urina deve ser respeitado de forma a evitar a inibição do crescimento de alguns microrganismos, como os enterococos, o que pode ser difícil ou impossível de conseguir no caso das crianças dado o baixo volume das micções.

Processamento das amostras^{(1) (18) (35)}

Cada laboratório deve estipular o método de processamento do exame bacteriológico de urina: exame microscópico, volume de urina a semear, meios de cultura a utilizar e o tempo de incubação, de forma a garantir a deteção dos uropatógenos mais frequentes.

As amostras de urinas devem ser semeadas utilizando ansas calibradas ou pipetas. Este método permite estimar o número de UFC por mL. O volume a semear deve conferir ao exame a sensibilidade desejada (variável com o tipo de amostra) e deve permitir obter colónias isoladas de modo a permitir a execução de testes de identificação e TSA.

Os meios de cultura utilizados são o meio de gelose de sangue, o meio de MacConkey (meio seletivo de bactérias Gram negativas) ou outros meios seletivos. Estão disponíveis no mercado vários meios cromogénicos para identificação e diferenciação de patogéneos urinários. Nos meios cromogénicos, organismos específicos produzem colónias dependendo do tipo de enzimas que produzem e dos substratos incorporados nos meios. A maior vantagem destes meios é a facilidade com que se detetam vários tipos de colónias e a diminuição do número de testes de identificação. O limite de deteção de 10^3 UFC/ml e a incapacidade de detetar todos os microrganismos são as desvantagens destes meios cromogénicos.

As culturas de urina devem ser incubadas entre a 35-37°C, durante 12 a 17 horas em atmosfera ambiente.⁽⁵²⁾

Testes de Suscetibilidade a Antimicrobianos ^{(1) (35) (53) (54)}

Os testes de suscetibilidades a antimicrobianos deverão ser realizados segundo normas estabelecidas por organizações científicas, tais como o European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) e CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) que fornecem dados sobre os antimicrobianos que podem ser utilizados no tratamento.

O laboratório deverá reportar os resultados dos TSA de acordo com as seguintes regras:

- Os resultados dos testes devem ser analisados de acordo com o conhecimento das resistências naturais e de outros mecanismos de resistência. Esta tarefa é facilitada pela existência de programas informáticos destinados a facilitar a avaliação crítica dos resultados;
- Deverão ser ensaiados e reportados antimicrobianos de todas as classes utilizáveis. Em instituições onde exista política de utilização de antibióticos esta deverá ser respeitada;
- Os resultados deverão ser fornecidos como suscetíveis, resistentes ou intermédios. A inclusão de outras informações, tais como o valor da concentração inibitória mínima são opcionais;
- Dentro de cada classe, o relatório deverá incluir apenas os de menor espectro de ação e, dentro destes, os de menor custo;
- O relatório deverá incluir outras informações julgadas pertinentes para auxiliar o médico na sua decisão terapêutica.

1.6. Tratamento das ITU

1.6.1. Práticas utilizadas no tratamento das ITU

Nas ITU não complicadas é, normalmente, utilizada a terapêutica empírica. As culturas de urinas e os consequentes testes de suscetibilidade aos antimicrobianos são utilizadas mais frequentemente em ITU complicadas ou no caso de falha terapêutica, entre outros.^{(1) (42)}

Para a utilização da terapêutica empírica é importante, a identificação do tipo de ITU e o conhecimento da prevalência dos agentes e dos seus padrões de resistência aos antimicrobianos na área geográfica considerada.

Para auxiliar a prescrição de tratamento, existem vários guias e normas com recomendações que têm como objetivo facilitar o diagnóstico e tratamento, reduzir erros, contribuir para redução de resistências aos antibióticos e para diminuir custos. No entanto, a prescrição empírica torna-se mais complicada com o aumento de resistências aos antimicrobianos.^{(1) (3) (4) (10) (14) (42)}

Existem inúmeras associações científicas que propõem protocolos para tratamento empírico das ITU. A Direção-Geral da Saúde (DGS) recomenda os regimes terapêuticos descritos na tabela 4.^{(3) (4) (10) (14) (42) (44) (55) (56) (57)}

Tabela 4. Regimes terapêuticos aconselhados pela Direcção Geral da Saúde. Adaptado de ⁽⁴²⁾:

Paciente/ITU	Fármaco	Dose	Duração
Cistite aguda não complicada da mulher não grávida e homens	Nitrofurantoína ^{a)}	100 mg 6/6 horas	5-7 dias
	Fosfomicina ^{b)}	3000 mg /dia	1 dia
	Amoxicilina+ácido clavulânico	625 mg (500+125 mg) 8/8 horas	5-7 dias
	Quinolonas ^{c)}		
Cistite aguda não complicada e bacteriúria assintomática na mulher grávida	Fosfomicina Amoxicilina+ácido clavulânico ^{d)}	3000 mg /dia 625 mg (500+125 mg) 8/8 horas	1 dia 5-7 dias
Pielonefrite - casos ligeiros a moderados	Ceftriaxone seguido de Cefuroxima-axetil	1 gr IV ou IM (1 toma) 500 mg 12/12 horas PO	7 a 14 dias
	Levofloxacina ^{e)}	750 mg /dia	5 dias
Pielonefrite -casos graves	Ceftriaxona Gentamicina seguido de antibioterapia dirigida por antibiograma	1 gr IV ou IM	Decisão hospitalar
Crianças (3 meses – 12 anos)	Amoxicilina+ácido clavulânico	20-45 mg mg/kg Peso Corporal	3-4 dias ITU não febril e 7-14 dias ITU febril
	Cefuroxime axetil	20-30 mg/Hg/Peso corporal	

a) Excepto em homens e em pacientes com depuração de creatinina <10 ml/min ou em hemodiálise

b) Excepto em pacientes com depuração de creatinina <10 ml/min ou em hemodiálise

c) Reservadas aos casos com contraindicação ou intolerância reconhecida aos restantes antibióticos

d) Deve ser evitada no primeiro trimestre de gravidez.

e) Em doentes intolerantes a β -lactâmicos.

Segundo a DGS, as propostas de antibioterapia empírica apresentadas para tratamento de cistites, associam-se a taxas de erradicação iguais ou superiores a 90%. Nas recidivas após

tratamento, deve ser realizada uma urocultura com TSA e deve ser utilizado empiricamente um antimicrobiano de um grupo diferente do utilizado anteriormente. A terapêutica deve ser modificada de acordo com a suscetibilidade do agente isolado.

1.6.2. Características dos antibióticos mais utilizados no tratamento da ITU ⁽³⁾ ⁽⁵⁸⁾

Tabela 5. Antibióticos utilizados no tratamento da ITU. ⁽⁵⁸⁾



- Trimetoprim/Cotrimoxazol (Trimetoprim-Sulfametoxazol)

Este fármaco sempre foi utilizado como primeira linha nos tratamentos empíricos das ITU, segundo as normas da EAU e da IDSA. Também é utilizado como profilaxia nas cistites recorrentes. A taxa de resistência tem aumentado e não é aconselhado em áreas geográficas cuja taxa de resistência é superior a 20%. Como efeitos adversos caracterizam-se alterações hematológicas. ⁽¹⁾ ⁽³⁾ ⁽⁵⁸⁾

- Fosfomicina

A Fosfomicina é um inibidor da síntese dos peptidoglicanos, de largo espectro e de boa tolerância e tem menos custos. Tem alguns efeitos adversos como hipersensibilidade, erupção

cutânea, náuseas, vômitos, entre outros. É utilizado numa dose única. A percentagem de *E. coli* resistentes é em geral muito baixa. ^{(1) (3) (58)}

◦ Nitrofurantoína

A nitrofurantoína é um inibidor dos ácidos nucleicos. A sua atividade antimicrobiana é limitada ao trato urinário devido às suas concentrações baixas no soro. É ativa para infecções por *E. coli*, *Klebsiella* spp. e *Enterobacter* spp. e não é utilizado para infecções por *Proteus* spp. Tem alguns efeitos adversos como perturbações gastrointestinais, hipersensibilidade e perturbações hematológicas. Não é recomendado em doentes com diminuição da função renal. ^{(1) (3) (58)}

◦ β -lactâmicos

Neste grupo de antimicrobianos, encontram-se as aminopenicilinas e as cefalosporinas, muito utilizadas no tratamento das ITU devido ao seu largo espectro e ao facto de serem rapidamente excretadas na urina em altas concentrações. Têm vindo a ser substituídas por outros antimicrobianos devido ao aumento da sua resistência e da sua baixa eficácia. ^{(1) (3) (58)}

◦ Fluoroquinolonas

Os fármacos deste grupo são inibidores da síntese dos ácidos nucleicos, têm um amplo espectro de atividade antibacteriana e estão divididos em 4 grupos:

Grupo 1. Norfloxacin, o Infarmed emitiu uma circular em 2008 que recomendava a restrição da sua utilização em ITU ⁽⁵⁹⁾; Grupo 2. Ofloxacin e ciprofloxacina, Grupo 3. Levofloxacin (tem atividade para bactérias Gram positivas como estafilococos e enterococos e é utilizada em infecções mais graves). A Direção-Geral da Saúde não recomenda este grupo de fármacos como agentes de primeira escolha para tratamento de ITU.

1.7. Resistências aos antimicrobianos

Os antimicrobianos são uma das mais importantes descobertas terapêuticas da história da Medicina e surgiram em 1928 quando Alexander Fleming descobriu uma substância, a penicilina, com propriedades antimicrobianas. Podem ser definidos como substâncias químicas, naturais ou sintéticas, que têm a capacidade de impedir a multiplicação de microrganismos ou de os destruir, sem ter efeitos tóxicos para o homem. ^{(58) (60)}

A utilização indevida de antimicrobianos para efeitos terapêuticos e na produção animal destinada a consumo humano, contribuíram para o aparecimento e propagação de resistências, destruindo as estirpes suscetíveis e selecionando as resistentes. A resistência a antimicrobianos surge quando estes perdem a capacidade de impedir o crescimento e provocar a morte dos microrganismos. ^{(58) (60) (61) (62) (63)}

A resistência bacteriana aos antimicrobianos pode ser natural ou adquirida. A resistência natural é uma característica herdada e exibida por todas as estirpes de uma espécie ou de um género. Transmite-se verticalmente à descendência do microrganismo, porque está inscrita no cromossoma, mas a transferência horizontal é rara ou não existe. A resistência natural define o fenótipo “selvagem” da espécie bacteriana. A resistência adquirida ocorre em proporções variáveis de estirpes de uma espécie ou de um género. A proporção de estirpes resistentes é variável com o tempo. Este tipo de resistência reflete a aquisição de um ou mais mecanismos de resistência ausentes no fenótipo “selvagem”. É frequentemente mediada por ADN móvel, sob a forma de plasmídeos ou transposões e pode ser transmitida horizontalmente, por vezes entre espécies diferentes. Geralmente ocorre transmissão vertical, mas a resistência é por vezes perdida na ausência de pressão seletiva de antimicrobiano. Os mecanismos de resistência adquirida são:

- *Redução da quantidade de antimicrobiano que alcança o alvo devido a impermeabilidade ou a efluxo ativo.*

A redução da permeabilidade pode ocorrer em bactérias Gram – se as porinas da membrana externa ficarem parcial ou totalmente bloqueadas ou se desaparecerem. A entrada dos antimicrobianos também pode ser afetada por mutações que afetem os lipopolissacarídeos, o que pode reduzir o acesso dos antimicrobianos às porinas na parte externa da membrana célula. A diminuição da permeabilidade também pode ser devida, embora mais raramente, a alterações da membrana citoplasmática.

- *Modificação do alvo.*

Mutação; Aquisição de genes externos.

- *Inativação do antimicrobiano.* É o mecanismo de resistência mais comum nos agentes infecciosos. É o caso da inativação dos β -lactâmicos por β -lactamases e dos

aminoglicosídeos por enzimas (fosfotransferases, nucleotidiltransferases e acetiltransferases)

- *Transmissão* de material genético

O material genético que determina o desenvolvimento de resistências pode ser transferido pelos seguintes mecanismos:

Transdução: transferência de ADN por bacteriófagos;

Conjugação: transferência de ADN por contacto direto ou ligação entre as células;

Competência: aquisição, a partir do ambiente, de ADN libertado por células destruídas.

