

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ**  
**NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS TROPICAIS**

Cássia de Barros Lopes

**INFECÇÃO DO TRATO URINÁRIO EM CRIANÇAS DE UM  
HOSPITAL PÚBLICO DO PARÁ-BRASIL: PERFIL CLÍNICO-  
EPIDEMIOLÓGICO E GENOTIPAGEM DOS UROPATÓGENOS.**

Belém  
2009

**Cássia de Barros Lopes**

**INFECÇÃO DO TRATO URINÁRIO EM CRIANÇAS DE UM  
HOSPITAL PÚBLICO DO PARÁ-BRASIL: PERFIL CLÍNICO-  
EPIDEMIOLÓGICO E GENOTIPAGEM DOS UROPATÓGENOS.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Doenças Tropicais do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará como requisito para obtenção do grau de Mestre em Doenças Tropicais com área de concentração em Clínica das Doenças Tropicais.

Orientadora: Dra. Edna Aoba Yassui Ishikawa.

Co-orientadora: Dra. Irna Carla do Rosário Souza Carneiro.

Belém  
2009

Cássia de Barros Lopes

INFECCÃO DO TRATO URINÁRIO EM CRIANÇAS DE UM  
HOSPITAL PÚBLICO DO PARÁ-BRASIL: PERFIL CLÍNICO-  
EPIDEMIOLÓGICO E GENOTIPAGEM DOS UROPATÓGENOS.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Doenças Tropicais do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará como requisito para obtenção do grau de Mestre em Doenças Tropicais com área de concentração em Clínica das Doenças Tropicais.

Orientadora: Dra. Edna Aoba Yassui Ishikawa.

Co-orientadora: Dra. Irna Carla do Rosário Souza Carneiro.

Data de aprovação:

Banca Examinadora:

\_\_\_\_\_ – Orientadora

Edna Aoba Yassui Ishikawa  
Professora Doutora.  
Núcleo de Medicina Tropical-UFPA

\_\_\_\_\_

Cléa Nazaré Carneiro Bichara  
Professora Doutora  
Universidade do Estado do Pará- UEPA

\_\_\_\_\_

Luisa Carício Martins  
Professora Doutora  
Núcleo de Medicina Tropical-UFPA

\_\_\_\_\_

Eliete da Cunha Araújo  
Professora Doutora  
Instituto Ciências da Saúde- UFPA

Ao meu pai, Miguel Lopes, que dedicou toda a sua vida à nossa educação, que acreditou em todas as minhas aprovações, e realizou tudo sem medir esforços!

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a DEUS por ter retirado do meu caminho todos os obstáculos para eu concluir esta etapa e por substituí-los por pessoas boas, solidárias e sorridentes.

À bioquímica, Andréa Moura, do laboratório da FSCMPA, pela sua enorme boa vontade.

Aos funcionários do serviço do arquivo médico da FSCMPA que sempre me acolheram carinhosamente, em especial a Luiza Miranda que não mediu esforços para disponibilizar os 500 prontuários revisados.

À Dra. Graça Carvalho pela ajuda no laboratório do CESUPA.

À Vilma Bastos pelo enorme auxílio na biblioteca da UFPA.

À secretária da pós-graduação, Socorro Cardoso, pelas palavras amigas e de incentivo sempre que o desânimo me abatia.

À Dra. Edna Ishikawa por muitas coisas, primeiro por ter me adotado como orientanda, no meio do caminho, segundo por ter tido paciência, compreensão e respeito durante todo o desenrolar do mestrado.

À minha sogra, Márcia Lopes, por ter me ajudado muito nesta caminhada.

Ao meu querido marido, Wilson Lopes, por ter suportado ficar ao meu lado diante de toda a minha estressante rotina e por ter sido a minha base em todo esse caminho.

Aos meus irmãos, Miguel e Camile Lopes por estarem ao meu lado sempre que preciso e por serem meus melhores amigos.

À minha MÃE, Jê, por ser a minha maior incentivadora, meu exemplo de luta, força, determinação, coragem e por ter me ensinado tanta coisa boa.

## RESUMO

A Infecção do Trato Urinário (ITU) é uma das doenças mais comuns na infância e em 80 a 90% dos casos é causada por bactérias da família *Enterobacteriaceae*, especialmente *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*, as quais no mundo inteiro têm emergido como produtoras de ESBL, um dos principais mecanismos de resistência bacteriana a cefalosporinas de espectro-estendido e monobactams. A prevalência da ITU em crianças, bem como as variáveis, sexo, idade, febre, bactéria mais freqüente, presença de refluxo vesico-ureteral (RVU), presença de cicatrizes renais foram avaliadas no período de janeiro de 2006 a março de 2009, em hospital público de Belém, região norte do Brasil e no período de abril a agosto de 2009, isolados de cepas de *E. coli* e *K. pneumoniae* foram obtidos de urina de crianças menores de 16 anos e avaliados fenotipicamente através do método automatizado de caracterização de ESBL, Vitek2. A PCR foi utilizada para determinar se os genes *bla*<sup>TEM</sup>, *bla*<sup>SHV</sup> e *bla*<sup>CTX-M1</sup> estavam presentes em cada organismo. Foram confirmados 199 casos de ITU no período estudado, 54,2% eram do sexo feminino, 46,2% eram menores de 02 anos de idade, febre ocorreu em 37,3% dos casos, RVU foi identificado em 38,6% das crianças com ITU e cicatriz renal em 38%, a bactéria mais freqüente foi a *E.coli* (60%). Foram isoladas 43 amostras (*E.coli* e *K.pneumoniae*, 74,4% e 25,6%, respectivamente), 95% foi resistente a ampicilina e sulfametoxazol-trimetoprim; 23,2% apresentaram fenótipo ESBL. O gene *bla*<sup>CTX-M1</sup> foi o mais prevalente, encontrado em 19 cepas, seguido do gene *bla*<sup>TEM</sup> (18 cepas) e *bla*<sup>SHV</sup> (8 cepas). Esse estudo mostrou que bactérias com perfil de resistência ESBL circulam no ambiente hospitalar em Belém e que os genes *bla*<sup>CTX-M1</sup>, *bla*<sup>TEM</sup> e *bla*<sup>SHV</sup> estão presentes em cepas de *E.coli* e *K.pneumoniae* causadoras de ITU em crianças na região norte do Brasil.

**Palavras chaves:** Infecção do Trato Urinário, criança, ESBL, TEM, CTX-M, Brasil.

## ABSTRACT

Urinary Tract Infection (UTI) is one of the most common diseases of childhood and in 80 to 90% of the cases are caused by bacteria of Enterobacteriaceae family, especially *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*, which have emerged in the worldwide as ESBL producer, one of the main mechanisms of bacterial resistance to extended-spectrum cephalosporins and monobactams. UTI prevalence in children, as well as another variable as gender, age, fever, most common bacteria, presence of vesicoureteral reflux (VUR) and of renal scars; were evaluated between January 2006 and March 2009, in a public hospital in Belém, northern Brazil. And in the period of April to August of 2009 isolates of *E.coli* and *K.pneumoniae* were obtained from the urine samples of children and evaluated phenotypically using the method automated of characterization of ESBL, Vitek2 system. PCR was used to determine whether the genes <sup>bla</sup>TEM, <sup>bla</sup>SHV and <sup>bla</sup>CTX-M1 were present in each organism. There were 199 confirmed cases of UTI during the study period, 54.2% were female, 46.2% were under 02 years old, fever occurred in 37.3% of cases, VUR was identified in 38.6% of children with UTI and renal scarring in 38%, the most common bacteria was *E.coli* (60%). We isolated 43 samples (*E.coli* and *K.pneumoniae*, 74.4% and 25.6%, respectively), 95% were resistant to ampicillin and trimethoprim-sulfamethoxazole, 23.2% had ESBL phenotype. The <sup>bla</sup>CTX-M1 was the most prevalent gene, found in 19 strains, followed <sup>bla</sup>TEM (18 strains) and <sup>bla</sup>SHV (8 strains) genes. This study showed that bacteria with resistance profile of ESBL circulate in the hospital environment in Belém and the genes <sup>bla</sup>CTX-M1, <sup>bla</sup>TEM and <sup>bla</sup>SHV are present in *E. coli* and *K. pneumoniae* causing UTI in children in northern Brazil.

**Key words:** Urinary Tract Infection, child, ESBL, TEM, CTX-M, Brazil.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Distribuição por sexo das crianças com ITU .....	56
Figura 2- Distribuição por faixa etária das crianças com ITU .....	57
Figura 3- Sintomas mais freqüentes em crianças com ITU na FSCMPA .....	57
Figura 4- Frequência do uso de quimioprofilaxia em crianças com ITU na FSCMPA .....	61
Figura 5- Distribuição das cepas de acordo com a origem da ITU em crianças na FSCMPA (abril a agosto de 2009) .....	64
Figura 6- PCR com primer que amplifica o gene $bla_{TEM}$ .....	64
Figura 7- PCR com primer que amplifica o gene $bla_{CTX-M1}$ .....	65
Figura 8- PCR com primer que amplifica o gene $bla_{SHV}$ .....	65
Figura 9- Distribuição das cepas obtidas de crianças com ITU, segundo o fenótipo ESBL. ....	69
Figura 10- Distribuição das cepas ESBL, segundo as espécies bacterianas	70

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Condições de temperatura e tempo utilizados na PCR para os primers dos genes .....	54
Tabela 2- Primers usados para amplificar genes que codificam ESBL .....	55
Tabela 3- Número de piócitos nos exames de sedimento urinário de crianças com ITU na FSCMPA .....	58
Tabela 4- Perfil dos exames de imagem realizados por crianças com ITU na FSCMPA. ....	58
Tabela 5- Anormalidades encontradas nos exames de imagem de crianças com ITU na FSCMPA .....	59
Tabela 6- Correlação do RVU com cicatrizes renais, em crianças com ITU, na FSCMPA .....	60
Tabela 7- Correlação das anormalidades na USG e cicatrizes renais, em crianças com ITU, na FSCMPA.....	60
Tabela 8- Correlação do uso de quimioprofilaxia com alterações da USG .....	61
Tabela 9- Correlação do uso de quimioprofilaxia com alterações da UCM.....	62
Tabela 10- Prevalência de bactérias causadoras de ITU em crianças, na FSCMPA, de janeiro de 2006 a agosto de 2009 .....	63
Tabela 11- Caracterização genotípica das amostras de <i>E.coli</i> e <i>K.pneumoniae</i> obtidas de crianças com ITU, na FSCMPA .....	66
Tabela 12- Perfil de resistência a antimicrobianos de cepas de <i>E.coli</i> e <i>K.pneumoniae</i> obtidas de crianças com ITU na FSCMPA, no período de abril a agosto de 2009.....	69

Tabela 13- Distribuição dos genes <sup>bla</sup>CTX-M-1, <sup>bla</sup>TEM e <sup>bla</sup>SHV nas cepas ESBL obtidas de crianças com ITU, na FSCMPA. .... 70

## LISTA DE ABREVIATURAS

**AAP-** Academia americana de pediatria

**ITU-** Infecção do trato urinário

**ESBL-** *Extended spectrum  $\beta$ -lactamases*

**RVU-** Refluxo vesicoureteral

**SMZ/TMP-** Sulfametoxazol-trimetoprim

**UCM-** Uretrocistografia miccional

**DMSA-** Cintilografia renal com DMSA

**USG-** Ultrasonografia

**VUP-** Válvula de uretra posterior

**EJUP-** Estenose de junção ureteropélvica

*E.coli-* *Escherichia coli*

**FSCMPA-** Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará

**SIDA-** Síndrome da imunodeficiência adquirida

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 JUSTIFICATIVA .....	17
3 OBJETIVOS. ....	18
3.1 <u>OBJETIVO GERAL</u> .....	18
3.2 <u>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</u> .....	18
4 REVISÃO DA LITERATURA.....	19
5 MATERIAL E MÉTODOS .....	45
5.1 <u>DESENHO DO ESTUDO</u> .....	45
5.2 <u>LOCAL DO ESTUDO</u> .....	46
5.3 <u>POPULAÇÃO DO ESTUDO</u> .....	47
5.4 <u>SELEÇÃO DA AMOSTRA</u> .....	47
5.5 <u>CRITÉRIOS DE INCLUSÃO</u> .....	48
5.6 <u>CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO</u> .....	49
5.7 <u>VARIÁVEIS ESTUDADAS</u> .....	49
5.8 <u>DEFINIÇÕES</u> .....	50
5.9 <u>MÉTODOS LABORATORIAIS</u> .....	51
5.9.1 <u>Urinocultura</u> .....	51
5.9.2 <u>Caracterização molecular das cepas bacterianas</u> .....	53
5.9.3 <u>Deteccção dos genes <i>bla</i><sup>CTXM</sup>, <i>bla</i><sup>TEM</sup> e <i>bla</i><sup>SHV</sup></u> .....	53
5.10 <u>ANÁLISE ESTATÍSTICA</u> .....	55
6 RESULTADOS .....	56
7 DISCUSSÃO.....	72
8 CONCLUSÃO.....	84
REFERÊNCIAS.....	86
ANEXOS .....	95

## 1 INTRODUÇÃO

A infecção do trato urinário (ITU) é uma das doenças mais comuns na infância e se caracteriza, fundamentalmente, pela multiplicação de microorganismos patogênicos em qualquer segmento do aparelho urinário (ZORC et al., 2005; BRADER et al, 2008; MARDENI et al, 2009).

A ITU afeta meninas e meninos jovens e embora a maioria destas crianças evolua com bom prognóstico, há um risco de evoluir com sérias complicações, especialmente os pacientes com anormalidades anatômicas do trato urinário, ITU recorrente, neonatos e as que recebem tratamento tardio e inapropriado (GBAD EGESIN et al, 2006).

A epidemiologia da ITU na infância varia com a idade, sexo e outros fatores. Tem alta incidência nos primeiros anos de vida; é estimado que 8,4% de meninas e 1,7% de meninos terão até os 07 anos de idade, pelo menos um episódio de ITU. Acomete mais crianças do sexo feminino, no entanto, em neonatos e lactentes jovens, até o sexto mês de vida, o sexo masculino é o mais acometido (KOCH, 2003; LOPEZ, 2007; CHEVALIER et al, 2008).

A morbidade é relevante da ITU pelos danos irreversíveis que pode causar ao parênquima renal, podendo a criança evoluir com cicatrizes renais permanentes, hipertensão

arterial e insuficiência renal crônica terminal (MARCONDES et al, 2003; RIYUZO, 2007).

Vários fatores podem predispor o aparecimento da ITU, como não-circuncisão, litíase renal, refluxo vésico-ureteral (RVU), bexiga neurogênica e mutações em genes que expressam fatores de defesa do parênquima renal. O RVU

é a anomalia urológica mais comum na infância com prevalência de 1-2% e com forte associação com ITU recorrente (RIYUZO, 2007; ACAR et al, 2008; SHAIKH et al, 2008).

Em lactentes jovens e neonatos, a ITU apresenta-se como um quadro clínico inespecífico, dificultando o diagnóstico e tratamento precoces, com aumento do risco de evolução para bacteremia e sepse. Já nas crianças acima de 02 anos e adolescentes predominam os sinais e sintomas relacionados ao trato urinário, como polaciúria, disúria, gotejamento urinário e urgência miccional (SHAIKH et al, 2008).

O padrão-ouro no diagnóstico de ITU é a urocultura com contagem de colônias. A maioria dos episódios de ITU é causada por um grande grupo de bacilos Gram-negativos, as enterobactérias: *E. coli*, *Klebsiella* sp., *Enterobacter* sp., *Citrobacter* sp., *Proteus* sp., *Serratia* sp. e outros menos freqüentes. A *E.coli* é o microorganismo mais freqüentemente identificado, seguida da *Klebsiella* sp., *Proteus* sp. e *P. aeruginosa* (LOPEZ, 2007).

Diversos estudos epidemiológicos têm demonstrado o potencial uropatogênico das enterobactérias e além destes fatores a resistência a antimicrobianos tem sido bastante relevante, cuja evolução vem sendo gradativamente observada, principalmente pela presença de cepas com alterações gênicas

que irão produzir enzimas com o poder de hidrolisar antibióticos de espectro estendido, como as cefalosporinas de terceira geração e o aztreonam. As bactérias que apresentam esse fenótipo são chamadas de ESBL (extended spectrum  $\beta$ -lactamases –  $\beta$ -lactamases de espectro estendido) (ESPARIS et al, 2006; ARISOY et al, 2008; GUIDONI et al, 2008; QIN, 2008).

No mundo inteiro, há relatos de cepas da família Enterobacteriaceae produtoras de ESBL, levando a emergência de microorganismos panresistentes. Várias enzimas ESBL já foram descritas, como a TEM, SHV, CTX-M, OXA, GES. Essas enzimas são identificadas fenotipicamente por testes de susceptibilidade a antimicrobianos e genotipicamente, através de amplificação gênica pela técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) (HARADA, 2008).

A identificação dessas cepas possibilita traçar um perfil epidemiológico do cenário clínico em que o paciente está sendo atendido para que a antibioticoterapia seja instituída de maneira correta e adequada, pois a emergência da resistência se tornou um grande problema de saúde não somente na ITU complicada, mas também na adquirida na comunidade. Guidoni et al.(2008) estudando crianças com ITU observaram elevadas taxas de resistência de cepas de E.coli a antibióticos usados frequentemente em ITU comunitária na infância, como ampicilina e sulfametoxazol-trimetoprim (SMZ/TMP), cuja taxa de resistência foi de 55% e 51%, respectivamente.

A identificação fenotípica e a identificação de genes que são responsáveis pela produção de enzimas que induzem resistência, como os genes <sup>bla</sup>CTX-M1, <sup>bla</sup>TEM e <sup>bla</sup>SHV, permitem que a equipe de saúde saiba que cepas com grau de resistência ainda maior podem surgir a partir de mutações nos genes que já estão presentes em determinada região e assim adotem medidas preventivas para tal evento (MINARINI, 2007).

Todos os pacientes após confirmação de ITU devem ser submetidos ao estudo morfofuncional do trato urinário para diagnosticar anomalias que possam predispor a recorrência da ITU e suas complicações. Ultra-sonografia das vias urinárias (USG), uretrocistografia miccional (UCM) e cintilografia renal com ácido dimercaptossuccínico (DMSA) são os exames de imagem mais utilizados para

avaliar a estrutura renal, detectar RVU e identificar cicatrizes renais, respectivamente (TONET, 2006; BIASSONI, 2007).

A antibioticoterapia para ITU é habitualmente empírica e deve ser baseada no conhecimento dos patógenos predominantes e respectiva susceptibilidade na área da prática clínica. Os aminoglicosídeos e as cefalosporinas são as drogas mais

utilizadas no tratamento da ITU (KOCH, 2003; MARCONDES et al, 2003; SANGRADOR, 2007d).

O enfoque no cuidado da criança com ITU tem sido não somente no diagnóstico e tratamento precoces do episódio infeccioso agudo como também na minimização do dano renal crônico e suas conseqüências clínicas. E para que o tratamento seja instituído adequadamente, hoje, com microorganismos multiresistentes, especialmente enterobactérias, distribuídos no mundo inteiro é de suma importância que cada local, região conheça o seu perfil de cepas circulantes, orientando assim tanto o tratamento empírico como o tratamento baseado em culturas.

