

Susceptibilidade a antimicrobianos de cocos Gram-positivos anaeróbios estritos isolados em primatas Calitriquídeos (*Callithrix penicillata* e *Callithrix jacchus*)

Ana Cristina Azevedo Moreira*

Maria Auxiliadora Roque de Carvalho**

Auxiliadora Coronado Negrette***

Carlos Américo Damasceno****

Eduardo Osório Cisalpino***

Resumo

O objetivo do presente trabalho foi identificar o perfil de susceptibilidade a drogas antimicrobianas de cocos Gram-positivos anaeróbios estritos isolados da cavidade oral e em espécimes fecais de sagüis Calitriquídeos (*C. penicillata* e *C. jacchus*) mantidos em cativeiro. As cepas isoladas de espécimes fecais foram sensíveis a penicilina G, cefalotina, cefotaxima, ampicilina e cloranfenicol e resistentes a clindamicina, cefoxitina, eritromicina, tetraciclina, imipenem e metronidazol. Os isolados orais apresentaram sensibilidade a penicilina G, cefalotina, cefoxitina, cefotaxima e cloranfenicol e resistência a clindamicina, ampicilina, metronidazol, eritromicina, tetraciclina e imipenem. O perfil de susceptibilidade a antimicrobianos de cocos Gram-positivos anaeróbios estritos intestinais e orais isolados em Calitriquídeos mostrou a ocorrência de multirresistência, em algumas cepas, até a cinco drogas.

Palavras-chave: Calitriquídeos. Cocos Gram-positivos anaeróbios - Antimicrobianos - Susceptibilidade. *Peptostreptococcus*

INTRODUÇÃO

Cocos Gram-positivos anaeróbios estritos fazem parte da microbiota residente do homem e de animais, podendo ser isolados dos tratos intestinal, respiratório, geniturinário e da cavidade oral (SAVAGE, 1989; EDELSTEIN, 1990; WATT, 1991; MOREIRA et al., 2003). Espécies deste grupo heterogêneo foram isoladas em processos infecciosos dos tratos respira-

tório e geniturinário, ossos e articulações e cavidade oral (FINEGOLD, 1990; ROSEMBLATT, 1985; EDELSTEIN, 1990; WATT, 1991; MASHITA et al., 2001).

Na cavidade oral, cocos Gram-positivos anaeróbios estritos estão associados com infecções endodônticas, abscessos e doença periodontal (GAETTI-JARDIM JÚNIOR et al., 1996;

* Professora de Microbiologia, Instituto de Ciências da Saúde. UFBA. Departamento de Ciências da Vida. UNEB. Mestre em Microbiologia.

Instituto de Ciências da Saúde. Departamento de Biointeração. UFBA

Av. Reitor Miguel Calmon, s/n. Vale do Canela

CEP 40.110-100 Salvador Bahia Brasil

E-mail: crisazev@ufba.br

** Professora Doutora Titular de Microbiologia. Departamento de Microbiologia. ICB. UFMG

*** Mestre em Microbiologia. Departamento de Microbiologia. ICB. UFMG

**** Professor Doutor em Microbiologia. Departamento de Microbiologia. ICB. UFMG

ROCHA et al., 1998). Espécies de *Peptostreptococcus* como *P. micrus* podem exercer papel importante nas doenças orais (YASSUI, 1989; TURNG et al., 1996). Em 1991, Hardie relatou o isolamento de *Peptostreptococcus* e *Streptococcus* anaeróbios em abscesso agudo dentoalveolar.

Com o envolvimento crescente de bactérias anaeróbias estritas em infecções humanas, tornou-se reconhecida a necessidade de verificar a susceptibilidade destas bactérias aos antimicrobianos, com a finalidade não só de monitorar os padrões existentes, como para controlar situações clínicas especiais. O aumento da resistência a antibióticos e a introdução de novas drogas justificam a realização desses testes (JANSEN; BREMMEGAARD, 1991).

Em relação à susceptibilidade a drogas antimicrobianas, os cocos Gram-positivos anaeróbios estritos são sensíveis a vários antibióticos, sendo o antibiótico de escolha a penicilina G. Drogas como ampicilina, cloranfenicol, eritromicina e clindamicina exibem boa atividade para este grupo microbiano. Já a tetraciclina tem pouca atividade, e, em relação ao metronidazol, os dados são conflitantes (PIEN et al., 1972; SUTTER et al., 1980; ROSEMBLATT, 1985).

