

EFEITO DO PH NA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA COLISTINA EM BACTÉRIAS GRAM NEGATIVAS ISOLADAS DA URINA DE PACIENTES INTERNADOS EM UM HOSPITAL ENSINO

Mayara Assumpção Lolis Baveloni (PIBIC-FA/CNPq/UEM), Aline Natália de Santi, Danielle Rosani Shinohara, Nayara Helisandra Fedrigo, Nathalie Kira Tamura, Sheila Alexandra Belini Nishiyama, Maria Cristina Bronharo Tognim (Orientadora), e-mail: mcbtognim@uem.br

Universidade Estadual de Maringá/Centro de Ciências da Saúde/Maringá, PR

Ciências da Saúde, Medicina

Palavras-chave: colistina; urina, concentração de íons de hidrogênio.

Resumo

Anualmente, as infecções do trato urinário (ITUs) atingem milhões de pessoas, incluindo tanto pacientes ambulatoriais quanto pacientes internados. A colistina (polimixina E) é um antimicrobiano frequentemente considerado como último recurso para o tratamento de ITUs causadas por bactérias Gram-negativas multirresistentes. No entanto, no mundo todo, tem aumentado o relato de isolados resistentes à essa polimixina. Diante disso, é fundamental a busca de ferramentas, como a avaliação do pH urinário, que possam prevenir o surgimento de resistência e otimizar o tratamento. O presente estudo tem como objetivo avaliar o efeito de diferentes pHs na atividade antimicrobiana da colistina contra bactérias Gram-negativas isoladas da urina de pacientes internados em um hospital ensino. Dos 42 isolados selecionados, 3 foram positivos para o gene *bla*_{KPC}, e em nenhum isolado os genes *mcr-1*. Para os isolados de *Acinetobacter baumannii* e espécies pertencentes a família enterobacteriaceae a colistina apresentou melhor atividade em pH 7 ou 8. Diferentemente, para *Pseudomonas aeruginosa*, todos os isolados, anteriormente categorizados como sensíveis em pH neutro, passaram a ser resistentes em pH 8 (alcalino). Além disso, em pH 6 (ácido) houve a redução da CIM em 75% dos isolados de *P. aeruginosa*. Nossos achados sugerem que o tratamento de ITUs com colistina pode ser favorecido pelo pH ácido da urina quando as infecções são causadas por *P. aeruginosa*. Por outro lado, quando as ITUs forem causadas por enterobactérias (especialmente *K. pneumoniae*) ou *A. baumannii*, a alcalinização da urina pode tornar o tratamento mais eficaz.

Introdução

As infecções do trato urinário (ITUs) estão entre as infecções bacterianas mais comuns em humanos, afetando tanto pacientes ambulatoriais quanto pacientes internados. Anualmente, as ITUs atingem

milhões de pessoas e as manifestações clínicas incluem a prostatite, cistite, uretrite e pielonefrite (GUPTA et al., 2017).

As bactérias Gram negativas como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e espécies de *Klebsiella* são as principais causadoras de ITUs. O problema central associados a esses patógenos é o aumento gradativo da resistência aos antimicrobianos disponíveis e a consequente falha terapêutica. Em geral, a maioria dos casos de ITU não é complicada, mas as ITUs em pacientes hospitalizados elevam o risco de desenvolvimento de sepse e as taxas de mortalidade (ZARE et al., 2018).

As polimixinas são utilizadas como último recurso para o tratamento de infecções causadas por bactérias resistentes a múltiplos antimicrobianos (MDR). A taxa de polimixina B excretada na urina é baixa (~4%) e não é indicada para tratar ITUs. Por outro lado, a colistina é administrada na forma de um pró-fármaco chamado colistimetato de sódio e sua concentração urinária é alta, demonstrando ser mais eficaz no tratamento de ITUs (KARAKATTU et al., 2017). No entanto, isolados resistentes à colistina têm emergido cada vez mais. Dessa forma, é preciso identificar ferramentas que possam prevenir o surgimento de resistência e melhorar a eficácia terapêutica como a avaliação do pH urinário (CUNHA et al., 2016).