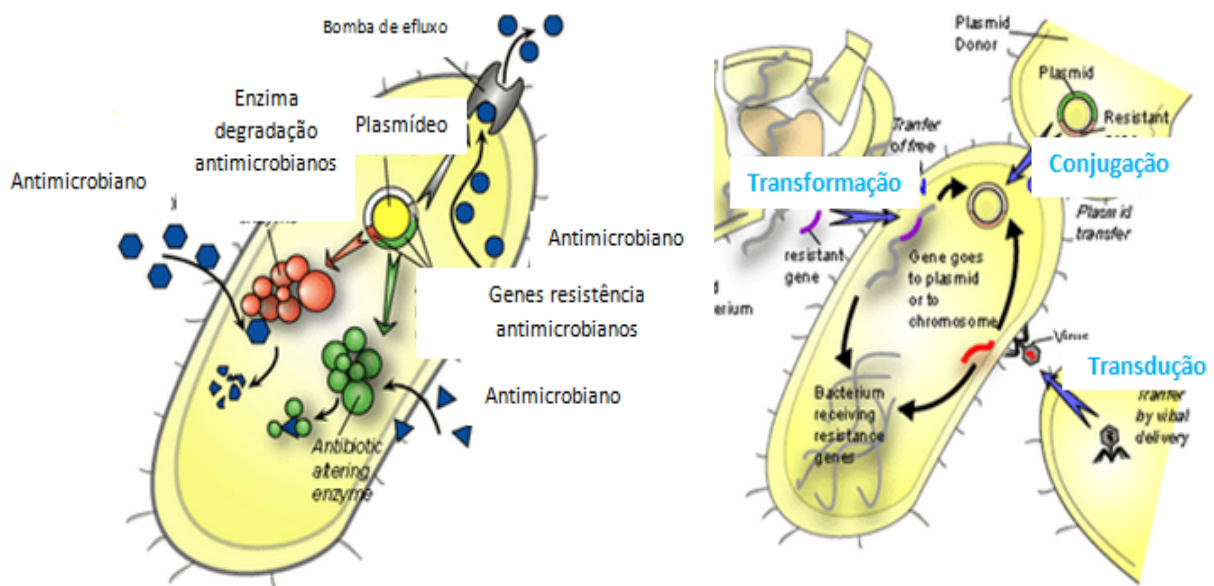


Figura 2. Mecanismos de resistência adquirida. ⁽⁶⁰⁾

Na *E. coli*, a resistência à ampicilina e à amoxicilina normalmente é conferida por plasmídeos que codificam β -lactamases, TEV, maioritariamente, SHV, CTX-M e OXA. A maioria das β -lactamases pode ser inibida por inibidores como o ácido clavulânico. Muitos destes enzimas podem sofrer mutações que levam à substituição de aminoácidos na sua estrutura, tornando-as capazes de hidrolizar cefalosporinas. A resistência às fluoroquinolonas surge devido a mutações nas regiões codantes da ADN girase e da topoisomerase IV (ex. proteínas Qnr). A acumulação destas mutações aumenta gradualmente a concentração inibitória mínima do an-

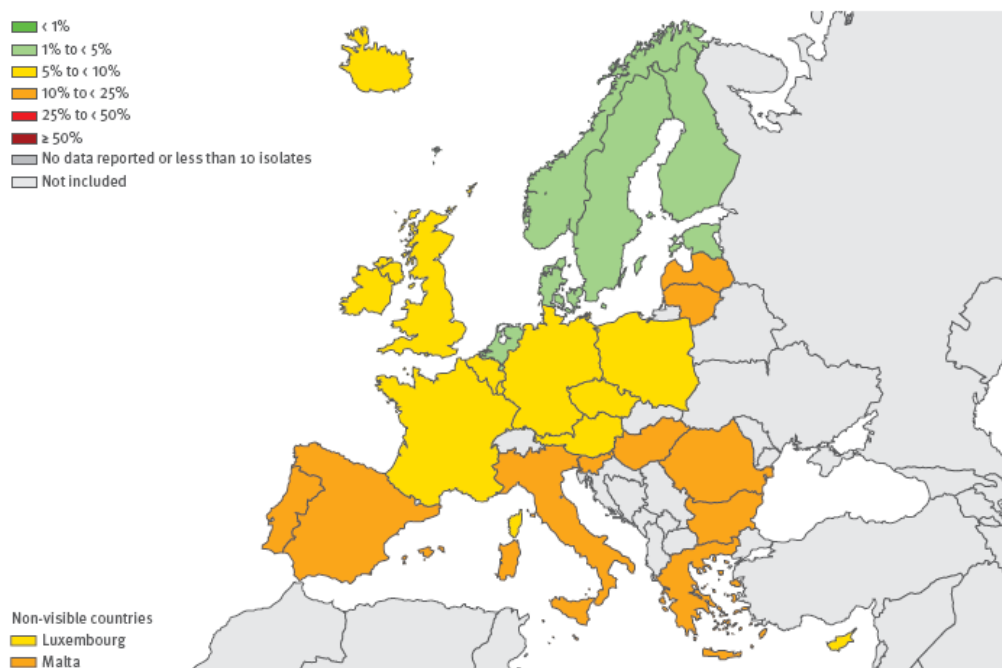
timicrobiano. Outros mecanismos comuns de resistência a estes antimicrobianos envolvem alterações nas porinas da membrana exterior das bactérias e nas bombas de efluxo, que diminuem a permeabilidade e aumentam o efluxo. No caso dos aminoglicosídeos, os mecanismos de resistência envolvem modificações nos ribossomas. A *Klebsiella* spp para além dos mecanismos de resistência acima referidos tem um cromossoma que codifica para β -lactamases SHV que a torna intrinsecamente resistente às aminopenicilina. Os *Enterococcus* spp são intrinsecamente resistentes às cefalosporinas e aos aminoglicosídeos de baixa concentração. Genes com mutações relacionadas com proteínas ribossomais estão associados à resistência a aminoglicosídeos e elevada concentração. Assim, uma bactéria é considerada resistente a determinado antibiótico quando continua a multiplicar-se na presença de níveis terapêuticos desse antimicrobiano. ^{(5) (58) (60) (64) (62) (54) (61) (63)}

A utilização excessiva ou inadequada de antimicrobianos acelera o aparecimento e a propagação de bactérias resistentes. A rede “European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net)”, é uma rede Europeia de sistemas nacionais de vigilância, que fornece dados europeus de resistências a antimicrobianos, coordenada pelo ECDC. Os dados existentes mostram que a resistência aos antimicrobianos é um problema, em crescimento, de saúde pública. Por exemplo, a resistência da *Escherichia coli* aos principais antibióticos está a aumentar em quase em todos os países da Europa. Estudos realizados pelo ECDC salientam uma diferença entre países nórdicos e países do sul da Europa como Portugal. Salientam-se as elevadas taxas de resistência da *E. coli* aos aminoglicosídeos (10- <25%) e às fluoroquinolonas (25- <50%) (Figura 3), da *Klebsiella pneumoniae* às cefalosporinas de 3ª geração (25- <50%), aos aminoglicosídeos (10- <25%) e às fluoroquinolonas (25- <50%) (Figura 4) e dos enterococos aos aminoglicosídeos (10- <25%) e à vancomicina (25- <50%) (Figura 5). ⁽⁵⁾

a) *Escherichia coli*: % Isolados resistentes às cefalosporinas de 3ª geração no estudo EARS-Net em 2009.



b) *Escherichia coli*: % Isolados resistentes aos aminoglicosídeos no estudo EARS-Net em 2009.

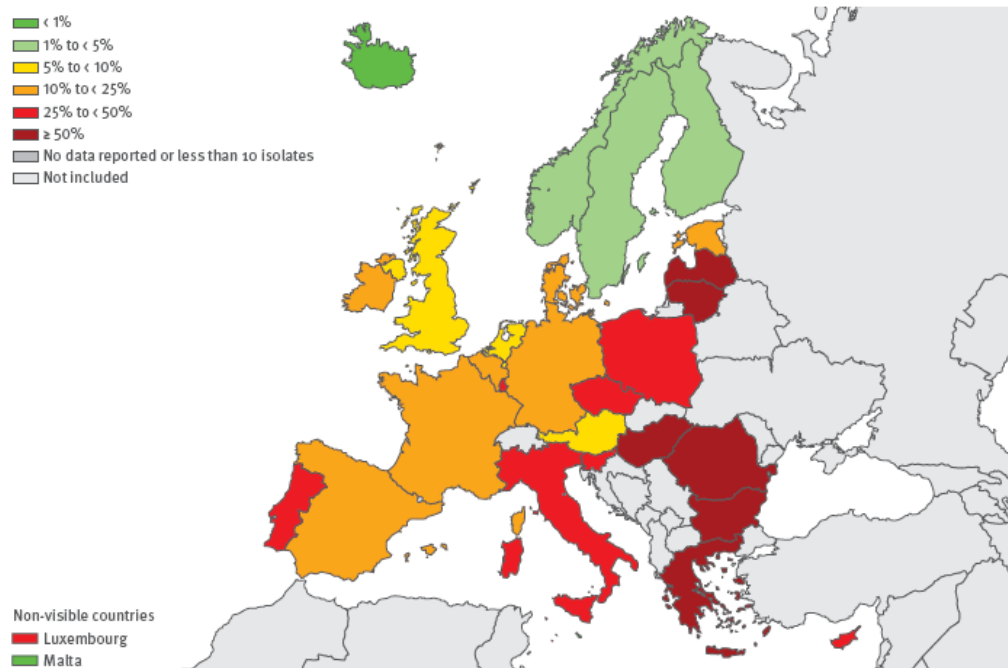


c) *Escherichia coli*: % Isolados resistentes às fluoroquinolonas no estudo EARS-Net em 2009.

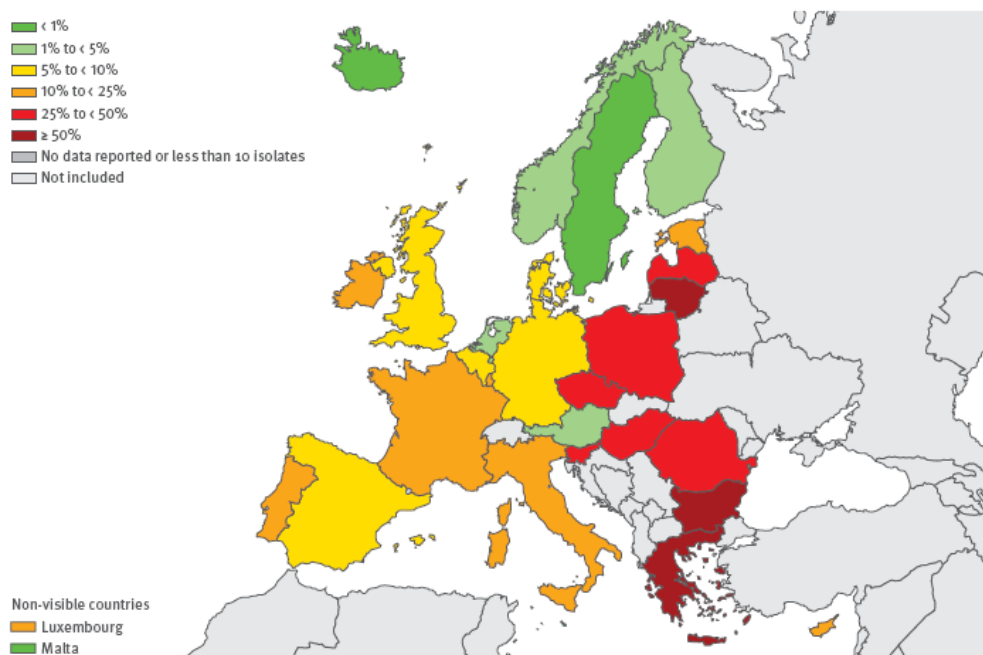


Figura 3. a) *Escherichia coli*: % Isolados resistentes às cefalosporinas de 3^a geração no estudo EARS-Net em 2009. b) *Escherichia coli*: % Isolados resistentes aos aminoglicosídeos no estudo EARS-Net em 2009. c) *Escherichia coli*: % Isolados resistentes às fluoroquinolonas no estudo EARS-Net em 2009. ⁽⁵⁾

a) *Klebsiella pneumoniae*: % Isolados resistentes às cefalosporinas de 3ª geração no estudo EARS-Net em 2009.



b) *Klebsiella pneumoniae*: % Isolados resistentes aos aminoglicosídeos no estudo EARS-Net em 2009.



c) *Klebsiella pneumoniae*: % Isolados resistentes às fluoroquinolonas no estudo EARS-Net em 2009.

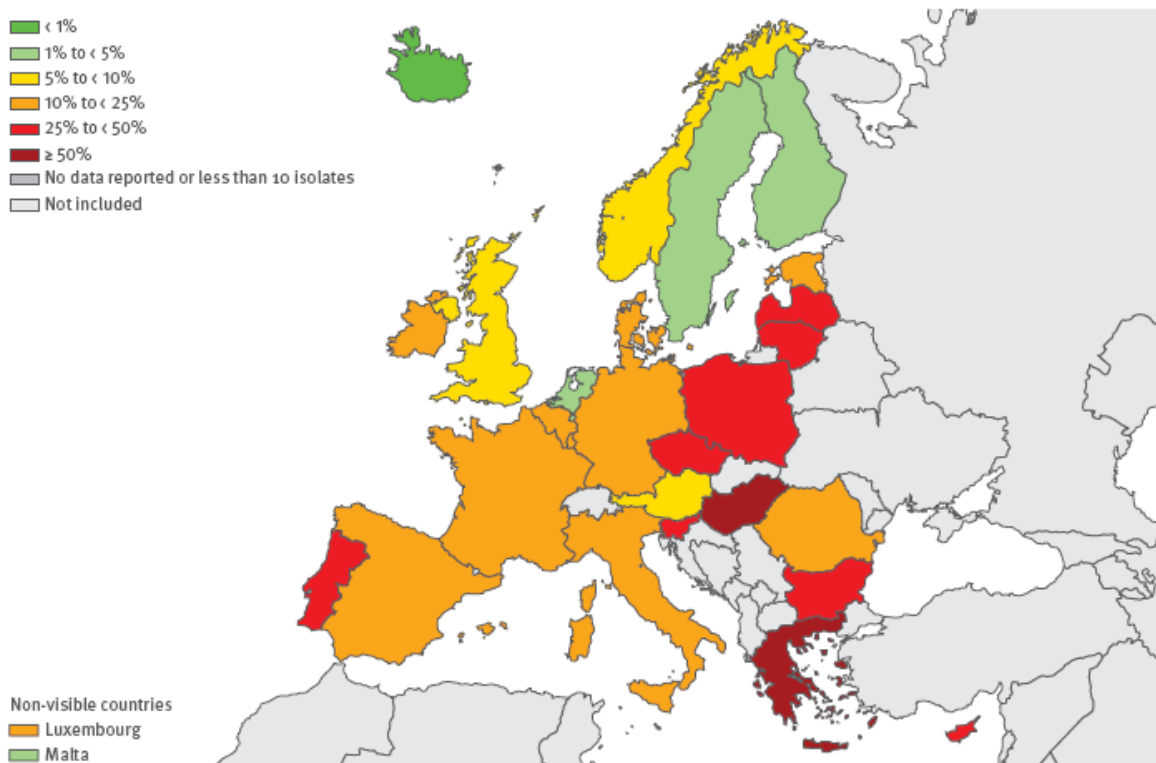


Figura 4. a) *Klebsiella pneumoniae*: % Isolados resistentes às cefalosporinas de 3ª geração no estudo EARS-Net em 2009. b) *Klebsiella pneumoniae*: % Isolados resistentes aos aminoglicosídeos no estudo EARS-Net em 2009. c) *Klebsiella pneumoniae*: % Isolados resistentes às fluoroquinolonas no estudo EARS-Net em 2009. ⁽⁵⁾

a)



b)

