

Sensibilidade dos *S. aureus* aos betalactâmicos e glicopeptídeos ("Estudo in vitro")

Sensitivity of *S. aureus* to beta-lactam and glycopeptide. ("In vitro")

Paulo Augusto Sperança^I | Alice da Silva Gomes^{II} | Claudia Maria Guerra Prazeres^{II} |

RESUMO

Staphylococcus aureus podem ser encontrados na microbiota normal da pele e das mucosas dos seres humanos. Apresenta fácil disseminação e uma elevada patogenicidade através de vários mecanismos de ação. São agentes de infecções tanto do tipo superficial como profundo. Eles provocam, em muitos casos, a septicemia e a morte do paciente. Objetivo: O uso indiscriminado de antibióticos tem levado à criação de microrganismos resistentes, sendo o objetivo deste trabalho o de comparar in vitro o grau de efetividade de antibióticos betalactâmicos e glicopeptídeo na inibição de *Staphylococcus aureus*, comparando sua efetividade em feridas cirúrgicas infectadas. Métodos: Foram utilizadas culturas puras de *Staphylococcus aureus*. Na realização da parte experimental, foram selecionados os antimicrobianos amoxicilina, oxacilina, cefepime, cefotaxima, cefalotina e vancomicina. Conclusão: As cepas-teste mostraram-se resistentes à amoxicilina e sensível a todos os outros antimicrobianos testados.

DESCRITORES: Betalactâmicos; Glicopeptídeos; *Staphylococcus aureus*; Amoxicilina.

ABSTRACT

Staphylococcus aureus can be found in normal flora of the skin and mucous membranes of humans. It features easy dissemination and high pathogenicity through multiple mechanisms of action. The agents of infections of both superficial and deep type. They often lead to septicemia and death of the patient. Objective: The indiscriminate use of antibiotics has led to the creation of resistant microorganisms, with the aim of this study was to compare in vitro the degree of effectiveness of beta-lactam antibiotics and glycopeptide in the inhibition of *Staphylococcus aureus* by comparing its effectiveness in surgical wound infection. Methods: We used pure cultures of *Staphylococcus aureus*. In the conduct of the trial were selected antimicrobials amoxicillin, oxacillin, cefepime, cefotaxime, cephalothin and vancomycin. Conclusion: The test strains were resistant to amoxicillin and susceptible to all antimicrobials tested.

DESCRIPTORS: beta-lactam Glycopeptidies, *Staphylococcus aureus*, amoxicillin.

INTRODUÇÃO

As feridas cirúrgicas são classificadas em quatro categorias, de acordo com o seu grau de contaminação: feridas limpas, feridas limpas contaminadas, feridas contaminadas e feridas sujas ou infectadas¹.

A infecção cirúrgica é causada por microorganismos de

origens endógena e exógena. Quando endógena, há aproximadamente 25% de aeróbios, predominando *Streptococcus viridans*. Os anaeróbios correspondem a 75% da flora infecciosa. Se de origem exógena, predominam *Staphylococcus* e bacilos aeróbios Gram-negativos. As fontes desses últimos são instrumental cirúrgico ou de manipulação, ambiente

I Professor Adjunto Doutor da Faculdade de Odontologia de Pernambuco – FOP/UPE.

II Acadêmica da Faculdade de Odontologia de Pernambuco – FOP/UPE.

hospitalar e pessoal que presta cuidados².

A grande variedade anatômica e tissular existente na cavidade bucal, entre outros fatores, torna possível a convivência de diferentes ecossistemas microbianos, cada um com características metabólicas e nutricionais específicas, e todos eles convivendo dentro de um delicado equilíbrio ecológico³.

Na cavidade bucal, as bactérias Gram-positivas são as mais usuais, destacando-se os cocos *Streptococcus* (*S. mutans*, *S. sanguis*, *S. mitior*, *S. salivarius*), os bacilos *Lactobacillus* e *Corynebacterium* e os anaeróbicos *Peptostreptococcus*, *Actinomyces*, *Veillonella* e *Fusibacterium*. Na face, as bactérias colonizantes e que habitualmente estão envolvidas na infecção decorrente de um ferimento são: *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis* ⁴.

