

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI* ASSOCIADAS A INFEÇÕES URINÁRIAS ADQUIRIDAS EM COMUNIDADE EM UM HOSPITAL BRASILEIRO

RESUMO

As infecções do trato urinário (ITUs) são uma das doenças mais comuns em todo o mundo e *Escherichia coli* é a bactéria causadora mais comumente associada. O tratamento empírico é desafiador devido à resistência aos antimicrobianos. Os objetivos deste estudo foram identificar os filogrupos e genes de virulência de cepas de *E. coli* associados à ITUs adquiridas em comunidade, em pacientes ambulatoriais atendidos no Hospital Nossa Senhora do Brasil, em Bambuí, Minas Gerais. A confirmação da espécie bacteriana foi realizada por espectrometria de massa de desorção a laser assistida por matriz. A concentração inibitória mínima (MIC) foi determinada usando o método de microdiluição em ágar de acordo com o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Os agentes antimicrobianos testados foram amicacina, ampicilina, cefazolina, cefoxitina, ciprofloxacina, cloranfenicol, colistina, gentamicina, sulfametoxazol/trimetoprima e tetraciclina. Os genes de virulência foram detectados por PCR multiplex e os grupos filogenéticos A, B1, B2, C, D, E e F testados por PCR. Os dados foram analisados estatisticamente pelo teste do qui-quadrado ou teste exato de Fisher e regressão logística univariada. Os resultados foram expressos como valor P e odds ratio (OR) com intervalo de confiança de 95% (IC 95%). No total, 41 cepas de *E. coli* foram isoladas entre dezembro de 2018 a outubro de 2019. A maioria das cepas de *E. coli* foi classificada como pertencentes ao filogrupo B2 (15/41 = 36,59%) e B1 (12/41 = 29,27%) e os genes de virulência mais comuns foram *fimH* (31/41 = 75,61%), *iutA* (21/41 = 51,22%) e *tratT* (16/41 = 39,02%). Entre as cepas de *E. coli*, 59% foram multirresistentes e as cepas resistentes à ampicilina, sulfametoxazo/trimetoprima ou tetraciclina tiveram mais chance de serem multirresistentes, com uma razão de chance de 100,00 [intervalo de confiança (IC) de 95% - 1059,26], 22,50 (IC de 95%: 3,95 - 128,30) e 12,83 (IC de 95%: 2,68 - 61,45), respectivamente. Nossos resultados mostraram que *E. coli* é um importante agente causador de ITU e demonstrou a alta frequência de multirresistência e genes de virulência associados à ITUs.

INTRODUÇÃO:

As infecções do trato urinário (ITUs) são uma das doenças mais comuns em todo o mundo (FLORES-MIRELES *et al.*, 2015; HASHEMIZADEH; KALANTAR-NEYESTANAKI; MANSOURI, 2017). As ITUs são causadas principalmente por *Escherichia coli* uropatogênica (UPEC), mas outros patógenos como *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus* spp. também estão envolvidos (BITENCOURT; PAVANELLI, 2014; CHERVET *et al.*, 2018; RANK *et al.*, 2018; ASADI KARAM; HABIBI; BOUZARI, 2019; BEIRÃO *et al.*, 2020;). As cepas de UPEC têm fatores ou genes de virulência específicos, como fimbrias, cápsulas, flagelos, toxinas, e lipopolissacarídeo, que representam uma vantagem adaptativa para a colonização do trato urinário e desenvolvimento da doença (ASADI KARAM; HABIBI; BOUZARI, 2019). Além disso, estudos com isolados de *E. coli* mostraram que grupos filogenéticos de *E. coli* podem estar associados à virulência, resistência a antibióticos e patogenicidade para o hospedeiro (COURA *et al.*, 2015; KARAMI; WOLD; ADLERBERTH, 2017; ALI *et al.*, 2019), melhorando assim a compreensão sobre a epidemiologia deste patógeno no desenvolvimento de ITUs.

As ITUs são frequentemente tratadas empiricamente pelos médicos e, geralmente, a terapia é selecionada antes dos resultados da cultura e dos testes de sensibilidade (ROCHA; TUON; JOHNSON, 2012; SHAKHATREH *et al.*, 2019). Os patógenos associados à ITUs variam geograficamente, e os dados epidemiológicos relacionados aos agentes associados à doença e o perfil de suscetibilidade dos isolados são necessários para fornecer informações para orientação terapêutica e vigilância da resistência antimicrobiana (MORAES *et al.*, 2014; SHAKHATREH *et al.*, 2019). Vários regimes antimicrobianos podem ser usados para tratar ITUs. Trimetoprima, β -lactâmicos e nitrofurantoína têm sido drogas utilizadas para o tratamento de ITUs não complicadas e as fluoroquinolonas estão entre as drogas seletivas para o tratamento de ITUs complicadas e não complicadas (ASADI KARAM; HABIBI; BOUZARI, 2019; FLORES-MIRELES *et al.*, 2015). As fluoroquinolonas possuem via de administração oral, o que facilita seu uso, além de possuir amplo espectro de ação contra os principais uropatógenos (SILVA *et al.*, 2014).