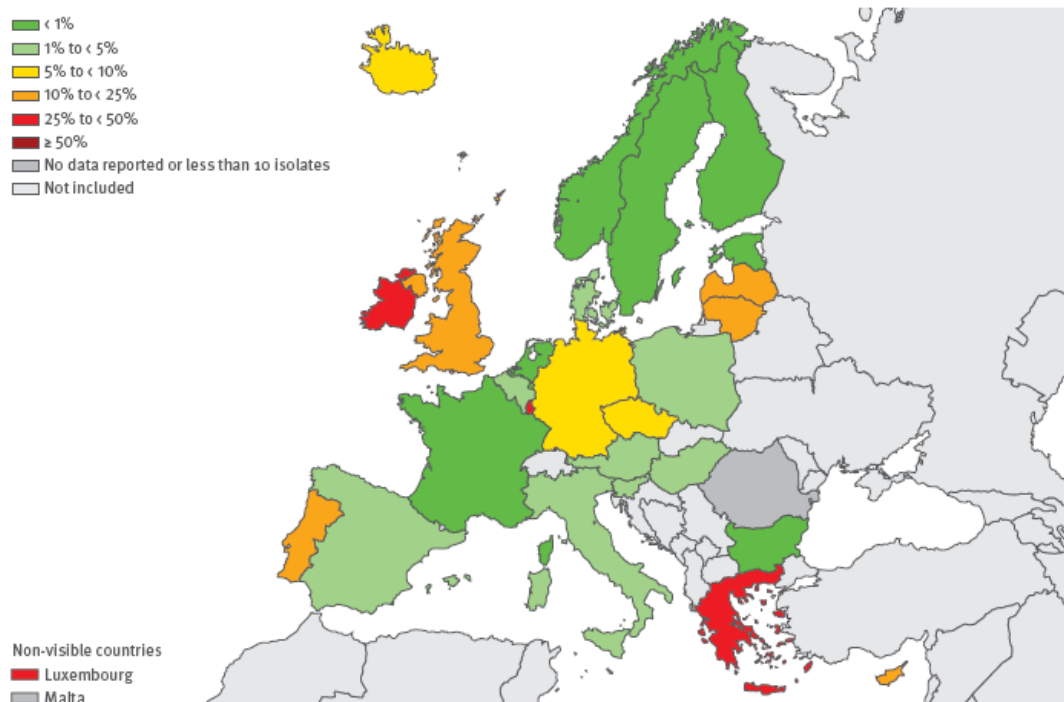


Figura 5. a) Enterococos: % Isolados resistentes aos aminoglicosídeos no estudo EARS-Net em 2009. b) Enterococos: % Isolados resistentes à vancomicina no estudo EARS-Net em 2009. (5)

O estudo “ECO.SENS” teve como objetivo avaliar as diferenças entre resistências antimicrobianas em estirpes de *E.coli* da comunidade entre vários países, nos anos de 1999 e 2000, e concluiu que, a resistência à ampicilina em vários países da Europa é superior a 40%, a resistência ao trimetoprim/sulfametoxazol é superior a 20%, a resistência às fluoroquinolonas em Portugal está a aumentar e que a nitrofurantoína, a amoxicilina/ácido clavulânico e a fosfomicina são os antibióticos com menores taxas de resistência (Figura 6).⁽³⁷⁾

País	Antimicrobiano (resistência em %)												
	AMP	AMC	MEC	CFR	TMP	SUL	SXT	NAL	CIP	NIT	FOF	GEN	
Austria	126	17.5	2.4	1.6	0.8	9.5	25.4	9.5	2.4	0	0.8	0	0.8
Belgica	137	30.7	2.9	1.5	0.7	13.9	32.8	14.6	6.6	2.9	0.7	0.7	0.7
Canadá	166	29.5	3.6	1.2	1.8	10.8	25.3	12.0	0.6	0	1.2	0.6	0.6
Dinamarca	85	22.4	1.2	1.2	1.2	10.6	21.2	8.2	3.5	0	1.2	1.2	0
Finlandia	182	19.8	4.9	0.5	1.6	5.5	15.4	4.9	1.6	0.5	0.5	1.1	0.5
França	199	27.6	1.5	1.5	1.0	15.6	31.7	15.1	3.5	2.0	1.0	1.0	0
Almanha	138	29.0	2.2	2.2	1.4	22.5	34.8	21.0	3.6	2.2	0.7	0	0.7
Grécia	132	22.0	0.8	0.8	3.0	13.6	19.7	11.4	6.8	1.5	3.0	1.5	0.8
Irlanda	154	44.8	5.8	0.6	0.6	22.1	40.3	20.8	1.9	0	0	1.3	0.6
Luxemburgo	24	41.7	0	0	0	16.7	25.0	16.7	8.3	4.2	4.2	0	0
Países Baixos	195	28.7	2.6	1.5	4.6	12.3	25.6	10.3	5.1	2.1	1.0	0.5	0.5
Noruega	168	23.8	3.6	0	2.4	13.1	25.0	11.3	1.2	0	0	1.2	0
Portugal	86	45.3	9.3	2.3	2.3	26.7	44.2	26.7	11.6	5.8	5.8	0	3.5
Espanha	191	53.9	4.2	1.0	3.1	25.1	48.7	25.7	26.7	14.7	4.2	0.5	4.7
Suécia	193	15.5	5.7	1.6	5.2	8.8	16.6	8.3	2.6	0	0	0.5	0
Suíça	122	27.0	2.5	0	0.8	18.9	31.1	18.9	6.6	2.5	0.8	0.8	3.3
Reino Unido	180	37.2	2.8	1.7	1.7	13.3	31.7	12.2	2.2	0.6	0	0	0
	2478	29.8	3.4	1.2	2.1	14.8	29.1	14.1	5.4	2.3	1.2	0.7	1.0

Figura 6. Resistência de antimicrobianos à *E. Coli* no estudo ECO-SENS.⁽³⁷⁾

AMC - amoxicilina/ácido clavulânico NIT – nitrofurantoína FOF - fosfomicina AMP – Ampicilina
 CIP –Ciprofloxacina SXT - trimetoprim sulfametazaxol

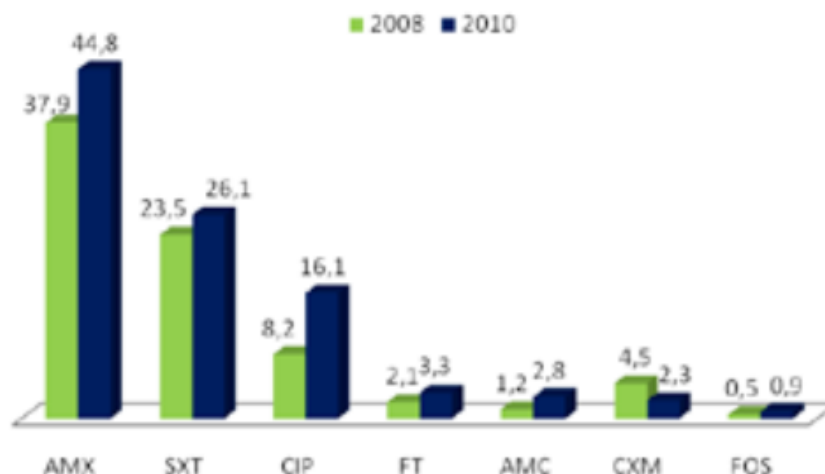


Figura 7. Percentagens de estirpes de *Escherichia coli* resistentes aos antibióticos, isoladas em 2008 e 2010, provenientes de cistites não complicadas. ⁽⁴⁰⁾

AMX – amoxicilina; SXT – trimetoprim sulfametazaxol; CIP – ciprofloxacina; FT – furanos; AMC – amoxicilina/ácido clavulânico; CXM – cefuroxima; FOS – fosfomicina

Em Portugal foram realizados estudos sobre suscetibilidade aos antimicrobianos de agentes patogénicos responsáveis por ITU mais frequentes. A prevalência das resistências é semelhante aos estudos internacionais acima referidos e destacam-se, as taxas de resistência elevadas à amoxicilina, ao trimetoprim/sulfametoxazol e às fluoroquinolonas e as taxas de resistência menores para a nitrofurantoína, a amoxicilina/ácido clavulânico e fosfomicina, como se verifica na Figura 7. Este estudo foi realizado em Portugal, nos anos de 2008 e 2010, com amostras de urinas provenientes de vários Laboratórios de Análises Clínicas de Portugal. Os resultados obtidos no estudo de 2010 mostram um aumento da resistência aos antibióticos acima referidos, quando comparados aos resultados do estudo de 2008. ^{(7) (39) (40) (47) (65) (66) (67) (68)}

Uma vez que Portugal é um dos países com maiores taxas de resistência a antimicrobianos e por forma a contrariar esta tendência, é importante a instituição de medidas adequadas. Entre outras, é importante conhecer com rigor e de forma continuada a prevalência das resistências aos antimicrobianos nas unidades prestadoras de cuidados do Serviço Nacional de Saúde e suas causas prováveis. A vigilância institucional contínua, através de sistemas bem estruturados, é indispensável para estabelecer relações de causa-efeito, detetar eventuais problemas, apreciar a evolução da situação e avaliar a eficácia das medidas tomadas. A informação sobre o consumo de antimicrobianos em Portugal encontra-se dispersa por várias instituições, seguindo diferentes metodologias de colheita, tratamento e disseminação da informação. É im-

portante a existência de informação agregada para uso no âmbito da tomada de decisão. O Programa Nacional de Prevenção das Resistências aos Antimicrobianos (PNPRA), de Novembro de 2009, tem como objetivo geral diminuir a taxa de resistências a nível nacional e, como objetivos específicos, conhecer, com rigor e de forma continuada, a prevalência das resistências aos antimicrobianos nas unidades prestadoras de cuidados do Serviço Nacional de Saúde, as suas causas prováveis, os consumos de antimicrobianos, reduzir as infecções causadas por bactérias resistentes aos antibióticos e adequar as prescrições e os consumos de antimicrobianos.⁽⁶⁾

A elaboração de normas de orientação técnica é uma ferramenta fundamental para a contenção da resistência aos antimicrobianos. Até ao momento já foram emitidas, pela DGS, duas normas técnicas para a prescrição de antimicrobianos para tratamento de ITU, a Norma 015/2011 – Terapêutica de infeções do aparelho urinário (comunidade) e a Norma 008/2012 – Diagnóstico e Tratamento da infeção do Trato urinário em Idade Pediátrica, ambas dirigidas aos médicos do Serviço Nacional de Saúde.⁽⁴²⁾⁽⁴⁴⁾

O Instituto Nacional Dr. Ricardo Jorge emitiu em conjunto com a DGS uma Norma, 004/2013, que visa dinamizar do Sistema de Vigilância Epidemiológica das Resistências aos Antimicrobianos. Exige notificação imediata de microrganismos “alerta” e a notificação trimestral de microrganismos “problema” por parte de Laboratórios do Sistema Nacional de Saúde.⁽⁶⁹⁾

O guia M39-A3 – “Analysis and Presentation of Cumulative Antimicrobial Susceptibility Test Data; Approved Guideline—Third Edition” do Clinical and Laboratory Standards Institute, fornece orientações para a recolha, análise e apresentação de dados cumulativos de suscetibilidade aos antimicrobianos para várias finalidades constituindo a norma de referência internacional mais vulgarmente utilizada.⁽⁵⁴⁾

O objetivo deste trabalho foi conhecer a prevalência dos agentes etiológicos responsáveis por ITU na região do Algarve, assim como o perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos e a adequabilidade da Norma 015/2011 – Terapêutica de infeções do aparelho urinário (comunidade).⁽⁴²⁾

2. Material e métodos

Foram estudadas amostras de urina para uroculturas de um Laboratório de Análises Clínicas de Faro (Cedilab – Laboratório de Análises Clínicas Dra. M. Margarida Baptista R. Santos, Lda) provenientes de diferentes zonas do Algarve, entre Vila Real de Santo António e Alcantarilha, durante o ano de 2012. As amostras eram de utentes em ambulatório, sendo excluídos doentes hospitalizados.

Neste período foram realizadas 3109 uroculturas, das quais foram detetadas 395 positivas, correspondendo a ITU. Em todos os casos foi registado sistematicamente e tendo em conta o primeiro isolado, a idade, o género, a área geográfica, a identificação da estirpe bacteriana e os resultados do TSA.

Os meios CPS Chromid ID da Biomérieux foram semeados e incubados em estufa, a 37°C em aerobiose, durante aproximadamente 18 horas.

Após a incubação e a observação do crescimento bacteriano foi efetuada a identificação e a contagem de colónias. A interpretação dos resultados da contagem teve em conta parâmetros como leucocitúria e sinais clínicos.