Os microrganismos pertencentes ao gênero *Staphylococcus* e, em especial, os *Staphylococcus aureus*, apresentam-se como agentes de infecções tanto do tipo superficiais como profundas. Eles provocam, em muitos casos, a septicemia e a morte do paciente⁵.

Os *S. aureus* têm se destacado por apresentarem uma grande versatilidade nos seus mecanismos de resistência aos antimicrobianos, emergindo, assim como uma das maiores causas de infecções nosocomiais e, até mesmo, comunitárias.

S. aureus apresenta fácil disseminação e uma elevada patogenicidade através de vários mecanismos de ação. Assim, ele se caracteriza pela sua capacidade de sobreviver em ambientes com pouca umidade e pode produzir formação de biofilmes sobre superfícies inanimadas⁵.

Eles podem ainda estar presentes de forma permanente ou intermitente na flora de seres humanos que funcionam assim como disseminadores desses microrganismos.^{6,7}

As manifestações clínicas das doenças causadas por *S. aureus* variam desde intoxicações alimentares ou infecções cutâneas de pouca importância até infecções hospitalares graves, principalmente da corrente sanguínea, associando-se significativamente a morbidades e mortes. A resistência que este microorganismo vem desenvolvendo aos antibióticos tem sido motivo de

grande preocupação^{8,9}.

O fenômeno da resistência bacteriana a diversos antibióticos e agentes quimioterápicos impõe sérias limitações às opções para o tratamento de infecções bacterianas, representando uma ameaça para a saúde pública.

Devido à resistência crescente dos microrganismos, a cura passa a depender, também, da descoberta de novos e mais eficazes antibióticos. Paralelamente a essa busca, uma antibioticoterapia mais racional deverá ser praticada, a fim de evitar a indução ou seleção de cepas de bactérias resistentes e tolerantes, sob pena de ingressarmos na era pós-antibiótica, provavelmente mais crítica do que a pré-antibiótica, quando aquelas cepas ainda não haviam sido selecionadas ¹⁰.

O uso indiscriminado de antibióticos tem levado à criação de microrganismos resistentes, sendo objetivo deste trabalho o de comparar *in vitro* o grau de efetividade da amoxicilina, oxacilina, vancomicina e das cefalosporinas de primeira, terceira e quarta geração na inibição de *Staphylococcus aureus* presentes em exsudato de feridas cirúrgicas infectadas.

METODOLOGIA

O trabalho de pesquisa foi realizado no Laboratório de Microbiologia Experimental da Faculdade de Odontologia de Pernambuco – FOP/UPE no qual se encontram os materiais pertinentes à pesquisa.

Para a realização da parte experimental desta pesquisa, foram utilizadas 10 culturas puras de cepas de *Staphylococcus aureus*. A origem das culturas microbianas utilizadas no trabalho são culturas de estoque, armazenadas na bacterioteca do Laboratório de Microbiologia Experimental da Faculdade de Odontologia de Pernambuco – FOP/UPE, sendo que todos os inóculos selecionados foram obtidos, respeitando-se a legislação vigente no que se refere aos princípios da Bioética e, por se tratarem de culturas de estoque, não houve a participação de pacientes.

Para a realização da parte experimental deste trabalho, foram selecionados cinco antimicrobianos, sendo dois pertencentes ao grupo dos betalactâmicos (Amoxicilina e Oxacilina) e três pertencentes ao grupo

das cefalosporinas (Cefalotina, Cefotaxima, Cefepime), tendo como droga controle um glicopeptídeo (Vancomicina).

PADRONIZAÇÃO E SEMEADURA DAS AMOSTRAS

A técnica selecionada para a realização dos testes de sensibilidade adotou a técnica descrita por BAUER-KIRBY (1966), seguindo as recomendações da NCCS-National Committee for Clinical laboratory Standards (Performance Standards for Antimicrobial susceptibility testings) 11, 12,13,14.

Oriundos dos tubos de armazenagem, os inóculos de cada cultura teste foram transferidos para estufa bacteriológica (FANEM) e incubados a uma temperatura de 37°C, por um período de 24 horas, transferindo-se 01 alçada para tubos estéreis, contendo meio líquido de Tioglicolato de Sódio U.S.P. (MERCK), incubados durante 24 horas, nas mesmas condições de temperatura para reativação do metabolismo bacteriano.

