

MARA FONSECA CHIARELLI LEGASPE

ESTUDO DA RESISTÊNCIA DE AMOSTRAS DE
Staphylococcus aureus A DIFERENTES ANTIBIÓTICOS

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do grau de Mestre em Odontologia, Área de "Farmacologia".

PIRACICABA
1988

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

À meus pais, que, com amor
e sacrifícios, me ensina-
ram a lutar por ideais ver-
dadeiramente dignos;

A meu marido, Pedro Carlos,
pela compreensão e apoio;

A minha filha Lara,
pela felicidade que seu sorriso
irradia e transborda minha alma;

A minha irmã e sobrinhos
pela alegria de sempre
tê-los ao meu redor;

dedico este trabalho.

A G R A D E C I M E N T O S

- Ao Professor Doutor Simonides Consani, Digníssimo Diretor da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, UNICAMP, pelo apoio recebido;

- A Professora Doutora Aline Aparecida Pizzirani-Kleiner, Professora Assistente do Departamento e Instituto de Genética da Escola Superior de Agronomia "Luiz de Queiroz", da Universidade Estadual de São Paulo, pela orientação, dedicação e incentivos constantes;

- Ao Professor Doutor João Leonel José, Professor Livre Docente, da Área de Fisiologia e Biofísica do Departamento de Ciências Fisiológicas, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, UNICAMP, pela orientação, estímulo e amizade;

- Ao Professor Doutor Osley Paes de Almeida, Coordenador Geral dos Cursos de Pós-Graduação, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, UNICAMP, pelo incentivo dado à pesquisa desta Faculdade;

- Ao Professor Doutor Thales R. Mattos Filho, Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Odontologia, Área de Farmacologia, pela compreensão e amizade;

- Ao Professor Doutor Samir Tufic Arbex, Titular da Disciplina de Farmacologia do Departamento de Ciências Fisiológicas da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, UNICAMP, pela oportunidade que me proporcionou de realizar este trabalho;
- Ao Professor Doutor Jaime Aparecido Cury, Chefe do Departamento de Ciências Fisiológicas da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, UNICAMP, pelo apoio recebido;
- Ao Professor Doutor Amado Leonísio de Azevedo, Titular da Disciplina de Farmacologia do Departamento de Ciências Fisiológicas da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, UNICAMP, pela colaboração;
- Aos Professores da Área de Farmacologia, do Departamento de Ciências Fisiológicas da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, UNICAMP: Doutor José Ranali, Doutor Eduardo D. Andrade e Doutora Maria de Lourdes G. da Gama, por seus ensinamentos;
- Ao Professor Doutor Décio Teixeira, Titular da Disciplina de Fisiologia e Biofísica do Departamento de Ciências Fisiológicas, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, UNICAMP, pelas sugestões recebidas;
- Ao Farmacêutico Bioquímico, Cid Chiarelli, pela eficiente colaboração, apoio e auxílio nas técnicas utilizadas;

- Ao Hospital e Maternidade da Santa Casa de Misericórdia de Moji Guaçú, nas pessoas de seu Diretor, Doutor Abrão Nohra Neto e Enfermeira Padrão Srta. Sonia Braido, pela facilidade concedida na coleta das amostras;
- Aos Doutores Roque N. Tamburini e Quely Tamburini Fleury de Barros, pela amizade e colaboração;
- Ao Professor Milton Franco de Faria, pela revisão ortográfica;
- Aos Funcionários do Setor de Genética de Microorganismos do Instituto de Genética da ESALQ - USP;
- Aos Funcionários do Laboratório de Análises Clínicas Cid Chiarelli, Sr. Marco Antonio Bernardo da Fonseca e Sra. Aparecida Claudete Salvi Perina, pela colaboração técnica;
- A senhora Ivany do Carmo G. Gerola, pela revisão bibliográfica;
- À todos aqueles que direta ou indiretamente possibilitaram a execução deste trabalho.

C O N T E Ú D O

Capítulo I

| | |
|----------------------|----|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 08 |
| 1.1. Proposição..... | 11 |

Capítulo II

| | |
|---|----|
| 2. REVISTA DA LITERATURA..... | 12 |
| 2.1. Resistência Bacteriana à Drogas..... | 13 |
| 2.2. Resistência Plasmidial..... | 14 |
| 2.3. Instabilidade de Resistência..... | 19 |
| 2.4. Resistência dos <u>S. aureus</u> à Drogas..... | 20 |
| 2.5. Antibióticos..... | 23 |
| 2.5.1. Considerações Gerais Sobre Cada Anti- biótico Utilizado no Presente Trabalho..... | 26 |

Capítulo III

| | |
|---|----|
| 3. MATERIAL E MÉTODOS..... | 34 |
| 3.1. Espécie de Bactéria Utilizada..... | 35 |
| 3.2. Meios de Cultura e Soluções Utilizadas..... | 35 |
| 3.3. Drogas Utilizadas..... | 40 |
| 3.4. Isolamento das Amostras..... | 40 |
| 3.5. Determinação dos Níveis de Resistência às Drogas..... | 42 |
| 3.6. Tratamento com Brometo de Etídio..... | 43 |

Capítulo IV

| | |
|--|----|
| 4. RESULTADOS..... | 46 |
| 4.1. Níveis de Resistência de Amostras Isoladas..... | 47 |
| 4.2. Tratamento com Brometo de Etídio..... | 48 |

Capítulo V

| | |
|--|----|
| 5. DISCUSSÃO..... | 72 |
| 5.1. Níveis de Resistência de Amostras Isoladas..... | 73 |
| 5.2. Comparação dos Níveis de Resistência..... | 74 |
| 5.3. Tratamento Com Brometo de Etídio..... | 76 |

Capítulo VI

| | |
|--------------------|----|
| 6. CONCLUSÕES..... | 79 |
|--------------------|----|

Capítulo VII

| | |
|------------------------------------|----|
| 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 81 |
|------------------------------------|----|

Capítulo VIII

| | |
|----------------|----|
| 8. RESUMO..... | 90 |
|----------------|----|

Capítulo IX

| | |
|-----------------|----|
| 9. SUMMARY..... | 92 |
|-----------------|----|

Capítulo I

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Estafilococos são cocos gram-positivos, imóveis, agrupados em massas irregulares ou em cachos de uva. Dentro do gênero Staphylococcus, podem considerar-se duas espécies que fazem parte da flora normal da pele e dos tratos respiratório e gastrointestinal, S. aureus e S. epidermidis (PYATKIN, 1.967).

O S. aureus, espécie patogênica, foi descoberto e isolado posteriormente do pús furuncular. O mesmo, tem sido descrito como agente de causa de numerosos processos supurativos da espécie humana, tais como furúnculos, impetigo, osteomielites, infecções pleuropulmonares, infecções urinárias, etc.

Certas cepas de S. aureus produzem uma enterotoxina e são responsáveis por intoxicações alimentares. Os estafilococos adquirem facilmente resistência aos antibióticos, dando lugar ao aparecimento de mutantes responsáveis pela eclosão epidêmica de infecções, particularmente em doentes hospitalizados (BIER, 1.975).

É evidente que o problema dos estafilococos constitui um campo aberto à pesquisa, sendo a literatura sobre o assunto por demais volumosa e conhecida. É sabido que a introdução de cada novo antibiótico, inicialmente efetivo contra S. aureus é seguido pelo aparecimento de linhagens resistentes.

Estafilococos são frequentemente resistentes a uma variedade muito grande de agentes antimicrobianos, sendo

esta resistência frequentemente codificada por genes plasmidiais. A aquisição de plasmídios pelos estafilococos tradicionalmente ocorre via transdução (SHABERG et alii, 1.982).

Antibióticos são substâncias químicas, derivadas ou produzidas por microorganismos que, em baixas concentrações, inibem o desenvolvimento das bactérias e de outros microorganismos, ou os destroem.

A palavra antibiótico vem de antibiose, ou seja antagonismo, no sentido de criação de condições desfavoráveis à vida de um ser vivo sobre o outro que se encontre em sua vizinhança, com vista a garantir sua própria sobrevivência.

A antibioticoterapia, em bases empíricas, foi observada há muitos séculos. Os chineses, 2.500 anos atrás, já usavam a papa mofada de soja aplicada como tratamento de rotina no antraz, furúnculos, bolhas e infecções superficiais.

Os antibióticos são produzidos por bactérias ou fungos dos gêneros ascomicetos ou actinomicetos; alguns podem ser obtido por síntese total ou parcial em laboratório (AMATONETO et alii, 1972; FONSECA, 1984).

O uso indiscriminado de antibiótico na Odontologia, as dosagens mal calculadas, o uso profilático e indevido têm acarretado o aparecimento de microorganismos resistentes e os conhecidos problemas da resistência bacteriana à drogas.

1.1. Proposição

O presente trabalho foi planejado com os seguintes objetivos:

1. Analisar a resistência de amostras de S. aureus, isoladas de estudantes e do ambiente hospitalar, frente a onze diferentes antibióticos;
2. Verificar o nível de resistência de cada uma das amostras;
3. Estabelecer a natureza cromossômica ou plasmidial da resistência.

Capítulo II

REVISTA DA LITERATURA

2. REVISTA DA LITERATURA

2.1. Resistência Bacteriana à Drogas

Com a descoberta da penicilina e sua introdução na prática médica em 1.942, iniciou-se um dos grandes momentos da história da medicina; seu sucesso na quimioterapia foi extremamente significativo até que se notou o aparecimento de linhagens resistentes de estafilococos em hospitais ingleses (BARBER, 1.949).

A adição de antibióticos em rações animais, em níveis nutricionais, tem ocasionado o aparecimento de mutantes resistentes que, normalmente, não habitam o trato digestivo dos mesmos, como também amostras resistentes foram notadas no trato respiratório superior dos indivíduos responsáveis pela criação e alimentação destes animais. A importância clínica desta resistência reside no fato de que muitas destas drogas utilizadas em rações encontram aplicação na terapêutica humana e veterinária, comprometendo a satisfatoriedade do tratamento das moléstias infecciosas (SMITH, 1.968).

Durante recentes décadas, criou-se uma situação de "stress bacteriano" pela introdução no ecossistema de altas concentrações de antibióticos, tendo as bactérias capacidade de adaptação a este stress, adquirindo a resistência à drogas de acordo com as teorias da evolução (REANNEY, 1.976); entretanto, o que realmente ocorre quanto à aquisição de resistência à drogas é a mutação seguida de seleção, sendo esta espontânea mesmo

na ausência da droga, e não adaptação fenotípica aos antibióticos.

Atualmente, os antibióticos ocupam em vários países lugar de destaque no receituário médico, tendo seu uso indiscriminado selecionado bactérias portadoras de genes cromossômicos espontaneamente alterados e, principalmente, bactérias portadoras de elementos extracromossômicos transferíveis, os plasmídios, portadores de genes responsáveis pela resistência à droga (CHOPRA & HOWE, 1.978).

MITSUHASHI (1.979) descreveu um outro mecanismo que leva a variação bacteriana, é a recombinação, pela qual se dá a substituição de genes de uma célula receptora por genes homólogos, provenientes de uma célula doadora, podendo esse fenômeno ser efetuado por três processos: a conjugação, a transdução e a transformação bacteriana. Ainda, o mesmo autor verificou que ocorreu uma alteração do genoma da célula, podendo ser esta de natureza cromossômica ou extracromossômica.

Diversas pesquisas sobre o mecanismo de resistência das bactérias à drogas estão em andamento, devendo as mesmas contribuir para um maior esclarecimento, permitindo, dessa forma, uma aplicabilidade destas drogas com maior eficácia sobre as bactérias (COSTA, 1.985).

2.2. Resistência Plasmidial

OCHIAI et alii (1.959) e AKIBA et alii (1.960) re

lataram que a resistência à drogas podia ser transferida entre Shigella e E. coli quando cultivadas juntas em meio líquido.

MITSUHASHI et alii (1.960) demonstrou que culturas de Shigella, que apresentavam resistência múltipla, quando filtradas, perdiam sua capacidade de transferência de resistência às amostras sensíveis de E. coli, sendo o mesmo observado nas amostras resistentes de Shigella quando eram submetidas à ação de raios ultra-violeta, ou após estocagem das culturas ou tratamento das mesmas com acriflavina. Estes achados demonstraram a existência de um agente independente do cromossomo, os plasmídios, responsáveis pela transferência da resistência à drogas durante o contato celular, via conjugação, sendo que a velocidade de replicação deste agente era maior que a do cromossomo bacteriano. Esses plasmídios, denominados fatores R, ou plasmídios R, têm a capacidade de se replicarem autônoma^mente, podendo estes serem transmitidos para todas as espécies de Enterobactérias, apresentando papel relevante na resistência múltipla à drogas.

Os plasmídios R, além de conferirem resistência à drogas, também estão envolvidos: na produção de pigmento difusível em colônias de estafilococos (ANNEAR & GRUBB, 1.972; GRUBB et alii, 1.982), no controle da utilização de manitol e β glucosídeos, fermentação da ribose, atividade da fosfo-glucosidase, absorção de fagos, alteração no crescimento bacteriano, resistência aos metais pesados (NOBLE, 1.977); na redução da afinidade do sistema de transporte da tetraciclina pelos complexos da membrana celular (CHOPRA & HOWE, 1.978); na produção de toxina esfoliativa, a bacteriocina (SIQUEIRA & AZEVEDO,

1.978); na resistência ao brometo de etídio e compostos do amônio quaternário (GILLESPIE et alii, 1.985).

HEDGES & JACOB (1.974), pesquisando os aspectos ligados à resistência à ampicilina em bactérias, verificaram que os genes que conferiam esta resistência podiam ser transferidos de um plasmídio para outro acarretando um aumento de tamanho do plasmídio receptor, tendo este plasmídio capacidade de doar esse gene recebido para outro plasmídio. A partir dessas conclusões surgiu o termo transposon para denominar esses segmentos de DNA que podem ser transferidos e com capacidade de se inserir no DNA cromossômico ou plasmidial.

Um mesmo plasmídio pode conferir resistência à drogas em mais de uma espécie de bactérias; como exemplo, temos o plasmídio pBC16, isolado do Bacillus cereus, capaz de se replicar em E. coli e Bacillus subtilis, conferindo em ambos hospedeiros resistência à tetraciclina. O mesmo aconteceu com o plasmídio promiscuo RP4 de Pseudomonas aeruginosa, responsável pela resistência à tetraciclina e outros antibióticos, que por via conjugação transfere esta propriedade de resistência a uma variedade de bactérias gram-negativas (CHOPRA & HOWE, 1.978).

O determinante de resistência à eritromicina está num transposon idêntico ao Tn554 que, preferencialmente, instala-se no DNA plasmidial (NOVICK et alii, 1.981; TOWNSEND et alii, 1.985).

SHABERG et alii (1.982) relataram em sua revisão que o plasmídio R, isolado de Streptococcus faecalis, era auto-transferente em S. aureus, sendo que uma vez presente em S.

aureus, esse plasmídio conjuntivo podia ser transferido a um segundo S. aureus receptor ou retornar ao S. faecalis. Genes de resistência para o cloranfenicol, eritromicina e tetraciclina presentes no plasmídio de estreptococos foram prontamente expressos em S. aureus.

A resistência à gentamicina está relacionada ao plasmídio pSK1, sendo um transposon denominado TN4001, responsável por esta mutação (LYON et alii, 1.984).

Através da existência de transposon em plasmídios de resistência, observou-se o mecanismo pelo qual marcadores de resistência são capturados durante a evolução dos plasmídios, elucidando também a fácil distribuição dos genes de resistência entre diferentes bactérias (COSTA, 1.985).

BECK et alii (1.986) procurando demonstrar a resistência estafilocócica à meticilina, verificaram que o determinante de resistência a esta droga estaria ligado a um transposon, carregando este fragmento adicional de DNA, uma sequência de bases presentes no plasmídio penicilinase.

Por outro lado, diversos pesquisadores tem evidenciado a multiresistência do S. aureus devido aos plasmídios.

Assim, LACEY & GRINSTED (1.973) analisaram uma amostra multiresistente de S. aureus, contendo seis distintos plasmídios.