Em 1989, avaliando a susceptibilidade a antimicrobianos e a presença de plasmídeos em cepas de *Peptostreptococcus* Ng e Dillon encontraram cepas resistentes a clindamicina, moxalactan e metronidazol. Embora a penicilina seja considerada eficaz contra os cocos anaeróbios, foram isoladas algumas cepas de *Peptostreptococcus* e *Streptococcus* resistentes a esta droga.

Caviedes e colaboradores (2001) demonstraram que a amoxicilina é ativa contra cocos Gram-positivos anaeróbios. Gaetti-Jardim Júnior e colaboradores (1996), testando a susceptibilidade a antimicrobianos de anaeróbios estritos isolados de infecções em canais radiculares, evidenciaram resistência de algumas cepas de cocos anaeróbios estritos a ampicilina, cefalotina, eritromicina, penicilina G e tetraciclina.

Os estudos relacionados com a susceptibilidade a antimicrobianos de cocos Gram-positivos anaeróbios estritos são relativamente es-

cassos e se referem usualmente a cepas isoladas de humanos. Por este motivo, procurou-se avaliar a susceptibilidade a drogas antimicrobianas de cepas isoladas em espécimes orais e fecais de primatas Calitriquídeos mantidos em cativeiro.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram realizados testes de susceptibilidade a antimicrobianos em 25 cepas de cocos Gram-positivos anaeróbios isolados em espécimes fecais e orais de primatas Calitriquídeos. Compunham os espécimes fecais cepas de *Peptostreptococcus productus*, *Streptococcus parvulus* e *Streptococcus sp* anaeróbios estritos e os espécimes orais, cepas de *Streptococcus intermedius*, *Peptostreptococcus prevotii*, *S. parvulus* e *Streptococcus sp* anaeróbios estritos.

Constatada a viabilidade das cepas, estas foram submetidas a testes de susceptibilidade a antimicrobianos pelo método da diluição em caldo, pela técnica da eluição do disco em caldo, de acordo com Wilkins e Thiel (1973).

O meio de cultura utilizado para os testes foi o caldo BHI-PRAS (Biobrás), suplementado com hemina, menadiona, extrato de levedura e tween 80, quando necessário, em pH 7.2. Discos padronizados com antibióticos foram utilizados. Estes foram: metronidazol (MZ), ampicilina (AP), cefalotina (CF), cefotaxima (CTX), cefoxitina (CFO), tetraciclina (TT), cloranfenicol (CO), eritromicina (EI), clindamicina (CL), penicilina G (PN) e imipenem (IM). A escolha foi feita de acordo com as drogas mais utilizadas para o tratamento das infecções anaeróbias.

Os discos de antibióticos foram colocados em tubos contendo caldo BHI-PRAS, sob fluxo de CO₂, adicionando-se um número de discos que fornecesse a concentração desejada (WILKINS; THIEL, 1973; LENNETTE; BALLOWS; HAUSLER, 1985; BARON; FINEGOLD, 1990).

O inóculo foi padronizado de acordo com Baron e Finegold (1990), diluindo-se uma cultura de 24 horas em caldo BHI-PRAS sob fluxo

de CO₂, até obter turvação comparável ao tubo 0,5 da escala de Mac Farland. Duas gotas de diluição foram inoculadas nos tubos do caldo BHI-PRAS contendo os antibióticos sob fluxo de CO₂. Um tubo de caldo BHI-PRAS sem antibiótico foi inoculado, servindo como controle do crescimento do microrganismo testado. Os tubos foram incubados a 37°C por 24 horas.

A leitura foi feita comparando-se a turvação de cada tubo contendo antibióticos com a turvação do tubo controle. As culturas com turvação de 50% ou mais em relação ao controle foram consideradas resistentes.