## 2 JUSTIFICATIVA

A ITU em crianças é causada em até 90% dos casos por enterobactérias, especialmente, E.coli e K.pneumoniae. Em vários países há descrição de cepas dessas bactérias com fenótipo de resistência a vários antimicrobianos por alterações nos genes que codificam enzimas que são capazes de levar a resistência a antibióticos de amplo espectro. Pelo grande impacto que estas bactérias podem causar na infância, tanto no cenário hospitalar quanto no cenário comunitário, é bastante relevante que seja conhecido o perfil das cepas causadoras de doença para que o tratamento seja realizado de acordo com este perfil.

O tratamento para ITU em crianças é usualmente iniciado antes do organismo responsável e do antibiograma serem identificados, por isto conhecer a prevalência dos microorganismos causadores e seu padrão de sensibilidade é mandatório para um tratamento efetivo. Além disto, o conhecimento de outras características da ITU, como fatores de risco, alterações mais freqüentes encontradas nos exames de imagem do trato urinário, a virulência dos microorganismos sedimentam os conhecimentos médicos, propiciando condutas adequadas frente a casos de ITU na infância, prevenindo os sérios danos que podem ocorrer no parênquima renal.

Assim o conhecimento do perfil clínico-epidemiológico desta doença na amostra estudada fornecerá subsídios para que os profissionais de saúde estejam mais alerta para o diagnóstico precoce e manejo clínico adequado, tanto curativo como preventivo da ITU e o conhecimento da presença de genes que determinam a produção de enzimas capazes de induzir amplo grau de resistência aos antibióticos propiciará traçar o perfil de cepas bacterianas causadoras de ITU circulantes na população atendida na Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará (FSCMPA).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

- Conhecer o perfil clínico-epidemiológico da ITU em crianças na FSCMPA e o perfil molecular dos microorganismos causadores de ITU nesta população.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Conhecer a prevalência da ITU em crianças na FSCMPA.
- Conhecer a prevalência de RVU nas crianças portadoras de ITU.
- Avaliar fatores de risco para ITU.
- Conhecer a prevalência da infecção do trato urinário recorrente.
- Identificar as alterações cintilográficas em crianças com infecção do trato urinário.
- Identificar os microorganismos causadores de ITU na infância na FSCMPA.
- Detectar a presença dos genes  $bla_{TEM}$ ,  $bla_{SHV}$  e  $bla_{CTX-M1}$  nas cepas das bactérias mais prevalentes causadoras de ITU na infância.

#### 4 REVISÃO DA LITERATURA

A ITU é definida como o conjunto de alterações patológicas conseqüentes à multiplicação de microorganismos patogênicos nas vias urinárias (MARCONDES et al, 2003). Pode ser definida, também pela presença de germes no trato urinário, o qual é usualmente estéril (ZORC et al, 2005; HODSON, 2007).

A ITU compreende um espectro diverso de condições clínicas e patológicas envolvendo os vários segmentos do trato urinário. Varia desde bacteriúria assintomática, cistite, pielonefrite aguda, nefropatia do refluxo até abscessos perirrenais e ITU recorrente (LOPEZ, 2007).

Entende-se como bacteriúria assintomática, a presença de bacteriúria significativa, sem nenhuma sintomatologia atribuível às vias urinárias; a cistite é definida como infecção limitada à bexiga; na pielonefrite aguda, há infecção do parênquima renal; na nefropatia do refluxo, já existem as cicatrizes renais, danos do parênquima reversíveis ou não, dependendo do tempo de evolução; ITU recorrente é termo dado ao segundo episódio de infecção urinária, não importando se devido à recidiva ou a reinfecção (ZORC et al, 2005; TOPOROVSKI et al, 2006).

Constitui uma das infecções mais comuns em pediatria, tem sido descrita como uma das doenças bacterianas de maior risco na infância, especialmente para lactentes e, em especial, neonatos, por apresentarem maior suscetibilidade do parênquima à formação de cicatrizes renais. Com o advento de antibióticos e modernos meios diagnósticos, a mortalidade por essa doença atualmente se aproxima de zero, porém a morbidade permanece importante, com risco de evolução para insuficiência renal crônica (IRC) e hipertensão arterial (COHEN, 2005; ZORC et

al, 2005; VAILLANCOURT, 2007; BALAT, 2008; CHEVALIER et al, 2008; GUIDONI et al, 2008; TSENG et al, 2008; MONTINI, 2009).

A ITU é responsável por 0,7% das consultas ambulatoriais pediátricas e 5-14% das consultas na emergência pediátrica, anualmente (SHAIKH et al, 2008). Nas últimas décadas, a importância da ITU tem sido cada vez mais reconhecida, pois além de ser causadora de danos renais, tem sido descrita como causa oculta de doença febril em crianças jovens (SILVA J. et al, 2004; ZORC et al, 2005; GUIDONI et al, 2008).

A infecção urinária em crianças apresenta uma média de prevalência no mundo entre 6-12%. Shaikh et al (2008) em uma meta-análise encontrou prevalência de 7,1% em pacientes menores que 19 anos nos Estados Unidos, 9,1% na Austrália, 13,6% em Taiwan, e Zorc et al.(2005) refere prevalência de 7,8% na Escandinávia.

Diversos autores concordam que a ITU prevalece nos primeiros anos de vida, atingindo pico de incidência entre o terceiro e quarto ano de idade, com nítida predominância no sexo feminino, na razão de 3 a 4 até 20:1 em relação ao sexo masculino (ZORC et al, 2005; WILLIAMS et al, 2006; HODSON, 2007; RIYUZO, 2007; CHEVALIER et al, 2008; SHAIKH et al, 2008).

Estudo prospectivo realizado com 420 crianças com ITU sintomática, de 1988 a 1995, no Hospital Universitário da Universidade de São Paulo, demonstrou nítida predominância do sexo masculino até os seis meses de idade (KOCH, 2003). Coulthard et al. (2009), em Newcastle, observou um grupo de 191 crianças com ITU e encontrou predominância do sexo feminino (69%) e dentre os meninos, os mais jovens foram os mais acometidos. Cohen et al. (2005), em Washington, identificaram 780 crianças com ITU, dentre estas, a prevalência foi de 59,7% no sexo feminino.

A ITU, usualmente, ocorre por ascensão de bactérias oriundas da flora intestinal e periuretral do paciente, através da uretral. O sexo feminino é mais acometido por apresentar predisposição anatômica como uretra curta e intróito uretral próximo ao ânus. Já, no período neonatal, a disseminação hematogênica é a causa mais comum de ITU (TOPOROVSKI et al, 2006).

Alguns fatores são estratificados como fatores de risco para o paciente desenvolver ITU, como: malformações do trato urinário, refluxo vesico-ureteral (RVU), cateterismo de vias urinárias, higiene perineal inadequada nas meninas, história de constipação intestinal. E algumas características deixam o paciente mais suscetível a desenvolver ITU, como sexo feminino, crianças menores que dois anos de idade, meninos não-circuncidados, raça branca (HELLERSTEIN, 2006; WILLIAMS et al, 2006; LIM, 2009).

A circuncisão previne a colonização prepucial por bactérias uropatogênicas, facilita a higiene genital e assim reduz a incidência de ITU na infância (SCHOEN, 2005; BALAT, 2008). Malone, em 2005, apresentou o estudo chamado European view, onde levantou a questão do custo-benefício em relação à circuncisão e prevenção de ITU e demonstrou que para que haja benefícios a circuncisão precisa ser realizada no período neonatal, porém nas outras idades e principalmente em meninos com anormalidades do trato urinário, RVU e ITU recorrente, esta intervenção precisa ser considerada, apesar de não haver um consenso estabelecido para indicação da circuncisão.

Uma meta-análise conduzida pela Universidade de Pittsburgh (SHAIKH et al, 2008) para determinar a prevalência de ITU em crianças pela idade, sexo, raça e presença de circuncisão, foi encontrado ITU em 7% de crianças febris, menores que 2 anos e 7,8 % de crianças afebris ou febris, menor que 19 anos; entre o sexo

feminino, a prevalência foi maior nos primeiros 12 meses e entre o sexo masculino, as taxas de prevalência foram maiores nos pacientes com menos de três meses de vida, ocorrendo declínio após esta idade e a taxa de prevalência de ITU para meninos circuncidados e não-circuncidados foi de 2,4% e 20,1%, respectivamente.

As evidências de estudos clínicos demonstram uma forte associação entre RVU e ITU e dano ao parênquima renal. O RVU é originado de uma anormalidade estrutural da junção ureterovesical, caracterizado por um segmento submucoso anormalmente curto do ureter, permitindo uma ascensão da urina da bexiga até os ureteres e os rins. Estima-se que ocorra em cerca de 1% da população pediátrica e em 30 a 40% das crianças com ITU e nestas crianças a morbidade é mais elevada que nas crianças sem RVU (SILVA Jr. et al, 2004; CHENG et al, 2009; KÖLJALG et al, 2009).

Estudo retrospectivo realizado no Hospital de Clínicas de Minas Gerais, Brasil, no período de 1969 a 1999, encontrou um grupo de 483 pacientes com RVU, com média de idade de 26 meses, deste grupo 92,5% apresentavam infecção urinária (SILVA Jr. et al, 2004). Riyuzo (2007), em Botucatu-SP, realizou estudo retrospectivo de 95 crianças com ITU com seguimento de um ano e encontrou 19 pacientes com ITU recorrente em 54 crianças com RVU.

A ITU também foi descrita em associação à litíase renal, que é uma doença de causa multifatorial e com diversos fatores de risco, dentre eles a ITU. No Hospital Ankara, na Turquia, em um estudo retrospectivo de 62 crianças com diagnóstico de nefrolitíase, no período de quatro anos (2002 a 2006), foi observado a presença de ITU recorrente em 42 pacientes (68%) com correlação positiva entre hipercalciúria (cálcio na urina acima de 5mg/kg) e ITU recorrente ( $r=0,528$ ,  $p=0.017$ ) e correlação negativa entre hipocitratúria e ITU recorrente (ACAR et al, 2008).

Crianças portadoras de bexiga neurogênica também são bastante susceptíveis a ITU. Essas crianças cursam com deficiência da inervação sensorial, por isto não tem controle sobre a bexiga, sobre a micção, isso faz com que sempre exista certa quantidade de urina residual e para amenizar este problema o paciente deve realizar várias vezes ao dia o cateterismo vesical, assim esses pacientes têm dois fatores que predispõem a ITU: resíduo de urina e cateterismo das vias urinárias, que irão favorecer a colonização bacteriana e ascensão de bactérias periuretrais, respectivamente (SCHLAGER et al, 2008).

A ITU associada à constipação intestinal foi descrita por Giramonti (2005) em um estudo prospectivo, onde encontrou 100 crianças com ITU documentada dentre 133 crianças com sintomas de constipação intestinal. O raciocínio é que crianças que apresentam constipação intestinal fazem a prensa do esfíncter anal e tem dificuldade em separar esta ação para o esfíncter urinário, o que leva a altas pressões intravesical, com conseqüente disfunção da bexiga e esvaziamento incompleto da mesma, o que propicia o desenvolvimento de ITU; outra explicação é que a constipação altera a flora gastrointestinal, favorecendo o crescimento de microorganismos, o que também pode aumentar o risco de ITU.

Além dos fatores de risco para o desenvolvimento de ITU, descritos acima, tem-se tido, com o advento das técnicas imunológicas e gênicas, a oportunidade de estudar novos fatores imbricados na fisiopatogenia da ITU, como as alterações gênicas e a influência de citocinas.

Estudos, *in vitro*, têm demonstrado que a expressão de citocinas é influenciada por polimorfismos nas regiões gênicas reguladoras de certas proteínas. Dentre várias citocinas, duas estão implicadas na fisiopatologia de diversas doenças renais: a VEGF (fator de crescimento do endotélio vascular) e a TGF- $\beta$ 1. A VEGF,

também conhecida como fator de permeabilidade vascular, é um fator pró-inflamatório e no rim está relacionada com a proliferação celular do endotélio vascular, angiogênese e permeabilidade vascular e induz a migração e ativação de monócitos através da indução de moléculas de adesão, e a TGF- $\beta$ 1 é um fator de transformação do crescimento e parece ser a citocina chave no desenvolvimento e progressão da injúria renal, vários estudos mostram que esta citocina está envolvida na patogênese de uropatias obstrutivas congênitas, pielonefrite aguda e cicatriz renal (YIM et al, 2007).

Yim et al (2007), na Coreia, realizaram estudo de caso-controle com o objetivo de testar a hipótese de que dois tipos de polimorfismo no gene da VEGF (T-460C e G405C) e três tipos de polimorfismo no gene da TGF- $\beta$ 1 (C509T, G800A e T869C) podem ser fatores de risco para ITU, RVU e desenvolvimento de cicatrizes renais. Foram genotipadas 168 crianças, 79 com ITU e 89 controles e o resultado foi um significativo aumento dos genótipos VEGF-460 CC, TGF- $\beta$ 1-509 CC, TGF- $\beta$ 1-800GG em pacientes coreanos com ITU e ou RVU, comparado com o grupo normal. Também, o genótipo TGF- $\beta$ 1-869CC foi mais freqüente em pacientes com ITU e dano renal que em pacientes com ITU sem dano renal. Esses achados sugerem que esses polimorfismos podem ser marcadores genéticos do desenvolvimento e progressão da ITU, RVU ou cicatrizes renais na infância.

Outra citocina pró-inflamatória estudada como determinante de dano renal na ITU é o fator de inibição de migração de macrófago (MIF), que é um potente ativador de macrófagos e células T. O MIF tem papel crucial na iniciação ou manutenção de condições inflamatórias severas, e está localizado em uma variedade de células e tecidos, dentre estes o uroepitélio humano, que contém grande quantidade de MIF pré-formado (OTUKESH et al, 2009).

Otukesh et al, da Universidade do Irã, em 2009, fizeram o primeiro relato do papel desta citocina, MIF, na patogênese do dano renal durante ITU. Os pesquisadores realizaram um estudo de caso controle com 33 pacientes pediátricos com ITU (25 com pielonefrite aguda e oito com cistite aguda) e 40 pacientes saudáveis e encontraram concentração de MIF na urina, significativamente maior nos pacientes com pielonefrite que nos pacientes com cistite e grupo controle ( $p < 0,001$ ). A determinação de MIF na urina foi, também, usada na seleção de pacientes com risco de dano renal permanente e foi observada a ocorrência de cicatrizes renais, 9 a 12 meses mais tarde, nos pacientes com nível mais elevado de MIF na urina, no início do diagnóstico de ITU. Os pesquisadores demonstraram com estes resultados que a dosagem de MIF na urina é um teste sensível (92%) para diferenciar cistite de pielonefrite aguda.

A ITU recorrente é freqüente, com percentual de recorrência variando entre 30 e 50% das meninas no primeiro ano após ITU e entre 50% e 75% após o quinto ano do primeiro episódio de ITU. A recorrência é uma característica importante da ITU na infância e de grande importância epidemiológica, pois favorece o desenvolvimento de cicatrizes renais, que se não diagnosticadas precocemente poderão evoluir com deterioração progressiva da função renal, e chegar a IRC terminal (CONWAY, 2007; FAUST, 2007; RIYUZO, 2007; KÖLJALG et al, 2009).

Em São Paulo, 95 pacientes, com ITU, acompanhados por um ano, apresentaram taxa de recorrência de 63,8% nas meninas e 36,2% nos meninos, com maior significância nos menores de dois anos de idade, no início do seguimento (RIYUZO, 2007). Na Turquia, em 2008, Soyly et al encontrou, em um grupo de 138 crianças com ITU e RVU, uma taxa de recorrência de 92% entre meninas e 75% entre meninos.

Cicatriz renal ou pielonefrítica é o termo utilizado para os danos do parênquima renal secundários a pielonefrite aguda. Estima-se que as cicatrizes renais ocorram em 8 a 20% dos pacientes como complicação de uma pielonefrite aguda (OTUKESH et al, 2009). Podem persistir de quatro a seis semanas após o tratamento da ITU, seguido de resolução, ou tornarem-se definitivas, o que pode ser observado nas cicatrizes renais após episódios de ITU recorrente (CHEVALIER et al, 2008).

Quando detectadas, na fase aguda, ou seja, precocemente pelo DMSA, cicatrizes renais poderão desaparecer em 50 a 60% dos pacientes que recebem o tratamento adequado (SMITH, 2008). Nos consensos médicos, não há descrição de sintomatologia que seja sugestiva de que a criança irá desenvolver ou já desenvolveu cicatrizes renais, as diretrizes sugeridas por estudos como as do National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE) apontam os sintomas que permitem diferenciar a ITU em baixa ou alta, mas não referem sintomas que possam sugerir a formação de cicatrizes renais (COULTHARD, 2009).

A resposta inflamatória aguda da pielonefrite parece ser a principal causa das cicatrizes renais, dada pela presença de infiltrado de várias células do sistema imune, como os granulócitos, sistema complemento, macrófagos, dentre outras. O número de macrófagos no parênquima renal durante qualquer tipo de injúria renal está relacionado com a intensidade desta inflamação e a intensidade da resposta inflamatória está relacionada com maior risco de resultar em cicatrizes renais (GBADEGESIN et al, 2006; OTUKESH et al, 2009).

Tem sido relatado que polimorfismos nos genes que expressam as moléculas que modulam o processo inicial da inflamação, a adesão celular, como ICAM-1 (molécula de adesão intercelular) e PECAM-1 (molécula de adesão endotelial)

estejam associados com aumento do risco de desenvolvimento de cicatrizes renais. Em Manchester, foi relatado polimorfismo do exon 4 da ICAM-1 associado com maior risco de evolução para cicatrizes renais após ITU em crianças por diminuir a defesa local, podendo ser um determinante genético do hospedeiro em desenvolver cicatriz no parênquima renal (GBADEGESIN et al, 2006). Yim et al. (2007), também encontrou a expressão de ICAM-1 aumentada no soro de crianças com pielonefrite aguda e das com RVU.

A apresentação clínica da ITU é heterogênea, variando de acordo com o grupo etário e com a localização da infecção. Outros fatores, também, podem influenciar as manifestações clínicas, como: estado nutricional, presença de alterações anatômicas do trato urinário, número de infecções anteriores e intervalo de tempo do último episódio infeccioso (BROCKMANN, 2007; LOPEZ, 2007).

Em recém-nascidos, a ITU apresenta-se com manifestações clínicas gerais, inespecíficas, como ganho de peso insuficiente, hiporexia, vômitos, dificuldade de sucção, hipoatividade, convulsão, hipotermia ou hipertermia. Como na maioria dos processos infecciosos, neste grupo etário, há uma alta probabilidade da ITU evoluir para sepse, determinando alta taxa de mortalidade (SHAIKH et al, 2008). No NICE (2007), crianças menores de três anos com ITU apresentaram muito mais vômitos, anorexia, indisposição e febre que os maiores de três anos e os mais jovens também precisaram mais de hospitalização.

O reconhecimento e o tratamento precoces evitam a disseminação sistêmica e previnem ou amenizam a formação da cicatriz renal, portanto o médico precisa estar atento para o diagnóstico de ITU nesta faixa etária, já que os sintomas são inespecíficos, comuns a quadros infecciosos extra-renais. Considera-se que em todo lactente com febre por mais de 48 horas deve-se proceder a urocultura para

esclarecimento diagnóstico (MARCONDES et al, 2003; TOPOROVSKI et al, 2006; LOPEZ, 2007).