Uma amostra de S. aureus multiresistente foi construída "In Vitro", contendo oito plasmídios (LACEY & CHOPRA, 1.974). Estes verificaram que ocorria recombinação somente entre dois plasmídios, sugerindo que o número dos mesmos que a cé

lula pode manter é limitado, provavelmente, devido à incompatibilidade plasmidial.

Duas marcas de resistência em S. aureus são bem caracterizadas: a produção de penicilinas e a resistência à tetraciclina. Os genes que controlam esta resistência estão localizados em plasmídios distintos (LACEY, 1.975).

Em S. aureus, a transferência de genes de resistência é de origem plasmidial, sendo esta transferência feita por transdução (REANNEY, 1.976).

Nos últimos quinze anos, evidências se acumularam de que a resistência a vários antibióticos, em S. aureus, apresenta herança plasmidial (SIQUEIRA & AZEVEDO, 1.978).

HIRACHI et alii (1.982) em seus estudos, desenvolveram recombinantes resistentes à duas drogas, simultaneamente, através da indução de fusão celular pelo polietileno glicol.

Os elementos extracromossômicos conseguem desenvolver resistência para os sulfamídicos, estreptomicina, tetraciclina, cloranfenicol, canamicina, neomicina, gentamicina, espectinomicina, ampicilina, cefalosporinas, trimetropin e outros compostos, sendo que a disseminação dessa resistência múltipla à drogas é extremamente fácil, não só entre bactéria da mesma espécie, mas também entre bactéria de espécies diferentes (COSTA, 1.985).

2.3. Instabilidade de Resistência

MITSUHASHI et alii (1.963) observaram que a multi resistência à eritromicina, leucomicina e oleandromicina em S. aureus podia ser eliminada após tratamento das linhagens resistentes pela acriflavina.

MITSUHASHI et alii (1.965) notaram que os determinantes para resistência aos antibióticos macrolídeos e produção de penicilinase, eram eliminados após tratamento das amostras pela acridina ou luz ultra-violeta.

Os plasmídios penicilinases em S. aureus são eliminados após tratamento das amostras resistentes pelo brometo de etídio (JOHNSTON & DYKE, 1.969).

Variantes sensíveis de S. aureus foram obtidas espontaneamente após estocagem da cultura por alguns dias à temperatura ambiente, demonstrando-se assim a instabilidade de resistência das amostras para a canamicina e penicilina e sua herança plasmidial (ANNEAR & GRUBB; 1.972).

ASHESHOV (1.975), demonstrou a instabilidade de resistência à tetraciclina, quando a amostra de S. aureus era incubada à 43,5°C por 48 horas.

SIQUEIRA & AZEVEDO (1.978), relataram que o brometo de etídio forneceu indicação da localização plasmidial de certas marcas genéticas, podendo ser utilizado como agente de cura, na ausência de metodologia mais sofisticada.

LYON et alii (1.983) observaram que ocorria eliminação de plasmídios quando amostras de S. aureus cresciam a

44°C na presença de brometo de etídio (15 ug/ml), produzindo 35% de variantes sensíveis ao cloranfenicol.

2.4. Resistência dos S. aureus à drogas

Dentre os patógenos gram-positivos, o S. aureus, têm comumente demonstrado resistência a uma grande variedade de agentes antimicrobianos, sendo um importante protagonista de uma vasta gama de infecções (MITSUHASHI et alii, 1.965; AYLIFFE et alii, 1.977).

No plasmídio penicilinase, pode-se localizar entre outras marcas genéticas, a resistência aos antibióticos macrolídios (MITSUHASHI et alii, 1.965; JANOSI & BAN, 1.982).

KASUGA et alii (1.968), relataram que o gen que governa a resistência à tetraciclina, estreptomicina e sulfanilamida, localiza-se provavelmente no cromossomo celular.

Nas revisões de MITSUHASHI et alii (1.965), EVANS & WATERWORTH (1.966), ANNEAR & GRUBB (1.972) e LACEY & CHOPRA (1.973) demonstrou-se que a resistência a dois antibióticos pode ser determinada por um único plasmídio em S. aureus, sendo que a resistência a mais de duas drogas por um mesmo plasmídio é limitada pelo tamanho do plasmídio.

A resistência à meticilina foi descrita como sendo de origem plasmidial (LACEY & GRINSTED, 1.973 e ANNEAR & BARON HAY, 1.976), sendo que os S. aureus resistentes a essa

droga apresentam outras propriedades em comum: são altamente re-sistentes à estreptomicina e tetraciclina e produzem penicilinase; entretanto, KUHL et alii (1.978) sugerem que o gene de re-sistência à metecilina está localizado no cromossomo.

NOBLE & NAIDOO (1.978) relataram em sua revisão dois modelos básicos de aquisição de resistência à drogas em S. aureus: 1- resistência em resposta a presença de um antibiô-tico, ocorrendo através de uma seleção gradual da população microbiana com mutantes cada vez mais resistentes, sendo a concentração de droga neces-sária para inibir esse microorganismo maior que suportada pelo hospedeiro. O microorganismo é considerado resistente ao antibiô-tico. Os genes que governam este tipo de resistência estão geralmente localizados no cromossomo;

2- alternativamente, genes extracromossômicos podem especificar resistência em um único passo, com o microorganismo se transformando diretamente de sensível a resistente. Esses genes, geralmente, são extracromossômicos, ou seja, localizados em plasmídios.

Em S. aureus, podemos evidenciar certas marcas de resistência devido a genes localizados tanto no cromossomo celu-lar quanto nos plasmídios. A resistência bacteriana a certas dro-gas como: neomicina, lincomicina, eritromicina, espectinomicina, cloranfenicol, ácido fusídico, penicilinas, amicacina e metais pesados tem herança plasmidial. Já os genes de resistência para outras marcas tais como: novobiocina, trimetropina e rifampici-

na estão localizados no cromossomo. Resistência a antibióticos como tetraciclina, estreptomicina se dá tanto por genes localizados em plasmídios como no cromossomo (LACEY & GRINSTED, 1.973; LACEY, 1.975; TOWNSEND et alii, 1.985).

A localização de outros genes que codificam resistência à gentamicina, trobamicina e canamicina está associada à plasmídios, embora evidências de localização cromossômica se tenham observado em certas amostras, indicando nestas um estado de transição onde cópias de um transposon foram encontradas tanto no cromossomo celular quanto em plasmídio (LYON et alii, 1.983).

BARBER & ROZWADOWSKA-DOWZWNKO (1.948), relataram que a incidência de amostras resistentes à penicilina em S. aureus, estava próxima à 60%. WIEDMANN & KRISKEN (1.984), em suas pesquisas, verificaram que a porcentagem das amostras sensíveis de S. aureus à penicilina se encontrava abaixo dos 27%.

Estranhamente, nos últimos dez anos, raros tipos de agentes antiestafilococais foram introduzidos na prática médica não ocorrendo grandes transformações nos já existentes; entretanto, uma certa cautela foi observada em muitos países quanto ao uso tópico da gentamicina, com redução na utilização de tetraciclina e uma crescente aplicação da eritromicina e betalactâmicos (LACEY, 1.984).

DUNCKER & ULLMANN (1.985), pesquisando amostras de S. aureus provenientes de pacientes hospitalares, notaram uma altíssima incidência de amostras resistentes aos antibióticos betalactâmicos, gentamicina, clindamicina, eritromicina, fos

fomicina, sendo que netilmicina e cloranfenicol mostraram moderada ação frente às amostras resistentes; a rifampicina, seguida do ácido fuzídico, ciprofloxacina, vancomicina e trimetropina, foram as drogas que demonstraram maior atividade nos estafilococos multiresistentes.

GILLESPIE et alii (1.985) em sua revisão sobre a resistência a drogas, em amostras de S. aureus, relataram que os determinantes de resistência à penicilina e metal pesado são codificados por plasmídios.

Muitas substâncias típicas destes microorganismos, tais como: células antigênicas, toxinas e enzimas que interagem com as células e fluídos corporais "In Vivo", são fatores relacionados com a virulência do S. aureus, apesar da intensidade desta ser parcialmente dependente do estado biológico do hospedeiro (SAVOIA et alii, 1.985).

2.5. Antibióticos

Considerando-se o objetivo do presente trabalho e a importância dos antimicrobianos, será feita uma abordagem geral e outra específica dos antibióticos que foram utilizados para se avaliar os níveis de resistência das amostras de S. aureus. Desse modo, segundo AMATO NETO et alii (1.972) e FONSECA (1.984), observa-se a seguinte classificação:

A. Quanto à origem

Os antibióticos são produzidos por bactérias ou fungos dos gêneros ascomicetos ou actinomicetos (80%). Ressalte-se também que, por conveniência, alguns antibióticos podem ser obtidos por síntese, em laboratório, podendo esta ser total ou parcial:

- A.1. Antibióticos produzidos por bactérias: bacitracina, gramicidina, polimixinas, tirocidina, etc.
- A.2. Antibióticos produzidos por ascomicetos: cefalosporinas naturais, griseofulvina, penicilinas naturais, etc.
- A.3. Antibióticos produzidos por actinomicetos : aminoglicosídeos, antifúngicos poliênicos , capreomicina, ciclocerina, cefamicinas naturais, cloranfenicol, fosfomicina, lincosamina, macrolídeos, novobiocina, rifamicinas naturais, tetraciclina, vancomicina, etc.
- A.4. Antibióticos produzidos por síntese (também chamados simbióticos).
 - A.4.1. Síntese parcial: amicacina, carbenicilina, cefalosporina semi-sintética, cefaxitina, clindamicina, diidroestreptomicina, netilmicina, penicilina V, penicilinas semi-sintéticas, rifamicinas semi-sintéticas , tetraciclina(s), etc.

A.4.2. Síntese total: alguns antineoplásicos, ci
clocerina e seus derivados terizidona, clo
ranfenicol e seus análogos e derivados,
etc.

B. Quanto à ação biológica

Os antibióticos podem ser classificados em bacteri
ostáticos e bactericidas.

Denomina-se bacteriostático ao antibiótico que,
nas concentrações habitualmente atingidas no organismo, é ca-
paz de inibir a multiplicação dos microorganismos suscetíveis,
sem todavia destruí-los. Já o bactericida é capaz de, nas con-
centrações habitualmente atingidas, determinar a morte dos mi-
croorganismos suscetíveis.

B.1. Antibióticos primariamente bacteriostáticos:
cloranfenicol e seus análogos, lincosamina,
macrolídeos, novobiocina e tetraciclina.

B.2. Antibióticos primariamente bactericidas: a-
minoglicosídeos, cefalosporinas, fosfomici-
na, penicilinas, polimixinas e vancomicina.

B.3. Antibióticos fungistáticos: griseofulvina.

B.4. Antibióticos fungicidas: anfotericina B e
nistatina.

C. Quanto ao mecanismo celular e molecular de ação

Os antibióticos em uso na atualidade podem ser

classificados em quatro grupos principais, de acordo com o nível celular e molecular de sua atividade.

C.1. Antibióticos que atuam sobre a parede celular:

Penicilinas, cefalosporinas, bacitracinas e vancomicinas.

C.2. Antibióticos que atuam sobre a membrana citoplasmática:

Polimixinas, anfotericina e nistatina.

C.3. Antibióticos que atuam sobre a síntese de ácidos nucleicos:

Rifamicinas, novobiocina e griseofulvina.

C.4. Antibióticos que atuam sobre a síntese de proteínas:

1. Inibindo a síntese protéica:

Tetraciclina, cloranfenicol, eritromicina e lincomicina.

2. Determinando síntese de proteínas anômalas:

Neomicina, estreptomina, canamicina e gentamicina.

2.5.1. Considerações Gerais Sobre Cada Antibiótico

Utilizado no Presente Trabalho

a. PENICILINA G

Atualmente obtida industrialmente por fermentação, a partir de estirpes de Penicillium notatum e Penicillium chrysogenum, a penicilina G também é chamada de penicilina II, penicilina natural ou benzilpenicilina G.

A penicilina G é um antibiótico de pequeno espectro; nele estão incluídos principalmente os cocos gram-positivos; entretanto, os estafilococos produtores de penicilinas e a maioria dos bacilos gram-negativos apresentam notável resistência.

As betalactamases, produzidas por estafilococos, E. coli, pseudomonas etc., atuam desfazendo o anel betalactâmico dos 6 - APA, o que acarreta a perda da atividade biológica da penicilina.

Os mecanismos indutores da formação de penicilinas são a transdução e a conjugação.

b. OXACILINA

É um derivado semi-sintético da penicilina, sendo do grupo das penicilinas resistentes às penicilinas estafilocócicas, tendo pequeno espectro, altamente seletiva. A principal indicação, e quase que única, desta penicilina consiste no tratamento de infecções estafilocócicas resistentes à penicilina G.

c. CEFALOTINA

Pertence ao grupo das cefalosporinas, sendo que

estas foram obtidas de cultura de Cephalosporium acremonium, colhidos no mar, próximo à desembocadura de esgotos.

São antibióticos betalactâmicos intimamente relacionados com a penicilina; ambos os antibióticos apresentam o mesmo mecanismo de ação.

São considerados antibióticos em amplo espectro, sendo bastante ativas para os cocos gram positivos. De suma importância é o fato das cefalosporinas não serem degradadas pela ação de penicilinas, podendo, portanto, ser empregada em infecções por estafilococos produtores ou não desta enzima; entretanto, estas podem ser inativadas pela enzima cefalosporinase, produzida por alguns microorganismos (estafilococos e gram negativos).

De modo geral, a cefalotina é um antibiótico de segunda escolha, em relação a gram positivos, sua maior utilidade reside no tratamento de infecções por estafilococos penicilino-resistente e também em casos de indivíduo com hipersensibilidade às penicilinas.

d. ESTREPTOMICINA

Obtida a partir de culturas de Streptomyces griseus, foi o segundo antibiótico a ser utilizado em clínica, logo após a penicilina.

Durante muito tempo a estreptomicina teve emprego generalizado, apesar de sua toxicidade; hoje com a descoberta de outros aminoglicosídeos de espectro mais amplo, e com o de-

envolvimento crescente de resistência por parte dos patógenos suscetíveis, seu uso vem sendo mais restrito.

A resistência a esta droga pode ser de origem extracromossômica, através da produção de enzimas inativantes, principalmente a fosfo-transferase em S. aureus ou cromossômica sendo que neste caso a resistência se faz por alteração de uma proteína ribossômica onde o antibiótico se fixa.

e. CANAMICINA

Obtida a partir de culturas do Streptomyces kanamiticus, constitui-se numa mistura de três substâncias, canamicinas A, B e C.

Sua eficácia e toxicidade aceitável, o advento da resistência bacteriana e o aparecimento da gentamicina abalaram consideravelmente suas indicações.

O mecanismo de resistência a esta droga se dá principalmente pela inativação da droga pela enzima fosfotransferase.

f. AMICACINA

Derivado semi-sintético da canamicina A, faz parte do grupo dos novos aminoglicosídeos. Sua principal vantagem sobre os outros reside no fato de ser um mau substrato para as enzimas e, portanto, resistente à inativação; com efeito, ela

só é afetada por uma acetiltransferase, a AAC(6') produzida por cepas de E. coli e Pseudomonas, uma das menos difundidas enzimas inativadoras.

Amicacina é um recurso valioso e, como tal, não deve ser empregada em infecções de pequena gravidade ou infecções severas, mas causadas por germes sensíveis aos outros aminoglicosídeos. Baseado nestes princípios, podemos contar com um poderoso recurso para enfrentar o problema da resistência bacteriana.

g. NETILMICINA

É o mais novo aminoglicosídeo introduzido na clínica. Trata-se de um derivado semi-sintético da gentamicina.

Suas principais vantagens dentre os aminoglicosídeos em uso seriam uma maior resistência à inativação enzimática, além de uma maior potência de ação se comparada ao composto que lhe deu origem.

