

# *Escherichia coli* Uropatogénica: Resistência aos Antibióticos *Versus* Factores de Virulência

## *Uropathogenic Escherichia coli: Antibiotic Resistance Versus Virulence Factors*

.....

**Autores:**

Ana Narciso<sup>1</sup>, Luís Lito<sup>2</sup>, José Melo Cristino<sup>3</sup>, Aida Duarte<sup>1</sup>

.....

**Instituição:**

<sup>1</sup> Laboratório de Microbiologia, Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa

<sup>2</sup> Centro Hospitalar Lisboa Norte – Hospital de Santa Maria, Lisboa

<sup>3</sup> Laboratório de Microbiologia, Faculdade de Medicina, Universidade de Lisboa, Portugal

.....

**Correspondência:**

Aida Duarte - Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa

Av. Prof. Gama Pinto, 1649-003 Lisboa, Portugal

Tel- 217946440 | e-mail: aduarte@ff.ul.pt

.....

### RESUMO

**Introdução:** As infeções do tracto urinário causadas por *Escherichia coli* estão entre as infeções bacterianas mais comuns. Este microrganismo possui determinantes genéticos de virulência e de resistência aos antibióticos, nomeadamente aos  $\beta$ -lactâmicos, que desempenham um papel importante em episódios sucessivos de infeção urinária. O presente trabalho teve como objectivo estudar os determinantes e qual a sua repercussão na interacção entre o agente e o hospedeiro.

**Material e Métodos:** Foram incluídos neste estudo quatro doentes do Hospital de Santa Maria com vários episódios de infeção urinária, durante períodos que variaram entre sete meses e quatro anos. Os isolados de *E. coli* foram analisados quanto à sua relação clonal, filogenia, virulência e resistência aos antibióticos.

**Resultados:** A resistência à cefotaxima foi a mais encontrada (80% das estirpes), sendo as resistências à ceftazidima, gentamicina e ciprofloxacina frequentes. Os factores de virulência mais encontrados foram as adesinas fimbriais do tipo 1 (*fimH*) e o *E. coli* Common Pilus (*ecpA*). Observou-se uma predominância de

estirpes de *E. coli* do grupo filogenético comensal A. Foi estabelecida uma relação clonal entre as estirpes de dois dos doentes estudados, apontando para infecções recorrentes durante períodos superiores a dois anos.

**Conclusões:** A virulência tem um papel fundamental no estabelecimento de infecções urinárias contribuindo para a adesão e invasão do epitélio do hospedeiro. Por outro lado, a antibioterapia administrada nos últimos anos permitiu seleccionar estirpes resistentes aos antibióticos que tornam cada vez mais difícil o tratamento e erradicação de infecções urinárias.

**Palavras-chave:** *Escherichia Coli* Uropatogénica, Virulência, Resistência aos Antibióticos

## ABSTRACT

**Introduction:** Urinary tract infections caused by *Escherichia coli* are the most common bacterial infections. This microorganism has virulence and antibiotic resistance, namely to  $\beta$ -lactams, genetic determinants that play an important role in successive episodes of urinary infection. The present work had the purpose to study these determinants and their repercussion in the interaction between the agent and the host.

**Material and Methods:** Four patients from Hospital Santa Maria, with several episodes of urinary infection during periods that ranged between seven months and four years, were included in this study. *E. coli* isolates were analyzed regarding their clonal relationship, phylogeny, virulence and antibiotic resistance.

**Results:** Resistance to cefotaxime was the most found (80% of the strains), with resistance to ceftazidime, gentamicin and ciprofloxacin also being frequent. The most found virulence factors were type 1 fimbrial adhesins (*fimH*) and *E. coli* Common Pilus (*ecpA*). There was a predominance of strains belonging to phylogenetic commensal group A. A clonal relationship was established between the strains isolated from two of the studied patients, pointing to recurring infections during periods above two years.

**Conclusions:** Virulence has a fundamental role in the establishment of urinary infections, contributing to the adhesion and invasion of the host's epithelium. On the other hand, the antibiotherapy used in the last years has allowed the selection of resistant strains that make the treatment of urinary tract infections more difficult.