Para os testes de difusão, semeou-se 0,1 mL de cada cultura teste em placas de Petri, contendo Agar Sangue (MERCK), procedendo-se à distribuição uniforme da suspensão bacteriana na superfície das placas com alças de Drigalski, quando, então, dois conjuntos de placas receberam, em sua superfície, discos contendo concentrações padronizadas dos antibióticos: conjunto de placa 1 (duas penicilinas e um antibiótico controle: glicopeptídeo)(foto 1) e conjunto de placa 2 (constitui três cefalosporinas)(foto 2), cuja distribuição foi de for-

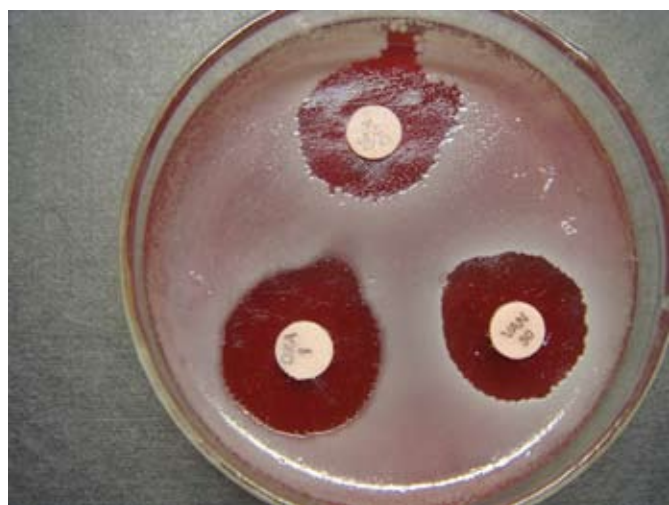


Foto 1: Distribuição das Drogas Antibióticas nas placas de Ágar Sangue para realização dos Testes de Sensibilidade às penicilinas (AMX e OXA) e do glicopeptídeo (VAN).

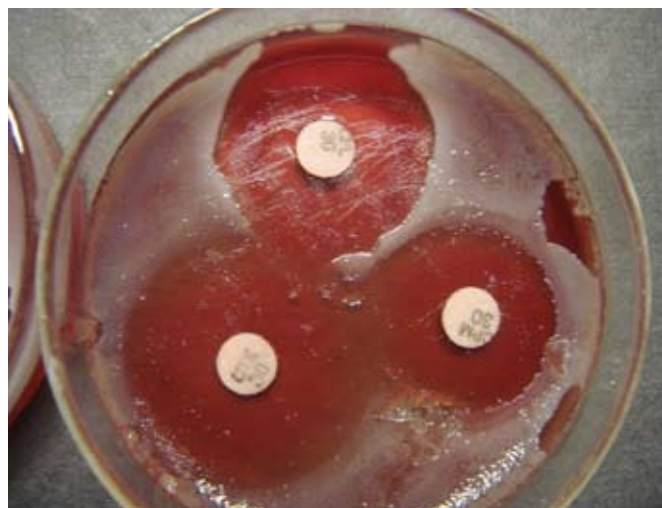


Foto 2: Distribuição das Drogas Antibióticas nas placas de Ágar Sangue para realização dos Testes de Sensibilidade às cefalosporinas.

ma equidistante, evitando-se a formação de halos de inibição confluentes. A incubação foi realizada a uma temperatura de 37°C, por 72 horas em condições de

RESULTADOS

Concluída a parte experimental da pesquisa em questão e de acordo com a proposição, os resultados encontrados estão expressos nas tabelas ¹ e ².

Os resultados expressos na tabela 1 mostram que, perante a cultura pura de *Staphylococcus aureus* relacionados a feridas cirúrgicas infectadas, os valores médios dos halos de inibição obtidos a partir da leitura convencional para a amoxicilina (AMX) foram de 18,37mm (examinador 1) e 17,12 mm (examinador 2); para a oxacilina (OXA) os valores encontrados foram de 19 mm (examinador 1) e de 18,25 mm (examinador 2); para vancomicina (VAN) 17 mm (examinador 1) e 16,30 mm (examinador 2), para a Cefalotina (CFL) 22,75 mm (examinador 1) e 20,92 mm (examinador 2); para a Cefepime (CPM) os valores médios foram 18,32 mm (examinador 1 e 2); para a Cefotaxima (CTX) 26,20 mm (examinador 1) e 24,09 mm (examinador 2), considerando-se, ainda, as técnicas convencionais.