Os aminoglicosídeos constituem, juntamente com as penicilinas, um dos grupos mais importantes de antibióticos disponíveis, representando arma importante contra gram-negativo, inclusive Pseudomonas, devendo sua indicação ser abolida para infecções banais provocadas por gram positivos. É preciso que nos conscientizemos da gravidade do problema, a relativa facilidade de aquisição de resistência aos aminoglicosídeos pelo fator R, transmissível de uma bactéria para outra, aliada aos efeitos colaterais próprios do grupo, faz que devemos ter uma atitude po-

derada, utilizando-os, como arma poderosa, nos casos em que es-
tão especificamente indicados e jamais de forma abusiva e in-
discriminada (COSTA, 1.985).

h. RIFAMPICINA

Pertence ao grupo dos ansamacrolídeos, são com-
postos semi-sintéticos, obtidos a partir de culturas do Strepto-
myces mediterranei.

Possui ação bacteriostática, atuando especialmen-
te contra cocos gram positivos, principalmente o estafilococos,
inclusive os penicilos-resistentes.

Um dos maiores inconvenientes da rifampicina é o
rápido aparecimento de resistência por parte dos microorganismos
suscetíveis, sendo aconselhável reservá-la para infecções
menos triviais, como exemplo a tuberculose.

O mecanismo de resistência a esta droga é induzi-
do por mutantes de origem cromossômica que produzem uma altera-
ção da estrutura da polimerase o que impede a sua ligação com
a rifampicina.

i. ERITROMICINA

Pertence ao grupo dos macrolídeos, sendo obtida
através de culturas de Streptomyces erythreus; age, inibindo a
síntese protéica dos microorganismos sensíveis, para isso se
fixa nas subunidades 50 S do ribossoma. Seu espectro abrange

os cocos gram-positivos (estreptococos, pneumococos e estafilococos, inclusive os produtores de penicilinase) e bacilos gram-negativos.

O mecanismo de resistência dos microorganismos a esta droga não está ainda bem definido.

j. CLORANFENICOL

É quimicamente um derivado do propanodiol, sendo obtido a partir de culturas de Streptomyces venezuelae, podendo também ser preparado por síntese que se constitui, hoje em dia, praticamente no único processo para sua produção.

Possui ação bacteriostática, bloqueando a síntese protéica, fixando-se na subunidade 50 S dos ribossomas das bactérias sensíveis.

O aparecimento crescente de bactérias resistentes tem limitado o uso do antibiótico; a resistência ao cloranfenicol dá-se por um mecanismo de conjugação e parece ser devida ao Fator R, sendo este responsável pela produção de uma acetiltransferase que acetila o antibiótico.

O cloranfenicol já foi um dos antibióticos mais utilizados do mundo. Atualmente, seu emprego foi drasticamente reduzido; tal mudança se deve além de seu efeito apenas bacteriostático, a sua grande toxicidade e ao surgimento, cada vez mais frequente, de resistência por parte de microorganismos anteriormente suscetíveis.

k. TETRACICLINAS

Família de antibióticos caracterizada por apresentar em comum um grupo de quatro anéis derivados do naftaleno, com função carboxamida. Os membros do grupo são constituídos pela tetraciclina propriamente dita e um grande número de derivados naturais ou semi-sintéticos.

Possuem ação bacteriostática, impedindo a síntese protéica ao inibir a conjugação do t - ARN ativado por aminoácidos à superfície dos ribossomas nas suas subunidades 30 S.

A primeira tetraciclina utilizada foi a clortetraciclina, em 1.948; por causa de seu amplo espectro de ação, as tetraciclinas tiveram uma fase aúrea; hoje em dia encontram-se em fase de declínio, sendo este explicado pelo surgimento de substâncias mais ativas e menos tóxicas (cefalosporinas p. ex.), pelos próprios efeitos colaterais das tetraciclinas e pelo aparecimento crescente de resistência bacteriana.

Existe resistência cruzada total entre todos os membros do grupo, sendo que esta surge lenta e gradualmente, devido principalmente à transferência do fator R. Seu mecanismo de ação não é totalmente conhecido e, ao que parece, está ligado à impermeabilidade celular; o antibiótico não consegue penetrar nas células para exercer sua ação.

Capítulo III

MATERIAL E MÉTODOS

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Espécie de Bactéria Utilizada

Foram utilizadas 88 amostras de Staphylococcus aureus, sendo 26 isoladas da pele e 18 da narina de 9 estudantes do E.P.G. Padre Armani, de Mogi Guaçu, e 44 amostras isoladas de 12 diferentes salas do Hospital e Maternidade da Santa Casa de Misericórdia de Mogi Guaçu, em 1.985.

3.2. Meios de Cultura e Soluções Utilizadas

3.2.1. Ágar nutriente (N.A. DIFCO)

| | |
|-----------------------|----------|
| Extrato de carne..... | 3 g |
| Cloreto de sódio..... | 1 g |
| Peptona..... | 5 g |
| Ágar..... | 15 g |
| Água destilada..... | 1.000 ml |
| pH..... | 7,2 |

O meio dissolvido foi distribuído em tubos (20 ml por tubo) e esterilizado em autoclave à 1 atmosfera de pressão à 120°C por minutos.

3.2.2. Caldo nutriente (DIFCO)

| | |
|-----------------------|----------|
| Extrato de carne..... | 3 g |
| Peptona..... | 5 g |
| Cloreto de sódio..... | 1 g |
| Água destilada..... | 1.000 ml |
| pH..... | 7,2 |

Preparado do mesmo modo que o ágar nutriente sem a adição do ágar.

3.2.3. Caldo nutriente triptona-dextrose (DIFCO)

| | |
|----------------------|----------|
| Nutriente Broth..... | 2,6 g |
| Triptona..... | 1,6 g |
| Dextrose..... | 3,0 g |
| Água destilada..... | 1.000 ml |
| pH..... | 7,4 |

O meio foi distribuído em frascos (10 ml por frasco) e a seguir autoclavado por 15 minutos à 120°C à uma atmosfera de pressão.

3.2.4. Manitol Salt Ágar (DIFCO)

| | |
|------------------------|-------|
| Manitol Salt Ágar..... | 111 g |
|------------------------|-------|

Água destilada..... 1.000 ml

A autoclavagem foi feita por 15 minutos à 120°C à uma atmosfera de pressão, sendo o meio distribuído em placas de Petri.

3.2.5. Mueller - Hinton Ágar (Biobrãs)

Infuso de carne bovina..... 300,0 g
Peptona de caseína ácida..... 17,5 g
Amido..... 1,5 g
Ágar..... 17,0 g
Água destilada..... 1.000 ml
pH final..... 7,4 ± 0,2

A autoclavagem foi feita por 15 minutos à 120°C, a uma atmosfera de pressão, sendo o meio distribuído em placas de Petri.

3.2.6. Caldo de Soja Trypticaseína (Biobrãs)

Peptona de caseína..... 17,0 g
Peptona de soja..... 3,0 g
Cloreto de sódio..... 5,0 g
Fosfato dipotássico..... 2,5 g
Dextrose..... 2,5 g

Água destilada..... 1.000 ml
pH final..... $7,3 \pm 0,2$

O meio foi distribuído em frascos (5 ml por frasco) e a seguir autoclavado por 15 minutos à 120°C à uma atmosfera de pressão.

3.2.7. Solução Salina

Solução de cloreto de sódio 0,89% em água destilada, sendo distribuída em frascos e autoclavada por 15 minutos à 120°C à uma atmosfera de pressão.

3.2.8. Solução de Brometo de Etídio

Brometo de etídio..... 10 mg
Água destilada..... 50 ml

O brometo de etídio foi dissolvido em 50 ml de água destilada, esterilizada e acondicionado em frasco escuro.

3.2.9. Corantes de Gram

Cristal Violeta Fenicada

| | |
|----------------------|--------|
| Cristal violeta..... | 1 g |
| Álcool a 95°..... | 10 ml |
| Fenol fundido..... | 2 g |
| Água destilada..... | 100 ml |

O corante acima foi misturado e acondicionado em frasco.

Fucsina Fenicada

| | |
|---------------------|---------|
| Fucsina básica..... | 0,3 g |
| Álcool a 95°..... | 10,0 ml |
| Fenol fundido..... | 5,0 g |
| Água destilada..... | 95,0 ml |

Preparado do mesmo modo que o acima.

Solução de Lugol

| | |
|-------------------------|--------|
| Iôdo..... | 1 g |
| Iodeto de potássio..... | 2 g |
| Água destilada..... | 300 ml |

Num gral, o iodeto de potássio e o iôdo foram triturados, sendo aos poucos adicionada a água, misturando-se bem.

3.3. Drogas Utilizadas

Antimicrobianos em discos (Sensibiodisc-Cecon) utilizados e suas respectivas concentrações.

| | | |
|----------------|------------|--------|
| Amicacina | (AM)..... | 30 mcg |
| Cefalotina | (CF)..... | 30 mcg |
| Cloranfenicol | (CO)..... | 30 mcg |
| Eritromicina | (EI)..... | 15 mcg |
| Estreptomicina | (ET)..... | 10 mcg |
| Canamicina | (KN)..... | 30 mcg |
| Netilmicina | (NET)..... | 30 mcg |
| Oxacilina | (OX)..... | 5 mcg |
| Penicilina G | (PN)..... | 10 un. |
| Rifampicina | (RF)..... | 5 mcg |
| Tetraciclina | (TT)..... | 30 mcg |

3.4. Isolamento das Amostras

As amostras provenientes da pele (região do braço) e narina dos estudantes, foram coletadas com o auxílio de cotonetes esterilizados, umedecidos em solução salina; a seguir foram passados por estrias, em placas contendo manitol salt ágar, que é seletivo para o isolamento de estafilococos. Após período de incubação de 36 horas em estufa a 37°C, seleci

onou-se as colônias que produziram halo amarelo no meio de cultura.

As amostras foram fixadas em lâminas e coradas pelo método de Gram que se segue:

- 1- corar 1 minuto com solução de cristal violeta fenicada.
- 2- escorrer o corante e cobrir, durante 1 minuto, com solução de lugol.
- 3- lavar em água corrente.
- 4- diferenciar com álcool a 95%.
- 5- lavar em água corrente.
- 6- corar o fundo rapidamente com fucsina diluída a 1/10.
- 7- lavar e secar.

Após a observação microscópica das lâminas, notou-se que as amostras eram formadas por microrganismos esféricos, em cachos irregulares azuis. As colônias assim caracterizadas foram transferidas para tubos de ensaio, contendo ágar nutriente inclinado e após o crescimento à 37°C, foram estocadas no refrigerador.

As amostras hospitalares foram isoladas, conservando-se aberta uma placa com manitol salt ágar por 2 horas, em cada uma das 12 diferentes salas da Santa Casa. A seguir, as placas foram fechadas e incubadas à 37°C por 36 horas; após o crescimento das colônias, fez-se um exame microscópico das que produziram halo amarelo no meio de cultura, nas quais foram também observadas a presença de células esféricas agrupadas em ca-

chos, gram-positivas, característica de bactérias do gênero Staphylococcus.

As amostras hospitalares e da pele e narina, foram submetidas a prova da coagulase (GODOY & FERNANDES, 1.978), utilizando-se plasma de coelho citratado. Desse modo, as amostras que apresentaram reação positiva, ou seja, coagulase positiva, foram utilizadas para os próximos passos da pesquisa. Esta reação de coagulação é uma prova utilizada na diferenciação de S. aureus.

3.5. Determinação dos Níveis de Resistência às Drogas

Os níveis de resistência foram obtidos, utilizando-se o método de difusão em ágar com discos, segundo o processo de Kirby-Bauer (BAUER et alii, 1.966). Este método propicia uma constante reprodutibilidade da prova, oferecendo seus resultados uma melhor correlação com a metodologia da concentração mínima inibitória. O meio de cultura utilizado, Mueller-Hinton, é o mais recomendado devido a sua melhor padronização e por oferecer condições ideais de crescimento aos principais patógenos (SUASSUNA, 1.985).

Cinco colônias de cada amostra isolada de S. aureus foram transferidas para tubos testes, contendo 5 ml de caldo de soja tripticase (T.S.B.) e incubados à 37°C em intervalos de 2 a 8 horas, até uma turbidez ideal comparada a uma solução padrão de sulfato de bário (0,5 ml de cloreto de bário, (BaCl₂))

a 1% mais 99,5 ml de uma solução de ácido sulfúrico, (H_2SO_4) à 1% (0,36 N).

Esse inóculo foi espalhado uniformemente com um cotonete esterilizado, em placas, contendo o meio de cultura Mueller - Hinton, previamente preparado; após intervalos de 3 a 5 minutos, os discos foram depositados, com o auxílio de uma pinça, sobre a superfície do meio.

Após o período de incubação de 24 horas, à temperatura de $37^{\circ}C$, procedeu-se a leitura dos halos de inibição, interpretando-se os resultados de acordo com a Tabela 1.

A categoria com que a bactéria é colocada, resistente, intermediário ou sensível, corresponde ao tamanho do diâmetro do halo de inibição conforme se refere na Tabela 1.

Nos testes pelo método de difusão, forma-se um gradiente de concentração pela difusão do antibiótico a partir do disco para o ágar, com conseqüente inibição do crescimento dos microorganismos sensíveis.

3.6. Tratamento com Brometo de Etídio

Duas amostras hospitalares que apresentaram resistência múltipla à maioria dos antibióticos testados, M_5 e M_9 , foram submetidas ao tratamento pelo brometo de etídio, método este descrito por SIQUEIRA (1.976), com a finalidade de observar a possível origem plasmidial dos genes de resistência. As

amostras acima foram incubadas à 37°C, separadamente, por 18 horas, em caldo nutriente. A seguir, 0,1 ml desta foi adicionada em frascos, contendo 10 ml de caldo nutriente-triptona dextrose, pH= 7,4, contendo 0; 2,0; 3,0 e 4,0 ug/ml de brometo de etídio, os quais foram incubados à 37°C, com agitação.

A cultura, que apresentou maior turvação no menor tempo e na maior concentração de brometo de etídio foi diluída adequadamente em solução salina e 0,1 ml desta foi semeado em placas, contendo ágar nutriente; o mesmo foi feito com a amostra crescida em meio sem a adição do brometo de etídio.

Após período de incubação de 24 horas, a 37°C, as amostras foram transferidas isoladamente para tubo, contendo T.S.B. e incubadas em intervalos de 2 - 8 horas, até a turbidez do meio. Com o cotonete esterilizado, fez-se o esfregaço em placas, contendo meio de cultura de Mueller-Hinton, sendo que nestas foram depositados os discos de antibióticos aos quais as amostras M₅ e M₉ apresentaram resistência. Estas placas foram incubadas a 37°C, por 24 horas e, fez-se então a leitura dos halos de inibição, comparando-os com a Tabela 1 e estimou-se então a porcentagem de perda de resistência para cada antibiótico testado.

TABELA 1:- Limites para interpretação do antibiograma; zona de inibição em milímetros.

| ANTIBACTERIANOS | CONC. DISCO | RESISTENTE (MENOR OU IGUAL) | INTERMEDIÁRIO | SENSÍVEL (MAIOR OU IGUAL) |
|---------------------|-------------|--------------------------------|---------------|------------------------------|
| Estreptomicina (ET) | 10 mcg | 11 | 12/14 | 15 |
| Rifampicina (RF) | 5 mcg | 23 | 24 | 25 |
| Cloranfenicol (CO) | 30 mcg | 12 | 13/17 | 18 |
| Canamicina (KN) | 30 mcg | 13 | 14/17 | 18 |
| Netilmicina (NET) | 30 mcg | 16 | 17 | 18 |
| Oxacilina (OX) | 5 mcg | 9 | 10/13 | 14 |
| Cefalotina (CF) | 30 mcg | 14 | 15/17 | 18 |
| Amicacina (AM) | 30 mcg | 14 | 15/16 | 17 |
| Eritromicina (EI) | 15 mcg | 13 | 14/17 | 18 |
| Tetraciclina (TT) | 30 mcg | 14 | 15/18 | 19 |
| Penicilina G (PN) | 10 un. | 20 | 21/28 | 29 |

(*) Limites fornecidos pelo laboratório detentor do antibacteriano.