**Key-words:** Uropathogenic *Escherichia Coli*, Virulence, Antibiotic Resistance

## INTRODUÇÃO

As infecções do tracto urinário (ITUs) são consideradas as infecções bacterianas mais comuns, quer na comunidade, quer associadas aos cuidados hospitalares. As ITUs associadas a catéteres são, inclusive, as infecções nosocomiais mais frequentes<sup>1</sup>. Estas infecções são uma das principais causas de morbilidade, mortalidade e custos associados aos cuidados de saúde<sup>2,3</sup>. Existem vários factores predisponentes para a ocorrência de

episódios repetidos de ITUs<sup>1,2</sup>, nomeadamente: a) o estado não competente do sistema imunitário do hospedeiro, idade avançada, nascimento prematuro, administração de medicamentos; b) a manipulação invasiva a que os doentes estão sujeitos constitui uma porta de entrada para a invasão bacteriana (tubos de ventilação assistida, catéteres ou sondas vesicais); c) terapia antimicrobiana agressiva que elimina a flora comensal, permitindo a proliferação de microrganismos resistentes.

Nas infecções urinárias a *Escherichia coli* é a bactéria identificada em maior percentagem, quer no meio hospitalar quer na comunidade. *Klebsiella pneumoniae* é também frequente em infecções urinárias, tal como outras bactérias do grupo das *Enterobacteriaceae*. *Pseudomonas aeruginosa* e algumas leveduras estão normalmente associadas a infecções em doentes algaliados.

As infecções urinárias de repetição ou recorrentes em meio hospitalar podem ocorrer não só pelos factores predisponentes do hospedeiro, mas também devido a características específicas do próprio microrganismo tais como a resistência aos antibióticos e a virulência.

Em *E. coli*, a resistência aos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos até à década de 90 era conferida essencialmente por  $\beta$ -lactamases de espectro alargado (ESBLs) do tipo TEM ou SHV, também denominadas de ceftazidimases, codificadas em plasmídeos. Estas enzimas hidrolisam penicilinas e cefalosporinas, com maior actividade hidrolítica para a ceftazidima (entre as cefalosporinas de largo espectro) e são inibidas pelo ácido clavulânico. As enzimas do tipo CTX-M surgiram no início dos anos 90, na África do Sul, presumivelmente adquiridas através da transferência de elementos genéticos móveis de bactérias ambientais. Este tipo de enzimas, ao contrário das SHV e TEM, são consideradas cefotaximases pois têm uma maior actividade hidrolítica para a cefotaxima do que para a ceftazidima (cerca de 35 vezes superior<sup>4</sup>). No entanto, novas variantes com elevada actividade para ambos os antibióticos já existem, como, por exemplo, CTX-M-15.

Microrganismos que produzem enzimas do tipo CTX-M tornaram-se o grupo mais prevalente nos últimos anos, particularmente em alguns países da Europa e da América do Sul<sup>5</sup>. Em Portugal, a prevalência de *E. coli* produtora de  $\beta$ -lactamases tem vindo a aumentar, com predominância de enzimas CTX-M-type a causar infecções do

tracto urinário tanto no meio hospitalar como na comunidade. Estudos em hospitais portugueses demonstram a disseminação de CTX-M-14, CTX-M-15, CTX-M-32, TEM-24, TEM-52, GES e SHV-12<sup>6</sup>. Em 2008 Portugal apresentava uma taxa de isolados de *E. coli* resistentes às cefalosporinas de terceira geração entre 10 e 25%, de acordo com o Sistema Europeu de Vigilância à Resistência aos Antibióticos (EARSS<sup>7</sup>).

Além da crescente resistência, a *E. coli* possui também factores intrínsecos que contribuem para a complexa interacção entre o hospedeiro e o agente patogénico nas infecções urinárias. Os factores de virulência expressos pelo microrganismo estão associados a infecções severas invasivas, pois facilitam a colonização e proliferação no organismo humano. A adesão e invasão do epitélio da bexiga estão associadas, em *E. coli* uropatogénica, maioritariamente às adesinas fimbriais. Estas são essenciais para o estabelecimento inicial da infecção, permitindo a ascensão do microrganismo às vias urinárias superiores e levando à colonização do tracto urinário. Entre elas estão as fímbrias do tipo 1 (operação *fim*), as do tipo P (operação *pap*), as do tipo S (operação *sfa*) e o pílus ECP (*E. coli* Common Pilus, gene *ecpA*). Outras proteínas podem estar envolvidas na virulência, como hemolisinas, factores citotóxicos ou sideróforos<sup>8,9,10</sup>.