RESULTADOS

Após realização dos testes de susceptibilidade de antimicrobianos nas cepas isoladas foram obtidos os seguintes resultados:

As cepas de cocos Gram-positivos anaeróbios isoladas de espécimes fecais foram sensíveis a penicilina G, cefalotina, cefotaxima, ampicilina e cloranfenicol e algumas mostraram resistência a cefoxitina, clindamicina, eritromicina, tetraciclina, metronidazol e imipenem (FIGURA 1). As cepas isoladas da cavidade oral foram todas sensíveis a penicilina G, cefoxitina, cefalotina, cefotaxima e cloranfenicol. Algumas foram resistentes a clindamicina, ampicilina,

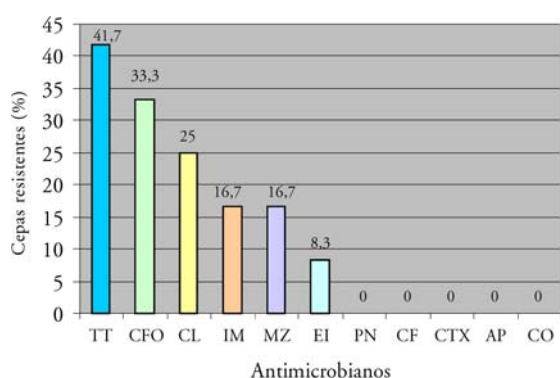


Figura 1 - Resistência a antimicrobianos de 12 cepas de cocos Gram-positivos anaeróbios isolados de espécimes fecais de Calitriquídeos

tetraciclina, eritromicina, metronidazol e imipenem (FIGURA 2).

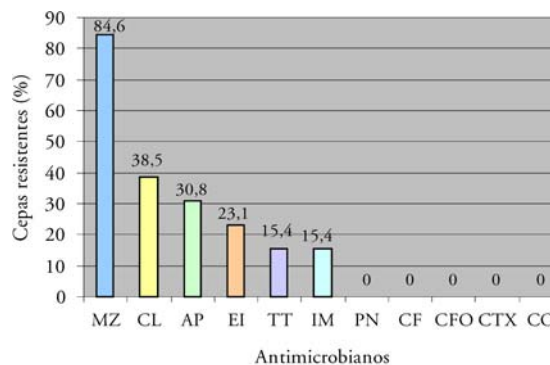


Figura 2 - Resistência a antimicrobianos de 13 cepas de cocos Gram-positivos anaeróbios isolados da cavidade oral de Calitriquídeos

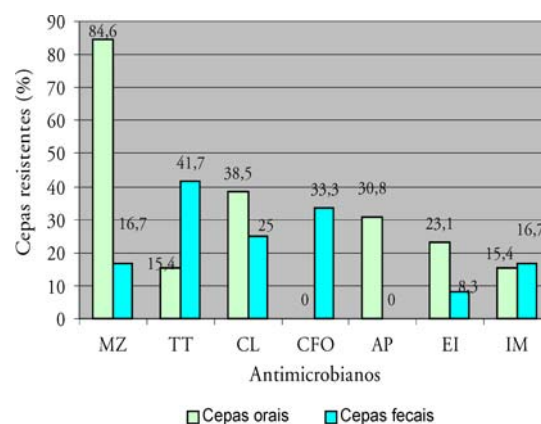


Figura 3 - Comparação da resistência a antimicrobianos entre cepas de cocos Gram-positivos anaeróbios isolados da cavidade oral e espécimes fecais de Calitriquídeos

A Figura 3 compara a resistência a antimicrobianos de cepas orais e fecais estando os modelos de resistência para essas cepas expressos nos Quadros 1 e 2.

DISCUSSÃO

A penicilina G é considerada como droga de escolha no tratamento de infecções causadas

Cepas testadas	Modelos de resistência
<i>Peptostreptococcus sp.</i>	CFO
<i>S. parvulus</i>	MZ
<i>S. parvulus</i>	TT
<i>S. parvulus</i>	TT, CFO
<i>S. parvulus</i>	MZ, IM
<i>S. parvulus</i>	TT, CFO, CL
<i>S. parvulus</i>	TT, IM, CL, MZ
<i>Peptostreptococcus sp.</i>	TT, CFO, CL, EI
<i>S. parvulus</i>	

Quadro 1 - Modelo de resistência de cocos Gram-positivos anaeróbios, isolados de espécimes fecais de Calitriquídeos

Nota: Antimicrobianos: CFO = cefoxitina
MZ = metronidazol
TT = tetraciclina
CL = clindamicina
IM = imipenem
EI = eritromicina