A sintomatologia em crianças com idade acima de 24 meses é mais específica, estas crianças já cursam com queixas urinárias, como disúria, polaciúria, retenção urinária, tenesmo e urgência miccional, orientando e facilitando o diagnóstico de ITU (LOPEZ, 2007, SHAIKH, 2007).

O diagnóstico da ITU é realizado pelo isolamento da bactéria na urina através da urocultura. Outros métodos laboratoriais apenas auxiliam no diagnóstico, exemplos desses métodos são: o hemograma, a proteína-C reativa, a procalcitonina e o exame do sedimento urinário (KOCH, 2003).

A procalcitonina é considerada um indicador de infecção bacteriana sistêmica, distinguindo essas infecções das infecções virais e das febres de origem não-infecciosa. Um estudo prospectivo, realizado na Itália, envolvendo 100 crianças de um mês a 13 anos mostrou que a procalcitonina e a proteína-C reativa tem similar sensibilidade para identificação de ITU alta, mas quando correlacionados com o desenvolvimento de cicatrizes renais, somente a procalcitonina teve uma associação positiva, concluindo que crianças com ITU febril que apresentam elevado nível de procalcitonina têm risco de dano renal permanente (PECILE, 2004; HELLERSTEIN, 2006).

O exame do sedimento urinário pode estar alterado em aproximadamente 80% dos casos de ITU, no entanto, a maioria tem baixa sensibilidade, não sendo suficiente para o diagnóstico. Os métodos que avaliam o sedimento urinário baseiam-se, fundamentalmente, no exame da urina por métodos convencionais, com urina centrifugada, ou pelo uso do hemocitômetro. Dukes, em 1928 (apud KOCH, 2003), introduziu a técnica de contagem de urina não centrifugada colocada em

hemocítômetro e Stamm, em 1989 (apud KOCH, 2003), definiu piúria, por esta técnica como a presença de pelo menos 10 leucócitos/mm, com isto os autores conseguiram aumentar a sensibilidade para 96% da presença de leucócitos na urina em adultos sintomáticos com ITU. Os testes rápidos de fita diagnóstica que avaliam a presença de nitrito e esterase leucocitária apresentam sensibilidade em média de 88%.

Na criança há certa dificuldade de realizar a coleta de urina para o exame de urocultura, principalmente nos menores de três anos, pois crianças nesta idade ainda não apresentam controle da micção. Existem vários métodos de coleta de urina na infância, como coleta de urina na metade da micção, jato médio (JM); através de saco coletor; cateterismo vesical e punção suprapúbica (PSP), cada um indicado de acordo com a idade da criança. Para os neonatos, a técnica ideal é a PSP, nos lactentes e em crianças de dois a três anos, o ideal é que a urina seja coletada por cateterismo vesical ou saco coletor, e nos maiores de três anos, que já possuem controle da micção, o JM pode ser realizado. No entanto existem poucos estudos analisando, comparando entre si, as diversas técnicas de coleta de urina na infância (SANGRADOR, 2007a).

Em um trabalho prospectivo, na Santa Casa de São Paulo, em 2006, os autores realizaram uroculturas de pacientes com suspeita de ITU por três métodos distintos: PSP, JM e saco coletor; obteve-se 96% de concordância entre PSP e JM com 11,5% de discordância entre saco coletor e PSP, sendo considerados falso-positivos (TOPOROVSKI et al, 2006).

Na urina coletada por saco coletor e JM são consideradas significativas as contagens de colônias  $\geq 100.000$  UFC/ml para confirmar ITU. Junto com a urocultura é importante que venha descrito o número de colônias para que seja analisado se há

infecção ou provável contaminação, para isto o profissional deve seguir alguns pontos de corte, como: se a urina foi coletada por sondagem vesical, por PSP ou saco coletor deve apresentar o número mínimo de colônias de 10.000 UFC/ml, 01 UFC/ml e 100.000 UFC/ml, respectivamente (MARCONDES et al, 2003).

A ITU, usualmente, é causada por bactérias, embora vírus, fungos e parasitas possam causar infecção. Causa comum de ITU não bacteriana é a cistite hemorrágica por adenovírus e a causada por *Candida* sp. Estas infecções são menos comuns, geralmente associadas a internações prolongadas e pacientes imunodeprimidos, sua freqüência tem aumentado nos últimos anos, pelo aumento da prevalência de SIDA (síndrome da imunodeficiência adquirida). Esses microorganismos não usuais também estão relacionados com pacientes sob uso de antibioticoterapia de amplo espectro, com sondagens vesicais prolongadas, diabéticos e crianças com malformações anatômicas do trato urinário (ZORC et al, 2005; ESPARIS et al, 2006; BOUZA, 2007).

As bactérias causadoras de ITU são na grande maioria, provenientes da flora intestinal do hospedeiro, sendo as bactérias da família Enterobacteriaceae responsáveis por 80 a 90% das infecções urinárias na infância (ZORC et al, 2005; ESPARIS et al, 2006; BOUZA, 2007; SANGRADOR, 2007b; GUIDONI et al, 2008; PRELOG et al, 2008; LIM, 2009). Pires (2007) observou que crianças predispostas a ITU albergam no intestino grosso maior número de raças uropatogênicas de *E.coli* comparadas a crianças saudáveis.

A *E.coli* é o patógeno mais encontrado como causa de ITU, seguido em freqüência por outros patógenos como *Klebsiella* sp., *Proteus* sp., *P.aeruginosa*, *Enterococcus* sp., *Serratia* sp. e *Staphylococcus aureus*. No período neonatal, *Klebsiella* e *Enterobacter* sp. são responsáveis por 11% a 15% das ITU, tanto no

sexo masculino quanto no feminino. Em meninos, após o primeiro ano de vida, há uma prevalência aumentada de *Proteus* sp. A *Pseudomonas* sp. está associada a ITU em pacientes imunocomprometidos e que sofreram alguma manipulação das vias urinárias. Entre os Gram-positivos, os *Staphylococcus* e o *Enterococcus* sp. estão relacionados a infecções nosocomiais, especialmente em pacientes cateterizados ou com bexiga neurogênica. As infecções por *Staphylococcus saprophyticus* são em geral limitadas às faixas etárias puberal e pré-puberal (BLATT, 2005; KASMIRCZAK, 2005; BOUZA, 2007; SANGRADOR, 2007c).

Pires (2007), no Hospital Universitário de Brasília-DF, no período de 2001 a 2005, analisou 2433 uroculturas positivas e a *E.coli* foi a bactéria mais isolada (62,4%), seguida de *K. pneumoniae* (6,8%) e *Proteus mirabilis* (4,7%).

Em Israel, Friedman et al.(2006) realizaram uma revisão de prontuários de 139 crianças hospitalizadas por ITU, no período de 2000 a 2004; 107 (76,9%) foram causadas por *E. coli* e 32 (23,1%) foram causadas por outros patógenos: *K. pneumoniae* (31%), *P. aeruginosa* (21%), *Enterobacter* sp. (16%), *Citrobacter* sp. (9%), *Serratia* sp. (6%), *Proteus mirabilis* (6%), *Enterococcus* sp. (6%), *Morganella morganii* (13%). Os autores compararam as características clínicas e laboratoriais entre o grupo de pacientes com ITU causada por *E.coli* e o grupo com ITU não-causada por *E. coli* e encontraram associação, estatisticamente significativa, entre o grupo não-causado por *E. coli* com crianças mais jovens (2-12meses), uso prévio de antibiótico, hospitalização prolongada e principalmente com malformações do trato urinário, destas a mais frequente foi RVU grau III/IV (50%) seguido de hidronefrose (22,7%), estenose de junção ureteropélvica (9%), hipospádia (4,5%) e displasia renal (4,5%).

Bactérias com determinantes específicos de urovirulência, os chamados fatores de virulência, têm sido descritas e associadas com o desenvolvimento de ITU e quadros clínicos com gravidade variável. Além dos fatores de virulência, vários patógenos urinários têm sido identificados com alto padrão de resistência aos antimicrobianos com conseqüente mudança do perfil de sensibilidade, como a *E. coli* que há duas décadas era sensível a SMZ/TMP, hoje, o nível de resistência a este antimicrobiano é bastante elevado (TSENG et al, 2008; KÖLJALG et al, 2009).

Na década de 80, os antibióticos beta-lactâmicos com espectro estendido, como as cefalosporinas de terceira geração e os monobactâmicos foram introduzidos para tratamento de infecções graves causadas por bactérias Gram-negativas que eram resistentes aos beta-lactâmicos existentes, como as penicilinas. Porém, poucos anos após esta introdução, espécies resistentes, produtoras de beta-lactamases de espectro estendido (extended-spectrum  $\beta$ -lactamase - ESBL) emergiram (ESPERANZA, 2009). Assim, o termo ESBL foi originalmente aplicado para bactérias que possuíam enzimas com atividade hidrolítica nas cefalosporinas de espectro estendido, como ceftriaxone, ceftazidima, cefepime e nos monobactams, porém são sensíveis aos carbapenens e cefamicinas e inibidas pelo clavulanato (HARADA, 2008).

A produção de  $\beta$ -lactamase de espectro-estendido é um dos mais importantes mecanismos de resistência desenvolvido por enterobactérias, que juntamente com a produção de enzimas Amp-C e carbapenemases são responsáveis pela maioria das falhas terapêuticas nas infecções nosocomiais e comunitárias (MINARINI, 2007; HARADA, 2008; QIN, 2008; TANEJA et al, 2008).

Os microorganismos Gram-negativos produzem  $\beta$ -lactamases por alterações cromossômicas, quer seja constitutivamente ou de maneira induzida. *E. coli* e *K.*

*pneumoniae* produzem constitutivamente, classe A de  $\beta$ -lactamase, enquanto *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *Citrobacter freundii*, *Serratia* spp e *P. aeruginosa* produzem, induzivelmente, classe B de  $\beta$ -lactamase (HARADA, 2008; QIN, 2008).

A primeira  $\beta$ -lactamase mediada por plasmídeos, a TEM-1, foi descrita em 1960 e mais tarde foi descrita a SHV-1, essas duas enzimas conferiam resistência a antibióticos beta-lactâmicos de baixo espectro. Somente em 1983, na Alemanha, foi descrita a SHV-2, a primeira  $\beta$ -lactamase mediada por plasmídeos capaz de hidrolisar cefalosporinas de espectro estendido e monobactams, ou seja, uma ESBL. Após este relato, várias outras ESBLs foram descritas e através do seqüenciamento genético dessas cepas foi visto que muitas dessas enzimas foram progenes das enzimas TEM e SHV, resultantes de mutações genéticas, gerando outras enzimas com potencial de resistência cada vez maior, por substituição de um ou mais aminoácidos de um sítio ativo (HARADA, 2008; JAIN, 2008).

Em 1989, foi descrito um isolado clínico de *E.coli* que produzia ESBL não-TEM e não-SHV, a enzima foi então designada CTX-M-1, com atividade hidrolítica preferencial para cefotaxima. Há três décadas, estas enzimas eram restritas a áreas específicas do mundo, porém nos últimos anos, ocorreu um aumento dramático da prevalência de bactérias produtoras de ESBL (HARADA, 2008; TANEJA et al, 2008). O êxito dessa perigosa disseminação em amplas regiões geográficas se deve provavelmente, ao transporte do gene de resistência através de plasmídeos auto-transmissíveis ou móveis, que permitem disseminação horizontal entre e intra espécies e esses plasmídeos também podem carrear genes que determinam resistência a outros antibióticos como SMZ-TMP, aminoglicosídeos e quinolonas (NOGUEIRA, 2006; GAITÁN, 2009).

O contínuo aumento de variedades de  $\beta$ -lactamases propicia a emergência de espécies panresistentes. Mais de 300 diferentes ESBLs têm sido caracterizadas, no mundo inteiro, em diferentes gêneros da família Enterobacteriaceae, algumas com fenótipo que conferem alto nível de resistência e outras causando apenas aumento da concentração inibitória mínima (HARADA, 2008, QIN, 2008; ESPERANZA, 2009).

Segundo a classificação de Ambler, as  $\beta$ -lactamases são classificadas em quatro classes, de acordo com o tipo de proteínas: classe A, C e D são serina-beta-lactamases e as enzimas da classe B, são metalo-beta-lactamases. As enzimas da classe A e C são capazes de hidrolisar as cefalosporinas de espectro estendido, mas apenas as da classe C são hábeis para hidrolisar, também as cefamicinas e são resistentes a ação dos inibidores de  $\beta$ -lactamase, como o clavulanato. As da classe D têm atividade hidrolítica na oxacilina e variável perfil de inibição dos inibidores de beta-lactamases. As enzimas ESBL foram agrupadas, inicialmente na classe A de Ambler, como as enzimas TEM e SHV (HARADA, 2008; QIN, 2008).

A descoberta de várias outras enzimas confundiu a definição de ESBLs. Primeiro, surgiram várias enzimas com atividade similar a TEM e SHV, embora de origem diferente, como a CTX-M. Segundo, mutações de TEM, como TEM-7 e TEM-12 têm ligeiro aumento da atividade hidrolítica nas cefalosporinas de espectro estendido, não se encontrando na definição mencionada das ESBLs. Por exemplo, as enzimas da classe C típica, como a Amp-C que conferem resistência a cefalosporinas de largo espectro, aztreonam e são resistentes aos inibidores de  $\beta$ -lactamases, como clavulanato não deveria ser considerada membro do grupo ESBLs, porém alguns especialistas insistem em considerá-la como parte do grupo ESBL por apresentarem amplo espectro de atividade, isto gera um ponto de discordância na literatura (HARADA, 2008; TANEJA, 2008; SONG et al, 2009).

A SHV-1 é uma  $\beta$ -lactamase com atividade para penicilinas de baixo-espectro, como as cefalotinas e a SHV-2 é considerada uma ESBL. A diferença entre a SHV-1 e a SHV-2 está na substituição de um aminoácido: Gly238Ser, que irá conferir hidrólise à cefotaxima e todas as variantes de SHV têm esta substituição em comum, exceto a SHV-5 que tem a substituição do aminoácido Glu240Lys, que aumenta a atividade hidrolítica para ceftazidima. Embora o gene <sup>bla</sup>SHV-1 tenha sido encontrado no cromossomo das bactérias *K.pneumoniae*, o SHV é também, comum em outras bactérias gram-negativas (HARADA, 2008).

Desde o primeiro relato de variantes da enzima TEM, mais de 150 outras variantes foram descritas, muitas dessas enzimas têm apenas atividade ESBLs e algumas apenas com resistência aos inibidores de  $\beta$ -lactamases, porém enzimas TEM, que foram chamadas de complexo mutante de TEM (CMT) apresentam as duas características, como a TEM-125. A identificação laboratorial dessas bactérias ESBL-CMT é dificultada, pois estas enzimas não são inibidas pelo clavulanato, que constitui o método fenotípico usado na detecção de ESBLs (HARADA, 2008; QIN, 2008).

A enzima CTX-M1 denota atividade hidrolítica para cefotaxima e à medida que variantes vão surgindo, há um aumento do espectro da atividade hidrolítica, como para ceftriaxone e ceftazidima. A origem das enzimas derivadas de CTX-M é diferente das variantes de SHV e TEM, que foram geradas por substituição de aminoácidos de suas enzimas pares, as ESBLs CTX-M derivam de transferência gênica horizontal de outras bactérias usando aparatos genéticos como plasmídeos ou transposomas (HARADA, 2008). Mais de 80 enzimas CTX-M têm sido identificadas e são divididas em 06 grupos, de acordo com a similaridade da sequência de aminoácidos: CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9, CTX-M-25 e

CTX-M-45. Esta enzima tem se expandido rapidamente pelo mundo e atualmente, é a enzima que predomina em *E.coli*-ESBL. A CTX-M-1 e CTX-M-9 estão presentes em diversos continentes, já a CTX-M-2 e CTX-M-8 estão mais localizadas na Europa; CTX-M-15 e CTX-M-3 foram as mais prevalentes na Coreia (SONG et al, 2009).

A GES-1 foi inicialmente descrita em culturas de *K. pneumoniae* oriundas de neonatos, na Guiana Francesa. A GES-1 é uma ESBL clássica, tem atividade hidrolítica nas penicilinas e cefalosporinas de espectro estendido, mas não nos carbapenens ou cefamicinas e é inibida pelo clavulanato. A GES-2 por uma substituição de aminoácido, Gly170Asn, tem maior ação sobre o imipenem; GES-4 também é capaz de hidrolisar os carbapenens (HARADA, 2008).

As ESBLs tipo OXA têm mais que 50% de atividade hidrolítica nas oxacilinas comparadas com atividade nas benzilpenicilinas e têm sido descobertas, principalmente em isolados de *P. aeruginosa* (HARADA, 2008).

Um número variável de outras  $\beta$ -lactamases capazes de hidrolisar cefalosporinas de espectro estendido tem sido relatado, como VEB, PER, BEL, BES, TLA, SFO e IBC, ACC, DHA (HARADA, 2008; QIN, 2008).

A ESBL KOXY foi identificada na bactéria *Klebsiella oxytoca*, que mostrou ter alto nível de resistência a ceftriaxone e cefotaxima, originalmente essa classe foi chamada de K1 e mais tarde foi referenciada de KOXY ou <sup>bla</sup>OXY. Monstein et al. (2009) analisaram, através de técnica de PCR multiplex, 20 *K. pneumoniae* e 34 *K. oxytoca* com o fenótipo ESBL e encontraram a presença do gene <sup>bla</sup>CTX-M em 9 das 20 *K. pneumoniae* e o K1-gene em todas as 34 cepas de *K. oxytoca*.

Bactérias produtoras de ESBL eram restritas a infecções hospitalares, porém, nos últimos anos, houve um grande crescimento de infecções comunitárias

causadas por bactérias com fenótipo ESBL e dentre os organismos causadores de tal situação, a *E.coli* tem sido a mais freqüente (HARADA, 2008).

A distribuição de cepas ESBL, como já se sabe é de distribuição universal. *K. pneumoniae* e *E. coli* com fenótipo ESBL têm sido mais freqüentes na América Latina, seguida da região do pacífico ocidental, Europa, EUA e Canadá (GAITÀN, 2009).

Na América Latina, há uma alta taxa de ESBLs, embora sua distribuição esteja restrita a alguns genes e a locais específicos. No grupo SHV, as variantes SHV-2, SHV-5 e SHV-12 são os mais comuns e no Brasil já há relato da detecção da variante SHV-4 e caracterização da SHV-27. Dentre as variantes TEM, na América do Sul, recentemente foram descritas a TEM-10, TEM-12 e TEM-26. As ESBLs CTX-M são endêmicas e amplamente distribuída nesse continente, as variantes mais encontradas são CTX-M-8, -9 e -16. A presença de mais de um desses genes nos isolados clínicos é muito comum (VILLEGAS, 2008).

Em outros continentes, as ESBLs, também têm sido descritas. Song, na Coréia, em 2005, estudou 264 isolados de *E. coli* e detectou ESBL em 27 (10,2%) destes isolados e pela técnica de PCR, encontrou genes que codificam as enzimas CTX-M-1 e CTX-M-9 em 22 (81,5%) e 7 (25,9%) destes isolados, respectivamente; os genes codificando CTX-M-3, CTX-M-14 e CTX-M-9 também foram encontrados. Beta-lactamases tipo TEM foram detectadas em 20 dos 27 isolados. O gene <sup>bla</sup>SHV-12 foi detectado em 2 isolados. Quatro isolados carregaram múltiplos genes que codificam ESBL. Genes codificando  $\beta$ -lactamases tipo Amp-C, DHA-1 e CMY-10, foram detectados em 2 isolados contendo CTX-M-3. Os genes *qnrB4* e *qnrS1* foram detectados cada em isolado contendo CTX-M 3 e CTX-M-15, respectivamente.