As estirpes de *E. coli* podem ainda ser caracterizadas de acordo com a divisão em grupos filogenéticos, sendo os principais A, B1, B2 e D. As estirpes urinárias são descritas como estando associadas, na sua grande maioria, ao grupo B2, contendo este grupo as estirpes mais virulentas, enquanto as estirpes comensais pertencem geralmente ao grupo A<sup>11,12,13,14</sup>.

No estudo retrospectivo das bactérias multirresistentes provenientes do Hospital de Santa Maria, verificou-se que, doentes, em situação de hospitalização ou de consulta externa, apresentavam infecções urinárias sempre com

a mesma espécie bacteriana, durante períodos que se estenderam até quatro anos. De modo a compreender se estes doentes apresentavam infecções recorrentes ou de repetição tornou-se necessário verificar se esta seria a mesma estirpe bacteriana (infecções recorrentes) ou se seriam estirpes diferentes (infecção de repetição) e quais os factores que permitiram às estirpes bacterianas permanecer no hospedeiro apesar da terapêutica antimicrobiana instituída. O objectivo principal deste trabalho foi estudar os factores de virulência e de resistência aos antibióticos em estirpes de *E. coli* uropatogénicas provenientes de quatro doentes com episódios sucessivos de infecção urinária e a repercussão no hospedeiro.

## MATERIAIS E MÉTODOS

**Estirpes Bacterianas** Foram analisadas 25 estirpes de *Escherichia coli*, provenientes de quatro doentes em internamento e/ou consulta externa, entre 2005 e 2009, isoladas de urinas e identificadas pelo Laboratório de Microbiologia do Hospital de Santa Maria. As unidades hospitalares onde se encontravam os doentes aquando da colheita estão representadas na tabela I.

**Estudo de susceptibilidade aos antibióticos.** O fenótipo de resistência aos antibióticos foi determinado pelo método de difusão de disco em meio Mueller-Hinton, de acordo com as normas CLSI<sup>17</sup>. Os antibióticos estudados foram os seguintes: cefoxitina, cefotaxima, ceftazidima, imipenemo, gentamicina, ciprofloxacina e combinação de amoxicilina com ácido clavulânico. Estes antibióticos foram escolhidos não de acordo com a terapêutica adequada às infecções urinárias, mas para permitir detectar determinados mecanismos de resistência a vários grupos de antibióticos:  $\beta$ -lactâmicos (produção de ESBLs, cefalosporinases, carbapenemases), aminoglicosídeos e quinolonas.

## MÉTODOS MOLECULARES

O DNA utilizado nos diferentes métodos moleculares efectuados neste estudo foi extraído pela técnica de *boiled* de acordo com Brizio *et al*, 2006<sup>18</sup>. Os produtos obtidos após amplificação pela técnica de PCR foram confirmados por sequenciação e as sequencias nucleotídicas e aminoácídicas foram analisadas por software disponível no National Centre for Biotechnology Information (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

**$\beta$ -lactamases.** A presença de  $\beta$ -lactamases do tipo CTX-M foi detectada por PCR com primers específicos para os subgrupos CTX-M-1 (Conceição *et al*, 2005<sup>19</sup>) e CTX-M-2 (Brizio *et al*, 2006<sup>18</sup>).

**Virulência.** Os factores de virulência foram pesquisados por reacção de PCR, usando *primers* específicos e programas adequados. Os genes ensaiados foram: *fimH* (adesina fimbrial do tipo 1), *hlyA* (hemolisina A), *cnf-1* (factor citotóxico necrótico), *iucC* (aerobactina), e o operão *afa* (adesinas fimbriais) de acordo com Usein *et al*, 2001<sup>20</sup>, e *papC* (componente do sistema pili pap), *ecpA* (pilus comum de *E. coli*), *sfaE-D* (fímbrias do tipo S) e *usp* (proteína específica uropatogénica) com primers desenhados pelos autores.

**Tipificação molecular.** A tipificação molecular foi realizada por M13 PCR *fingerprinting*, de acordo com o procedimento descrito por Grundmann *et al*, 1997<sup>15</sup>. Este método baseia-se na amplificação de regiões do cromossoma, de modo aleatório, com o primer M13, desenhado a partir da região core do bacteriófago M13. Os fragmentos amplificados são separados por electroforese em gel de agarose e visualizados após coloração com brometo de etídio. A observação das bandas de electroforese, permite definir um perfil electroforético, característico de uma estirpe bacteriana.