O pH urinário não afeta apenas o crescimento do uropatógeno, mas também a atividade antimicrobiana de vários antibióticos. Dependendo do antibiótico, se o pH urinário não for monitorado, a atividade antimicrobiana pode apresentar o mesmo efeito que concentrações urinárias subinibitórias, predispondo ao desenvolvimento de resistência (YANG et al., 2014).

Materiais e métodos

Amostras bacterianas

Foram selecionados para o estudo bactérias Gram-negativas isoladas de uroculturas segundo critérios de diagnóstico estabelecidos pela ANVISA. Os isolados bacterianos foram identificados por meio do aparelho automatizado Phoenix®-BD (Becton Dickinson & Co., Sparks, MD, USA). Apenas um isolado por paciente foi incluído no estudo.

Determinação da concentração inibitória mínima

A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de colistina foi realizada pelo método de microdiluição em caldo conforme descrito pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). O pH do meio de cultura foi ajustado com soluções de hidróxido de sódio e ácido clorídrico. Os testes de sensibilidade foram executados em duplicata. Os valores de CIM foram interpretados segundo os pontos de corte estabelecidos pelo CLSI.

*Pesquisa das principais carbapenemases e do gene *mcr-1**

Para todos os isolados bacterianos incluídos no estudo, que apresentaram positividade nos testes fenotípicos para pesquisa de carbapenemases no HUM, foi realizada a pesquisa de genes de resistência por meio de uma Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) do tipo *multiplex*.

Essa PCR- multiplex contempla a pesquisa dos genes *bla_{KPC}*, *bla_{NDM}* e *bla_{OXA-48}*. Para todos os isolados resistentes à colistina, também foi realizada a pesquisa do gene *mcr-1*. A técnica consiste em uma PCR, utilizando *primers* específicos previamente descritos.

Resultados e Discussão

No estudo, foram incluídas 30 enterobactérias sendo 18 *Escherichia coli*, 1 *Enterobacter cloacae*, 1 *Lelliottia amnigena*, e 10 *Klebsiella* spp. Entre estes 42 isolados 3 possuíam o gene *bla_{KPC}*, enquanto os genes *mcr-1*, *bla_{NDM}* e *bla_{OXA-48}* não foram detectados. Considerando o ponto de corte de sensibilidade a colistina de 2 µg/mL, verificamos que quando testados em pH 7 apenas um isolado foi considerado resistente à colistina, sendo 29 categorizados como sensíveis. Percebemos que os dados obtidos em relação ao efeito do pH sobre a atividade da colistina teve variações em relação ao grupo bacteriano envolvido. Os dados de CIM para colistina em pH 6 houve no grupo das enterobactérias um predomínio de , 54% apresentaram aumento de 1 ou 2 diluições na CIM, 23% não demonstraram alteração e em 23% houve redução de 1 ou 2 diluições na CIM. Destacamos que 2 isolados de *K.pneumoniae* que em pH 7 apresentaram uma CIM=1µg/ml, em pH 6 passaram a ser resistentes à colistina. Nos testes em pH 8, 58% das enterobactérias mostraram resultados iguais aos observados em pH 7, 20% mostrou elevação da CIM em 1 diluição e em 27% houve uma redução de 1 ou 2 diluições na CIM.

Os 4 isolados de *Acinetobacter baumannii* foram sensíveis à colistina em pH 7. Quando testados em pH 6, 75% dos isolados demonstraram um aumento ≥1 diluição na CIM e 25% foi indiferente à acidificação do meio, mantendo as mesmas CIMs. Em pH 6, 1 isolado mudou a categoria de sensível para resistente à colistina. Quando o meio foi alcalinizado, atingindo o pH 8, 2 isolados mantiveram as mesmas CIMs apresentadas em pH 7 e os demais isolados mostram redução de 1 diluição na CIM.