Em Janeiro, 2008, na Índia, Taneja et al. realizaram estudo prospectivo, no período de cinco meses, analisando culturas de urina de pacientes que apresentavam sintomas sugestivos de ITU, obteve 9072 amostras de urina, 1979 (21,8%) foram positivas, das quais 438 eram uropatógenos com alta resistência a drogas, destas 75 (36,5%) eram produtoras de ESBL e 53 culturas que não foram inibidas pela piperacilina associada ao tazobactam foram positivas para AmpC beta-lactamase. A alta resistência às drogas foi encontrada, principalmente em culturas positivas para *K.pneumoniae* (51,2%), *E.coli* (40,2%), *Enterobacter* (33,4%) e *P.aeruginosa* (27,9%). Os isolados produtores de ESBL mostraram alto grau de resistência a piperacilina (93,1%), amoxicilina-ácido clavulânico (93,4%), aztreonam (79,4%), cefepime (76,7%), ampicilina-sulbactam (76,7%) e ticarcilina (60,2%) e os antibióticos mais efetivos foram o imipenem (8,2% de resistência), piperacilina-tazobactam (9,5%) e ceftazidima-ácido clavulânico (23,2%).

Além da resistência bacteriana aos beta-lactâmicos, as Enterobacteriaceae também, estão apresentando resistência as quinolonas e a aquisição desta resistência, usualmente se dá pelo acúmulo de mutações de enzimas que medeiam os cromossomos, como a DNA girase e a topoisomerase IV, fato que se fazia acreditar que a resistência a quinolonas era transferida, apenas verticalmente. Porém, em 1998, foi feito o primeiro relato de resistência a quinolonas mediada por plasmídeos, nos Estados Unidos, em um isolado clínico de *K. pneumoniae*, onde foi encontrado o gene *qnr*, que protege a DNA-girase e topoisomerase IV da atividade inibidora das quinolonas (SHIN et al, 2008; SONG et al, 2009).

O gene *qnrA*, rapidamente atingiu a Ásia e a Europa e recentemente a América do sul. Em adição ao *qnrA*, dois outros genes mediados por plasmídeos foram identificados, o *qnrB* e o *qnrS*, isolados em culturas de *Citrobacter koseri*,

*Enterobacter cloacae*, *E. coli* e *K. pneumoniae* da Índia e dos Estados Unidos e em culturas de *Shigella flexneri* do Japão, respectivamente. (SHIN, 2008). Muito recentemente, o gene *qnrC* foi identificado de um isolado clínico de *Proteus mirabilis*, na China, com aminoácido 68% similar aos outros genes. O gene *qnrA* tem sido associado com o gene *sul-1*, que confere resistência a SMZ-TMP e o gene *qnrB* está associado com genes que codificam ESBL (MINARINI, 2008; SHIN, 2008).

No sudeste do Brasil, em Minas Gerais, foi feita identificação de genes *qnr* em 257 isolados de enterobactérias resistentes ao ácido nalidíxico, coletados no período de 2000 a 2005, de pacientes de diversas idades, em um laboratório privado da cidade. Os autores encontraram 06 (2,3%) isolados de urina, incluindo três *E. coli*, duas *K.pneumoniae* e um *Citobacter freundii* com gene *qnrB* e nenhum com os genes *qnrB* ou *qnrS* ou *qnrC* (MINARINI et al, 2008).

Desde 1983, vários testes fenotípicos para detecção de organismos produtores de ESBL têm sido desenvolvidos. O método recomendado pelo CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) para caracterizar uma cepa em ESBL é um teste de screening e um confirmatório, que consiste em testar a susceptibilidade da cepa a uma ou mais dessas cefalosporinas, cefpodaxima, ceftazidima, ceftriaxone, cefotaxima e ao monobactâmico, aztreonam e a diminuição da suscetibilidade a um ou mais desses antibióticos pode indicar produção de ESBL, depois disto deve ser realizado o teste confirmatório fenotípico, que testará a suscetibilidade a cefotaxima e ceftazidima sozinhos e esses com ácido clavulânico, que serão comparados usando o disco difusão ou método de diluição. Outros métodos podem ser utilizados, como os sistemas automatizados, Vitek 2 e Phoenix, nesses sistemas, existem painéis específicos designados para confirmação de ESBL (CLSI, 2005; HARADA, 2008).

Na caracterização genotípica dessas bactérias, com pesquisa dos genes, como o *bla*CTX-M, *bla*TEM, *bla*SHV é realizada a PCR, técnica utilizada para amplificação enzimática in vitro de sequências específicas de DNA, essa técnica permite a amplificação de pequenos segmentos de DNA ou RNA, em um período de poucas horas. A tipagem molecular destas cepas irá diferenciá-las quanto a presença dos genes descritos acima e identificar os casos em que ocorreu clonagem, fenótipo de resistência dentro de um grupo não relacionado com aquelas bactérias, isto pode ocorrer pela pressão seletiva das drogas, contribuindo para a disseminação da resistência bacteriana tanto dentro de um mesmo centro médico quanto em centros distintos (TOSIN, 2003).

O tratamento da ITU é frequentemente, empírico, pois na prática clínica, os estudos microbiológicos têm seus resultados liberados entre 48 e 96 horas e este tempo prolongado associado com a necessidade de instituição precoce do tratamento para evitar a evolução para urosepse e seqüelas tardias, faz com que os médicos iniciem a antibioticoterapia empírica (MARDENI et al, 2009).

A escolha dos antibióticos, bem como da via de administração e do tempo de duração é feita de acordo com características clínicas do paciente, como idade, recorrência da ITU, sinais e sintomas que sugiram gravidade, e em que ambiente a infecção foi adquirida, comunitário ou hospitalar, o perfil de resistência dos germes circulantes e além destes fatores, diferenciar a ITU quanto ao grau de risco e se há ou não acometimento do parênquima renal, auxiliará o médico na eleição da terapia medicamentosa (SANGRADOR, 2007e).

Hoje, a ITU pode ser diferenciada em alto ou baixo risco em função da idade, da presença ou não de febre e do comprometimento do estado geral. A de alto risco é a que ocorre durante o período neonatal e lactente jovem, com febre elevada e

acometimento do estado geral, já a de baixo risco é que ocorre fora destas faixas etárias, geralmente é afebril ou com febre não elevada e com estado geral preservado. Esta classificação é preferida em relação à classificação da ITU em alta (pielonefrite aguda) ou baixa (cistite) que é feita utilizando apenas a sintomatologia, não levando em consideração a faixa etária e necessita do DMSA para confirmação de pielonefrite aguda, porém neonatos e lactentes jovens podem cursar com febre elevada e ser apenas cistite ou não apresentarem sintomas exuberantes e ser uma pielonefrite aguda (SANGRADOR, 2007e; BRADER et al, 2008).

A Academia Americana de Pediatria (AAP, 1999) recomenda o tratamento empírico e precoce da ITU, devendo iniciar-se antibioticoterapia endovenosa e considerar hospitalização nas crianças com comprometimento do estado geral e se ocorrer melhora, após 24-48 horas, seguir com antibiótico oral; já em pacientes sem alteração do estado geral recomenda iniciar antibiótico oral, preferencialmente as cefalosporinas antes da amoxicilina (menor eficácia e maior resistência) e desaconselha o uso do ácido nalidíxico e nitrofurantoína pela insuficiente concentração sanguínea. Caso não haja resposta clínica em 48 horas e o microorganismo mostrar resistência ao tratamento escolhido, deve ser reavaliada a antibioticoterapia e repetida a urocultura; deve ser completado de 7 a 14 dias de antibioticoterapia oral, incluso os casos em que o tratamento foi inicialmente parenteral.

Em relação à via de administração do tratamento antibiótico, diversos trabalhos têm discutido se a via endovenosa na ITU de alto risco oferece vantagens sobre a oral. Em, 1999, Hoberman et al. já discutiam a via de administração dos antibióticos e tiveram grande repercussão ao mostrar que cefoxima oral era tão eficaz quanto cefotaxima endovenosa no tratamento da ITU de alto risco. A AAP

(1999) recomenda o uso de antibiótico oral ou endovenoso, exceto nas crianças que apresentam toxemia ou desidratação, que deve sempre ser endovenoso. As diretrizes de NICE (2007) recomendam que os menores de 03 meses sejam tratados com antibiótico endovenoso e para maiores de três meses com ITU alta, pode ser iniciado antibiótico oral, com duração de 7-10 dias e caso haja falência deste tratamento, iniciar antibioticoterapia endovenosa, de preferência, cefotaxima ou ceftriaxone.

Em uma revisão sistemática da Cochrane, os autores não encontraram diferença significativa em relação aos riscos de cicatriz renal ou duração da febre, entre os tratamentos com antibióticos orais por 10-14 dias e o tratamento com antibiótico endovenoso por três dias, seguido de tratamento oral complementar por 10-11 dias. Também não houve diferença significativa entre os tratamentos com antibiótico endovenoso por 14 dias e o tratamento endovenoso por três a quatro dias complementados com 10 dias de antibiótico oral (HODSON, 2007).

A associação SMZ/TMP, por muito tempo, foi a primeira escolha para o tratamento de ITU comunitárias, porém pela elevada taxa de resistência foi substituída pela amoxicilina, que hoje também pelo padrão de resistência dos microorganismos circulantes já está sendo substituída por outras opções terapêuticas, como amoxicilina associada ao ácido clavulânico, cefalosporinas de primeira e segunda geração e por vezes, as fluorquinolonas (ZORC et al, 2005). No tratamento endovenoso, os aminoglicosídeos em dose única diária, cefotaxima e ceftriaxone são recomendados como terapia empírica (AAP, 1999; HODSON, 2007). O tempo preconizado de tratamento é de 10 a 14 dias. Vários autores preferem manter tratamento por 14 dias quando a criança apresenta suspeita clínica de

pielonefrite ou comprometimento do estado geral (KOCH, 2003; ZORC et al, 2005; GASPARIS et al, 2006).

Após o primeiro episódio de ITU em crianças é recomendado que todas realizem a investigação por imagem do trato urinário, porém a maneira que esta recomendação deve ser utilizada apresenta algumas diferenças entre os diversos centros de pesquisa, principalmente em relação ao limite de idade em que os exames de imagem devem ser realizados e ao melhor período para realização da cintilografia renal (TONET, 2006; BIASSONI, 2008; LUK, 2009; MONTINI, 2009).

Os três principais exames de imagem adotados para avaliar o trato urinário são: USG, UCM e DMSA que dependendo do cenário clínico, um ou mais desses exames pode ser feito, mas na maioria dos casos, todos os três são realizados. A USG pode identificar hidronefrose e outras anormalidades anatômicas, porém não diagnostica RVU, que é avaliado e confirmado pela UCM, exame considerado padrão ouro para diagnosticar RVU e a cintilografia renal com DMSA é a referência para determinar a presença de cicatrizes renais e de pielonefrite aguda (LUK, 2009).

O DMSA além de ser referência para o diagnóstico de cicatrizes renais é também padrão ouro para o diagnóstico de pielonefrite aguda, porém como esta técnica é invasiva (uso de radioisótopos) e de alto custo, este procedimento está sendo questionado em muitos centros de estudo como exame que deva ser realizado na fase aguda apenas para confirmar o processo inflamatório, por isto na prática a diferenciação da ITU já está sendo feita apenas com os sinais e sintomas clínicos sugestivos de ITU alta ou baixa, ficando o DMSA apenas para o diagnóstico de cicatrizes renais, seis a doze meses após o primeiro episódio de ITU (SANGRADOR, 2007d; BRADER et al, 2008).

Desde a publicação do trabalho de Normand e Smellie, em 1965, em que observaram uma diminuição do número de episódios de ITU após a administração de quimioprofilaxia (2,5 episódios/ano antes do tratamento e 0,37 episódios/ ano após o tratamento), a comunidade científica assumiu que a administração prolongada em doses baixas de antibiótico seria necessária para evitar novos episódios de ITU e aparecimento de cicatrizes renais (NORMAND, 1965; WILLIAMS et al, 2006; SANGRADOR, 2007).

Os critérios para o uso da quimioprofilaxia divergem dentre as academias e associações médicas e centros de pesquisa. Algumas, como a Associação Espanhola de Pediatria, a Academia Americana de Pediatria e a Academia Colombiana de Urologia recomendam a profilaxia até que se completem os exames de imagem. Porém, em geral a quimioprofilaxia é recomendada para crianças com RVU; o grupo indiano de Nefrologia Pediátrica recomenda em qualquer grau de RVU, em crianças com cicatrizes renais mesmo na ausência de refluxo, infecções freqüentes (>2episódios/ano), já o grupo sueco apenas em RVU de maior grau (III-IV). Os antibióticos mais recomendados para realizar a quimioprofilaxia em ordem de freqüência são: nitrofurantoína, SMZ/TMP e cefalexina (AAP, 1999; SANGRADOR, 2007).

## 5 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 DESENHO DO ESTUDO

Pela necessidade de conhecer o perfil clínico-epidemiológico de crianças com ITU em Belém, assim como a existência de genes que conferem resistência bacteriana em cepas isoladas destas crianças, foi traçado um desenho de estudo com as seguintes metodologias a serem aplicadas para a obtenção dessas respostas.

Realização de um estudo analítico, transversal, do tipo retrospectivo e prospectivo, de crianças com diagnóstico de ITU, atendidas no serviço de Nefrologia Pediátrica da FSCMPA, no período de janeiro de 2006 a agosto de 2009.

No estudo retrospectivo foram revisados os prontuários de todas as crianças menores de 16 anos, no período de janeiro de 2006 a março de 2009, que tinham o diagnóstico de ITU, litíase renal, RVU, bexiga neurogênica e hidronefrose, estes foram incluídos por trazerem risco de desenvolvimento de ITU.

No estudo prospectivo, período de abril a agosto de 2009, as crianças, referenciadas ao ambulatório com diagnóstico provável de ITU foram atendidas e durante a consulta médica foi realizada anamnese, exame físico e exposição do projeto de pesquisa através do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). Foram solicitados os exames de: urina I, urocultura com contagem de colônias e antibiograma.

As amostras de urina foram submetidas a testes de isolamento do microorganismo e de suscetibilidade aos antibióticos pelo método automatizado Vitek2®. Após a identificação das cepas, estas foram processadas para fins de

caracterização molecular para detecção de genes relacionados à produção de ESBL.

As crianças que apresentaram urocultura positiva realizaram USG do aparelho urinário. Após o término do tratamento da ITU, nova cultura de urina foi solicitada e em caso negativo o pedido de UCM era realizado imediatamente junto com o DMSA.

Para a realização deste estudo, o projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos do Núcleo de Medicina Tropical sob Protocolo nº 034/2008-CEP/NMT.

## 5.2 LOCAL DE ESTUDO

- Ambulatório do serviço de Nefrologia Pediátrica da FSCMPA para o atendimento das crianças
- Laboratório de microbiologia da FSCMPA para a realização das análises laboratoriais e cultivo.
- Laboratório de análises clínicas do CESUPA para a realização das análises laboratoriais e cultivo.
- Serviço de Radiologia da FSCMPA para realização de USG e UCM.
- Clínica Nuclear Diagnóstico para realizar as cintilografias dos pacientes.
- Laboratório de Biologia Molecular e Celular do Núcleo de Medicina Tropical para a caracterização molecular das cepas.

### 5.3 POPULAÇÃO DE ESTUDO

Crianças, de 0 a 16 anos de idade, atendidas no serviço de Nefrologia Pediátrica da FSCMPA e que tenham diagnóstico provável de ITU.

### 5.4 SELEÇÃO DA AMOSTRA

- **Coleta retrospectiva**: identificação dos casos de ITU, litíase renal, RVU, bexiga neurogênica e hidronefrose no livro de registro de atendimento ambulatorial. Identificados os casos, foi feita a solicitação dos prontuários ao Serviço de Arquivo Médico e Estatístico (SAME) da FSCMPA, para coleta dos dados.

A revisão dos prontuários foi feita seguindo ficha-protocolo elaborada para a pesquisa.

- **Coleta prospectiva**: as crianças, com suspeita clínica de ITU, referenciadas ao ambulatório de Nefrologia Pediátrica foram atendidas pela equipe médica do ambulatório que preencheu a ficha-protocolo após assinatura do TCLE pelos responsáveis legais destas crianças. Foram solicitados os exames: urina I, urocultura com antibiograma e contagem de colônias. A coleta de urina para realização desses exames laboratoriais foi feita no próprio ambulatório pelo médico pesquisador. Em crianças menores de três anos foi coletada por sondagem vesical e acima dos três anos por JM. As amostras de urina foram armazenadas em caixas isotérmicas com gelo reciclável e encaminhadas para laboratório de análises clínicas

da FSCMPA onde foi realizada a identificação das cepas e teste de suscetibilidade aos antibióticos.

Crianças internadas nas enfermarias de pediatria e berçário que apresentaram ITU confirmada, no período de abril a agosto de 2009, foram avaliadas pela equipe de Nefrologia Pediátrica e foram incluídas no estudo prospectivo. As cepas foram armazenadas para o estudo molecular no laboratório de Biologia Molecular e Celular do NMT.

### 5.5 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Crianças, de 0 a 16 anos de idade, atendidas no ambulatório de Nefrologia Pediátrica da FSCMPA, no período de janeiro de 2006 a março de 2009, com urocultura positiva.

Crianças, de 0 a 16 anos de idade, atendidas no ambulatório de Nefrologia Pediátrica da FSCMPA, com ITU por *E.coli* e *K.pneumoniae* identificadas no período de abril a agosto de 2009, e que os pais aceitaram participar da pesquisa após a assinatura do TCLE.

Crianças, 0 a 16 anos de idade, internadas nas enfermarias de pediatria e berçário que apresentaram ITU por *E.coli* e *K.pneumoniae*, no período de abril a agosto de 2009.

## 5.6 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Crianças, de 0 a 16 anos de idade, atendidas no ambulatório de Nefrologia Pediátrica da FSCMPA que não tiveram urocultura positiva, confirmando o diagnóstico de ITU e as que os responsáveis legais não aceitaram participar da pesquisa.

Crianças com diagnóstico de ITU, cujos prontuários estavam incompletos, não fornecendo dados para o preenchimento adequado da ficha-protocolo.

Crianças, de 0 a 16 anos de idade, atendidas no ambulatório de Nefrologia Pediátrica da FSCMPA e internadas na enfermaria e berçário da mesma instituição, no período de abril a agosto de 2009, que apresentaram ITU causada por outros microorganismos diferentes de *E.coli* e *K.pneumoniae*.

## 5.7 VARIÁVEIS ESTUDADAS

- Sexo,
- Idade,
- ITU recorrente,
- Microorganismos isolados na urocultura,
- Ausência ou presença de RVU na UCM,
- Presença de cicatrizes renais na cintilografia com DMSA,
- Alterações do sedimento urinário,

- Uso de quimioprofilaxia,
- Presença de doença de base,
- Presença dos genes *bla*<sup>TEM</sup>, *bla*<sup>SHV</sup> e *bla*<sup>CTX-M1</sup> em cepas de *E. coli* e *Klebsiella pneumoniae*.