**Filogenia.** A classificação filogenética foi determinada usando 3 reacções de PCR realizadas em multiplex. Para esta classificação detectou-se

**Tabela I** - Distribuição das estirpes de *E. coli* por data de isolamento, serviço hospitalar, perfil de M13 e grupo filogenético.

Doente	Isolado	Data de isolamento	Unidades hospitalares	Perfil de M13	Filogenia
1	1a	19-04-2007	Urgência Pediatria	M1	D
	1b	09-05-2007	Consulta Ext. Cirurgia Pediátrica	M1	D
	1c	09-07-2007	Consulta Ext. Cirurgia Pediátrica	M1	D
	1d	20-08-2007	Consulta Ext. Cirurgia Pediátrica	M1	D
	1e	14-08-2008	Consulta Ext. Cirurgia Pediátrica	M1	D
	1f	02-09-2008	Consulta Ext. Cirurgia Pediátrica	M2	A
	1g	09-09-2008	Consulta Ext. Cirurgia Pediátrica	M1	D
	1h	26-01-2009	Consulta Ext. Cirurgia Pediátrica	M1	D
2	2a	24-03-2006	Pós-Transplante Renal	M3	A
	2b	26-10-2006	Consulta Ext. Nefrologia	M3	A
	2c	16-01-2007	Consulta Ext. Nefrologia	M3	A
	2d	02-03-2007	Consulta Ext. Nefrologia	M3	A
	2e	04-05-2007	Consulta Ext. Nefrologia	M3	A
	2f	15-11-2007	Consulta Ext. Nefrologia	M3	A
	2g	16-01-2008	Consulta Ext. Nefrologia	M3	A
	2h	06-11-2008	Consulta Ext. Nefrologia	M3	A
3	3a	10-07-2007	Consulta Ext. Cirurgia Pediátrica	M4	ND**
	3b	17-07-2007	Consulta Ext. Pediatria	M4	A
	3c	10-01-2008	Urgência Pediatria	M5	A
	3e	13-02-2008	Consulta Ext. Pediatria	M5	ND**
4	4a	13-01-2005	Medicina IVB	M6	B2
	4b	26-09-2005	Urgência Central	M6	B2
	4c	30-11-2005	Urgência Central	M6	B2
	4d	30-09-2008	Medicina IIA	M6	A
	4e	04-04-2009	Medicina IIB	M6	B1

a presença ou ausência dos genes *chuA* e *yjaA* e do fragmento genómico TSPE4.C2, com *primers* e condições de PCR de acordo com Clermont *et al*<sup>16</sup>.

## RESULTADOS

**Estudo da susceptibilidade aos antibióticos e  $\beta$ -lactamases.** A resistência à cefotaxima foi encontrada em 80% dos isolados,

seguida pela resistência à ceftazidima (40%) e à gentamicina (40%), de acordo com o gráfico 1.

O padrão de resistência **A1** predominante é característico de estirpes produtoras de CTX-M-15 (resistência à cefotaxima, à ceftazidima, à gentamicina e à ciprofloxacina) tendo sido este perfil **A1** associado às estirpes identificadas no doente 4. O perfil **A2**, também detectado frequentemente (doente 1 e doente 3), apresentou resistência à cefotaxima e sensibilidade à ceftazidima, característico da produção de ESBLs do grupo CTX-M-2 (doente 1) e CTX-M-32 (doente 3).

**Virulência.** Entre os factores de virulência estudados os genes *ecpA* e *fimH* foram encontrados num maior número de isolados, 52% e 56%, respectivamente, de acordo com o gráfico 2. O gene *iucC* foi também detectado num número elevado de isolados (44%), seguido pelo gene *papC* em 16% dos isolados, responsável pela expressão de uma adesina associada a infecções urinárias graves.

**Tipificação Molecular e Filogenia.** Os perfis electroforéticos, obtidos pelo método M13 PCR *fingerprinting*, foram considerados tendo em atenção o número de bandas visualizadas no gel de electroforese. Considerou-se dentro do mesmo perfil de M13 todos aqueles que não diferiam em mais de 2 bandas.