O manejo das ITUs tornou-se progressivamente difícil devido ao surgimento de resistência antimicrobiana entre os uropatógenos (ROCHA; TUON; JOHNSON, 2012; SHAKHATREH *et al.*, 2019). Altas taxas de

resistência a antibióticos usados para tratar pacientes com ITUs e o surgimento de cepas multirresistentes (MDR), especialmente entre *E. coli*, são uma grande preocupação global devido aos desfechos clínicos ruins, como falha do tratamento, bacteremia, necessidade de terapia intravenosa e hospitalização (BITENCOURT; PAVANELLI, 2014; CAMPOS *et al.*, 2018; GHAZVINI *et al.*, 2019; MALEKZADEGAN *et al.*, 2018; SHAKHATREH *et al.*, 2019; VALADBEIGI *et al.*, 2020; WORKARAM; HABIBI; BOUZARI, 2019. Além disso, a presença de *E. coli* altamente virulenta e MDR em hospitais brasileiros é de extrema preocupação para as instituições de saúde, dadas as consequências para o tratamento do paciente e o resultado da doença (CAMPOS *et al.*, 2018).

Assim, considerando a importância das ITUs, da resistência bacteriana aos antimicrobianos e que essas infecções costumam ser tratadas empiricamente por médicos, este estudo buscou determinar os uropatógenos associados à ITU adquirida na comunidade em pacientes ambulatoriais internados em um Hospital localizado na cidade de Bambuí, Brasil e avaliar a susceptibilidade antimicrobiana das cepas bacterianas isoladas, bem como identificar os filogrupos e genes de virulência das cepas de *E. coli*.

METODOLOGIA:

O isolamento bacteriano foi realizado no período de dezembro de 2018 a outubro de 2019 no Hospital Nossa Senhora do Brasil, em Bambuí, Minas Gerais, Sudeste do Brasil. Este é o único hospital do município, que tem uma população estimada em 23.898 habitantes (IBGE, 2020). O estudo envolveu apenas pacientes internados ambulatorialmente com sintomas de ITU que tiveram urina coletada para análise de cultura bacteriana em meio de cultura Cromoclin Urilab (Paraná, Brasil), de acordo com o protocolo do Hospital. Culturas positivas obtidas durante o período de estudo foram selecionadas e armazenadas para posterior análise no laboratório de Biologia Molecular do IFMG, Campus Bambuí. As culturas positivas foram semeadas em ágar MacConkey e Brain Heart Infusion (BHI) (todos da Oxoid™) e incubadas por 18-24 h a 37°C. As cepas foram então armazenadas a -20 ° C em caldo BHI com 10% de glicerol para análise. Todos os procedimentos foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CAAE 02337018.1.0000.5113).

Após descongelamento das cepas bacterianas, as culturas bacterianas foram semeadas em ágar BHI e as espécies foram confirmadas usando a identificação por espectrometria de massa de desorção a laser assistida por matriz (MALDI-TOF MS Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha). Para a preparação da amostra de MALDI-TOF MS, o protocolo de etanol / ácido fórmico foi aplicado para a extração de proteína bacteriana (KUHNER *et al.*, 2012). A suspensão de proteína foi transferida para uma placa alvo de aço polido MALDI (Bruker Daltonik) e sobreposta com matriz (10 mg de ácido α -ciano-4-hidroxi-cinâmico ml-1 em 50% de acetonitrila / 2,5% de ácido trifluoroacético). Cada amostra foi distribuída em três pontos e medida duas vezes. Para identificação, os espectros capturados foram carregados em MALDI BioTyper™ 3.0 e comparados com a biblioteca do fabricante. Critérios interpretativos padrão de Bruker foram aplicados; pontuações $\geq 2,0$ foram aceitas para atribuição de espécies e pontuações $\geq 1,7$, mas $\leq 2,0$ para identificação de gênero.