Capítulo IV

RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1. Níveis de Resistência de Amostras Isoladas

As 88 amostras de Staphylococcus aureus foram testadas frente aos antibióticos: Estreptomina, Rifampicina, Cloxanfenicol, Canamicina, Netilmicina, Oxacilina, Cefalotina, Amicacina, Eritromicina, Tetraciclina e Penicilina. O método utilizado foi o da difusão em ágar, segundo o processo de Kirby-Bauer. Os níveis de resistência das amostras provenientes da pele e narina de estudantes do E.P.G. Padre Armani, estão mostrados na Tabela 2. As amostras estão indicadas pela letra P ou N representando pele ou narina, a seguir pelo número do estudante e número da colônia obtida deste indivíduo.

A nomenclatura utilizada para as amostras provenientes da Santa Casa de Misericórdia foi a mesma apenas acrescentando as letras correspondentes às salas nas quais foi efetuada a coleta das bactérias, sendo: A- Berçário; B- Sala de Parto Normal; C- Sala de Esterilização; D- Ambulatório; E- Pediatria; F- U.T.I.; G- Posto de Enfermagem da Ala masculina; H- Sala de Pré Parto; I- Centro cirúrgico; J- Corredor da Maternidade; L- Enfermaria feminina; M- Enfermaria masculina. Os níveis de resistência destas amostras estão mostrados na Tabela 3.

Os resultados das Tabelas 2 e 3 estão agrupados e representados nos Gráficos 1 a 11, para cada antibiótico utilizado.

Os dados apresentados na Tabela 2 estão expressos em porcentagem de resistência na Tabela 4, considerando-se separadamente as amostras isoladas da pele e narina dos estudantes.

A porcentagem de amostras resistentes, isoladas dos estudantes e de amostras resistentes isoladas da Santa Casa, está apresentada na Tabela 5 e a porcentagem de amostras resistentes, para ambos os casos, em relação ao total de amostras analisadas, está mostrada na Tabela 6, para melhor visualização.

4.2. Tratamento com Brometo de Etídio

As condições utilizadas no tratamento estão mostradas na Tabela 7 e os modelos de resistência para as 50 colônias provenientes da amostra M_5 estão apresentados na Tabela 8, para o controle; e na Tabela 9, para o tratamento efetuado com 2 ug/ml de brometo de etídio. Os dados da amostra M_9 estão mostrados nas Tabelas 10 e 11, respectivamente, para o controle e tratamento.

Da análise das Tabelas 8, 9, 10 e 11, estimaram-se as frequências de eliminação das marcas de resistência aos antibióticos, considerando-se o controle e o tratamento. Essas frequências estão apresentadas nas Tabelas 12 e 13 para as amostras M_5 e M_9 , respectivamente.

TABELA 2:- Níveis de resistência das 44 amostras de *S. aureus*, isoladas da pele e narina de 9 estudantes do E.E.P.G. Padre Armani de Moji Guaçú, SP.

| AMOSTRAS | D R O G A S | | | | | | | | | | | MODELO DE RESISTÊNCIA | |
|----------|-------------|----|----|----|-----|----|----|----|----|----|----|-----------------------|--------------------|
| | ET | RF | CO | KN | NET | OX | CF | AM | EI | TT | PN | | |
| P1.1 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| P2.1 | S | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | RF, PN |
| P2.2 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| P2.4 | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | ET |
| P2.5 | R | S | S | S | S | R | R | S | S | S | S | R | ET, OX, CF, PN |
| P2.6 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | PN |
| P2.7 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| P3.2 | S | S | S | S | S | R | R | S | S | R | R | R | OX, CF, TT, PN |
| P3.5 | S | S | S | S | S | R | S | S | S | S | S | R | OX, PN |
| P4.1 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | PN |
| P4.2 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | R | R | TT, PN |
| P4.3 | R | S | S | R | S | S | S | S | R | R | R | R | ET, KN, EI, TT, PN |
| P4.4 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | PN |
| P4.5 | S | S | I | R | S | S | S | S | S | R | R | R | KN, TT, PN |
| P4.6 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | I | R | R | PN |
| P4.7 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | PN |
| P5.1 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | I | R | R | PN |
| P5.2 | S | S | R | S | S | S | S | S | S | R | R | R | CO, TT, PN |
| P5.3 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | S | S | TT |
| P5.4 | S | S | S | S | S | R | S | S | S | R | S | S | TT, OX |
| P5.5 | S | S | S | S | S | R | S | S | R | R | S | S | OX, TT, EI |
| P5.6 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | S | S | TT |
| P6.1 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | R | R | TT, PN |
| P7.1 | I | S | S | S | S | S | S | S | R | R | R | R | EI, TT, PN |
| P8.1 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| P9.1 | I | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| N2.1 | S | S | S | S | S | S | S | S | I | S | R | R | PN |
| N2.2 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| N3.1 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | R | PN |
| N3.2 | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | R | ET, PN |
| N3.3 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | R | PN |
| N4.1 | S | S | S | R | S | R | S | S | S | S | S | S | KN, OX |
| N4.2 | S | S | S | S | S | R | S | S | S | R | S | S | OX, TT |
| N4.3 | S | I | R | R | S | R | S | S | S | S | R | R | CO, KN, OX, PN |
| N5.1 | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | ET |
| N5.2 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | R | PN |
| N5.3 | S | S | S | I | S | S | S | S | S | S | R | R | PN |
| N5.4 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | R | PN |
| N5.6 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| N6.1 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | R | PN |
| N7.1 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | R | PN |
| N8.1 | S | S | S | S | S | S | S | S | R | R | R | R | EI, TT, PN |
| N9.1 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | R | R | TT, PN |
| N9.2 | S | S | S | S | I | S | S | S | S | S | S | S | S |

ET= estreptomomicina; RF= rifampicina; CO= cloranfenicol;
 KN= canamicina; NET= netilmicina; OX= oxacilina;
 CF= cefalotina; AM= amicacina; EI= eritromicina;
 TT= tetraciclina; PN= penicilina G;
 S= sensível; I= intermediário; R= resistente.
 P= pele; N= narina

TABELA 3:- Níveis de resistência das 44 amostras de S. aureus, isoladas de 12 salas do Hospital e Maternidade da Santa Casa de Misericórdia de Moji Guaçu, SP.

| AMOSTRAS | D R O G A S | | | | | | | | | | | MODELO DE RESISTÊNCIA |
|----------|-------------|----|----|----|-----|----|----|----|----|----|----|---|
| | ET | RF | CO | KN | NET | OX | CF | AM | EI | TT | PN | |
| A1 | R | R | R | R | R | S | I | S | R | R | S | ET, RF, CO, KN, NET, EI, TT |
| B1 | R | S | S | R | S | R | S | R | R | R | S | ET, KN, OX, AM, EI, TT |
| C1 | S | S | R | R | S | S | S | S | R | R | R | CO, KN, EI, TT, PN |
| C2 | R | S | S | S | S | R | S | S | S | S | R | ET, PN, OX |
| D1 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | S | TT |
| D2 | S | S | S | S | S | S | S | S | R | S | S | EI |
| E2 | S | S | S | S | S | S | S | S | R | S | S | EI |
| E4 | S | S | S | S | S | I | S | S | S | S | S | |
| F2 | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | ET |
| G1 | S | S | S | S | S | S | S | S | R | S | S | EI |
| G2 | S | S | S | S | S | S | S | S | R | S | S | EI |
| G3 | S | S | S | S | S | S | S | S | R | S | S | EI |
| G4 | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | ET |
| G5 | S | S | S | S | S | S | S | S | R | S | S | EI |
| H5 | I | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | |
| I1 | S | S | S | S | S | S | S | S | R | R | S | EI, TT |
| I2 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | PN |
| I3 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| I4 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | S | TT |
| I7 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| J1 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | PN |
| J2 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| J3 | S | S | S | S | S | S | S | S | I | S | S | |
| J5 | S | S | S | S | S | S | S | S | R | S | S | EI |
| J7 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | S | TT |
| J8 | S | S | S | S | S | R | S | S | S | S | R | PN, OX |
| J9 | S | R | S | R | S | R | R | S | S | R | R | CF, OX, PN, RE, KN, TT |
| J10 | S | S | S | S | S | I | S | S | S | S | S | |
| L2 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| L4 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | I | S | S |
| L5 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| L6 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | I | S | |
| L9 | S | S | S | R | S | S | S | S | S | S | S | KN |
| L12 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | S | TT |
| L13 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | S | TT |
| L14 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| L18 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | I | |
| M2 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | PN |
| M3 | R | S | S | R | S | R | S | S | S | I | R | ET, KN, OX, PN |
| M4 | R | S | R | R | I | R | S | S | S | R | R | ET, CO, KN, OX, TT, PN |
| M5 | R | R | R | R | I | S | S | R | R | R | S | ET, RF, CO, KN, AM, EI, TT |
| M6 | R | R | R | R | S | R | S | R | R | R | S | ET, RF, CO, KN, OX, AM, EI, TT |
| M7 | S | S | S | S | S | I | S | S | S | S | S | |
| M9 | R | R | R | R | R | R | S | R | R | R | R | NET, ET, RF, CO, KN, OX, AM, EI, TT, PN |

ET= estreptomicina; RF= rifampicina; CO= cloranfenicol
 KN= canamicina; NET= netilmicina; OX= oxacilina
 CF= cefalotina; AM= amicacina; EI= eritromicina
 TT= tetraciclina; PN= penicilina G;

S= sensível; I= intermediário; R= resistente
 A= berçário; B= sala de parto normal; C= sala de esterilização; D= ambulatório
 E= pediatria; F= U.T.I.; G= posto de enfermagem da ala masculina; H= sala de pré parto; I= centro cirúrgico; J= corredor da maternidade; L= enfermaria feminina; M= enfermaria masculina.

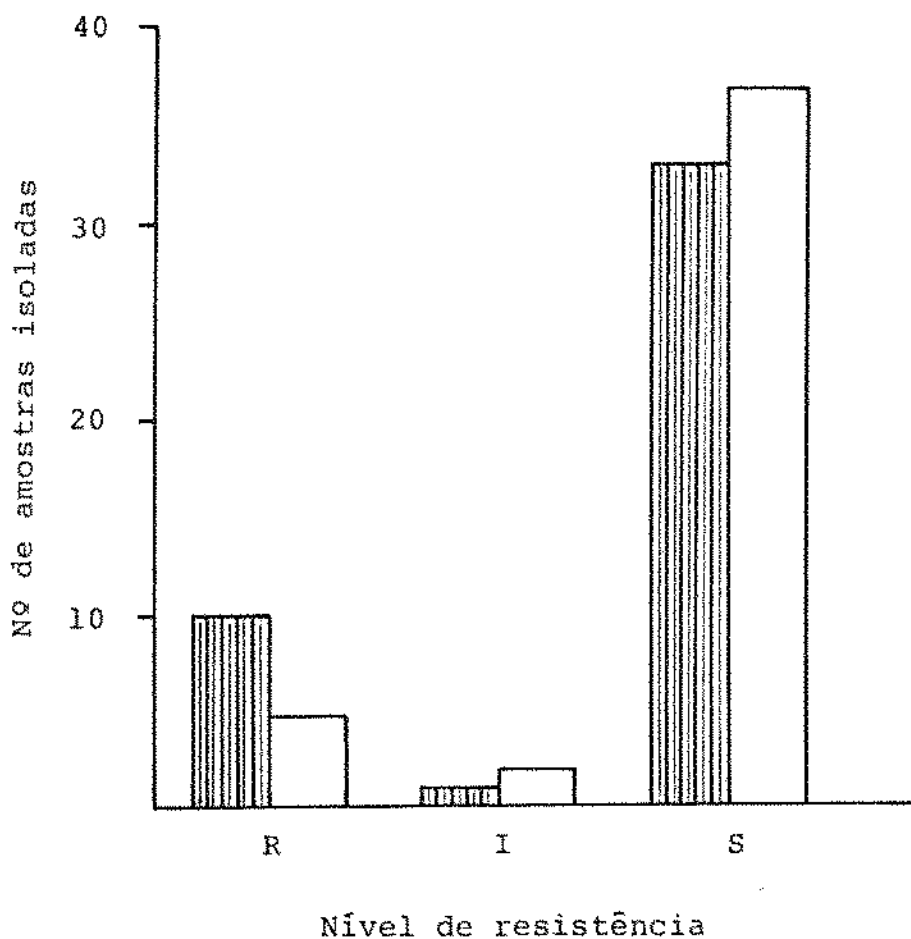




GRÁFICO 1:- Representação quantitativa dos níveis de resistência de S. aureus, à Estreptomicina, nas categorias resistente (R), intermediário (I) e sensível (S).

 amostras hospitalares

 amostras de estudantes

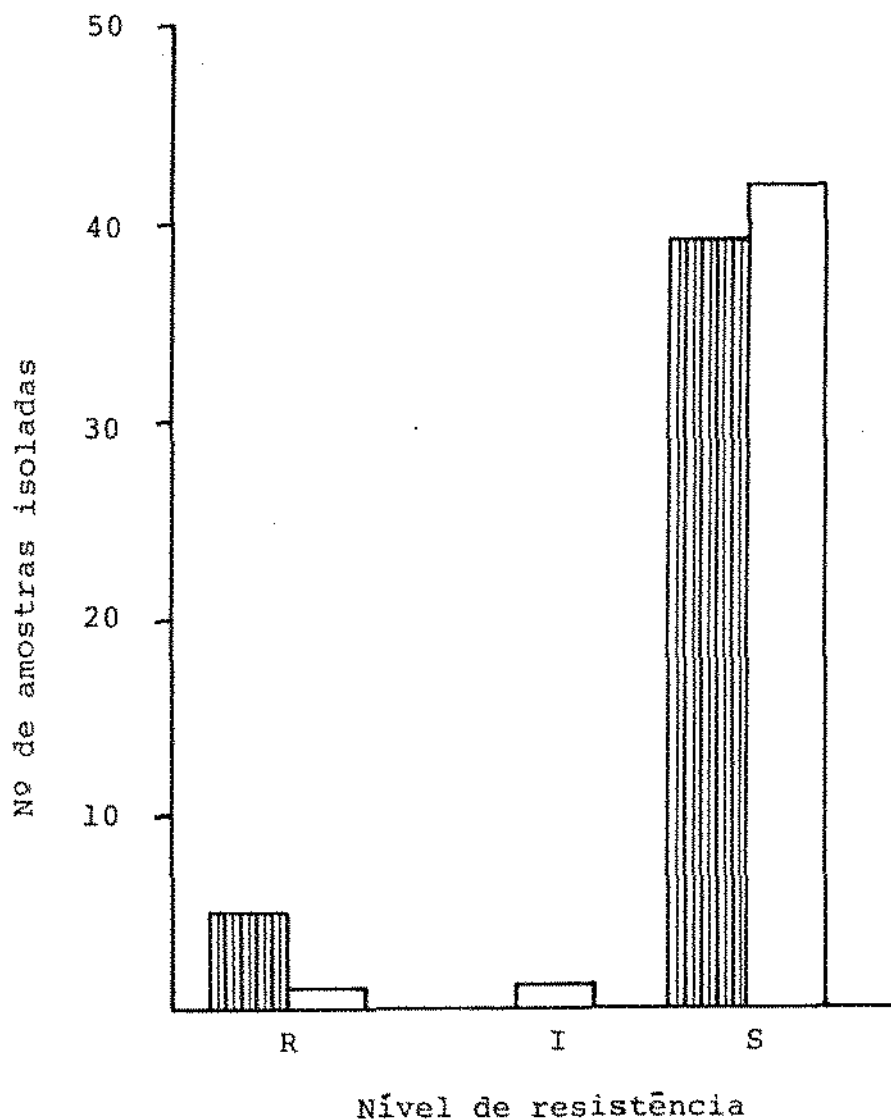


GRÁFICO 2:- Representação quantitativa dos níveis de resistência de S. aureus à Rifampicina, nas categorias resistente (R), intermediário (I) e sensível(S).