Nas 25 estirpes analisadas, obtiveram-se 6 perfis de M13 distintos, expressos na tabela I. As estirpes isoladas tanto do doente 2 como do doente 4 apresentaram perfis iguais entre si, **M3** e **M6** respectivamente. Nas estirpes analisadas do doente 3, as duas isoladas em 2007 apresentavam o mesmo perfil (**M4**), diferente das isoladas em 2008 (**M5**). No doente 1, das oito estirpes analisadas apenas uma apresentou um perfil diferente (**M2**) das restantes (**M1**).

O grupo filogenético a que foi associado o maior número de isolados foi o **grupo A** (48%), que está habitualmente associado a estirpes comensais,

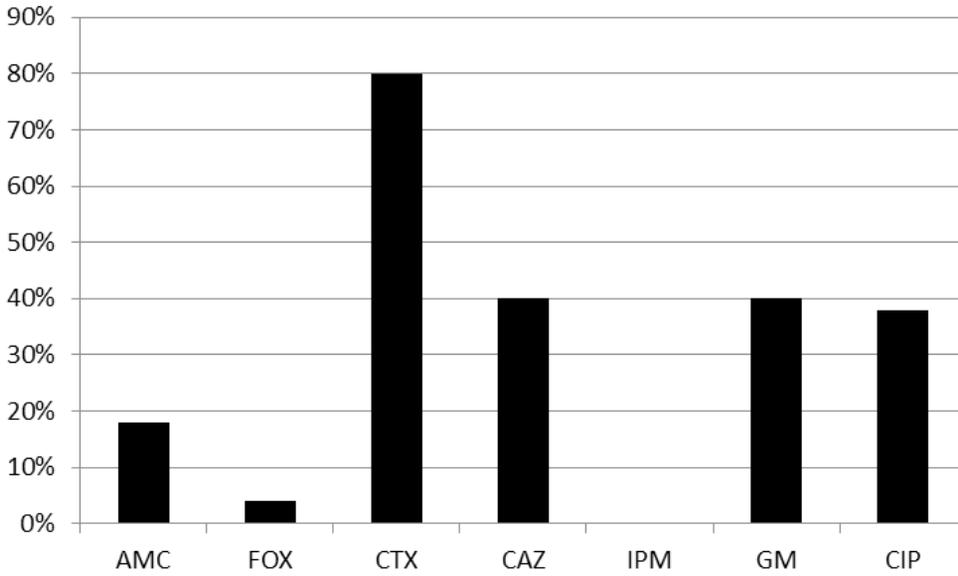
seguido pelo **grupo D** (28%) e **grupo B2** (12%), estando nestes dois grupos as estirpes consideradas patogénicas (entero e uropatogénicas)<sup>11,12</sup>.

A análise filogenética dos isolados dos doentes 1 e 2 coincide com os resultados obtidos por M13 PCR **fingerprinting**. No doente 1, os isolados pertencem ao mesmo grupo filogenético (**grupo D**), excepto no isolado 1f, o mesmo em que se obteve um perfil de M13 diferente (**grupo A**). Nos isolados dos doentes 3 e 4, não se verificou uma relação directa entre o perfil de M13 e o grupo filogenético (tabela I).