A concentração inibitória mínima (MIC) foi determinada usando o método de microdiluição em ágar de acordo com o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE, 2018a, 2018b). Os agentes antimicrobianos testados foram amicacina, ampicilina, cefazolina, cefoxitina, ciprofloxacina, cloranfenicol, colistina, gentamicina, sulfametoxazol/trimetoprim e tetraciclina (todos da Sigma-Aldrich, EUA). As cepas foram classificadas de acordo com seguintes padrões de resistência: multirresistência a vários medicamentos ou MDR foi definido como resistência a três ou mais grupos antimicrobianos; XDR ou extensivamente resistente a drogas foi definido como não suscetibilidade a pelo menos um agente em todos os grupos, exceto dois ou menos grupos de antimicrobianos (ou seja, os isolados bacterianos permanecem suscetível a apenas um ou dois grupos) e pan-resistência ou PDR foi definida como não suscetibilidade a todos os agentes em todos os grupos de antimicrobianos (MAGIORAKOS *et al.*, 2012). Os grupos antimicrobianos foram aminoglicosídeos (amicacina e gentamicina), penicilina (ampicilina), cefem (cefazolina e cefoxitina), quinolona (ciprofloxacina), cloranfenicol, lipopeptídeo, anti-folato (sulfametoxazol e trimetoprim) e tetraciclina (tetraciclina). A determinação de MIC foi realizada em duplicata. Os antimicrobianos foram testados com as cepas de referência: *E. coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 e *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, para garantir que os resultados estivessem dentro dos limites aceitáveis de controle de qualidade para testes de sensibilidade de acordo com CLSI. As cepas foram classificadas como resistentes, intermediárias ou suscetíveis a antimicrobianos de acordo com o manual do CLSI.

Para identificação dos genes de virulência e filogrupos, as cepas de *E. coli* foram semeadas em ágar MacConkey (Oxoid™) e, em seguida, incubadas por 18–24 h a 37°C. Posteriormente, foram submetidas à extração de DNA de acordo com PITCHER *et al.* (1998). As cepas foram testadas para fímbrias (*fimH*, *focG*, *papC*, *papG* e *sfaS*), toxinas (*hlyA*, *cnf-1* e *usp*), aquisição de ferro (*iutA*) e resistência sérica (*traT*)

(JOHNSON; STELL, 2000; SIQUEIRA *et al.*, 2009). Genes de virulência foram detectados por PCR multiplex e foram testadas por PCR para caracterizar os grupos filogenéticos A, B1, B2, C, D, E e F de acordo com CLERMONT *et al.* (2013). As reações de PCR foram realizadas com tampão 1X (Green GoTaq Flexi Buffer, Promega, EUA), MgCl 2 1,5 mM, dNTP 0,2 mM e DNA polimerase 2 U taq (GoTaq, Promega, EUA). Água esterilizada foi usada como controle negativo. O DNA amplificado foi resolvido em gel de agarose a 2% (Kasvi) corado com 1,0 µg / mL de brometo de etídio e fotografado sob luz ultravioleta (Loccus Biotecnologia, Brasil). Os dados foram analisados estatisticamente por meio do Epi Info (teste do qui-quadrado ou teste exato de Fisher) e software estatístico R (regressão logística univariada). O teste do qui-quadrado ou teste exato de Fisher foi aplicado para determinar a associação entre as variáveis categóricas estudadas (antimicrobianos, multirresistência a drogas, genes de virulência, filogrupos, gênero). A regressão logística univariada foi usada para estudar a associação entre a idade (< 50 anos ou > 50 anos) e o perfil de susceptibilidade antimicrobiana (resistente ou sensível) ou genes de virulência de UPEC. Os resultados foram expressos como valor P e odds ratio (OR) com intervalo de confiança de 95% (IC 95%). Em todos os casos, valores P ≤ 0,05 foram considerados estatisticamente significativos.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

A Tabela 1 demonstra os resultados de susceptibilidade antimicrobiana das 41 cepas de *E. coli* isoladas e identificadas no período do estudo. A multirresistência foi detectada em 24/41 cepas (58,54%). A análise do perfil antimicrobiano (resistência ou suscetibilidade) e multirresistência a medicamentos indicou que as cepas que eram resistentes a ampicilina, sulfametoxazol/trimetoprima ou tetraciclina foram mais propensas a serem multirresistente, com uma razão de chances de 100,00 [95% intervalo de confiança (IC): 9,44 - 1059,26], 22,50 (IC 95%: 3,95 - 128,30) e 12,83 (IC 95%: 2,68 - 61,45), respectivamente.

Tabela 1 Distribuição da concentração inibitória mínima (CIM) de acordo com o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) de 41 cepas de *Escherichia coli* isoladas da urina de pacientes ambulatoriais admitidos em um hospital com sintomas de ITU em Minas Gerais, Brasil, 2018-2019. Os intervalos dos antimicrobianos estão contidos na área branca. Os pontos de interrupção de resistência são indicados com linhas pretas verticais.