As culturas consideradas positivas foram submetidas a um TSA. O equipamento utilizado para efetuar os TSA foi o mini API® da BioMérieux e as respetivas galerias ATB. As galerias ATB UR permitem a determinação da suscetibilidade das bactérias por um método similar aos métodos de referência de diluição em agar ou micro-diluição e por determinação de “break point” definidos segundo as recomendações do comité EUCAST 2008, e dos comités CA-SFM e CLSI 2008. Também foram utilizadas as galerias ATB STREP para enterococos, ATB PSE para a Pseudomonas e o ATB STAPH para estafilococos. O método permite classificar os agentes em suscetíveis, intermédios ou resistentes ao antimicrobiano ensaiado.

A análise e apresentação de resultados de suscetibilidade antimicrobianas foi realizada segundo o guia M39-A3 – “Analysis and Presentation of Cumulative Antimicrobial Susceptibility Test Data; Approved Guideline —Third Edition” do Clinical and Laboratory

Standards Institute. ⁽⁵⁴⁾ As recomendações para a realização de um estudo, com o objetivo principal de preparar um relatório que guie o clínico na seleção empírica de antimicrobianos para ITU, englobam:

- Analisar e apresentar um relatório cumulativo de TSA anualmente.
- Incluir apenas resultados finais e verificados dos TSA.
- Incluir espécies com mais de 30 isolados.
- Eliminar duplicados incluindo apenas o primeiro isolado de uma espécie/paciente/período de análise.
- Incluir isolados de diagnóstico e não de vigilância.
- Incluir apenas agentes antimicrobianos utilizados na rotina.
- Reportar % de suscetíveis e não incluir a % de intermédios e resistentes na estatística.

Os dados foram extraídos do sistema informático do Laboratório que é utilizado para gerir todos os resultados das várias análises realizadas. O ficheiro de dados extraídos têm um formato consistente e de fácil interpretação, foi estruturado em linhas e colunas definidas e continha:

- Informação demográfica dos doentes número de identificação único do paciente; data de nascimento, idade; género e localização do paciente.
- Informação da amostra: número, tipo e data de amostra.
- Informação do organismo: identificação do género e espécie e número do isolado.
- Informação dos testes de suscetibilidade antimicrobiana: interpretações finais de testes reportada (suscetível, intermédio ou resistente).

A base de dados incluiu os resultados de todos os agentes antimicrobianos e também aqueles não reportados por rotina aos clínicos.

Foram calculados os intervalos de confiança para as taxas de resistência, tendo em conta o tamanho da amostra com o método de *Clopper-Pearson* e a tabela H1 do M39-A3 – “Analysis and Presentation of Cumulative Antimicrobial Susceptibility Test Data; Approved Guideline—Third Edition” do Clinical and Laboratory Standards Institute. ⁽⁵⁴⁾

3. Resultados

No total de utentes em estudo, 1936 (72%) eram do género feminino e 737 (28%) do género masculino. Na totalidade das uroculturas positivas, 326 (83%) eram provenientes de indivíduos do género feminino e 69 (17%) de indivíduos do género masculino. (Figuras 8 e 9)

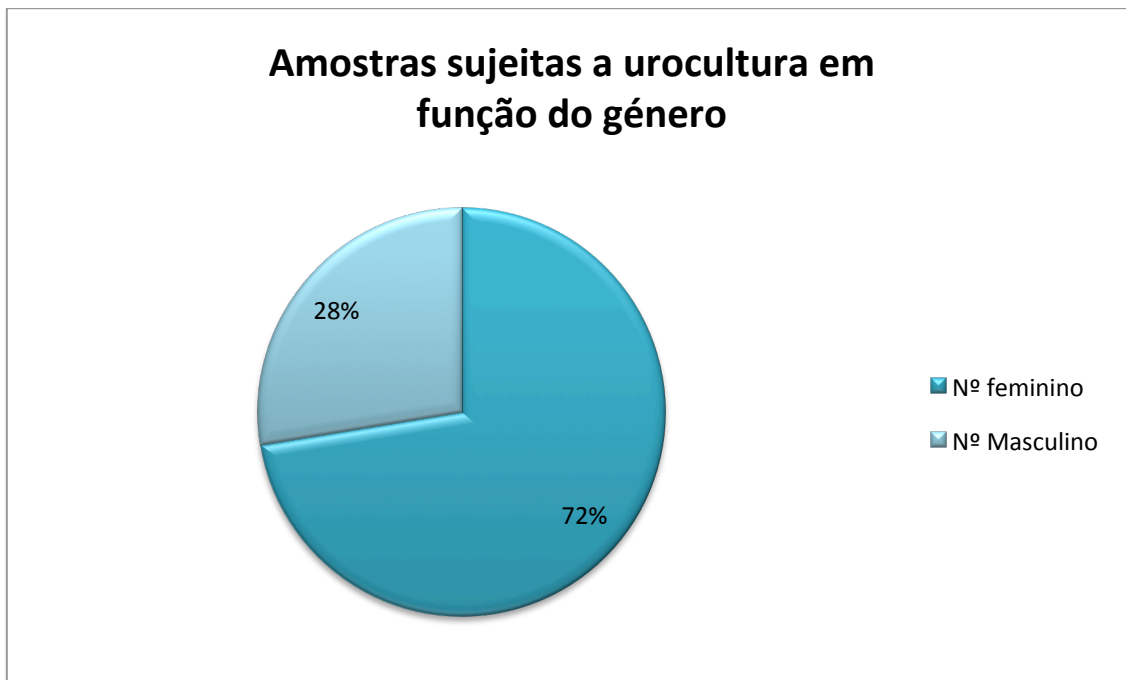


Figura 8. Amostras sujeitas a urocultura em função do género.

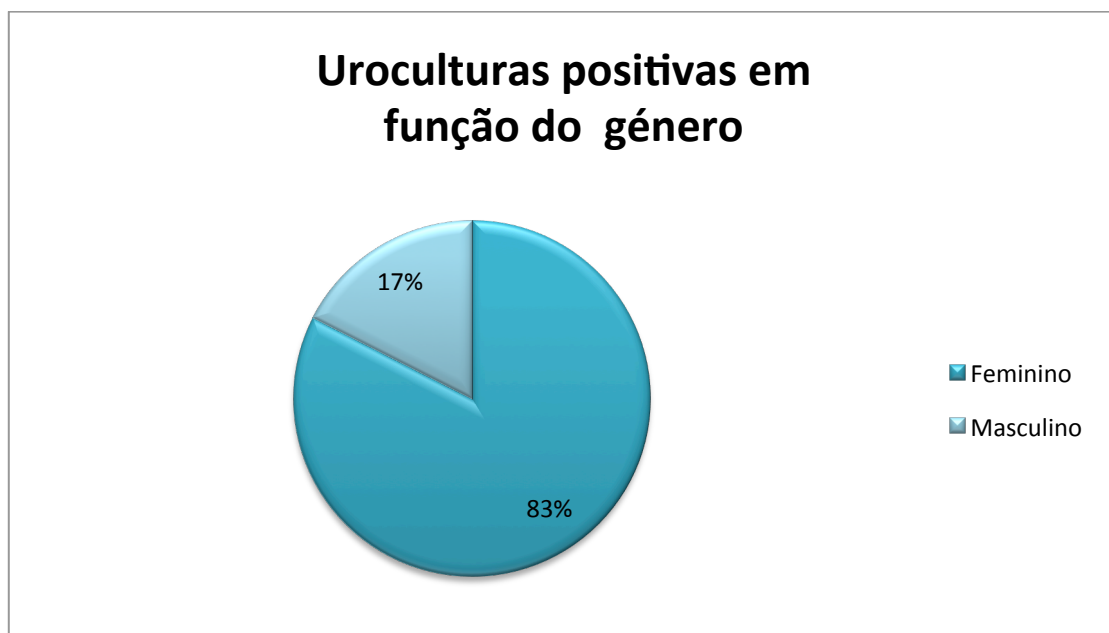


Figura 9. Uroculturas positivas em função do género.

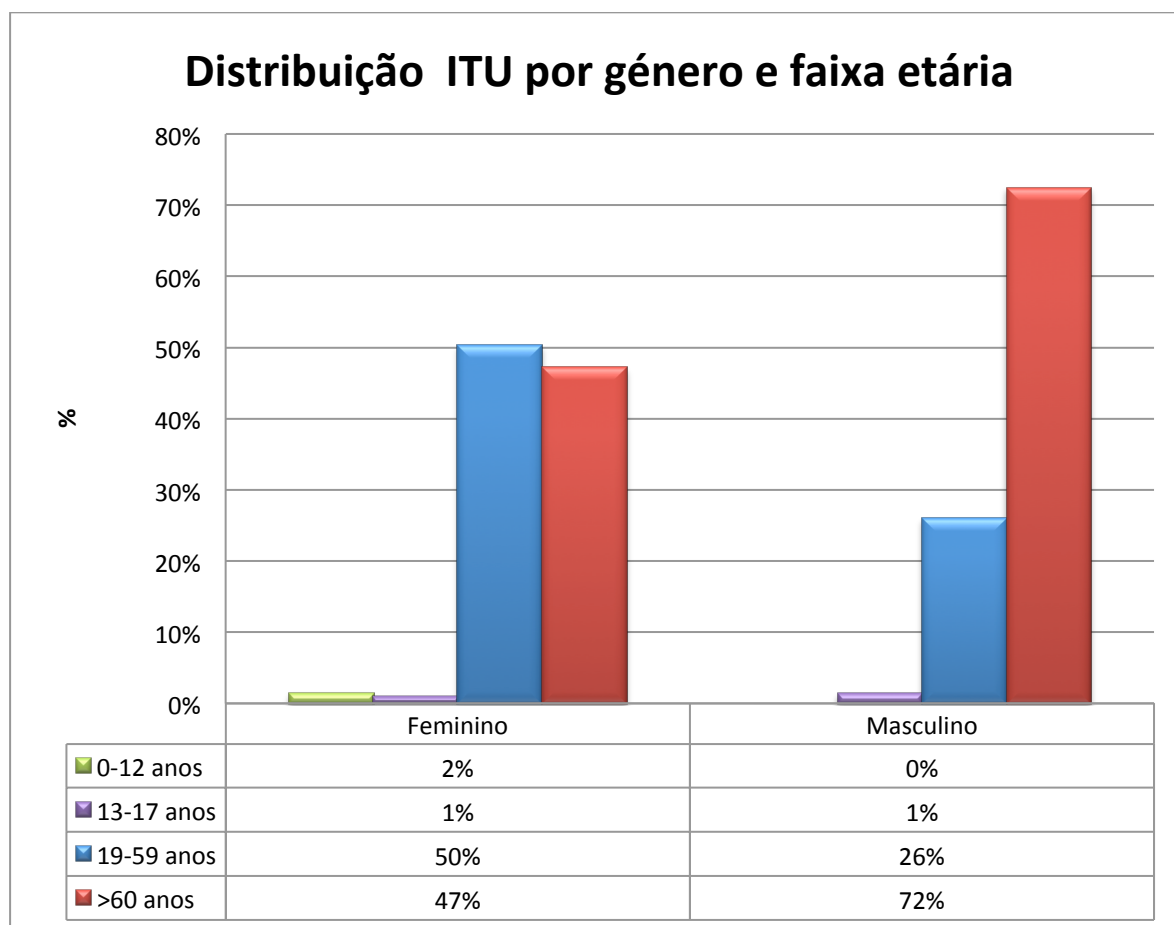


Figura 10. Distribuição ITU por género e faixa etária.

A faixa etária mais representada para o género masculino foi o grupo com idades superiores a 60 anos (50 amostras - 72%) e para o género feminino as faixas entre os 19 e 59 anos e superiores a 60 anos, com percentagens semelhantes, 50% (164 amostras) e 47% (154 amostras) respetivamente (Figura 10).

Nas uroculturas positivas foram identificados 7 géneros diferentes, representados na tabela 6, sendo a *Escherichia coli* a mais frequente (73,7%), seguida da *Klebsiella* spp (11,4%), do *Proteus* spp (3,0%) e da *Pseudomonas* spp (0,8%) para as estirpes Gram negativas. Entre as bactérias Gram positivas, o género predominante foi o *Enterococcus* spp (3,3%) seguido do *Staphylococcus* spp (3,3%).

A distribuição dos isolados, por género e faixa etária está representada nas figuras 11, 12, 13 e 14. A *Escherichia coli* foi isolada maioritariamente em utentes do género feminino e masculino com idades superiores a 18 anos. Apenas foram detetadas diferenças na distribui-

ção da *Klebsiella* spp e do *Enterococcus* spp. A *Klebsiella* spp, foi identificada em 31% dos utentes do género feminino com idades entre 18 e 59 anos e 64% com idades superiores a 60 anos e em 89% dos utentes do género masculino com idades superiores a 60 anos. O *Enterococcus* spp foi identificado em percentagens semelhantes para o género feminino nas faixas etárias entre 18 e 59 anos e com idades superiores a 60 anos e 75% para utentes do género masculino com idades superiores a 60 anos.

Tabela 6. Frequência dos agentes causadores de ITU no Algarve.