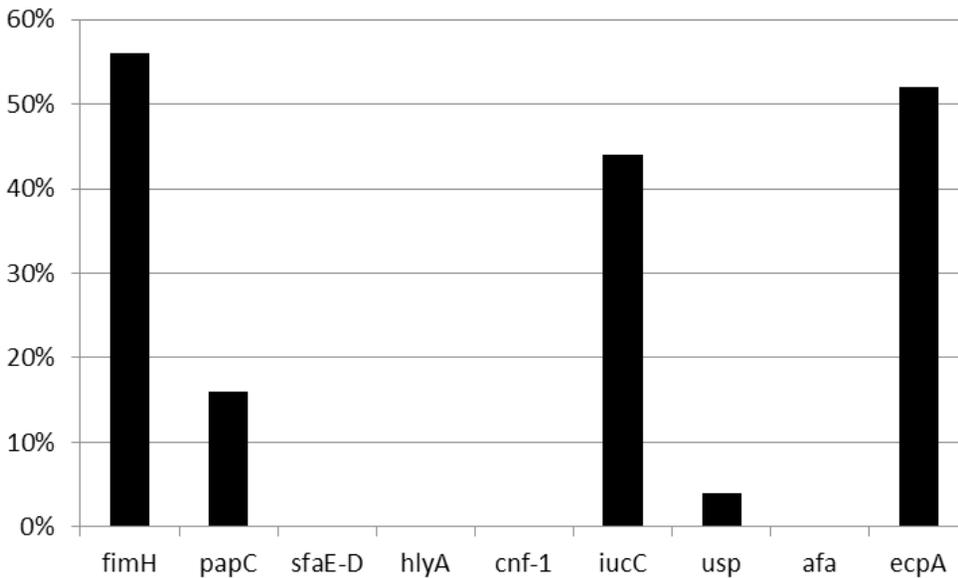
## DISCUSSÃO

As infecções urinárias em meio hospitalar são cada vez mais um problema na sociedade actual. A pressão selectiva criada pela administração e toma de antibióticos por vezes incorrecta, em conjunto com a susceptibilidade dos pacientes, cria um “microclima” favorável à disseminação de resistências aos antibióticos entre estirpes bacterianas. A resistência aos  $\beta$ -lactâmicos está muitas vezes associada à resistência a antibióticos de outras classes, também muito utilizados na terapêutica, nomeadamente aminoglicosídeos e fluoroquinolonas. O tratamento de uma infecção hospitalar ou mesmo da comunidade torna-se cada vez mais complicado, sendo necessárias medidas estritas de controlo, para evitar a emergência e proliferação de microrganismos principalmente produtores de ESBLs. É de notar que Portugal possui uma das taxas mais elevadas de isolados de *E. coli* produtores de ESBLs da Europa<sup>7,21</sup>.

Além do crescente problema das resistências aos antibióticos, a *E. coli* produz uma série de factores de virulência que lhe dão a capacidade de aderir e invadir o epitélio do tracto urinário, e o facto de existir como comensal no cólon confere-lhe vantagens relativamente a outros microrganismos, além de ter mecanismos que lhe permitem evadir ao sistema imunitário



**Gráfico 1** – Percentagem de isolados resistentes aos antibióticos testados; Amc - Amoxicilina + ácido clavulânico; Fox – Cefoxitina; Ctx – Cefotaxime; Caz – Ceftazidina; Ipm – Imipeneme; Gm – Gentamicina, Cip – Ciprofloxacina.



**Gráfico 2** – Percentagem de isolados com os factores de virulência pesquisados.

do hospedeiro e estabelecer infecções urinárias recorrentes ou de repetição.

Adiferenciação entre infecções recorrentes ou de repetição é baseada tendo em conta a diversidade bacteriana, ou seja, se for identificada a mesma estirpe bacteriana (genomicamente caracterizada), poderá ser considerada uma infecção recorrente, enquanto nas infecções de repetição são isoladas estirpes genomicamente diferentes ou espécies bacterianas diferentes. A análise genómica por M13 PCR *fingerprinting* permite estabelecer uma relação clonal entre as estirpes estudadas. Para o doente 1, os isolados têm perfis semelhantes, excepto o isolado 1f, o que indica episódios de infecção recorrente com a mesma bactéria e com uma infecção de repetição com outro isolado. Também no doente 2 se verificou infecções urinárias recorrentes, em que a estirpe de *E. coli* persistiu quase três anos. Estes resultados são concordantes com o agrupamento filogenético, em que é possível verificar que tanto o doente 1, como o doente 2, apresentam estirpes com o mesmo grupo filogenético D e A, respectivamente. Estes resultados vêm confirmar episódios sucessivos de infecção urinária com o mesmo microrganismo. No entanto, no doente 4, embora todas as estirpes apresentem o mesmo perfil M13, num período de 11 meses no ano de 2005 observaram-se três infecções recorrentes com isolados do grupo B2, enquanto as estirpes identificadas nos dois últimos anos são distintas quanto à filogenia (tabela I).

Em todos os isolados verificou-se um predomínio do fenótipo ESBL, que se caracterizou por resistência à cefotaxima e/ou à ceftazidima e sensibilidade à associação amoxicilina/ácido clavulânico. Tendo em conta este resultado, as  $\beta$ -lactamases encontradas foram CTX-M-2 e CTX-M-15, responsáveis pelo aumento da resistência ao grupo das cefalosporinas<sup>5,21,22,23</sup>. É de notar que alguns isolados, apesar de terem o mesmo perfil genómico, apresentaram diferentes

fenótipos de resistência aos antibióticos. Estes dados indicam a aquisição pelas bactérias de genes de resistência contidos em elementos genéticos móveis, como plasmídeos.