Antimicrobiano	Nº de isolados com MIC de (µg / mL)													MIC ₅₀ (µg/mL)	MIC ₉₀ (µg/mL)	Resistência % (N=41)	
	0.03	0.06	0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128				256
AMK					7*	6	18	2	4	0	3	1	0	0	2	8	2.44
AMP				1*	7	2	2	5	1	2	1	0	20†		32	128†	51.22
CFZ			0	0	7	6	21	6	2	2	1	3†			2	16	9.76
FOX				0	0	3	23	10	3	2	0	0	0		2	8	0.00
CIP			12*	1	4	1	2	1	2	12	3	3†			4	32	51.22
CHL				0	1	2	4	16	3	1	1	0	13†		4	128†	34.15
CL			40*	0	1	0	0	0	0	0	0	0			0.12*	0.12*	0.00
GEN			16*	12	4	0	2	0	2	0	4	1			0.25	32	12.20
SXT	3*	1	5	4	7	1	0	0	1	19†					1	16	48.78
TET				2*	5	3	2	2	0	1	0	26†			64†	64†	65.85

Antimicrobianos testados: AMK (Amicacina); AMP (Ampicilina); CFZ (Cefazolina); FOX (Cefoxitina); CIP (Ciprofloxacina); CHL (cloranfenicol); CL (Colistin); GEN (gentamicina); SXT (Trimetoprima /Sulfametoxazol [1:19] - os dados representam as concentrações de trimetoprima); TET (Tetraciclina); * (menor ou igual a) † (maior ou igual a).

A idade dos pacientes foi estratificada em <50 anos >50 anos (ALÓS *et al.*, 2005), e nenhuma associação significativa foi encontrada entre idade ou gênero e a susceptibilidade antimicrobiana para os grupos testados. No entanto, a regressão logística univariada indicou que a chance de infecção por uma cepa resistente a cefem aumentou em 8% a cada ano de idade do paciente.

Entre as cepas de *E. coli* analisadas, a maioria das cepas foi classificada como filogrupo B2 (15/41 = 36,59%), seguido por B1 (12/41 = 29,27%), C (4/41 = 9,76%), D (4 / 41 = 9,76%), F (3/41 = 7,32%), E (1/41 = 2,44%) e A (1/41 = 2,44%). Uma cepa não foi classificada pelo método de Clermont. As cepas de filogrupos de *E. coli* identificadas e o número de isolados com multirresistência é mostrado na tabela 2. Não houve associação do filogrupo identificado com o perfil de multirresistência a medicamentos.

Tabela 2 Filogrupos e multirresistência de 41 cepas de *E. coli* isoladas de urina de pacientes ambulatoriais internados em um hospital com sintomas de ITU em Minas Gerais, Brasil, 2018-2019

Filogrupos	Número de cepas	Cepas Multirresistentes
A	1	0
B1	12	6
B2	15	8
C	4	2

D	4	4
E	1	1
F	3	3
Não Classificadas	1	0
Total	41	24

Os genes de virulência identificados foram *fimH* (31/41 = 75,61%), *iutA* (21/41 = 51,22%), *tratT* (16/41 = 39,02%), *papC* (6/41 = 14,63%), *usp* (4/41 = 9,76%), *papG* (2/41 = 4,88%), *sfaS* (2/41 = 4,88%), *focG* (2/41 = 4,88%), *cnf1* (2/41 = 4,88%) e *hlyA* (1/41 = 2,44%). Apenas uma cepa de *E. coli* foi negativa para todos os genes de virulência pesquisados. Não foi encontrada associação entre os genes de virulência ou perfil de virulência e a susceptibilidade antimicrobiana ou multirresistência. Idade e gênero não foram associados à ocorrência de genes de virulência.

As infecções do trato urinário (ITUs) estão entre as doenças infecciosas mais frequentes que afetam os seres humanos e são um problema de saúde pública devido ao surgimento de uropatógenos multirresistentes (ASADI KARAM; HABIBI; BOUZARI, 2019; CAMPOS *et al.*, 2018; MOREIRA DA SILVA *et al.*, 2017). Resistência à tetraciclina, quinolona e penicilina foi detectada em mais de 50% das cepas, enquanto alta suscetibilidade para aminoglicosídeos, cefem, cloranfenicol e colistina foi observado. A resistência a antibióticos usados no tratamento de ITUs, como beta-lactâmicos, cotrimoxazol, ciprofloxacina e tetraciclina, é alta provavelmente devido ao uso excessivo de antibióticos e automedicação (ASADI KARAM; HABIBI; BOUZARI, 2019). A suscetibilidade à colistina neste estudo é importante, uma vez que é uma alternativa para tratar ITUs complicadas associadas a organismos resistentes a múltiplas drogas (LEE; LE, 2018).