▨ amostras hospitalares

□ amostras de estudantes

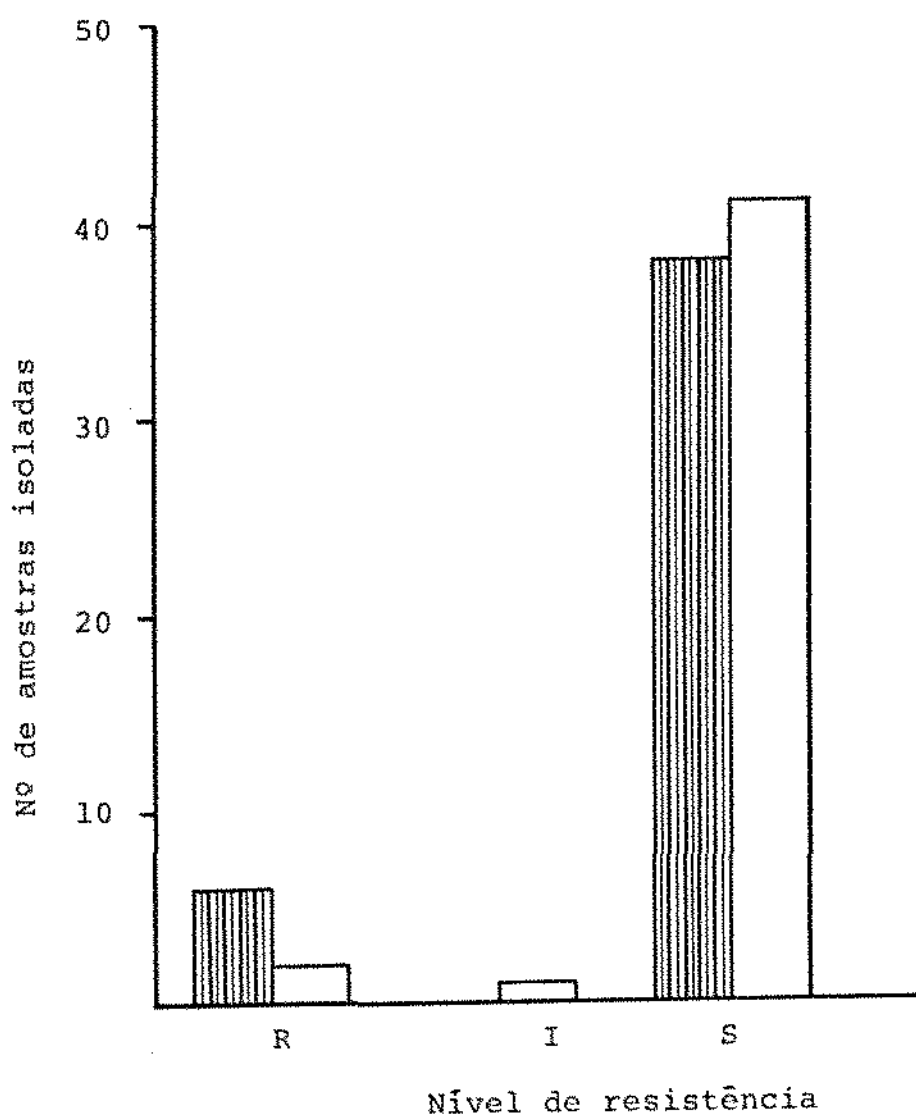




GRÁFICO 3:- Representação quantitativa dos níveis de resistência de S. aureus ao Cloranfenicol, nas categorias resistente (R), intermediário (I) e sensível (S).

-  amostras hospitalares
-  amostras de estudantes

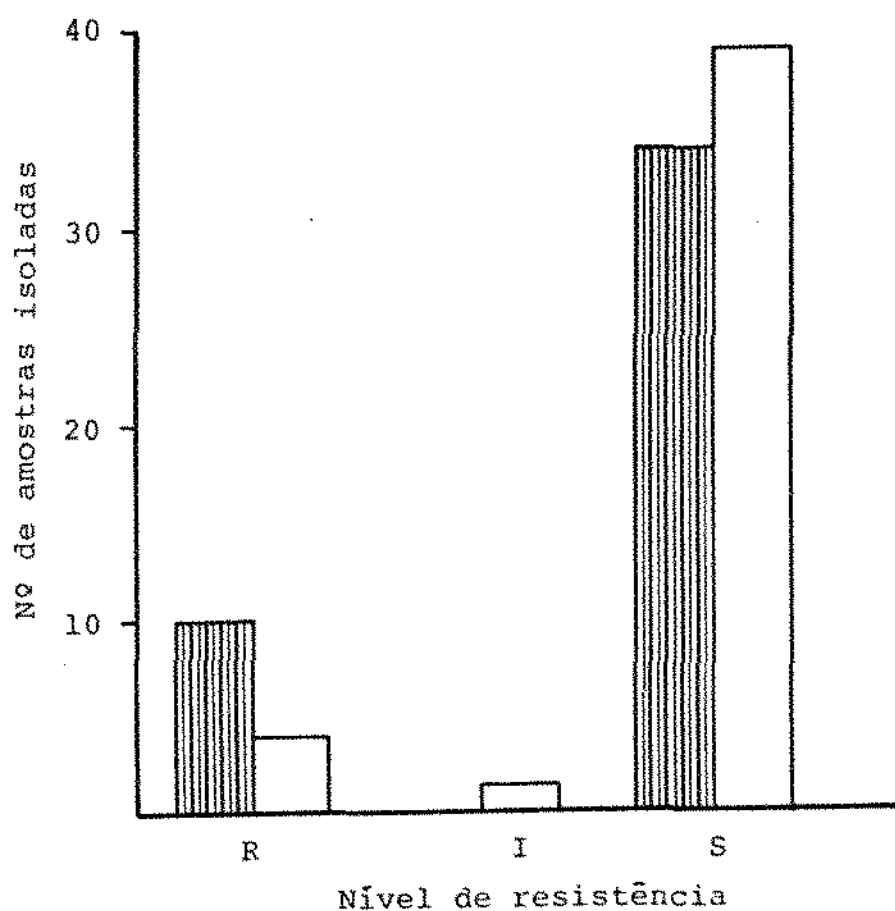




GRÁFICO 4:- Representação quantitativa dos níveis de resistência de S. aureus à Canamicina, nas categorias resistente (R), intermediário (I) e sensível (S).

 amostras hospitalares
 amostras de estudantes

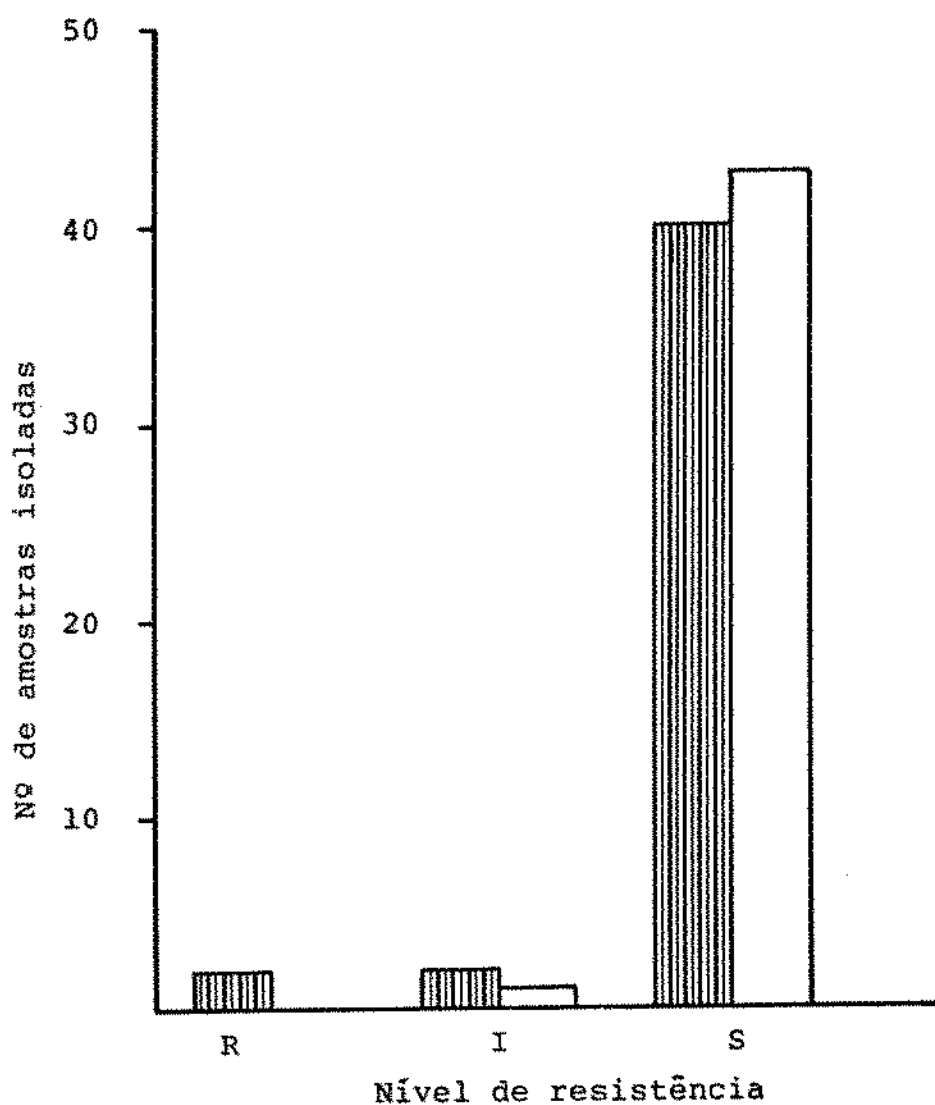




GRÁFICO 5:- Representação quantitativa dos níveis de resistência de S. aureus à Netilmicina, nas categorias resistente (R), intermediário (I) e sensível (S).

-  amostras hospitalares
-  amostras de estudantes

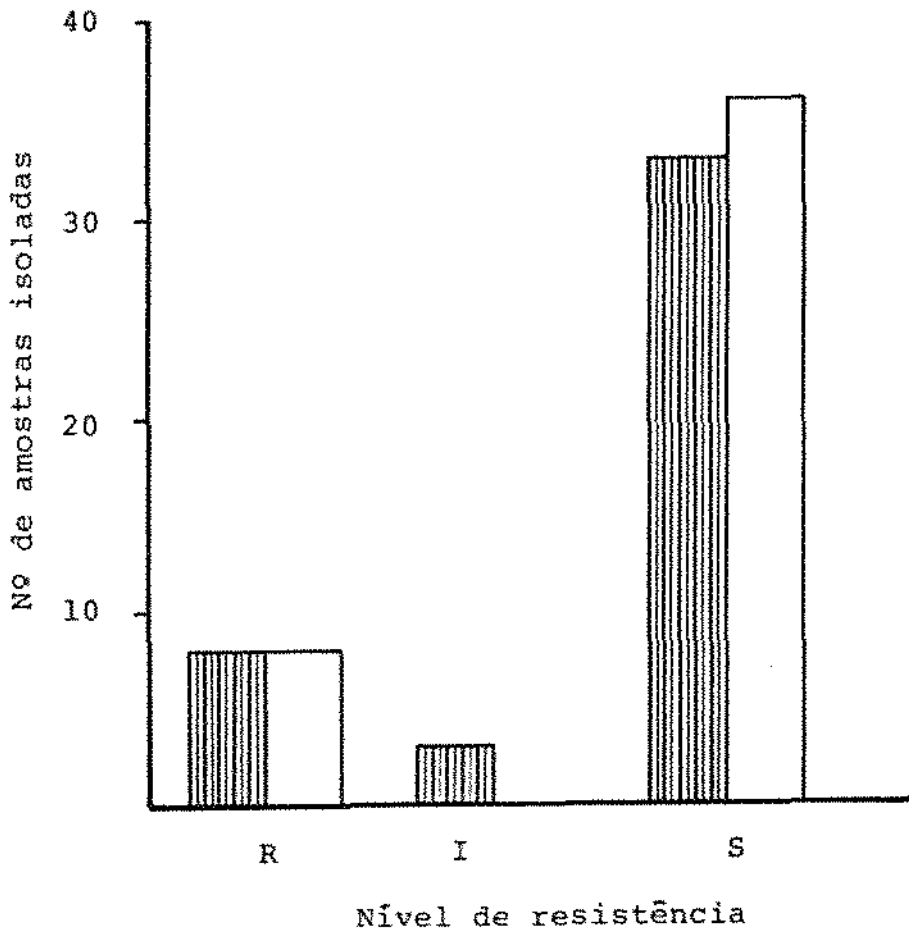




GRÁFICO 6:- Representação quantitativa dos níveis de resistência de S. aureus à Oxacilina, nas categorias resistente (R), intermediário (I) e sensível (S).

 amostras hospitalares
 amostras de estudantes

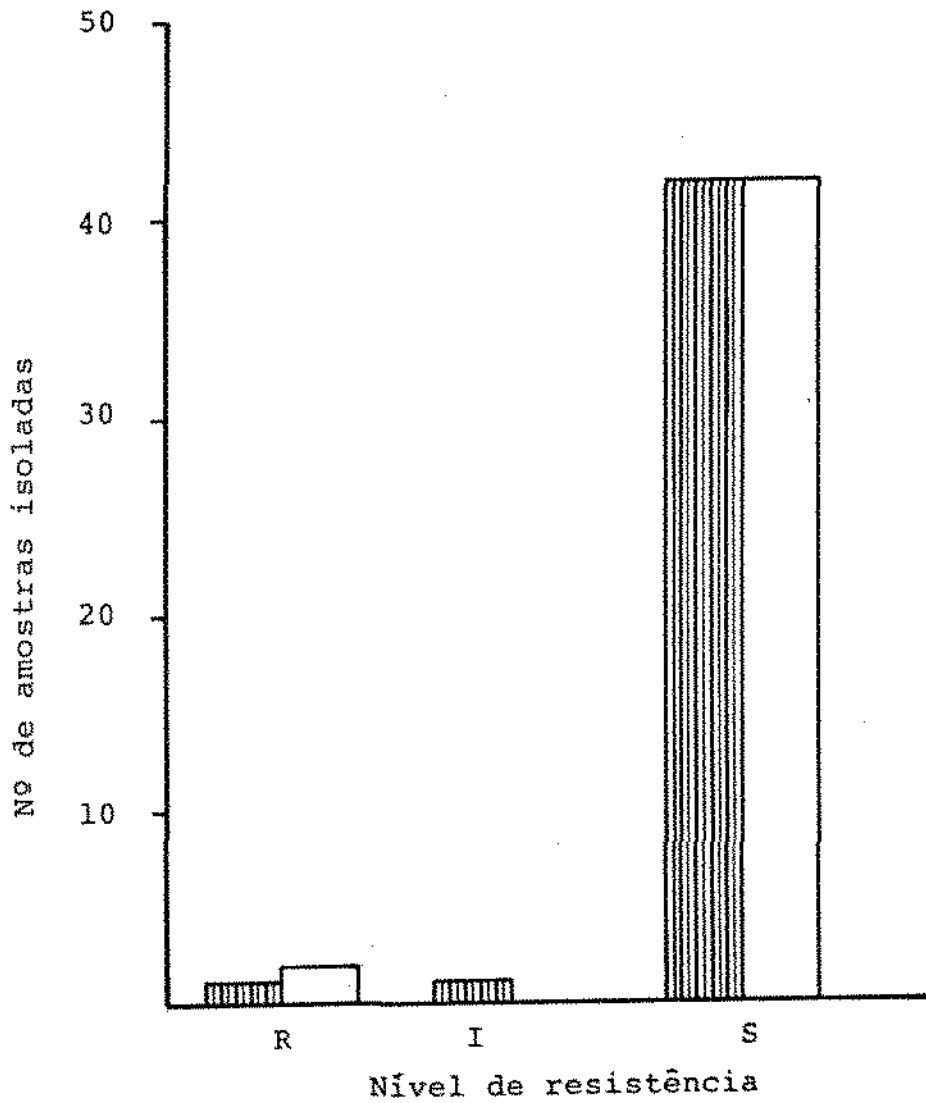




GRÁFICO 7:- Representação quantitativa dos nível re resistência de S. aureus à Cefalotina, nas categorias resistente (R), intermediário (I) e sensível (S).