Em relação a *Pseudomonas aeruginosa*, 6 isolados foram sensíveis e 2 isolados resistentes à colistina, quando testados em pH 7. Os resultados obtidos em pH 6 demonstraram que 1 isolado apresentou elevação da CIM, mudando sua categoria de sensível para resistente. Um isolado não demonstrou variação em pH 6. Além disso, em 6 isolados (75%), houve a redução ≥1 diluição na CIM, sendo que 2 isolados mudaram sua categoria de resistente (pH 7) para sensível (pH 6). Nos testes em pH 8, 1 isolado mostrou o mesmo resultado obtido em pH neutro. Os demais isolados apresentaram uma elevação na CIM, sendo que 6 isolados trocaram de categoria, em pH 7 eram sensíveis e em pH 8 se tornaram resistentes à colistina.

O pH desempenha um papel significativo na atividade inibitória da colistina. Nossos resultados demonstram que esse antimicrobiano pode se comportar de maneira diferente dependendo do uropatógeno e do pH do meio.

Em condições clínicas normais, o pH da urina tende a ser ácido, portanto isolados que se tornam resistentes à colistina em pH ácido podem dificultar o tratamento, mesmo que os testes apontem que a bactéria foi categorizada como sensível. Os testes de sensibilidade de rotina são realizados em pH neutro, e o possível surgimento de resistência relacionada ao pH pode levar a uma falha terapêutica. Dessa forma, o ajuste do pH urinário com administração de ácido ascórbico ou citrato de potássio (dependendo do uropatógeno envolvido), pode ser uma ferramenta para otimizar o tratamento de ITUs com colistina.

Conclusões

Para os isolados de enterobactérias e *A. baumannii*, a colistina apresentou melhor atividade em pH 7 ou 8. Diferentemente, para *P. aeruginosa*, todos os isolados, anteriormente categorizados como sensíveis em pH neutro, passaram a ser resistentes em pH alcalino. Além disso, em pH 6 houve a redução da CIM em 75% dos isolados de *P. aeruginosa*. Nossos achados sugerem que o tratamento de ITUs com colistina pode ser favorecido pelo pH ácido da urina quando as infecções são causadas por *P. aeruginosa*. Por outro lado, quando as ITUs forem causadas por enterobactérias (especialmente *K. pneumoniae*) ou *A. baumannii*, a alcalinização da urina pode tornar o tratamento mais eficaz.

Agradecimentos

Ao CNPq pelo apoio ao desenvolvimento científico.

Referências

- CUNHA, B.A. An infectious disease and pharmacokinetic perspective on oral antibiotic treatment of uncomplicated urinary tract infections due to multidrug-resistant Gram-negative uropathogens: the importance of urinary antibiotic concentrations and urinary pH. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Disease**, v.35 p.521–526, 2016.
- GUPTA, K.; GRIGORYAN, L.; TRAUTNER, B. Urinary Tract Infection. **Annals of Internal Medicine**, v. 167, n.7, p.49–64, 2017.
- KARAKKATTU J.; MOHAN, A.; JAMES, E.; KUMAR, A. Effectiveness and Safety of Colistin in Multi Drug Resistant Urinary Tract Infections. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v.7, n.9, p.148–152, 2017.
- YANG, L.; WHAG, K.; LI, H.; DENSTEDT, J.D.; CADIEUX, P.A. The influence of urinary pH on antibiotic efficacy against bacterial uropathogens. **Urology**, v.849, p.713, 2014.
- ZARE F, ROSTAMI FM, SHAHSAFI M. Prevalence and pattern of antibiotic resistance of gram-negative bacteria isolated from urinary tract infections in

29º Encontro Anual de Iniciação Científica
9º Encontro Anual de Iniciação Científica Júnior



29 a 31 de outubro de 2020

patients referring to Neka Laboratories-Iran. **International Journal of Biomedicine Public Health**, v.1, n.1, p.30–36, 2018.