Cepas testadas	Modelos de resistência
<i>Streptococcus intermedius</i>	MZ
<i>Streptococcus sp.</i>	MZ
<i>Peptostreptococcus prevotii</i>	MZ, AP
<i>Streptococcus intermedius</i>	MZ, AP
<i>Streptococcus parvulus</i>	MZ, AP
<i>Streptococcus sp.</i>	MZ, AP
<i>Streptococcus parvulus</i>	MZ, CL
<i>Streptococcus sp.</i>	MZ, CL, EI
<i>Streptococcus sp.</i>	MZ, CL, IM
<i>Streptococcus intermedius</i>	MZ, AP, CL, TT, EI
<i>Streptococcus sp.</i>	MZ, EI, CL, TT, IM

Quadro 2 - Modelo de resistência de cocos Gram-positivos anaeróbios, recuperados da cavidade oral de Calitriquídeos

Nota: Antimicrobianos: MZ = metronidazol
AP = ampicilina
CL = clindamicina
EI = eritromicina
TT = tetraciclina
IM = imipenem

por cocos Gram-positivos anaeróbios estritos. Todas as cepas de cocos testadas nesse estudo, isoladas de espécimes orais e fecais de Calitriquídeos mostraram 100% de susceptibilidade a este antibiótico, confirmando os resultados obtidos por Bourgault e colaboradores (1980), Sutton e colaboradores (1980), Roseblatt

(1985), Edelstein (1990), Watt (1991), Sanidas e Vejas (1994).

O imipenem, quimioterápico da classe dos carbapenêmicos, é dotado de potente atividade antimicrobiana contra amplo espectro de bactérias (GODOY et al., 1989). Estudos demonstraram a eficácia dessa droga contra cocos Gram-positivos anaeróbios estritos (EDELSTEIN, 1990; HELLINGER; BREWER, 1991; GAETTI-JARDIM JÚNIOR et al., 1996). Em algumas cepas de espécimes intestinais e orais isoladas de Calitriquídeos foi evidenciada resistência ao imipenem (FIGURAS 1 e 2).

As cefalosporinas apresentam boa atividade contra os anaeróbios, exceto para o grupo *B. fragilis* (FINEGOLD, 1985). As cepas de cocos analisadas isoladas de espécimes fecais de Calitriquídeos apresentaram 100% de susceptibilidade a cefalotina e cefotaxima, cefalosporinas de 1ª e 3ª geração, confirmando a literatura (FINEGOLD, 1985; WATT, 1991). Em relação à cefoxitina (2ª geração), algumas cepas mostraram resistência. Em cocos anaeróbios estritos isolados de espécimes orais ocorreu susceptibilidade em 100% das cepas analisadas à cefalotina, cefoxitina e cefotaxima (FIGURAS 1, 2 e 3).

Algumas cepas de cocos Gram-positivos de espécimes fecais foram resistentes à clindamicina. Nos isolados orais esta resistência aumentou confirmando os dados de Finegold (1985), Ng e Dillon (1989), embora outros pesquisadores confirmem a efetividade desta droga contra os cocos anaeróbios estritos. Finegold (1985), considera que a ampicilina tenha eficiência de moderada a boa contra cocos anaeróbios Gram-positivos. Todas as cepas de cocos recuperadas de espécimes fecais foram susceptíveis a ampicilina e em relação aos espécimes orais algumas foram resistentes (FIGURAS 1, 2 e 3).

A eritromicina é considerada pouco ativa para os anaeróbios clinicamente importantes. Ocorreu resistência a este antimicrobiano em algumas cepas isoladas de espécimes orais e fecais. A tetraciclina não exibe boa atividade contra cocos Gram-positivos anaeróbios estritos (SMILACK et al., 1991). Os resultados obti-

dos neste trabalho confirmaram esta afirmativa.

Inicialmente utilizado para infecções por *Trichomonas* o metronidazol exibe efetividade contra anaeróbios estritos sendo bastante utilizado no tratamento de infecções causadas por estas bactérias. Para anaeróbios aerotolerantes o metronidazol exibe pouca atividade (SMILACK et al., 1991). As cepas de cocos Gram-positivos anaeróbios estritos de espécimes fecais apresentaram 16,7% de resistência, ao contrário das cepas orais, na sua maioria aerotolerantes que exibiram 84,6% de resistência (FIGURAS 1, 2 e 3).