-  amostras hospitalares
-  amostras de estudantes

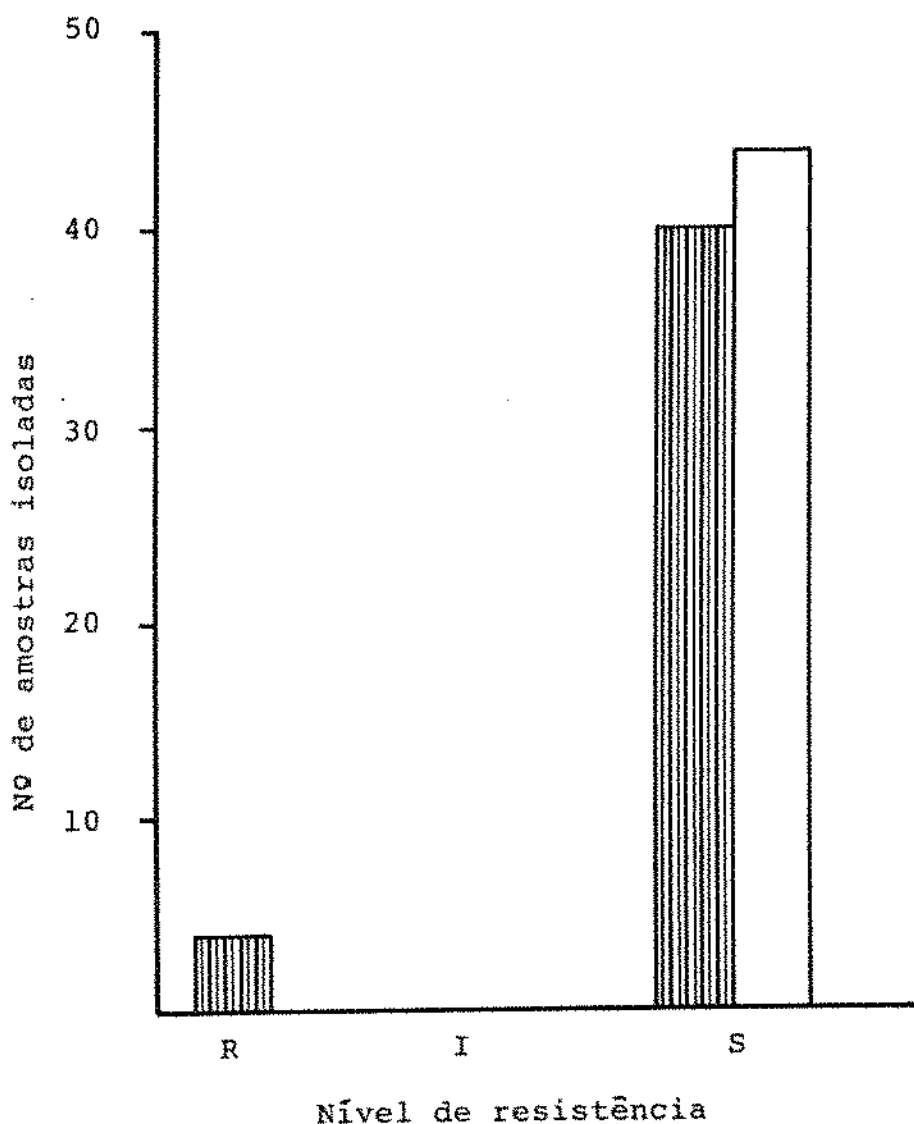




GRÁFICO 8:- Representação quantitativa dos níveis de resistência de S. aureus à Amicacina, nas categorias resistente (R), intermediário (I) e sensível (S).

-  amostras hospitalares
-  amostras de estudantes

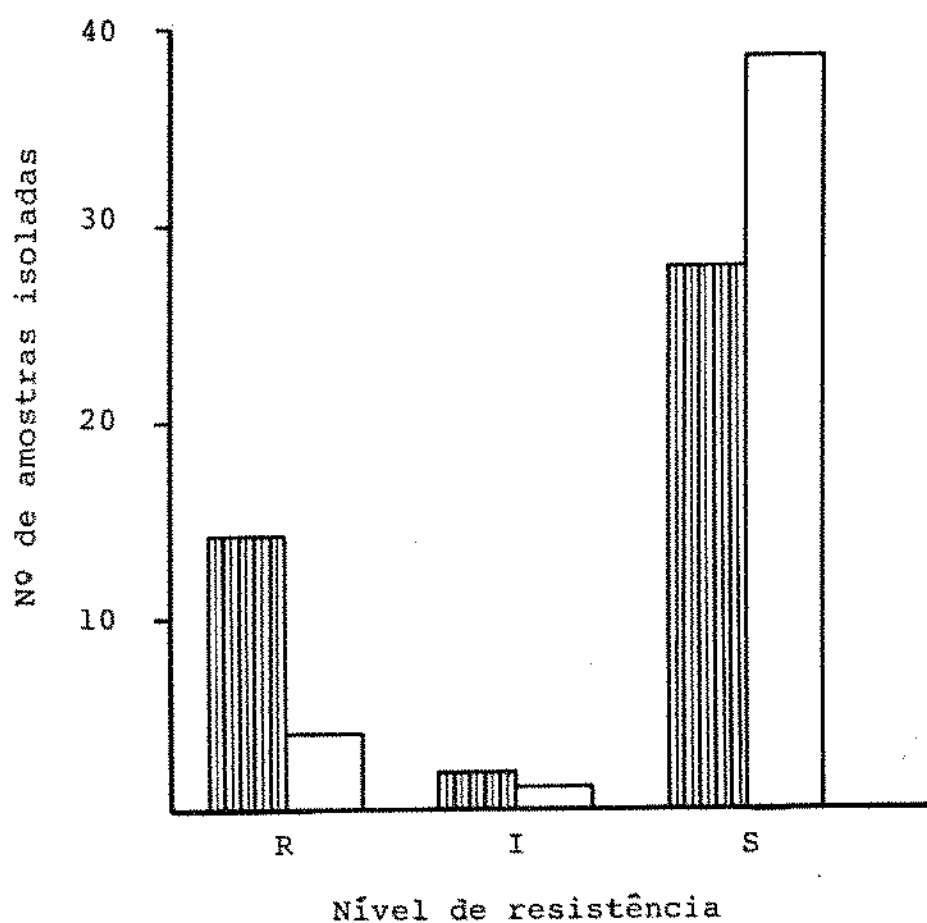




GRÁFICO 9:- Representação quantitativa dos níveis de resistência de S. aureus à Eritromicina, nas categorias resistente (R), intermediário (I) e sensível (S).

 amostras hospitalares
 amostras de estudantes

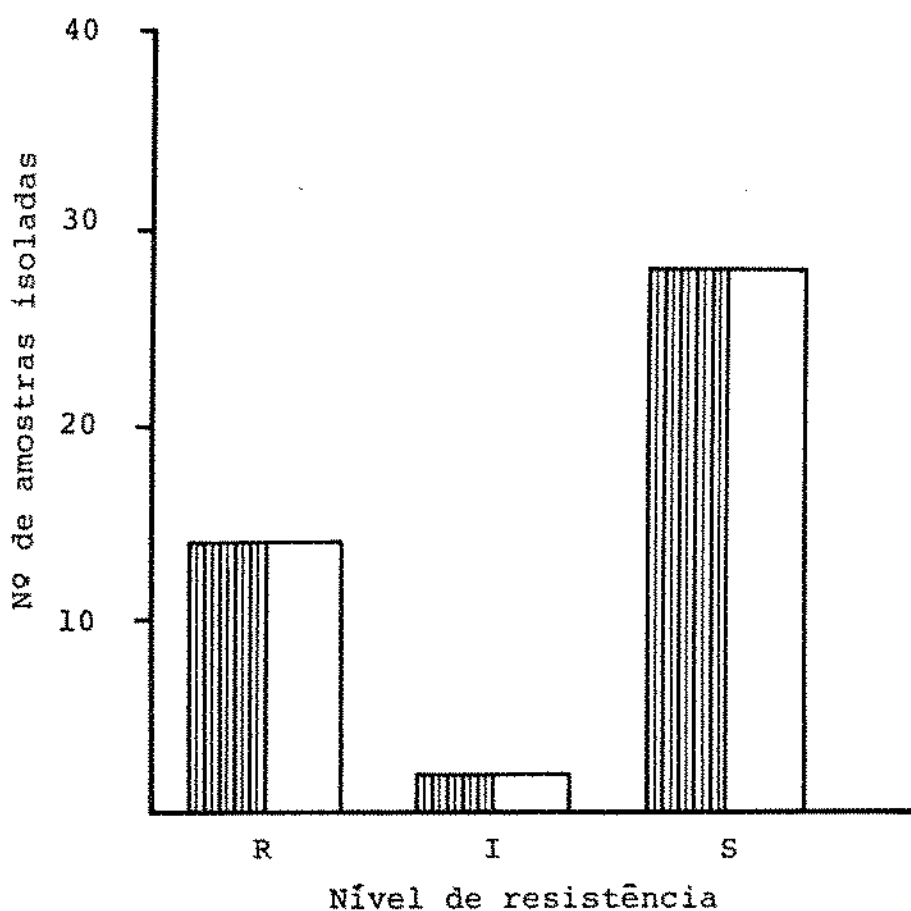


GRÁFICO 10:- Representação quantitativa dos níveis de resistência de S. aureus à Tetraciclina, nas categorias resistente (R), intermediário (I) e sensível (S).



amostras hospitalares



amostras de estudantes

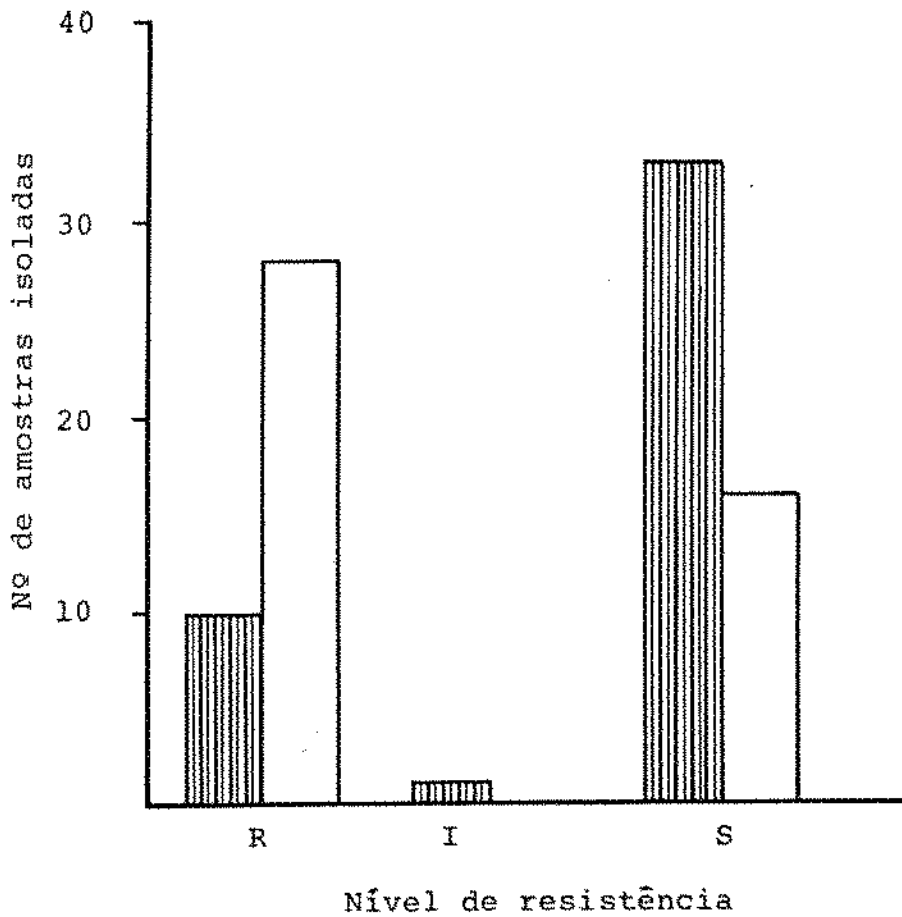


GRÁFICO 11:- Representação quantitativa dos níveis de resistência de S. aureus à Penicilina G, nas categorias resistente (R), intermediário (I) e sensível (S).



-  amostras hospitalares
-  amostras de estudantes

TABELA 4:- Número e porcentagem de amostras resistentes a cada uma das drogas.
 Amostras resistentes isoladas da pele e narina dos estudantes.

| DROGAS | PELE | | NARINA | |
|--------|--------------------------|------------------|--------------------------|------------------|
| | (AMOSTRAS RESISTENTES) | | (AMOSTRAS RESISTENTES) | |
| | Nº DE AMOSTRAS | % DE RESISTÊNCIA | Nº DE AMOSTRAS | % DE RESISTÊNCIA |
| ET | 3 | 13,6 | 2 | 12,5 |
| RF | 1 | 4,5 | 0 | 0 |
| CO | 1 | 4,5 | 1 | 6,2 |
| KN | 2 | 9,0 | 2 | 12,5 |
| NET | 0 | 0 | 0 | 0 |
| OX | 5 | 22,7 | 3 | 18,7 |
| CF | 2 | 9,0 | 0 | 0 |
| AM | 0 | 0 | 0 | 0 |
| EI | 3 | 13,6 | 1 | 6,2 |
| TT | 11 | 50,0 | 3 | 18,7 |
| PN | 16 | 72,7 | 12 | 75,0 |

ET= estreptomicina; RF= rifampicina; CO= cloranfenicol;
 KN= canamicina; NET= netilmicina; OX= oxacilina;
 CF= cefalotina; AM= amicacina; EI= eritromicina;
 TT= tetraciclina; PN= penicilina G.

TABELA 5:- Número e porcentagem de amostras resistentes a cada uma das drogas utilizadas.

Amostras resistentes isoladas dos estudantes e da Santa Casa.

| DROGAS | AMOSTRAS DOS ESTUDANTES (AMOSTRAS RESISTENTES) | | AMOSTRAS DA SANTA CASA (AMOSTRAS RESISTENTES) | |
|--------|---|------------------|--|------------------|
| | Nº DE AMOSTRAS | % DE RESISTÊNCIA | Nº DE AMOSTRAS | % DE RESISTÊNCIA |
| ET | 5 | 13,1 | 10 | 26,3 |
| RF | 1 | 2,6 | 5 | 13,1 |
| CO | 2 | 5,2 | 6 | 15,7 |
| KN | 4 | 10,5 | 10 | 26,3 |
| NET | 0 | 0 | 2 | 5,2 |
| OX | 8 | 21,0 | 8 | 21,0 |
| CF | 2 | 5,2 | 1 | 2,6 |
| AM | 0 | 0 | 4 | 10,5 |
| EI | 4 | 10,5 | 14 | 36,8 |
| TT | 14 | 36,8 | 14 | 36,8 |
| PN | 28 | 73,6 | 10 | 26,3 |

ET= estreptomicina; RF= rifampicina; CO= cloranfenicol;
 KN= canamicina; NET= netilmicina; OX= oxacilina;
 CF= cefalotina; AM= amicacina; EI= eritromicina;
 TT= tetraciclina; PN= penicilina G.

TABELA 6:- Número e porcentagem de amostras resistentes a cada uma das drogas utilizadas.