O estudo da virulência demonstrou um predomínio das fimbrias do tipo 1, relativamente às fimbrias do tipo P, estando ambas associadas à patogénese de *E. coli* nas infecções urinárias. A *fimH* adere aos receptores das unidades terminais manosiladas de uroplaquina altamente disseminadas pela superfície do tecido uroepitelial. Esta adesina, também denominada “invasina”, intervém no processo de invasão do epitélio vesical, permitindo desencadear a resposta imunitária do hospedeiro e levar à internalização da *E. coli*<sup>9</sup>. A sua elevada distribuição em isolados obtidos a partir de cistites e pielonefrites reforça a sua importância no estabelecimento destas infecções<sup>24</sup>. A proteína PapC, que está frequentemente associada às infecções urinárias severas, foi detectada em apenas 16% dos isolados, o que pode justificar o facto nestes doentes não ter havido suspeita de bacteriémia, uma vez que não existem dados de hemoculturas. O pílus ECP, por outro lado, caracteriza-se por ser essencial para a virulência de estirpes enteropatogénicas. Medeia a ligação de microrganismos comensais e patogénicos aos enterócitos<sup>10</sup>. Tendo em conta que o tracto gastrointestinal é uma fonte primária de estirpes de *E. coli* responsável por infecções urinárias, o pílus ECP pode ter um papel fulcral não só na invasão do epitélio vesical, mas também na manutenção destas estirpes na mucosa intestinal permitindo a evasão ao sistema imunitário e serem reconhecidas como comensais.

Neste estudo é no grupo filogenético A, grupo que agrega as estirpes consideradas comensais, onde foi encontrado um maior número de isolados com os genes *fimH* e *ecpA*, comparando com os grupos B2 e D, que englobam as estirpes patogénicas e mais virulentas. O gene que codifica

para a proteína PapC foi apenas encontrado em estirpes do grupo A. Por outro lado, o gene *iucC* distribuiu-se de igual forma por estirpes dos grupos A, B2 e D. Isto pode sugerir que estas estirpes do Grupo A consideradas comensais poderão ter uma vantagem adaptativa em relação às estirpes pertencentes aos grupos B2 e D considerados patogénicos.

## CONCLUSÕES

A emergência de estirpes produtoras de ESBLs nas infeções urinárias pode ter como causa a antibioterapia administrada nos últimos anos, que tem contribuído para a selecção de estirpes mutantes, nomeadamente aos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos e quinolonas.

Também as adesinas fimbriais do tipo 1, têm um papel fundamental no estabelecimento de infeções urinárias, dado que contribuem para a adesão e invasão do epitélio do hospedeiro e a evasão ao sistema imunitário e associadas ao pílus ECP têm um papel importante na subsistência das bactérias multiresistentes no hospedeiro por longos períodos, que neste estudo se estenderam até quatro anos.

As estirpes do grupo A consideradas “comensais”, predominantes no nosso estudo, têm uma vantagem adaptativa em relação às estirpes patogénicas (grupos B2 e D), porque além de possuírem factores de virulência, que lhes permitem causar infeções urinárias, têm mecanismos de evasão ao sistema imunitário em que o hospedeiro as reconhece como comensais.

A magnitude da infeção ou da colonização do epitélio depende não só dos factores de susceptibilidade do hospedeiro mas dos factores de virulência e de resistência aos antibióticos das estirpes bacterianas. De acordo com os resultados no nosso estudo gostaríamos de alertar os clínicos para a existência de bactérias multiresistentes que

têm capacidade de permanecer no hospedeiro durante períodos prolongados de tempo.