As altas taxas de resistência observadas em nosso estudo e em outros destacam o uso excessivo de quinolonas e a necessidade de medicamentos alternativos para o tratamento de ITU (ALI *et al.*, 2019; BEIRÃO *et al.*, 2020; MALEKZADEGAN *et al.*, 2018; VALADBEIGI *et al.*, 2020). Fluoroquinolonas são usadas para tratamento de cistite não complicada e têm taxas gerais de eficácia clínica altas, mas, devido ao aumento da resistência e eventos adversos graves, seu uso deve ser reservado como uma opção de tratamento alternativa quando outros antimicrobianos de ITU não podem ser usados (LEE; LE, 2018).

A resistência à ampicilina e tetraciclina foi documentada (CHAVES *et al.*, 2018; CHERVET *et al.*, 2018; KARAMI; WOLD; ADLERBERTH, 2017; MALEKZADEGAN *et al.*, 2018; RAEISPOUR; RANJBAR, 2018). Devido ao aumento de resistência, a ampicilina não é atualmente recomendada para terapia empírica, exceto quando os dados de cultura mostram suscetibilidade (LEE; LE, 2018). Taxas de resistência semelhantes ao sulfametoxazol e trimetoprim foram detectadas em outros estudos (BITENCOURT; PAVANELLI, 2014; CAMPOS *et al.*, 2018; FREITAS *et al.*, 2016; HOSSAIN *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2014). Sulfametoxazol com trimetoprima é uma opção importante para o tratamento de ITU comunitária, particularmente em pacientes que podem não ser elegíveis para tratamento com agentes de primeira linha (DEMARSH *et al.*, 2020). Portanto, devido à variação na suscetibilidade e para garantir o sucesso do tratamento, recomenda-se testar a suscetibilidade aos antimicrobianos antes do tratamento.

Cinquenta e nove por cento das cepas de *E. coli* foram multirresistentes a medicamentos, 34% foram extensivamente resistentes a medicamentos e sete por cento pan-resistentes. Além disso, a resistência a múltiplas drogas indicou que as cepas que são resistentes à ampicilina, sulfametoxazol/trimetoprima ou tetraciclina são mais propensas a serem multirresistentes, e a regressão logística univariada indicou que a chance de infecção com um isolado resistente a cefem aumenta em 8% a cada ano da idade do paciente.

A alta frequência de cepas de *E. coli* com resistência a múltiplas drogas foi descrita por outros autores no Brasil e em todo o mundo (CAMPOS *et al.*, 2018; MALEKZADEGAN *et al.*, 2018; RAEISPOUR; RANJBAR, 2018; SHAKHATREH *et al.*, 2019). No sudeste de Minas Gerais, Brasil, um estudo mostrou que 63,2% das cepas de *Enterobacteriaceae* foram resistentes a pelo menos três classes de antimicrobianos (CARNEIRO; FERREIRA; GARCIA, 2018). O presente estudo foi realizado em uma cidade próxima à região metropolitana de Belo Horizonte (capital do estado de Minas Gerais) e sua economia depende da produção agropecuária, possuindo apenas um Hospital que atende pacientes das cidades do entorno. Além disso, UPEC é um grupo heterogêneo de *E. coli* patogênica extraintestinal (ExPEC) e estudos sugerem que animais de fazenda podem ser reservatórios de cepas de *E. coli* carregando genes de virulência responsáveis por ITU em humanos (KOT, 2019). Assim, a ocorrência de cepas MDR é motivo de preocupação para a região e evidencia a necessidade de estudos futuros.

As taxas de suscetibilidade antimicrobiana podem variar entre os estudos, e região geográfica, período de tempo, seleção do paciente, método para classificação de suscetibilidade antimicrobiana, pontos de corte para antimicrobianos e outros fatores devem ser considerados ao analisar os resultados (ASADI KARAM; HABIBI; BOUZARI, 2019; ROCHA; TUON; JOHNSON, 2012). As ITUs causadas por bactérias Gram-negativas são a segunda infecção mais comum encontrada na prática clínica, e a resistência aos medicamentos nesses uropatógenos é um problema global (KHOSHNOOD *et al.*, 2017). Portanto, a identificação de padrões de resistência a antibióticos em áreas geográficas específicas é necessária para o

tratamento adequado da infecção do trato urinário (GHAVIDEL *et al.* 2020) e monitoramento global da resistência microbiana (ASADI KARAM; HABIBI; BOUZARI, 2019).