Total de amostras isoladas dos estudantes e da Santa Casa.

| DROGAS | AMOSTRAS DOS ESTUDANTES (TOTAL DE AMOSTRAS) | | AMOSTRAS DA SANTA CASA (TOTAL DE AMOSTRAS) | |
|--------|--|-------------------|---|------------------|
| | Nº DE AMOSTRAS | % DE RESISTÊNCIAS | Nº DE AMOSTRAS | % DE RESISTÊNCIA |
| ET | 5 | 11,3 | 10 | 22,7 |
| RF | 1 | 2,2 | 5 | 11,3 |
| CO | 2 | 4,5 | 6 | 13,6 |
| KN | 4 | 9,0 | 10 | 22,7 |
| NET | 0 | 0 | 2 | 4,5 |
| OX | 8 | 18,1 | 8 | 18,1 |
| CF | 2 | 4,5 | 1 | 2,2 |
| AM | 0 | 0 | 4 | 9,0 |
| EI | 4 | 9,0 | 14 | 31,8 |
| TT | 14 | 31,8 | 14 | 31,8 |
| PN | 28 | 63,6 | 10 | 22,7 |

ET= estreptomicina; RF= rifampicina; CO= cloranfenicol;
 KN= canamicina; NET= netilmicina; OX= oxacilina;
 CF= cefalotina; AM= amicacina; EI= eritromicina;
 TT= tetraciclina; PN= penicilina G.

TABELA 7:- Condições de tratamento pelo brometo de etídio das amostras M₅ e M₉,
isoladas da Santa Casa.

| AMOSTRAS | BROMETO DE ETÍDIO (ug/ml) | TEMPO DE INCUBAÇÃO (horas) |
|----------------|------------------------------|-------------------------------|
| M ₅ | 0,0 | 24 |
| | 2,0 | 24 |
| M ₉ | 0,0 | 24 |
| | 2,0 | 24 |

TABELA 8:- Modelos de resistência de 50 colônias de S. aureus, obtidas da Enfermaria Masculina (M₅), após tratamento com 0 ug/ml de brometo de etídio (controle).

| AMOSTRAS | D R O G A S | | | | | | | MODELOS DE RESISTÊNCIA |
|-----------------------|-------------|----|----|----|----|----|----|----------------------------|
| | ET | RF | CO | KN | EI | TT | AM | |
| M ₅ 0 (1) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (2) | R | S | R | R | R | R | R | ET, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (3) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (4) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (5) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (6) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (7) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (8) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (9) | R | I | R | R | R | R | R | ET, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (10) | R | I | R | R | R | R | R | ET, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (11) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (12) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (13) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (14) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (15) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (16) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (17) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (18) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (19) | R | I | I | R | R | R | R | ET, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (20) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (21) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (22) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (23) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (24) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (25) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (26) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (27) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (28) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (29) | R | R | R | I | R | R | R | ET, RF, CO, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (30) | R | R | R | I | R | R | R | ET, RF, CO, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (31) | R | R | R | R | R | I | R | ET, RF, CO, KN, EI, AM |
| M ₅ 0 (32) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (33) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (34) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (35) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (36) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (37) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (38) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (39) | R | R | R | I | R | R | R | ET, RF, CO, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (40) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (41) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (42) | R | I | R | R | R | R | R | ET, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (43) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (44) | R | I | R | R | R | R | R | ET, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (45) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (46) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (47) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (48) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (49) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 0 (50) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |

ET= estreptomicina; RF= rifampicina; CO= cloranfenicol; KN= kanamicina;
 EI= eritromicina; TT= tetraciclina; AM= amicacina
 R= resistente; I= intermediário
 M₅= amostra coletada na enfermaria masculina

TABELA 9:- Modelos de resistência de 50 colônias de *S. aureus*, obtidas da Enfermaria Masculina (M₅), após tratamento com 2 ug/ml de brometo de etídio.

| AMOSTRAS | D R O G A S | | | | | | | MODELOS DE RESISTÊNCIA |
|-----------------------|-------------|----|----|----|----|----|----|----------------------------|
| | ET | RF | CO | KN | EI | TT | AM | |
| M ₅ 2 (1) | R | S | S | R | R | R | R | ET, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (2) | R | R | S | R | R | R | R | ET, RF, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (3) | R | R | S | R | R | R | R | ET, RF, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (4) | R | I | R | R | R | R | R | ET, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (5) | R | I | R | R | R | R | R | ET, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (6) | R | I | R | R | R | R | R | ET, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (7) | R | I | R | R | R | R | R | ET, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (8) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (9) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (10) | R | R | I | R | R | R | R | ET, RF, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (11) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (12) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (13) | R | I | R | R | R | R | R | ET, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (14) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, AM |
| M ₅ 2 (15) | R | R | S | R | R | R | R | ET, RF, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (16) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, KN, CO, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (17) | R | R | I | R | R | R | R | ET, RF, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (18) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (19) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (20) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (21) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (22) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (23) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (24) | R | S | R | R | R | R | R | ET, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (25) | R | R | S | R | R | R | R | ET, RF, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (26) | R | I | R | R | R | R | R | ET, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (27) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (28) | R | R | I | R | R | R | R | ET, RF, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (29) | R | I | R | R | R | R | R | ET, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (30) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (31) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (32) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (33) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (34) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (35) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (36) | R | S | R | R | R | R | R | ET, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (37) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (38) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (39) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (40) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (41) | R | I | R | R | R | R | R | ET, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (42) | R | I | R | R | R | S | R | ET, CO, KN, EI, AM |
| M ₅ 2 (43) | R | S | S | R | R | R | R | ET, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (44) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (45) | R | I | R | R | R | R | R | ET, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (46) | R | R | I | R | R | R | R | ET, RF, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (47) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (48) | R | R | S | R | R | R | R | ET, RF, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (49) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₅ 2 (50) | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |

ET= estreptomicina; RF= rifampicina; CO= cloranfenicol; KN= canamicina; EI= eritromicina; TT= tetraciclina; AM= amicocina;

R= resistente; I= intermediário; S= sensível.

M₅= amostra coletada na enfermaria masculina

TABELA 10:- Modelos de resistência de 50 colônias de *S. aureus*, obtidas da Enfermaria Masculina (M₉), após tratamento com 0 ug/ml de brometo de etídio (controle).

| AMOSTRAS | D R O G A S | | | | | | | | | | MODELOS DE RESISTÊNCIA |
|-----------------------|-------------|----|----|----|-----|----|----|----|----|----|---|
| | ET | RF | CO | KN | NET | EI | OX | TT | PN | AM | |
| M ₉ O (1) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (2) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (3) | R | R | R | R | R | R | I | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, TT, PN, AM |
| M ₉ O (4) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (5) | R | R | R | R | R | R | S | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, TT, PN, AM |
| M ₉ O (6) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (7) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (8) | R | R | R | R | I | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (9) | R | R | R | R | I | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (10) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (11) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (12) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (13) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (14) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (15) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (16) | R | R | R | R | I | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (17) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (18) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (19) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (20) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (21) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (22) | R | R | R | R | I | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (23) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (24) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (25) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (26) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (27) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (28) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (29) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (30) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (31) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (32) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (33) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (34) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (35) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (36) | R | R | R | R | I | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (37) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (38) | R | R | R | R | I | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (39) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (40) | R | R | R | R | R | R | I | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, TT, PN, AM |
| M ₉ O (41) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (42) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (43) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (44) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (45) | R | R | R | R | R | R | I | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, TT, PN, AM |
| M ₉ O (46) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (47) | R | R | R | R | I | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (48) | R | R | I | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, KN, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ O (49) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, KN, EI, OX, CO, TT, NET, PN, AM |
| M ₉ O (50) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |

ET= estreptomicina; RF= rifampicina; CO= cloranfenicol; KN= canamicina
 NET= netilmicina; EI= eritromicina; OX= oxacilina; TT= tetraciclina;
 PN= penicilina G; AM= amicacina;
 R= resistente; I= intermediário.
 M₉= amostra coletada na enfermaria masculina

TABELA 11:- Modelos de resistência de 50 colônias de *S. aureus*, obtidas na Enfermaria Masculina (M₉), após tratamento com 2 ug/ml de brometo de etídio.

| AMOSTRAS | D R O G A S | | | | | | | | | | MODELOS DE RESISTÊNCIA |
|-----------------------|-------------|----|----|----|-----|----|----|----|----|----|---|
| | ET | RF | CO | KN | NET | EI | OX | TT | PN | AM | |
| M ₉ 2 (1) | R | R | R | R | I | R | S | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (2) | R | R | R | R | S | R | S | R | S | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, AM |
| M ₉ 2 (3) | R | R | R | R | S | R | S | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (4) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (5) | R | R | R | R | S | R | S | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (6) | R | R | R | R | I | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, PN, AM, OX |
| M ₉ 2 (7) | R | R | R | R | S | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (8) | R | R | R | R | S | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (9) | R | R | R | R | S | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (10) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (11) | R | R | R | R | S | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (12) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (13) | R | R | R | R | I | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (14) | R | R | R | R | S | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (15) | R | R | I | R | R | R | R | I | R | R | ET, RF, KN, NET, EI, OX, PN, AM |
| M ₉ 2 (16) | R | R | R | R | I | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (17) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (18) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (19) | R | R | R | R | S | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (20) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (21) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (22) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (23) | R | R | I | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (24) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (25) | R | R | R | R | R | R | S | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (26) | R | R | I | R | S | R | R | R | R | R | ET, RF, KN, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (27) | R | R | I | R | S | R | R | I | R | R | ET, RF, KN, EI, OX, PN, AM |
| M ₉ 2 (28) | R | R | R | R | S | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (29) | R | R | R | R | I | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (30) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (31) | R | R | R | R | S | R | S | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (32) | R | R | R | R | I | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (33) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (34) | R | R | R | R | R | R | I | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (35) | R | R | R | R | S | R | R | I | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, OX, PN, AM |
| M ₉ 2 (36) | R | R | R | R | S | R | R | I | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, OX, PN, AM |
| M ₉ 2 (37) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (38) | R | R | R | R | R | R | R | S | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, PN, AM |
| M ₉ 2 (39) | R | R | R | R | S | R | R | R | S | R | ET, RF, CO, KN, EI, OX, TT, AM |
| M ₉ 2 (40) | R | R | R | R | R | R | S | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, TT, PN, PN, AM |
| M ₉ 2 (41) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (42) | R | R | R | I | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (43) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (44) | R | R | R | R | I | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (45) | R | R | R | R | R | R | R | I | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, OX, PN, AM, NET |
| M ₉ 2 (46) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (47) | R | R | R | R | I | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (48) | R | R | R | R | I | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (49) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, PN, AM |
| M ₉ 2 (50) | R | R | R | R | R | R | R | R | S | R | ET, RF, CO, KN, NET, EI, OX, TT, AM |

ET= estreptomicina; RF= rifampicina; CO= cloranfenicol; KN= canamicina;
 NET= netilmicina; EI= eritromicina; OX= oxacilina; TT= tetraciclina;
 PN= penicilina G; AM= ampicilina;
 R= resistente; I= intermediário; S= sensível.
 M₉ = amostra coltada na enfermaria masculina

TABELA 12:- Frequências de eliminação da resistência à estreptomicina, rifampicina, cloranfenicol, canamicina, eritromicina, tetraciclina e amicacina da amostra M₅ de S. aureus pelo brometo de etídio.

| BROMETO DE ETÍDIO (ug/ml) | Nº DE COLÔNIAS ANALISADAS | % DE ELIMINAÇÃO | | | | | | |
|------------------------------|------------------------------|-----------------|----|----|----|----|----|----|
| | | ET | RF | CO | KN | EI | TT | AM |
| 0,0 | 50 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2,0 | 50 | 0 | 8 | 14 | 0 | 0 | 4 | 0 |

TABELA 13:- Frequências de eliminação da resistência à estreptomicina, rifampicina, cloranfenicol, canamicina, netilmicina, eritromicina, oxacilina, tetraciclina, penicilina e amicacina da amostra M₉ de S. aureus pelo brometo de etídio.

| BROMETO DE ETÍDIO (ug/ml) | Nº DE COLÔNIAS ANALISADAS | % DE ELIMINAÇÃO | | | | | | | | | |
|------------------------------|------------------------------|-----------------|----|----|----|-----|----|----|----|----|----|
| | | ET | RF | CO | KN | NET | EI | OX | TT | PN | AM |
| 0,0 | 50 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| 2,0 | 50 | 0 | 0 | 0 | 0 | 32 | 0 | 12 | 2 | 6 | 0 |

Capítulo V

DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

5.1. Níveis de Resistência das Amostras Isoladas

Observando-se as Tabelas 2 e 3 que representam os níveis de resistência, constata-se que há uma grande variação na distribuição das amostras no tocante a resistência ou sensibilidade a cada um dos antibióticos utilizados.

Das 88 amostras pesquisadas, nota-se claramente populações sensíveis, intermediárias e resistentes notando-se, entretanto, uma distribuição de frequência polarizada nas categorias sensíveis e resistentes, das drogas utilizadas.

Com relação às amostras hospitalares, os antibióticos que evidenciaram claramente esse fato foram a rifampicina, cloranfenicol, canamicina e amicacina.

Amostras intermediárias, em insignificantes proporções, foram notadas para a estreptomicina, netilmicina, oxacilina, cefalotina, eritromicina, tetraciclina e penicilina.

As amostras provenientes da pele e narina foram totalmente sensíveis e resistentes à oxacilina, cefalotina, amicacina e penicilina; amostras intermediárias, em pequeníssimas proporções, foram evidenciadas frente à estreptomicina, rifampicina, cloranfenicol, canamicina, netilmicina, eritromicina e tetraciclina; não foram encontradas amostras resistentes à netilmicina e amicacina.

Das 44 amostras isoladas da pele e narina, 38 fo-

ram resistentes (Tabela 2) e das 44, isoladas da Santa Casa, 38 foram também resistentes (Tabela 3).

O número de amostras resistentes, isoladas de pesoas e do ambiente hospitalar, foi coincidentemente o mesmo; comparando-se o número de marcas de cada amostra, pode-se notar que 18 amostras do primeiro grupo apresentaram resistência a mais de uma droga, sendo que uma amostra apresentou resistência à cinco antibióticos testados, enquanto que no grupo das amostras hospitalares, 12 foram resistentes a duas e até dez marcas (Tabela 2 e 3).

5.2. Comparação dos Níveis de Resistência

Comparando-se as amostras resistentes da pele e narina (Tabela 4) pode-se notar que na pele ocorre resistência a nove das drogas utilizadas, exceto para a netilmicina e a amⁱcacina, enquanto que, na narina, ocorrem amostras resistentes às setes drogas, com exceção para a rifampicina, netilmicina, ce^efalotina e amⁱcacina, sendo que as maiores proporções de resis^tência foram encontradas, tanto na pele quanto na narina à peni^cilina e tetraciclina.

NOBLE (1.977) encontrou também maior proporção de amostras resistentes à penicilina e tetraciclina nos isolados da pele de pacientes com doenças de pele, apesar de que no presente trabalho a porcentagem de resistência à penicilina das amostras da narina ser insignificamente superior às da pele.

Esse mesmo autor sugere que a pele tende a selecionar variantes resistentes ou que a narina tende a selecionar variantes sensíveis devido as diferenças na pressão de seleção; sendo provável que os plasmídios são mantidos somente quando são necessários e a narina portanto seria o local de crescimento de variantes sem plasmídios.

Relacionando-se as amostras resistentes isoladas de estudantes e da Santa Casa (Tabela 5 e 6), pode-se notar que em ambos os casos são encontradas amostras resistentes a todas as drogas, exceto a netilmicina e amicacina nas amostras de estudantes.

Quanto à porcentagem de resistência, podemos notar que as amostras hospitalares demonstraram maiores níveis de resistência à eritromicina, tetraciclina, penicilina, canamicina e estreptomicina; enquanto que nas amostras de estudantes, a proporção de resistência é maior para a penicilina, principalmente, seguida da tetraciclina e oxacilina.

As porcentagens de resistência, estabelecidas para cada droga, praticamente não diferiram muito daquelas encontradas por SIQUEIRA (1.976) para 35 amostras de S. aureus, principalmente quanto às amostras de estudantes para com a penicilina G; e as hospitalares e de estudantes para com a tetraciclina, cujos índices foram praticamente os mesmos, exceção à estreptomicina e cloranfenicol cujos índices encontrados aqui foram bem menores.

Nota-se que, para a eritromicina, amicacina e rifampicina, encontraram-se praticamente as mesmas proporções de

resistência citadas por WIEDEMANN & KRISKEN (1.984).