As variáveis sexo, idade, ITU recorrente, ausência ou presença de RVU na UCM, presença de cicatrizes renais na cintilografia com DMSA, alterações do sedimento urinário, uso de quimioprofilaxia, presença de doença de base foram avaliadas apenas no estudo retrospectivo, a variável microorganismos isolados na urocultura foi avaliada nos dois estudos, retrospectivo e prospectivo e a variável presença dos genes *bla*<sup>TEM</sup>, *bla*<sup>SHV</sup> e *bla*<sup>CTX-M1</sup> em cepas de *E.coli* e *K.pneumoniae* foi avaliada apenas no estudo prospectivo.

## 5.8 DEFINIÇÕES

- Critérios clínicos utilizados para definir ITU provável: disúria ou polaciúria ou urgência miccional ou febre elevada (temperatura axilar > 38° C) ou dor lombar ou sinal de Giordano positivo (TOPOROVSKI, 2006).
- Diagnóstico confirmado de ITU: Urocultura positiva com urina coletada por jato médio (acima de 10<sup>5</sup> UFC/ml), urocultura positiva com urina coletada por sondagem vesical (10<sup>3</sup> UFC/ml) (TOPOROVSKI, 2006).

- Infecção do trato urinário recorrente: segundo episódio de infecção urinária, não importando se devido à recidiva ou reinfeção (NICE, 2007).
- Reinfeção: quando é demonstrado nova espécie bacteriana ou outro sorotipo da mesma bactéria na urina ou quando o paciente apresenta duas ou mais culturas negativas entre duas infecções causadas por microorganismos idênticos (NICE, 2007).
- Refluxo Vesico-Ureteral: retorno de urina para o ureter, uni ou bilateral, durante a micção ou mesmo nos intervalos (TOPOROVSKI, 2006).
- Cicatriz renal ou pielonefrítica: perda da integridade do parênquima renal (TOPOROVSKI, 2006).
- Bactérias ESBL: bactérias que produzem beta-lactamase de espectro estendido capazes de hidrolisar cefalosporinas a partir da terceira geração e aztreonam (HARADA, 2008).

## 5.9. MÉTODOS LABORATORIAIS

### 5.9.1. **Urinocultura**

- Técnica de coleta de urina:
  - Jato médio: Limpeza dos genitais externos com água e sabão neutro, retirar o excesso de sabão com gaze úmida, abrir o frasco (cuidado para não tocar o

interior), desprezar o primeiro jato e coletar diretamente no frasco apropriado (estéril e de boca larga) a porção intermediária.

- Sondagem vesical: limpeza da genitália com solução degermante tópica, aplicação de gel de xilocaína no intróito uretral, introdução de sonda uretral de alívio número 06 ou 08 e coletar urina em frasco apropriado.

- Armazenamento da amostra de urina: em temperatura ambiente até 2 horas após a coleta e depois armazenadas sob 20° C.
- Transporte da amostra de urina: em caixas isotérmicas, com gelo reciclável, mantendo temperatura entre 13° C e 23,5° C.
- Semeadura e isolamento:

Após homogeneização da amostra de urina, o material foi semeado em placa de MacConkey ou EMB (ágar eosina azul de metileno) e ágar Citrato de Simons, com alça calibrada 0,001 (1:1000) que constou inicialmente de uma estria central na superfície do ágar, seguido de um estriamento perpendicular á estria inicial. A placa semeada foi incubada por 18-24 horas a 35°C (+/- 2°), decorrido este tempo foi analisado as características das colônias no meio de cultura e feito a identificação através de provas bioquímicas, utilizando os meios de TSI (Triple Sugar Iron) e a série bioquímica (glicose, sacarose, lactose, motilidade, indol, Vermelho de Metila, Voges Proskauer, lisina, ornitina, urie, fenilalanina, H<sub>2</sub>S)

O número de UFC/mL será dado pela contagem das colônias com as mesmas características na placa, multiplicado pelo fator de diluição (1000).

As cepas bacterianas foram submetidas à prova de suscetibilidade antimicrobiana pelo método automatizado Vitek® 2 (laboratório bioMérieux®) através do software integrado Advanced Expert System (AES™). Foi usado como controle as cepas E.coli ATCC 25922 e K.pneumoniae ATCC 700603.

### 5.9.2. Caracterização molecular das cepas bacterianas

Após a identificação, as bactérias foram lavadas com solução salina fosfatada (PBS 2,5 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 7,4 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 14,0 mM NaCl) por 3 vezes, sendo submetidas a centrifugação de 5.000 rpm por 10 minutos. Após a última lavagem foi adicionado ao sedimento solução de LISE (10 mM NaCl, 10 mM EDTA, 1 mM Tris, 1% SDS) e adicionadas proteinase K (numa concentração final de 50 µg/mL), seguida de incubação a 42°C durante 2 horas.

### EXTRAÇÃO DE DNA

O DNA foi obtido por meio de extração utilizando o fenol: clorofórmio: álcool isoamílico (25:24:1), conforme Sambrook et al.(1989) e precipitado com 1/10 do seu volume pela adição de solução de acetato de sódio 3M, pH 7,0 e 2 ½ volumes de etanol absoluto gelado. O material foi mantido a -20°C por 8 horas ou mais, depois foi centrifugado a 10.000 x g por 10 minutos à temperatura ambiente. Todo o sobrenadante foi desprezado e o sedimento seco, depois suspenso em 30 µL de tampão TE (10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH 8,0) e mantido a 4°C até o momento do uso. Um microlitro (1µL) da amostra foi utilizado em cada reação de PCR.

### 5.9.3 Detecção dos genes <sup>bla</sup><sub>tem</sub>, <sup>bla</sup><sub>shv</sub> e <sup>bla</sup><sub>ctx-m1</sub>

## REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR)

Cada reação de PCR foi preparada em um volume final de 25  $\mu\text{L}$  contendo 2,5 U/ $\mu\text{L}$  de Taq DNA polimerase (Invitrogen®, catálogo10966-030), 200  $\mu\text{M}$  de cada dNTPs, 1,5 mM de  $\text{MgCl}_2$ , 50 mM de KCl, 100 mM de Tris-HCl, pH 8,5, com 50 ng dos oligonucleotídeos sintéticos (iniciadores) por reação e 1  $\mu\text{L}$  de DNA extraído.

As reações em cadeia de polimerase foram realizadas em termociclador (Biocycler MJ-96G) sendo submetidas a 94°C por cinco minutos para a desnaturação inicial, seguido de 35 ciclos nas seguintes condições de temperatura e tempo para cada par de primers descritos na tabela 1 e 72°C por 10 minutos para a extensão final.

Tabela 1- Condições de temperatura e tempo utilizados na PCR para os primers dos genes

	Gene <sup>bla</sup> TEM	Gene <sup>bla</sup> SHV	Gene <sup>bla</sup> CTX-M1
Desnaturação	94°C/1 minuto	94°C/1 minuto	94°C/1 minuto
Ligação	52°C/ 1 minuto	52°C/ 1 minuto	52°C/1 minuto
Extensão	72°C/1 minuto	72°C/1 minuto	72°C/1 minuto

O produto da PCR foi fracionado em eletroforese horizontal em gel de agarose a 1,5% (CONDA®-catálogo8012) em tampão TAE (40 mM Tris-acetato; 1 mM EDTA). O fragmento amplificado de DNA foi corado com brometo de etídio em concentração final de 0,5  $\mu\text{g/ml}$  e as bandas visualizadas em transluminador de UV. As imagens foram capturadas pelo fotodocumentador de géis (Vilber Loumart) para análises.

Os primers utilizados para amplificação foram dos genes que codificam  $\beta$ -lactamases,  $bla^{TEM}$ , que amplifica fragmento de 867pb,  $bla^{SHV}$  que amplifica 930pb e  $bla^{CTX-M1}$  que amplifica 544pb. Todos os marcadores foram produzidos pela Invitrogen® (Tabela 2).

Tabela 2- Primers usados para amplificar genes que codificam ESBL.

Gene	Sequência (5' → 3')	Referência
$bla^{TEM}$	ATAAAATTCTTGAAGACGAAA	JAIN, 2008
	GACAGT TACCAATGCTTAATCA	
$bla^{SHV}$	GGGTTATTCTTATTTGTCGC	JAIN, 2008
	TTAGCGTTGCCAGTCCTC	
$bla^{CTX-M1}$	TTTGCGATGTGCAGTACCAGTAA	EDELSTEIN, 2003
	CGATATCGTTGGTGGTGCCATA	

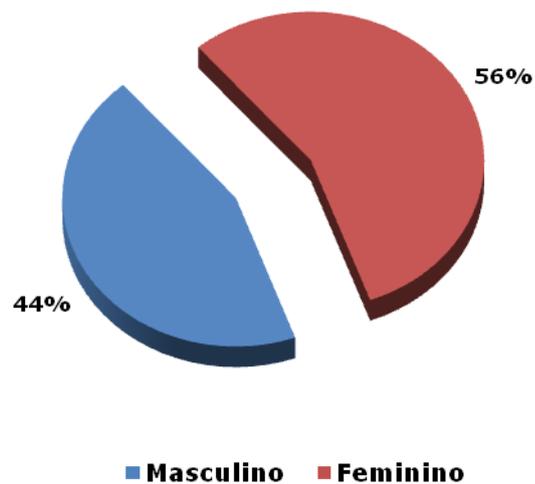
#### 5.10. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise dos dados foi realizada através do programa Excel e Bioestat 5.0., com o teste Qui –Quadrado (Pearson).

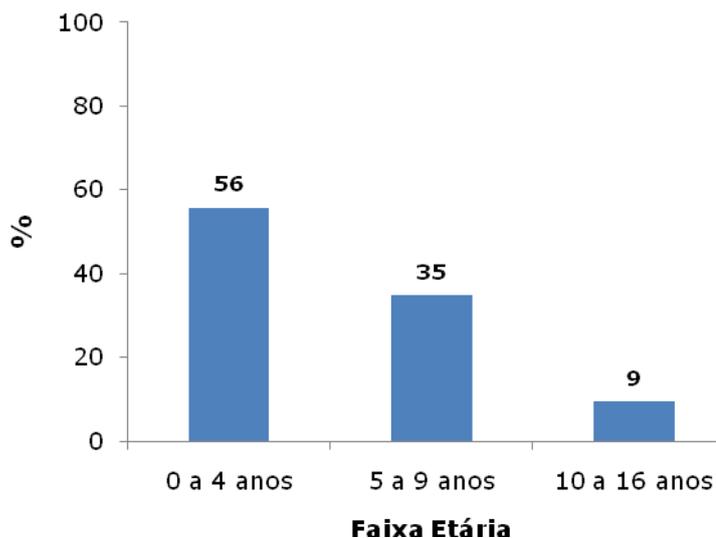
## 6 RESULTADOS

### DADOS CLÍNICOS

Dos 500 prontuários revisados, apenas 158 crianças tinham ITU confirmada. A distribuição do sexo e idade está demonstrada nas figuras 1 e 2. A faixa etária menor que 04 anos foi a mais freqüente e dentre essas 51% eram do sexo masculino.

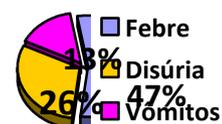


**Figura 1.** Distribuição por sexo das crianças com ITU.



**Figura 2.** Distribuição por faixa etária das crianças com ITU.

Os sintomas mais freqüentes foram: febre, disúria e vômitos (Figura 3). As crianças menores de dois anos foram as que mais apresentaram vômitos (70%).



**Figura 3.** Sintomas mais freqüentes em crianças com ITU na FSCMPA.

Dos 158 pacientes avaliados, 39 (19,5%) eram casos de ITU recorrente.

O exame de sedimento urinário apresentou alteração em apenas 56 casos, mostrando sensibilidade de 37% em relação ao número de piócitos (Tabela 3) e de 6% em relação ao nitrito.

Tabela 3. Número de piócitos nos exames de sedimento urinário de crianças com ITU na FSCMPA.

Urina I	n= 158	n %
Mais de 10 piócitos	60	38
Menos de 10 piócitos	98	62

n=número de exames

Em relação ao diagnóstico por imagem, foram solicitados todos os exames recomendados pelas diretrizes da AAP (1999): USG do aparelho urinário, UCM e DMSA, este último foi solicitado somente para avaliar a fase tardia (seis meses após o episódio de ITU) (Tabela 4).

Tabela 4. Perfil dos exames de imagem realizados por crianças com ITU na FSCMPA.

	Anormais	Normais
	n (%)	n (%)
USG	72 (53%)	86 (47%)
UCM	51 (35%)	107 (65%)
DMSA	30 (19%)	128 (81%)

n= número de exames

As crianças com anormalidades do trato urinário apresentaram risco cinco vezes maior ( $p=0,001$ ) de apresentar ITU que as crianças com trato urinário normal, portanto as alterações do trato urinário podem ser consideradas fator de risco para ITU. As anormalidades do trato urinário encontradas nos exames por imagem estão apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5. Anormalidades encontradas nos exames de imagem de crianças com ITU na FSCMPA.

	Anormalidades	n%
USG	Hidronefrose	34%
	Bexiga trabeculada	6%
	Litíase renal	5%
	Outros	8%
UCM	RVU	25%
	VUP	5%
	Bexiga trabeculada	5%
DMSA	Cicatrizes renais	19%

n= número de anormalidades

Cicatrizes renais estiveram presentes em 19% das crianças com ITU. Houve correlação positiva entre a presença de RVU e de cicatrizes renais como demonstrado na tabela 6, com p-valor de 0,000 ( $p < 0,05$ ) e entre anormalidades do trato urinário vistas no USG e cicatrizes renais como demonstrado na tabela 7, também com p-valor de 0,000 ( $p < 0,05$ ).

Tabela 6. Correlação do RVU com cicatrizes renais, em crianças com ITU, na FSCMPA.

Cicatrizes	RVU					
	Ausência		Presença		Total	
	Frequência	%	Frequência	%	Frequência	%
Ausência	108	84	20	16	128	81
Presença	12	40	18	60	30	19
Total	120	-	38	-	158	100

(pvalor =0,000)

Tabela 7. Correlação das anormalidades na USG e cicatrizes renais, em crianças com ITU, na FSCMPA.

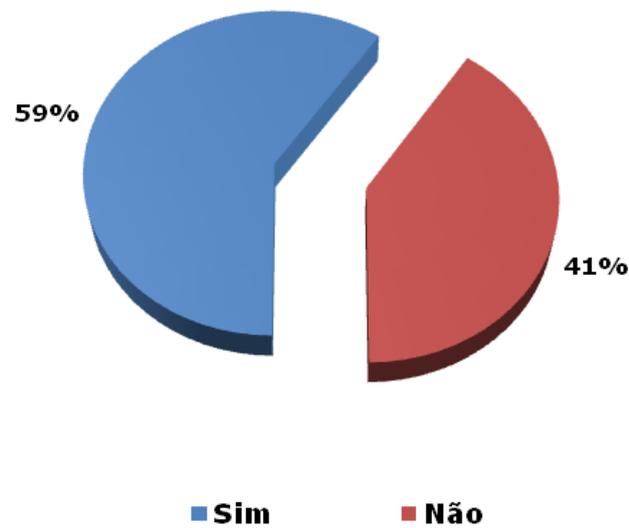
Cicatrizes	USG					
	Sem alterações		Alterações		Total	
	Frequência	%	Frequência	%	Frequência	%
Ausência	79	62	49	38	128	81
Presença	7	23	23	77	30	19
Total	86	-	72	-	158	100

(p valor=0,000)

A bexiga neurogênica foi a doença de base mais comum (13%) dentre as crianças com ITU.

A quimioprofilaxia foi instituída em 59% dos casos (Figura 4). O antibiótico mais utilizado foi a cefalexina, seguida de SMZ-TMP, nitrofurantoína e ácido nalidíxico. As correlações entre o uso de quimioprofilaxia e presença de

anormalidades do USG e UCM estão apresentadas nas tabelas 8 e 9, respectivamente.



**Figura 4.** Frequência do uso de quimioprofilaxia em crianças com ITU na FSCMPA.

Tabela 8. Correlação do uso de quimioprofilaxia com alterações da USG.

USG	Quimioprofilaxia					
	Não		Sim		Total	
	Frequência	%	Frequência	%	Frequência	%
Normal	48	56	38	44	86	54
Alterações	16	22	56	78	72	46
Total	64	-	94	-	158	100

Tabela 9. Correlação do uso de quimioprofilaxia com alterações da UCM.

UCM	Quimioprofilaxia					
	Não		Sim		Total	
	Frequência	%	Frequência	%	Frequência	%
Sem alterações	54	49	57	51	111	70
RVU	9	24	29	76	38	24
VUP	1	14	6	86	7	4
Bexiga trabeculada	0	0	2	100	2	1
Total	64	-	94	-	158	100

## PREVALÊNCIA DE BACTÉRIAS

A bactéria mais freqüente foi a *E.coli* seguida de *K.pneumoniae* e outras bactérias Gram-negativas e Gram-positivas. (Tabela 10)

As bactérias *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* e *Enterobacter sp.* foram mais prevalentes em crianças com alguma anomalia do trato urinário. Dos 10 casos de ITU causados por *Proteus mirabilis*, 5 (50%) estavam associados a RVU e dos 13 casos causados pela *Pseudomonas aeruginosa*, 12 apresentavam alteração do trato urinário, como RVU, VUP ou hidronefrose. E todas essas crianças que apresentaram ITU por *Pseudomonas aeruginosa* estavam sob uso de quimioprofilaxia com cefalexina. *Enterobacter sp.* foi causa de ITU em 06 crianças com alteração do trato urinário.

Tabela 10. Prevalência de bactérias causadoras de ITU em crianças, na FSCMPA, de janeiro de 2006 a agosto de 2009.

Bactérias	n=, %
<i>E.coli</i>	119 (60%)
<i>K.pneumoniae</i>	26 (13%)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13 (6,5%)
<i>Proteus mirabilis</i>	10 (5%)
<i>Enterobacter sp.</i>	10 (5%)
<i>Staphilococcus sp.</i>	08 (4%)
<i>K.oxytoca</i>	03 (1,5%)
<i>Morganella sp.</i>	03 (1,5%)
<i>Enterococos sp.</i>	02 (1%)
<i>Citrobacter freundii</i>	02 (1%)
<i>Acinetobacter sp.</i>	02 (1%)
<i>Serratia sp.</i>	01 (0,5%)

### **BACTÉRIAS ISOLADAS NO PERÍODO DE ABRIL A AGOSTO DE 2009**

Foram obtidas 43 cepas de bactérias, dentre estas cepas, 32 (74%) eram de *E.coli* e 11 (26%) de *K.pneumoniae*. Duas cepas de *K.pneumoniae* foram obtidas de uma mesma criança que estava internada no berçário por período prolongado, as demais foram obtidas de crianças diferentes. A maioria das cepas foi de origem comunitária apenas 11 foi de origem hospitalar. (Figura 5).