Os valores médios dos halos de inibição obtidos a partir da leitura computadorizada para a amoxicilina (AMX) foram de 18,04 mm (examinador 1) e 17,89 mm (examinador 2); 18,34 mm (examinador 1) e 18,32 mm (examinador 2) para a oxacilina (OXA); 16,59 mm (examinador 1) e 16,55 mm (examinador 2) para a

vancomicina(VAN); 21,72 mm (examinador 1) e 21,48 mm (examinador 2) para a Cefalotina (CFL); 18,30 mm (examinador 1) e 18,67 mm (examinador 2) para a Cefepime (CPM); 25,34 mm (examinador 1) e 24,66 mm (examinador 2) para a Cefotaxima (CTX).

Tabela 1: Média dos halos de inibição em mm no Teste de Infusão de Antibióticos sob Microorganismos relacionados a quadros de Feridas Cirúrgicas Infectadas, decorridas 24 a 72 h de incubação a 37°C.

TIPO DE LEITURA	EXAMINADOR 1			EXAMINADOR 2		
	PLACA 1			PLACA 1		
	AMX	OXA	VAN	AMX	VAN	
Régua Milimetrada ¹	18,37(R)	19(S)	17(S)	17,12(R)	16,30(S)	
Image Tools ²	18,04(R)	18,34(S)	16,59(S)	17,89(R)	16,55(S)	
TIPO DE LEITURA	EXAMINADOR 1			EXAMINADOR 2		
	PLACA 2			PLACA 2		
	CFL	CPM	CTX	CFL	CPM	
Régua Milimetrada ¹	22,75(S)	18,32(S)	26,20(S)	20,92(S)	18,32(S)	
Image Tools ²	21,72(S)	18,30(S)	25,34(S)	21,48(S)	18,67(S)	

- Leitura Convencional (Régua milimetrada)¹
- Leitura Computadorizada (Image Tools – UTHSCSA-TEXAS-USA)
- R= Resistente
- S = Sensível

Tabela 2 : Média da leitura dos halos de inibição em mm no Teste de Infusão de Antibióticos sob Microorganismos relacionados a quadros de Feridas Cirúrgicas Infectadas, decorridas 24 a 72 h de incubação a 37°C.

TIPO DE LEITURA	AMX	OXA	VAN	CFL	CPM
Régua Milimetrada ¹	17,74(R)	18,62(S)	16,65(S)	21,83(S)	18,32(S)
Image Tools ²	17,96(R)	18,33(S)	16,57(S)	21,60(S)	18,48(S)

- Leitura Convencional (Régua milimetrada)¹
- Leitura Computadorizada (Image Tools – UTHSCSA-TEXAS-USA)
- R= Resistente
- S = Sensível

DISCUSSÃO

Reportando-se aos resultados da presente pesquisa, era de se esperar que, dos betalactâmicos testados, apenas a amoxicilina se mostra inefetiva sobre os *S. aureus*, fato esse confirmado pela presente pesquisa. Por outro lado, no caso da oxacilina, sendo esta pertencente ao grupo das chamadas drogas penicilinase resistentes (mesmo sendo de pequeno espectro) esta mostra efe-

tividade sobre as cepas isoladas das feridas cirúrgicas, resultado este confirmado no presente trabalho.

No caso específico das cefalosporinas, uma vantagem sobre as penicilinas reside no fato daquelas não serem inativadas pelas penicilinasases, devendo-se serem produzidas betalactamases, sendo lícito inferir que a inabilidade do *S. aureus* em não produzir a enzima cefalosporinase pode ser destruído por esses antibióticos. Essa hipótese acha suporte nos resultados aqui discutidos, uma vez que todas as cefalosporinas, incluindo as de primeira geração, foram efetivas em inibir os *S. aureus* das feridas cirúrgicas.

No caso da vancomicina, sendo esta indicada para infecções graves para *Staphylococcus*, incluindo as septicemias, era de se esperar que ela se mostrasse efetiva em todas as fases teste, efetividade essa confirmada pela presente pesquisa.