Nossos resultados em relação aos padrões de resistência diferentes de MDR, XDR e PDR devem ser analisados com cautela, uma vez que poucas cepas foram analisadas e poucos agentes antimicrobianos foram testados, mas devem ser considerados marcadores de resistência extensa. De acordo com MAGIORAKOS *et al.* (2012) é importante incentivar o uso dessas definições, a fim de permitir a comparabilidade dos dados e promover uma melhor compreensão das bactérias resistentes aos antimicrobianos. As diferenças nos antimicrobianos testados no presente estudo e nos demais aqui apresentados, e a pouca utilização das definições da literatura, dificultam uma discussão mais aprofundada do assunto, mas destaca a necessidade de estudos como o nosso que contribuam para o uso prudente de antimicrobianos.

A caracterização filogenética tem sido usada como uma ferramenta importante para melhorar o entendimento da população de *E. coli* e a relação das cepas com o hospedeiro e a doença (COURA *et al.*, 2015, 2017). A maioria dos isolados de *E. coli* foram classificados como filogrupo B2, filogrupo mais comum de *E. coli* isolado do trato urinário (CAMPOS *et al.*, 2018; GONÇALVES *et al.*, 2016; KARAMI; WOLD; ADLERBERTH, 2017; MOJAZ-DALFARDI *et al.*, 2020; NAVIDINIA *et al.*, 2014; SHAKHATREH *et al.*, 2019) enquanto o filogrupo B1 é principalmente detectado em microbiota fecal (HASHEMIZADEH; KALANTAR-NEYESTANAKI; MANSOURI, 2017; KARAMI; WOLD; ADLERBERTH, 2017; MOJAZ-DALFARDI *et al.*, 2020). Curiosamente, embora o B2 esteja associado ao aumento da virulência e da resistência antimicrobiana (CAMPOS *et al.*, 2018; HASHEMIZADEH; KALANTAR-NEYESTANAKI; MANSOURI, 2017; SHAKHATREH *et al.*, 2019), nosso estudo não encontrou tal associação.

As cepas de *E. coli* que causam ITUs possuem características de virulência, como a produção de adesinas ou fímbrias que permitem a colonização do trato urinário, sideróforos para o sequestro de ferro (a principal fonte de crescimento bacteriano) e toxinas que causam danos aos tecidos (LOUBET *et al.*, 2020). A adesão bacteriana ao urotélio é uma etapa essencial na patogênese das ITUs, pois permite que as bactérias resistam à eliminação mecânica pelo fluxo da urina e da bexiga, resultando na persistência de *E. coli* e na evolução clínica. Apenas uma cepa de *E. coli* foi negativa para os genes de virulência estudados. *fimH* e *iutA* foram os genes de virulência mais frequentes, como também observado anteriormente (HAGHIGHATPANAH; MOJTAHEDI, 2019; HASHEMIZADEH; KALANTAR-NEYESTANAKI; MANSOURI, 2017; SHAKHATREH *et al.*, 2019).

CONCLUSÕES:

O tratamento de infecções do trato urinário causadas por patógenos multirresistentes é um desafio para os médicos. O nosso estudo tem algumas limitações, pois foi realizado em um hospital e não avaliou a história clínica dos pacientes, mas o resultado mostra a alta frequência de *E. coli* em com genes de virulência associados à uropatogênese e resistentes a antimicrobianos. A diversidade genética das cepas multirresistentes não foi avaliada, mas as características do estudo população indica a possibilidade de disseminação dessas cepas e potenciais clones patogênicos por UPEC entre UTIs adquiridas pela comunidade. Além disso, a caracterização do perfil de susceptibilidade antimicrobiana, filogrupos e os fatores de virulência de *E. coli* trazem informações importantes para entender o envolvimento dessas bactérias no desenvolvimento de ITUs.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- ALI, I. *et al.* Phylogeny, sequence-typing and virulence profile of uropathogenic Escherichia coli (UPEC) strains from Pakistan. **BMC Infectious Diseases**, v. 19, n. 1, p. 1–9, 2019.
- ALÓS, J. I. *et al.* Antibiotic resistance of Escherichia coli from community-acquired urinary tract infections in relation to demographic and clinical data. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 11, n. 3, p. 199–203, 2005.
- ASADI KARAM, M. R.; HABIBI, M.; BOUZARI, S. Urinary tract infection: Pathogenicity, antibiotic resistance and development of effective vaccines against Uropathogenic Escherichia coli. **Molecular Immunology**, v. 108, n. 69, p. 56–67, 2019.
- BEIRÃO, E. M. *et al.* Activity of ceftolozane-tazobactam and comparators against gram-negative bacilli: Results from the study for monitoring antimicrobial resistance trends (SMART – Brazil; 2016–2017). **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, n. x x, 2020.
- CAMPOS, A. C. C. *et al.* Comprehensive Molecular Characterization of Escherichia coli Isolates from Urine Samples of Hospitalized Patients in Rio de Janeiro, Brazil. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. FEB, p. 1–12, 2018.