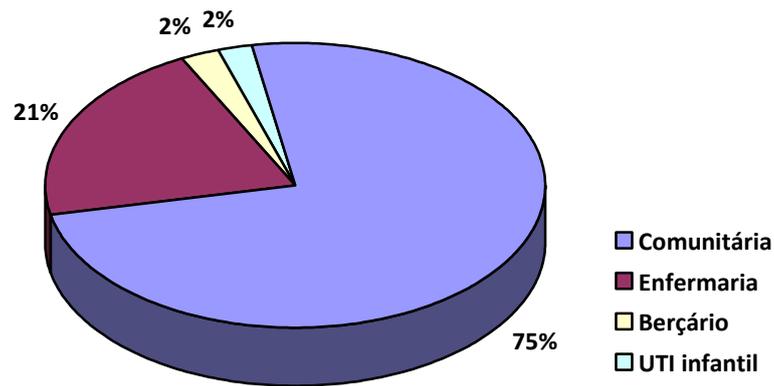


Figura 5. Distribuição das cepas de acordo com a origem da ITU em crianças na FSCMPA (abril a agosto de 2009).

O gene  $bla_{CTX-M-1}$  foi o mais prevalente, encontrado em 19 (44%) cepas, o gene  $bla_{TEM}$  em 17 (40%) cepas e o gene  $bla_{SHV}$  em 08 (19%) cepas (Figuras 6, 7 e 8). Em 16 (37%) cepas ocorreu associação dos genes, principalmente entre  $bla_{CTX-M-1}$  e  $bla_{TEM}$ .

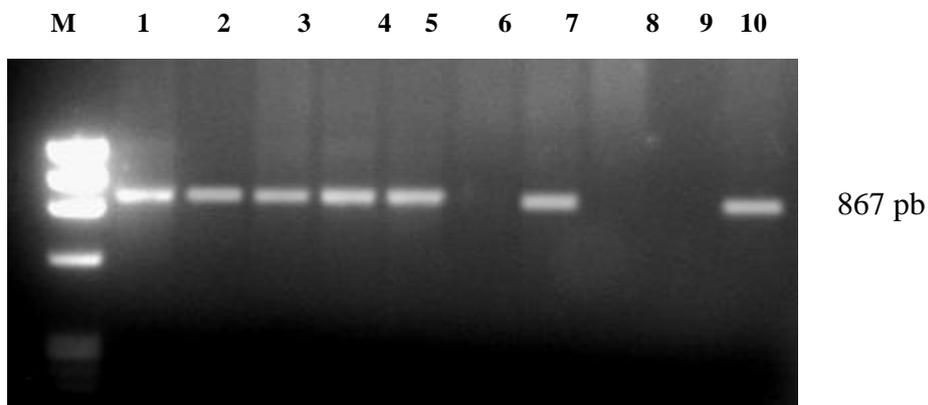


Figura 6. PCR com primer que amplifica o gene  $bla_{TEM}$  com fragmento de 867pb. M= Marcador de peso molecular  $\phi$  X 174/Hae; 1 a 5 e 7= amostra com presença de gene; 6 e 8= amostras com ausência de gene; 9= controle negativo; 10 = controle positivo.



Figura 7. PCR com primer que amplifica o gene <sup>bla</sup>CTX-M1 com fragmento de 544pb. M= Marcador de peso molecular  $\phi$  X 174/Hae; 2 a 4 e 7 a 10 = amostra com presença de gene; 1, 5, 6, e 11= amostras com ausência de gene; 12 = controle negativo; 13 = controle positivo.

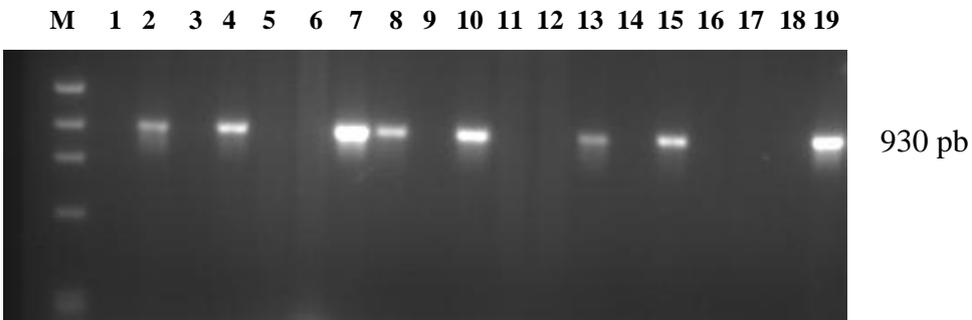


Figura 8. PCR com primer que amplifica o gene <sup>bla</sup>SHV com fragmento de 930pb. M= Marcador de peso molecular  $\phi$  X 174/Hae; 2, 4, 7, 8, 10, 13 e 15 = amostra com presença de gene; 1, 3, 5, 6, 9, 11, 12, 14, 16 e 17= amostras com ausência de gene; 18 = controle negativo; 19 = controle positivo.

O perfil de sensibilidade e resistência e presença dos genes <sup>bla</sup>CTX-M-1, <sup>bla</sup>TEM e <sup>bla</sup>SHV de cada cepa estão demonstrados na Tabela 11. A porcentagem de cepas resistentes a antibióticos comumente utilizados na prática clínica está apresentada na tabela 12.

Tabela 11. Caracterização genotípica das amostras de E.coli e K.pneumoniae obtidas de crianças com ITU, na FSCMPA.

Isolados	Fenótipo														Genes				
	AMP	AMP/SUL	PIP	PIP/ TAZ	CEF	CER	CEFO	CTX	CFT	CFP	AZT	IM	NI	SMZ	CIPR	AMI	TEM	SHV	CTX- M
Ec06	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	A	A	A
Ec08	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R	S	P	A	P
Kp16	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	I	R	S	S	A	A	A
Kp18	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	A	A	A
Ec19	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	P	A	P
Ec24	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	A	A	A
Ec38	R	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	P	A	P
Ec42	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S	I	R	S	R	A	A	A
Kp44	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	A	A	A
Kp45	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	A	A	A
Ec50	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	P	A	A
Kp53	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	P	P	P
Ec55	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	A	A	A
Ec58	R	R	R	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	P	P	P

Kp60	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	I	R	S	S	P	A	P
Kp67	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	A	P	P
Ec81	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	A	A	A
Ec85	R	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	P	A	P
Ec86	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	P	A	A
Ec87	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	A	A	A
Ec88	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	P	A	A
Kp89	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	A	P	P
Ec90	R	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	A	A	A
Kp91	R	S	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	I	R	S	S	A	P	A
Ec92	R	I	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	A	A	P
Ec93	R	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	A	A	P
Ec94	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	I	R	S	S	A	A	A
Ec95	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	A	A	A
Ec96	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S	S	P	A	P
Ec97	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	A	A	P

Ec98	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S	S	P	A	P
Ec99	R	I	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	A	P	A
Ec100	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	A	A	A
Kp101	R	S	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	A	A	A
Ec103	R	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	P	P	A
Kp104	R	R	R	S		R	R	R	R	R	R	S	S	R	S	R	P	P	P
Ec105	R	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	P	A	P
Ec106	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	A	A	A
Ec107	R	R	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	I	R	S	S	A	A	A
Ec108	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	P	A	P
Ec109	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	A	A	P
Ec110	R	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	P	A	P
Ec129	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	A	A	A

Kp=*Klebsiella pneumoniae*; Ec= *Escherichia coli*; AMP= Apicilina; AMP/SUL= Ampicilina e sulbactan; PIP= Piperacilina; PIP/TAZ- Piperacilina e tazobactan; CEF= Cefazolina; CER= Cefuroxima; CEFO= Cefotetan; CTX= Ceftriaxone; CTZ= Ceftazidima; CFP= Cefepime; AZT= Aztreonam; IM= Imipenem; NI= Nitrofurantoína; SMZ= Sulfametoxazol e trimetropim; CIPR= Ciprofloxacina; AMI= Amicacina. TEM= <sup>bla</sup>TEM, SHV= <sup>bla</sup>SHV, CTX-M= <sup>bla</sup>CTX-M1, S= sensível, R=resistente, I=intermediário, A=ausente, P=presente.

Tabela 12. Perfil de resistência a antimicrobianos de cepas de *E.coli* e *K.pneumoniae* obtidas de crianças com ITU na FSCMPA, no período de abril a agosto de 2009.

Antibióticos	<i>E.coli</i>	<i>K.pneumoniae</i>
Ampicilina	84%	100%
Ampicilina/Sulbactam	68%	18%
Piperacilina/Tazobactam	3%	5%
Ceftriaxone	12%	45%
Ceftazidima	12%	45%
Imipenem	0	18%
Amicacina	3%	45%
Ciprofloxacina	12%	0
Nitrofurantoína	0	18%
SMZ/TMP	81%	63%

O fenótipo ESBL esteve presente em 10 cepas, sendo 09 causadoras de ITU hospitalar e 01 de ITU comunitária. (Figura 9 e 10).

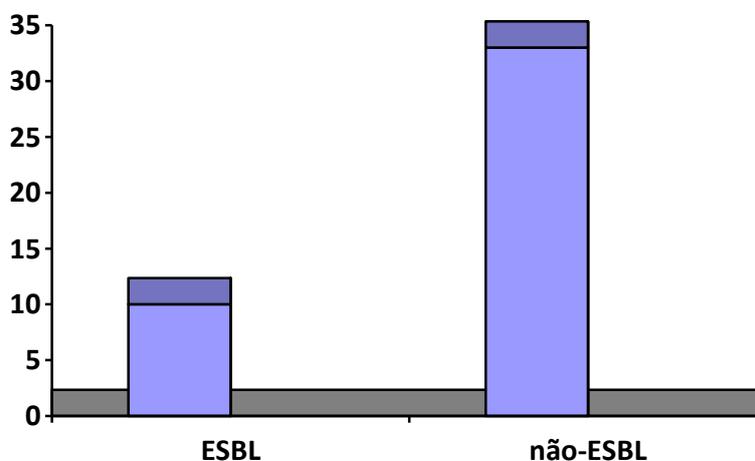


Figura 9. Distribuição das cepas obtidas de crianças com ITU, segundo o fenótipo ESBL.

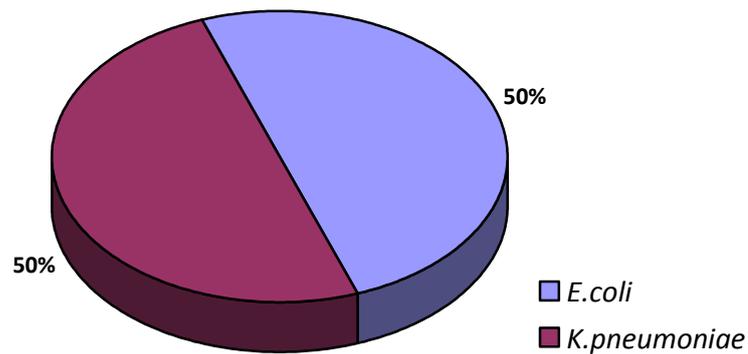


Figura 10. Distribuição das cepas ESBL, segundo as espécies bacterianas.

Os genes  $bla_{CTX-M-1}$ ,  $bla_{TEM}$  e  $bla_{SHV}$  foram encontrados em 70% das cepas ESBL (Tabela 13).

Tabela 13. Distribuição dos genes  $bla_{CTX-M-1}$ ,  $bla_{TEM}$  e  $bla_{SHV}$  nas cepas ESBL obtidas de crianças com ITU, na FSCMPA.

Cepas ESBL	Origem	$bla_{CTX-M-1}$	$bla_{TEM}$	$bla_{SHV}$
Ec08	Comunitária	+	+	-
Ec42	Hospitalar	-	-	-
Kp45	Hospitalar	-	-	-
Kp53	Hospitalar	+	+	+
Kp60	Hospitalar	+	+	+
Kp67	Hospitalar	+	-	+
Ec96	Hospitalar	+	+	-
Ec98	Hospitalar	+	+	-
Kp104	Hospitalar	+	+	+
Ec129	Hospitalar	-	-	-

Kp = *K. pneumoniae*, Ec = *E. coli*, += presença do gene, - = ausência do gene.

Dentre as cepas com o gene  $bla^{TEM}$ , todas eram resistentes a ampicilina, assim como as que apresentavam o gene  $bla^{SHV}$ . O gene  $bla^{CTX-M-1}$  também foi relacionado a resistência a ampicilina, em 89% das cepas.

## 7 DISCUSSÃO

As crianças mais jovens, neonatos e lactentes, são as mais susceptíveis a ITU. Em nosso estudo a faixa etária mais acometida foi a de menor de quatro anos de idade concordando com os resultados de Gbadegesin (2006), NICE (2007) e Bergëron (2009) e dentre estas crianças, 51% eram do sexo masculino, que também vai ao encontro dos resultados de outras séries clínicas como a de Prelog (2008) e Tseng (2008), onde o sexo masculino prevalece nos primeiros meses de vida e isto tem sido relacionado com a não circuncisão, que dificulta a higiene da genitália, facilitando a colonização do segmento de pele próximo ao intróito uretral por bactérias uropatogênicas, como visto por Malone (2005).

A sintomatologia da ITU pode ser específica, com sinais localizatórios, como disúria, mas pode também se manifestar com sintomas inespecíficos, comuns a outras nosologias, como febre, vômitos, irritabilidade e hiporexia. Os sintomas inespecíficos são os mais comuns em menores de 04 anos e neste estudo os sintomas, febre e vômitos foram os mais relatados dentro desta faixa etária, estando de acordo com os achados do estudo de Coulthard (2009) onde febre e vômitos foram muito mais freqüentes nos menores de 03 anos. As diretrizes orientadas pelo estudo NICE (2007) enfatizam a importância de distinguir a ITU em alta e baixa, e esta distinção clínica é feita utilizando a presença de febre  $\geq 38^{\circ}\text{C}$  como possível indicador de ITU alta. No nosso estudo a febre foi o sintoma mais encontrado, não se sabe o grau, pois não havia relatos nos prontuários

A ITU recorrente é outro desafio para os médicos, pois evitar que as crianças repitam os episódios de ITU é sinônimo de prevenção do desenvolvimento de cicatrizes renais, e quem sabe no futuro, da hipertensão arterial e insuficiência renal.

Diversos autores, como Riyuzo (2007) e Koch (2003) relatam que crianças com alguma anomalia do trato urinário são mais predispostas a ITU recorrente, pela estase do fluxo urinário que funciona como meio de cultura para diversas bactérias, como achou Schlager (2008) estudando crianças com bexiga neurogênica que eram persistentemente colonizadas por bactérias uropatogênicas, apesar de realizarem diariamente cateterismo urinário para o esvaziamento da bexiga, o mesmo não era completo. A prevalência de ITU recorrente em nosso estudo foi de 19,5% e de 77% de ITU recorrente associada a alguma anomalia do trato urinário, em nosso estudo a taxa de prevalência foi menor que a taxa encontrada por Ryuzo (2007), porém a de associação com anomalias foi maior, talvez pela autora ter excluído as crianças com bexiga neurogênica, o que não foi feito neste estudo.

Comparar dados de prevalência entre os diversos países e o Brasil foi difícil, pois encontramos poucos estudos atualizados relatando a prevalência de ITU na infância, as publicações referem mais dados sobre ITU em mulheres adultas. Estudos de prevalência sobre a ITU na infância ainda são pouco realizados no Brasil, especialmente na região Norte, por isto este estudo contribuiu para ampliação do conhecimento do perfil clínico e epidemiológico da ITU na infância.

O conhecimento da prevalência da ITU na infância e do perfil clínico-epidemiológico facilitam a suspeição diagnóstica em casos inespecíficos, como nos menores de um ano que comparecem nas unidades de Urgência/Emergência, com queixa de febre, onde a ITU precisa entrar no diagnóstico diferencial, como já foi demonstrado por estudos que a ITU é uma das causas mais comuns de febre de origem desconhecida em crianças atendidas em pronto atendimento. Muitas vezes, as diretrizes sob manejo clínico de determinada doença orientam normas e rotinas baseadas em estudos realizados em regiões que nem sempre condizem com uma

realidade universal, por isto conhecer o perfil da ITU na infância em nossa região, permite que a comunidade médica aplique de maneira mais segura os cuidados orientados pela literatura.

O seguimento radiológico é de suma importância na ITU em crianças, por possibilitar a identificação de anormalidades anatômicas, muitas vezes congênitas, que atuam como meio de crescimento bacteriano e forma de ascensão de bactérias do trato urinário inferior para o superior, como ocorre no RVU e tudo isto pode levar a casos de ITU. Em nosso estudo, as crianças receberam a conduta adequada segundo as diretrizes da AAP (1999) em relação ao seguimento radiológico da ITU, diferente do que Cohen encontrou em 2005, onde metade das crianças não recebeu o seguimento correto de investigação por imagem. É importante, lembrar que o serviço é composto apenas por médicos com especialidade em Nefrologia Pediátrica, o que facilita a adequação a diretrizes do manejo de ITU segundo a AAP, ainda não há estudos avaliando a conduta dos Pediatras frente à investigação por imagem dos casos com ITU na FSCMPA.

Nos achados de nosso estudo, o DMSA foi utilizado apenas para avaliar a fase tardia da ITU. Alguns estudos, como os de Brader (2008) e Montini (2009) estão sendo realizados mostrando opções de substituição do DMSA da fase aguda, por exemplo, pela combinação de USG do aparelho urinário convencional e com doppler, o qual permite visualizar lesões sugestivas do processo inflamatório da fase aguda, como a vasoconstrição e, além disto, é um exame mais acessível e de menor preço, o que diminuirá os custos e a exposição do paciente a radioatividade. O exame de DMSA da fase aguda não foi realizado pelas crianças do nosso estudo, pelo difícil acesso a este exame no SUS.

As lesões encontradas nos exames de imagem, hidronefrose, litíase renal, RVU, VUP e as cicatrizes renais estão de acordo com os dados de Brader (2008) e Montini (2009). A associação de ITU e RVU ocorreu em 25% dos casos concordando com os achados de Silva (2004), Riyuzo (2007) e Luk (2009), o qual encontrou dentre 55 crianças com cicatriz renal, 41 com RVU, como em nosso estudo em que a correlação do RVU com as cicatrizes renais foi estatisticamente significativa concordando também com os achados de Soylu (2008), demonstrando a importância do seguimento clínico-radiológico das crianças com ITU para diagnosticar tais lesões.

Além dos resultados da UCM e do DMSA, os resultados da USG do aparelho urinário também foram condizentes com os de Luk (2009) e Montini (2009) que encontraram a hidronefrose como a alteração mais comum visualizada pela USG.

Segundo Gbadegesin (2006), as anormalidades do trato urinário favorecem o aparecimento de ITU, indo ao encontro dos achados de nosso estudo, onde as anormalidades do trato urinário foram fator de risco para ITU ( $p=0,001$ ).

O exame do sedimento urinário, neste estudo, mostrou baixa sensibilidade para o diagnóstico de ITU, concordando com a referência de Hellerstein (2006) aos métodos de avaliação do sedimento urinário, dando enfoque a procalcitonina como melhor método auxiliar para prever ITU, infelizmente este exame não está disponível na FSCMPA.

De acordo com as diretrizes da AAP (1999) e de NICE (2007), o tratamento antibiótico da ITU de alto risco pode ser feito com antibiótico endovenoso por três dias, em ambiente hospitalar ou regime de hospital-dia, e complementado com antibiótico oral por mais 10 dias. Bérgeron et al. (2009) em uma coorte, considerou possível nas crianças menores de três meses, o tratamento com medicamento

endovenoso em regime de hospital-dia, isto poderia ser considerado nos centros médicos de nossa cidade, pois diminui os custos hospitalares, diminui a exposição do paciente a germes do ambiente hospitalar, que normalmente são mais virulentos e diminui também o desconforto de uma hospitalização tanto para o paciente, quanto para a família, mas devemos considerar sempre se a família terá condições de seguir o tratamento, adaptando as recomendações da literatura a nossa realidade.