Frequência dos agentes causadores de ITU no Algarve		
Agente etiológico	Número de organismos isolados (n)	%
<i>Escherichia coli</i>	291	73,7%
<i>Klebsiella</i> spp	45	11,4%
<i>Enterococcus</i> spp	30	7,6%
<i>Staphylococcus</i> spp	13	3,3%
<i>Proteus</i> spp	12	3,0%
<i>Pseudomonas</i> spp	3	0,8%
<i>Enterobacter</i> spp	1	0,3%

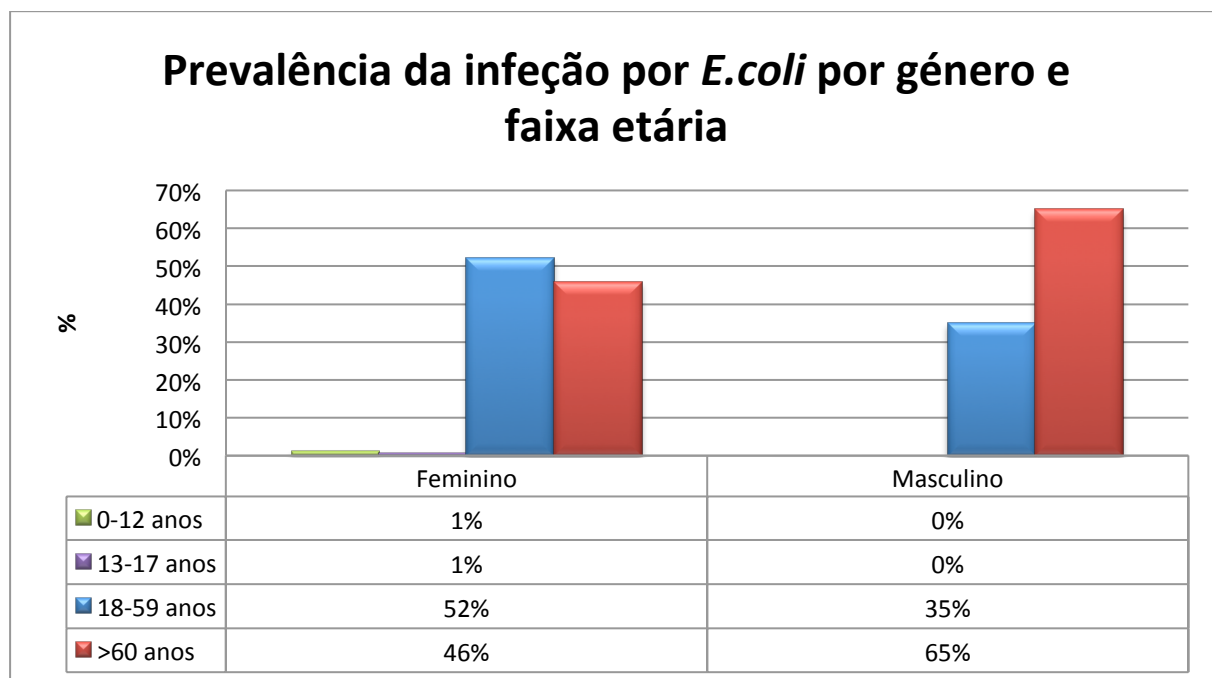


Figura 11. Prevalência da infeção por *E.coli* por género e faixa etária.

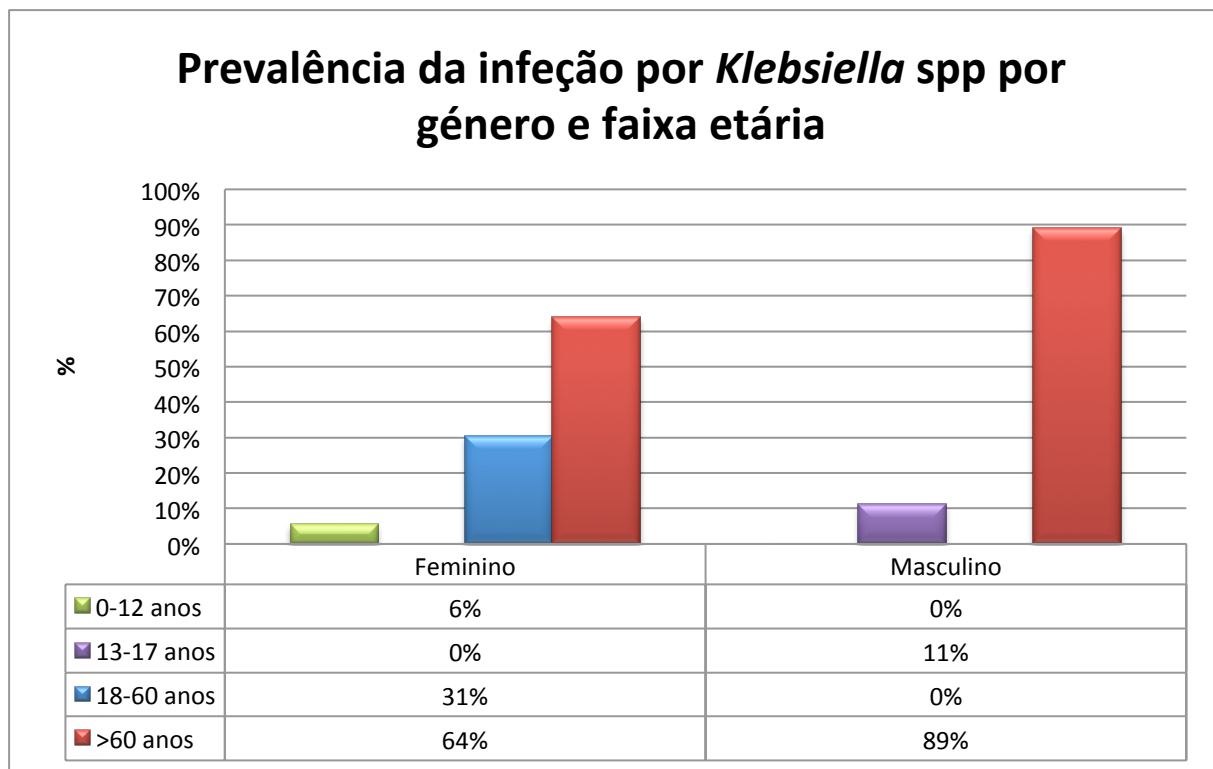


Figura 12. Prevalência da infeção por *Klebsiella* spp por género e faixa etária.

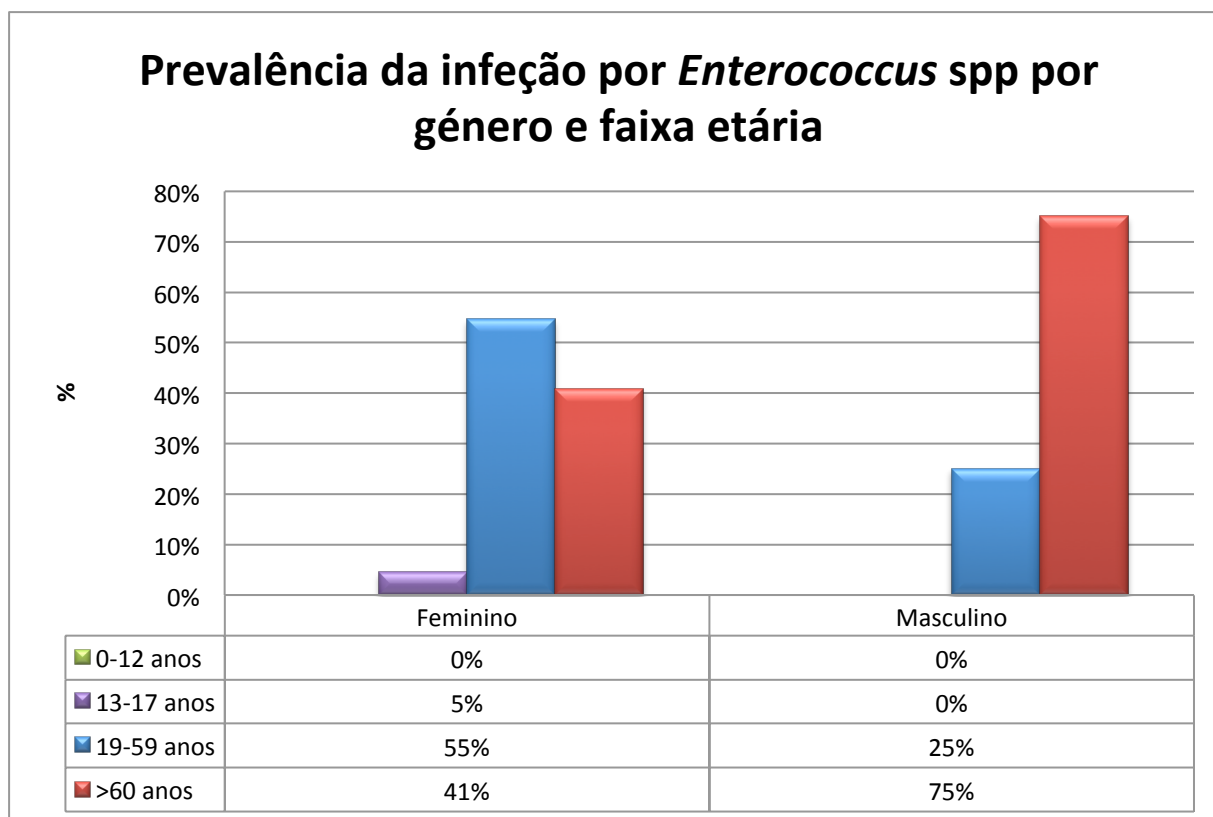


Figura 13. Prevalência da infeção por *Enterococcus* spp por género e faixa etária.

As estirpes com menor prevalência foram o *Proteus* spp, *Pseudomonas* spp (0,8%) *Staphylococcus* spp e o *Enterobacter* spp mais frequentes em utentes do género feminino em idades superior a 60 anos.

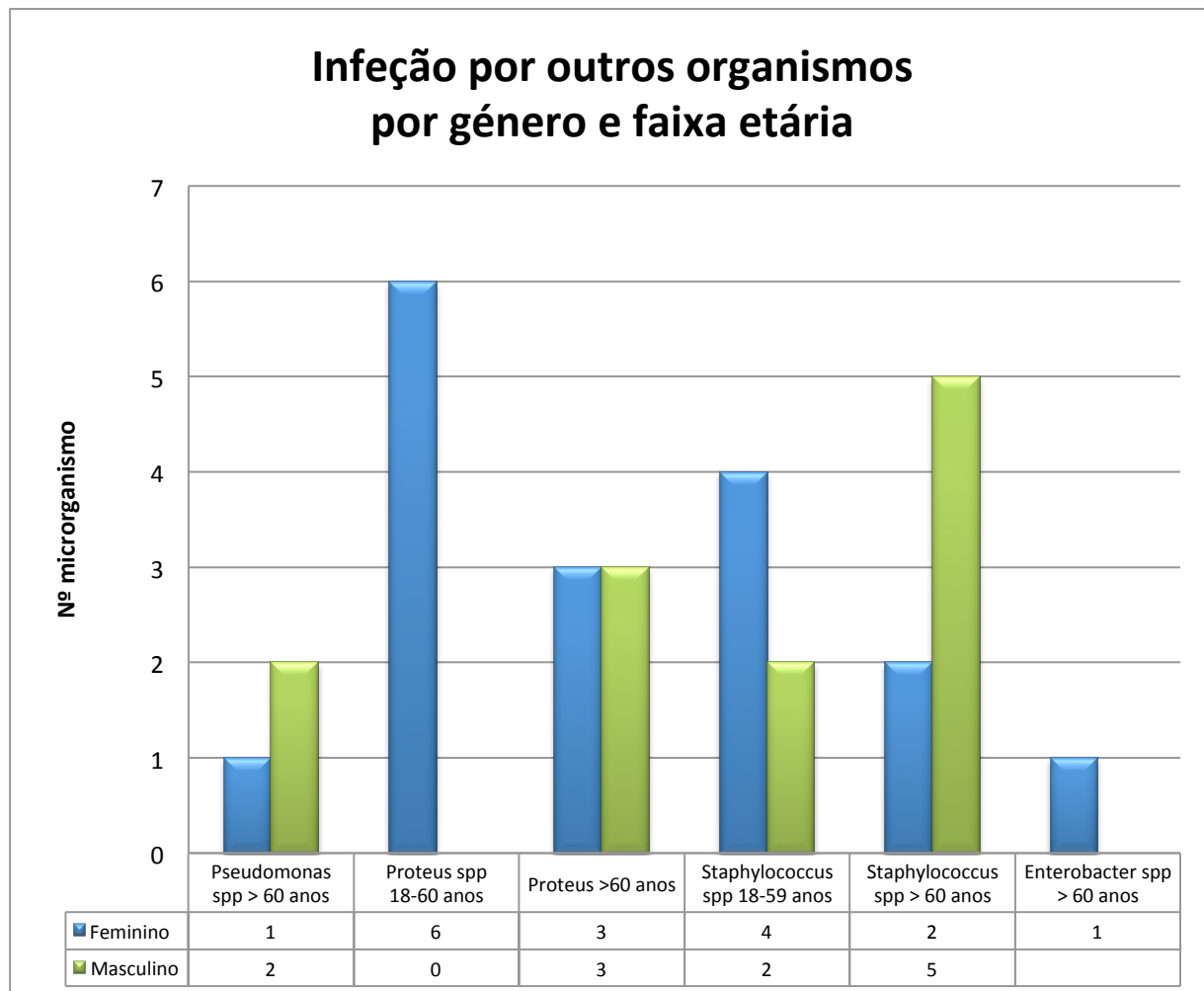


Figura 14. Infeção por outros microrganismos por género e faixa etária.

Os padrões de suscetibilidade aos antimicrobianos foram estudados para as estirpes *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp e *Enterococcus* spp tendo em conta que foram as únicas espécies encontradas com um número de isolados superior a 30, como refere o Guia M39-A3 – “Analysis and Presentation of Cumulative Antimicrobial Susceptibility Test Data; Approved Guideline—Third Edition” do Clinical and Laboratory Standards Institute ⁽⁵⁴⁾. Os antimicrobianos reportados constam da Norma da DGS, nº 008/2011 - Terapêutica de infeções do aparelho urinário (comunidade) ⁽⁴²⁾ e da Norma M100-S22 - Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing - Twenty second Information Supplement – CLSI ⁽⁷⁰⁾.