- CARNEIRO, A. A.; FERREIRA, A. P.; GARCIA, P. G. Analysis of the antimicrobial susceptibility profile of bacteria isolated from urine samples at a hospital in the southeast of Minas Gerais. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 50, n. 2, p. 135–138, 2018.
- CHAVES, T. A. *et al.* Microorganismos causadores de infecções do trato urinário em um hospital universitário do nordeste do Brasil. **Journal Health NPEPS**, v. 3, n. 1, p. 51–66, 2018.
- CHERVET, D. *et al.* Antimicrobial resistance in community-acquired urinary tract infections in Paris in 2015. **Medicine et Maladies Infectieuses**, v. 48, n. 3, p. 188–192, 2018.
- CLERMONT, O. *et al.* The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylo-groups. **Environmental microbiology reports**, v. 5, n. 1, p. 58–65, fev. 2013.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria. In: **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)**. 11th. ed. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018a. p. CLSI standard M07.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). In: **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**. 28th. ed. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018b. p. supplement M100.
- COURA, F. M. *et al.* Phylogenetic Group Determination of *Escherichia coli* Isolated from Animals Samples. **The scientific world**, v. 2015, p. 1–4, 2015.
- COURA, F. M. *et al.* Characterization of virulence factors and phylogenetic group determination of *Escherichia coli* isolated from diarrheic and non-diarrheic calves from Brazil. **Folia Microbiologica**, v. 62, n. 2, p. 139–144, 2017.
- DEMARSH, M. *et al.* Prediction of trimethoprim/sulfamethoxazole resistance in community-onset urinary tract infections. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 21, p. 218–222, 2020.
- FERREIRA, V. M. *et al.* Infecções comunitárias do trato urinário em Divinópolis, MG: avaliação do perfil de resistência bacteriana e do manejo clínico. **Revista Brasileira de Medicina de Família e Comunidade**, v. 12, n. 39, p. 1–13, 2017.
- FLORES-MIRELES, A. L. *et al.* Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. **Nature Reviews Microbiology**, v. 13, n. March, p. 269–284, 2015.
- FREITAS, B. V. L. DE *et al.* Prevalence and antimicrobial susceptibility profile of uropathogens in patients treated at the Instituto Lauro de Souza Lima-Bauru/SP. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 48, n. 4, p. 375–380, 2016.
- GHAVIDEL, M. *et al.* Virulence factors analysis and antibiotic resistance of uropathogenic *Escherichia coli* isolated from patients in northeast of Iran. **Iranian Journal of Microbiology**, v. 12, n. 3, p. 223–230, 2020.
- GHAZVINI, H. *et al.* Virulence factors and antimicrobial resistance in uropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from cystitis and pyelonephritis. **Turkish Journal of Medical Sciences**, v. 49, n. 1, p. 361–367, 2019.
- GONÇALVES, L. F. *et al.* Multidrug resistance dissemination by extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* causing community-acquired urinary tract infection in the Central-Western Region, Brazil. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 6, n. 2010, p. 1–4, 2016.
- HAGHIGHATPANAH, M.; MOJTAHEDI, A. Characterization of antibiotic resistance and virulence factors of *Escherichia coli* strains isolated from Iranian inpatients with urinary tract infections. **Infection and Drug Resistance**, v. 12, p. 2747–2754, 2019.
- HASHEMIZADEH, Z.; KALANTAR-NEYESTANAKI, D.; MANSOURI, S. Association between virulence profile, biofilm formation and phylogenetic groups of *Escherichia coli* causing urinary tract infection and the commensal gut microbiota: A comparative analysis. **Microbial Pathogenesis**, v. 110, p. 540–545, 2017.
- HOSSAIN, A. *et al.* Age and gender-specific antibiotic resistance patterns among Bangladeshi patients with urinary tract infection caused by *Escherichia coli*. **Heliyon**, v. 6, n. 6, p. e04161, 2020.
- IBGE. **IBGE cidades**. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mg/bambui/panorama>>. Acesso em: 9 out. 2020.
- JOHNSON, J. R.; STELL, A. L. Extended virulence genotypes of *Escherichia coli* strains from patients with urosepsis in relation to phylogeny and host compromise. **Journal of Infectious Diseases**, v. 181, n. 1, p. 261–272, 2000.
- KARAMI, N.; WOLD, A. E.; ADLERBERTH, I. Antibiotic resistance is linked to carriage of *papC* and *iutA* virulence genes and phylogenetic group D background in commensal and uropathogenic *Escherichia coli* from infants and young children. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 36, n. 4, p. 721–729, 2017.
- KHOSHNOOD, S. *et al.* Drug-resistant gram-negative uropathogens: A review. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 94, p. 982–994, 2017.
- KOT, B. Antibiotic Resistance among Uropathogenic *Escherichia coli*. **Polish Journal of Microbiology**, v. 68, n. 4, p. 403–415, 2019.
- KUHNERT, P. *et al.* Identification of animal Pasteurellaceae by MALDI-TOF mass spectrometry. **Journal of Microbiological Methods**, v. 89, n. 1, p. 1–7, 2012.