A prevenção de novos episódios de ITU e conseqüentemente nova agressão ao parênquima renal é realizada com o conhecimento precoce da presença de alguma anomalia do trato urinário e através da instituição de quimioprofilaxia, que é a utilização de doses menores de antibióticos, diariamente e por longo período. Encontramos uso de quimioprofilaxia em 49% dos menores de dois anos e em 79,3% dos casos com alguma anomalia do trato urinário, concordando com AAP (1996), Méndez (2007) e Riyuzo (2007) que recomendam que a quimioprofilaxia seja utilizada em crianças com anormalidades do trato urinário não tratadas cirurgicamente.

A quimioprofilaxia na ITU com trato urinário normal é questionada por alguns autores, como Schlager (2009), Koch (2003) e Cheng (2009), este último autor comparou dois grupos de crianças recebendo quimioprofilaxia, com cefalexina e SMZ-TMP e observou mudança do perfil de uropatógenos causadores de ITU ocorrida após o uso de antibióticos em dose profilática, antes desses medicamentos a ITU era causada basicamente por *E.coli*. No grupo que recebia SMZ-TMP só houve mudança para germes menos comuns, como *Pseudomonas* e *Enterococcus faecalis*, já no grupo que recebia cefalexina houve, além da mudança dos germes, um aumento do número de bactérias com fenótipo ESBL. Porém, é difícil escolher entre duas conseqüências graves, a resistência bacteriana e a possibilidade de perda

de áreas de parênquima renal, pois o evento inflamatório ocorre independente da presença de malformação do trato urinário.

A *E.coli* foi o patógeno causador de ITU, mais frequente na série estudada, tanto na ITU adquirida em ambiente hospitalar como na adquirida na comunidade, concordando com todos os artigos revisados. Após a *E.coli*, os microorganismos causadores de ITU mais freqüentes foram a *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa* e *Enterobacter*. A *P. aeruginosa* esteve presente em 92% dos casos de ITU associados à anomalia do trato urinário e ITU recorrente e todos estavam sob uso de quimioprofilaxia com cefalexina indo ao encontro dos achados de Friedman (2006) e Bouza (2007), que referem que a bactéria *P.aeruginosa* causa geralmente ITU em crianças com alguma anomalia do trato urinário. E o achado da associação de casos de ITU por *P.aeruginosa* em uso de quimioprofilaxia, também vai ao encontro dos autores Koch (2003) e Schlager (2009), que o uso de profilaxia pode funcionar como pressão seletiva para resistência bacteriana, favorecendo o acometimento por germes mais agressivos e diferentes da *E.coli*.

A resistência antimicrobiana tem sido um fator de grande importância a ser considerado no momento do tratamento da ITU em crianças, que é habitualmente empírico. Bactérias com perfil de ampla resistência têm aumentado bastante, principalmente pelo uso indevido e indiscriminado de antibióticos. O perfil de sensibilidade mudou tanto nas drogas mais comumente usadas quanto nas drogas de largo espectro. Em nosso estudo, 84% das cepas de *E.coli* e 100% das cepas de *K.pneumoniae* foram resistentes a ampicilina e 81% de *E.coli* e 63% de *K.pneumoniae* foram resistentes a SMZ-TMP e isto já é encontrado no mundo inteiro e muitos estudos consideram estas drogas insuficientes para o tratamento empírico da ITU pelo alto índice de resistência concordando com os achados de Oplustil

(2001) que em um estudo multicêntrico, denominado RESISTNET, realizado em 06 capitais brasileiras, Brasília, Curitiba, Salvador, Porto Alegre e Fortaleza, para observar o perfil de resistência de *K.pneumoniae*, *E.coli*, *Salmonella sp.* e *Shigella sp.* encontrou alta percentagem de resistência a ampicilina e SMZ/TMP entre todas as cepas, assim como encontramos em nosso estudo. Em relação ao antibiótico mais efetivo, encontramos o imipenem 100% ativo em cepas de *E.coli* e a ciprofloxacina 100% efetiva nas cepas de *K.pneumoniae*, concordando com os achados de Oplustil.

O Perfil ESBL foi encontrado em 10 cepas, sendo 50% *K.pneumoniae* e 50% *E.coli*, concordando com os achados dos autores Mardeni (2008), Prelog (2008) e Kõljalg (2009).

A ITU, comumente causada por bactérias Gram-negativas, também tem potencial de evoluir para bacteremia e sepse (HEWITT, 2009), doenças que são frequentemente tratadas com beta-lactâmicos de espectro estendido, por isso o surgimento de bactérias ESBL preocupa tanto a classe médica. Nas crianças isso se torna ainda mais importante, pois a antibioticoterapia usada nesta faixa etária é composta pelos beta-lactâmicos e monobactâmicos e que não terão ação nas bactérias com fenótipo multiresistente, restando pouca opção para o tratamento, como o grupo dos carbapenens e quinolonas, que não são de fácil e ampla disponibilidade em centros médicos e ainda na infância, as quinolonas são consideradas drogas de segunda linha, pelas lesões que causaram nas cartilagens de ratos jovens, hoje o uso destes medicamentos na infância é um pouco maior, porém ainda é restrito (HARADA, 2008; QIN, 2008; DROPA, 2009; SONG, 2009).

Desde o surgimento das bactérias com fenótipo ESBL, provas diagnósticas têm sido desenvolvidas para melhor identificá-las, porém as provas fenotípicas

apenas presumem a presença destas bactérias. Para identificar bactérias produtoras de ESBL, a caracterização molecular é mais fidedigna, e o método mais comum para detectar a presença de  $\beta$ -lactamases é a técnica de PCR utilizando primers de oligonucleotídeos específicos para gene de  $\beta$ -lactamase (JAIN, 2008), e por esta razão foi adotado neste estudo. A tipagem molecular, a caracterização genotípica de microorganismos, é uma importante ferramenta epidemiológica para determinar a prevalência de cepas dentro de uma população e para monitorar a emergência e disseminação de patógenos específicos, especialmente de bactérias resistentes a múltiplas drogas, como as ESBLs, que tem sido alvo constante dos centros de controle de infecção hospitalar (TOSIN, 2003), por isto precisamos conhecer a prevalência dessas bactérias em nossa região.

No Brasil, há relatos da presença de bactérias ESBL, quase em todas as regiões, porém a maioria utilizou somente a caracterização fenotípica; foram encontradas apenas publicações de estudos com caracterização molecular realizados na região sudeste. Freitas (2003), no Rio Grande do Sul, encontrou 33% de *K.pneumoniae* e 13% de *E.coli* produtoras de ESBL isoladas de pacientes hospitalizados. Nogueira (2006), na cidade de Curitiba, identificou 57,4% de isolados de *K.pneumoniae* produtoras de ESBL, seguido de 21,4% de *K.oxytoca*, 7,2% de *E.coli* e 21,6% de outras espécies de enterobactérias, todas obtidas de pacientes hospitalizados. Em Goiânia, Santos (2008) achou uma prevalência de ESBL de 25% em isolados de *K.pneumoniae* isoladas de pacientes de dois hospitais da cidade, em nenhum destes estudos foi realizada a genotipagem de cepas. Já, Dropa (2009), em São Paulo, encontrou 127 amostras produtoras de ESBL coletadas de pacientes hospitalizados, independente da idade e pela caracterização genotípica encontrou o gene <sup>bla</sup>SHV em 63% dos isolados, o <sup>bla</sup>CTX-M em 33,9% e o gene <sup>bla</sup>TEM em

17,3%, concordando com os achados do nosso estudo, presença de genes  $bla_{CTX-M}$ ,  $bla_{TEM}$  e  $bla_{SHV}$ .

No mundo inteiro há relatos da circulação de cepas produtoras de ESBL, porém a maioria dos estudos caracteriza cepas isoladas de vários materiais humanos e de diferentes idades, poucos isolaram especificamente de urina de crianças como o nosso estudo. Qin (2008), em Washington, realizou estudo com cepas obtidas de crianças, porém oriundas de infecção de vários materiais humanos, sangue, urina, fezes, líquido peritoneal, aspirado traqueal. No Brasil, também os estudos publicados são realizados em pacientes hospitalizados, independente da idade, como os de Freitas (2003), Nogueira (2006), Minarini (2007) e Santos (2008).

Mais de 300 ESBL já foram descritas, a maioria delas derivadas de mutações de vários pontos dos genes TEM e SHV e da transferência horizontal de genes CTX-M. A distribuição de bactérias ESBL é universal, porém o perfil genotípico destas cepas parece estar relacionado com certos países e áreas geográficas, ou porque ainda não atingiram estes locais ou porque ainda não foram caracterizados. Na América do Norte, há a circulação dos genes TEM, CTX-M, CMY, DHA, ACC, na Europa, TEM e CTX-M também foram encontrados (QIN, 2008; MONSTEIN, 2009), na América Latina, a CTX-M é considerada endêmica (VILLEGAS, 2008), ratificando o que encontramos nesta pesquisa, maior prevalência do gene CTX-M, com circulação, também de outros genes como TEM e SHV. No Brasil, em Minas Gerais, Minarini (2007) encontrou os genes TEM, SHV, CTX-M1, CTX-M2 e CTX-M9, similar ao que encontramos.

Em nosso estudo, as cepas de *E.coli* e *K.pneumoniae*, possuíam principalmente os genes  $bla_{TEM}$  e  $bla_{CTX-M1}$ , concordando com os achados dos

autores Dropa (2009), Song (2008), Qin (2008) e Gaitán (2009). O gene <sup>bla</sup>CTX-M1 foi ligeiramente mais prevalente que o gene TEM, 18:16 e bem mais prevalente que o gene SHV 18:8, concordando com a referência de Villegas (2008), que CTX-M é endêmica na América do Sul, incluindo Brasil.

Segundo Jain (2008), a associação de genes que determinam a produção de  $\beta$ -lactamases de espectro estendido é muito comum, encontramos 37% de cepas com mais de um gene determinante de resistência.

A detecção apenas do fenótipo de bactérias não permite que seja feita a identificação de bactérias produtoras de  $\beta$ -lactamases em 100% das cepas, pois algumas podem ter o gene e ainda não terem manifestado resistência antimicrobiana, talvez por ainda não terem recebido estímulo específico, como a pressão de drogas (JAIN, 2008). Em nosso estudo 11 cepas apresentavam algum dos genes que expressam as enzimas  $\beta$ -lactamase de espectro estendido e não tinham fenótipo de ESBL. Em contrapartida, das 10 cepas com fenótipo de ESBL, 03 não apresentavam nenhum dos genes pesquisados, nem TEM, SHV ou CTX-M1, provavelmente, estão dentre as cepas com outros genes determinantes de ESBL, como CMY ou outras variantes de CTX-M.

A maioria dos artigos relaciona os genes TEM e SHV apenas com o fenótipo ESBL, mas precisamos lembrar que esses genes estão relacionados também com a produção de enzimas  $\beta$ -lactamases de baixo espectro e somente a partir das mutações destes genes é que surgiram as ESBLs (HARADA, 2008). Em nosso estudo as 11 cepas que tinham os genes TEM e SHV não tinham fenótipo ESBL, mas eram praticamente 100% resistentes a ampicilina e ampicilina com sulbactam.

A disseminação dos genes é facilitada pela transmissão entre cepas, através dos plasmídeos e pela transmissão de cepas entre pessoas, quer seja no ambiente

hospitalar ou comunitário, que é facilitada pela não higienização adequada das mãos ou de materiais utilizados na prática médica, como relatado pelos autores Gaitàn (2009), Taneja (2008) e Minarini (2007). Os pacientes que receberam alta hospitalar após tratamento de infecções por bactérias ESBL ou não, podem continuar albergando em seu intestino cepas virulentas, o que permite a disseminação no ambiente comunitário, agravada pela falta de higiene e pela imigração, que não podemos esquecer como um agravante da disseminação para diversas regiões geográficas.

Acreditamos que este é o primeiro estudo em que cepas de bactérias produtoras ou não de ESBL isoladas de urina de crianças foram caracterizadas genotipicamente, pois não encontramos nenhuma publicação a respeito. Houve grande dificuldade na realização deste tipo de estudo, pois o armazenamento de cepas não é realizado nos laboratórios, após os exames de rotina as amostras são descartadas, o que dificultou a comparação dos resultados com períodos anteriores. Este estudo vem demonstrar a importância do armazenamento de cepas para que pesquisas futuras possam identificar novos patógenos circulantes com os diversos perfis de resistências possibilitando a comissão de controle de infecção hospitalar instituir medidas terapêuticas e preventivas mais direcionadas.

As cepas com fenótipo ESBL encontradas neste estudo foram obtidas em 90% de crianças hospitalizadas, concordando com os achados de Dropa (2009), Gaitàn (2009) e Monstein (2009) que encontraram maior prevalência de germes ESBL no ambiente hospitalar, embora este fenótipo já esteja se estendendo para as infecções comunitárias, como encontramos uma (10%) cepa obtida de ITU comunitária concordando com os achados de Minarini (2008) que encontrou cepas ESBL (18%) em ITUs comunitárias, no sudeste do Brasil. Este estudo é um dos

primeiros a apontar a prevalência, distribuição e caracterização genotípica de cepas de *E.coli* e *K.pneumoniae* produtoras ou não de ESBL, isoladas de crianças com ITU hospitalar e comunitária na região Norte.

Ter conhecimento do perfil de sensibilidade dos germes circulantes permite conduzir mais adequadamente o tratamento das infecções em todos os ambientes, hospitalar e comunitário, evitando falhas terapêuticas. Este estudo vem contribuir com o conhecimento das cepas que estão circulando no ambiente da FSCMPA. E como foi visto as bactérias causadoras de ITU são resistentes a maioria da antibioticoterapia empírica, habitualmente utilizada no tratamento de crianças com ITU, o que foi observado, também pelos autores Tseng (2008) e Minarini (2007).

Acreditamos que a detecção dessas cepas circulando no ambiente de prática médica, é mais um alerta para o uso criterioso de antimicrobianos e para a importância de seguir as orientações recomendadas pelos centros de controle de infecção hospitalar, contribuindo com a prevenção do surgimento de outras variantes produtoras de beta-lactamases em nosso meio.

## 8 CONCLUSÃO

- A ITU na infância é freqüente em meninas e em crianças com menos de quatro anos de idade e os sintomas inespecíficos, febre e vômitos, são os mais comuns nesta faixa etária.
- A ITU recorrente é freqüente na infância, principalmente associada a anormalidades do trato urinário.
- As anormalidades do trato urinário são fatores de risco para ITU em crianças.
- As crianças com ITU podem desenvolver cicatrizes renais.
- O RVU foi a anomalia mais comum da UCM e apresentou correlação positiva com as cicatrizes renais.
- Houve resistência de 84% e 100% a ampicilina e de 81% e 63% a SMZ-TMP dentre cepas de *E.coli* e *K.pneumoniae*, respectivamente.
- A quimioprofilaxia deve ser instituída em crianças com ITU e anormalidades do trato urinário, porém deve ser usada com cautela nas crianças com ITU e trato urinário normal, pelo risco de predispor a circulação de germes resistentes.
- A *E.coli* foi o mais frequente microorganismo causador de ITU.
- Os genes <sup>bla</sup>TEM, <sup>bla</sup>SHV e <sup>bla</sup>CTX-M1 estão presentes em cepas de *E.coli* e *K.pneumoniae* com fenótipo ESBL isoladas de crianças com ITU na região Norte, em Belém.
- O gene <sup>bla</sup>CTX-M1 foi o mais prevalente dentre cepas de *E.coli* e *K.pneumoniae* com fenótipo ESBL isoladas de crianças com ITU.

- Os genes *bla*<sup>TEM</sup> e *bla*<sup>SHV</sup> estão presentes em cepas de *E.coli* e *K.pneumoniae* resistentes a cefalosporinas de baixo-espectro isoladas de crianças com ITU na região Norte.
- Foi encontrada uma cepa ESBL em um caso de ITU comunitária na infância.
- A terapêutica empírica da ITU na infância deve ser utilizada de acordo com o perfil de sensibilidade dos microorganismos mais prevalentes em um dado ambiente hospitalar ou comunitário.
- Este estudo contribuiu para o conhecimento do perfil de resistência antimicrobiana das bactérias mais freqüentes causadoras de ITU em crianças, menores de 16 anos de idade, na FSCMPA, permitindo estabelecer uma relação entre o uso de antimicrobianos e a resistência bacteriana, permitindo ainda programar recomendações para o uso racional de antibióticos, precauções de contato e vigilância ativa de áreas de alto risco.

## 10 REFERÊNCIAS

ACAR, B. et al. Risk factors for nephrolithiasis in children. **World Journal Urology**, v.26, p.627-630, sep.2008.

AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS (AAP), COMMITTEE ON QUALITY IMPROVEMENT, SUBCOMMITTEE ON URINARY TRACT INFECTION. Practice parameter: the diagnosis, treatment, and evaluation of the initial urinary tract infection in febrile infants and young children. **Pediatrics**, v. 103, p. 843-852, 1999.

ARISOY, M. et al. Relationship between susceptibility to antimicrobials and virulence factors in paediatric Escherichia coli isolates. **International Journal of Antimicrobials Agents**, v. 31S, p.S4-S8, 2008.

BALAT, A., KARAKÖK, M., GÜLER, E. Local defense systems in the prepuce. **Scandinavian Journal of Urology and Nephrology**, v.42, p.63-65, 2008.

BÉRGERON, M.J. et al. Urinary tract infections in 1-to-3-month-old infants: ambulatory treatment with intravenous antibiotics. **Pediatrics**, v.124, p.16-22, 2009.

BIASSONI, L., CHIPPINGTON, S. Imaging in urinary tract infections: current strategies and new trends. . **Seminars in Nuclear Medicine**, United States, v.38, n.1, p.56-66, jan., 2008.

BLATT, J.M, MIRANDA, M.C. Perfil dos microrganismos causadores de infecção do trato urinário em pacientes internados. **Revista Panamericana de Infectologia**, v.7, n.4, p.10-14, out-dez, 2005.

BOUZA, E.M. Perfil etiológico de las infecciones urinarias y patrón de sensibilidad de los uropatógenos. **Anales de Pediatría**, Barcelona, v. 67, n.5, p. 461-468, novembro, 2007. **European Radiology**, v.18, p.2981-2989, 2008.

BRADER, P. et al. Value of comprehensive renal ultrasound in children with acute urinary tract infection for assessment of renal involvement: comparison with DMSA scintigraphy and final diagnosis.

BROCKMANN, V. P., IBARRA, G.X. Etiología del síndrome febril agudo sin foco en niños bajo 36 meses de edad que consultan a un servicio de urgencia. **Revista Chilena de Infectología**, Chile, v.24, n.1, p.33-39, feb., 2007.

CHENG, C.H., TSAU, Y.K. Comparison of urovirulence factors and genotypes for bacteria causing acute lobar nephronia and acute pyelonephritis. **Pediatric Infectious Diseases Journal**, United States, v.26, n.3, p. 228-232, mar, 2007.

CHENG, C.H. et al. Antibiotic resistance patterns of community-acquired urinary tract infections in children with vesicoureteral reflux receiving prophylactic antibiotic therapy. **Pediatrics**. United States, v.122, n.1, p.1212-1217, junho, 2009.