O perfil de susceptibilidade a antimicrobianos das cepas orais em relação às fecais mostrou maior diferença em relação ao metronidazol, tetraciclina, cefoxitina e ampicilina (FIGURA 3).

Em cepas de cocos Gram-positivos anaeróbios isolados em espécimes orais e fecais de primatas Calitriquídeos ocorreu multirresistência a algumas das 11 drogas utilizadas (QUADROS 1 e 2). A ocorrência de multirresistência a drogas entre as cepas de cocos Gram-positivos

anaeróbios estritos recuperados em animais mantidos em cativeiro e a possibilidade de sua transferência, intra- e interespecífica, suscitam a necessidade de uma avaliação do perfil de susceptibilidade em cepas de animais silvestres, tendo em vista a relevância do fenômeno.

CONCLUSÃO

Através dos resultados obtidos, conclui-se que: as cepas de cocos Gram-positivos anaeróbios estritos isolados em animais silvestres comportaram-se de maneira similar às cepas humanas descritas na literatura, em relação a susceptibilidade ou resistência a antimicrobianos.

Os testes confirmaram a atividade da penicilina G, cefalotina, cefotaxima e cloranfenicol sobre este grupo bacteriano. Evidenciaram ainda maior resistência ao metronidazol em cocos Gram-positivos anaeróbios aerotolerantes isolados em espécimes orais, em relação aos cocos não aerotolerantes isolados de amostras fecais.

Antimicrobial drug susceptibility of anaerobic Gram positive cocci isolated in marmosets (*Callithrix penicillata* and *Callithrix jacchus*)

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the susceptibility profile to antimicrobial drugs of the anaerobic Gram-positive cocci from the oral cavity and fecal specimens of marmosets (*Callithrix penicillata* and *Callithrix jacchus*) maintained in captivity. The samples isolated from fecal specimens were found to be sensitive to penicillin G, cephalothin, cefotaxime, ampicillin and chloramphenicol as well as they showed resistance to clindamycin, cefoxitin, erythromycin, tetracycline, imipenem and metronidazole. The isolated oral samples were sensitive to penicillin G, cephalotin, cefoxitin, cefotaxime and chloramphenicol, but resistant to clindamycin, ampicillin, metronidazole, erythromycin, tetracycline and imipenem. The susceptibility profile to antimicrobial drugs of intestinal and oral Gram positive cocci of *C. penicillata* and *C. jacchus* showed the existence of multi-resistance in some strains, up to 5 drugs

Keywords: Marmoset. Anaerobic Gram- positive cocci. Antimicrobial drugs Susceptibility Peptostreptococcus

REFERÊNCIAS

- BARON, E. J.; FINEGOLD, S. M. Methods for testing antimicrobial effectiveness. In: FORBES, B. A.; SAHM, D. F.; WEISSFELD, A. S. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*. 8th