Verificou-se que 68% das estirpes de *E. coli* eram suscetíveis à amoxicilina + ácido clavulânico (AMO), 43% à ampicilina (AMP), 69% à cefazolina (CFZ), 49% à cefoxitina (CFX), 78% à ciprofloxacina (CIP), 77% à levofloxacina (LEV) e 66% ao cotrimoxazol (SXT). Dos antimicrobianos estudados os que apresentaram maiores % de suscetíveis foram a amicacina e o ceftriaxone com 80%, a fosfomicina com 85% e a nitrofurantoína com 81%. (Figura 15 e tabela 7).

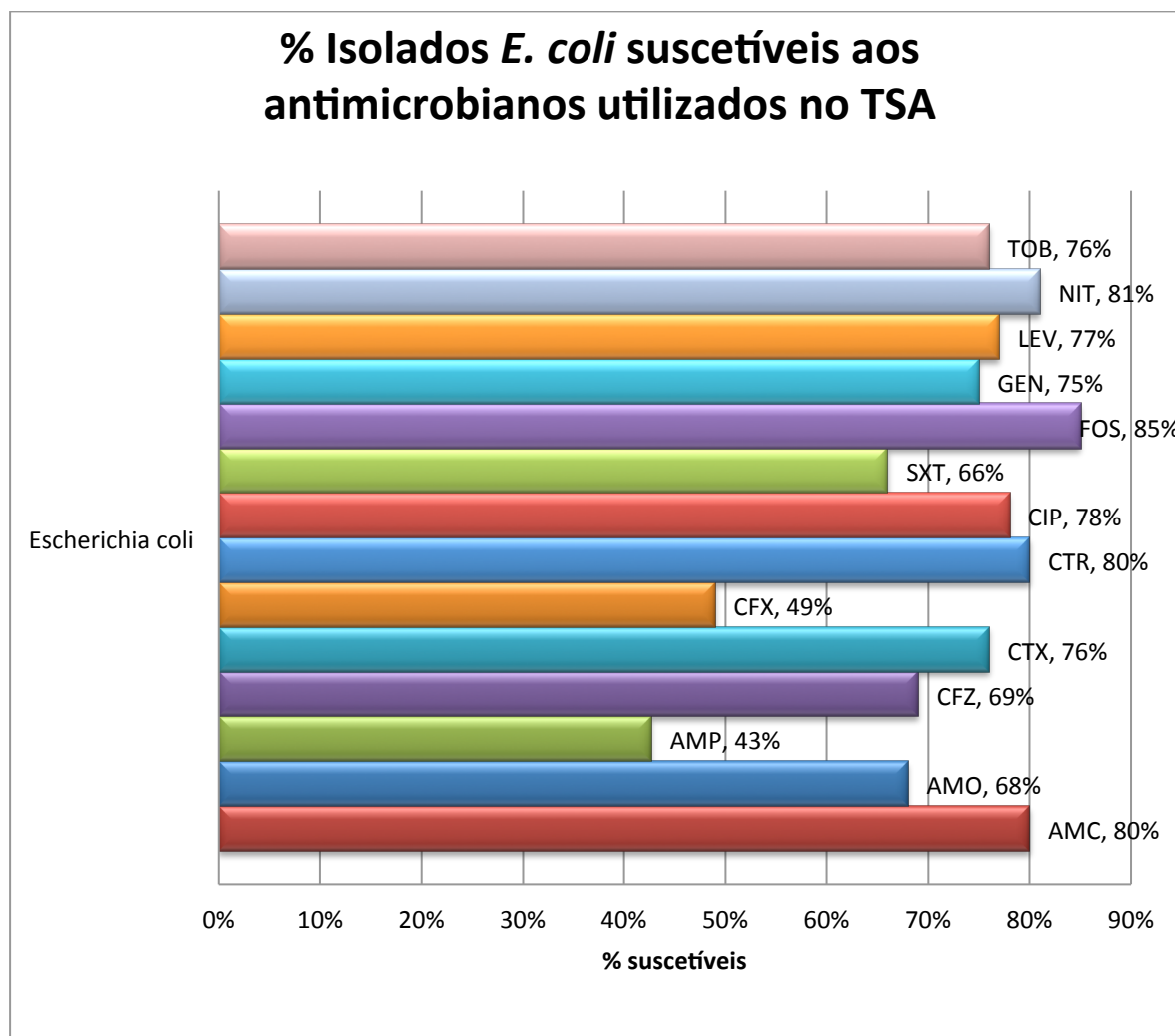


Figura 15. % Isolados *E. coli* suscetíveis aos antimicrobianos utilizados no TSA.

AMC-Amicacina, AMO-Amoxicilina+ Ác. Clavulânico, AMP-Ampicilina, CFZ-Cefazolina CTX- Cefotaxima, CFX- Cefuroxime, CTR- Ceftriaxone, CIP-Ciprofloxacina, SXT- Cotrimoxazol, FOS-Fosfomicina, GEN-Gentamicina, LEV-Levofloxacina, NIT-Nitrofurantoína, TOB-Tobramicina.

Para os isolados de *Klebsiella* spp verificou-se que 73% das estirpes eram suscetíveis à amoxicilina + ácido clavulânico (AMO), 70% à cefazolina (CFZ), 61% à ceftriaxone (CFX), 49% à nitrofurantoina (NIT) e 69% à fosfomicina (FOS). Dos antimicrobianos estudados os que apresentaram maiores % de suscetíveis foram a amicacina com 83% (AMC), a ciprofloxacina (CIP) e a levofloxacina (LEV) com 84% e o cotrimoxazol (SXT) com 87%. (Figura 16 e tabela 7)

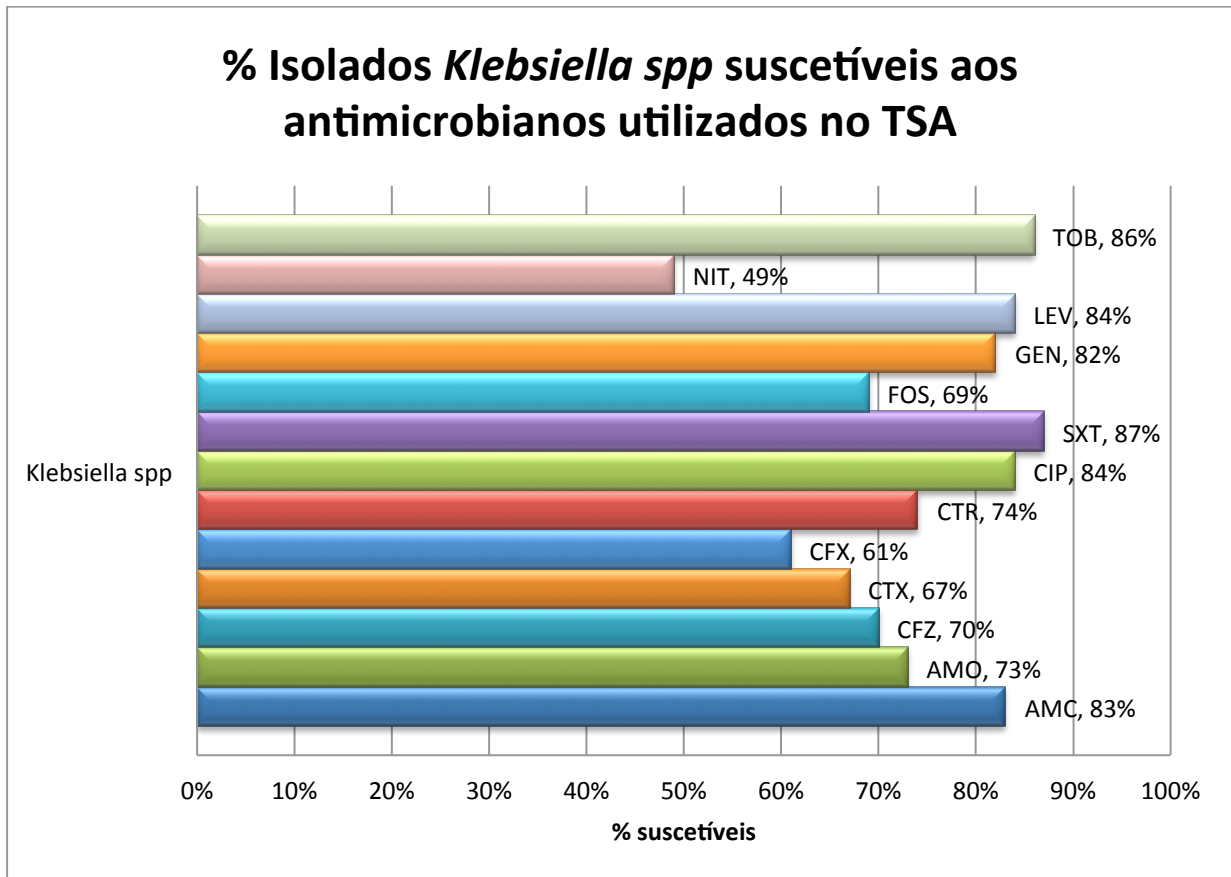


Figura 16. % Isolados *Klebsiella* spp suscetíveis aos antimicrobianos utilizados no TSA.

AMC-Amicacina, AMO-Amoxicilina+ Ác. Clavulânico, CFZ-Cefazolina CTX- Cefotaxima, CFX- Cefuroxime, CTR- Ceftriaxone, CIP-Ciprofloxacina, SXT- Cotrimoxazol, FOS-Fosfomicina, GEN-Gentamicina, LEV-Levofloxacina, NIT-Nitrofurantoina, TOB-Tobramicina.

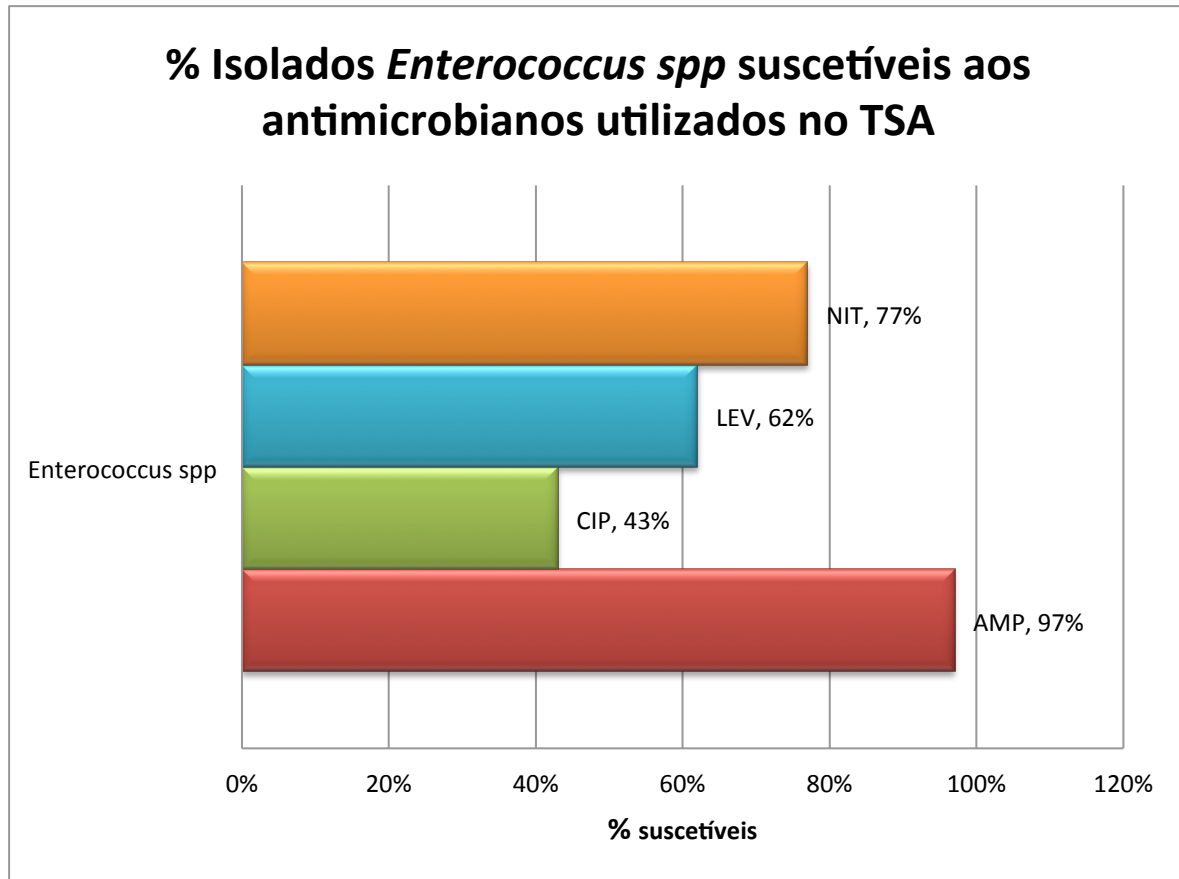


Figura 17. % Isolados *Enterococcus spp* suscetíveis aos antimicrobianos utilizados no TSA.

AMP-Ampicilina, CIP-Ciprofloxacina, LEV-Levofloxacina, NIT-Nitrofurantoina

Para os isolados de *Enterococcus spp* verificou-se que 43% das estirpes eram suscetíveis à ciprofloxacina (CIP), 62% à levofloxacina (LEV) e 77% à nitrofurantoina (NIT). Dos antimicrobianos estudados o que apresentou maiores % de suscetíveis foram a ampicilina (AMP) com 97%. (Figura 17 e tabela 8)

Tabela 7. % Suscetíveis (% S) e intervalos de confiança (IC 95%) por microrganismo Gram negativo e antimicrobiano.