À canamicina, a porcentagem de resistência foi bem inferior aos dados de GILLESPIE et alii (1.985) para amostras hospitalares isoladas em 1.981.

Com relação à oxacilina (Tabela 6), notou-se que 81,9% das amostras foram sensíveis a esta droga.

De acordo com os dados de DUNCKER & ULLMANN (1.985) sobre a resistência de S. aureus à netilmicina e com os do presente trabalho, nota-se a grande eficiência deste aminoglicosídeo, verificando-se o mesmo quanto à atuação da cefalotina e amicacina.

5.3. Tratamento Com Brometo de Etídio

Pela interpretação dos resultados obtidos, nota-se que a eliminação de resistência pelo brometo de etídio foi bem clara na amostra M₉2(2) (Tabela 11) para a netilmicina, oxacilina e penicilina; estas duas últimas drogas apresentam como grupoamento químico o ácido 6 amino penicilâmico, sendo que a bactéria consegue inativar esses antibióticos graças à produção de penicilinase. Essa enzima hidroliza a ligação C-N do anel β lactâmico da penicilina, causando inativação irreversível, sendo sua produção codificada por plasmídios. No caso aqui considerado, houve eliminação da resistência à oxacilina e penicilina, pelo brometo de etídio, notando-se a perda do plasmídio penicilinase.

Examinando-se a Tabela 13, verifica-se que a frequência de eliminação de resistência da amostra M_9 à penicilina foi de 6% e à oxacilina 12%, havendo perda espontânea de resistência a esta última droga, critério também para se decidir pela herança plasmidial.

Com relação à netilmicina, também tratada pelo mesmo método, a análise de frequência de sensíveis obtidos, revela que a sua resistência, possivelmente, seja determinada por plasmídios.

Nas amostras M_9 2(38), M_5 2(14) e M_5 2(42), a presença do plasmídio para a resistência à tetraciclina fica evidenciada, apesar de variantes sensíveis se terem originado com frequência mais baixas.

Considerando as frequências de eliminação para as amostras M_5 2(1), M_5 2(2), M_5 2(15), M_5 2(25), M_5 2(43) e M_5 2(48) (Tabelas 9 e 12) fica constatada a existência de um plasmídio para a resistência ao cloranfenicol.

A análise da Tabela 12 revela que variantes sensíveis à rifampicina foram obtidos espontaneamente e após tratamento das amostras pelo brometo de etídio. Segundo os dados de LYON et alii (1.983), o determinante de resistência à rifampicina estaria ligado ao cromossomo celular e tudo indica pelos dados do presente trabalho ser plasmidial.

Provavelmente, os marcadores para resistência à rifampicina, cloranfenicol e tetraciclina para a amostra M_5 podem realmente estar localizados em diferentes plasmídios, uma vez que são eliminados independentemente e, provavelmente, o

plasmídio que contém o gene para resistência ao cloranfenicol seja menor, pois é mais facilmente eliminado.

Na amostra M_9 , a perda de resistência à netilmicina ocorre algumas vezes isoladas e outras associadas a outros marcadores; isso pode sugerir a existência de transposons, envolvendo a resistência a esse antibiótico.

Sugere-se, para estudos futuros, uma análise do material genético dessas amostras em gel de agarose para confirmar a existência desses plasmídios.

A avaliação da resistência aos antibióticos aqui efetuada mostra claramente que muitos são os recursos que as bactérias dispõem para preservar suas espécies; os altos níveis de resistência para a maioria dos antibióticos utilizados no presente trabalho e os dados obtidos em literatura levam-nos a acreditar na enorme capacidade das bactérias para neutralizar a ação das drogas, sendo que uma simples troca de bases durante a síntese protéica pode resultar em uma nova forma de resistência.

Capítulo VI

CONCLUSÕES

6. CONCLUSÕES

As condições experimentais utilizadas, a análise e a discussão dos resultados substanciados neste estudo subsidiam as seguintes conclusões:

1. As amostras de S. aureus isoladas de estudantes e do ambiente hospitalar apresentaram níveis de resistência a praticamente todos os antibióticos testados elevados;
2. As frequências de resistência mais elevadas foram evidenciadas para a eritromicina, tetraciclina, penicilina G, estreptomicina, oxacilina e canamicina.
3. As frequências mais baixas de resistência foram evidenciadas para a rifampicina, netilmicina, amicacina e cefalotina;
4. Os genes para resistência ao cloranfenicol e netilmicina são de origem plasmidial em S. aureus.

Capítulo VII

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AKIBA, T.; KOYAMA, T.; ISSHIKI, Y.; KIMURA, S.; FUKUSHIMA, T. Apud MITSUHASHI, S., op. cit. ref. 32.
2. AMATO NETO, V.; OSELKA, G.W.; LEVI, G.C.; LOPES, H.V.; MEN DONÇA, J.S.; ALY, J.; BALDY, J.L.S.; SANTOS, R.R. Antibióticos na prática médica. São Paulo, Gremed, 1972. 202 p.
3. ANNEAR, D.I. & BARON-HAY, G.S. Loss of resistance to methicillin and other antibiotics in *S. aureus* associated with a chronic empyema. Med.J.Aust., 1: 399-400, 1.976.
4. _____ & GRUBB, W.B. Linked and unstable resistance to Kanamycin and Penicillin, and diffusible pigment production, in a isolate of *Staphylococcus aureus*. J. med. Microbiol., 5: 109-11, 1.972.
5. ASHESHOV, E.H. The genetics of tetracycline resistance in *S. aureus*. J.gen.Microbiol., 88: 132-40, 1.975.
6. AYLIFFE, G.A.J.; GREEN, W.; LIVINGTON, R.; LOWBURY, E.J.L. Antibiotic resistant *S. aureus* in dermatology and burn words. J.clin.Path., 30: 40-4, 1.977.

7. BARBER, M. The incidence of penicillin-sensitive variant colonies in penicillin-producing strains of *Staphylococcus phiogenes*. J.gen.Microbiol., 3: 274-7, 1.949.
8. _____ & ROZWADOWSKA - DOWZWNKO, M. Infection by penicillin-resistant staphylococci. Lancet, 2: 641, 1.948
9. BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J.C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am.J.clin.Path., 45: 492-6, 1.966.
10. BECK, W.D.; BERGER-BACH, B.; KAYSER, F.H. Additional DNA in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and molecular cloning of mec-specific DNA. J.Bact., 165: 373-8, 1.986.
11. BIER, O.G. Estafilócocos. In: _____. Bacteriologia e imunologia em suas aplicações à medicina e à higiene. 16.ed. São Paulo, Melhoramentos, 1.975. cap. 23, p. 408-16.
12. CHOPRA, I. & HOWE, I.G.B. Bacterial resistance to the tetracyclines. Microbiol.Rev., 42: 707-24, 1.978.
13. COSTA, S.O.P. Aspectos genéticos e clínicos da resistência bacteriana a drogas. In: AZEVEDO, J.L., coord. Genética de microorganismos em biotecnologia e engenharia genética. Piracicaba, F.E.A.L.Q., 1.985. p. 91-9.

14. DUNCKER, D. & ULLMANN, U. Activity of 18 antimicrobial agents against multi-resistant strains of *Staphylococcus aureus* isolate from intensive care patients. Infection, 13: 240-2, 1.985.
15. EVANS, R.J. & WATERWORTHY, P.M. Naturally occurring fusidic acid resistance in staphylococci and its linkage to other resistance. J.clin.Path., 19: 555, 1.966.
16. FONSECA, A.L. Antibióticos na clínica diária. Rio de Janeiro, EPUME, 1.984. cap. 1, p. 1-176.
17. GILLESPIE, M.T.; MAY, J.W.; SKURRAY, R.A. Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* isolated at an Australian hospital between 1.946 and 1.981. J.Med.Microbiol., 19: 137-47, 1.985.
18. GODOY, G.F. & FERNANDES, J.W.L. A Prova da plasmacoagulação relacionada ao meio de cultivo do *Estafilococcus*. Revta bras.análises clin., 10: 29-41, 1.978.
19. GRUBB, W.B.; TOWNSEND, D.E.; ASHDOWN, N.; ANNEAR, D.I. Unique mixed culture transfer in staphylococci. Aust. Microbiol., 3: 2-60, 1.982.
20. HEDGES, R.W. & JACOB, A.E. Transposition of ampicillin resistance from RP4 to other replicons. Molec.gen.Genet., 132: 31-40, 1.974.

21. HIRACHI, Y.; KATO, Y.; MATSUMOTO, T.; UHEYAMA, Y.; FURUYAMA, S.; KURONO, M.; TODA, Y.; KOTANI, S. Isolation of recombinants doubly and triply drug-resistant to streptomycin, tetracycline and chloramphenicol by PEG-induced cell fusion of singly resistant *Staphylococcus aureus* L-forms. Biken's J., 25: 111-9, 1.982.
22. JANOSI, L. & BAN, E. Localization of genes coding for macrolide resistance on the penicillinase plasmid of isolates of an epidemic *Staphylococcus aureus*. Acta Microbiol.hung., 29: 187-200, 1.982.
23. JOHNSTON, L.H. & DYKE, K.G.H. Ethidium bromide resistance, a new marker on the staphylococcal penicillinase plasmid. J.Bact., 100: 1.413-4, 1.969.
24. KASUGA, T.H.; HASHIMOTO, H.; MITSUHASHI, S. Drug resistance of staphylococci. J.Bact., 95: 1.764-6, 1.968.
25. KUHL, S.A.; PATEE, P.A.; BALDWIN, J.N. Chromosomal map location of the methicillin resistance determinant in *Staphylococcus aureus*. J.Bact., 135: 460-5, 1.978.
26. LACEY, R.W. Antibiotic resistance plasmid of *S. aureus* and their clinical importance. Bact.Rev., 39: 1-32, 1.975.
27. _____. Mechanisms of resistance to Beta-lactam antibiotics in *Staphylococcus aureus*. Scand J.infect.Dis., 42: 64-71, 1.984.

28. LACEY, R.W. & CHOPRA, I. Genetic studies of a multi-resistant strain of *Staphylococcus aureus*. J.med.Microbiol., 7: 285-97, 1.974
29. _____ & GRINSTED, J. Genetic analysis of methicillin-resistant strain of *Staphylococcus aureus*; evidence for their evolution from a single clone. J.med.Microbiol. , 6: 511-26, 1.973.
30. LYON, B.R.; MAY, J.W.; SKURRAY, R.A. Analysis of plasmids in nosocomial strains of multiple-antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob.Ag.Chemother., 23: 817-26, 1.983.
31. _____; _____; _____. Tn 4001: a gentamicin and kanamycin resistance transposon in *Staphylococcus aureus*. Molec.gen.genet., 193: 554-6, 1.984:
32. MITSUHASHI, S. Drug resistance plasmids. Molec.cell. biochem., 26: 135-81, 1.979.
33. _____; HASHIMOTO, H.; KONO, K.; MORIMURA, M. Drug resistance of staphylococci. J.Bact., 89: 988-92, 1.965.
34. _____; MORIMURA, M.; KONO, K.; OSHIMA, H. Elimination of drug resistance of *Staphylococcus aureus* by treatment with acriflavine. J.Bact., 86: 162-4, 1.963.

35. MITSUHASHI, S.; HASHIMOTO, H.; HARADA, K.; SUZUKI, M.; KAMEDA, M.; MATSUYAMA, T. Apud MITSUHASHI, S., op.cit. ref. 32.
36. NOBLE, W.C. Variation in the prevalence of antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* from human skin and nares. J.gen.Microbiol., 98: 125-32, 1.977.
37. _____ & NAIDOO, J. Evolution of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*: the role of the skin. Br.J. Derm., 98: 481-9, 1.978.
38. NOVICK, R.P.; KHAN, S.A.; MURPHY, E.; IORDANESKU, S.; EDELMAN, I.; KROLEWSKI, J.; RUSH, M. Hitchhiking transposons and other mobile genetic elements and site specific recombination systems in *Staphylococcus aureus*. Cold Spring Harb.Symp.quant.Biol., 45: 67-76, 1.981.
39. OCHIAI, K.; YAMANAKA, K.; KIMURA, K.; SAVADA, O. Apud MITSUHASHI, S., op.cit.ref. 32.
40. PYATKIN, K. Pathogenic cocci. In:_____. Microbiology. Moscow, MIR Publ., 1.967. p. 281-8.
41. REANNEY, D. Extrachromosomal elements as possible agents of adaptation and development. Bact.Rev., 40: 552-90, 1.976.

42. SAVOIA, D.; ROBERTI, M.G.; MARTINOTTI, M.G.; ANGERETTI, A. Staphylococcus aureus: characters associated with its pathogenicity and sensitivity to antibiotics. Boll.Ist.sieroter.milan., 64: 274-80, 1.985.
43. SHABERG, D.R.; CHAMBERLAIN, D.B.; GLATZER, L. Conjugative transfer of R-Plasmids from Streptococcus faecalis to Staphylococcus aureus. Antimicrob.Ag.Chemother., 22: 204-7, 1.982.
44. SIQUEIRA JR, J.P. Natureza e implicação da resistência à drogas em amostras de S. aureus. Piracicaba, 1.976. 71 p. [Tese (Mestrado) - ESALQ-USP].
45. _____ & AZEVEDO, J.L. Efeito do brometo de etídio em amostras de Staphylococcus aureus resistentes à drogas. Revta Microbiol., 9: 137-41, 1.978.
46. SMITH, H.W. Antimicrobial drugs in animal fields. Nature, 218: 728-31, 1.968.
47. SUASSUNA, I. Teste de sensibilidade bacteriana aos antibióticos: O Antibiograma. Revta Microbiol., 16: 316-22, 1.985.
48. TOWNSEND; D.E.; GRUBB, W.B.; ANNEAR, I. A plasmid for diffusible pigment production in Staphylococcus aureus. Aust.J.exp.Biol.med.Sci., 63: 463-72, 1.985.

49. TOWNSEND; D.E.; ASHDOWN, N.; ANNEAR, D.I.; GRUBB, W.B. A conjugative plasmid encoding production of a diffusible pigment and resistance to aminoglycosides and macrolides in *Staphylococcus aureus*. Aust.J.exp.Biol.med.Sci., 63: 573-86, 1.985.
50. WIEDEMANN, B. & KRESKEN, M. The incidence and development of resistance in *Staphylococcus aureus* from three European countries. J.Antimicrob.Chemother., 14: 27-34, 1.984.

Capítulo VIII

RESUMO

8. RESUMO

Um total de 88 amostras de S. aureus, das quais 44 isoladas da narina e pele de estudantes e outras 44 isoladas do ambiente hospitalar, foram testadas frente à estreptomomicina, eritromicina, rifampicina, cloranfenicol, canamicina, netilmicina, oxacilina, cefalotina, amicacina, tetraciclina e penicilina; foram as amostras discriminadas em resistentes, intermediárias e sensíveis de acordo com o método de difusão com discos de Kirby-Bauer. Os resultados obtidos mostraram níveis de resistência relativamente altos, principalmente com relação à penicilina nas amostras de estudantes.

Dentre os isolados, de S. aureus, verificou-se uma grande incidência de resistência múltipla, podendo-se presumir a presença de plasmídios; para isso, as amostras M₅ e M₉ foram tratadas pelo brometo de etídio com a finalidade de se observar a possível origem plasmidial dos genes de resistência.

Capítulo IX

S U M M A R Y

9. SUMMARY

A total of 88 samples of S. aureus, 44 of which isolated from the nostril and skin of students, and the remaining 44 samples isolated from a hospital site, were tested with kanamycin, streptomycin, erythromycin, rifampicin, chloramphenicol, netilmicin, oxacillin, cephalotine, amikacin, tetracycline, and penicillin G, according to the diffusion method with discs by Kirby-Bauer, the samples were identified as resistant, intermediary and susceptible. The data showed resistance levels relatively high, specially those related to penicillin in the student samples.

Among the isolated S. aureus, a great incidence of multiple resistance was verified, leading us to presume the presence of plasmids; the samples M₅ and M₉ were treated with ethidium bromide for this with the purpose of observing the possible plasmidial origin of resistance genes.