CHEVALIER, I. et al. Antibiotic prophylaxis for childhood urinary tract infection: a national survey. **Journal of Pediatrics and Child Health**, v.44, p.572-578, 2008.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. M2-A. Clinical and laboratory Standards Institute, Wayne, PA.  
[http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuai/clsi/clsi\\_OPASM2A8.pdf](http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuai/clsi/clsi_OPASM2A8.pdf) (acessado em 06 de outubro de 2009).

COHEN, A.L., RIVARA, F.P., DAVIS, R. Compliance for the medical care of first urinary tract infections in infants: a population-based study. **Pediatrics**, v.115, n.6, p.1474-78, junho, 2005.

CONWAY, P.H. Recurrent urinary tract infections in children: risk factors and association with prophylactic antimicrobials. **JAMA**, United States, v.298, n.2, p. 179-186, july, 2007.

COULTHARD, M.G., LAMBERT, H.J., KEIR, M.J. Do systemic symptoms predict the risk of kidney scarring after urinary tract infection. **Archives of Disease in Childhood**, v.94, p.278-281, 2009.

DROPA, M. B. et al. Beta-lactamases de espectro estendido em Enterobacteriaceae isoladas de um Hospital Público no Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.51, n.04, julho, 2009.

ESPARIS, C.M. et al. Aspectos biológicos e moleculares de amostras uropatogênicas de Escherichia coli isoladas na cidade do Rio de Janeiro. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 39, n.6, p. 57-61, nov-dez., 2006.

FAUST, W.C., POHL, H.G. Role of prophylaxis in vesicoureteral reflux. **Current Opinion Urologic**, United States, v.17, n. 4, p.252-256, july, 2007.

FREITAS, A.N.P., MACHADO, D.P., SOARES, F.S.C. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in Klebsiella spp. and Escherichia coli obtained in a Brazilian teaching hospital: detection, prevalence and typing molecular. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 34, n. 4, p., 2003.

FRIEDMAN, S.et al. Clinical and laboratory characteristics of non-E.coli urinary tract infections. **Archives of Disease in Childhood**, v.91, p.845-846, may, 2006.

GAITÁN, S.L., ESPINAL., P.A. Caracterización molecular de Escherichia coli y Klesiella pneumoniae productores de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido en hospitales de la Región Caribe, Colombia. **Revista Chilena de Infectología**, v. 26, n.3, 2009.

GASPARI, R.J., DICKSON, E., KARLOVSKI, J. Multidrug resistance in pediatric urinary tract infections. **Microbial Drug Resistance**, United States, v.12, n.2, p.126-129, 2006.

GBADEGESIN, R.A. et al. Association between ICAM-1 Gly-Arg polymorphism and renal parenchymal scarring following childhood urinary tract infection. **International Journal Immunogenetics**, v.33, p. 49-53, 2006.

GIRAMONTI, K.M. et al. The association of constipation with childhood urinary tract infections. **Journal of Pediatric Urology**, v.1, p. 273-278, 2005.

GUIDONI, E.B.M. et al. Antibiotic resistance patterns of pediatric community-acquired urinary infections. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Salvador, v.12, n. 4, aug. 2008.

HARADA, S., ISHII, Y., YAMAGUCHI, K. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: Implications for the clinical laboratorial and therapy. **The Korean Journal Laboratory Medicine**. Coréia,v.28, p.401-412, 2008.

HODSON, E.M., WILLIS, N.S., CRAIG, J.C. Antibiotics for acute pyelonephritis in children. **Cochrane database of systematic reviews**, 2007.

JAIN, A., MONDAL, R. TEM & SHV genes in extended spectrum  $\beta$ -lactamase producing Klebsiella species & their antimicrobial resistance pattern. **Indian Journal Medical Research**, v. 128, p.759-764, december 2008.

KASMIRCZAK, A.; GIOVELLI, F.H., GOULART, L.S. Caracterização das infecções do trato urinário no município de Guarani das Missões- RS. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio Grande do Sul, v.37, N. n. 4, p.205-207, out-dez.2005.

KOCH, V.H., ZUCOLLOTO, S.M.C. Infecção urinária: em busca das evidências. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 79, supl. 1, p. 183-190 maio-junho, 2003.

KÕLJALG, S. et al. Persistence of Escherichia coli clones and phenotypic and genotypic antibiotic resistance in recurrent urinary tract in childhood.

LIM, S., LEE, H.S., KIM,W.Y. The effect of lactic acid bacteria isolates on the urinary tract pathogens to infants in vitro. **Journal of Korean Medical Science**, v.24, supl, 1, p.57-62, 2009.

LOPEZ, F.A.; CAMPOS JÚNIOR, D. **Tratado de pediatria**. São Paulo: Manole, 2007, 2177p.

LUK, W.H.; WOO, Y.H.; CHAN, J.C.S. Imaging in pediatric urinary tract infection: a 9-year local experience. **AJR**, v 192, p: 1253-1260, maio, 2009.

MALONE, P.S.J. Circumcision for preventing urinary tract infection in boys: European view. **Archive Disease Child**, v.90, p.773-774, 2005.

MARCONDES, E. et al. **Pediatria Básica**. 9ª Ed. São Paulo: Sarvier, 2003, 749p.

MARDENI, R.I. et al. Empirical treatment for pediatric urinary tract infection and resistance patterns of uropathogens, in Queen Alia hospital and prince A'isha military center-Jordam. **Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation**, v. 20, p.135-139, 2009.

MÉNDEZ, P.C. Indicaciones de profilaxis antibiótica en la infección urinaria. **Anales de Pediatria**, Barcelona, v. 67, n.5, p. 478-484, Nov., 2007.

MINARINI, L.A.R. et al. Plasmid-mediated quinolone resistance determinants among enterobacterial isolates from outpatients in Brazil. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.62, p. 474-478, 2008.

MINARINI, L.A.R., GALES, A.C., PALAZZO, I.C.V. Prevalence of community-occurring Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae in Brazil. **Current Microbiology**, v.54, p.335-341, 2007.

MONSTEIN, H.J.et al. Molecular identification of CTX-M and blaOXY/K1  $\beta$ -lactamase genes in Enterobacteriaceae by sequencing of universal M13-sequence tagged PCR-amplicons. **BMC Infectious Diseases**, v. 9, p. 7, 2009.

NATIONAL INSTITUTE FOR HEALTH AND CLINICAL EXCELLENCE (NICE). Urinary tract infection in children. Clinical guidance. CG54. Londres: NICE, 2007. <http://www.nice.org.uk/guidance/CG054> (acessado 06 de outubro de 2009).

NOGUEIRA, K.S., HIGUTI, I.H., NASCIMENTO, A.J. Occurrence of extended-spectrum beta-lactamase in Enterobacteriaceae isolated from hospitalized patients in Curitiba, southern Brazil. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 10, n.6, p., 2006.

NORMAND, I.C., SMELLIE, J.M. Prolonged maintenance chemotherapy in the management of urinary infection in childhood. **British Medical Journal**, v.1, p.1023-1026, 1965.

OTUKESH, H. et al. Urine macrophage migration inhibitory factor (MIF) in children of acute pyelonephritis. **Pediatric Nephrology**, v.24, p.105-111, 2009.

PIRES, M.C.S., FROTA, K.S., MARTIS, P.O. Prevalência e suscetibilidades bacterianas das infecções comunitárias do trato urinário, em Hospital Universitário de Brasília, no período de 2001 a 2005. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.40, n.6, p.643-647, nov.-dez. 2007.

PRELOG, M. et al. Febrile urinary tract infection in children: ampicilin and trimethoprim. **Pediatric Nephrology**, v.23, p.597-602, 2008.

QIN, X., ZERR, D.M., WEISSMAN, S.J. Prevalence and mechanisms of broad-spectrum beta-lactam resistance in Enterobacteriaceae: a Children's Hospital Experience. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. EUA, v.52, n.11, p.3909-3914, novembro, 2008.

RIYUZO, M.C, MACEDO, C.S.; BASTOS, H.D. Fatores associados a à recorrência da infecção do trato urinário em crianças. **Revista Brasileira de Saúde Materno-Infantil**, Recife, v 7 ,n.2, p151-157, abril-junho, 2007.

SANGRADOR, O.C. Métodos para la recogida de muestras de orina para urocultivo y perfil urinário. **Anales de Pediatría**, Barcelona, v. 67, n.5, p.442-449, noviembre, 2007a.

SANGRADOR, O.C. Metodología de la Conferencia de Consenso "Manejo Diagnóstico y Terapéutico de las Infecciones del Tracto Urinario en la Infancia". **Anales de Pediatría**, Barcelona, v. 67, n.5, p. 435-440, noviembre, 2007b.

SANGRADOR, O.C. Utilidad de los distintos parámetros del perfil urinario en el diagnóstico de infección urinaria. **Anales de Pediatría**, Barcelona, v. 67, n.5, p. 450-460, noviembre, 2007c.

SANGRADOR, O.C. Tratamiento antibiótico recomendado en episodios de infección urinaria. **Anales de Pediatría**, Barcelona, v. 67, n.5, p. 485-484, noviembre, 2007d.

SANGRADOR, O.C. Pruebas diagnósticas de imagen recomendadas en la infección urinaria. **Anales de Pediatría**, Barcelona, v.67, n.5, p. 498-517, noviembre, 2007e.

SANTOS, D.F. et al. Extended-spectrum  $\beta$  lactamases producidas por *Klebsiella pneumoniae* aisladas en dos hospitales en Goiânia/Brazil: detección, prevalencia, antimicrobiana susceptibilidad y tipificación molecular. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, n.4, p., 2008.

SCHLAGER, T.A. et al. *Escherichia coli* colonizing the neurogenic bladder are similar to widespread clones causing disease in patients with normal bladder function. **Spinal Cord**, v. 46, p. 633-638, 2008.

SCHOEN, E.J. Circuncisión para prevenir infecciones del tracto urinario en niños: la visión norteamericana. **Archives of Disease Childhood**, v.90, p.772-773, 2005.

SHAIKH N., MORONE, N.E., LOPEZ, J. ¿Este niño tiene una infección del tracto urinario?. **JAMA**, United States, v.298, n.24, p.2895-2904, dec., 2007.

SHAIKH, N.M. et al. Prevalence of urinary tract infection in childhood, a meta-analysis. **Pediatric Infectious Diseases Journal**, United States, v.27, n.4, p. 302-308, apr., 2008.

SHIN, J.H. et al. High rates of plasmid-mediated quinolone resistance QnrB variants among ciprofloxacin-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from tract infections in Korea. **Microbial Drug Resistance**, v.14, n.3, p.221-226, 2008.

SILVA, J.M.P. et al. Características clínicas e laboratoriais à admissão de 483 crianças e adolescentes com refluxo vésico-ureteral primário: estudo retrospectivo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 50, n. 2, p., apr/jan.2004.

SILVA, N.et al. Risk factors for infection by extended-spectrum beta lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* in a tertiary hospital in Salvador, Brazil. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v.10, n.3, p., 2006.

SMITH, EA. Pielonefritis, renal scarring, and reflux nephropathy: a pediatric urologist perspectives. **Pediatric Radiology**, v.38, n.1, p.76-82, jan. 2008.

SONG, S. et al. Antibiotic resistance mechanisms of *Escherichia coli* isolates from urinary specimens. **The Korean Journal Laboratory Medicine**, Coréia, v.29, p,17-24, 2009.

SOYLU, A.et al. Predictors of renal scar in children with urinary tract infection and vesicoureteral reflux. **Pediatric Nephrology**, v.23, p.2227-2232, 2008.

TANEJA, N. et al. Occurrence of ESBL and AMP-C  $\beta$ -lactamases and susceptibility to newer antimicrobial agents in complicated UTI. **Indian Journal Medical Research**, v. 127, p.85-88, jan. 2008.

TONET, F.G., GERÇOZA, A.T., BALDISSEROTO, M. Infecção urinária em crianças: avaliação por métodos de imagem. **Acta Médica**, Porto Alegre, v.27, p.453-464, 2006.

TOPOROVSKI, J. et al. **Nefrologia pediátrica**. 2<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006, 749p.

TOSIN, I., SILBERT, S., SADER, H.S. The use of molecular typing to evaluate the dissemination of antimicrobial resistance among Gram-negative rods in Brazilian hospitals. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v.7, n.6, p.360-369, 2003.

TSENG, M.H. et al. Changing trend in antimicrobial resistance of pediatric uropathogens in Taiwan. **Pediatrics**, v50, p.797-800, 2008.

VAILLANCOURT, S., MCGILLIVRAY, D. To clean or not to clean: effect on contamination rates in midstream urine collections in toilet-trained children. **Pediatrics**, United States, v.119, n.6, p.1288-93, jun. 2007.

VILLEGAS, M.V., KATTAN, J.N., CASELLAS, J.M. Prevalence of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in South America. **Clinical Microbiology Infectious**, v.14, p.154-158, 2008.

WILLIAMS, G. et al. Long-term antibiotics for preventing recurrent urinary tract infection in children. **Cochrane database of systemtic reviews**, 3, 2006.

YIM, H.E. et al. Genetic control of VEGF and TGF- $\beta$ 1 gene polymorphisms in childhood urinary tract infection and vesicoureteral reflux. **Pediatric Research**, v. 62, n. 2, p. 183-187, aug.2007.

ZORC, J.J, KIDDOO, D.A., SHAW, K.N. Diagnosis and management of pediatric urinary tract infections. **Clinical Microbiology Reviews**, United States, v.18,n.2,p.417-422, apr.,2005.

## ANEXO I

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

**TÍTULO: INFECÇÃO DO TRATO URINÁRIO EM CRIANÇAS DE UM HOSPITAL PÚBLICO DO PARÁ-BRASIL: PERFIL CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO E GENOTIPAGEM DOS UROPATÓGENOS.**

Autora: Cássia de Barros Lopes

Orientadora: Dra. Edna Aoba Yassui Ishikawa

Co-orientadora: Dra. Ina Carla do Rosário Souza Carneiro

Instituição: Universidade Federal do Pará

Telefone para contato: 32767433- Dra. Cássia Lopes

O seu filho está sendo convidado a participar da pesquisa científica: Infecção do Trato Urinário (ITU) em crianças de um hospital público do Pará-Brasil: perfil clínico-epidemiológico e genotipagem dos uropatógenos. Esta pesquisa tem como objetivo conhecer as características da ITU em crianças.

As infecções do trato urinário são comuns na infância, e se não forem diagnosticadas e tratadas precocemente, podem ocasionar sérios problemas aos rins. A criança com infecção urinária, normalmente, apresenta dor para urinar (disúria), esforço durante a micção (ato de urinar), gotejamento da urina, febre e ganho de peso inadequado. Para confirmar, se as crianças que apresentam estes sintomas, realmente têm infecção urinária é preciso ser realizado exame de urocultura. Somente com o resultado deste exame poderemos tratar a infecção de maneira adequada e segura e solicitar os exames de imagem, como ultrasonografia

que são exames que mostram como está funcionando o aparelho urinário (rins, ureteres, bexiga e uretra). As crianças com infecção urinária podem no futuro apresentar insuficiência renal, a qual pode ser evitada com o diagnóstico e tratamento precoce e adequado.

Neste projeto, vamos selecionar crianças que apresentam sintomas de infecção urinária, atendidas no ambulatório de Nefrologia Pediátrica da Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará. Coletaremos 10ml de urina durante a micção, em frasco apropriado ou, por sonda uretral, que é um procedimento simples, onde após limpeza do local (meato uretral) e aplicação de gel de xilocaína (anestésico) será introduzida sonda de silicone através da uretra e coletado, também 10ml de urina. Esta urina será encaminhada ao laboratório para realização de urocultura. Após confirmação do diagnóstico de infecção urinária, serão solicitados os exames de ultrasonografia, uretrocistografia miccional e cintilografia renal.

Esta pesquisa oferece poucos riscos e estão relacionados ao incomodo causado pela sonda uretral, no momento da coleta de urina. As crianças não serão submetidas a nenhuma técnica ou modalidade propedêutica nova ou laboratorial experimental, não aprovada ou não estabelecida por meio de testes prévios, que possa gerar dano, constrangimento ou prejuízo físico, material, moral ou emocional aos pacientes. Os dados serão coletados de maneira cuidadosa para não expor as informações de cada paciente contidas nos prontuários, preservando o sigilo médico e a identidade do seu filho.

Este estudo contribuirá com a prevenção dos sérios problemas causados pela infecção urinária aos rins, caso não seja diagnosticada e tratada no momento correto.

Você terá liberdade para se retirar da pesquisa no momento que desejar, sem ter nenhum prejuízo do acompanhamento do seu filho, na Fundação Santa Casa. Você também não terá gastos financeiros na participação desta pesquisa e também não receberá pagamento por sua participação. Estaremos à disposição dos senhores para qualquer esclarecimento.

#### DECLARAÇÃO

Declaro que compreendi as informações que li ou que me explicaram sobre a pesquisa em questão, ficando claros para mim, os objetivos desta pesquisa e que minha participação não terá despesas e que posso optar por desistir da participação da pesquisa. Concordo voluntariamente em participar deste estudo, podendo retirar meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades, prejuízo ou perda de qualquer benefício que possa ter adquirido ou no meu atendimento neste hospital.

Belém \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

---

Assinatura do responsável pelo participante da pesquisa

---

Assinatura de testemunha

Declaramos que obtivemos de forma voluntária o consentimento livre e esclarecido deste responsável pelo menor envolvido na pesquisa para participação do presente estudo.

---

Cássia de Barros Lopes

**ANEXO II**

PROJETO DE PESQUISA: **INFECÇÃO DO TRATO URINÁRIO EM CRIANÇAS DE UM HOSPITAL PÚBLICO DO PARÁ-BRASIL: PERFIL CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO E GENOTIPAGEM DOS UROPATÓGENOS.**

**FICHA-PROTOCOLO****1- IDENTIFICAÇÃO**

Nome: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

Telefone: \_\_\_\_\_

Nome da Mãe: \_\_\_\_\_

Nome do Pai: \_\_\_\_\_

Registro de Prontuário: \_\_\_\_\_

Sexo: F ( ) M ( )                      Data de Nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Idade: \_\_\_\_\_

**2- DADOS CLÍNICOS**

Data                      do                      Início                      dos                      sintomas:

\_\_\_\_\_

Disúria: Sim ( ) Não ( )

Primoinfecção ( )

Gotejamento Urinário: Sim ( ) Não ( )

Esforço Miccional: Sim ( ) Não ( )

Polaciúria: Sim ( ) Não ( )

Dor lombar: Sim ( ) Não ( )

Febre: Sim ( ) Não ( )

Sinal de Giordano: Positivo ( ) Negativo ( )

Doença de base: Sim ( ) Não ( )

Uso de antibioticoterapia prévia: Sim ( ) Não ( )

Uso de imunossupressores: Sim ( ) Não ( )

Uso de quimioprofilaxia: Sim ( ) Não ( )

Outros: \_\_\_\_\_

### 3- EXAMES LABORATORIAIS

Urina I: Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Urocultura: Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Germe isolado: \_\_\_\_\_

Antibiograma:

Sensível a: \_\_\_\_\_

Resistente a: \_\_\_\_\_

Método de coleta de urina:

\_\_\_\_\_

Ultrasonografia do aparelho urinário: Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Uretrocistografia Miccional: Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Refluxo vesico-ureteral: Presente ( ) Ausente ( )

Cintilografia renal: Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Cicatrizes renais: Presente ( ) Ausente ( )

Urografia Excretora: Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

PCR: Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_