	Microrganismo	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella spp</i>
Nº isolados	291	45
Amicacina (%S) (IC 95%)	80% (74-85%)	83% (64-91%)
Amoxicilina+ Ác. Clavulanico (%S) (IC 95%)	68% (63-76%)	73% (53-83%)
Ampicilina (%S) (IC 95%)	43% (33-47%)	**
Cefazolina (%S) (IC 95%)	69% (63-76%)	70% (53-83%)
Cefotaxima (%S) (IC 95%)	76% (74-85%)	67% (43-75%)
Cefuroxime (%S) (IC 95%)	49% (43-57%)	61% (43-75%)
Ceftriaxone (%S) (IC 95%)	80% (74-85%)	74% (53-83%)
Ciprofloxacina (%S) (IC 95%)	78% (74-85%)	84% (64-91%)
Cotrimoxazol (%S) (IC 95%)	66% (63-76%)	87% (64-91%)
Fosfomicina (%S) (IC 95%)	85% (85-94%)	69% (43-75%)
Gentamicina (%S) (IC 95%)	75% (74-85%)	82% (64-91%)
Levofloxacina (%S) (IC 95%)	77% (74-85%)	84% (64-91%)
Nitrofurantoína (%S) (IC 95%)	81% (74-85%)	49% (25-57%)
Tobramicina (%S) (IC 95%)	76% (74-85%)	86% (64-91%)

Tabela 8. % Suscetíveis (%S) e intervalos de confiança (IC 95%) por microrganismo Gram positivo e antimicrobiano.

Microorganismo	Nº	Ampicilina (%S) (IC 95%)	Ciprofloxacina (%S) (IC 95%)	Levofloxacina (%S) (IC 95%)	Nitrofurantoína (%S) (IC 95%)
<i>Enterococcus</i> spp	30	97% (73-98%)	43% (23-59%)	62% (41-77%)	77% (51-85%)

Com os intervalos de confiança para as taxas de suscetibilidade calculadas, podemos assumir com 95% de certeza que o verdadeiro valor de % de suscetíveis se encontra, por microrganismo e antimicrobiano, dentro do intervalo estimado. (Tabelas 7 e 8).

Os relatórios cumulativos de suscetibilidades a antimicrobianos de isolados Gram negativos e positivos abaixo descritos, foram realizados segundo o Guia M39 e podem ser apresentados aos clínicos. ⁽⁵⁴⁾

Tabela 9. Relatório cumulativo de suscetibilidades a antimicrobianos de isolados Gram negativos de uroculturas do ano de 2012 conforme o guia M39-A3.

Relatório Cumulativo de Suscetibilidades a Antimicrobianos de isolados Gram negativos de uroculturas LAC Dra M. Margarida Baptista R. Santos % Suscetíveis (% S)* janeiro - dezembro 2012								
Microorganismo	Nº	Amicacina	Amoxicilina+ Ácido Clavulanico	Ampicilina	Cefazolina	Cefotaxima	Cefuroxime	Ceftriaxone
<i>Escherichia coli</i>	291	80%	68%	43%	69%	76%	49%	80%
<i>Klebsiella</i> spp	45	83%	73%	**	70%	67%	61%	74%
Microorganismo	Nº	Ciprofloxacina	Cotrimoxazol	Fosfomicina	Gentamicina	Levofloxacina	Nitrofurantoína	Tobramicina
<i>Escherichia coli</i>	291	78%	66%	85%	75%	77%	81%	76%
<i>Klebsiella</i> spp	45	84%	87%	69%	82%	84%	49%	86%

* % Suscetíveis para cada organismo/antimicrobiano foi calculada incluindo o primeiro isolado de cada organismo encontrado em cada utente.
** Antimicrobianos não incluídos

Tabela 10. Relatório cumulativo de suscetibilidades a antimicrobianos de isolados Gram positivos de uroculturas do ano de 2012 conforme o guia M39-A3.

Relatório Cumulativo de Suscetibilidades a Antimicrobianos de isolados gram positivos de uroculturas
LAC Dra M. Margarida Baptista R. Santos
% Suscetíveis (% S)*
janeiro - dezembro 2012

Microorganismo	Nº	Ampicilina	Ciprofloxacina	Levofloxacina	Nitrofurantoína
<i>Enterococcus spp</i>	30	97%	43%	62%	77%

* % Suscetíveis para cada organismo/antimicrobiano foi calculada incluindo o primeiro isolado de cada organismo encontrado em cada utente.

4. Discussão

A maior incidência de ITU no género feminino, significativamente superior à detetada no género masculino, é concordante com os resultados encontrados na literatura⁽¹⁾⁽³⁾⁽²³⁾. Estes dados podem ser justificados pela maior suscetibilidade das mulheres à ITU, devido às condições anatómicas e fisiológicas. A faixa etária mais representada para o género masculino foi o grupo com idades superiores a 60 anos (72%) e para o género feminino as faixas entre os 19 e 59 anos e superiores a 60 anos, com percentagens semelhantes, 50% e 47% respetivamente. Estes dados foram também consistentes com o documentado.⁽¹⁾⁽³⁾⁽²³⁾

A prevalência dos microrganismos obtidos neste estudo é semelhante ao registado por outros autores. Ou seja, a *E. coli* é o microrganismo mais frequentemente isolado. Em segundo lugar, encontramos a *Klebsiella* spp, também de acordo com a literatura. O mesmo acontece para as bactérias Gram positivas encontradas, *Enterococcus* spp (3,3%) seguida do *Staphylococcus* spp (3,3%).⁽¹⁾⁽³⁷⁾⁽³⁸⁾⁽⁴⁰⁾

A *Escherichia coli* foi isolada maioritariamente em utentes do género feminino e masculino com idades superiores a 18 anos. A *Klebsiella* spp, foi identificada em 31% dos utentes do género feminino com idades entre 18 e 59 anos e 64% com idades superiores a 60 anos e em 89% dos utentes do género masculino com idades superiores a 60 anos. O *Enterococcus* spp foi identificado em percentagens semelhantes para o género feminino nas faixas etárias entre 18 e 59 anos e com idades superiores a 60 anos e 75% para utentes do género masculino com idades superiores a 60 anos, dados consistentes com o facto das infeções por *Enterococcus* spp estarem mais associados a ITUc.⁽¹⁾⁽²³⁾⁽³⁶⁾

O elevado número de amostras negativas pode indicar que a maioria das amostras foram solicitadas como exame de rotina (grávidas, pós-menopausa) e que foram cumpridos corretamente os protocolos de colheita, transporte e tratamento das amostras.

Os perfis de suscetibilidades encontrados neste estudo são consistentes com os que têm sido reportados em outros estudos. Relativamente à *E.coli* constatou-se que os antimicrobianos que obtiveram maiores taxas de resistência foram a ampicilina, a amoxicilina + ácido clavulânico, a cefazolina, a cefoxitina, a ciprofloxacina, a levofloxacina e o cotrimoxazol. Dos antimicrobianos estudados os que apresentaram menores taxas de resistência foram a ampicilina, o ceftriaxone, a fosfomicina e a nitrofurantoína. Num estudo realizado em Portugal, des-

tacaram-se também as taxas de resistência elevadas à amoxicilina (37,9 e 44,8 %, em 2008 e 2010, respetivamente), ao cotrimoxazol (37,9 e 44,8 %, em 2008 e 2010, respetivamente) e às fluoroquinolonas (8,2 e 16,1 %, em 2008 e 2010, respetivamente).⁽⁴⁰⁾ A taxa de isolados de *E. coli* resistentes às quinolonas é semelhante à apontada nos dados do EARS-Net referentes ao estudo de vigilância de 2009 (25- <50%)⁽⁵⁾. As taxas de resistência ao cotrimoxazol também foram consideradas elevadas em outros estudos (> 20%), situação relacionada com a sua utilização em larga escala.^{(1) (42)} A elevada taxa de resistência da *E. coli* à ampicilina pode estar relacionada com a prevalência de β -lactamases. Em geral, o grupo dos β -lactâmicos, das cefalosporinas e das quinolonas são os grupos com maiores taxas de resistência devido à utilização massiva e por vezes pouco controlada destes antimicrobianos.^{(63) (66)}

Para os isolados de *Klebsiella* spp verificaram-se maiores taxas de resistência para a amoxicilina + ácido clavulânico, cefazolina, ceftriaxone, nitrofurantoina e à fosfomicina. No estudo ECO.SENS também foram reportadas taxas de resistência elevadas à fosfomicina e à nitrofurantoina. Dos antimicrobianos estudados, os que apresentaram menores taxas de resistência, contrariamente ao obtido no estudo EARS-Net de 2009, foram a ciprofloxacina e a levofloxacina. As quinolonas não são considerados antimicrobianos de primeira escolha e é de salientar que vários estudos chamam à atenção para o problema do aumento da resistência a estes antimicrobianos⁽⁵⁾ Embora os *Enterococcus* spp. não sejam considerados aquando do estabelecimento de terapêuticas empíricas, dada a sua baixa prevalência, realça-se as elevadas percentagens de suscetibilidade no Algarve para a ampicilina/amoxicilina (97%).^{(5) (7) (37) (39) (40) (47) (66)}

Segundo a literatura, um antimicrobiano pode ser utilizado em terapêutica empírica quando a taxa de resistência é <20%^{(1) (3)}. Para auxiliar a prescrição de tratamento em Portugal, a Direção-Geral da Saúde emitiu uma Norma com a terapêutica a utilizar. Tendo em conta os resultados obtidos para o Algarve pode-se concluir que os protocolos propostos revelam-se adequados.⁽⁴²⁾ A elevada susceptibilidade à fosfomicina e à nitrofurantoina, permite que estes antibióticos possam ser opções terapêuticas no tratamento empírico das ITU considerando as resistências detetadas e relacionado-as com as taxas de resistência obtidas para o cotrimoxazole e para as quinolonas. No entanto são antimicrobianos pouco utilizados quando comparados com as quinolonas. O estudo “ECO.SENS” relata baixas taxas de resistência associadas à nitrofurantoina e à fosfomicina, em países que os utilizam massivamente há mais

de 25 anos e em países que não os utilizam, o que fortalece a recomendação da utilização destes antimicrobianos em terapêutica empírica. ^{(1) (3) (5) (10) (14) (37) (42) (44) (66)}

Os resultados deste estudo indicam que é importante considerar a terapêutica empírica baseada nas Normas impostas pela DGS. Esta Norma demonstra o empenho da DGS em conseguir uma redução das taxas de resistência alarmantes referidas no estudo EARS-Net de 2009, que considera Portugal um dos países da Europa com maiores taxas de resistência. ^{(5) (42)}

O aumento crescente da prevalência das ITU e dos insucessos terapêuticos devido ao aumento da resistência aos antibióticos enaltecem a preocupação com as ITU adquiridas na comunidade. Seria importante a sensibilização dos médicos prescritores da região do Algarve com os resultados deste estudo, de forma a considerarem a terapêutica empírica, para ITU não complicadas, limitada à prescrição dos antimicrobianos selecionados na Norma 015/2011 – Terapêutica de infecções do aparelho urinário (comunidade). ^{(6) (42)}

Os profissionais de saúde, entre eles os farmacêuticos, têm um papel educativo junto da sociedade, de forma a evitar ou minimizar o problema das resistências a antimicrobianos. Seria também importante que tivessem acesso a estudos semelhantes, por áreas geográficas. ⁽⁶⁾

Os Laboratórios de Análises Clínicas devem assegurar a eficácia e a garantia de qualidade dos testes de identificação de microrganismos e do respetivo TSA. Seria importante que os Laboratórios utilizassem os dados obtidos nestes exames para a realização de estudos sobre prevalência bacteriana e resistência a antimicrobianos de forma a poderem remeter os seus resultados aos profissionais que prescrevem e aos profissionais que dispensam, contribuindo assim para a redução das taxas de resistência. Em ITU recorrentes, complicadas e nas bacteriúrias assintomáticas em que se justifique é importante que o diagnóstico não se fundamente apenas na avaliação clínica, mas sim na urocultura e respetivo TSA. Assim o papel do Laboratório de Análises Clínicas da comunidade é de extrema importância.

O optimismo da descoberta dos antimicrobianos tem desvanecido com a emergência das resistências bacterianas, é importante que todos os profissionais de saúde tenham consciência do problema e um papel a cumprir.

5. Conclusão

A *Escherichia coli* continua a ser o agente etiológico mais prevalente nas ITU, com 74% do número total de isolados, neste estudo. Dos antimicrobianos estudados os que apresentaram menores taxas de resistência foram a amicacina, o ceftriaxone, a fosfomicina e a nitrofurantoína. Os perfis de suscetibilidades obtidos para o Algarve permitem concluir que os protocolos propostos para terapêutica empírica pela Direção Geral da Saúde estão adequados. A terapêutica empírica requer uma análise continuada das suscetibilidades dos principais agentes etiológicos. Os resultados das uroculturas e respetivos TSA oriundos de doentes com ITU e o seu estudo periódico, permitem dispor dos dados necessários para o conhecimento dos diversos agentes etiológicos mais importantes no nosso meio, e dispor da informação acerca dos seus padrões de suscetibilidade. Estes dados conclusivos são determinantes para traçar um perfil terapêutico empírico adequado.