## BIBLIOGRAFIA

1. Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity and economic costs. *Dis Mon* 2000;49(2): 53-70;
2. Hooton TM. Pathogenesis of urinary tract infections: an update. *J Antimicrob Chemother* 2000; 46(Suppl S1): 1-7;
3. Johansen TE, Çek M, Naber KG, *et al.* Hospital acquired urinary tract infections in urology departments: pathogens, susceptibility and use of antibiotics. Data from the PEP and PEAP-studies. *Int J Antimicrob Agents* 2006; 28S: S91-S107;
4. Branger C, Zamfir O, Geoffroy S, *et al.* Genetic background of *Escherichia coli* and extended-spectrum  $\beta$ -lactamase type. *Emerg Infect Dis* 2005; 11(1): 54-61;
5. Cantón R, Coque TM. The CTX-M  $\beta$ -lactamase pandemic. *Curr Opin Microbiol* 2006; 9: 466-75;
6. Machado E, Coque TM, Cantón R, *et al.*; High diversity of extended-spectrum beta-lactamases among clinical isolates of Enterobacteriaceae from Portugal. *J Antim Chemother* 2007; 60(6): 1370-4;
7. <http://www.rivm.nl/earss/>, consultado a 13/12/2009;
8. Johnson JR. Virulence factors of *Escherichia coli* urinary tract infection. *Clin Microbiol Rev* 1991; 4:80–128;
9. Wang H, Min G, Glockshuber R, Sun TP, Kong XP. Uropathogenic *E. coli* adhesion-induced host cell receptor conformational changes: implication in transmembrane signaling transduction. *J Mol Biol* 2009; 392: 352-361;

10. Rendón MA, Saldaña Z, Erdem AL, *et al.* Commensal and pathogenic *Escherichia coli* use a common pilus adherence factor for epithelial cell colonization. *Proc Natl Acad Sci* 2007; 104(25): 10637-10642;
11. Picard B, Sevali Garcia J, Gouriou S, *et al.* The link between phylogeny and virulence in *Escherichia coli* extraintestinal infection. *Infect Immun* 1999; 67: 546-553;
12. Escobar-Páramo P, Clermont O, Blanc-Potard AB, *et al.* A specific genetic background is required for acquisition and expression of virulence factors in *Escherichia coli*. *Mol Biol Evol* 2004; 21(6): 1085-1094;
13. Johnson JR, Owens K, Gajewski A, Kuskowski MA. Bacterial characteristics in relation to clinical source of *Escherichia coli* isolates from women with acute cystitis or pyelonephritis and uninfected women. *J Clin Microbiol* 2005; 43(12): 6064-6072;
14. Piatti G, Mannini A, Balistreri M, Schito AM. Virulence factors in urinary *Escherichia coli* strains: phylogenetic background and quinolone and fluoroquinolone resistance. *J Clin Microbiol* 2008; 46(2): 480-487;
15. Grundmann TK, Dijkshoorn L, Gerner-Smidt P, *et al.* Multicenter study using standardized protocols and reagents for evaluation of reproducibility of PCR-based fingerprinting of *Acinetobacter* spp. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 3071-3077;
16. Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E. Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. *Appl Environ Microbiol* 2009; 66(10): 4555-4558;
17. Wickler M, Bush K, Cockerill F, *et al.* Performance Standards for Antimicrobial Testing, Eighteenth Informational Supplement; *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)* 2008; 28: 0273-3099;
18. Brízio A, Vasco S, Gonçalves AR, *et al.* Survey of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in *Escherichia coli* isolates from a Portuguese hospital and characterisation of a novel class 1 integron (In60A) carrying the *bla*<sub>CTX-M-9</sub> gene. *Int J Antimicrob. Agents* 2006; 28: 320-324;
19. Conceição T, Brízio A, Duarte A, *et al.* First description of CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* in Portugal. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49(1): 477-478;
20. Usein CR, Damien M, Tatu-Chitoiu D, *et al.* Prevalence of virulence genes in *Escherichia coli* strains isolated from Romanian adult urinary tract infection cases. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 50: 2573-2575;
21. Coque TM, Baquero F, Canton R. Increasing prevalence of ESBL-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Eurosurveillance* 2008; 13(43);
22. Mendonça N, Leitão J, Manageiro V, Ferreira E. The Antibiotic Surveillance Program in Portugal, Caniça M. Spread of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase CTX-M-producing *Escherichia coli* clinical isolates in community and nosocomial environments in Portugal. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51(6): 1946-1955;
23. Caratolli A, García-Fernández A, Varesi P, *et al.* Molecular epidemiology of *Escherichia coli* producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases isolated in Rome, Italy. *J Clin Microbiol* 2008; 46(1): 103-108;
24. Ruiz J, Simon K, Horcajada JP, *et al.* Differences in virulence factors among clinical isolates of *Escherichia coli* causing cystitis and pyelonephritis in women and prostatitis in men. *J Clin Microbiol* 2002; 40(12): 4445-4449.