- ed. St. Louis: C. V. Mosby, 1990. Chapt.13, p.171-194.
- BOURGAULT, A. et al. *Peptococcus magnus* a significant human pathogen. *Ann. Intern. Med.*, Philadelphia, v.93, p.244-248, 1980.
- CAVIEDES, R. et al. Selectividad de la amoxicilina sobre anaeróbios estrictos en abscessos dento-alveolares. *Univ. Odontol.*, Bogotá, v.21, n.43, p.32-36, 2001.
- EDELSTEIN, M.A. Anaerobic cocci. In: FORBES, B. A.; SAHM, D. F.; WEISSFELD, A. S. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*. 8th ed. St. Louis: C. V. Mosby, 1990. p.549-557.
- FINEGOLD, S. M. Anaerobes: problems and controversies in bacteriology, infection and susceptibility testing. *Rev. Infect. Dis.*, Chicago, v.12, n.2, p.223-229, 1990.
- FINEGOLD, S. M. Treatment of anaerobic infections and overview. *Scand. J. Infect. Dis.*, Stockholm, v.46, p.89-95, 1985.
- GAETTI-JARDIM JÚNIOR, E. et al. Bactérias anaeróbias isoladas de canais radiculares de dentes desvitalizados e refratários ao tratamento endodôntico: estudo da susceptibilidade aos antimicrobianos. *R. Odontol. UNESP*, Marília, v.25, n.2, p.299-307, 1996.
- GODOY, C. V. F. et al. Estudo da susceptibilidade "in vitro" a um novo antimicrobiano de patógenos isolados de pacientes hospitalares em vários centros. *R. Inst. Med. Trop. São Paulo*, São Paulo, v.31, p.169-176, 1989.
- HARDIE, J. M. Dental and oral infection. In: DRASAR, B. S.; DUERDEN, B. I. *Anaerobes in human disease*. London: Edward Arnold, 1991. p.245-267.
- HELLINGER, W. C.; BREWER, N. S. Imipenem. *Mayo Clin. Proc.*, Rochester, v.66, p.1074-1081, 1991.
- JANSEN, J. E.; BREMMELGAARD, A. Susceptibility testing of anaerobic bacteria: regression lines for six antibiotics determined with and without prediffusion. *APMIS*, Copenhagen, v.99, p.711-720, 1991.
- LENNETTE, E. H.; BALLOWS, A.; HAUSLER, W. J. *Manual of clinical microbiology*. 4th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1985.
- MASHITA, K. et al. Bacteria isolated from surgical infections and their susceptibilities to antimicrobial agents. *Jpn. J. Antibiot.*, Tokyo, v.54, n.10, p.497-530, 2001.
- MOREIRA, A. C. A. et al. Cocos Gram-positivos anaeróbios estrictos da cavidade oral e do trato intestinal de primatas Calitriquideos (*Callithrix jacchus* e *Callithrix penicillata*) mantidos em cativeiro. *R. Ci. Méd. Biol.*, Salvador, v.2, n.1, p.94-103, 2003.
- NG, L. K.; DILLON, J. A. R. Plasmid analysis and antimicrobial susceptibilities of *Peptostreptococcus* species. *FEMS Microbiol. Lett.*, Amsterdam, v.61, p.47-51, 1989.
- PIEN, F. et al. Clinical and bacteriology studies of anaerobic gram positive cocci. *Mayo Clin. Proc.*, Rochester, v.47, p.251-257, 1972.
- ROCHA, M. M. N. P. et al. Estudo bacteriológico de lesões periapicais. *R. Odontol. Univ. São Paulo*, São Paulo, v.12, n.3, p.215-223, 1998.
- ROSEMBLATT, J. E. Anaerobic cocci. In: LENNETTE, E. H.; BALLOWS, A.; HAUSLER, W. J. *Manual of clinical microbiology*. 4th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1985.
- SANIDAS, E. R.; VEJAS, G. Reporte de microorganismos aislados en 15 muestras de pulpas dentales necróticas. *Odontología*, Panamá, v.19, n.1, p.23-31, 1994.
- SAVAGE, D. C. The normal human microflora. In: GRUBB, R.; MIDTVEDT, T.; NORIN, E. (Ed.). *The regulatory and protective role of the normal microflora*. New York: Macmillan, 1989. p.3-18.
- SMILACK, J. D. et al. Tetracyclines, chloramphenicol, erythromycin, clindamycin and metronidazole. *Mayo Clin. Proc.*, Rochester, v.66, p.1270-1280, 1991.

- SUTTON, V. L. et al. **Wadsworth anaerobic bacteriology manual**. St. Louis: C. V. Mosby, 1980.
- TURNG, B. F. et al. Development and evaluation of a selective and differential medium for the primary isolation of *Peptostreptococcus micros*. **Oral Microbiol. Immunol.**, Copenhagen, v.1, n.5, p.356-361, 1996.
- WATT, B. Anaerobic cocci. In: DUERDEN, B. L.; DRASAR, B. S. **Anaerobes in human disease**. London: Edward Arnold, 1991. p.100-107.
- WILKINS, T. D.; THIEL, T. Modified broth-disk method for testing the antibiotic susceptibility of anaerobic bacteria. **Antimicrob. Agents Chemother.**, Bethesda, v.3, p.350-356, 1973.
- YASSUI, S. Development and clinical application of DNA probe specific for *Peptostreptococcus micros*. **Bull. Tokyo Med. Dent. Univ.**, Tokyo, v.36, n.4, p.49-62, 1989.