6. Bibliografia

1. McCarter, Y.; Burd, E.; Hall, G. and Zervos, M. (2009) *Laboratory Diagnosis of Urinary Tract Infections*. Washington Cumitech Cumulative Techniques and Procedures in Clinical Microbiology.
2. B., Foxman. (2002) *Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs*. Am J Med. Vols. 113 Suppl 1A:5S-13S.
3. Grabe, M.; Bishop, M.; Bjerklund-Johansen, T.; *et al.* (2008) *Guidelines on The Management of Urinary and Male Genital Tract Infections*. European Association of Urology.
4. Dr. Francisco Rolo, Dr. Belmiro Parada, Dr. Pedro Moreira. (2008) *Cistite não complicada na mulher*. Associação Portuguesa de Urologia.
5. EARS. (2009) *Antimicrobial resistance surveillance in Europe. Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net)*.
6. Direção-Geral da Saúde. (2009) *Programa Nacional de Prevenção das Resistências aos Antimicrobianos*.
7. Correia, C.; Costa, E.; Peres, A.; Alves, M. (2007) *Etiologia das Infecções do Tracto Urinário e sua Susceptibilidade aos Antimicrobianos.*, Acta Med Port , 20: 543-549.
8. Thomas, N.; Bradley, S.; Colgan, R.; *et al.* (2005) *Infectious Diseases Society of America Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Asymptomatic Bacteriuria in Adults*. Clinical Infectious Diseases, Infectious Diseases Society of America Guidelines, Vols. 40: 643–54.
9. Duarte, G.; Marcolin, A., Quintana, S. and Cavalli, R. (2007) *Infecção urinária na gravidez*. Rev Bras Ginecol Obstet. Vols. 30(2):93-100.
10. Kalpana, G., Hooton, T., Naber, K. *et al.* (2011) *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 Vols. 52(5):e103–e120.
11. Kalyan Krishnan, R. and Dewey, S. (2005) *Diagnosis and Management of Acute Pyelonephritis in Adults*. American Family Physician, Vols. 71, Number 5.
12. Gillenwater, J.; Grayhack, J.; Howard, S., and Mitchell, M. (2002) *Adult and Pediatric Urology, Volume 2*. Philadelphia, USA : LIPPINCOTT WILLIAMS & WILKINS.
13. Johnson, C. C. (1991) *Definitions, classification and clinical presentation of urinary tract infection*. Med. Clin. N. Am. 75:241–252.

14. Hooton, T.; Bradley, S.; Cardenas, D. *et al.* (2010) *Diagnosis, Prevention, and Treatment of Catheter-Associated Urinary Tract Infection in Adults: 2009 International Clinical Practice Guidelines from the Infectious Diseases Society of America*. *Clinical Infectious Diseases*. Vols. 50:625–663.
15. Dason, J.; Dason, J. and Kapoor, A. (2011) *Guidelines for the diagnosis and management of recurrent urinary tract infection in women*. *Can Urol Assoc J*. Vols. 5(5):316-22.
16. Moreira, Pedro. (2006) *Infecções Urinárias de Repetição do Adulto*. *Acta Urológica*. Vols. 23; 2: 85-92.
17. Rabiais, S.; Aragão, F.; Félix, J. *et al.* (2010). *Infecção urinária recidivante: ocorrência, factores de risco e custos de diagnóstico e tratamento*. *Acta Urologica*. Vols. 3: 19–25.
18. Mehnert-Kay, S. (2005) *Diagnosis and management of uncomplicated Urinary Tract Infections*. *American Family Physician*. Vols. 72(3):451-456.
19. Hooton, T. M. (2000) *Pathogenesis of urinary tract infection: un update*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. Vols. 46 (S1): 1-7.
20. Pak, J.; Pu, Y.; Zhang, Z. *et al.* (2001) *Tamm-Horsfall Protein Binds to Type 1 Fimbriated Escherichia coli and Prevents E. coli from Binding to Uroplakin Ia and Ib Receptors*. *THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY*. Vol. 276: 9924–9930
21. Säemann, T.; Weichhart, W. and Zlabinger, G. (2005) *Tamm-Horsfall protein: a multilayered defence molecule against urinary tract infection*. *European Journal of Clinical Investigation*. Vols. 35, 227-235.
22. Giesen, L.; Cousins, G.; Dimitrov, B. *et al.* (2010) *Predicting acute uncomplicated urinary tract infection in women: a systematic review of the diagnostic accuracy of symptoms and signs*. *BMC Family Practice*. Vol. 11:78.
23. Benedito, A.; Piazza, J. *et al.* (2007) *Prevalência e Fatores Associados à Infecção do Trato Urinário*. *NewsLab*. Vol. 83.
24. Tenke, P.; Kovacs, B.; Johansen, T. *et al.* (2008) *European and Asian guidelines on management and prevention of catheter-associated urinary tract infections*. *International Journal of Antimicrobial Agents* 31S: S68–S78.
25. Mnif, M.; Kamoun, K.; Kacem, F. *et al.* (2013) *Complicated urinary tract infections associated with diabetes mellitus: Pathogenesis, diagnosis and management*. *Indian J Endocrinol Metab*. May-Jun; 17(3): 442–445.
26. Rosenstein, R., Hazlehurst, A.; Burroughs, E. *et al.* (1984) *Recurrent bacteriuria and primary biliary cirrhosis: ABO blood group, P1 blood group, and secretor status*. *J Clin Pathol*. Vols. 37:1055-1058.
27. Kinane, J.; Blackwell, C; Brettle, D. *et al.* (1982) *ABO blood group, secretor state, and susceptibility to recurrent urinary tract infection in women*. *British Medical Journal*. Vol. 285.

28. Hawn, T.; Scholes, D.; Wang, W. et al. (2009) *Genetic Variation of the Human Urinary Tract Innate Immune Response and Asymptomatic Bacteriuria in Women*. PLoS ONE. Vol. 4.
29. Zaffanello, M., Malerba, G; Cataldi, C. (2010) *Genetic Risk for Recurrent Urinary Tract Infections in Humans: A Systematic Review*. Journal of Biomedicine and Biotechnology. Vol. 321082.
30. Neto, V. (2003) *Infecção do trato urinário*. Revista Medicina, Ribeirão Preto. Vols. 36: 365-369.
31. Johnson, J. (1991) *Virulence Factors in Escherichia coli Urinary Tract Infection*. Clinical Microbiology Reviews. Vols. 4, nº 1, p. 80-128.
32. Sandberg, B.; Andberg, B., Kaijser, G. et al. (1998) *Virulence of Escherichia coli in Relation to Host Factors in Women with Symptomatic Urinary Tract Infection*. Journal of Clinical Microbiology. Vol. 26, No. 8 1471-1476.
33. Lewis, K. (2001) *Riddle of Biofilm Resistance*. Antimicrobial agents and chemotherapy. . Vol. 45, No. 4, p. 999–1007.
34. Falkow, B. Finlay F. and Stanley. (1997) *Common Themes in Microbial Pathogenicity Revisited*. Microbiology and molecular biology. Vol. 61, No. 2.
35. Lynne, G. (2007) *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Washington, EUA. ASM Press.
36. Gupta, K.; Sahm, D.; Mayfield, D. and Stamm, W. (2001) *Antimicrobial Resistance Among Uropathogens that Cause Community-Acquired Urinary Tract Infections in Women: A Nationwide Analysis*. Clinical Infectious Diseases. Vols. 33:89–94.
37. Kahlmeter, G. (2003) *An international survey of the antimicrobial susceptibility of pathogens from uncomplicated urinary tract infections: the ECO-SENS Project*. The British Society for Antimicrobial Chemotherapy. Vols. 51, 69–76.
38. Mendo, A; Antunes, J.; Costa, M. et al. (2008) *Frequência de Infecções Urinárias em Ambulatório – dados de um laboratório de Lisboa. Parte I*. Rev. Lusófona de Ciências e Tecnologias da Saúde. Vols. (5) 2: 216-223.
39. Silva, A.; Machado, P.; Rodrigues, V. e Duarte. A. (2008) *Bactérias uropatogénicas identificadas de cistites não complicadas de mulheres na comunidade*. Vols. 25; 3: 9-14.
40. Narciso, A.; Fonseca, F.; Cerqueira, A. e Duarte, A. (2011) *Susceptibilidade aos antibióticos de bactérias responsáveis por cistites não complicadas: estudo comparativo dos isolados de 2008 e 2010*. Acta Urológica. Vols. 1: 16-21.
41. Schmiemann, G.; Kniehl, E.; Gebhardt, K. et al. (2010) *The Diagnosis of Urinary Tract Infection. A Systematic Review*. Deutsches Ärzteblatt International. Vols. 107(21): 361–7 361.

42. DGS. (2011) Norma Direção-Geral da Saúde nº 015/2011. Terapêutica de infeções do aparelho urinário (comunidade).
43. Gaido, M.; Wilson and Loretta. (2004) *Laboratory Diagnosis of Urinary Tract Infections*. Clinical Infectious Diseases, 2004, Vols. 38:1150–8.
44. DGS. (2012) Norma da Direção-Geral da Saúde nº 008/2012. Diagnóstico e Tratamento da Infecção do Trato Urinário em Idade Pediátrica.
45. Walter D., Yzermans, J.; Duijn, N. *et al.* (2004) *The urine dipstick test useful to rule out infections. A meta-analysis of the accuracy*. BMC Urology. 4:4.
46. Nys, S.; Merode, T., Bartelds, A. and Stobberingh, E. (2006) *Urinary tract infections in general practice patients: diagnostic tests versus bacteriological culture*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. Vols. 57, 955–958.
47. Barroso, F. e Dias, A. (2011) *Etiologia e sensibilidade bacteriana em infeções do tracto urinário*. Rev Port Saúde Pública. Vols. 29(2):123-131.
48. Lifshitz, E., and L. Kramer. (2000) *Outpatient urine culture: does collection technique matter?* . s.l. : Arch. Int. Med. Vols. 160:2537–2540.
49. Cravens, D. and Zweig, S. (2000) *Urinary catheter Management*. Am Fam Physician Vols. 15;61(2):369-376.
50. Rintaro M, Lakhanpaul and Verrier-Jones, K.(2007) *Diagnosis and management of urinary tract infection in children: summary of NICE guidance*.BMJ. Vol. 335.
51. Davies, D. (2004) *Bag urine specimens still not appropriate in diagnosing urinary tract infections in infants*. Paediatr Child Health. Vols. 9, nº 6.
52. Cavagnolo, R. (1995) *Evaluation of Incubation Times for Urine Cultures*. Journal of Clinical Microbiology. Vols. p. 1954–1956.
53. Kahlmeter, G., Brown, D. , Goldstein, F. *et al.* (2006) *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) Technical Notes on antimicrobial susceptibility testing*. Clin Microbiol Infect. Vols. 12: 501–503.
54. Analysis and Presentation of Cumulative Antimicrobial Susceptibility Test Data; Approved Guideline. (2009) Pennsylvania - USA. Clinical and Laboratory Standards Institute. Vols. M39-A3, 3rd edition.
55. National Guideline Clearinghouse. (NGC) (2008) Treatment of urinary tract infections in nonpregnant women. *NGC-6536*. Agency for Healthcare Research and Quality's (AHRQ).
56. — National Guideline Clearinghouse. (NGC) (2009) *Urinary tract infection in children*. In: *Guidelines on urologic infections*. NGC-7313. Agency for Healthcare Research and Quality's (AHRQ).

57. — National Guideline Clearinghouse. (NGC) (2009) Urinary tract infections in renal insufficiency, renal transplants, diabetes mellitus and immunosuppression. NGC-7314. Agency for Healthcare Research and Quality's (AHRQ).
58. Sousa, J.C. (2005) *Manual de Antibióticos Antimicrobianos*. Porto. Edições Fernando Pessoa.
59. Infarmed.(2008) Circular Informativa nº 122/CD.
60. Todar, K. Bacterial Resistance to Antibiotics. *Todar's Online Textbook of Bacteriology*. . [Online] [Citação: 9 de Agosto de 2013.] http://textbookofbacteriology.net/resantimicrobial_3.html.
61. Marshall, S. and Bonnie. B. (2004) Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. *Nature Medicine Supplement*. Vols. 10, 12.
62. Guillemot, D. and Courvalin. P. (2001) *Better Control of Antibiotic Resistance*. *Clinical Infectious Diseases*. Vols. 33:542–7.
63. Levy, S. (2001) Antibiotic Resistance: Consequences of Inaction. *Clinical Infectious Diseases*. Vols. 33(Suppl 3):S124–9.
64. Levy, S. (2002). *Factors impacting on the problem of antibiotic resistance*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. Vols. 49, (25-30).
65. Marques,N., Araújo, F. e Ducla-Soares, J. (2005) *Infecções e Antibioterapia num Serviço de Medicina*. *Medicina Interna*. Vol.12 nº 4 OUT/DEZ .
66. Ramalhinho, I.; Ribeirinho, M.; Vieira, I. e Cabrita, J. (2012) *A Evolução do Consumo de Antibióticos em Ambulatório em Portugal Continental 2000-2009*. *Acta Med Port*. Vols. Jan-Fev;25(1):20-28.
67. Martins, F.; Vitorino, J. e Abreu, A. (2010) *Avaliação do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos de microrganismos isolados em urinas na Região do Vale do Sousa*. *Ata Med Port*. Vols. 23: 641-646.
68. Linhares, I.; Raposo, T.; Rodrigues, A. and Almeida A. (2013) *Frequency and antimicrobial resistance patterns of bacteria implicated in community urinary tract infections: a ten-year surveillance study (2000–2009)*. *BMC Infectious Diseases*. 13:19.
69. DGS. (2013) Norma Direção-Geral da Saúde nº 004/2013. Vigilância Epidemiológica das Resistências aos Antimicrobianos.
70. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing - Twenty second Information Supplement. (2012) Pennsylvania - USA. Clinical and Laboratory Standards Institute. Vols. M100-S22.