- LEE, H.; LE, J. PSAP 2018 BOOK 1 Urinary Tract Infections. **PSAP 2018 Book 1- Infectious Diseases**, n. Sobel 2014, p. 7–28, 2018.
- LOUBET, P. *et al.* Alternative Therapeutic Options to Antibiotics for the Treatment of Urinary Tract Infections. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, n. July, p. 1–18, 2020.
- MAGIORAKOS, A. *et al.* Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 18, n. 3, p. 268–281, 2012.
- MALEKZADEGAN, Y. *et al.* Distribution of virulence genes and their association with antimicrobial resistance among uropathogenic *Escherichia coli* isolates from Iranian patients 11 Medical and Health Sciences 1108 Medical Microbiology. **BMC Infectious Diseases**, v. 18, n. 1, p. 1–9, 2018.
- MOJAZ-DALFARDI, N. *et al.* Comparison of virulence genes and phylogenetic groups of *Escherichia coli* isolates from urinary tract infections and normal fecal flora. **Gene Reports**, v. 20, p. 100709, 2020.
- MORAES, D. *et al.* Prevalence of uropathogens and antimicrobial susceptibility profile in outpatient from Jataí-GO. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 50, n. 3, p. 200–204, 2014.
- MOREIRA DA SILVA, R. C. R. *et al.* Ciprofloxacin resistance in uropathogenic *Escherichia coli* isolates causing community-acquired urinary infections in Brasília, Brazil. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 9, p. 61–67, 2017.
- NAVIDINIA, M. *et al.* Phylogenetic grouping and pathotypic comparison of urine and fecal *Escherichia coli* isolates from children with urinary tract infection. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 45, n. 2, p. 509–514, 2014.
- PITCHER, D. .; SAUNDERS, N. A.; OWEN, R. J. Rapid extraction of bacterial genomic DNA with guanidium thiocyanate. **Letters in Applied Microbiology Appl. Microbiol.**, v. 8, p. 151–156, 1989.
- RAEISPOUR, M.; RANJBAR, R. Antibiotic resistance, virulence factors and genotyping of Uropathogenic *Escherichia coli* strains. **Antimicrobial Resistance and Infection Control**, v. 7, n. 118, p. 1–9, 2018.
- RANK, E. L. *et al.* Antimicrobial susceptibility trends observed in urinary pathogens obtained from New York state. **Open Forum Infectious Diseases**, v. 5, n. 11, p. 1–6, 2018.
- ROCHA, J. L.; TUON, F. F.; JOHNSON, J. R. Sex, drugs, bugs, and age: Rational selection of empirical therapy for outpatient urinary tract infection in an era of extensive antimicrobial resistance. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 16, n. 2, p. 115–121, 2012.
- SHAKHATREH, M. A. K. *et al.* Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) in Jordan: Prevalence of urovirulence genes and antibiotic resistance. **Journal of King Saud University - Science**, v. 31, n. 4, p. 648–652, 2019.
- SILVA, R. O. *et al.* Perfil de resistência de enterobactérias em uroculturas de pacientes ambulatoriais na cidade de Aracaju / SE. **Scientia Plena**, v. 10, n. 11, p. 1–9, 2014.
- SIQUEIRA, A. K. *et al.* Virulence factors in *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infection and pyometra cases and from feces of healthy dogs. **Research in Veterinary Science**, v. 86, n. 2, p. 206–210, 2009.
- VALADBEIGI, H. *et al.* Molecular characteristics, antimicrobial resistance profiles, and antibiotic resistance determinants in uropathogenic fluoroquinolone resistant-*Escherichia coli* isolates. **Gene Reports**, v. 18, n. November 2019, p. 100584, 2020.
- WORKARAM, M. R. A.; HABIBI, M.; BOUZARI, S. Urinary tract infection: Pathogenicity, antibiotic resistance and development of effective vaccines against Uropathogenic *Escherichia coli*. **Molecular Immunology**, v. 108, n. August 2018, p. 56–67, 2019.