Não se deve estranhar o padrão aqui utilizado quando se buscaram os VRSA e não, os MRSA, principalmente levando-se em conta que a meticilina usada nas pesquisas não são antibióticos de uso rotineiro no Brasil, por isso, justifica-se a diretriz e a procura dos VRSA, que, pelos resultados encontrados, não foram aqui identificados.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Concluída a pesquisa e nas condições experimentais propostas, pode-se afirmar que

- 1- As cepas-teste de *S. aureus* relacionadas a feridas cirúrgicas mostraram-se resistentes ao betalactâmico amoxicilina e sensível à oxacilina em todas as fases-teste;
- 2- As cepas-teste de *S. aureus* relacionadas a feridas cirúrgicas mostraram-se sensíveis a todas as cefalosporinas testadas, independente da geração (1ª - Cefalotina, 3ª - Cefotaxima e 4ª geração - Cefepime);
- 3- O glicopeptídeo (VAN) mostrou efetividade em inibir o crescimento dos *S. aureus* relacionados a feridas cirúrgicas;
- 4- Não foram identificadas cepas de *S. aureus* vancomicina resistentes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Medeiros AC, Aiers Neto T, Dantas Filho AM, Pinto Jr FEL, Uchôa RAC, Carvalho MR. Infecção hospitalar em pacientes cirúrgicos de Hospital Universitário. *Acta Cir Bras*. 2003; 18. Supl 1.
2. Wannmacher L, Ferreira MBC. Farmacologia clínica para dentistas. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999.
3. Gutiérrez-Pérez JL, Perea-Pérez EJ, Romero-Ruiz MM, Girón-González JA. Orofacial infections of odontogenic origin. *Med Oral*. 2004 Aug-Oct;9(4):280-7.
4. Boulos M, Souza LCM. Bases da antibioticoterapia em fraturas e ferimentos da face. In: Barros JJ, Souza LCM. Traumatismo buco-maxilo-facial. 2. ed. São Paulo: Roca; 2000.
5. Cordeiro RP. Estudo do perfil de sensibilidade/resistência de cepas de *Staphylococcus aureus* MRSA de Hospital Universitário de Recife – Pernambuco [dissertação]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Ciências Farmacêuticas; 2004.
6. Santos-Filho L, Sader HS, Bortolotto VI, Gontijo Filho P, Pignatari AC. Analysis of the clonal diversity of *Staphylococcus aureus* methicillin-resistant strains isolated at João Pessoa, State of Paraíba, Brasil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1996 jan/fev; 91(1):101-5.
7. Tavares W. Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2000 maio/jun; 33(3):281-301.
8. Spiandorello WP, Morsh F, Sebben S, Spiandorello FSA. A resistência do *Staphylococcus aureus* à oxacilina em hospital de Caxias do Sul. *Revista AMRIGS*. 2000 jul/dez; 44 (3/4): 120-5.
9. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. Microbiologia médica. 21. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000.
10. Freitas CC, Rabello RF, Freitas AG. *Staphylococcus aureus* resistente à vancomicina. *J Bras Doenças*

Sex Transm. 1998; 10(3); 10-2.

11. Ferreira AW, Àvila SM. Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1996.
12. Couto RC, Pedrosa TMG, Nogueira JM. Infecção hospitalar: epidemiologia e controle. 2. ed. Rio de Janeiro: Medsi; 1999.
13. Opplustil CP, Zocchi CM, Tobouti NR, Sinto SI. Procedimentos básicos em microbiologia clínica. São Paulo: Sarvier; 2000.
14. Microbiology Manual. Rio de Janeiro: Laboratório Merck; 2000.
15. Sperança PA, Andrade MC, Braz R, Correia MN, et al. Avaliação das técnicas de computação gráfica na análise e interpretação de testes microbiológicos. *Rev Pesq Odontol Bras*. 2003; 17: 120-2. Supl 2.

CORRESPONDÊNCIA

Paulo Augusto Sperança

Endereço: Av. Dr. José Augusto Moreira, 2258, apt. 1102, Casa Caiada, Olinda-PE, CEP: 53130-410

E-mail: alicesg86@gmail.com